

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 968 881**

(51) Int. Cl.:

C07J 41/00 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
C07J 11/00 (2006.01)
C07J 51/00 (2006.01)
C07J 71/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.07.2019 PCT/GB2019/052127**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **06.02.2020 WO20025942**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2019 E 19748933 (9)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2023 EP 3830103**

(54) Título: **Derivados de ácidos biliares fluorados**

(30) Prioridad:

30.07.2018 GB 201812382

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2024

(73) Titular/es:

**NZP UK LIMITED (100.0%)
One, Glass Wharf
Bristol, BS2 0ZX, GB**

(72) Inventor/es:

**WEYMOUTH-WILSON, ALEXANDER CHARLES;
PACKER, GEMMA;
LINCLAU, BRUNO JAN POL;
KYDD-SINCLAIR, DANNIELLE y
WATSON, KIMBERLY ANN**

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 968 881 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de ácidos biliares fluorados

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos que son derivados de ácidos biliares y que pueden usarse para el tratamiento de enfermedades hepáticas. En particular, la invención se refiere a compuestos que son agonistas selectivos del receptor farnesoide X y que, por tanto, son útiles para el tratamiento de enfermedades tales como la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y la colangitis biliar primaria. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención.

Antecedentes de la invención

- 10 La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es una de las causas más importantes de enfermedad hepática crónica en todo el mundo y se está convirtiendo rápidamente en la principal indicación para el trasplante de hígado (Bellentani, 2017). NAFLD describe un espectro de condiciones fisiológicas que van desde la simple acumulación de lípidos en el hígado (esteatosísis) hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), que se caracteriza tanto por inflamación lobular como por lesión hepatocelular (Haas, Francque y Staels, 2016). En Occidente, la NAFLD se considera una carga importante para la salud pública y afecta aproximadamente al 30 % de la población del Reino Unido (Dyson, Anstee y McPherson, 2014). La creciente prevalencia de NAFLD refleja la creciente prevalencia de obesidad y diabetes tipo 2, y se considera que NAFLD es una manifestación hepática del síndrome metabólico (Cave *et al.*, 2016).
- 20 De aquellos con NAFLD, al menos entre el 10 y el 20 % desarrollan EHNA, lo que se acompaña de la predisposición de los pacientes a complicaciones tanto hepáticas como extrahepáticas, como fibrosis, cirrosis, carcinoma hepatocelular (CHC) y enfermedades cardiovasculares. Aunque no se comprende bien, se considera que la progresión patológica de la esteatosísis a EHNA consiste en múltiples "golpes", con lipotoxicidad, estrés oxidativo y estrés del retículo endoplásmico, que sensibilizan al hígado a agresiones adicionales mediadas por los sistemas de defensa inmune innatos y conducen a la activación de citocinas. daño celular inducido (Pacana y Sanyal, 2015). Un 'golpe' involucra lipogénesis hepática *de novo*, que se activa con hiperinsulinemia y dietas ricas en carbohidratos. Además, como resultado de la resistencia a la insulina, la lipólisis en los adipocitos disfuncionales no se desactiva, lo que resulta en la fuga de ácidos grasos libres (AGL) a la circulación. Estos ácidos grasos libres se acumulan en tejidos ectópicos, como el hígado, donde se almacenan como triglicéridos. Sin embargo, la acumulación excesiva de ácidos grasos libres, más allá del umbral de almacenamiento de triglicéridos, conduce en última instancia a lipotoxicidad debido a los metabolitos tóxicos derivados de los triglicéridos. Además, la disminución del aclaramiento de triglicéridos y la reducción de la exportación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) contribuyen a la acumulación de grasa en el hígado. Estos eventos son contrarrestados por las mitocondrias y los peroxisomas que intentan oxidar los ácidos grasos, pero eventualmente conducen al deterioro de estos orgánulos, lo que resulta en la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y daños en las moléculas de patrón molecular asociadas (DAMP). En el segundo "impacto", la peroxidación lipídica y la activación de citoquinas inflamatorias por FFA y ROS desencadenan inflamación y apoptosis, y pueden activar sistemas de defensa inmune naturales a través de receptores tipo Toll, perpetuando aún más la progresión de EHNA al exacerbar la resistencia a la insulina e iniciar la fibrogénesis (Cusi, 2012). Además, evidencia reciente ha implicado al eje hígado-intestino en la progresión de la enfermedad. Se ha observado una composición alterada del microbiota intestinal y un aumento de la permeabilidad intestinal en pacientes con NAFLD, y también se cree que la disbiosis mediada por inflamasomas impulsa la progresión de EHNA (Henao-mejia *et al.*, 2012; Mouzaki *et al.*, 2013). En conjunto, los eventos hepáticos lipotóxicos, además de los efectos indirectos de los mediadores inflamatorios de los tejidos adiposos, los intestinos y el sistema inmunológico, resaltan la naturaleza compleja, multifactorial y entre sistemas de este trastorno metabólico y, lo que es más importante, reflejan múltiples objetivos terapéuticos potenciales de EHNA. (Haas, Francque y Staels, 2016).
- 45 Actualmente, no existen terapias médicas efectivas para el tratamiento o la prevención de EHNA. En la mayoría de los casos, se recomienda perder peso y mejorar la sensibilidad a la insulina mediante cambios en la dieta y el estilo de vida, pero como muchos pacientes no pueden iniciar o mantener estos cambios, se necesita una solución farmacológica a largo plazo (Neuschwander-Tetri *et al.*, 2015). La investigación se ha centrado en posibles objetivos moleculares para el tratamiento de EHNA, incluidos varios receptores hormonales nucleares de la subfamilia NR1.
- 50 Estos receptores, en particular el receptor farnesoide X (FXR), son objetivos atractivos debido a sus funciones subyacentes en varias vías que contribuyen a la etiología de la enfermedad.

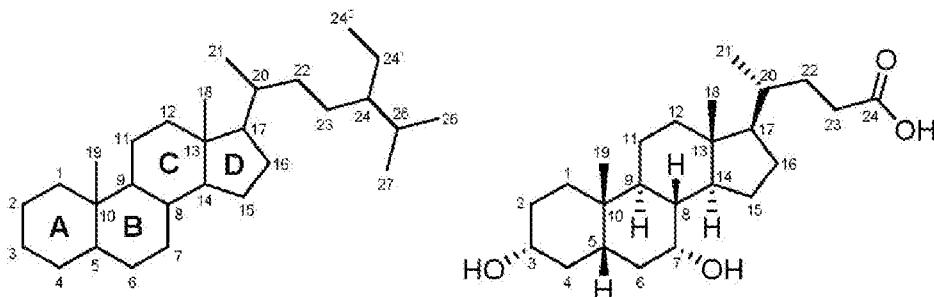
Como ocurre con todos los receptores nucleares, el receptor farnesoide X (FXR) actúa como un factor de transcripción activado por ligando que modula la maquinaria celular responsable de los cambios epigenéticos que controlan la transcripción. Hay dos genes que codifican FXR; *FXR α* (NR1H4), que está altamente conservado en muchas especies, y *FXR β* (NR1H5), que existe como pseudogén en humanos. El gen *FXR α* codifica cuatro isoformas diferentes que surgen debido a una combinación de diferentes usos de promotores y empalmes alternativos de ARNm. Aunque las cuatro isoformas tienen un dominio de unión al ligando altamente conservado, lo que sugiere que los ligandos FXR se unirán a cualquier isoforma de manera no selectiva, parece haber expresión diferencial, por lo que 2 isoformas se expresan predominantemente en hepatocitos y células con un metabolismo esteroide activo, y los demás se expresan

predominantemente en el colon, los intestinos y otras células involucradas en la circulación enterohepática (Huber *et al.*, 2002; Vaquero *et al.*, 2013). Además, algunos genes diana de FXR responden más a ciertas isoformas que otras, y se cree que el patrón general de expresión de isoformas tiene efectos profundos en la sensibilidad y la respuesta transcripcional de tejidos específicos a ligandos de FXR (Zhang, Kast-woelbern y Edwards, 2003);; Vaquero *et al.*, 2013).

FXR representa un receptor nuclear típico tanto en su organización estructural como en su activación. En resumen, FXR se compone de un *N*-dominio de unión al ADN terminal (DBD), formado por dos Zn²⁺ dedos responsables de reconocer y unirse a un elemento de respuesta hormonal de consenso, conectados a través de una región bisagra variable a un dominio de unión a ligando C-terminal (LBD), que existe como un bolsillo hidrófobo necesario para la identificación y alojamiento de ligandos de moléculas pequeñas (Chiang, 2013). De manera similar a otros receptores nucleares, FXR se une al ADN como un heterodímero con su compañero obligado, el receptor de retinoide X (RXR). En ausencia de un ligando, FXR está inactivo. Generalmente, el heterodímero FXR/RXR se encuentra pre-unido al elemento de respuesta repetida invertida AGGTCA de sus genes diana en complejo con péptidos correpresores (Neuschwander-Tetri, 2012). Tras la activación mediante la unión del ligando, el receptor sufre un cambio conformacional, mediante el cual los complejos correpresores se liberan, exponiendo los sitios de unión para un motivo de coactivación LXXLL en un surco hidrofóbico del bolsillo de unión del ligando (Copple y Li, 2016). Se forma una "pinza de carga" mediante enlaces de hidrógeno entre la superficie del LBD y ambos extremos de las proteínas coactivadoras que se reclutan en el sitio. En última instancia, esto provoca un cambio en la estructura de la cromatina de los genes diana, permitiendo el acceso de factores de transcripción generales y de la ARN polimerasa a sus promotores, e iniciando así su transcripción (Ananthanarayanan *et al.*, 2004).

Los ligandos endógenos clásicos para FXR son los ácidos biliares. Los ácidos biliares son ácidos esteroides que se encuentran en la bilis de los mamíferos e incluyen compuestos como el ácido cólico, el ácido quenodesoxicólico, el ácido litocólico y el ácido desoxicólico, todos los cuales se encuentran en los humanos.

A continuación se muestra el sistema de numeración general de los esteroides y la numeración de los átomos de carbono en el ácido quenodesoxicólico.



Numeración general de esteroides

Numeración CDCA

FXR sirve como regulador maestro del metabolismo de los ácidos biliares. Una función principal de FXR es facilitar la transferencia de nutrientes y energía a lo largo del eje intestino-hígado-adiposo tanto en estado de alimentación como en ayunas (Evans y Mangelsdorf, 2014). Después de un estímulo posprandial, los ácidos biliares permiten la absorción de lípidos, además de activar las vías de transducción de señales mediadas por FXR. Esto promueve la absorción de nutrientes en los intestinos y actúa para estimular el metabolismo energético en el hígado, a través de la acción del factor de crecimiento de fibroblastos 19 (FGF19), del gen diana FXR. Además del FGF19 intestinal, la expresión de la diana transcripcional FXR, socio heterodímero corto (SHP) en el hígado, conduce a la regulación negativa de *de novo* síntesis de ácidos biliares, controlando estrechamente la reserva de ácidos biliares enterohepáticos según las necesidades metabólicas. Los estudios de pacientes con EHNA han demostrado una reducción en la expresión de FXR y de las enzimas biosintéticas de ácidos biliares, colesterol 7 alfa hidroxilasa (CYP7A1) y esterol 27 hidroxilasa (CYP27A1), proporcional a la gravedad de la enfermedad; y los pacientes con NAFLD también muestran una respuesta alterada al FGF19 hepático (Yang, Shen y Sun, 2010; Min *et al.*, 2013; Cave *et al.*, 2016).

Más recientemente, FXR ha surgido como un actor clave en la homeostasis de lípidos, glucosa y colesterol, modulando genes implicados en la lipogénesis hepática, la síntesis de VLDL, la sensibilidad a la insulina y, en parte, debido a la interacción con otros receptores nucleares, la gluconeogénesis y la glucogénesis (Kast *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006). Actuando a través de cascadas de señalización SHP, FXR regula a la baja la proteína de unión al elemento regulador de esteroides (SREBP1) para disminuir la síntesis de ácidos grasos, mientras que regula al alza el receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR α) para aumentar el catabolismo de los ácidos grasos mediante la β -oxidación mitocondrial, reduciendo así la acumulación ácido graso hepático. FXR también actúa para aumentar los niveles de expresión de la apolipoproteína C2 (APOC2) y el receptor de VLDL, que son responsables de la hidrólisis y eliminación de las VLDL. Los estudios con ratones con deficiencia de FXR han demostrado similitudes fenotípicas con pacientes humanos con EHNA, incluido un aumento significativo de los niveles

de triglicéridos hepáticos, niveles elevados de ácidos grasos libres circulantes y esteatosis hepática (Maloney *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2004). Además, la activación de FXR mediante agonistas naturales y sintéticos ha podido mejorar los niveles de triglicéridos plasmáticos en roedores (Kast *et al.*, 2001). Al reducir los niveles de triglicéridos y ácidos grasos libres, se cree que la activación de FXR también puede aumentar la sensibilidad a la insulina tanto en el hígado como en los tejidos periféricos, como se observa en ratones sin FXR que mostraron una intolerancia leve a la glucosa y una señalización de insulina atenuada tanto en el hígado como en el músculo (Ma *et al.*, 2006). De acuerdo con este hallazgo, la sensibilidad a la insulina mejoró con el agonista semisintético de FXR, el ácido obeticólico (OCA), tanto en sujetos humanos con EHNA como en un modelo de obesidad animal (Cipriani *et al.*, 2010; Mudaliar *et al.*, 2013). Asimismo, se ha propuesto que FXR, en gran parte a través de la señalización de FGF19, desempeña un papel importante en la homeostasis de la glucosa; reducir las concentraciones de glucosa en plasma, reducir la expresión y actividad de tres enzimas gluconeogénicas clave, fosfoenol-piruvato carboxiquinasa (PEPCK), fructosa-1,6-bis fosfatasa (FBP1) y glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa), e inhibir la regulación reguladora de AMPc. proteína de unión a elementos (CREB) y coactivador 1-alfa de PPAR gamma (PGC1α) para promover el almacenamiento de glucosa como glucógeno (Zhang *et al.*, 2006). Sin embargo, resultados contradictorios de modelos animales sugieren que la participación de FXR puede ser sólo una parte de una red compleja de receptores y vías (Watanabe *et al.*, 2011).

En particular, se ha implicado al FXR en la supresión de la inflamación hepática, donde participa en una vía sofisticada que conduce a la regulación negativa de genes diana específicos del factor nuclear kappa B (NF-κB) y citoquinas proinflamatorias (Wang *et al.*, 2008). Además, aunque los mecanismos subyacentes aún no se conocen bien, se cree que FXR tiene un papel importante en la enteroprotección y en el mantenimiento de la barrera intestinal para la microbiota intestinal (Inagaki *et al.*, 2006). Los ratones knockout para FXR alimentados con una dieta rica en grasas, mostraron un crecimiento excesivo de bacterias intestinales y niveles elevados de mediadores proinflamatorios y profibrogénicos, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), el inhibidor tisular de metaloproteínasas (TIMP) y el factor de crecimiento transformante beta (TGFβ-1) (Kong *et al.*, 2009). Además, la evidencia preclínica sugiere que la participación de los agonistas de FXR inhibió la expresión de NFκB para mejorar el microambiente inflamatorio y la fibrosis, en hepatocitos primarios y en modelos de ratón con EHNA (Kong *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2013).

Para respaldar aún más su papel en EHNA, y particularmente en HCC, se ha demostrado que FXR regula la expresión de genes supresores de tumores, y se demostró que los agonistas de FXR reducen el crecimiento tumoral y la metástasis en un modelo de tumor de xenoinjerto de hígado de ratón (Deuschle *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2013). En consecuencia, esta evidencia, además de su papel central en el eje intestino-hígado-adiposo, en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal, en la inhibición de la inflamación, así como en la regulación del metabolismo de los ácidos biliares, la glucosa y los lípidos, apoya la idea de que la desregulación del FXR contribuye al desarrollo de EHNA y, por lo tanto, confirma que FXR es una diana ideal para la terapéutica de EHNA.

Se conocen varios agonistas del FXR, incluidos varios compuestos no esteroideos. Más recientemente, se han desarrollado análogos de ácidos biliares con actividad agonista del FXR. Estos incluyen el ácido obeticólico (OCA; INT-747), que se describe en WO 02/072598 y EP1568706. Los análogos de OCA y los usos y procedimientos médicos para la preparación de OCA y análogos se describen en los documentos WO 2005/092925, WO 2005/089316, WO 2006/122977, WO 2007095174, WO 2008/002573, WO 2008/091540, WO 2010/014836, WO 2010/059853, WO 2010/059859, WO 2013/192097, WO 2014/066819, WO 2015/085474, WO 2014/184271, WO 2016/127019, WO 2016/144946, WO 2016/164413, WO 2016/176208, WO 2016/205475, WO 2017/019524, WO 2017/027396, WO 2017/053428, WO 2017/053826, WO 2017/062763, WO 2017/079062, WO 2017/111979 y WO 2017/156024 (todos Intercept Pharmaceuticals, Inc.).

Otros análogos de ácidos 6-alquilbiliares con cadenas laterales modificadas se describen en los documentos WO 2016/073767, WO 2016/086115, WO 2016/086134, WO 2016/086169, WO 2016/086218, WO 2016/130809, WO 2016/161003, WO 2017/147137, WO 2017/147159 y WO 2017/147174 (todos Enanta Pharmaceuticals, Inc.).

Otros documentos relacionados con compuestos similares incluyen los documentos CN105646634, WO 2016/173524, WO 2016/173397, CN105348365, US 2014/0206657.

Nuestras solicitudes anteriores WO 2016/079518, WO 2016/079518, WO 2016/079519, WO 2016/079520, WO 2017/199036, WO 2017/199039 y WO 2017/199033 se refieren a procedimientos de preparación de estos análogos de ácidos biliares y a intermedios en su síntesis.

Uno de los problemas de los análogos de ácidos biliares descritos en la técnica anterior es que, además de su actividad como agonistas de FXR, también son moduladores del receptor TGR5 acoplado a proteína G. Este es un miembro de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G similares a la rodopsina y tiene un papel importante en la red de señalización de ácidos biliares. Por ejemplo, uno de los efectos adversos que se ha asociado con el uso de OCA es el prurito y se cree que esto surge de la activación de receptores no objetivo de la OCA, como el TGR5 (Alemi *et al.*, 2013).

Xiao *et al.*, 2017 se relaciona con la síntesis y evaluación biológica de OCA y una serie de derivados de OCA como agonistas de FXR. En los derivados, el grupo ácido carboxílico fue reemplazado por diversas alternativas. Los autores observaron que todos los compuestos probados mostraron una potencia de TGR5 de baja a moderada y la mejor

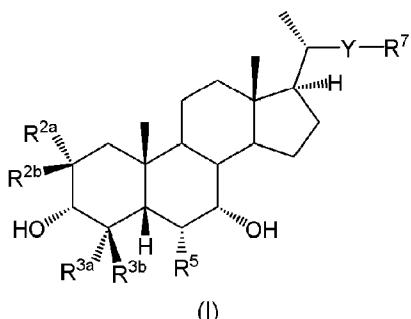
selectividad obtenida fue una selectividad de 30 veces para FXR, que se logró con un derivado de tetrazol. El compuesto con la relación de concentración de hígado:plasma más alta fue el Compuesto 18, que tenía una cadena lateral $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH-S(O)}_2\text{CH}_3$.

- 5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos que mantienen la actividad agonista de FXR y que tienen una selectividad mejorada por FXR sobre TGR5.

Además, los derivados de ácidos biliares que están fluorados en las posiciones 2 y/o 4 y que tienen cadenas laterales de arilsulfonamida o sulfonilurea tienen una mayor actividad agonista en el receptor FXR en comparación con los derivados de ácidos biliares conocidos. Los inventores especulan que este aumento de la actividad agonista se debe a que las moléculas se unen tanto a los bolsillos canónicos como alostéricos del dominio de unión al ligando FXR. Sin embargo, la eficacia de los compuestos de la invención no se ve afectada por la exactitud o no de esta especulación.

10 Resumen de la invención

Por lo tanto, en la presente invención se proporciona un compuesto de fórmula general (I)



donde

- 15 R^{3b} es F y cada uno de R^{2a} , R^{2b} y R^{3a} es independientemente H o F; R^5 es $\text{CR}^{6a}\text{R}^{6b}\text{R}^8$, O^8 , SR^8 o NR^{6a}R^8 ; cada R^{6a} , R^{6b} y R^8 es independientemente H o metilo

Y es un enlace, o un alquíleno C_{1-4} o un grupo conector alquenileno C_{2-4} cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más R^{15} ;

- 20 donde cada R^{15} es independientemente halo u OH; R^7 se selecciona de $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{17}\text{SO}_2\text{R}^{15}$, $\text{NR}^{17}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{18}\text{SO}_2\text{R}^{15}$, $\text{NR}^{17}\text{C}(\text{S})\text{NR}^{18}\text{SO}_2\text{R}^{15}$ y $\text{NR}^{17}\text{C}(\text{NR}^{20})\text{NR}^{18}\text{SO}_2\text{R}^{15}$;

R^{15} es un anillo de arilo o heteroarilo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , halo, O(alquilo C_{1-6}) y O(haloalquilo C_{1-6});

cada R^{17} y R^{18} es independientemente H o metilo;

R^{20} es H, metilo o CN;

- 25 o una sal o variante isotópica del mismo.

Se conocen algunos derivados fluorados de ácidos biliares. Por ejemplo, Roda. *et al.*, 1995, Honorio *et al.*, 2006, US 5,175,320 y WO 97/44043 todos se relacionan con análogos 6-fluoro del ácido ursodesoxicólico, mientras que WO 2014/160441 describe un análogo del ácido biliar 6,6-difluoro. Sato *et al.*, 2008 se refiere a derivados del ácido 7-fluorolítocólico y Sievanen *et al.*, 2008, y Cushman *et al.*, 1995, describen respectivamente el ácido 3,3-difluorocolan-24-oico y su éster metílico. EP 3290429 describe derivados de ácidos biliares que se dice que son útiles para tratar enfermedades mediadas por FXR. Los compuestos descritos incluyen algunos derivados de ácidos 4-fluorobiliares.

- 30 Clerici *et al.*, 2006 y Macchiarulo *et al.*, 2008 ambos se relacionan con el colanoato de 3 α -6 α -dihidroxi-7 α -fluoro-5 β , que se dice que es útil para tratar enfermedades hepáticas. WO2016/154216 se refiere a derivados 3 y 7 fluorados de AUDC para su uso en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos. WO2016/173493 se refiere a derivados de

- 35 ácidos biliares que tienen cadenas laterales modificadas y que son moduladores de FXR y/o TGR5. US 2018/0148470 se refiere a derivados de ácidos biliares 4 β -fluorados que se dice que son útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por FXR. Sin embargo, no existe ninguna enseñanza en la técnica anterior sobre los compuestos de fórmula general (I).

- 40 Los compuestos de fórmula general (I) son agonistas selectivos de FXR y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades y afecciones tales como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); cirrosis biliar primaria (CBP); colangitis esclerosante primaria; atresia biliar; enfermedad hepática colestásica; infección por hepatitis C; enfermedad hepática alcohólica; fibrosis; y daño hepático derivado de la fibrosis.

Si bien no desean quedar ligados a esta teoría, los presentes inventores han especulado que la presencia de flúor en el anillo altera la capacidad de formación de enlaces de hidrógeno del grupo 3 α hidroxi y por lo tanto afecta la actividad y selectividad del compuesto en los receptores FXR y TGR5. Además, parece que los compuestos que tienen un fluoro en la posición 4 del sistema de anillos de esteroides pueden tener una mayor estabilidad metabólica.

- 5 Los inventores también han descubierto que la naturaleza del grupo de cadena lateral (-Y-R⁷) tiene un impacto significativo en la actividad del agonista FXR como se demuestra en los ejemplos siguientes.

En la presente memoria descriptiva, excepto cuando el contexto requiera lo contrario debido al lenguaje expreso o implicación necesaria, la palabra "comprende", o variaciones tales como "comprenden" o "que comprendiendo" se usa en un sentido inclusivo, es decir, para especificar la presencia de las características indicadas pero sin excluir la presencia o adición de características adicionales en diversas realizaciones de la invención.

10 En la presente memoria descriptiva, las referencias a "uso farmacéutico" se refieren al uso para administración a un ser humano o un animal, en particular un ser humano o un mamífero, por ejemplo un mamífero domesticado o ganado, para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad o afección médica. El término "composición farmacéutica" se refiere a una composición que es adecuada para uso farmacéutico y "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un agente que es adecuado para uso en una composición farmacéutica. Otros términos similares deben interpretarse en consecuencia.

15 En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "pluralidad" se refiere a dos o más.

Descripción detallada del invento

20 En la presente solicitud, el término alquilo "C₁₋₆" se refiere a un grupo hidrocarburo completamente saturado lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. El término abarca metilo, etilo, N-propilo, isopropilo, N-butilo, isobutilo, s-butilo y t-butilo. Otros grupos alquilo, por ejemplo alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₃ o alquilos C₁₋₂ son como se definen anteriormente pero contienen diferentes números de átomos de carbono.

25 El término "alquileno" se refiere a una cadena hidrocarbonada completamente saturada, lineal o ramificada. Adecuadamente el alquileno es alquileno C₁₋₄, alquileno C₁₋₃, o alquileno C₁₋₂. Ejemplos de grupos alquileno incluyen -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH(CH₃)-CH₂-, -CH₂CH(CH₃)-, -CH₂CH₂CH₂- y -CH₂CH(CH₂CH₃)-.

30 El término "alquenileno" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Adecuadamente el alquenileno es alquenileno C₂₋₄ o alquenileno C₂₋₃. Ejemplos de grupos alquenileno incluyen -CH=CH-, -CH=C(CH₃)-, -CH₂CH=CH-, -CH=CHCH₂-, -CH₂CH₂CH=CH- y -CH₂CH=C(CH₃)-.

35 Los términos "arilo" y "aromático" se refieren a un grupo cíclico con carácter aromático que tiene de 6 a 14 átomos de carbono en el anillo (a menos que se especifique lo contrario, por ejemplo de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo) y que contiene hasta tres anillos. Cuando un grupo arilo contiene más de un anillo, no todos los anillos deben ser de carácter aromático. Los ejemplos incluyen fenilo, naftilo y antracenilo así como sistemas parcialmente saturados tales como tetrahidronaftilo, indanilo e indenilo. Otro ejemplo de grupo arilo es el 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno.

40 Los términos "heteroarilo" y "heteroaromático" se refieren a un grupo cíclico con carácter aromático que tiene de 5 a 14 átomos en el anillo (a menos que se especifique lo contrario, por ejemplo de 5 a 10 átomos en el anillo), al menos uno de los cuales es un heteroátomo seleccionado entre N, O y S, y que contienen hasta tres anillos. Cuando un grupo heteroarilo contiene más de un anillo, no todos los anillos deben ser de carácter aromático. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridina, pirimidina, indol, benzofurano, bencimidazol e indoleno. Otros ejemplos de grupos heteroarilo incluyen quinolina e isoquinolina.

45 El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo y el término "halo" a grupos fluoro, cloro, bromo o yodo.

El término "haloalquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado como se define anteriormente que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y sustituido con uno o más átomos de halo, hasta sustitución perhalo. Los ejemplos incluyen trifluorometilo, cloroetilo y 1,1-difluoroetilo. Otros grupos haloalquilo, por ejemplo haloalquilo C₁₋₅, haloalquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₃ o haloalquilo C₁₋₂ son como se definen anteriormente pero contienen diferentes números de átomos de carbono.

50 El término "cadena lateral" se refiere al resto -Y-R⁷. En AUDC, -YR⁷ es -CH₂CH₂-C(O)OH y las referencias a una cadena lateral variante se refieren a restos -YR⁷ distintas a ésta.

55 El término "variante isotópica" se refiere a compuestos marcados isotópicamente que son idénticos a los enumerados en la fórmula (I), excepto por el hecho de que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o número de masa más comúnmente encontrado en la naturaleza, o en el que se ha aumentado la proporción de un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa que se encuentra menos comúnmente en la naturaleza (este último concepto se denomina "enriquecimiento

isotópico"). Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor, yodo y cloro tales como ^2H (deuterio), ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I o ^{125}I (por ej. ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I o ^{125}I), que pueden ser isótopos de origen natural o no natural.

5 Las sales de los compuestos de fórmula general (I) son sales farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, también se pueden usar sales que no son farmacéuticamente aceptables, por ejemplo en compuestos que son intermedios en la preparación de compuestos de fórmula general (I) o cuando se llevan a cabo reacciones para preparar compuestos de fórmula general (I) con cadenas laterales alternativas.

10 Las sales apropiadas de los compuestos descritos en el presente documento incluyen sales de adición básicas tales como sodio, potasio, calcio, aluminio, zinc, magnesio y otras sales metálicas, así como colina, dietanolamina, etanolamina, etildiamina, meglumina y otras sales de adición básicas bien conocidas como resumido en Paulekuhn et al., J. Med. Chem. 2007, 50, 6665-6672 y/o conocido por los expertos en la técnica.

Como se analizó anteriormente, en los compuestos de fórmula general (I), R^{3b} es F y cada uno de R^{2a} , R^{2b} y R^{3a} es H o F.

Algunos compuestos adecuados de la presente invención son monofluorados.

15 En algunos compuestos monofluorados, R^{3b} es F y cada uno de R^{3a} , R^{2a} y R^{2b} es H, es decir, el compuesto de fórmula general (I) tiene un sustituyente 4 β -fluoro.

Algunos compuestos adecuados de fórmula general (I) están difluorados. En algunos compuestos difluorados adecuados de fórmula general (I), R^{3b} es F, R^{3a} es H, uno de R^{2a} y R^{2b} es F y el otro de R^{2a} y R^{2b} es H, es decir, el compuesto de fórmula general (I) tiene un sustituyente 2-fluoro y un sustituyente 4 β -fluoro.

20 En otros compuestos difluorados adecuados de fórmula general (I), R^{3a} y R^{3b} son tanto F como R^{2a} y R^{2b} son ambos H, de modo que el compuesto de fórmula general (I) es un compuesto sustituido con 4,4-difluoro.

El compuesto de fórmula general (I) puede ser un compuesto tetrafluorado en el que todos los R^{2a} , R^{2b} , R^{3a} y R^{3b} son F.

En los compuestos de fórmula general (I), adecuadamente R^{6a} y R^{6b} son ambos hidrógeno y/o R^8 es metilo.

25 En algunos compuestos adecuados, R^5 es etilo, OH o metoxi, particularmente etilo o metoxi y especialmente etilo.

En algunos compuestos más adecuados, R^5 es metoxi.

En compuestos particularmente adecuados, R^5 es etilo.

En algunos compuestos adecuados de fórmula general (I), Y es un enlace.

30 En otros compuestos adecuados de fórmula general (I), Y es un alquíleno C_{1-4} o un grupo conector alquenileno C_{2-4} cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más $\text{R}^{1°}$ como se definió anteriormente. Más adecuadamente en estos compuestos, Y es una C_{1-4} , C_{1-3} o C_{1-2} grupo conector alquíleno que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos $\text{R}^{1°}$ como se definió anteriormente.

En algunos compuestos de fórmula general (I), Y no está sustituido.

En otros compuestos de fórmula general (I), Y está sustituido por uno o más sustituyentes $\text{R}^{1°}$.

35 En algunos casos, $\text{R.}^{1°}$ es halo.

En otros casos, $\text{R.}^{1°}$ es OH.

Ejemplos de conectores Y adecuados incluyen un enlace, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH(OH)}\text{CH}_2-$, $-\text{CH=CH}-$ o $-\text{CH=C(CH}_3)-$, en particular, un enlace, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH=CH}-$ o $-\text{CH=C(CH}_3)-$, especialmente $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH=CH}-$ o $-\text{CH=C(CH}_3)-$.

40 Más adecuadamente, Y es un enlace, o un grupo conector alquíleno C_{1-3} que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos OH. Aún más adecuadamente, Y es un grupo conector alquíleno C_{1-3} que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos OH.

En algunos compuestos particularmente adecuados, Y es un enlazador de alquíleno C_{1-3} no sustituido.

45 En compuestos particularmente adecuados de fórmula general (I), Y es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, especialmente $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

En los compuestos de la presente invención, R⁷ es más adecuadamente C(O)NR¹⁷SO₂R¹⁵ o NR¹⁷C(O)NR¹⁸SO₂R¹⁵, donde R¹⁵, R¹⁷ y R¹⁸ son como se definen anteriormente para la fórmula general (I).

Más adecuadamente, cada uno de R¹⁷ y R¹⁸ (si está presente) es H.

5 En algunos compuestos adecuados de fórmula general (I), R¹⁵ se selecciona de fenilo y heteroarilo de 5 o 6 miembros, por ejemplo piridilo, pirimidinilo o pirrolilo, cualquiera de los cuales puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes como se define antes, especialmente de 1 a 3 sustituyentes, más habitualmente 1 o 2 sustituyentes, y particularmente 1 sustituyente. Más adecuadamente, R¹⁵ es fenilo o un grupo heteroarilo de 6 miembros, cualquiera de los cuales está sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes como se define antes, especialmente de 1 a 3 sustituyentes, más habitualmente 1 o 2 sustituyentes y particularmente 1 sustituyente.

10 Sustituyentes particularmente adecuados para restos R¹⁵ se seleccionan de fluoro, alquilo C₁₋₄, fluoroalquilo C₁₋₄, O(alquilo C₁₋₄) y O(fluoroalquilo C₁₋₄).

Ejemplos de grupos R¹⁵ en los compuestos de fórmula general (I) incluyen fenilo que no está sustituido o está sustituido con un único sustituyente seleccionado entre fluoro, alquilo C₁₋₄, fluoroalquilo C₁₋₄, O(alquilo C₁₋₄) y O(fluoroalquilo C₁₋₄), especialmente fluoro, metilo, etilo, N-propilo, i-propilo, N-butilo, s-butilo, t-butilo, trifluorometilo, metoxi y trifluorometoxi.

cuando R⁷ es NR¹⁷C(O)NR¹⁸SO₂R¹⁵ y R¹⁵ es fenilo con un único sustituyente, el sustituyente puede estar en cualquier posición del anillo pero lo más adecuado es un sustituyente *m*- o *p*-, especialmente un sustituyente *p*- . En particular, cuando R⁷ es NR¹⁷C(O)NR¹⁸SO₂R¹⁵ y R¹⁵ es fenilo sustituido con CF₃, se prefiere que el CF₃ sustituyente está en posición *m*- o *p*-.

20 Ejemplos de compuestos de fórmula general (I) incluyen:

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*p*-toluenosulfonilurea (Compuesto 1);

N,N'-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto 2);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-4-(*terc*-butil)bencenosulfonilurea (Compuesto 3);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*m*-toluenosulfonilurea (Compuesto 4);

25 *N,N*-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-O-toluenosulfonilurea (Compuesto 5);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*p*-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 6);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*m*-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 7);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-O-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 8);

N,N'-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*p*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 9);

30 *N,N'*-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*m*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 10);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*o*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 11);

N,N'-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (Compuesto 12);

N,N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-*p*-metoxibencenosulfonilurea (Compuesto 13);

N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-*p*-trifluorometoxibencenosulfonamida (Compuesto 14);

35 *N*-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-*p*-fluorobencenosulfonamida (Compuesto 15);

N'-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-3-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 16);

N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-2-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 17);

N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-4-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 18);

N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-3-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 19);

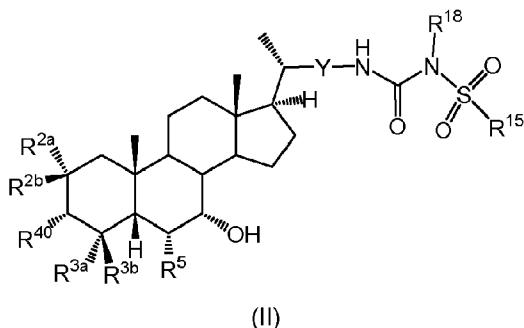
40 *N*-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4*β*-fluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-2-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 20);

N,N'-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4,4-difluoro-6*a*-etil-24-nor-5*β*-olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto 21)

N-(3*a*,7*a*-dihidroxil-4,4-difluoro-6*a*-etil-5*β*-olan-24-oil)-bencenosulfonamida (Compuesto 22);

y sales y variantes isotópicas de los mismos.

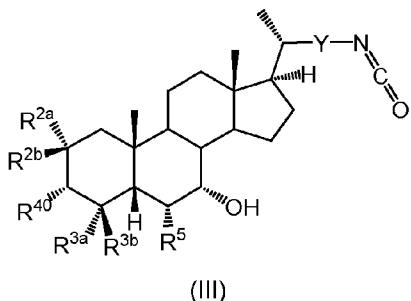
Un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es NHC(O)N(R)¹⁸SO₂R¹⁵ se puede preparar desprotegiendo un compuesto de fórmula general (II):



- 5 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁰ es un grupo OH protegido.

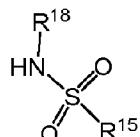
De manera adecuada, el grupo protector es uno que puede eliminarse mediante tratamiento con una base. Ejemplos de grupos OH protegidos de este tipo incluyen R⁴¹C(O)O, donde R⁴¹ es C₁₋₆ alquilo o bencilo, especialmente metilo. También se pueden usar grupos protectores de éter silílico. Otros grupos protectores adecuados para OH son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase Wuts, PGM y Greene, TW (2006)).

- 10 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (II) a partir de un compuesto de fórmula general (III):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁰ es como se define para la fórmula general (II);

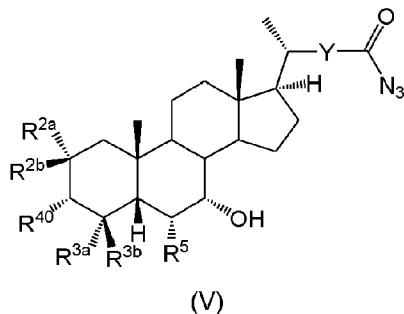
por reacción con una sulfonamida de fórmula general (IV):



- 15 donde R¹⁵ y R¹⁸ son como se definen para la fórmula general (I) en presencia de un catalizador tal como 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) y adecuadamente en un disolvente orgánico tal como tolueno.

Las sulfonamidas de fórmula general (IV) son conocidas y están fácilmente disponibles o pueden prepararse mediante procedimientos conocidos.

- 20 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (III) calentando un compuesto de fórmula general (V):

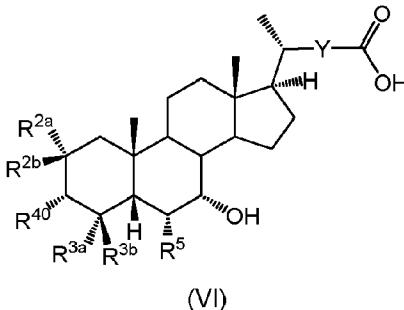


donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R^{4°} es como se define para la fórmula general (II);

en atmósfera inerte, por ejemplo bajo argón.

- 5 De manera adecuada, el compuesto de fórmula general (V) se calienta hasta aproximadamente 100 a 150 °C, típicamente aproximadamente 125 °C.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (V) a partir de un compuesto de fórmula general (VI):

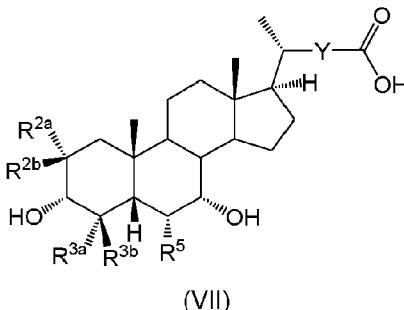


- 10 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R^{4°} es como se define para la fórmula general (II);

mediante reacción con difenilfosforilazida en condiciones básicas, por ejemplo en presencia de trietilamina.

La reacción se lleva a cabo adecuadamente en una atmósfera inerte, por ejemplo bajo argón.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (VI) protegiendo un compuesto de fórmula general (VII):

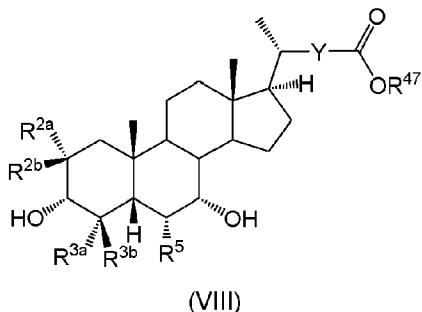


- 15 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I).

Por ejemplo, cuando el grupo OH protegido R^{4°} es acetoxi, el compuesto de fórmula general (VII) se puede hacer reaccionar con anhídrido acético en condiciones ligeramente básicas, por ejemplo en presencia de bicarbonato de sodio.

La reacción se lleva a cabo adecuadamente en una atmósfera inerte, por ejemplo bajo argón.

- 20 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (VII) mediante hidrólisis de un compuesto de fórmula general (VIII):

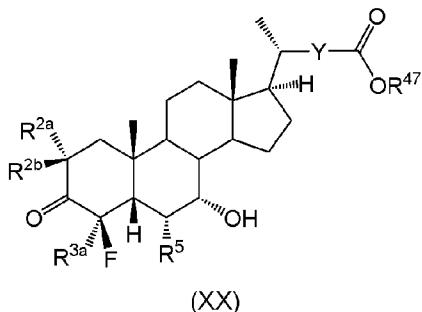


donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁷ es C₁₋₆ alquilo o bencilo.

La hidrólisis puede ser una hidrólisis catalizada por bases, usando, por ejemplo, un hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido de sodio o litio. Convenientemente, la reacción se lleva a cabo en un disolvente alcohólico tal como metanol.

5

Un compuesto de fórmula general (VIII) en la que R^{3b} es F puede prepararse reduciendo un compuesto apropiado de fórmula general (XX):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII).

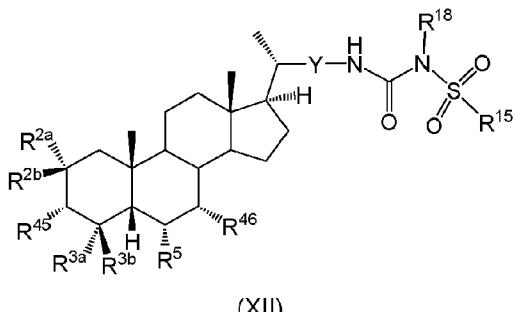
10

Los agentes reductores adecuados incluyen hidruros, por ejemplo borohidruro de sodio. La reacción se lleva a cabo adecuadamente bajo una atmósfera inerte tal como argón y en un disolvente orgánico tal como tetrahidrofurano.

Procedimientos para la preparación de un compuesto de fórmula general (XX) y un compuesto de fórmula general (VIII) en la que R^{2b} es F se analizan a continuación.

15

En un procedimiento alternativo, se puede utilizar un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es NHC(O)N(R)¹⁸SO₂R¹⁵ puede prepararse desprotegiendo un compuesto de fórmula general (XII):

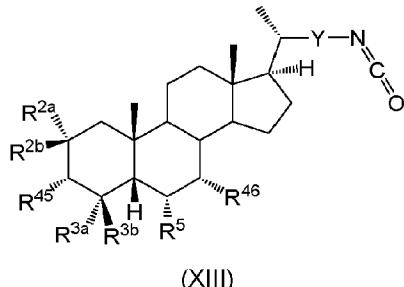


donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y cada uno de R⁴⁵ y R⁴⁶ es independientemente un grupo OH protegido.

20

Adecuadamente, cada uno de R⁴⁵ y R⁴⁶ es independientemente un éter silílico, por ejemplo terc-butildimetilsiloxi o trimetilsiloxi. cuando R⁴⁵ y R⁴⁶ son éteres silílicos, pueden ser iguales o diferentes y la desprotección se puede lograr mediante el tratamiento con un reactivo como el fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF). También se pueden usar grupos protectores alternativos, por ejemplo un grupo R⁴¹C(O)O como en la fórmula general (II) anterior. Otros grupos protectores son bien conocidos en la técnica (ver Wuts, PGM y Greene, TW (2006)).

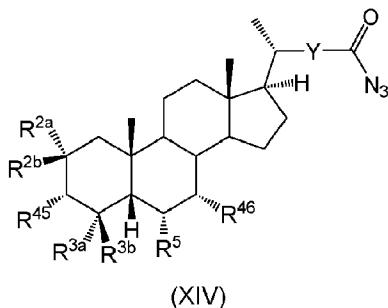
Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XII) a partir de un compuesto de fórmula general (XIII):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁵ y R⁴⁶ son como se definen para la fórmula general (XII);

- 5 mediante reacción con una sulfonamida de fórmula general (IV) como se define anteriormente en presencia de un catalizador tal como 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) y adecuadamente en un disolvente orgánico tal como tolueno.

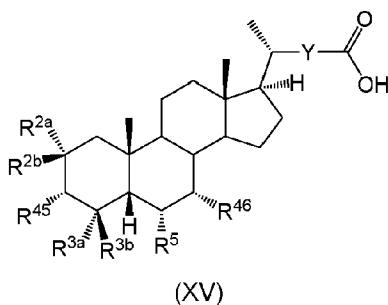
Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XIII) calentando un compuesto de fórmula general (XIV):



- 10 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁵ y R⁴⁶ son como se definen para la fórmula general (XII);

en atmósfera inerte, por ejemplo bajo argón.

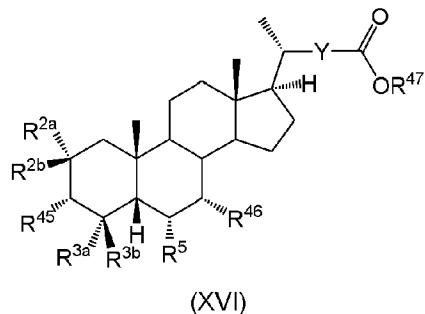
Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XIV) a partir de un compuesto de fórmula general (XV):



- 15 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁵ y R⁴⁶ son como se definen para la fórmula general (XII);

mediante reacción con difenilfosforilazida en condiciones básicas, por ejemplo en presencia de trietilamina.

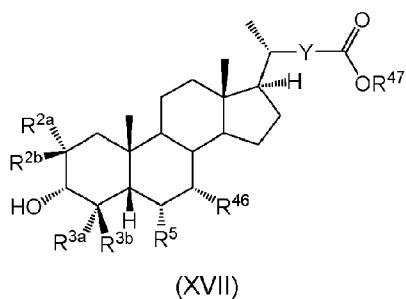
Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XV) hidrolizando un compuesto de fórmula general (XVI):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I), R⁴⁵ y R⁴⁶ son como se definen para la fórmula general (XII) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII).

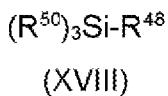
- 5 Convenientemente, la hidrólisis se lleva a cabo en condiciones básicas, por ejemplo mediante tratamiento con un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido de sodio o litio. Adecuadamente, la reacción se lleva a cabo en un disolvente alcohólico.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XVI) protegiendo un compuesto de fórmula general (XVII):



- 10 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I), R⁴⁶ es como se define para la fórmula general (XII) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII).

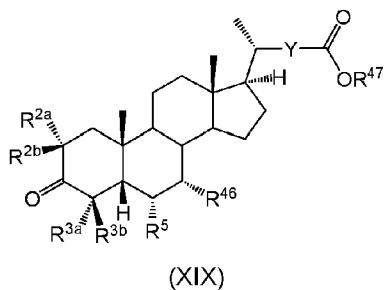
Cuando el grupo OH protegido R⁴⁵ es un éter silílico, la protección se puede lograr haciendo reaccionar el compuesto de fórmula general (XVII) con un compuesto de fórmula general (XVIII):



- 15 donde R⁴⁸ es un grupo saliente, típicamente un haluro, por ejemplo fluoruro, cloruro o bromuro, o un grupo sulfonilo tal como trifiloso, tosilo o mesilo; y donde cada R⁵⁰ es independientemente, por ejemplo, C₁₋₆ alquilo o fenilo tal que el grupo R⁴⁵ en el compuesto de fórmula general (XVI) será (R⁵⁰)₃Si-O.

La reacción se puede llevar a cabo bajo una atmósfera inerte en presencia de una base tal como 2,6-lutidina y a una temperatura de aproximadamente -5 a 5 °C, típicamente aproximadamente 0 °C. Los disolventes adecuados incluyen disolventes orgánicos tales como diclorometano.

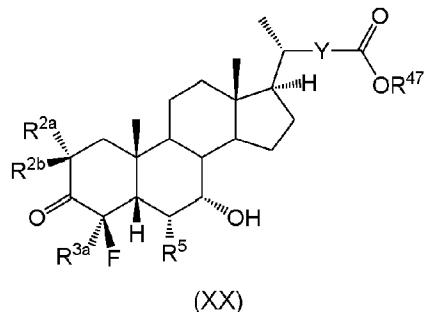
- 20 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XVII) reduciendo un compuesto de fórmula general (XIX):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I), R⁴⁶ es como se define para la fórmula general (XII) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII).

- 5 Los agentes reductores adecuados incluyen hidruros, por ejemplo borohidruro de sodio. La reducción se lleva a cabo adecuadamente en una atmósfera inerte, por ejemplo argón, a una temperatura de aproximadamente 15 a 25 °C, normalmente temperatura ambiente, y en un disolvente tal como tetrahidrofurano.

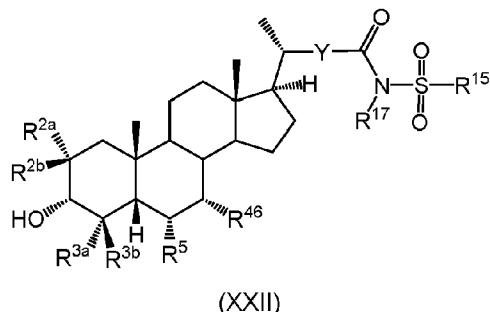
Un compuesto de fórmula general (XIX) en la que R^{3b} es F puede prepararse protegiendo un compuesto de fórmula general (XX):



- 10 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII).

Cuando el grupo OH protegido R⁴⁶ es un éter silílico, la protección se puede lograr mediante reacción con un haluro o sulfonato de sililo apropiado (por ejemplo, trifluorato, mesilato o tosilato) en presencia de una base tal como n-butil litio. Por ejemplo, cuando R⁴⁶ es trimetilsiloxi, el compuesto de fórmula general (XX) se puede hacer reaccionar con cloruro de trimetilsililo.

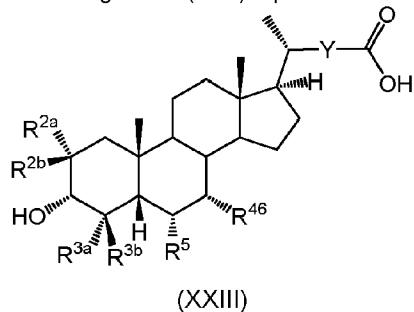
- 15 Un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es C(O)N(R)¹⁷SO₂R¹⁵ puede prepararse desprotegiendo un compuesto de fórmula general (XXII):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b}, R⁵, R¹⁵ y R¹⁷ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁶ es como se define para la fórmula general (XII).

- 20 Cuando el grupo OH protegido R⁴⁶ es un éter silílico, puede desprotegerse mediante tratamiento con una base como TBAF. La reacción se lleva a cabo adecuadamente bajo una atmósfera inerte tal como argón y en un disolvente orgánico seco tal como tetrahidrofurano.

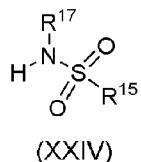
Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXII) a partir de un compuesto de fórmula general (XXIII):



- 25 donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁶ es como se define para la fórmula

general (XII);

por reacción con una sulfonamida de fórmula general (XXIV):



donde R^{15} y R^{17} son como se definen para la fórmula general (I);

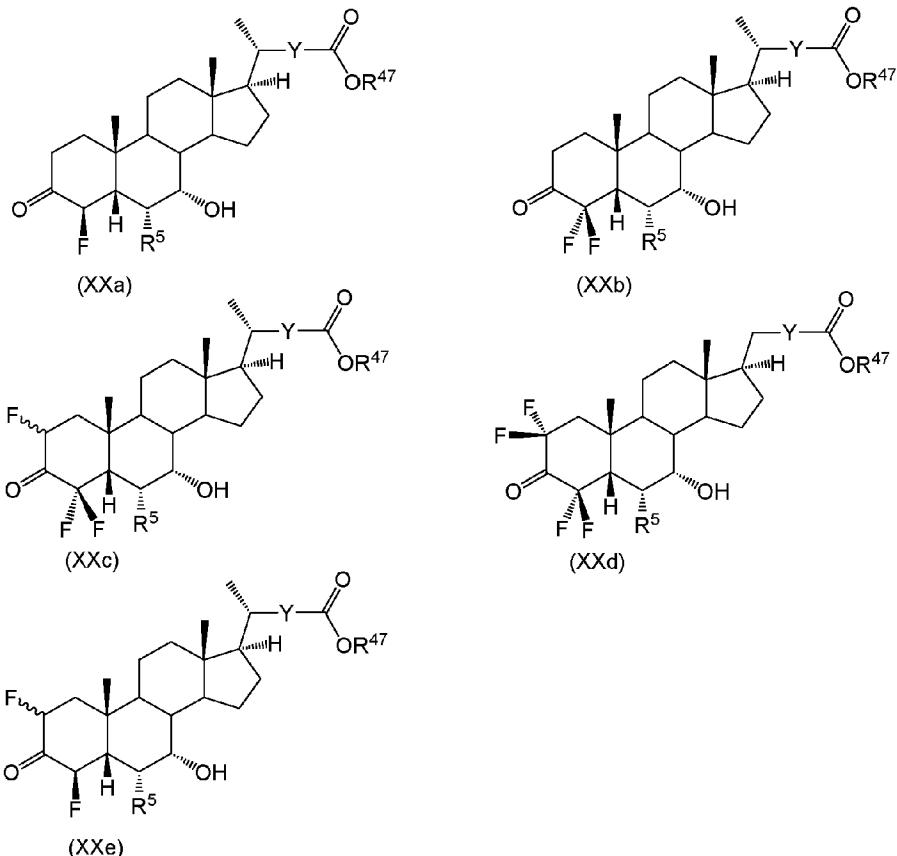
- en presencia de un agente de acoplamiento tal como 1-etil-3(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) y una base tal como dimetilaminopiridina.

Un compuesto de fórmula general (XXIII) se puede preparar mediante hidrólisis de un compuesto de fórmula general (XVII), adecuadamente en condiciones básicas, por ejemplo mediante tratamiento con un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido de sodio o litio. Adecuadamente, la reacción se lleva a cabo en un disolvente alcohólico.

- 10 Para compuestos de fórmula general (I) en la que R^{2b} es F, R^{3a} y R^{3b} son H y R^7 es C(O)N(R)¹⁷)SO₂R¹⁵, se puede utilizar una ruta similar, partiendo de un compuesto de fórmula general (VII) en la que R^{2b} es F y R^{3a} y R^{3b} son H.

Como se analizó anteriormente, el compuesto de fórmula general (XVII) se puede preparar a partir de un compuesto de fórmula general (XX) mediante un compuesto de fórmula general (XIX).

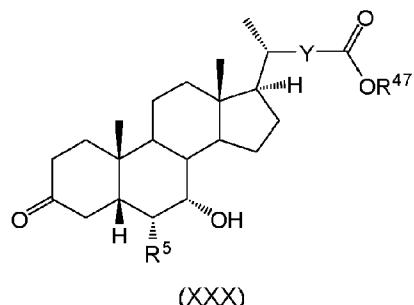
El compuesto de fórmula general (XX) puede ser un compuesto de fórmula general (XXa), (XXb), (XXc), (XXd) o (XXe):



15

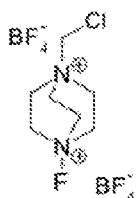
donde Y y R^5 son como se definen para la fórmula general (I) y R^{47} es como se define para la fórmula general (VIII).

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXa) a partir de un compuesto de fórmula general (XXX):



donde Y y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII); mediante un procedimiento que comprende:

- 5 (i) tratamiento con una base fuerte, como N-BuLi o diisopropilamida de litio (LDA), y un haluro de trialquilsililo, por ejemplo cloruro de trimetilsililo, seguido de (ii) fluoración electrófila del producto de la etapa (i), por ejemplo con Selectfluor® (bis(tetrafluoroborato) de (1-clorometil-4-fluoro-1,4-diazoniabiciclo[2.2.2]octano), que tiene la estructura:



Cuando se utiliza Selectfluor®, la reacción se lleva a cabo adecuadamente a una temperatura de 15 a 25 °C, típicamente a temperatura ambiente, en un disolvente orgánico polar tal como acetonitrilo.

- 10 Las bases adecuadas incluyen diisopropilamida de litio (LDA) y N-butil litio, que normalmente se utilizan en combinación con cloruro de trimetilsililo.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXb) a partir de un compuesto de fórmula general (XXa) mediante fluoración adicional, normalmente mediante un procedimiento similar al descrito anteriormente para el compuesto de fórmula general (XXa), es decir, mediante un procedimiento que comprende:

- 15 (i) tratamiento con una base fuerte, como N-BuLi o LDA, y un haluro de trialquilsililo, por ejemplo cloruro de trimetilsililo, seguido de (ii) fluoración electrófila del producto de la etapa (i), por ejemplo con Selectfluor®.

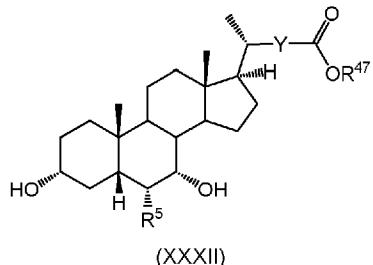
- 20 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXc) a partir de un compuesto de fórmula general (XXb) mediante tratamiento con una base fuerte, típicamente LDA usada en combinación con un haluro de trialquilsililo tal como cloruro de trimetilsililo, seguido de fluoración con Selectfluor®. Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXd) a partir de un compuesto de fórmula general (XXc) mediante fluoración adicional, normalmente con Selectfluor® y una base débil tal como trietilamina.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXe) a partir de un compuesto de fórmula general (XXa) mediante reacción con un compuesto de fórmula (XXXI):



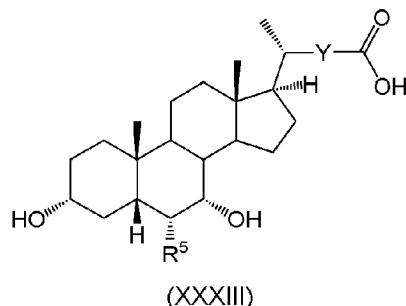
- 25 donde cada R¹³ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆ y fenilo y R⁵¹ es halo, por ejemplo cloro; en presencia de una base fuerte como diisopropilamida de litio seguida de fluoración, normalmente con Selectfluor®.

Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXX) a partir de un compuesto de fórmula general (XXXII):



donde Y y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I) y R⁴⁷ es como se define para la fórmula general (VIII); por oxidación, típicamente con un agente tal como (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oxidanilo (TEMPO) o (diacetoxiyodo)benceno (BAIB).

- 5 Se puede preparar un compuesto de fórmula general (XXXII) mediante esterificación de un ácido carboxílico de fórmula general (XXXIII):



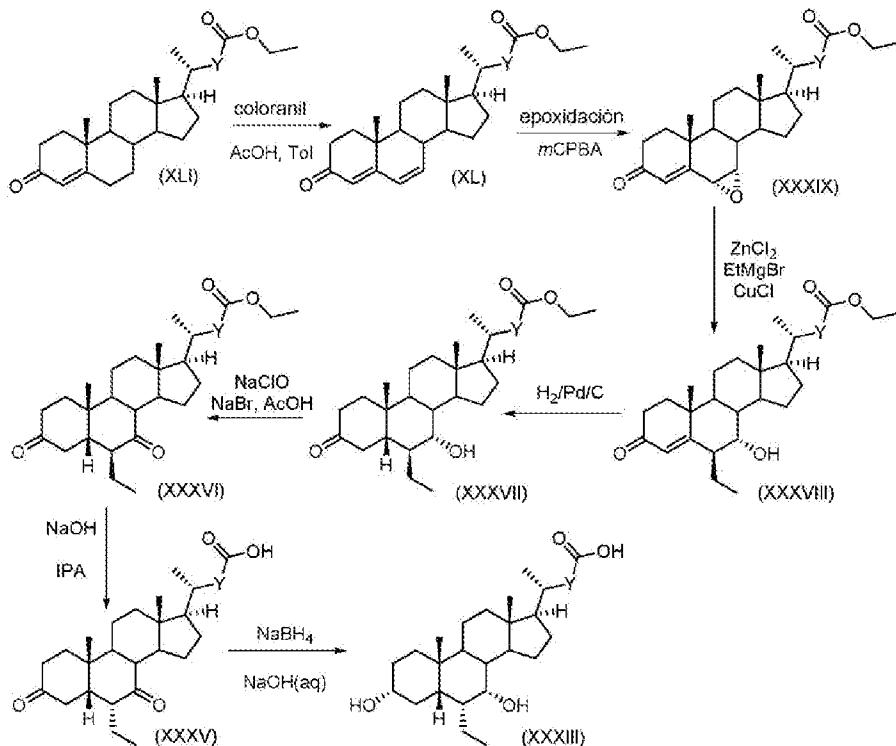
donde Y y R⁵ son como se definen para la fórmula general (I);

por reacción con un alcohol de fórmula R⁴⁷-OH en presencia de un ácido, por ejemplo ácido p-toluenosulfónico o ácido metanosulfónico.

- 10 Se conocen compuestos de fórmula general (XXXIII). El compuesto de fórmula general (XXXIII) en la que R⁵ es etilo e Y es -CH₂CH₂- es ácido obeticólico (ver WO 02/072598).

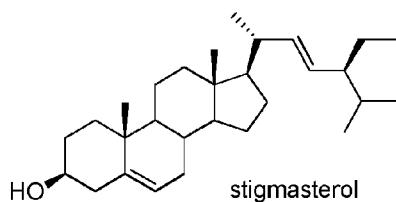
Nuestras solicitudes anteriores WO 2016/079518, WO 2016/079518, WO 2016/079519, WO 2016/079520, WO 2017/199036 y WO 2017/199033 describen procedimientos para preparar compuestos de fórmula general (XXXIII) según el Esquema 1, en el que Y es como se define para la fórmula general (I).

Esquema 1

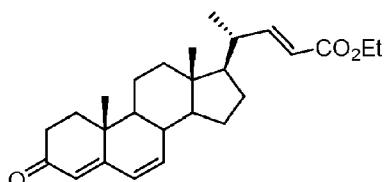


15

Se conocen algunos compuestos de fórmulas generales (XL) y (XLI) y por ejemplo Uekawa *et al* (2004) Describa la síntesis del éster etílico del ácido (22E)-3-oxo-4,22-coladien-24-oico a partir de estigmasterol:



seguido de su conversión en éster etílico del ácido (22E) -3-oxo-4,6,22-colatrien-24-oico:



- 5 Uekawa *et al* luego continúe describiendo la conversión de este compuesto a (6 α , 7 α , 22E)-6,7-epoxi-3-oxo-4,22-coladien-24-oico éster etílico.
- Se pueden preparar otros compuestos de fórmulas generales (XL) y (XLI) mediante procedimientos análogos a partir de fitoesteroles similares al estigmasterol.
- El estigmasterol y otros fitoesteroles son esteroles vegetales y están fácilmente disponibles o pueden prepararse mediante rutas conocidas.
- 10 Los compuestos de fórmula general (I) son agonistas de FXR y, por tanto, son útiles en el tratamiento o profilaxis de enfermedades y afecciones mediadas por FXR.
- Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención se proporciona un compuesto de fórmula general (I) para uso en medicina.
- 15 El compuesto puede usarse en medicina humana o veterinaria, adecuadamente para el tratamiento de un mamífero, particularmente un ser humano.
- Los compuestos de fórmula general (I) son de uso particular en el tratamiento o prevención del síndrome metabólico que incluye esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); cirrosis biliar primaria; colangitis esclerosante primaria; atresia biliar; enfermedad hepática colestásica; infección por hepatitis C; enfermedad hepática alcohólica; fibrosis; y daño hepático derivado de la fibrosis.
- 20 La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula general (I) en la preparación de un agente para el tratamiento o prevención de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); cirrosis biliar primaria; colangitis esclerosante primaria; atresia biliar; enfermedad hepática colestásica; infección por hepatitis C; enfermedad hepática alcohólica; fibrosis; o daño hepático derivado de la fibrosis.
- La fibrosis incluye fibrosis del hígado, riñones e intestinos.
- 25 La fibrosis hepática puede estar asociada con EHNA, enfermedad hepática alcohólica o enfermedad del hígado graso no alcohólica. Alternativamente, la fibrosis hepática puede estar asociada con una infección como la hepatitis, especialmente la hepatitis B o la hepatitis C, o una enfermedad hepática parasitaria. Otras causas de fibrosis hepática incluyen daños inducidos por trastornos congénitos como la enfermedad de Wilson, la enfermedad de Gaucher, los trastornos por almacenamiento de glucógeno, la hemocromatosis, el síndrome de Zellweger y la fibrosis hepática congénita. La fibrosis hepática también puede ser inducida por fármacos como clorpromazina, tolbutamida, metotrexato, isoniazida y metildopa.
- La fibrosis de los riñones puede estar asociada con enfermedades tales como nefropatía diabética, nefroesclerosis hipertensiva, glomerulonefritis, nefritis intersticial, glomerulopatía asociada con trasplantes y poliquistosis renal.
- La fibrosis intestinal puede estar asociada con un trastorno intestinal.
- 35 Los trastornos intestinales incluyen el síndrome del intestino irritable, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Los compuestos de fórmula general (I) se proporcionan adecuadamente en una composición farmacéutica y en un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula general (I) y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 40 Los excipientes o vehículos particulares utilizados dependerán de la vía de administración seleccionada y deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el

receptor.

Las composiciones de la invención también pueden incluir uno o más ingredientes activos adicionales adecuados para tratar una o más de las enfermedades y afecciones enumeradas anteriormente.

5 Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, bronquial (inhalada), tópica (incluyendo gotas para los ojos, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica) y pueden prepararse bien mediante cualquier procedimiento conocido en el arte de la farmacia.

10 La composición se puede preparar asociando el agente activo definido anteriormente con el vehículo. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente el agente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto. La invención se extiende a procedimientos para preparar una composición farmacéutica que comprende poner un compuesto de fórmula general (I) en conjunción o asociación con un excipiente o vehículo farmacéutica o veterinariamente aceptable.

15 Las formulaciones para administración oral en la presente invención pueden presentarse como: unidades discretas tales como cápsulas, sobres o tabletas, cada una de las cuales contiene una cantidad predeterminada del agente activo; en forma de polvo o gránulos; como una solución o suspensión del agente activo en un líquido acuoso o en un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite; o como bolo, etc.

20 Para composiciones para administración oral (por ejemplo, tabletas y cápsulas), el término "vehículo aceptable" incluye vehículos tales como excipientes comunes, por ejemplo, agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, polivinilpirrolidona (povidona), metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmelcelulosa, sacarosa y almidón; cargas y vehículos, por ejemplo almidón de maíz, gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro sódico y ácido algínico; y lubricantes tales como estearato de magnesio, estearato de sodio y otros estearatos metálicos, estearato de glicerol, ácido esteárico, fluido de silicona, ceras de talco, aceites y sílice coloidal. También se pueden utilizar agentes aromatizantes tales como menta, aceite de gaulteria, aromatizantes de cereza y similares. Puede ser deseable añadir un agente colorante para que la forma de dosificación sea fácilmente identificable. Las tabletas también pueden recubrirse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica.

25 Se puede preparar una tableta mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el agente activo en una forma que fluye libremente, tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Las tabletas moldeadas se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, las tabletas pueden estar recubiertos o ranurados y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo.

30 35 Otras formulaciones adecuadas para administración oral incluyen pastillas que comprenden el agente activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el agente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el agente activo en un vehículo líquido adecuado.

40 45 Para la aplicación tópica a la piel, los compuestos de fórmula general (I) o (II) se pueden preparar en una crema, ungüento, gelatina, solución o suspensión, etc. Las formulaciones de crema o ungüento que se pueden usar para el fármaco son también formulaciones convencionales, conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en libros de texto estándar de farmacéutica tales como la Farmacopea Británica.

Las formulaciones parenterales generalmente serán estériles.

Figuras

45 En las figuras, * representa valores de $p < 0,05$, ** representa valores de $p < 0,01$ y *** representa valores de $p < 0,001$.

Figura 1 muestra el cambio en la expresión de SHP después de 24 horas de incubación de la línea celular de hepatoma humano Huh7 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 2 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Figura 2 muestra el cambio en la expresión de OSTa después de 24 horas de incubación de la línea celular de hepatoma humano Huh7 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 2 (en CE₅₀ y CE₉₀).

50 55 **Figura 3** muestra el cambio en la expresión de CYP7A1 después de 24 horas de incubación de la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 con control, OCA (CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 2 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Figura 4 muestra el cambio en la expresión de TGFβ1 después de 24 horas de incubación de la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 2 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Figura 5 muestra el cambio en la expresión de SHP después de 24 horas de incubación de la línea celular de hepatoma humano Huh7 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 14 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Figura 6 muestra el cambio en la expresión de OSTα después de 24 horas de incubación de la línea celular de hepatoma humano Huh7 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 14 (en CE₅₀ y CE₉₀).

5 **Figura 7** muestra el cambio en la expresión de CYP7A1 después de 24 horas de incubación de la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y compuesto 14 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Figura 8 muestra el cambio en la expresión de TGFβ1 después de 24 horas de incubación de la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 con control, OCA (en CE₅₀ y CE₉₀) y Compuesto 14 (en CE₅₀ y CE₉₀).

Ejemplos

10 En los Ejemplos, se utilizan las siguientes abreviaturas.

Ac₂O Anhídrido acético

DBU 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno

DMAP Dimetilaminopiridina

EDCI 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

15 Equiv Equivalentes

Et₃N Trietilamina

EtOAc Acetato de etilo

IPA Alcohol isopropílico

h Horas

20 HDCA ácido hiodesoxicólico

HPLC Cromatografía líquida de alta resolución

LDA Diisopropilamida de litio

MeOH Metanol

n-BuLi n-Butil litio

25 OCA ácido obeticólico

PE éter de petróleo

PTFE Politetrafluoroetileno

pTSA Ácido p-toluenosulfónico

RT/TA Temperatura ambiente

30 sat Saturado

TBAF Fluoruro de tetrabutilamonio

TBDMS-OTf Sulfonato de terc-butildimethylsilyl trifluorometano

TEMPO (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-il)oxidanilo

THF Tetrahidrofurano

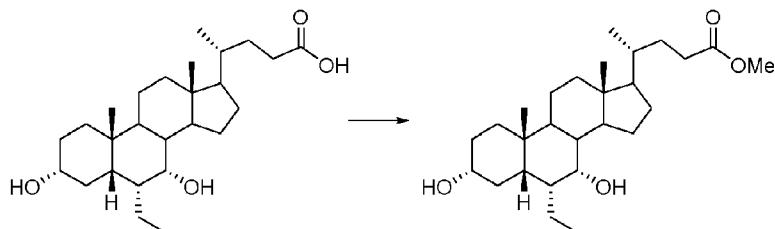
35 TMS-Cl Cloruro de trimetilsililo

TMS-OTf Sulfonato de trimetilsililo trifluorotrifluorometano

TLC Cromatografía de capa fina

EJEMPLO 1 - Síntesis de análogos del ácido 3 α -hidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -colánico con cadenas laterales sustituidas con sulfonilurea

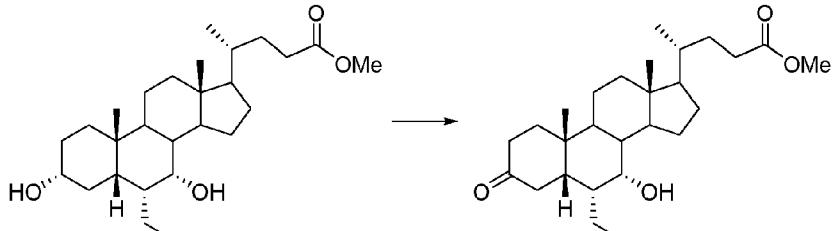
A. 6 α -etil-3 α ,7 α -dihidroxil-5 β -olan-24-oato de metilo



- 5 A una solución de OCA (23,5 g, 55,87 mmol) en MeOH (540 ml) a temperatura ambiente se le añadió ácido *para*-toluenosulfónico (1,02 mg, 5,59 mmol, ~0,1 equiv.) y se sonicó a 30 °C durante 3 h. Al finalizar la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en cloroformo (500 ml) y se lavó con NaHCO₃ saturado (500 ml), H₂O (500 ml) y salmuera (500 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir el compuesto del título como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo. El sólido resultante se usó sin purificación adicional.
- 10 **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 3,70 (1H, s), 3,67 (3H, s), 3,44-3,37 (1H, m), 2,40-2,32 (1H, m), 2,26-2,18 (1H, m), 1,96 (1H, dt, J = 12,0, 2,6 Hz), 1,92-1,76 (6H, m), 1,69-1,59 (3H, m), 1,58-1,12 (14H, m), 1,00 (1H, td, 14,2, 3,3 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,90 (3H, s), 0,90 (3H, t, J = 7,4 Hz), 0,66 (3H, s) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 452,4 [M+NH₄]⁺, 100 %.

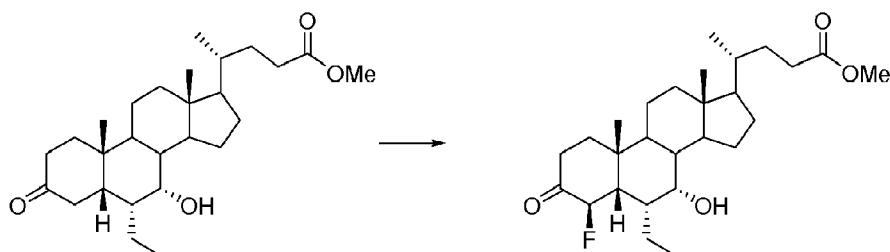
B. 6 α -etil-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo



- 15 A una solución agitada de 6 α -etil-3 α ,7 α -dihidroxil-5 β -olan-24-oato de metilo de la etapa A (9,53 g, 21,9 mmol) en H₂O (22 ml) y *terc*-butanol (88 ml) a TA se añadió KBr (5,22 g, 43,9 mmol, ~2,0 equiv.), KHCO₃ (22,0 g, 219 mmol, ~10 equiv.) y TEMPO (4,45 g, 28,5 mmol, ~1,3 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y recibió NaClO (28 ml, 32,9 mmol, ~1,5 equiv.) gota a gota a una velocidad de 4 ml por hora durante 7 horas. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición lenta de Na₂S₂O₃ saturado 1:1 (250 mL) y se diluyó con EtOAc (200 mL). Se eliminó la fase orgánica seguido de retroextracción de la fase acuosa con EtOAc (3 x 150 mL). Fases orgánicas combinadas, secadas sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 14,2 g de material bruto en forma de un aceite de color naranja. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna (elución en gradiente de acetona en PE 40-60, 0-20 %) para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (8,48 g, 89 %).
- 20 **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 3,78 (1H, d, J = 2,2 Hz), 3,67 (3H, s), 3,07 (1H, dd, J = 15,2, 13,5 Hz), 2,46-2,33 (2H, m), 2,29-1,91 (7H, m), 1,84-1,77 (1H, m), 1,74-1,15 (18H, m), 1,00 (3H, s), 0,94 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,91 (3H, t, J = 7,4 Hz), 0,70 (3H, s) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 450,3 [M+NH₄]⁺, 100 %.

C. 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo



- 30 A una solución agitada y preenfriada de diisopropilamina (0,78 ml, 5,54 mmol, ~12 equiv.) en THF seco (6,9 ml) a -78 °C se le añadió *N*-BuLi en hexanos (1,44 ml, 2,31 mmol, ~5,0 equiv.) gota a gota durante 0,25 h en atmósfera de

5 argón. Después de la adición, se añadió cloruro de trimetilsililo (0,29 ml, 2,31 mmol, ~5,0 equiv.) y se agitó durante 1 h. Una solución de 6α-etyl-7α-hidroxil-3-oxo-5β-colan-24-oato de metilo de la etapa B (200 mg, 0,46 mmol) en THF seco (3 ml) y trietilamina (1,16 ml, 8,32 mmol, ~ Luego se añadieron 18 equiv.). Despues de la adición, la reacción se dejó calentar gradualmente hasta -20°C y se agitó durante 2 h. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de NaHCO₃ saturado (5 ml) y se calentó a temperatura ambiente durante 2 h. Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 10 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron al vacío para proporcionar 271 mg de material bruto en forma de un residuo amarillo.

10 A una solución agitada del material bruto resultante en MeCN (13 ml) se añadió Selectfluor® y la mezcla se agitó durante 16 h. Al finalizar la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc (20 ml) y se acidificó con HCl 2 M (30 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 15 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron al vacío para producir 196 mg de material bruto en forma de un sólido verde. La purificación por HPLC usando hexano/acetona (90/10) como eluyente produjo una mezcla inseparable del compuesto del título y 2β-fluoro-3-oxo-6α-etyl-7α-hidroxil-5β-colan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (79 mg, 0,18 mmol, 37 % del compuesto del título, considerando 1 % de contaminación de metil-2β-fluoro-3-oxo-6α-etyl-7α-hidroxil-5β-colan-24-oato por RMN ¹H).

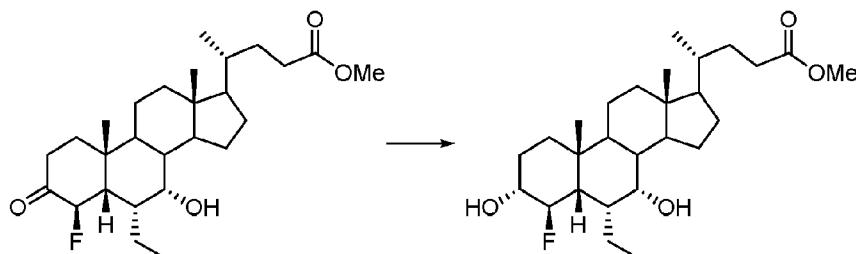
15

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,94 (1H, dd, *J* = 46,5, 10,9 Hz), 3,88 (1H, s), 3,65 (3H, s), 2,49 (1H, td, *J* = 14,6, 5,0 Hz), 2,38-2,09 (4H, m), 2,01-1,30 (18H, m), 1,25-1,14 (3H, m), 1,04 (3H, s), 0,93-0,89 (6H, m), 0,68 (3H, s) ppm.

20 **RMN ¹⁹F** (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -194,3 (1F, dd, *J* = 46,8, 13,9 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 468,4 [M+NH₄]⁺, 100 %.

D. 6α-etyl-4β-fluoro-(3α,7α)-dihidroxil-5β-colan-24-oato de metilo



25 A una solución agitada de 6α-etyl-4β-fluoro-7α-hidroxil-3-oxo-5β-colan-24-oato de metilo de la Etapa C (75 mg, 0,17 mmol) en THF seco (6,7 ml) a temperatura ambiente se le añadió NaBH₄ (19 mg, 0,50 mmol, ~3,0 equiv.) y se agitó durante 16 h en atmósfera de argón. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de H₂O (8 ml) y se diluyó con EtOAc (10 ml).

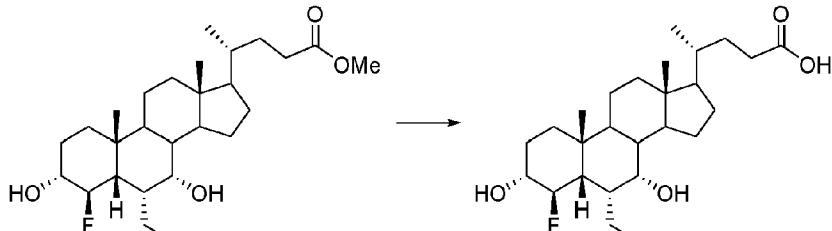
30 Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 50 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con H₂O (100 ml), secado sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron al vacío para dar 77 mg de material bruto como un residuo blanco. La purificación por HPLC usando hexano/acetona (90/10) como eluyente produjo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (55 mg, 0,12 mmol, 74 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,31 (1H, ddd, *J* = 50,0, 10,4, 8,9 Hz), 3,82 (1H, s), 3,67 (3H, s), 3,57-3,50 (1H, m), 2,36 (1H, ddd, *J* = 15,4, 10,1, 5,7 Hz), 2,27-2,18 (1H, m), 1,96-1,92 (2H, m), 1,83-1,07 (23H, m), 0,97 (3H, s), 0,94-0,92 (6H, m), 0,66 (3H, s) ppm.

35 **RMN ¹⁹F** (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -189,0 (1F, d, *J* = 50,3 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 470,4 [M+NH₄]⁺, 100 %.

E. Ácido 3α,7α-Dihidroxil-4β-fluoro-6α-etyl-5β-colánico



5 A una solución agitada de 6α -etil- 4β -fluoro-($3\alpha,7\alpha$)-dihidroxil- 5β -colan-24-oato de metilo (58 mg, 0,13 mmol) en MeOH (5 ml) a temperatura ambiente se le añadió NaOH (250 mg, solución al 5 %) y se agitó durante 18 h. Al finalizar la mezcla de reacción se concentró *al vacío* y el residuo se acidificó a pH 2 con HCl 1 M y se diluyó con EtOAc (20 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 50 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 76 mg de material bruto en forma de un aceite amarillo. La purificación por HPLC usando hexano/acetona (70/30) como eluyente produjo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (41 mg, 0,09 mmol, 72 %).

10 **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 5,31 (1H, dt, *J* = 49,9, 9,5 Hz), 3,83 (1H, s), 3,60-3,50 (1H, m), 2,36 (1H, ddd, *J* = 15,5, 10,4, 5,3 Hz), 2,26 (1H, ddd, *J* = 15,8, 9,5, 6,6 Hz), 1,97-1,91 (2H, m), 1,85-1,08 (21H, m), 0,97 (3H, s), 0,95-0,91 (6H, m), 0,67 (3H, s) ppm.

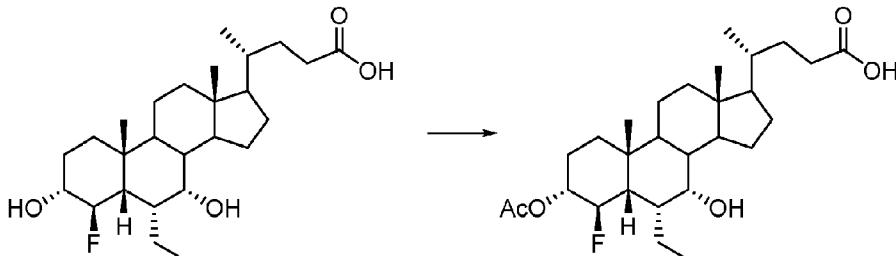
RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -188,7 (1F, d, *J* = 48,6 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 456,2, [M+NH₄]⁺, 100 %.

Síntesis de compuestos con cadenas laterales sustituidas con sulfonilurea

15 Los procedimientos siguientes se ilustran para derivados de 4β -fluoro, pero también podrían usarse para compuestos 2β -fluorados, 4,4-difluorados o 2,4-difluorados.

F. Ácido 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil- 5β -colánico



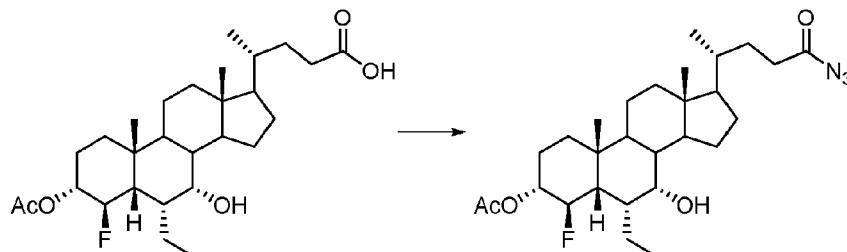
20 A una solución agitada de ácido $3\alpha,7\alpha$ -dihidroxil- 4β -fluoro- 6α -etil- 5β -colánico de la etapa E (2,08 g, 4,74 mmol) en THF seco (160 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de argón se le añadió NaHCO₃ (2,04 g, 23,7 mmol, ~5,0 equiv.) y Ac₂O (2,29 ml, 23,7 mmol, ~5,0 equiv.) gota a gota durante 5 minutos. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 16 h. Al finalizar, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó mediante la adición gota a gota de H₂O (100 ml), se acidificó con HCl 1 M (20 ml) y se diluyó con EtOAc (100 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 150 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (400 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir un aceite amarillo. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna (elución en gradiente de MeOH en CH₂Cl₂, 0-3 %) para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (660 mg, 29 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,47 (1H, dt, *J* = 49,4, 9,4 Hz), 4,78 (1H, dddd, *J* = 14,1, 11,9, 9,3, 5,0 Hz), 3,84 (1H, s), 2,41 (1H, ddd, *J* = 15,5, 10,2, 5,3 Hz), 2,27 (1H, ddd, *J* = 15,8, 9,7, 6,6 Hz), 2,06 (3H, s), 1,97-1,89 (2H, m), 1,86-1,80 (3H, m), 1,70-1,14 (19H, m), 0,99 (3H, s), 0,94 (3H, d, *J* = 6,2 Hz), 0,92 (3H, t, *J* = 7,1 Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

30 **RMN ¹⁹F** (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -188,6 (1F, dt, *J* = 50,3, 12,1 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 498,2, [M+NH₄]⁺, 100 %.

G. Azida de 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil- 5β -colan-24-oilo



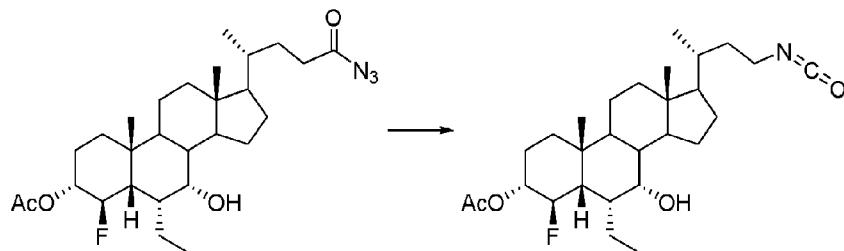
35 A una solución agitada de ácido 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil- 5β -colánico de la Etapa F (200 mg, 0,42 mmol) en THF seco (4 ml) a temperatura ambiente se añadió Et₃N (0,12 ml, 0,83 mmol, ~2,0 equiv.) gota a gota en atmósfera de argón. Después de la adición, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota azida de difenilfosforilo (0,13 ml, 0,62 mmol, ~1,5 equiv.). Despues de la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 3 h

detrás de una protección contra explosiones. Una vez completada, la reacción se inactivó con salmuera (5 ml) y se diluyó con CH_2Cl_2 (5 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con CH_2Cl_2 (3×5 ml). Fases orgánicas combinadas, secadas sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron al vacío a 0°C para producir un aceite amarillo. El aceite resultante se usó sin purificación adicional.

- 5 **RMN ^1H** - picos característicos (400 MHz, CDCl_3): δ 5,47 (1H, ddd, $J = 49,4, 10,4, 9,2$ Hz), 4,82-4,74 (1H, m), 3,83 (1H, s), 2,38 (1H, ddd, $J = 15,8, 10,0, 5,3$ Hz), 2,29-2,23 (1H, m), 2,06 (3H, s), 0,98 (3H, s), 0,920 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,919 (3H, t, $J = 7,2$ Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,8 (1F, dt, $J = 50,3$ Hz) ppm.

H. Isocianato de 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil-24-nor- 5β -olan-23-ilo



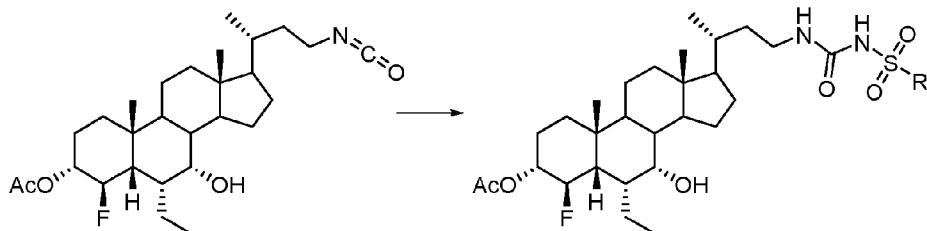
10

Una solución agitada de aceite crudo de azida de 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil- 5β -olan-24-oilo de la Etapa G (se asumen 105 mg, 0,42 mmol) en tolueno seco (3,1 ml) se calentó a 125°C en atmósfera de argón. Después de 5 h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución resultante se usó sin purificación adicional.

- 15 **RMN ^1H** - picos característicos (400 MHz, CDCl_3): δ 5,47 (1H, ddd, $J = 49,4, 10,4, 9,2$ Hz), 4,81-4,73 (1H, m), 3,83 (1H, s), 3,35 (1H, ddd, $J = 12,9, 7,8, 4,5$ Hz), 3,30-3,24 (1H, m), 2,05 (3H, s), 0,98 (3H, s), 0,94 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,92 (3H, t, $J = 7,2$ Hz), 0,68 (3H, s) ppm.

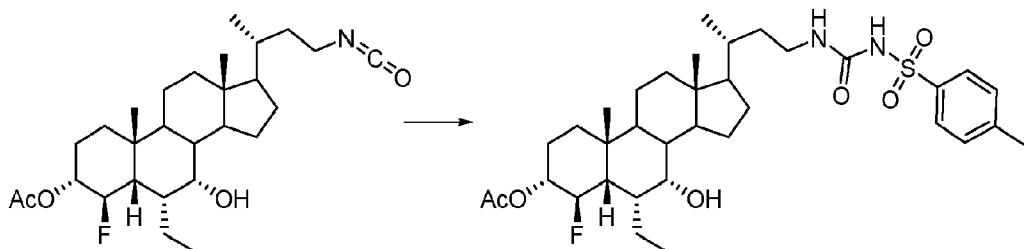
RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,5 (1F, dt, $J = 49,3, 12,7$ Hz) ppm.

Procedimiento general 1 para la conversión de isocianato en sulfonilurea.



- 20 A una solución cruda agitada de isocianato de 3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil-24-nor- 5β -olan-23-ilo de la Etapa H en tolueno se añadió sulfonamida (~1,5 equiv.) y DBU (~1,5 equiv.) y se agitó durante 16 h. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de HCl 1 M (2 ml) y se diluyó con EtOAc (5 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3×5 ml). Fases orgánicas combinadas, secadas sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (elución en gradiente de acetona en PE 40-60, 5-20 %) para producir la sulfonilurea requerida.
- 25

N,N -(3α -acetoxi- 4β -fluoro- 6α -etil- 7α -hidroxil-24-nor- 5β -olan-23-il)-*p*-toluenosulfonilurea (Intermedio 1)



Se preparó según el procedimiento general 1 usando 53,4 mg de *p*-toluenosulfonamida para dar el Intermedio 1 en forma de un aceite amarillo (51,7 mg, 38 %).

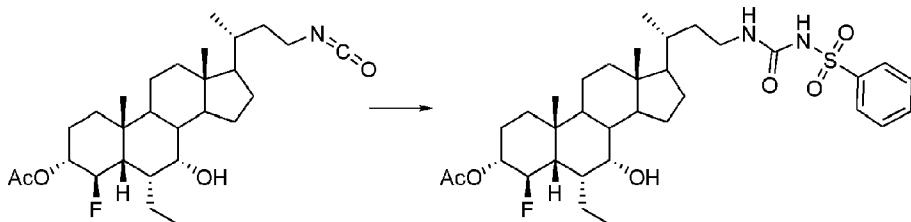
- 30 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,78 (2H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,32 (2H, d, $J = 8,3$ Hz), 6,50 (1H, t, $J = 4,8$ Hz), 5,47 (1H, dt, J

= 49,4, 9,8 Hz), 4,83-4,73 (1H, m), 3,83 (1H, s), 3,33-3,25 (1H, m), 3,19-3,11 (1H, m), 2,44 (3H, s), 2,06 (3H, s), 1,96-1,80 (5H, m), 1,72-1,38 (15H, m), 1,23-1,14 (5H, m), 0,99 (3H, s), 0,93 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,92 (3H, t, $J = 7,5$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,6 (1F, dt, $J = 49,0, 12,8$ Hz) ppm.

5 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 666,4, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α -acetoxi-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Intermedio 2)**



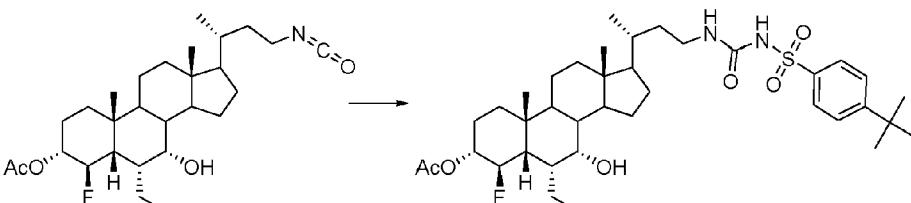
Se preparó según el procedimiento general 1 usando 49,0 mg de bencenosulfonamida para dar el Intermedio 2 en forma de un aceite amarillo (49,9 mg, 38 %).

10 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,90 (2H, d, $J = 7,6$ Hz), 7,63 (1H, t, $J = 7,0$ Hz), 7,50 (2H, t, $J = 7,7$ Hz), 6,60 (1H, s), 5,48 (1H, dt, $J = 49,2, 9,8$ Hz), 4,84-4,74 (1H, m), 3,83 (1H, s), 3,31-3,25 (1H, m), 3,18-3,10 (1H, m), 2,06 (3H, s), 1,95-1,80 (5H, m), 1,69-1,38 (13H, m), 1,29-1,12 (7H, m), 0,99 (3H, s), 0,93 (3H, d, $J = 6,7$ Hz), 0,92 (3H, t, $J = 7,0$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,5 (1F, dt, $J = 48,6, 12,1$ Hz) ppm.

15 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 652,3, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α -acetoxi-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(terc-butil)bencenosulfonilurea (Intermedio 3)**



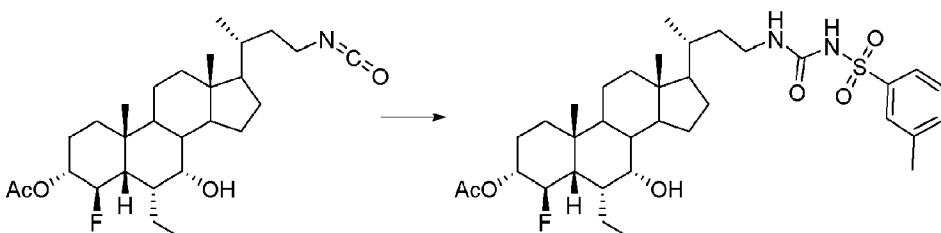
20 Se preparó según procedimiento general 1 utilizando 53,2 mg de 4-(terc-butil)bencenosulfonamida para dar el Intermedio 3 en forma de un aceite incoloro (81,6 mg, 71 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,81 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,54 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 6,56 (1H, s), 5,48 (1H, ddd, $J = 49,4, 10,4, 9,3$ Hz), 4,83-4,73 (1H), 3,84 (1H, s), 3,33-3,29 (1H, m), 3,21-3,14 (1H, m), 2,07 (3H, s), 1,97-1,80 (4H, m), 1,74-1,44 (13H, m), 1,36 (9H, s), 1,29-1,16 (7H, m), 0,99 (3H, s), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 7,0$ Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

25 **RMN ^{19}F** (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,6 (1F, dt, $J = 49,9, 13,2$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 708,4, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α -acetoxi-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-m-toluenosulfonilurea (Intermedio 4)**



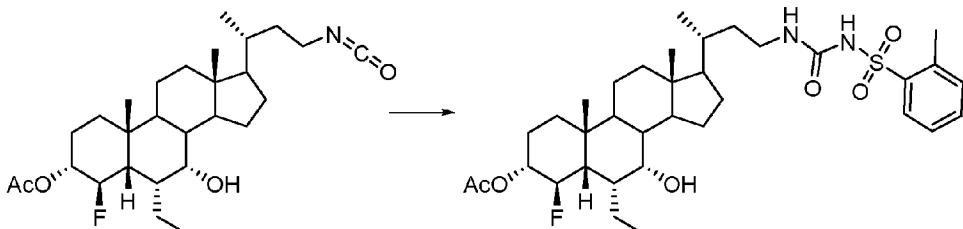
30 Elaborado según procedimiento general 1 utilizando 42,6 mg de m-toluenosulfonamida para dar el Intermedio 4 en forma de un aceite incoloro (85,7 mg, 80 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,71-7,68 (2H, m), 7,45-7,38 (2H, m), 6,54 (1H, s), 5,47 (1H, ddd, $J = 49,4, 10,3, 9,4$ Hz), 4,83-4,73 (1H, m), 3,83 (1H, s), 3,33-3,26 (1H, m), 3,19-3,12 (1H, m), 2,42 (3H, s), 2,06 (3H, s), 1,96-1,80 (4H, m), 1,72-1,11 (21H, m), 0,99 (3H, s), 0,94 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,6 (1F, dt, $J = 49,4, 13,4$ Hz) ppm.

5 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 666,3, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α -acetoxi-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-O-toluenosulfonilurea (Intermedio 5)**



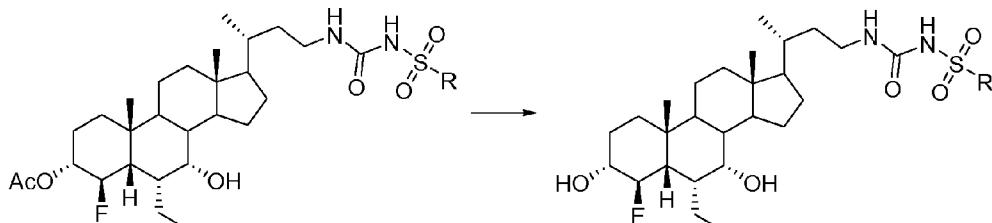
Se preparó según procedimiento general 1 utilizando 42,6 mg de *oh*-toluenosulfonamida para dar el Intermedio 5 en forma de un aceite incoloro (55,4 mg, 51 %).

10 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,94 (1H, dd, $J = 8,3, 1,0$ Hz), 7,51 (1H, td, $J = 7,6, 1,2$ Hz), 7,34 (2H, d, $J = 7,3$ Hz), 6,47 (1H, s), 5,47 (1H, dt, $J = 49,3, 9,5$ Hz), 4,83-4,73 (1H, m), 3,83 (1H, s), 3,28-3,22 (1H, m), 3,15-3,08 (1H, m), 2,65 (3H, s), 2,21-2,17 (1H, m), 2,06 (3H, s), 1,94-1,80 (4H, m), 1,68-1,10 (20H, m), 0,98 (3H, s), 0,92 (3H, d, $J = 6,7$ Hz), 0,90 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,63 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,6 (1F, dt, $J = 49,9, 12,4$ Hz) ppm.

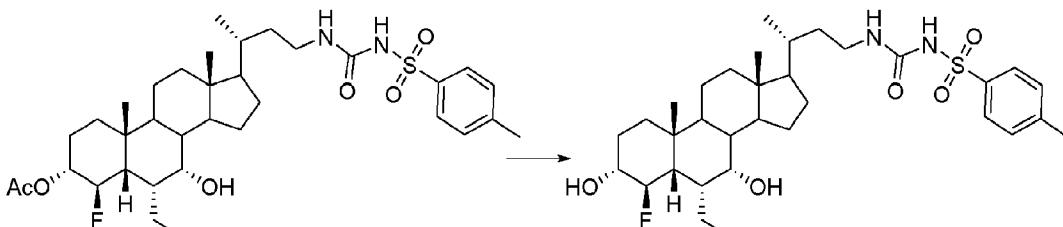
15 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 666,3, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 100 %.

Procedimiento general 2 para la desprotección de 3 α -acetato sulfonilureas



20 A un matraz cargado con la sulfonilurea protegida se le añadió una solución de NaOH en MeOH (solución al 5 %, 10 ml) y se agitó durante 16 h. Una vez completada, la reacción se acidificó a pH 7,0 con HCl 1 M y se diluyó con EtOAc (10 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 10 ml). Fases orgánicas combinadas, lavadas con solución de NaHCO (50 ml), secadas sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron *al vacío*. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (elución en gradiente de MeOH en CH_2Cl_2 , 0-5 %) para producir la sulfonilurea desprotegida.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-toluenosulfonilurea (Compuesto 1)**



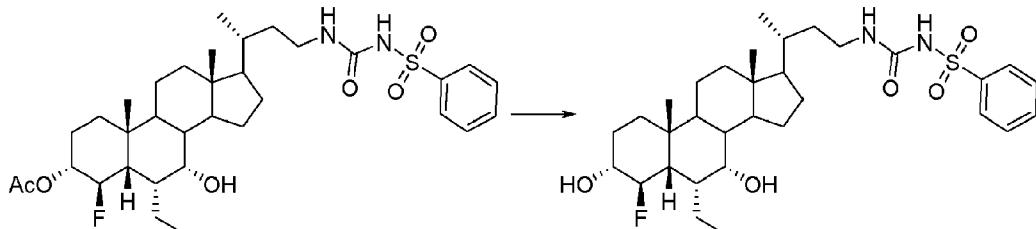
25 Se preparó según el procedimiento general 2 usando 49,7 mg del Intermedio 1 para producir el Compuesto 1 como un residuo incoloro (18,6 mg, 40 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,78 (2H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,34 (2H, d, $J = 8,1$ Hz), 6,50 (1H, t, $J = 4,8$ Hz), 5,32 (1H, ddd, $J = 50,0, 10,0, 9,2$ Hz), 3,83 (1H, s), 3,59-3,51 (1H, m), 3,33-3,26 (1H, m), 3,21-3,12 (1H, m), 2,46 (3H, s), 1,96-1,06 (26H, m), 0,98 (3H, s), 0,94 (3H, t, $J = 6,2$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 6,4$ Hz), 0,66 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -188,8 (1F, dt, $J = 50,3, 10,4$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 624,4, [M+NH₄] $^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilo urea (Compuesto 2)**



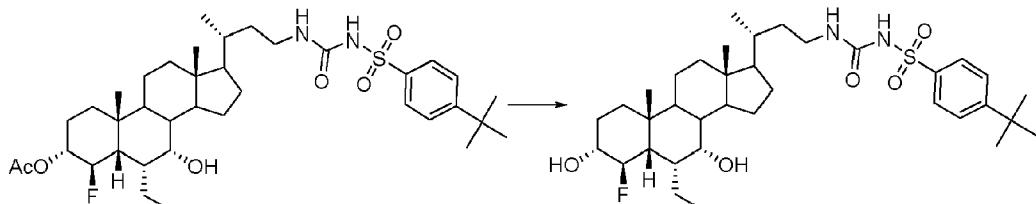
- 5 Se preparó según el procedimiento general 2 usando 44,8 mg del Intermedio 2 para producir el Compuesto 2 como un residuo incoloro (28,5 mg, 64 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,91 (2H, d, $J = 7,5$ Hz), 7,65 (1H, t, $J = 7,3$ Hz), 7,54 (2H, t, $J = 7,8$ Hz), 6,51 (1H, s), 5,31 (1H, ddd, $J = 50,1, 10,3, 9,1$ Hz), 3,82 (1H, s), 3,60-3,50 (1H, m), 3,35-3,26 (1H, m), 3,20-3,12 (1H, m), 1,95-1,36 (17H, m), 1,27-1,11 (9H, m), 0,97 (3H, s), 0,94 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 6,7$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

- 10 **RMN ^{19}F** (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -189,0 (1F, dt, $J = 50,3, 12,1$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 610,2, [M+NH₄] $^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(terc-butil)bencenosulfonilurea (Compuesto 3)**



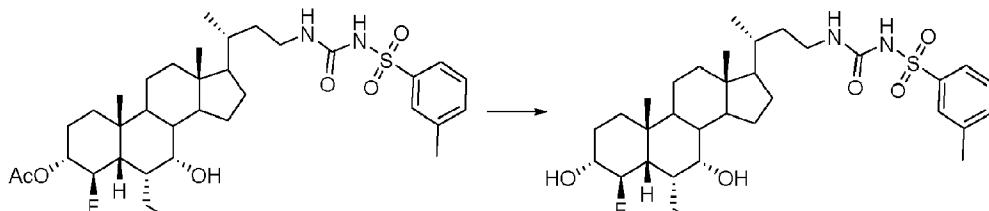
- 15 Se preparó según el procedimiento general 2 usando 79,6 mg del Intermedio 3 para producir el Compuesto 3 como un residuo incoloro (50,7 mg, 65 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,82 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,53 (2H, t, $J = 8,4$ Hz), 6,54 (1H, s), 5,32 (1H, ddd, $J = 49,9, 10,3, 9,1$ Hz), 3,82 (1H, s), 3,60-3,50 (1H, m), 3,35-3,25 (1H, m), 3,19-3,11 (1H, m), 1,95-1,41 (16H, m), 1,34 (9H, s), 1,28-1,08 (10H, m), 0,97 (3H, s), 0,930 (3H, t, $J = 6,9$ Hz), 0,927 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -188,8 (1F, dt, $J = 50,3, 12,1$ Hz) ppm.

- 20 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 666,4, [M+NH₄] $^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-m-toluenosulfonilurea (Compuesto 4)**



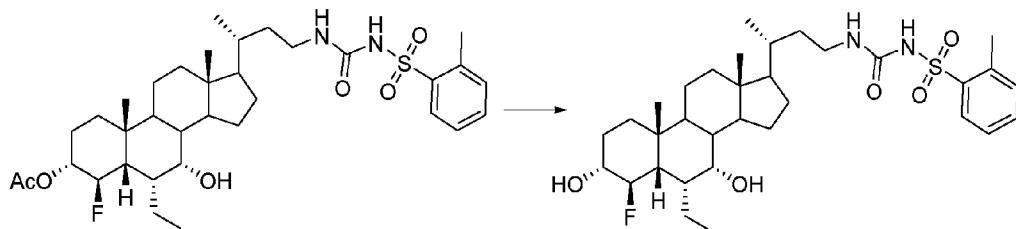
- 25 Se preparó según el procedimiento general 2 usando 83,7 mg del Intermedio 4 para producir el Compuesto 4 como un residuo incoloro (29,0 mg, 37 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,71-7,69 (2H, m), 7,45-7,38 (2H, m), 6,52 (1H, s), 5,32 (1H, ddd, $J = 49,9, 10,4, 8,9$ Hz), 3,82 (1H, s), 3,60-3,50 (1H, m), 3,35-3,26 (1H, m), 3,20-3,10 (1H, m), 2,43 (3H, s), 1,95-1,39 (17H, m), 1,28-1,11 (10H, m), 0,97 (3H, s), 0,94 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 6,5$ Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -188,9 (1F, dt, $J = 48,6, 10,4$ Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 624,3, [M+NH₄]⁺, 100 %.

N,N'-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-o-toluenosulfonilurea (Compuesto 5)



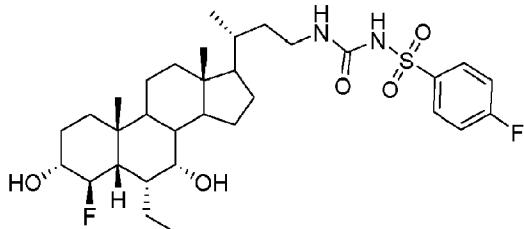
5 Se preparó según el procedimiento general 2 usando 53,4 mg del Intermedio 5 para producir el Compuesto 5 como un residuo incoloro (24,2 mg, 48 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,94 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,52 (1H, td, J = 7,6, 1,1 Hz), 7,35 (2H, d, J = 7,7 Hz), 6,47 (1H, t, J = 4,6 Hz), 5,31 (1H, ddd, J = 49,9, 10,4, 8,9 Hz), 3,82 (1H, s), 3,60-3,50 (1H, m), 3,30-3,22 (1H, m), 3,17-3,08 (1H, m), 2,67 (3H, s), 1,94-1,06 (25H, m), 0,97 (3H, s), 0,91 (3H, t, J = 7,5 Hz), 0,90 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,63 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -189,0 (1F, dt, J = 48,6, 12,1 Hz) ppm.

10 **LRMS (ESI⁺)** m/z: 624,3, [M+NH₄]⁺, 100 %.

N,N'-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 6)

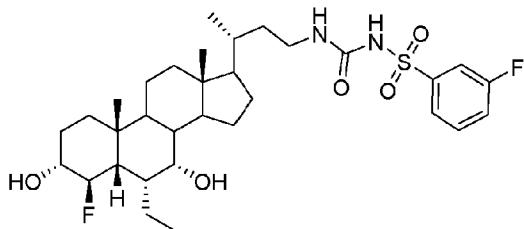


Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 1-5.

15 **RMN ¹H** (400 MHz, MeOD): δ 7,93-7, (2H, m), 7,20-7,17 (2H, m), 5,19 (1H, dq, J = 49,3, 10,5, 8,9 Hz), 3,65 (1H, s), 3,31 (1H, m), 3,06 (1H, m), 2,95 (1H, m), 1,94-1,06 (21H, m), 0,84-0,76 (9H, m), 0,63 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, MeOD): δ -107,29 (1F, m), -186,6 (1F, m) ppm.

N,N'-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-m-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 7)

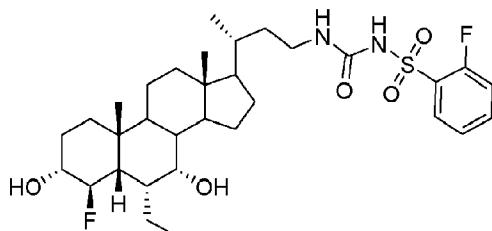


Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 1-5.

20 **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 7,71 (ddd, J = 7,8, 1,6, 1,0 Hz, 1H), 7,61 (br dt, J = 8,0, 2,1 Hz, 1H), 7,54 (td, J = 8,1, 5,3 Hz, 1H), 7,35 (tdd, J = 8,3, 2,6, 0,7 Hz, 1H), 6,50 (br t, J = 5,1 Hz, 1H), 5,32 (ddd, J = 49,9, 10,5, 8,8 Hz, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,55 (dddd, J = 14,2, 12,0, 8,8, 5,1 Hz, 1H), 3,32 (ddt, J = 13,1, 9,5, 5,1 Hz, 1H), 3,18 (dtd, J = 13,0, 8,0, 6,1 Hz, 1H), 1,96-1,86 (m, 2H), 1,85-1,74 (m, 2H), 1,71-1,58 (m, 6H), 1,54-1,41 (m, 7H), 1,31-1,08 (m, 9H), 0,98 (s, 3H), 0,95 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,93 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 0,66 (s, 3H) ppm;

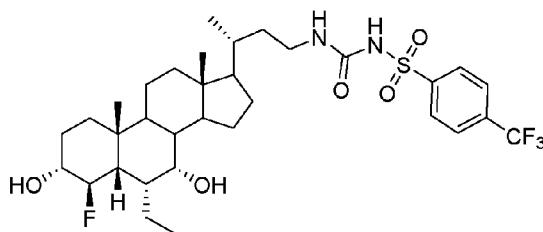
25 **RMN ¹⁹F** (376 MHz, CDCl₃): δ -108,9 (br s, 1F), -188,9 (br d, J = 50,3 Hz, 1°F) ppm;

RMN ¹⁹F{1H} (376 MHz, CDCl₃): δ -108,9 (s, 1F), -188,9 (s, 1F) ppm;

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-O-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 8)**

Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 1-5.

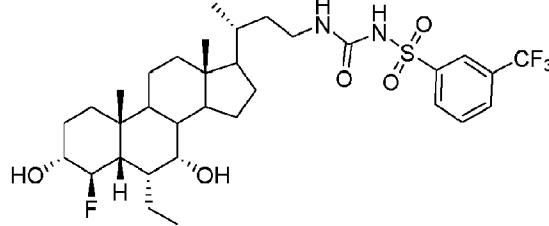
- 5 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ 7,91 (ddd, $J = 7,8, 7,2, 1,7$ Hz, 1H), 7,67 (dddd, $J = 8,3, 7,5, 5,0, 1,7$ Hz, 1H), 7,33 (td, $J = 7,7, 1,1$ Hz, 1H), 7,28 (ddd, $J = 10,0, 8,4, 0,9$ Hz, 1H), 6,45 (br t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 5,31 (ddd, $J = 49,9, 10,5, 8,7$ Hz, 1H), 3,83 (br s, 1H), 3,55 (dddd, $J = 13,8, 11,9, 8,9, 5,4$ Hz, 1H), 3,29 (ddt, $J = 12,8, 9,4, 5,3$ Hz, 1H), 3,16 (dtd, $J = 13,5, 7,8, 5,6$ Hz, 1H), 1,96-1,74 (m, 4H), 1,71-1,39 (m, 14H), 1,25-1,09 (m, 8H), 0,98 (s, 3H), 0,94 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 0,93 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,65 (s, 3H) ppm;
- 10 **RMN ^{19}F** (376 MHz, CDCl_3) δ -109,0 (ddd, $J = 10,4, 6,9, 5,2$ Hz, 1F), -189,2 (dt, $J = 50,3, 11,3$ Hz, 1F) ppm;
RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) δ -109,0 (s, 1F), -189,2 (s, 1F) ppm.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 9)**

- 15 Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 1-5.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,07 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,80 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,46 (brt, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,32 (ddd, $J = 49,8, 10,4, 8,8$ Hz, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,55 (dddd, $J = 14,2, 11,9, 8,8, 5,4$ Hz, 1H), 3,28 (ddt, $J = 13,6, 7,7, 4,9$ Hz, 1H), 3,15 (dtd, $J = 13,5, 7,6, 6,0$ Hz, 1H), 1,96-1,75 (m, 4H), 1,72-1,55 (m, 7H), 1,53-1,37 (m, 7H), 1,25-1,06 (m, 8H), 0,97 (s, 3H), 0,933 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H), 0,927 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,63 (s, 3H) ppm;

- 20 **RMN ^{19}F** (376 MHz, CDCl_3) δ -63,5 (s, 3F), -188,5 (br d, $J = 48,6$ Hz, 1°F) ppm;
RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) δ -63,4 (s, 3F), -188,6 (br s, 1F) ppm.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-m-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 10)**

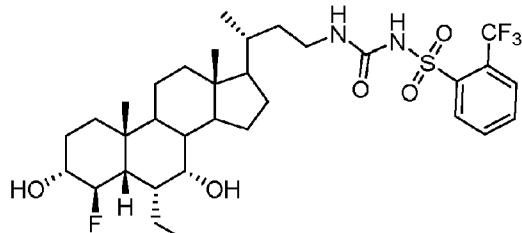
- 25 Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 1-5.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,17 (s, 1H), 8,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,91 (br d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,71 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,49 (br t, $J = 4,7$ Hz, 1H), 5,32 (ddd, $J = 49,9, 10,2, 9,1$ Hz, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,56 (dddd, $J = 14,1, 11,7, 8,7, 5,1$ Hz, 1H), 3,32 (ddt, $J = 13,5, 9,4, 5,3$ Hz, 1H), 3,17 (dtd, $J = 12,6, 7,8, 6,2$ Hz, 1H), 1,96-1,87 (m, 2H), 1,84-1,74 (m, 2H), 1,72-1,58 (m, 6H), 1,53-1,41 (m, 7H), 1,29-1,09 (m, 9H), 0,98 (s, 3H), 0,95 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,93 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,66 (s, 3H) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -63,1 (s, 3F), -189,0 (br s, 1F) ppm;

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) δ -63,1 (s, 3F), -189,0 (br s, 1F) ppm.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-o-(trifluorometil)bencenosulfonilurea
(Compuesto 11)**



5

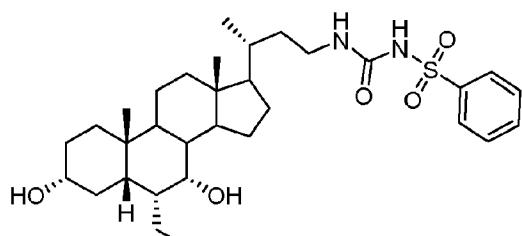
Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para Compuestos 1-5.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,26 (dd, $J = 6,3, 2,3$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 6,6, 2,3$ Hz, 1H), 7,77 (m, 2H), 6,35 (br t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,31 (ddd, $J = 49,9, 10,4, 8,9$ Hz, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,56 (dddd, $J = 14,2, 12,1, 8,7, 5,1$ Hz, 1H), 3,29 (ddt, $J = 13,5, 9,1, 5,1$ Hz, 1H), 3,13 (tdt, $J = 13,5, 7,7, 6,2$ Hz, 1H), 1,96-1,72 (m, 5H), 1,70-1,35 (m, 14H), 1,25-1,06 (m, 7H), 0,97 (s, 3H), 0,93 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 0,92 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,63 (s, 3H) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -58,0 (s, 3F), -188,9 (br d, $J = 48,6$ Hz, 1F) ppm;

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) δ -58,0 (s, 3F), -188,9 (s, 1F) ppm.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto comparativo A)**



15

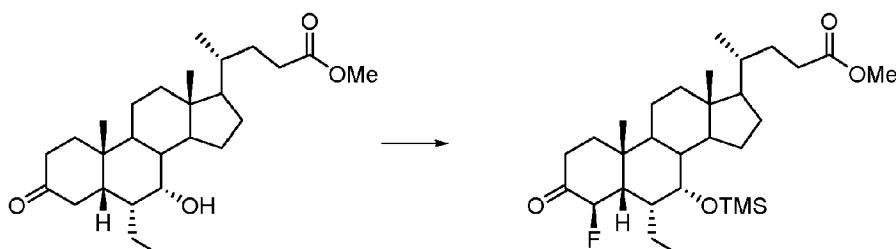
Este compuesto se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente para los Compuestos 5-9.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD): δ 7,86-7,81 (2H, m), 7,53 (1H, m), 7,47-7,41 (2H, m), 3,52 (1H, br. s), 3,22 (1H, m), 3,04 (1H, m), 2,93 (1H, m), 1,87-0,83 (25H, m), 0,81-0,76 (9H, m), 0,52 (3H, s) ppm.

EJEMPLO 2 - Síntesis alternativa de compuestos con cadenas laterales sustituidas con sulfonilurea

20 Los procedimientos siguientes se ilustran para derivados de 4 β -fluoro, pero también podrían usarse para compuestos 2 β -fluorados, 4,4-difluorados o 2,4-difluorados.

A. 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo

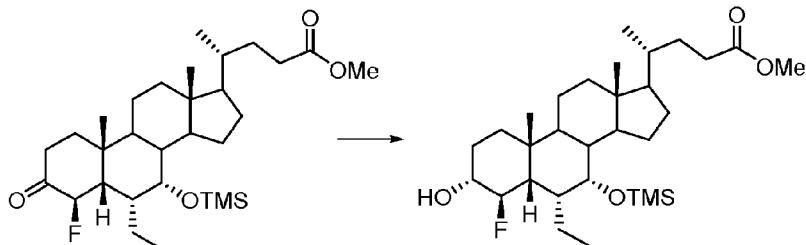


25 A una solución agitada y preenfriada de diisopropilamina (0,78 ml, 5,54 mmol, ~12 equiv.) en THF seco (6,9 ml) a -78 °C se añadió n-BuLi en hexanos (1,44 ml, 2,31 mmol, ~5,0 equiv.) gota a gota durante 0,25 h bajo argón. Después de la adición, se añadió cloruro de trimetilsililo (0,29 ml, 2,31 mmol, ~5,0 equiv.) y se agitó durante 1 h. Se utilizó una solución de 6 α -etil-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo del Ejemplo 1, Etapa B (200 mg, 0,46 mmol) en THF seco (3 ml) y luego se añadió trietilamina (1,16 ml, 8,32 mmol, ~18 equiv.). Después de la adición, la reacción se dejó

calentar gradualmente hasta -20°C y se agitó durante 2 h. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de NaHCO₃ saturado (5 ml) y se calentó a temperatura ambiente durante 2 h. Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 10 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para proporcionar 271 mg de material bruto en forma de un residuo amarillo.

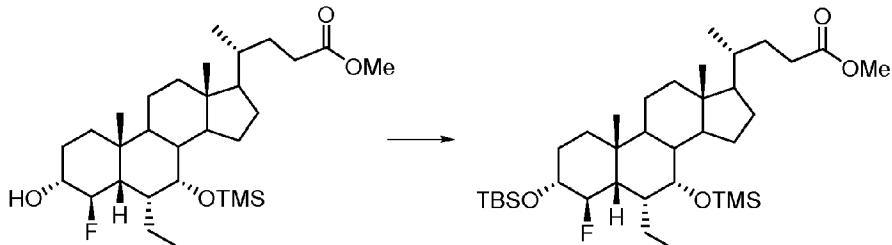
A una solución del material en bruto (1,16 g, 2,3 mmol) en MeCN seco (55 ml) se le cargó Selectfluor® (1,23 g, 3,47 mmol). Despues de agitar a temperatura ambiente durante 14,5 h, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una mezcla de NaHCO₃ al 5 % (100 ml) y NaCl al 10 % (50 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir un aceite naranja/amarillo. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc al 0-40 % en heptanos) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (319,5 mg).

B. 6α-etyl-4β-fluoro-7α-trimetilsiloxi-3α-hidroxil-5β-colan-24-oato de metilo

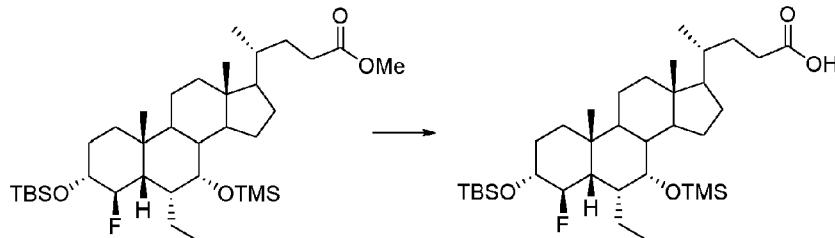


Se disolvió 6α-etyl-4β-fluoro-7α-trimetilsiloxi-3-oxo-5β-colan-24-oato de metilo crudo de la Etapa A (319,5 mg, 0,71 mmol) en THF (28 ml) con agitación en una atmósfera de argón. Se cargó NaBH₄ (80,5 mg, 2,13 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16,5 h, después de lo cual se añadió más NaBH₄ (0,24 g, 6,38 mmol). La mezcla se agitó durante 4,5 h más, luego se cargó agua (20 µl) y la mezcla se agitó durante ~60 h. Despues de este tiempo, la reacción se detuvo mediante la adición de agua (15 ml) y se diluyó con EtOAc (50 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para obtener un jarabe claro (0,34 g). El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc al 0-40 % en heptano) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite transparente (162,3 mg).

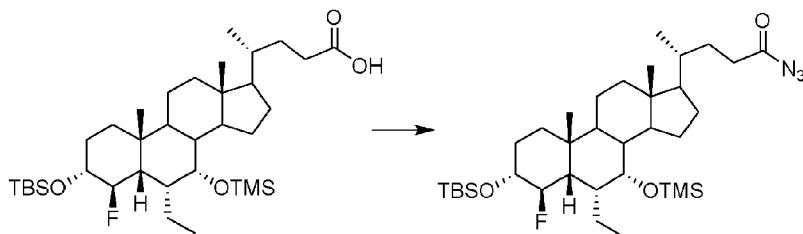
C. 6α-etyl-4β-fluoro-7α-trimetilsiloxi-3α-O-terc-butildimetsilsilil-5β-colan-24-oato de metilo



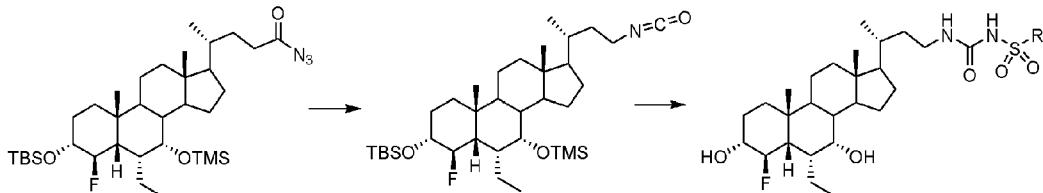
Se disolvió 6α-etyl-4β-fluoro-7α-trimetilsiloxi-3α-hidroxil-5β-colan-24-oato de metilo de la etapa B (0,48 g, 0,92 mmol) en DCM seco (12 ml) y se enfrió a 0 °C con agitación, en condiciones de argón. Se cargó 2,6-lutidina (1,1 ml, 9,17 mmol) seguido de la adición gota a gota de TBMD-S-OTf (0,32 ml, 1,38 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h, luego se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición gota a gota de ácido cítrico al 10 % (5 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 5 ml). Los extractos combinados se lavaron con ácido cítrico al 10 % (5 ml), NaHCO ac. (5 ml) y agua (5 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* hasta obtener un aceite amarillo (0,69 g). El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, 0-20 % de EtOAc en heptano) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite transparente (0,58 g).

D. Ácido 6 α -Etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -O-terc-butildimetsilil-5 β -colánico

6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -O-terc-butildimetsilil-5 β -olan-24-oato de metilo (0,58 g) de la Etapa C se disolvió en IPA (5,8 ml) con agitación. Se cargó NaOH 0,5 M (5,8 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 15 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta aproximadamente la mitad del volumen, luego se cargó agua (5 ml) y la solución se neutralizó mediante la adición de H₂SO₄ 2 M y se diluyó con EtOAc (10 ml). La mezcla se acidificó a pH 1 con H₂SO₄ 2 M, se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (5 ml) y salmuera (5 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir una espuma blanca (0,52 g). El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, 0-50 % de acetona en tolueno) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,41 g, 72 %).

E. 6 α -Etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -O-terc-butildimetsilil-5 β -olan-24-oil azida

A una solución agitada de ácido 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -O-terc-butildimetsilil-5 β -colánico de la etapa D (197 mg, 0,32 mmol) en THF seco (3,2 ml) a temperatura ambiente se añadió Et₃N (0,09 ml, 0,64 mmol, ~2,0 equiv.) gota a gota en atmósfera de argón. Después de la adición, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota azida de difenilfosforilo (0,1 ml, 0,48 mmol, ~1,5 equiv.). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 2,5 h detrás de una protección contra explosiones. Una vez completada, la reacción se inactivó con salmuera (3 ml) y se extrajo con DCM (3 x 5 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* a 0 °C. El aceite resultante se usó sin purificación adicional.

Procedimiento General 3 para la formación de sulfonilureas.

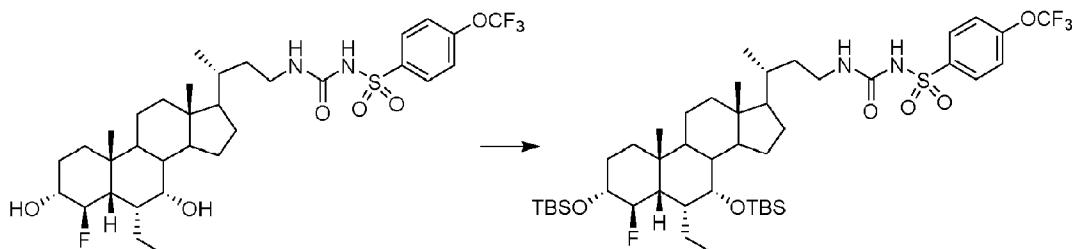
Una solución agitada de azida de 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -O-terc-butildimetsilil-5 β -olan-24-oilo bruto de la Etapa E del Ejemplo 2 (69 mg) se calentó en tolueno seco (2,1 ml) a 125 °C en una atmósfera de argón. Después de 5 h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución resultante se usó sin purificación adicional. La solución se agitó en una atmósfera de argón y se cargaron la sulfonamida (1,5 equivalentes) y DBU (1,5 equivalentes). Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de HCl 1 M (1 ml) y se diluyó con EtOAc (5 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 5 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* (231.7 mg). El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar las sulfonilureas deseadas como una mezcla cruda inseparable.

N,N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (Compuesto 12) y N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-metoxibencenosulfonilurea (Compuesto 13)

Los compuestos 12 y 13 se prepararon según el Procedimiento general 3 anterior mediante reacción del producto isocianato bruto con 4-(trifluorometoxi)bencenosulfonamida y 4-(metoxi)bencenosulfonamida, respectivamente.

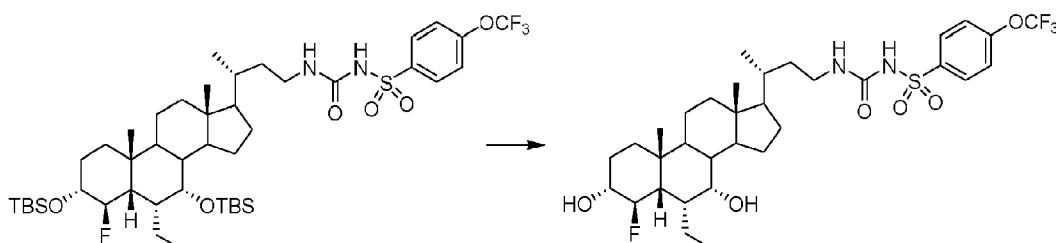
Para obtener productos puros, los Compuestos 12 y 13 en bruto se convirtieron en materiales protegidos (Intermedios 12 y 13) que se purificaron y luego se desprotegieron para regenerar los Compuestos 12 y 13. Este procedimiento se describe a continuación.

5 ***N,N*-(3 α ,7 α -Di-O-terc-butildimethylsilyl-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (Intermedio 12)**



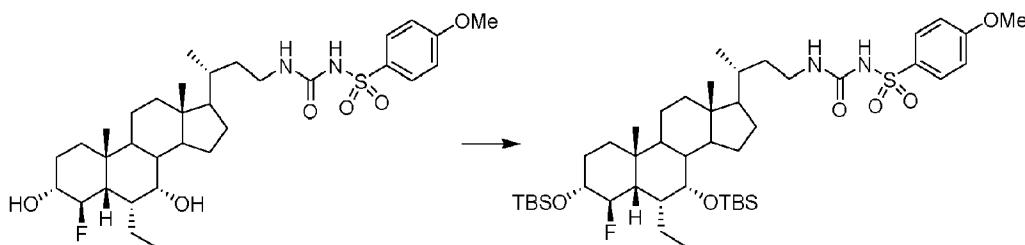
Se disolvió *N,N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (24,3 mg, 0,036 mmol) en DCM seco (1 ml) y se enfrió a 0 °C con agitación, en una atmósfera de argón. Se cargó 2,6-lutidina (0,04 ml, 0,36 mmol) seguido de la adición gota a gota de TBMDT (0,02 ml, 0,108 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 h, luego se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición gota a gota de ácido cítrico al 10 % (1 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 1 ml). Los extractos combinados se lavaron con ácido cítrico al 10 % (1 ml), NaHCO₃ ac. (1 ml) y agua (1 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* a un aceite amarillo. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, 0-50 % de EtOAc en heptano) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite transparente (9,4 mg, 33 %).

10 ***N,N*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea
(Compuesto 12)**

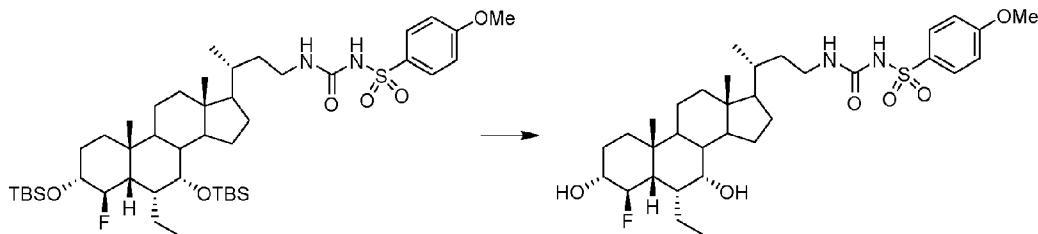


20 Se disolvió *N,N*-(3 α ,7 α -di-O-terc-butildimethylsilyl-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (9,4 mg) en THF seco (1 ml) con agitación en una atmósfera de argón. Se cargó TBAF 1 M en THF (31 μ l, 0,03 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. La solución cruda se cargó en seco sobre gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc al 50-100 % en heptano) para proporcionar el compuesto del título (1 mg).

25 ***N,N*-(3 α ,7 α -Di-O-terc-butildimethylsilyl-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-metoxibencenosulfonilurea
(Intermedio 13)**



30 Se disolvió *N,N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etyl-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-metoxibencenosulfonilurea (26,1 mg, 0,042 mmol) en DCM seco (1 ml) y se enfrió a 0 °C con agitación, en una atmósfera de argón. Se cargó 2,6-lutidina (0,05 ml, 0,419 mmol) seguido de la adición gota a gota de TBMDT (0,03 ml, 0,126 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, luego se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición gota a gota de ácido cítrico al 10 % (1 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 1 ml). Los extractos combinados se lavaron con ácido cítrico al 10 % (1 ml), NaHCO₃ ac. (1 ml) y agua (1 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* a un aceite amarillo (28,1 mg). El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, 0-50 % de acetona en tolueno) para proporcionar el compuesto del título (7,8 mg).

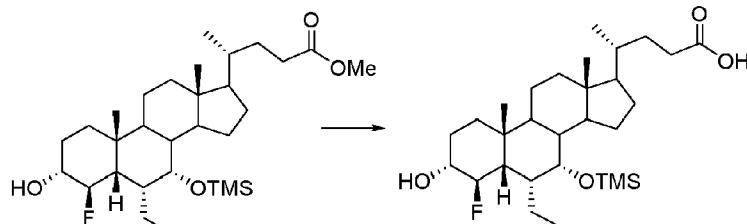
N,N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-metoxibencenosulfonilurea (Compuesto 13)

5 Se disolvió *N,N*-(3 α ,7 α -di-O-terc-butildimethylsiloil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-p-metoxibencenosulfonilurea (7,8 mg) en THF seco (1 ml) con agitación en una atmósfera de argón. Se cargó TBAF 1 M en THF (28 μ l, 0,03 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. La solución cruda se cargó en seco sobre gel de sílice y se purificó mediante chromatografía en columna (SiO_2 , 0-80 % de acetona en tolueno) para proporcionar el compuesto del título (3,4 mg, 59,6 %).

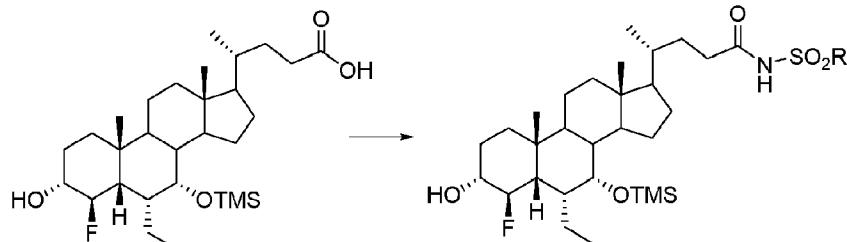
10 **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3):** δ 7,97-7,81 (2H, m), 7,11-7,02 (2H, m), 5,30 (1H, ddd, $J = 49,6, 10,3, 8,9$ Hz), 3,88 (3H, s), 3,76 (1H, br. s), 3,42 (1H, m), 3,15 (1H, m), 3,06 (1H, m), 1,99-0,96 (26H, m), 0,95-0,80 (6H, m), 0,64 (3H, s) ppm.

10 EJEMPLO 3 - Síntesis de compuestos con cadenas laterales sustituidas con sulfonamida

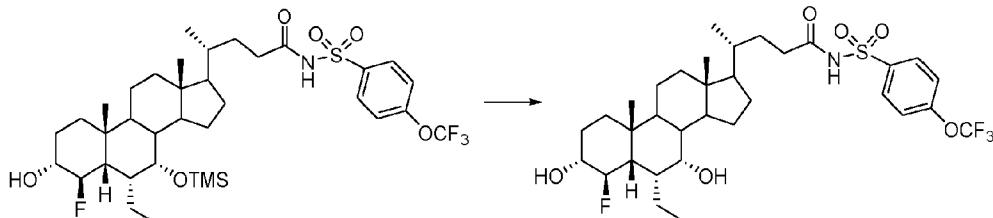
Los procedimientos siguientes se ilustran para derivados de 4 β -fluoro, pero también podrían usarse para compuestos 2 β -fluorados, 4,4-difluorados o 2,4-difluorados. Las etapas A y B son como en el Ejemplo 2.

C. Ácido 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -hidroxil-5 β -colánico

15 Se disolvió 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -hidroxil-5 β -olan-24-oato de metilo de la Etapa B (162,3 mg) en IPA (1,6 ml) con agitación. Se cargó NaOH 0,5 M (1,6 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta aproximadamente la mitad del volumen, luego se cargó agua (5 ml) y la solución se neutralizó mediante la adición de H_2SO_4 2M y se diluyó con EtOAc (10 ml). La mezcla se acidificó a pH 1 con H_2SO_4 2M, se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (3 ml) y salmuera (5 ml), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron al vacío para producir una espuma blanca (151,1 mg). El material bruto se purificó mediante chromatografía en columna (SiO_2 , 0-80 % de EtOAc en heptano) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite transparente (164,1 mg).

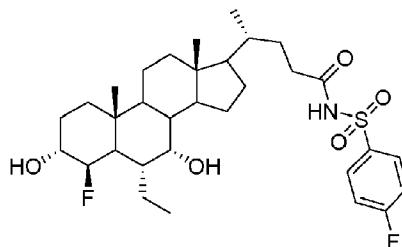
25 Procedimiento general 4 para la formación de la cadena lateral de acilsulfonamida

Se disolvió ácido 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -hidroxil-5 β -colánico (50 mg, 0,11 mmol) en DCM seco (2 ml). EDCI (43,7 mg, 0,23 mmol) y DMAP (27,8 mg, 0,23 mmol) seguidos de la sulfonamida apropiada (3 equivalentes). Despues de agitar durante la noche a temperatura ambiente, se cargó agua (5 ml), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Los extractos combinados se lavaron con HCl 1 M (2 ml) y salmuera (2 ml), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron al vacío para producir el material bruto como un sólido blanquecino.

N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-p-trifluorometoxibencenosulfonamida (Compuesto 14)

N-(6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -trimetilsiloxi-3 α -hidroxil-5 β -olan-24-oil)-trifluorometoxibencenosulfonamida cruda (81,6 mg), obtenida según el Procedimiento General 4 usando trifluorometoxibencenosulfonamida, se disolvió en THF seco (5 ml) con agitación en atmósfera de argón. Se cargó TBAF 1 M en THF (0,48 ml, 0,48 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17,5 h. La solución cruda se cargó en seco sobre gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2 , 0-100 % EtOAc en heptano). Se combinaron las fracciones que contenían el producto deseado, se concentraron *al vacío*, se disolvió en EtOAc (5 ml) y se lavó con HCl 2 M (5 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 ml) y los extractos combinados se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron *al vacío* a un sólido blanco, que se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2 , 0-25 % de acetona en tolueno) para proporcionar el compuesto del título como un residuo transparente (4,9 mg).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,21-8,10 (2H, m), 7,38-7,36 (2H, dd, J = 8,9, 0,8 Hz), 5,31 (1H, ddd, J = 49,8, 10,4, 9,0 Hz), 3,82 (1H, br. s), 3,56 (1H, m), 2,31 (1H, ddd, J = 15,6, 10,1, 5,0 Hz), 2,17 (1H, m), 1,92-1,07 (23H, m), 0,97 (3H, s), 0,93 (3H, t, J = 6,9 Hz), 0,86 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,62 (3H, s) ppm.

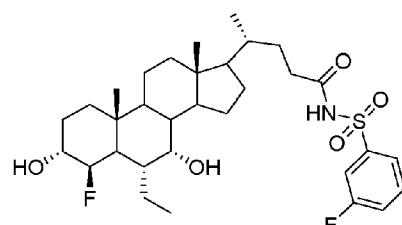
15 **N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-p-fluorobencenosulfonamida (Compuesto 15)**

Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (m, 2H), 7,23 (m, 2H), 5,31 (ddd, J = 49,9, 10,3, 9,1 Hz, 1H), 3,81 (br s, 1H), 3,57 (dddd, J = 13,8, 11,6, 8,6, 5,1 Hz, 1H), 2,29 (ddd, J = 15,4, 10,0, 5,3 Hz, 1H), 2,17 (ddd, J = 15,7, 9,2, 6,4 Hz, 1H), 1,90 (dt, J = 12,3, 2,9 Hz, 1H), 1,87-1,57 (m, 9H), 1,53-1,29 (m, 8H), 1,24-1,08 (m, 7H), 0,97 (s, 3H), 0,93 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 0,86 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,61 (s, 3H) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -103,1 (br s, 1F), -188,8 (br s, 1F) ppm;

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) -103,1 (br s, 1F), -188,8 (br s, 1F) ppm.

N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-m-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 16)

25

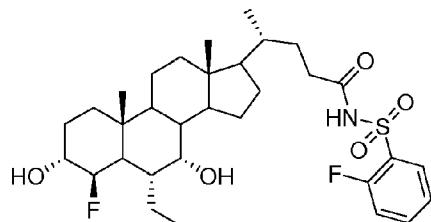
Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 8,39 (1H, br s), 7,89 (1H, br d, J = 7,8 Hz), 7,78 (1H, br d, J = 7,7 Hz), 7,55 (1H, td, J = 8,1, 5,4 Hz), 7,36 (1H, td, J = 8,3, 1,3 Hz), 5,31 (1H, dt, J = 50,0, 9,8 Hz), 3,82 (1H, br s), 3,56 (1H, dddd, J = 14,2, 11,0, 8,7, 5,1 Hz), 2,31 (1H, ddd, J = 15,0, 9,9, 5,1 Hz), 2,18 (1H, ddd, J = 15,3, 9,5, 7,2 Hz), 1,99-1,03 (25H, m), 0,97 (3H, s), 0,94 (3H, t, J = 6,6 Hz), 0,87 (3H, d, J = 8,1 Hz), 0,62 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -109,52 (1F, br d, J = 5,2 Hz), -189,0 (1F, dt, J = 50,1, 13,9 Hz) ppm.

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) -109,52 (1F, s), -189,00 (1F, s) ppm.

N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-o-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 17)



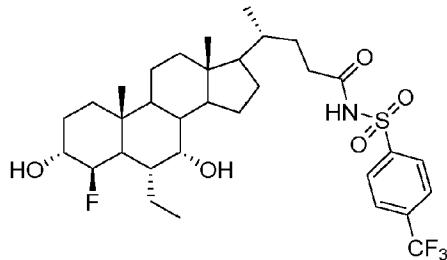
Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

- 5 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ 9,06 (1H, br s), 8,10 (1H, td, J = 7,5, 1,5 Hz), 7,65 (1H, m), 7,35 (1H, t, J = 7,6 Hz), 7,22 (1H, t, J = 9,2 Hz), 5,31 (1H, dt, J = 50,1, 9,5 Hz), 3,81 (1H, br s), 3,57 (1H, dddd, J = 14,1, 11,3, 8,6, 5,1 Hz), 2,34 (1H, ddd, J = 15,4, 10,0, 5,0 Hz), 2,21 (1H, ddd, J = 15,9, 9,3, 6,6 Hz), 2,08-1,02 (25H, m), 0,96 (3H, s), 0,92 (3H, br t, J = 6,9 Hz), 0,86 (3H, d, J = 6,2 Hz), 0,61 (3H, s) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -110,0 (1F, br s), -189,1 (1F, d, J = 46,8 Hz) ppm.

- 10 **RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$** (376 MHz, CDCl_3) -109,8 (1F, s), -188,9 (1F, s) ppm.

N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-4-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 18)



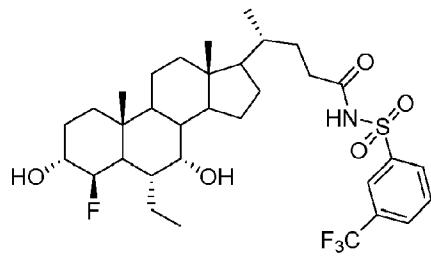
Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

- 15 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) 8,22 (2H,d, J = 8,3 Hz), 8,00 (1H, br s) 7,83 (2H, d, J = 8,4 Hz), 5,30 (1H, dtd, J = 50,1, 10,2, 1,6 Hz), 3,81 (1H, br s), 3,56 (1H, dddd, J = 13,9, 12,0, 8,6, 5,0 Hz), 2,31 (1H, ddd, J = 15,8, 10,3, 5,1 Hz), 2,17 (1H, ddd, J = 15,8, 10,0, 6,6 Hz), 1,94-1,05(25H, m), 0,97 (3H, s), 0,93 (3H, t, J = 5,8 Hz), 0,87 (3H, d, J = 6,1 Hz), 0,61 (3H, s) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -63,5 (3F, br s), -189,2 (1F, br d, J = 48,6 Hz) ppm.

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) -63,3 (3F, s), -189,0 (1F, s) ppm.

- 20 ***N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-3-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 19)***

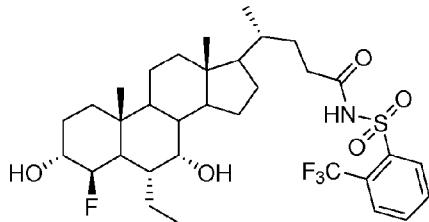


Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

- 25 **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) 8,32 (2H, m), 8,22 (1H, br s), 7,92 (1H, br d, J = 7,8 Hz), 7,72 (1H, t, J = 7,9 Hz), 5,30 (1H, dtd, J = 49,5, 9,3, 1,2 Hz), 3,81 (1H, br s), 3,54 (1H, m), 2,31 (1H, ddd, J = 15,6, 10,1, 5,1 Hz), 2,18 (1H, ddd, J = 15,9, 9,2, 6,4 Hz), 1,95-1,04 (25H, m), 0,97 (3H, s), 0,93 (3H, t, J = 6,9 Hz), 0,86 (3H, d, J = 6,2 Hz), 0,61 (3H, s) ppm;

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -63,02 (3F, s), -189,11 (1F, br d, J = 48,6 Hz) ppm.

RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) -63,02 (3F, s, CF_3), -189,10 (1F, s) ppm.

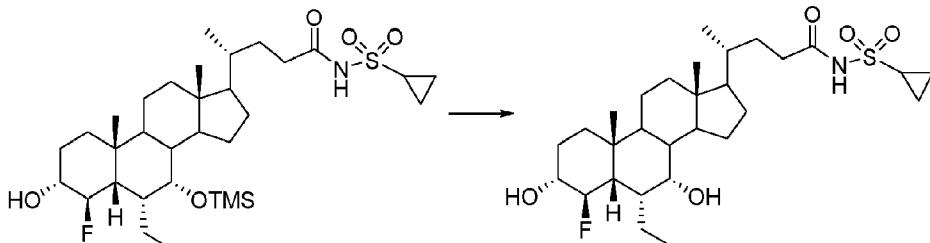
N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-2-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 20)

Éste se preparó mediante una ruta análoga a la utilizada para el Compuesto 14 anterior.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 8,53 (1H, m), 8,09 (1H, br s), 7,90 (1H, m), 7,79 (2H, m), 5,3 (1H, dtd, $J = 50,0, 9,8, 1,7$ Hz), 3,81 (1H, br s), 3,55 (1H, dddd, $J = 14,2, 11,7, 8,8, 5,0$ Hz), 2,31 (1H, ddd, $J = 15,3, 9,7, 4,8$ Hz), 2,17 (1H, m), 1,91 (1H, m), 1,87-1,05 (24H, m), 0,97 (3H, s), 0,93 (3H, t, $J = 6,9$ Hz), 0,86 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,61 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) -63,02 (3F, s), -189,11 (1F, br d, $J = 48,6$ Hz) ppm.

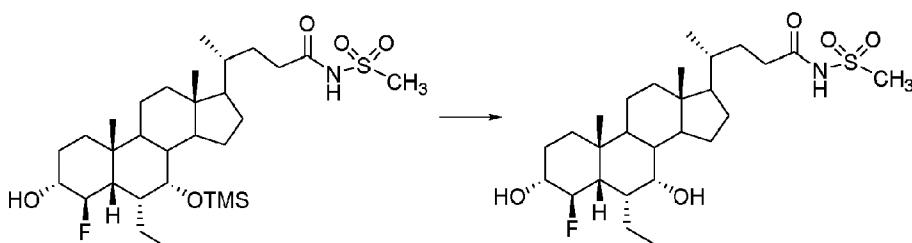
RMN $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$ (376 MHz, CDCl_3) -63,02 (3F, s), -189,10 (1F, s) ppm.

N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-ciclopropilsulfonamida (Compuesto Comparativo B)

Se disolvió *N*-(3 α -hidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -trimetilsiloxi-5 β -olan-24-il)-ciclopropilsulfonamida (50 mg) en THF seco con agitación en una atmósfera de argón. Se cargó TBAF 1 M en THF (0,3 ml, 0,3 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 23 h. La reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml) y solución acuosa al 10 %. NaCl. La solución cruda se cargó en seco sobre gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2 , 0-50 % de acetona en tolueno) para proporcionar el compuesto del título (5,4 mg).

R_f 0,65 (EtOAc/heptano, 50:50).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5,31 (1H, ddd, $J = 49,8, 10,7, 8,9$ Hz), 3,83 (1H, br. s), 3,55 (1H, m), 2,95 (1H, tt, $J = 8,1, 4,8$ Hz), 2,39 (1H, m), 2,25 (1H, m), 2,01-1,07 (27H, m), 0,98 (3H, s), 0,95 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,94 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

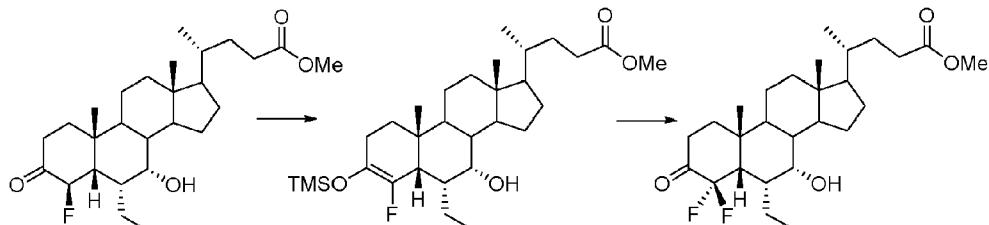
20 N-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-metilsulfonamida (Compuesto comparativo C)

Se disolvió *N*-(3 α -hidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-7 α -trimetilsiloxi-5 β -olan-24-il)-metilsulfonamida (50 mg) en THF seco con agitación en una atmósfera de argón. Se cargó TBAF 1 M en THF (0,3 ml, 0,3 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se diluyó con EtOAc (5 ml) y se lavó con salmuera (3 ml). La solución cruda se cargó en seco sobre gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2 , 0-50 % acetona en tolueno). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron, se concentraron a presión reducida y se disolvieron en CDCl_3 , se lavó con HCl 2 M y agua, se filtró a través de un filtro de PTFE y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (7,1 mg).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5,30 (1H, ddd, $J = 49,8, 10,4, 8,8$ Hz), 3,83 (1H, br. s), 3,56 (1H, m), 3,30 (3H, s), 2,39 (1H, ddd, $J = 15,6, 10,3, 5,1$ Hz), 2,25 (1H, m), 2,00-1,08 (23H, m), 0,97 (3H, s), 0,94 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,93 (3H, t, $J = 6,8$ Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

EJEMPLO 4 - Síntesis de análogos del ácido 4,4-difluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -colánico con cadenas laterales de sulfonilurea y acilsulfonamida

A. 6 α -etil-4,4-difluoro-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo



5 A una solución preenfriada de 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo (producto del Ejemplo 1C; 7,30 g, 16,0 mmol) en THF seco (300 ml) a -78 °C se añadió LDA en hexanos (21,1 ml, 21,1 mmol, ~ 1,3 equiv.) gota a gota durante 0,25 h en atmósfera de argón. Después de la adición, se añadió cloruro de trimetilsililo (2,70 ml, 21,1 mmol, ~1,3 equiv.) como una solución en THF seco (150 ml) y se agitó durante 1 h. Una vez completada, la reacción se detuvo mediante la adición gota a gota de una solución saturada de NaHCO₃ (300 ml) y se calentó a temperatura ambiente durante 0,25 h. Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2 x 150 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir el material crudo como un residuo amarillo (3 % de contaminación con 6 α -etil-4 β -fluoro-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo por ¹⁹F RMN). El residuo resultante se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

10 10 A una solución agitada del material bruto resultante en MeCN (360 ml) se añadió Selectfluor® (11,4 g, 32,0 mmol, ~2,0 equiv.) y se agitó durante 16 h. Al finalizar la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano (500 ml) y H₂O (500 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2 x 250 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (250 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir el material bruto como un residuo amarillo. El residuo resultante se usó para la siguiente reacción sin purificación.

15 15 **RMN** ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz): δ -135,2 (1F, s);

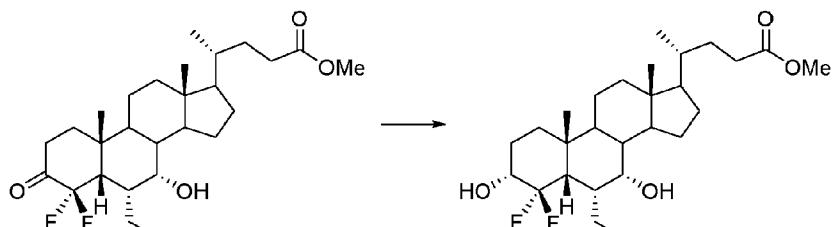
A una solución agitada del material bruto resultante en MeCN (360 ml) se añadió Selectfluor® (11,4 g, 32,0 mmol, ~2,0 equiv.) y se agitó durante 16 h. Al finalizar la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano (500 ml) y H₂O (500 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2 x 250 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (250 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir el material bruto como un residuo amarillo. El residuo resultante se usó para la siguiente reacción sin purificación.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,70 (1H, dq, J = 7,7, 3,2 Hz), 3,66 (3H, s), 2,70 (1H, tdd, J = 14,2, 5,1, 3,4 Hz), 2,44 (1H, dq, J = 15,2, 3,8 Hz), 2,35 (1H, ddd, J = 15,5, 10,2, 5,4 Hz), 2,24 (1H, dd, J = 9,6, 6,5 Hz), 2,19 (1H, dd, J = 10,2, 2,9 Hz), 2,14 (1H, dt, J = 17,0, 5,6 Hz), 2,08 (1H, td, J = 14,6, 5,8 Hz), 2,00-1,86 (3H, m), 1,84-1,75 (3H, m), 1,73-1,63 (3H, m), 1,58 (1H, dd, J = 13,9, 4,8 Hz), 1,54-1,28 (6H, m), 1,25-1,11 (3H, m), 1,10 (3H, s), 0,98 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -99,2 (1F, dd, J = 263,6, 17,3 Hz), -100,7 (1F, ddd, J = 263,6, 29,5, 15,6 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 486,6, [M+NH₄]⁺, 100 %.

30 **B. 4,4-difluoro-(3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo**



A una solución agitada de 6 α -etil-4,4-difluoro-7 α -hidroxil-3-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo crudo de la etapa A (7,51 g asumido, 16,0 mmol) en metanol seco (500 ml) a temperatura ambiente se añadió NaBH₄ (3,03 g, 80,1 mmol, ~5,0 equiv.) y se agitó durante 72 h en atmósfera de argón. Al finalizar la reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano (500 ml) y H₂O (500 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2 x 250 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (250 ml), se secaron sobre MgSO₄, filtrado sobre SiO₂ y concentrado *al vacío* para dar 7,63 g de material bruto como un residuo incoloro. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 100 g) usando hexano/acetona (100/0 a 80/20) como eluyente produjo el compuesto del título metil 4,4-difluoro-(3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -5 β -olan-24-oato de etilo como un residuo incoloro (3,09 g, 6,57 mmol, 41 % en tres etapas).

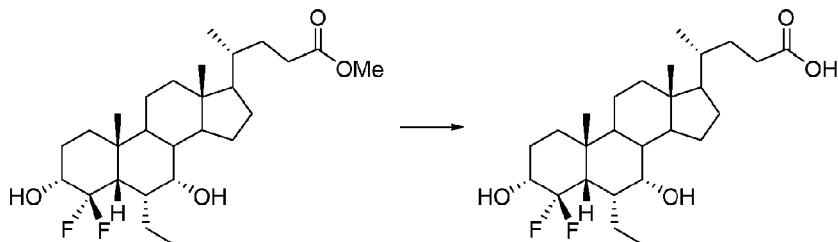
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,76-3,65 (2H, m), 3,67 (3H, s), 2,36 (1H, ddd, J = 15,5, 10,3, 5,4 Hz), 2,31-2,19 (2H,

m), 2,11 (1H, d, J = 5,4 Hz), 2,00-1,92 (3H, m), 1,91-1,30 (16H, m), 1,22-1,10 (4H, m), 1,04 (3H, s), 0,97 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -99,3 (1F, d, J = 239,3 Hz), -111,4 (1F, dtd, J = 239,3, 34,7, 22,5 Hz) ppm.

5 **LRMS** (ESI⁺) m/z: 488,6, [M+NH₄]⁺, 100 %.

C. Ácido 3 α ,7 α -Dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -colánico



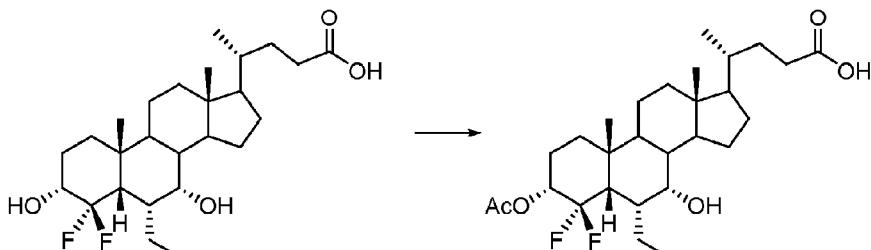
A una solución agitada de 4,4-difluoro-(3 α ,7 α)-dihidroxil-6 α -etil-5 β -colan-24-oato de metilo (1,77 g, 3,75 mmol, 1,0 equiv.) de la etapa B en una solución de 1 se añadió ácido clorhídrico concentrado (37 %) (11 ml, relación 9:3:1) a 4-dioxano (95 ml) y agua (35 ml) a temperatura ambiente. Después de 1 h a refluo, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó con solución saturada de NaHCO₃ (50 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (3 x 50 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para dar 1,84 g de material bruto en forma de un aceite marrón. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 50 g) usando hexano/acetona (100/0 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto del título ácido 3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -colánico como aceite incoloro (1,51 g, 3,30 mmol, 88 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,78-3,64 (2H, m), 2,39 (1H, ddd, J = 15,8, 10,3, 5,3 Hz), 2,25 (1H, ddd, J = 15,7, 9,6, 6,4 Hz), ,1,98-1,93 (3H , m), 1,86-1,65 (7H, m), 1,60 (1H, d, J = 13,0 Hz), 1,49-1,41 (5H, m), 1,40-1,29 (3H, m), 1,25-1,16 (6H, m), 1,04 (3H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

20 **RMN ¹⁹F** (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -99,1 (1F, d, J = 239,3 Hz), -111,1 (1F, dtd, J = 241,0, 38,2, 19,1 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 474,6, [M+NH₄]⁺, 100 %.

D. Ácido 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -colánico



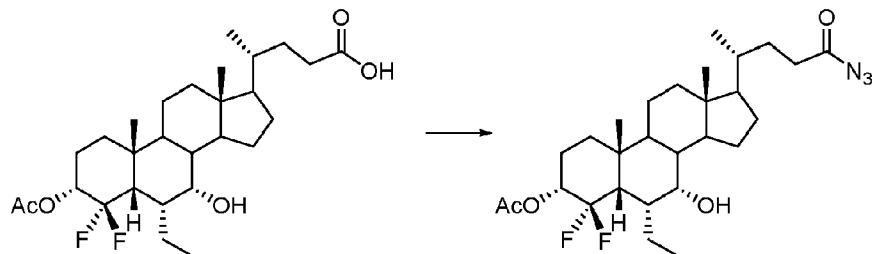
25 A una solución agitada de ácido 3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -colánico (400 mg, 0,88 mmol, 1,0 equiv.) de la Etapa C en THF seco (50 ml) a temperatura ambiente se le añadió hidrogenocarbonato de sodio (370 mg, 4,38 mmol, ~5,0 equiv.) y anhídrido acético (0,41 ml, 4,38 mmol, ~5,0 equiv.). Después de 16 h a 70 °C, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó mediante la adición lenta de H₂O (50 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (2 x 50 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con una solución saturada de NaHCO (100 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 462 mg de material bruto en forma de un aceite amarillo. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil Ultra de 25 g) usando hexano/acetona (100/0 a 80/20) como eluyente produjo el compuesto del título ácido 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -colánico como aceite incoloro (270 mg, 0,54 mmol, 62 %).

35 **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 4,97 (1H, ddd, J = 27,5, 10,2, 6,0 Hz), 3,67 (1H, s), 2,54-2,33 (2H, m), 2,30-2,26 (1H, m), 2,24-2,18 (1H, m), 2,13 (3H, s), 2,02-1,79 (6H, m), 1,77-1,62 (3H, m), 1,56-1,42 (6H, m), 1,41-1,21 (5H, m), 1,20-1,13 (3H, m), 1,05 (3H, s), 0,95 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,94 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,66 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -98,2 (1F, d, J = 244,5 Hz), -107,1 (1F, ddd, J = 242,8, 36,4, 22,5 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 516,5, [M+NH₄]⁺, 100 %.

E. 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -olan-24-oil-azida

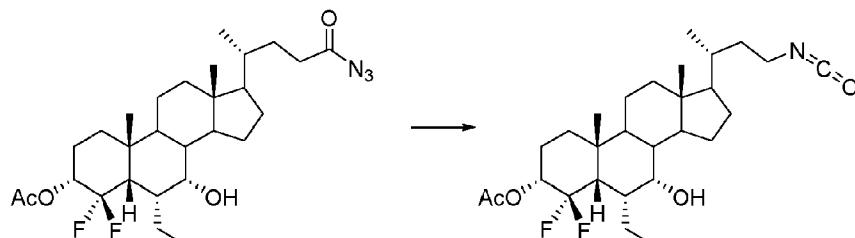


A una solución preenfriada de ácido 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -colánico (240 mg, 0,48 mmol, 1,0 equiv.) de la etapa D en THF seco (5,3 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (0,14 ml, 0,96 mmol, ~2,0 equiv.) y difenilfosforilazida (0,16 ml, 0,72 mmol, ~1,5 equiv.). Después de 3 h, la mezcla de reacción se inactivó mediante la adición lenta de salmuera (10 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (3 x 20 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron al vacío a 0 °C para producir el material bruto en forma de un aceite de color amarillo pálido. El aceite resultante se usó para la siguiente purificación adicional de la reacción.

RMN ¹H - picos característicos (400 MHz, CDCl₃): δ 4,94-4,83 (1H, m), 3,59 (1H, s), 2,30 (1H, ddd, J = 15,7, 10,0, 5,4 Hz), 2,04 (3H, s), 0,97 (3H, s), 0,87 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,84 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,57 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -98,2 (1F, d, J = 242,8 Hz), -107,2 (1F, dtd, J = 242,8, 33,0, 26,0 Hz) ppm.

15 F. Isocianato de 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-ilo

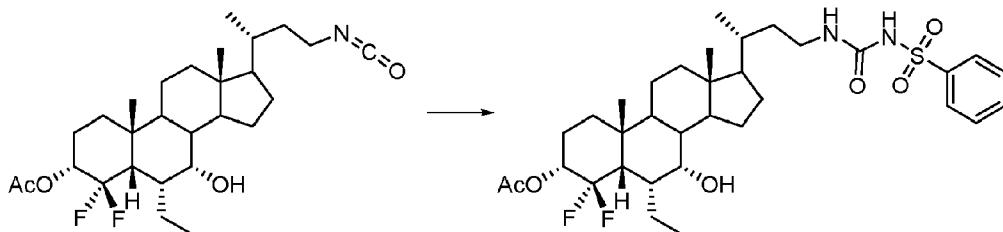


Una solución agitada de aceite crudo 3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-5 β -olan-24-oil azida de la etapa E (se asume que 252 mg, 0,48 mmol) en tolueno seco (7,5 ml) se calentó a 125 °C en una atmósfera de argón. Después de 4 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente. La solución resultante se usó sin purificación adicional.

20 RMN ¹H - picos característicos (400 MHz, CDCl₃): δ 4,89 (1H, ddd, J = 27,5 10,2, 6,5 Hz), 3,59 (1H, q, J = 3,2 Hz), 3,27 (1H, ddd, J = 13,1, 7,8, 4,5 Hz), 3,22-3,15 (1H, m), 2,04 (3H, s), 0,97 (3H, s), 0,88 (3H, t, J = 7,1 Hz), 0,86 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,59 (3H, s) ppm .

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -98,2 (1F, d, J = 242,8 Hz), -107,2 (1F, dtd, J = 243,2, 37,7, 22,5 Hz) ppm.

25 G. N,N-(3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea



Preparado según el procedimiento general 1 usando 113 mg de bencenosulfonamida para proporcionar el compuesto del título. *N,N'*-(3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea como un residuo blanco (235 mg, 0,36 mmol, 75 %).

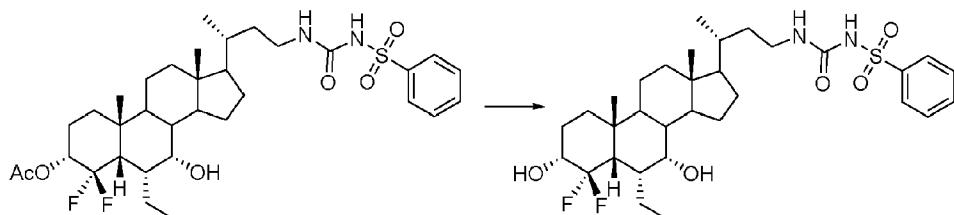
30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,90 (2H, dd, J = 8,4, 1,1 Hz), 7,63 (1H, tt, J = 7,6, 1,1 Hz), 7,49 (2H, t, J = 8,1 Hz), 6,53

(1H, s), 4,98 (1H, ddd, $J = 27,1, 11,3, 4,5$ Hz), 3,67 (1H, s), 3,27 (1H, ddd, $J = 13,5, 8,9, 4,5$ Hz), 3,18-3,11 (1H, m), 2,13 (3H, s), 2,02-1,79 (6H, m), 1,75-1,64 (4H, m), 1,62-1,43 (5H, m), 1,42-1,36 (1H, m), 1,28-1,10 (7H, m), 1,05 (3H, s), 0,95 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,63 (3H, s) ppm.

5 **RMN ^{19}F** (1H no desacoplado, 376 MHz, $CDCl_3$): δ -98,2 (1F, d, $J = 242,8$ Hz), -107,1 (1F, dtd, $J = 243,2, 37,7, 22,5$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 635,8, [M+NH $_4$] $^+$, 100 %.

***N,N'*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto 21)**



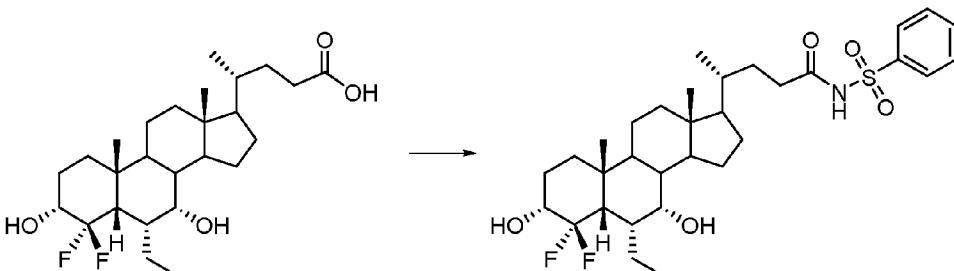
10 Preparado según procedimiento general 2 utilizando 210 mg de *N,N'*-(3 α -acetoxi-4,4-difluoro-6 α -etil-7 α -hidroxil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea para proporcionar el compuesto del título. *N,N'*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea como un sólido blanco (102 mg, 0,17 mmol, 52 %).

15 **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,19 (1H, s), 7,90 (2H, dt, $J = 7,3, 1,3$ Hz), 7,65 (1H, tt, $J = 7,5, 1,1$ Hz), 7,54 (2H, tt, $J = 7,3, 1,6$ Hz), 6,51 (1H, t, $J = 5,2$ Hz), 3,78-3,67 (2H, m), 3,29 (1H, ddt, $J = 13,9, 10,2, 5,1$ Hz), 3,18 (1H, ddd, $J = 13,6, 8,0, 6,1$ Hz), 2,30 (1H, dd, $J = 31,4, 11,0$ Hz), 1,99-1,94 (3H, m), 1,88-1,57 (9H, m), 1,52-1,37 (5H, m), 1,23-1,11 (7H, m), 1,04 (3H, s), 0,97 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,93 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,64 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (1H no desacoplado, 376 MHz, $CDCl_3$): δ -99,3 (1F, d, $J = 239,3$ Hz), -111,3 (1F, dtd, $J = 239,3$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 593,6, [M+NH $_4$] $^+$, 100 %.

***N*-(3 α ,7 α -Dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-bencenosulfonamida (Compuesto 22)**



20 Se preparó según el procedimiento general 4 usando 400 mg de ácido 3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -colánico de la Etapa C para proporcionar el compuesto del título. *N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-bencenosulfonamida, un sólido blanco (161 mg, 0,27 mmol, 31 %).

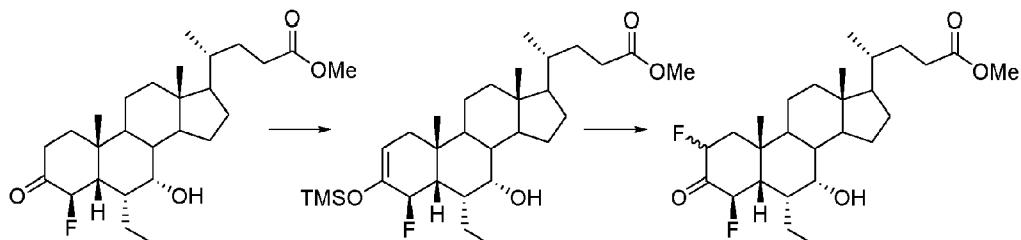
25 **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,06 (2H, dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz), 7,64 (1H, tt, $J = 7,6, 0,8$ Hz), 7,54 (2H, t, $J = 7,3$ Hz), 3,85-3,69 (2H, m), 2,45 (1H, dd, $J = 32,1, 11,0$ Hz), 2,27 (1H, ddd, $J = 15,3, 10,2, 5,0$ Hz), 2,16-2,10 (1H, m), 1,97-1,89 (3H, m), 1,86-1,64 (8H, m), 1,61-1,54 (1H, m), 1,47-1,43 (4H, m), 1,37-1,29 (2H, m), 1,22-1,06 (6H, m), 1,03 (3H, s), 0,97 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,59 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (1H no desacoplado, 376 MHz, $CDCl_3$): δ -99,0 (1F, d, $J = 239,3$ Hz), -111,0 (1F, dtd, $J = 239,3, 33,0, 26,0$ Hz) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 613,6, [M+NH $_4$] $^+$, 100 %.

EJEMPLO 5 - Síntesis de análogos del ácido 6α -etil- $2\alpha/\beta,4\beta$ -difluoro-($3\alpha,7\alpha$)-dihidroxil-50-colánico con cadenas laterales de sulfonilurea y sulfonamida

A. 6α -etil- $2\alpha/\beta,4\beta$ -difluoro- 7α -hidroxil-3-oxo- 5β -olan-24-oato de metilo



- 5 A una solución agitada y preenfriada de LDA 1 M en THF/hexanos (1,63 ml, 1,625 mmol) y TMS-Cl (0,21 ml, 1,626 mmol) en THF seco (6 ml) a -78 °C se le añadió una solución de 6α -etil- 4β -fluoro- 7α -hidroxil-3-oxo- 5β -olan-24-oato de metilo (producto del Ejemplo 1C; 170 mg, 0,325 mmol) en THF seco (2,5 ml) gota a gota durante 10 minutos. Despues de la adición, la reacción se dejó calentar gradualmente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20 h. Al finalizar, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición gota a gota de NaHCO₃ saturado (5 ml) y se diluyó con H₂O (5 ml). Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 5 ml). Los orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ (5 ml), H₂O (5 ml) y salmuera (5 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir un aceite amarillo. El jarabe resultante se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz): δ -169,9 (1F, s);

- 15 A una solución agitada de 3-trimetilsilil- 6α -etil- 4β -fluoro- 7α -hidroxil- 5β -olan-2-eno-24-oato de metilo (supongamos 0,19 g, 0,325 mmol) en MeCN seco (10 ml) se le añadió añadido Selectfluor® (0,17 g, 0,488 mmol) en porciones y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Una vez completada la reacción, se diluyó con EtOAc (5 ml) y NaHCO (3 ml) sat. Se eliminó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (3 x 5 ml). Fases orgánicas combinadas, secadas sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir un aceite amarillo. 20 Los procedimientos descritos anteriormente en los Ejemplos 2D y 2E se llevaron a cabo en el producto de la Etapa A para obtener 6α -etil- $2\alpha/\beta,4\beta$ -difluoro-($3\alpha,7\alpha$)-dihidroxil- 5β -olan-24-oato de metilo. Este compuesto se puede convertir en equivalentes de sulfonilurea o análogos de sulfonamida usando los Procedimientos generales 1 a 4 como se describe en los Ejemplos 1 a 3 anteriores.

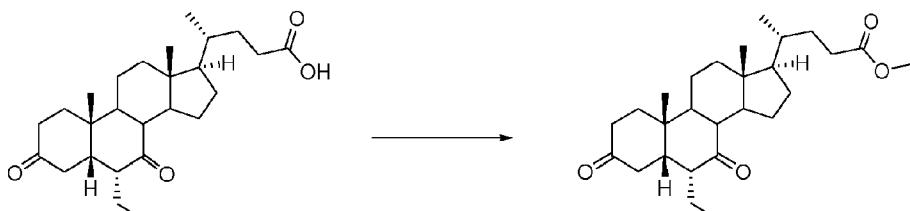
SÍNTESIS DE COMPUESTOS 2β-FLUORO

- 25 El siguiente ejemplo 6 se refiere a compuestos que no forman parte de la presente invención.

Se prepararon derivados 2α-fluoro y 4α-fluoro del ácido obeticólico como se describe a continuación.

EJEMPLO 6 - Síntesis de análogos del ácido 2β-fluoro- $3\alpha,7\alpha$ -dihidroxil- 6α -etil- 5β -colánico con cadenas laterales de sulfonilurea y sulfonamida

A. 3,7-dioxo- 6α -etil- 5β -olan-24-oato de metilo

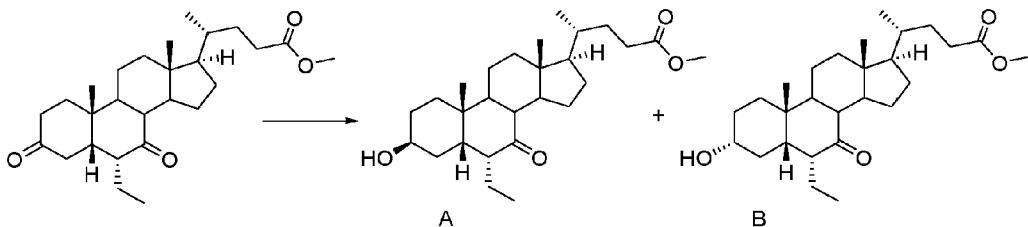


- 30 A una solución de ácido (6α , 5β , 7α)- 6 -etil- 7 -hidroxi- $3,7$ -dioxo- 24 -oico preparado como se describe en WO 2016/079520 (36,0 g, 87,7 mmol, 1,0 equiv.) en metanol (800 ml) a temperatura ambiente, se añadió ácido para-toluenosulfónico (1,67 g, 8,78 mmol, ~0,1 equiv.) y se sonicó a 30 °C durante 4 horas. La reacción se consideró completa por TLC y la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en cloroformo (400 ml) y se lavó con solución sat. de NaHCO₃ (400 ml) y salmuera (400 ml), secadas sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para proporcionar 37,6 g de material bruto en forma de un sólido blanco que se usó sin purificación adicional (87,3 mmol, 99 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,66 (3H, s), 2,74 (1H, m), 2,47 (1H, t, *J* = 11.3 Hz), 2,35 (1H, ddd, *J* = 15,4, 10,0, 5,3 Hz), 2,26-2,14 (6H, m), 2,10-1,77 (6H, m), 1,74-1,35 (7H, m), 1,33 (3H, s), 1,31-1,26 (1H, m), 1,21-0,96 (4H, m), 0,93 (3H, d, *J* = 6,5 Hz), 0,80 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,69 (3H, s) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 448,3 [M+NH₄]⁺, 100 %.

B. 3β-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato y metil-3α-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo



A una solución seca de 3,7-dioxo-6α-etil-5β-colan-24-oato de metilo de la etapa A (10,0 g, 23,2 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (340 ml) a -78 °C en argón se añadió *L*-selectrida (35,0 ml, 34,8 mmol, ~2,5 equiv.) gota a gota durante 15 minutos. Después de 10 minutos, la mezcla de reacción recibió una solución de peróxido de hidrógeno (40 ml, 30 % v/v) e hidróxido de sodio 2 M (40 ml) en agua (400 ml) a 0 °C. Después de 10 minutos más, la mezcla de reacción recibió ácido clorhídrico 2 M (130 ml) a temperatura ambiente. La fase acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 250 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con agua (500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para dar 11,0 g de material bruto en forma de un aceite incoloro. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 100 g) usando PE 40-60/acetona (90/10 a 80/20) como eluyente produjo una mezcla inseparable del compuesto 3β-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo y 3α-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo en una proporción de 65:35 como un residuo blanco (7,83 g, 18,1 mmol, 78 %). a la mezcla no se separó ya que ambos compuestos conducen a la misma mezcla de alquenos en la siguiente etapa.

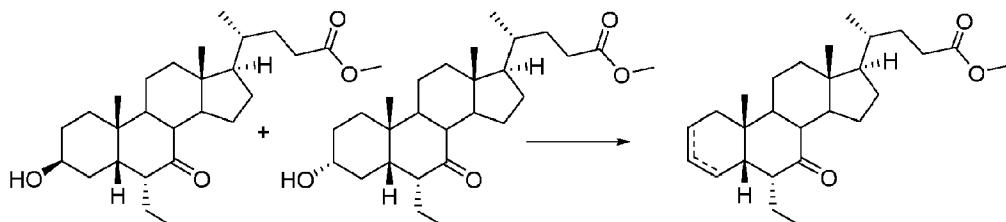
Compuesto A: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 4,05 (1H, t, *J* = 2,5 Hz), 3,66 (3H, s), 2,77-2,73 (1H, m), 2,41-2,31 (2H, m), 2,26-2,14 (3H, m), 2,00-1,88 (2H, m), 1,84-1,58 (6H, m), 1,55-1,29 (10H, m), 1,25 (3H, s), 1,15-1,07 (4H, m), 0,92 (3H, d, *J* = 6,5 Hz), 0,81 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,66 (3H, s).

LRMS (ESI⁺) m/z: 450,3 [M+NH₄]⁺, 100 %.

Compuesto B: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 3,66 (3H, s), 3,57-3,48 (1H, m), 2,76-2,67 (1H, m), 2,41-2,32 (2H, m), 2,26-2,14 (3H, m), 2,00-1,88 (2H, m), 1,84-1,59 (6H, m), 1,55-1,29 (10H, m), 1,22 (3H, s), 1,17-1,07 (4H, m), 0,92 (3H, d, *J* = 6,4 Hz), 0,80 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 450,4 [M+NH₄]⁺, 100 %.

C. 6α-etil-7oxo-5β-col-2-eno-24-oato de metilo y 6α-etil-7-oxo-5β-col-3-eno-24-oato de metilo

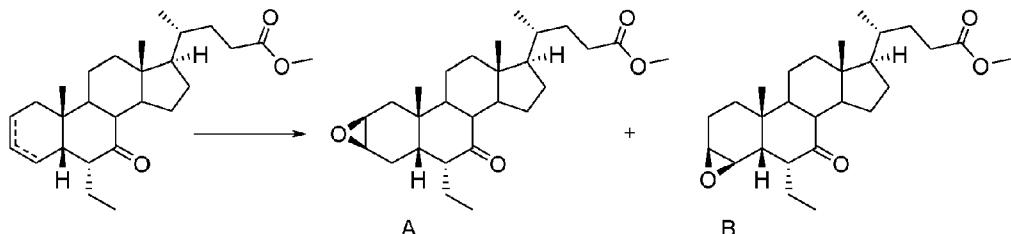


A una solución de 3β-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo y 3α-hidroxil-6α-etil-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo de la etapa B (6,31 g, 14,6 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (120 ml) a temperatura ambiente se añadió dimetilaminopiridina (3,56 g, 29,2 mmol, ~2,0 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y recibió anhídrido trifílico (2,57 ml, 15,3 mmol, -1,05 equiv.) gota a gota durante 5 minutos. Después de 2 horas de calentamiento a 12 °C, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se inactivó con ácido clorhídrico 2 M (100 ml). La fase acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 7,56 g de material bruto en forma de un aceite de color naranja. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 100 g) usando PE 40-60/acetona (90/10) como eluyente produjo una mezcla inseparable de 6α-etil-7oxo-5β-col-2-eno-24-oato de metilo y 6α-etil-7-oxo-5β-col-3-eno-24-oato de metilo en una proporción de 80:20 como un aceite incoloro (2,70 g, 6,51 mmol, 45 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,63-5,40 (2H, m), 3,66 (3H, s), 2,74 (1H, dd, *J* = 12,0, 6,6 Hz), 2,34 (2H, tt, *J* = 10,3, 5,1 Hz), 2,27-1,29 (19H, m), 1,27 (2H, s), 1,26 (1H, s), 1,18-0,94 (3H, m), 0,91 (3H, d, *J* = 6,5 Hz), 0,83 (3H, t, *J* = 7,5 Hz), 0,664 (1H, s), 0,657 (2H, s) ppm.

40 LRMS (ESI⁺) m/z: 432,20 [M+NH₄]⁺, 100 %.

D. 2 β ,3 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo y 3 β ,4 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -olan-24-oato de metilo



A una solución de una proporción de 80:20 de 6 α -etil-7oxo-5 β -col-2-eno-24-oato de metilo y 6 α -etil-7-oxo-5 β -col-3-eno-24-oato de metilo de la Etapa C (5,00 g, 12,1 mmol, ~1,0 equiv.) en diclorometano (100 ml) a temperatura ambiente se le añadió ácido metaperclorobenzoico (3,12 g, 18,1 mmol, ~1,5 equiv.). Despues de 3 horas a temperatura ambiente, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se inactivó con solución sat. de Na₂S₂O₃ (150 ml). Despues de 10 minutos de agitación, la fase acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para dar 5,28 g de material bruto como un residuo amarillo pálido. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 100 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/10) como eluyente produjo una mezcla inseparable de 2 β ,3 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo y 3 β ,4 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (4,94 g, 11,5 mmol, 95 %). La purificación adicional mediante cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 340 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto 2 β ,3 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (3,71 g, 8,62 mmol, 72 %) y el compuesto metil-3 β ,4 β -epoxi-6 α -etil-7-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (1,18 g, 2,74 mmol, 23 %).

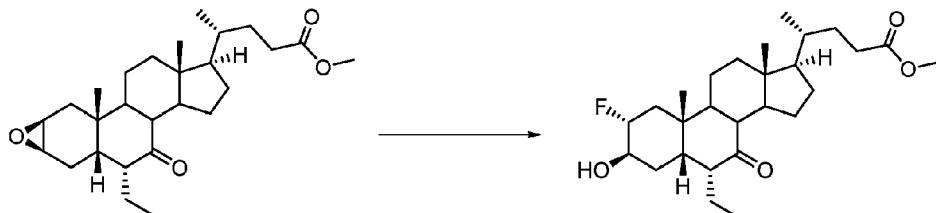
Compuesto A: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,66 (3H, s), 3,13 (1H, t, *J* = 2,6 Hz), 3,01 (1H, dd, *J* = 5,5, 4,2 Hz), 2,67 (1H, dd, *J* = 11,5, 6,6 Hz), 2,35 (1H, ddd, *J* = 15,4, 10,2, 5,1 Hz), 2,30-2,18 (3H, m), 2,01-1,65 (7H, m), 1,55-1,20 (10H, m), 1,17 (3H, s), 1,15-0,95 (3H, m), 0,92 (3H, d, *J* = 6,4 Hz), 0,81 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,65 (3H, s) ppm.

20 LRMS (ESI⁺) m/z: 448,30 [M+NH₄]⁺, 100 %.

Compuesto B: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 3,66 (3H, s), 3,10-3,09 (1H, m), 2,79-2,74 (2H, m), 2,41-2,31 (2H, m), 2,26-2,04 (3H, m), 2,00-1,88 (4H, m), 1,84-1,58 (2H, m), 1,53-1,20 (11H, m), 1,17 (3H, s), 1,14-0,94 (2H, m), 0,91 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,90 (3H, t, J = 7,5 Hz), 0,66 (3H, s) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 448,26 [M+NH₄]⁺, 100 %.

25 E. 2 α -fluoro-3 α -hidroxil-6 α -etil-7-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo



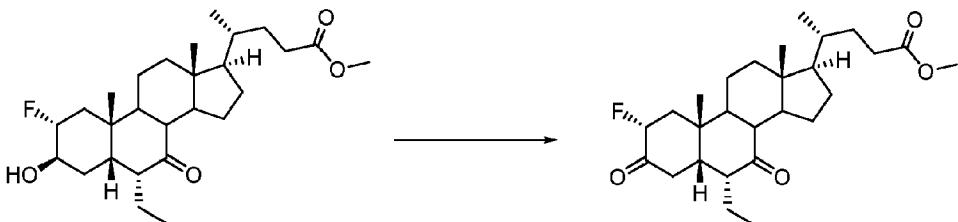
A una solución seca de $2\beta,3\beta$ -epoxi- 6α -etil-7-oxo- 5β -colan-24-oato de metilo de la etapa D (3,33 g, 7,73 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (100 ml) a 0 °C bajo argón se añadió complejo HF/piridina (70 %) (100 ml, 3,86 mol, ~500 equiv.) vertiendo una botella de 100 ml recién abierta en el matraz de reacción enfriado a través de un embudo de vidrio mientras se encontraba bajo un flujo constante de argón. Después de la adición del reactivo, el frasco y el embudo se enjuagaron con diclorometano (20 ml). Después de 3 horas a 0 °C, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (200 ml) y se inactivó mediante la adición lenta de solución sat. solución de NaHCO₃ (500 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora mientras se recibían 5,0 g de NaHCO₃ en porciones de 100 mg. Luego se separó la fase acuosa y se extrajo con diclorometano (3 x 250 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para dar 3,61 g de material bruto en forma de un aceite incoloro. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 100 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/150 como eluyente produjo el compuesto 2α -fluoro- 3α -hidroxil- 6α -etil-7-oxo- 5β -colan-24-oato de metilo como un residuo blanco (2,39 g, 5,30 mmol, 69 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,53 (1H, dq, *J* = 47,0, 2,3 Hz), 4,01 (1H, dq, *J* = 6,6, 2,9 Hz), 3,66 (3H, s), 2,75 (1H, dd, *J* = 13,3, 5,8 Hz), 2,38-2,30 (2H, m), 2,25-2,11 (4H, m), 2,01 (1H, DD, *J* = 12,0, 3,8 Hz), 1,93-1,36 (14H, m), 1,25 (3H, d, *J* = 4,0 Hz), 1,21-1,10 (3H, m), 0,91 (3H, d, *J* = 6,5 Hz), 0,82 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,65 (3H, s) ppm

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -184,3 (1F, tt, J = 50,3, 8,7 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 468,28 [M+NH₄]⁺, 100 %.

F. 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colan-24-oato de metilo



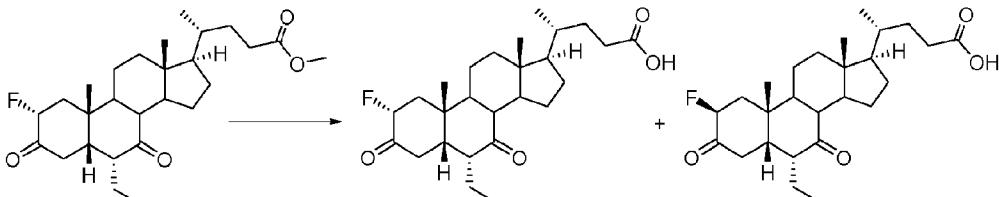
A una solución de 2α-fluoro-3α-hidroxil-6α-etyl-7-oxo-5β-colan-24-oato de metilo de la etapa E (1,00 g, 2,26 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (20 ml) a temperatura ambiente se añadió periodinano de Dess-Martin (1,92 g, 4,52 mmol, ~2,0 equiv.) y H₂O (0,25 ml). Después de 3 horas a temperatura ambiente, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se inactivó con solución sat. de NaHCO₃ (25 ml) y se filtró sobre Celite y se lavó con diclorometano (90 ml). Luego se separó la fase acuosa y se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución sat. de Na₂S₂O₃ (150 ml), secada sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para dar 1,21 g de material bruto en forma de un aceite amarillo pálido. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 25 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-5β-colan-24-oato de metilo como un residuo blanco (568 mg, 1,27 mmol, 56 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,69 (1H, ddd, J = 50,7, 4,8, 3,4 Hz), 3,68 (3H, s), 2,75 (1H, ddd, J = 7,7, 5,0, 4,3 Hz), 2,51-1,94 (12H, m), 1,83-1,40 (9H, m), 1,37 (3H, s), 1,34-1,08 (5H, m), 0,94 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,84 (3H, t, J = 7,4 Hz), 0,70 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -188,2 (1F, ddd, J = 51,6, 42,1, 12,1 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 466,55 [M+NH₄]⁺, 100 %.

G. Ácido 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico y ácido 2β-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico



A una solución de 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colan-24-oato de metilo (producto de la etapa F, 878 mg, 1,95 mmol, 1,0 equiv.) en metanol (20 ml) se añadió hidróxido de sodio (1,0 g) a temperatura ambiente. Después de 19 horas a temperatura ambiente, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se acidificó a pH 4,0 y se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con ácido clorhídrico 1 M (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró *al vacío* para producir 968 mg de material bruto en forma de un aceite incoloro. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP KP-Sil de 25 g) usando diclorometano/metanol (98/2 a 90/10) como eluyente produjo una mezcla inseparable de ácido 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico y ácido 2β-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico en una proporción de 40:60 como un residuo blanco (772 mg, 1,77 mmol, 91 %).

Ácido 2α-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico: **RMN ¹H** - picos característicos (400 MHz, CDCl₃): δ 4,68 (1H, ddd, J = 50,7, 5,1, 3,6 Hz), 2,75 (1H, ddd, J = 7,7, 5,0, 4,3 Hz), 1,36 (3H, s), 0,94 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,82 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,69 (3H, s) ppm.

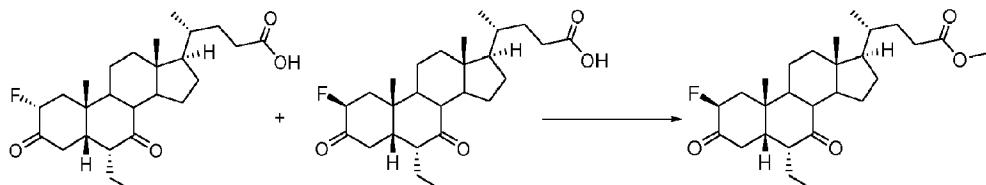
RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -188,2 (1F, ddd, J = 51,6, 42,1, 12,1 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 452,51 [M+NH₄]⁺, 100 %.

Ácido 2β-fluoro-3,7-dioxo-6α-etyl-5β-colánico: **RMN ¹H** - picos característicos (400 MHz, CDCl₃): δ 4,90 (0,6H, ddd, J = 48,7, 13,2, 6,1 Hz), 2,75 (1H, ddd, J = 7,7, 5,0, 4,3 Hz), 1,39 (2H, s), 0,95 (2H, d, J = 6,5 Hz), 0,82 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,70 (2H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -195,1 (1F, ddd, J = 48,6, 10,4, 5,2 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 452,51 [M+NH₄]⁺, 100 %.

H. 2 β -fluoro-3,7-dioxo-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo

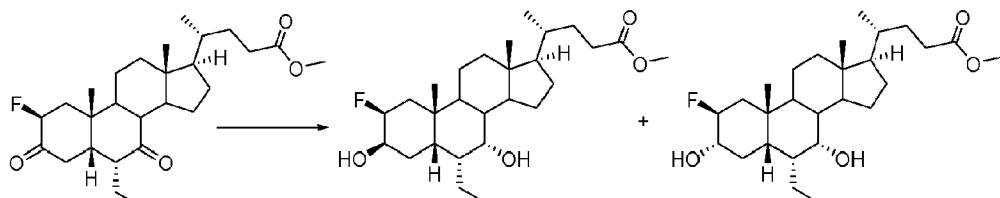
A una solución de una proporción 40:60 de ácido 2 α -fluoro-3,7-dioxo-6 α -etil-5 β -colánico y ácido 2 β -fluoro-3,7-dioxo-6 α -etil-5 β -colánico de la etapa G (750 mg, 1,72 mmol, ~1,0 equiv.) en dimetilformamida (17 ml) a temperatura ambiente se añadió carbonato de cesio (840 mg, 2,58 mmol, ~1,5 equiv.). Despues de 20 minutos a temperatura ambiente, se añadió gota a gota yodometano (0,54 ml, 8,59 mmol, ~5,0 equiv.). Despues de 19 horas a temperatura ambiente, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en acetato de etilo (25 ml) y H₂O (20 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 917 mg de material bruto en forma de un aceite amarillo pálido. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP Ultra KP-Sil de 25 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto 2 β -fluoro-3,7-dioxo-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo como un residuo blanco (416 mg, 0,95 mmol, 54 %). No se aisló el correspondiente derivado 2 α -fluoro.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,69 (1H, ddd, *J* = 48,8, 13,3, 6,4 Hz), 3,67 (3H, s), 2,75 (1H, dd, *J* = 13,1, 5,0 Hz), 2,54-2,44 (2H, m), 2,40-2,32 (2H, m), 2,29-2,13 (3H, m), 2,09 (1H, dt, *J* = 13,0, 3,3 Hz), 2,01-1,91 (2H, m), 1,85-1,65 (5H, m), 1,54-1,42 (2H, m), 1,39 (3H, s), 1,38-1,05 (7H, m), 0,94 (3H, d, *J* = 6,5 Hz), 0,82 (3H, t, *J* = 7,4 Hz), 0,70 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -195,1 (1F, ddt, *J* = 48,6, 10,4, 5,2 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 466,59 [M+NH₄]⁺, 100 %.

20

I. 2 β -fluoro-3 β ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo y 2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo

A una solución seca de 2 β -fluoro-3,7-dioxo-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo de la etapa H (390 mg, 0,87 mmol, 1,0 equiv.) en metanol (20 ml) en argón a temperatura ambiente se añadió borohidruro de sodio (164 mg, 4,44 mmol, 5,0 equiv.). Despues de 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano (20 ml) y H₂O (20 ml) y la fase acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (3 x 20 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron *al vacío* para producir 446 mg de material bruto en forma de un aceite amarillo pálido. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP Ultra KP-Sil de 25 g) usando PE 40-60/acetona (95/5 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto 2 β -fluoro-3 β ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (161 mg, 0,36 mmol, 41 %) y 2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo como un aceite incoloro (146 mg, 0,32 mmol, 37 %).

2 β -fluoro-3 β ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 4,63 (1H, dddd, *J* = 47,4, 12,5, 4,4, 3,1 Hz), 4,15 (1H, q, 3,6 Hz), 3,71 (1H, s), 3,67 (3H, s), 2,36 (1H, ddd, *J* = 15,5, 10,2, 5,3 Hz), 2,33 (1H, ddd, *J* = 16,0, 9,7, 6,6 Hz), 2,12 (1H, td, *J* = 13,2, 2,2 Hz), 2,00 (1H, dt, *J* = 12,5, 3,1 Hz), 1,94-1,78 (5H, m), 1,77-1,54 (6H, m), 1,52-1,25 (8H, m), 1,20-1,12 (4H, m), 1,00 (3H, s), 0,93 (3H, d, *J* = 6,8 Hz), 0,92 (3H, t, *J* = 7,1 Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

RMN ¹⁹F (¹H no desacoplado, 376 MHz, CDCl₃): δ -187,1 (1F, dquin, *J* = 46,9, 7,8 Hz) ppm.

LRMS (ESI⁺) m/z: 470,64 [M+NH₄]⁺, 100 %.

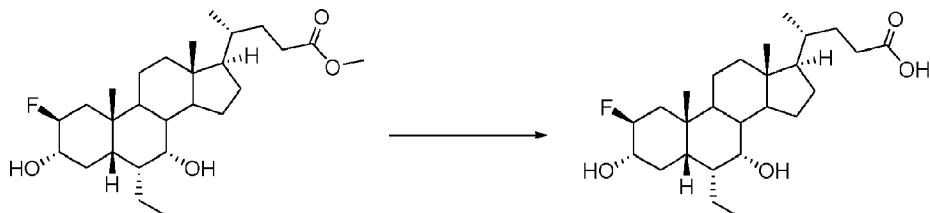
2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -olan-24-oato de metilo: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 4,42 (1H, dddd, *J* =

52,7, 12,5, 8,7, 4,5 Hz), 3,70 (1H, s), 3,67 (3H, s), 3,52 (1H, ddt, 13,8, 12,5, 6,0 Hz), 2,36 (1H, ddd, $J = 15,4, 10,2, 5,3$ Hz), 2,27-2,17 (3H, m), 2,09-1,97 (2H, m), 1,95-1,86 (2H, m), 1,84-1,76 (1H, m), 1,66-1,29 (14H, m), 1,22-1,13 (4H, m), 0,98 (3H, s), 0,93 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,92 (3H, t, $J = 7,2$ Hz), 0,67 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -188,2 (1F, ddd, $J = 51,6, 42,1, 12,1$ Hz) ppm.

5 **LRMS (ESI $^+$)** m/z: 470,64 [$\text{M}+\text{NH}_4$] $^+$, 100 %.

J. Ácido 2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -colánico



A una solución de 2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -colan-24-oato de metilo de la Etapa I (119 mg, 0,26 mmol, 1,0 equiv.) en una solución de 1,4-dioxano (9,8 ml) y agua (3,6 ml) a temperatura ambiente se añadió ácido clorhídrico concentrado (37 %) (1,2 ml, relación 9:3:1). Después de 1 hora a reflujo, la reacción se consideró completa mediante TLC y la mezcla de reacción se neutralizó con solución sat. de NaHCO_3 (20 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron al vacío para producir 141 mg de material bruto en forma de un aceite incoloro. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (cartucho Biotage SNAP Ultra KP-Sil de 10 g) usando diclorometano/metanol (95/5 a 90/10) como eluyente produjo el compuesto ácido 2 β -fluoro-3 α ,7 α -dihidroxil-6 α -etil-5 β -colánico como residuo blanco (92 mg, 0,21 mmol, 80 %).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 4,42 (1H, dddd, $J = 52,6, 12,5, 8,7, 4,3$ Hz), 3,69 (1H, s), 3,52 (1H, tdd, 12,0, 8,8, 5,4 Hz), 2,39 (1H, ddd, $J = 15,5, 10,3, 5,1$ Hz), 2,29-2,19 (3H, m), 2,01 (2H, t, $J = 13,0$ Hz), 1,93-1,77 (3H, m), 1,65-1,54 (3H, m), 1,53-1,26 (12H, m), 1,23-1,10 (4H, m), 0,97 (3H, s), 0,94 (3H, re, $J = 6,5$ Hz), 0,91 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 0,66 (3H, s) ppm.

RMN ^{19}F (^1H no desacoplado, 376 MHz, CDCl_3): δ -186,8 (1F, ddq, $J = 52,9, 13,0, 7,5$ Hz,) ppm.

LRMS (ESI $^+$) m/z: 456,60 [$\text{M}+\text{NH}_4$] $^+$, 100 %.

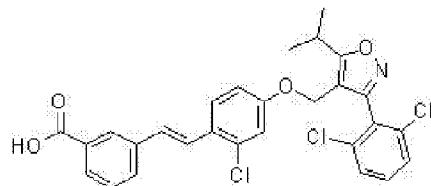
Este compuesto se puede convertir en equivalentes de sulfonilurea o análogos de sulfonamida usando los Procedimientos generales 1 a 4 como se describe en los Ejemplos 1 a 3 anteriores.

25 EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Para los ejemplos biológicos 8 y 9 a continuación, todo el trabajo se llevó a cabo y los datos fueron amablemente proporcionados por el profesor Kim Watson y Dannielle Kydd-Sinclair de la Universidad de Reading, Reino Unido.

EJEMPLO 7 - Medición de CE₅₀ y eficacia en el receptor FXR

Se ensayó la actividad agonista de los compuestos de la invención en el receptor FXR. La Tabla 1 muestra los valores CE₅₀ y valores de eficacia de los compuestos de ejemplo de la presente invención en comparación con los valores de los compuestos de ejemplo comparativos, el ácido obeticólico y el agonista de FXR conocido GW4064, que tiene la estructura:



35 La eficacia se define como el punto máximo en la curva dosis-respuesta y el valor de eficacia para GW4064 en la Tabla 1 se ha designado como 100 %.

Los valores CE₅₀ de la Tabla 1 están normalizados frente a la CE₅₀ de GW4064, al que se le ha asignado 25 nM.

El ácido obeticólico se puede preparar como se describe en WO 02/072598 o nuestras solicitudes WO 2016/079518, WO 2016/079518, WO 2016/079519 y WO 2016/079520.

FXR CE₅₀/ Protocolo de eficacia

Los ensayos de dosis-respuesta se realizaron como se describe en el manual técnico del sistema de ensayo indicador del receptor farnesóide X humano (NR1H4, FXR) (Sistema de ensayo indicador del receptor farnesóide X humano (NR1H4, FXR) de Indigo Biosciences, manual técnico (versión 7.1b), www.indigobiosciences.com).

- 5 Se descongelaron y sembraron en una placa de 96 pocillos células indicadoras de FXR que consistían en un gen promotor sensible a FXR funcionalmente unido al gen de la luciferasa y estas células se dosificaron inmediatamente con los compuestos de prueba en diferentes concentraciones (10-0,05 µM) según las instrucciones del protocolo del fabricante. Después de 24 h de incubación en presencia del compuesto de prueba o disolvente (DMSO), se midió la viabilidad celular de estas células informadoras tratadas/no tratadas para eliminar los resultados falsos negativos
- 10 10 Se realizaron controles positivos en cada ensayo en el que la CE₅₀ Los valores de GW4064 se asignaron como 25 nM y a GW4064 se le asignó una eficacia del 100 %. La eficacia y la CE₅₀ de cada compuesto de prueba se comparó con el de GW4064.
- 15 Los resultados se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	A-anillo	Cadena lateral	CE ₅₀ (nM)	Eficacia (%)
Ácido obeticólico	Sin F		109	146
GW4064	-	-	25	100
Compuesto 1	4β-F		18	193
Compuesto 2	4β-F		24	195
Compuesto 3	4β-F		19	151
Compuesto 4	4β-F		23	148
Compuesto 5	4β-F		28	166

Compuesto	A-anillo	Cadena lateral	CE ₅₀ (nM)	Eficacia (%)
Compuesto 6	4β-F		32	187
Compuesto 7	4β-F		38	131
Compuesto 8	4β-F		43	159
Compuesto 9	4β-F		50	158
Compuesto 11	4β-F		123	104
Compuesto 12	4β-F		27	176
Compuesto 13	4β-F		48	250
Compuesto comparativo A	4β-F		32	147
Compuesto 14	4β-F		2.34	219

Compuesto	A-anillo	Cadena lateral	CE ₅₀ (nM)	Eficacia (%)
Compuesto 15	4β-F		38	98
Compuesto 16	4β-F		46	143
Compuesto 17	4β-F		34	121
Compuesto 18	4β-F		15	148
Compuesto 19	4β-F		50	136
Compuesto comparativo B	4β-F		158	132
Compuesto comparativo C	4β-F		192	130

Todos los compuestos de la invención tienen actividad agonista de FXR. Todos los compuestos, excepto el compuesto 11, han mejorado significativamente los valores de CE₅₀ comparados con el ácido obeticólico. Además, los valores de eficacia para todos los compuestos de la invención son al menos tan buenos y en la mayoría de los casos mejores que el valor de GW4064.

5

Una comparación de los resultados del Compuesto 2 con su análogo no fluorado, el Compuesto Comparativo A, demuestra que la fluoración mejora tanto la CE₅₀ como la eficacia. Una comparación de los resultados para los Compuestos de sulfonamida aromática 14 a 20 con el Compuesto Comparativo B de sulfonamida carbocíclica y el Compuesto Comparativo C de metilsulfonamida demuestra la importancia del sustituyente aromático en la cadena lateral.

10

EJEMPLO 8 - Medición de CE₅₀ y eficacia en el receptor TGR5

15

Se analizó la actividad de los compuestos 2 y 14, TGR5 (control) y los conjugados de taurina y glicina del ácido obeticólico en el receptor TGR5 usando un Ensayo de AMPc de HitHunter® disponible en DiscoverX en modo agonista para monitorear la activación del receptor TGR5 (GPBAR1) a través de la señalización de mensajeros secundarios Gi y Gs. Los datos se normalizaron a la respuesta máxima y mínima observada en presencia de ligando de control (TGR5) y vehículo.

Diseño de ensayo: modulación de AMPc por GPCR**Manejo de células**

1. Las líneas celulares de cAMP Hunter se ampliaron a partir de inventarios congelados de acuerdo con procedimientos estándar.

5 2. Las células se sembraron en un volumen total de 20 μ l en microplacas de 384 pocillos de paredes blancas y se incubaron a 37 °C durante el tiempo apropiado antes de la prueba.

3. La modulación de AMPc se determinó utilizando el Ensayo de AMPc XS+ DiscoverX de HitHunter®

Formato del agonista Gs

1. Para la determinación del agonista, las células se incubaron con la muestra para inducir la respuesta.

10 2. Se aspiró el medio de las células y se reemplazó con 15 μ l de reactivo HBSS/Hepes 10 mM:cAMP XS+ Ab 2:1.

3. Se realizó una dilución intermedia de los inventarios de muestra para generar una muestra 4X en el tampón de ensayo.

4. 5 Se añadió μ L de muestra 4x a las células y se incubaron a 37 °C o temperatura ambiente durante 30 o 60 minutos. La concentración de vehículos fue del 1 %.

15 Detección de señal

1. Despues de la incubación adecuada del compuesto, se generó la señal de ensayo mediante incubación con 20 μ l de cóctel de lisis cAMP XS+ ED/CL durante una hora, seguido de incubación con 20 μ l de reactivo cAMP XS+ EA durante tres horas a temperatura ambiente.

20 2. Las microplacas se leyeron después de la generación de señal con un Instrumento PerkinElmer Envision™ para la detección de señales quimioluminiscentes.

Análisis de los datos

1. La actividad del compuesto se analizó utilizando el conjunto de análisis de datos CBIS (ChemInnovation, CA).

2. Para los ensayos del modo agonista de Gs, el porcentaje de actividad se calcula utilizando la siguiente fórmula, donde RLU es una abreviatura de unidades de luz relativas:

$$\% \text{ Actividad} = 100\% \times \left(\frac{\text{RLU media de la muestra} - \text{RLU media del vehículo de control}}{\text{RLU media del control MAX} - \text{RLU media del vehículo de control}} \right)$$

25

5. Para los ensayos del modo agonista de Gi, el porcentaje de actividad se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Actividad} = 100\% \times \left(\frac{1 - (\text{RLU media de la muestra} - \text{RLU media del control MAX})}{\text{RLU media del vehículo de control} - \text{RLU media del control MAX}} \right)$$

Resultados

Los resultados se presentan en la Tabla 2.

30 Tabla 2

Compuesto	CE ₅₀ (μ M)	Respuesta máxima
TGR5 (control)	0,445	101,26
Compuesto 2	> 100	0
Compuesto 14	> 100	0

Compuesto	CE ₅₀ (μ M)	Respuesta máxima
Conjugado de taurina y ácido obeticólico	0,979	97,70
Conjugado de glicina de ácido obeticólico	1,904	110,9

Los resultados demuestran que, a diferencia de los conjugados de ácido obeticólico, ni el Compuesto 2 ni el Compuesto 14 tienen actividad agonista en el receptor TGR5. Por tanto, los compuestos son agonistas selectivos del FXR.

5 EJEMPLO 9 - Análisis cuantitativo de la expresión genética inducida por ligando

Se ensayó el efecto del compuesto 2 y del ácido obeticólico sobre la expresión de varios genes diana FXR. Este ejemplo describe ensayos basados en células y análisis de expresión génica para observar la activación funcional de FXR por los compuestos de la invención y el ácido obeticólico a nivel celular.

10 Para evaluar cambios específicos en la expresión genética en respuesta a los compuestos de prueba, se llevó a cabo una cuantificación y análisis precisos mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR). Los experimentos de cultivo de tejidos de mamíferos implicaron la siembra de células de carcinoma hepatocelular (Huh7) en placas de 6 pocillos a una concentración de 1×10^6 células/pocillo e incubar durante 24 horas a 37 °C para permitir la unión. Las células se expusieron al compuesto de prueba respectivo ya sea en su CE₅₀ o CE₉₀, o vehículo (DMSO), durante 24 horas.

15 El compuesto 2 y la OCA también se probaron en la línea celular de carcinoma hepatocelular humano, HepG2. También se incubaron células HepG2 con medio que contenía OCA o Compuesto 2 en su CE₅₀ o CE₉₀ concentraciones durante 24 horas.

También se llevaron a cabo pruebas en células Huh7 y células HepG2 para el Compuesto 14 de la misma manera que para el Compuesto 2.

Aislamiento de ARN total de células cultivadas

20 El ARN total se extrajo utilizando el kit de aislamiento de ARN total RNAqueous™ (Ambion) y todos los reactivos se proporcionaron en el kit o se prepararon según las instrucciones del fabricante. Para las células cultivadas, se eliminó el medio y las células se lavaron con 1x PBS para eliminar los restos celulares y el medio residual. El ARN total se extrae de células frescas. Para 1×10^6 células, 350 μ l se añadió tampón de lisis directamente al pocillo y las células se recogieron raspando con la punta de una pipeta. Las células lisadas se combinaron con un volumen igual de etanol al 64 % y se mezclaron completamente mediante pipeteo. La mezcla de etanol-lisado se transfirió a una columna y se centrifugó a 12.000 x G durante 1 minuto y se descartó el flujo. La membrana se lavó añadiendo tampón de lavado 1 a la columna y centrifugando a 12.000 x G durante 1 minuto, antes de desechar el flujo y repitiendo este etapa dos veces con el tampón de lavado 2. Se incluyó un centrifugado adicional con el cartucho vacío para secar completamente la membrana de etanol. Finalmente, el ARN total se eluyó en 2 alícuotas secuenciales de 50 μ l de tampón de elución precalentado (agua libre de nucleasas que contiene trazas de EDTA).

Análisis de cantidad, pureza e integridad de ARN.

La concentración de ARN se cuantificó midiendo la absorbancia a 260 nm, utilizando un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific). La pureza del ARN se determinó analizando la relación A_{260:280}, donde un valor de entre 1,8 y 2,1 se consideró libre de contaminación proteica y aceptable para solicitudes posteriores. La integridad del ARN se determinó ejecutando una muestra en un gel desnaturalizante de agarosa y formaldehído. Se preparó un gel de agarosa al 1 % (Sigma Aldrich), 1x MOPS (Sigma Aldrich), formaldehído al 6,6 % (Fisher Scientific) con la adición de 1x SYBR™ Tinción de ADN segura (Invitrogen) para visualizar los ácidos nucleicos. Antes de la carga, se agregaron volúmenes iguales de colorante de carga de formaldehído (Ambion) a 1 μ g de ARN y las muestras se calentaron a 70 °C durante 10 minutos antes de enfriarlas inmediatamente en hielo durante 2-3 minutos. El gel se ejecutó a 90 V durante 1 hora y 30 minutos y se visualizó bajo luz ultravioleta, utilizando el sistema NuGenius gel doc (Syngene). Las bandas de ARNr 28S y 18S se examinaron en busca de bandas nítidas e intensas de aproximadamente 5 kb y 1,9 kb, respectivamente, donde se esperaba que la banda superior 28S tuviera el doble de intensidad que la banda inferior 18S para el ARN intacto. Se consideró que las manchas por debajo de la banda de ARNr 18S indicaban ARN degradado, mientras que las manchas y/o las bandas por encima del ARNr 28S eran indicativas de contaminación del ADN. Después del análisis, el ARN se utilizó inmediatamente para la transcripción inversa.

Transcripción inversa

La transcripción inversa se realizó utilizando el Kit avanzado de síntesis de ADNc para RT-qPCR iScript™ (Biorad). A 1 μ g de ARN tratado con ADNasa, 4 μ l de 5 x iScript™ mezcla de reacción avanzada y 1 μ l de iScript™ se agregó la

transcriptasa inversa avanzada. Se añadió agua libre de nucleasas a un volumen final de 20 µl y la reacción se incubó a 46 °C durante 20 minutos, antes de la inactivación a 95 °C durante 1 minuto. El ADNc recién sintetizado se diluyó 10 veces en tampón TE (Tris 10 mM, pH 8, EDTA 1 mM), se dividió en alícuotas y se almacenó a -20 °C hasta su uso en experimentos de qPCR.

5 Análisis cualitativo de PCR en tiempo real

Los genes de referencia se seleccionaron basándose en datos de la literatura existente. Los genes diana seleccionados fueron los establecidos en la Tabla 3.

Tabla 3: Genes diana seleccionados para análisis cualitativo de PCR en tiempo real

Gen	Ruta	Resultado esperado en respuesta a la activación de FXR
NR0B2 (SHP)	Señalización FXR, secreción BA	Regulado al alza
OSTα	Transporte de BA a través de las membranas celulares.	Regulado al alza
CYP7A1	Síntesis de BA	Regulado a la baja
TGFB1	Fibrosis, remodelación tisular, señalización de monocitos.	Regulado a la baja
GAPDH	Limpieza interna	Estable
ACTB (BACTINA)	Limpieza interna	Estable

10 Optimización de cebadores para qPCR

Los cebadores KicQInicio® SIBR® Green prediseñados (elegidos según la mejor clasificación) para los genes diana anteriores se adquirieron de Sigma Life Science. Se añadió agua libre de nucleasas a los cebadores liofilizados hasta obtener una concentración madre de 100 µM. Los cebadores se diluyeron con agua libre de nucleasas hasta una concentración de trabajo de 10 µM. Para probar la eficiencia, reproducibilidad e intervalo dinámico del ensayo, se realizó una dilución en serie diez veces; que consta de 5 concentraciones de ADNc generado (como se describe anteriormente) a partir de ARN de referencia humano (Agilent). Después de la qPCR de estas muestras, se construyó una curva estándar mediante el valor umbral del ciclo (Ct) (eje y) versus la concentración logarítmica de ADNc (eje x). La eficiencia de amplificación del cebador (E) de un ciclo en la fase exponencial se determinó mediante la ecuación $E = 10^{(-1/\text{pendiente})} - 1$ (Pfaffl, 2001). La precisión de estas reacciones qPCR fue determinada por el valor R^2 de la curva estándar, siendo adecuados valores $> 0,98$. La especificidad de cada cebador se determinó mediante análisis de curva de fusión, que se realizó al final de cada ejecución, donde la producción de un pico a una temperatura de fusión indicó la amplificación de solo un producto y, por lo tanto, cebadores que eran altamente específicos. Los productos amplificados se confirmaron mediante electroforesis en gel de agarosa (2 % de agarosa, 1xTAE, ejecutado a 100 V durante 30 minutos) para verificar que los tamaños de los amplicones fueran los esperados y que solo se observara un producto.

PCR cuantitativa

La mezcla maestra de reacción lista para usar de iTaq™ SYBR® universal Green Supermix (Biorad) se utilizó para todas las reacciones de qPCR. Una reacción típica para cada gen contenía 5 µl de 2 × iTaq™ SYBR® universal Green Supermix, cebadores directos de 500 nm e inversos de 500 nm, aproximadamente 15 ng de ADNc y agua libre de nucleasas hasta un volumen final de 10 µl. Cada gen diana, gen de referencia y control sin plantilla se ejecutaron por triplicado en una placa de 96 pocillos Optical MicroAmp (Applied Biosystems). Las placas se sellaron con un sello adhesivo óptico (Applied biosystems), se colocaron brevemente en un agitador de placas para mezclar los componentes y se centrifugaron. Las reacciones se realizaron utilizando el sistema de PCR en tiempo real Applied Biosystem Step One Plus, utilizando las siguientes condiciones de ciclado; un etapa de desnaturización inicial a 95 °C durante 15 minutos, 40 ciclos de amplificación, que consisten en un etapa de desnaturización a 94 °C durante 15 segundos, un etapa combinada de hibridación y extensión a 60 °C durante 1 minuto, con una única medición de fluorescencia. El análisis de la curva de fusión se realizó inmediatamente después de cada ejecución aumentando la temperatura de 60 °C a 95 °C en incrementos de 0,3 °C y midiendo la disociación de la fluorescencia.

Análisis de los datos

Para cuantificar la expresión génica, el software del sistema qPCR (Applied Biosystems) determinó automáticamente el valor de Ct corregido al inicio. Los cambios relativos en la expresión genética fueron determinados por Livak, o procedimiento $\Delta\Delta C_t$, por el cual los valores C_t de los genes diana se normalizaron al valor Ct del gen de referencia, tanto para las muestras tratadas con vehículo/muestras no tratadas (control) como para las muestras tratadas con el compuesto (muestras de prueba). Los valores de ΔC_t para las muestras de prueba se normalizaron luego con respecto a los valores de ΔC_t de las muestras de control. Y finalmente, la relación de expresión se calculó usando la ecuación $2^{-\Delta\Delta C_t}$. En total, hubo 3 réplicas biológicas y todos los datos se representan como media \pm SE. Los tratamientos se comparan mediante ANOVA unidireccional seguido de las pruebas post hoc de Tukey y Dunnet.

10 Resultados

Genes diana directos, *nr0b2* (SHP) y *s1c51a* (OSTα), que participan en la homeostasis de los ácidos biliares y se sabe que están regulados positivamente por FXR (Goodwin et al., 2000; Landrier et al., 2006), muestran aumentos significativos tras el tratamiento con Huh7 con el Compuesto 2. Los niveles de expresión de SHP aumentan después del tratamiento con el Compuesto 2 entre 1,5 (CE₅₀ concentración) y 2,5 veces (CE₉₀ concentración) (**Figura 1**). El ARNm de Ostα también se reguló considerablemente al alza, mostrando aumentos de expresión de 11 y 18 veces, tras el tratamiento con el Compuesto 2, en sus concentraciones CE₅₀ y CE₉₀ respectivamente (**Figura 2**).

La activación de FXR conduce a la supresión de CYP7A1 a través de una vía mediada por SHP y mediada por FGF19. CYP7A1 se regula a la baja con concentraciones crecientes del Compuesto 2 (**figura 3**).

Las células HepG2 muestran una regulación negativa significativa en los niveles de expresión de TGFβ1 en respuesta al tratamiento con el Compuesto 2 en su concentración CE₅₀ (**Figura 4**).

SHP mostró un modesto aumento en el que el tratamiento con el Compuesto 14 en su concentración CE₉₀ duplicó con creces los niveles de expresión (**Figura 5**). El compuesto 14 indujo aumentos muy significativos en el Ostα diana FXR, y las células tratadas alcanzaron niveles de expresión de ARNm de 20 a 40 veces más altos que las células tratadas con vehículo. (**Figura 6**).

En la concentración CE₅₀, el Compuesto 14 disminuyó significativamente la expresión de CYP7A1, reduciéndola a más de la mitad de los niveles observados para las células de control del vehículo. (**Figura 7**).

De manera similar al Compuesto 2, el Compuesto 14 induce una disminución en la expresión de TGFβ1 con concentraciones crecientes del compuesto (**Figura 8**).

Los inventores desean agradecer a Dannielle Kydd-Sinclair de la Universidad de Reading, quien proporcionó gran parte de la sección de antecedentes, así como la metodología y los datos para los ejemplos biológicos mencionados anteriormente, y a David Evans, Simon Holland y Lawrence Tam de la Universidad de Reading. Southampton, quien llevó a cabo la síntesis de varios de los compuestos de ejemplo.

REFERENCIAS

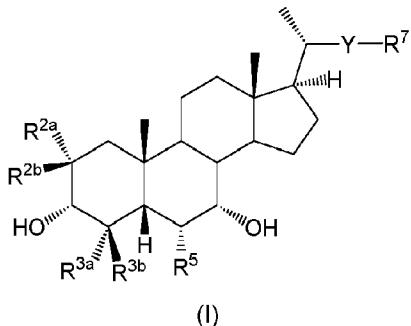
- Alemi, F. et al. (2013) 'The TGR5 receptor mediates bile acid - induced itch and analgesia', *The Journal of Clinical Investigation*, 123(4), pp. 1513-1530. doi: 10.1172/JCI64551.mation.
- Ananthanarayanan, M. et al. (2004) 'Ligand-dependent activation of the farnesoid X-receptor directs arginine methylation of histone H3 by CARM1', *Journal of Biological Chemistry*, 279(52), pp. 54348-54357. doi: 10.1074/jbc.M410021200.
- Bellentani, S. (2017) 'The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease', 37(October 2016), pp. 81-84. doi: 10.1111/jiv.13298.
- Cave, M. C. et al. (2016) 'Biochimica et Biophysica Acta Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease 1', *BBA - Gene Regulatory Mechanisms*, Elsevier B.V., 1859(9), pp. 1083-1099. doi: 10.1016/j.bbagen.2016.03.002.
- Using Combinatorial Peptide Libraries: Discovery of Peptide Antagonists of Estrogen Receptors α and β . *Molecular and Cellular Biology*, 19(12), 8226-8239. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.12.8226>
- Chiang, J. Y. L. (2013) 'Bile Acid Metabolism and Signalling', *Comprehensive Physiology*, 3(3), pp. 1191-1212. doi: 10.1002/cphy.c120023.Bile.
- Cipriani, S. et al. (2010) 'FXR activation reverses insulin resistance and lipid abnormalities and protects against liver steatosis in Zucker (fa/fa) obese rats', *Journal of Lipid Research*, 51, pp. 771-784. doi: 10.1194/jlr.M001602.
- Clerici et al., *Toxicology and Applied Pharmacology*, 214, 199-208 (2006)
- Copple, B. L. and Li, T. (2016) 'Pharmacology of bile acid receptors: Evolution of bile acids from simple detergents to complex signaling molecules', *Pharmacological Research*, Elsevier Ltd, 104, pp. 9-21. doi: 10.1016/j.phrs.2015.12.007.
- Cushman et al., *J. Med. Chem.* (1995). Cosalane analogs with enhanced potencies as inhibitors of HIV-1 protease and integrase', 38(3), 443-452
- Cusi, *Gastroenterology* (2012). 'Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications', 142(4), 711-725 Deuschie, U. et al. (2012) 'FXR Controls the Tumor Suppressor NDRG2 and FXR Agonists Reduce Liver Tumor Growth and Metastasis in an Orthotopic Mouse Xenograft Model', *PLoS ONE*, 7(10). doi: 10.1371/journal.pone.0043044.
- Dyson, J. K., Anstee, Q. M. and McPherson, S. (2014) 'Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to diagnosis and staging.', *Frontline gastroenterology*, 5(3), pp. 211-218. doi: 10.1136/fgastro-2013-100403.
- Evans, R. M. and Mangelsdorf, D. J. (2014) 'Nuclear Receptors, RXR and the Big Bang', *Cell*, 157(1), pp. 255-266. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.012.Nuclear.
- Goodwin, B., Jones, S. A., Price, R. R., Watson, M. A., McKee, D. D., Moore, L. B., ... Kliewer, S. A. (2000). A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. *Molecular Cell*, 6(3), 517-528. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)00051-4](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)00051-4).
- Haas, J. T., Francque, S. and Staels, B. (2016) 'Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease', *Annual Review of Physiology*, 78, pp. 181-205. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105331.
- Henao-mejia, J. et al. (2012) 'Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity.', *Nature*, 482(7384), pp. 179-185. doi: 10.1038/nature10809.Inflammasome-mediated.
- Honorio et al., 'Hologram QSAR Studies on Farnesoid X Receptor Activators', *Letters in Drug Design & Discovery*, (2006), 3(4), 261-271
- Huber, R. et al. (2002)'Generation of multiple farnesoid-X-receptor isoforms through the use of alternative promoters',

- Gene, 290(1-2), pp. 35-43.
- Inagaki, T. et al. (2006) 'Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor', Proc Natl Acad Sci U S A, 103(10), pp. 3920-3925. doi: 10.1073/pnas.0509592103.
- Jiang, Y. et al. (2013) 'Farnesoid X receptor inhibits gankyrin in mouse livers and prevents development of liver cancer.', Hepatology (Baltimore, Md.), 57(3), pp. 1098-106. doi: 10.1002/hep.26146.
- Kast, H. R. et al. (2001) 'Farnesoid X-activated receptor induces apolipoprotein C-II transcription: a molecular mechanism linking plasma triglyceride levels to bile acids.', Molecular endocrinology (Baltimore, Md.), 15(10), pp. 1720-1728. doi: 10.1210/me.15.10.1720.
- Kong, B. et al. (2009) 'Farnesoid X Receptor Deficiency Induces Nonalcoholic Steatohepatitis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Knockout Mice Fed a High-Fat Diet', Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 328(1), pp. 116-122. doi: 10.1124/jpet.108.144600.
- Landrier, J-F et al (2006) 'The nuclear receptor for bile acids, FXR, transactivates human organic solute transporter- α and - β genes', Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., 290, pp G478-G485.
- Ma, K. et al. (2006) 'Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis', Journal of Clinical Investigation, 116(4), p. 1102. doi: 10.1172/JCI25804.1102.
- Ma, Y. et al. (2013) 'Synthetic FXR Agonist GW4064 Prevents Diet-Induced Hepatic Steatosis and Insulin Resistance', Pharmaceutical Research, 30, pp. 1447-1457. doi: 10.1007/s11095-013-0986-7.
- Macchiarulo et al, Journal of Chemical Information and Modeling, 48, 1792-1801 (2008)
- Maloney, P. R. et al. (2000) 'Identification of a chemical tool for the orphan nuclear receptor FXR', Journal of Medicinal Chemistry, 43(16), pp. 2971-2974. doi: 10.1021/jm0002127. Min, H. et al. (2013) 'increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease', Cell Metabolism, 15(5), pp. 665-674. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.004.
- Mouzaki, M. et al. (2013) 'Intestinal Microbiota in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease', Hepatology, 1, pp. 120-127. doi: 10.1002/hep.26319.
- Mudaliar, S. et al. (2013) 'Efficacy and Safety of the Farnesoid X Receptor Agonist Obeticholic Acid in Patients With Type 2 Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease', Gastroenterology. Elsevier, Inc, 145(3), p. 574-582.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2013.05.042. Neuschwander-Tetri, B. A. (2012) 'Farnesoid X receptor agonists: What they are and how they might be used in treating liver disease', Current Gastroenterology Reports, 14(1), pp. 55-62. doi: 10.1007/s11894-011-0232-6.
- Neuschwander-Tetri, B. A. et al. (2015) 'Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non- cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial Prof.', Lancet, 385(9972), pp. 950-965. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61803-4. Farnesoid.
- Pacana, T. and Sanyal, A. J. (2015) 'Recent advances in understanding / management of non-alcoholic steatohepatitis', P1000 Prime Reports, 7(28), pp. 1-8. doi: 10.12703/P7-28. Paulekuhn et al., (2007) 'Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database', J. Med. Chem. 50, 6665-6672
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT - PCR. Nucleic Acids Research, 29(9), 16-21.
- Roda et al, Gastroenterology (1995) 'Metabolism, pharmacokinetics, and activity of a new 6-fluoro analogue of ursodeoxycholic acid in rats and hamsters', 108(4), 1204-1214. Sato et al, 'Novel Potent and Selective Bile Acid Derivatives as TGR5 Agonists: Biological Screening, Structure-Activity Relationships, and Molecular Modeling Studies', J. Med. Chem. (2006), 51(15), 4831-4849.
- Sievanen E. et al, '1H, 13C, 19F NMR, and ESI mass spectral characterization of two geminal difluorosteroids', Magnetic Resonance in Chemistry, (2008), 46(4), 382-397.
- Uekawa et al (2004) 'Short-step Synthesis of Chenodiol from Stigmasterol', Biosci. Biotechnol. Biochem., 68, 1332-1337
- Vaquero, J. et al. (2013) 'Differential activation of the human farnesoid X receptor depends on the pattern of expressed isoforms and the bile acid pool composition', Biochemical Pharmacology, 86(7), pp. 926-939. doi: 10.1016/j.bcp.2013.07.022.
- Wang, Y. et al. (2008) 'Farnesoid X receptor antagonizes NF- κ B in hepatic inflammatory response', Hepatology, 48(5), pp. 1632-1643. doi: 10.1002/hep.22519.Farnesoid.
- Watanabe, M., Houten, S. M., Wang, L., Moschetta, A., Mangelsdorf, D. J., Heyman, R. A., ... Auwerx, J. (2004). Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. Journal of Clinical Investigation, 113(10), 1408-1418. <https://doi.org/10.1172/JCI200421025>
- Watanabe, M. et al. (2011) 'Lowering bile acid pool size with a synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure', Journal of Biological Chemistry, 286(30), pp. 26913-26920. doi: 10.1074/jbc.M111.248203.
- Wuts, PGM and Greene, TW (2006) "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA,

- Xiao, H. et al (2017) 'Synthesis and biological evaluation of a series of bile acid derivatives as FXR agonists for treatment of NASH', *Med. Chem. Lett.* 8, 1246-1251.
- Yang, Z., Shen, W. and Sun, H. (2010) 'Effects of nuclear receptor FXR on the regulation of liver lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease', *Hepatology International*, 4(4), pp. 741-748. doi: 10.1007/s12072-010-9202-6.
- Zhang, Y. et al. (2004) 'Peroxisome proliferator-activated regulates triglyceride metabolism by activation of the nuclear receptor FXR', *Genes & Development*, 18, pp. 157-169. doi: 10.1101/gad.1.138104.
- Zhang, Y. et al. (2006) 'Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), pp. 1006-1011. doi: 10.1073/pnas.0506982103. Zhang, Y., Kast-woelbern, H. R. and Edwards, P. A. (2003) 'Natural Structural Variants of the Nuclear Receptor Farnesoid X Receptor Affect Transcriptional Activation', *Journal of Biological Chemistry*, 278(1), pp. 104-110. doi: 10.1074/jbc.M209505200.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I):



donde

5 R^{3b} es F y cada uno de R^{2a} , R^{2b} y R^{3a} es independientemente H o F;

R^5 es $CR^{6a}R^{6b}R^8$, O^8 , SR^8 o $NR^{6a}R^8$;

cada R^{6a} , R^{6b} y R^8 es independientemente H o metilo

Y es un enlace, o un alquíleno C_{1-4} o un grupo conector alquenileno C_{2-4} cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más $R^{1\circ}$; donde cada $R^{1\circ}$ es independientemente halo u OH;

10 R^7 se selecciona de $C(O)NR^{17}SO_2R^{15}$, $NR^{17}C(O)NR^{18}SO_2R^{15}$, $NR^{17}C(S)NR^{18}SO_2R^{15}$ y $NR^{17}C(NR^{2\circ})NR^{18}SO_2R^{15}$;

R^{15} es un anillo de arilo o heteroarilo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , halo, O(alquilo C_{1-6}) y O(haloalquilo C_{1-6});

cada R^{17} y R^{18} es independientemente H o metilo;

$R^{2\circ}$ es H, metilo o CN;

15 o una sal o variante isotópica del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R^{3b} es F y cada uno de R^{3a} , R^{2a} y R^{2b} es H.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

R^{3b} es F, R^{3a} es H, uno de R^{2a} y R^{2b} es F y el otro de R^{2a} y R^{2b} es H; o

R^{3a} y R^{3b} son tanto F como R^{2a} y R^{2b} ambos son H.

20 4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R^5 es etilo; y/o Y es un enlace o un grupo conector alquíleno C_{1-3} que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos OH.

5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R^7 es $C(O)NR^{17}SO_2R^{15}$ o $NR^{17}C(O)NR^{18}SO_2R^{15}$, donde R^{15} , R^{17} y R^{18} son como se definen en la reivindicación 1.

6. Un compuesto según la reivindicación 5, en el que, independientemente o en cualquier combinación:

25 cada uno de R^{17} y R^{18} (si está presente) es H; y/o

R^{15} se selecciona entre fenilo y heteroarilo de 5 ó 6 miembros, cualquiera de los cuales puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes según la reivindicación 1.

7. Un compuesto según la reivindicación 6, en el que R^{15} es fenilo que no está sustituido o está sustituido con un único sustituyente seleccionado entre fluoro, alquilo C_{1-4} , fluoroalquilo C_{1-4} , O(alquilo C_{1-4}) y O(fluoroalquilo C_{1-4}).

30 8. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado entre:

N,N -($3\alpha,7\alpha$ -dihidroxil- 4β -fluoro- 6α -etil-24-nor- 5β -olan-23-il)-*p*-toluenosulfonilurea (Compuesto 1);

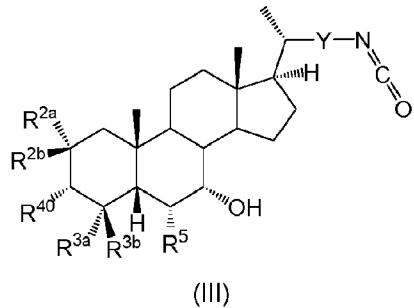
N,N -($3\alpha,7\alpha$ -dihidroxil- 4β -fluoro- 6α -etil-24-nor- 5β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto 2);

N,N -($3\alpha,7\alpha$ -dihidroxil- 4β -fluoro- 6α -etil-24-nor- 5β -olan-23-il)-4-(*terc*-butil)bencenosulfonilurea (Compuesto 3);

- N,N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*m*-toluenosulfonilurea (Compuesto 4);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-O-toluenosulfonilurea (Compuesto 5);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*p*-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 6);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*m*-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 7);
- 5 *N,N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-O-fluorobencenosulfonilurea (Compuesto 8);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*p*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 9);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*m*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 10);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*o*-(trifluorometil)bencenosulfonilurea (Compuesto 11);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-4-(trifluorometoxi)bencenosulfonilurea (Compuesto 12);
- 10 *N,N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-*p*-metoxibencenosulfonilurea (Compuesto 13);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-il)-*p*-trifluorometoxibencenosulfonamida (Compuesto 14);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-*p*-fluorobencenosulfonamida (Compuesto 15);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-*m*-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 16);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-O-fluorofenilsulfonamida (Compuesto 17);
- 15 *N*-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-4-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 18);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-3-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 19);
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4 β -fluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-2-trifluorometilfenilsulfonamida (Compuesto 20);
N,N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-24-nor-5 β -olan-23-il)-bencenosulfonilurea (Compuesto 21)
N-(3 α ,7 α -dihidroxil-4,4-difluoro-6 α -etil-5 β -olan-24-oil)-bencenosulfonamida (Compuesto 22);
- 20 y sales y variantes isotópicas de los mismos.
9. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para uso en medicina.
10. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para uso en el tratamiento o prevención de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); cirrosis biliar primaria; colangitis esclerosante primaria; atresia biliar; enfermedad hepática colestásica; infección por hepatitis C; enfermedad hepática alcohólica; fibrosis; o daño hepático derivado de la fibrosis.
- 25 11. Un compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que la fibrosis se selecciona entre fibrosis del hígado, riñones e intestinos.
12. Un compuesto para su uso según la reivindicación 11, en el que la fibrosis hepática está asociada con EHNA, enfermedad hepática alcohólica o enfermedad del hígado graso no alcohólico o está asociada con una infección tal como hepatitis, especialmente hepatitis B o hepatitis C o una enfermedad hepática parasitaria o está causado por daño inducido por trastornos congénitos tales como enfermedad de Wilson, enfermedad de Gaucher, trastornos por almacenamiento de glucógeno, hemocromatosis, síndrome de Zellweger y fibrosis hepática congénita o es inducido por fármacos tales como clorpromazina, tolbutamida, metotrexato, isoniazida y metildopa; y/o
- 30 fibrosis de los riñones está asociada con enfermedades tales como nefropatía diabética, nefroesclerosis hipertensiva, glomerulonefritis, nefritis intersticial, glomerulopatía asociada con trasplantes y poliquistosis renal; y/o
- 35 fibrosis intestinal se asocia con un trastorno intestinal.
13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 40 14. Una composición farmacéutica según la reivindicación 13, que comprende además uno o más agentes activos adicionales adecuados para el tratamiento o prevención del síndrome metabólico que incluye esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); cirrosis biliar primaria; colangitis esclerosante primaria; atresia biliar; enfermedad hepática colestásica; infección por hepatitis C; enfermedad hepática alcohólica; fibrosis; y daño hepático derivado de la fibrosis.

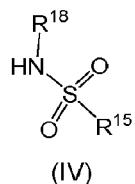
15. Un procedimiento para la preparación de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo el procedimiento:

A. para un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es NHC(O)N(R)¹⁸SO₂R¹⁵: hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (III):



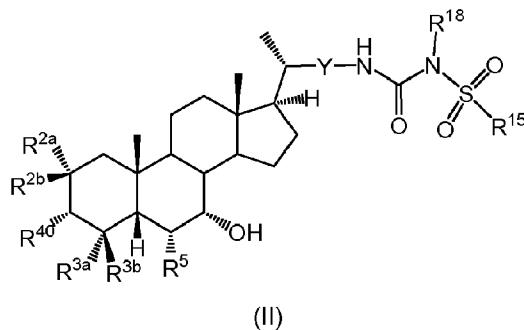
5

donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen en la reivindicación 1 y R⁴⁰ es un grupo OH protegido; con una sulfonamida de fórmula general (IV):



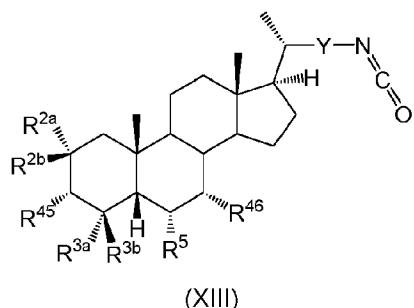
donde R¹⁵ y R¹⁸ son como se definen en la reivindicación 1

- 10 en presencia de un catalizador tal como 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU); para formar un compuesto de fórmula general (II):



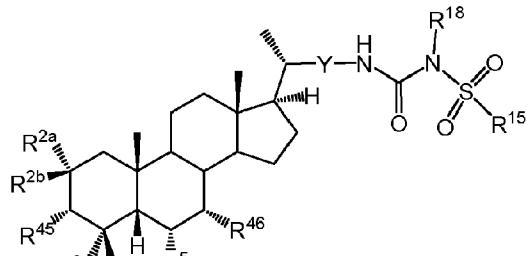
donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen en la reivindicación 1 y R⁴⁰ es un grupo OH protegido; y desproteger el compuesto de fórmula general (II); o

- 15 B. para un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es NHC(O)N(R)¹⁸SO₂R¹⁵: hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (XIII):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen en la reivindicación 1 y cada uno de R⁴⁵ y R⁴⁶ es independientemente un grupo OH protegido;

con una sulfonamida de fórmula general (IV) como se define anteriormente en presencia de un catalizador tal como 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) para formar un compuesto de fórmula general (XII):



(XII)

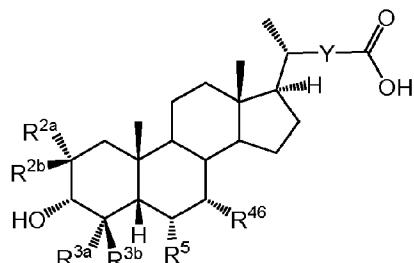
5

donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen en la reivindicación 1 y cada uno de R⁴⁵ y R⁴⁶ es independientemente un grupo OH protegido; y

desproteger el compuesto de fórmula general (XII); o

C. para un compuesto de fórmula general (I) en la que R⁷ es C(O)N(R)¹⁷SO₂R¹⁵:

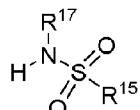
10 hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (XXIII):



(XXIII)

donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b} y R⁵ son como se definen en la reivindicación 1 y R⁴⁶ es un grupo OH protegido;

con una sulfonamida de fórmula general (XXIV):

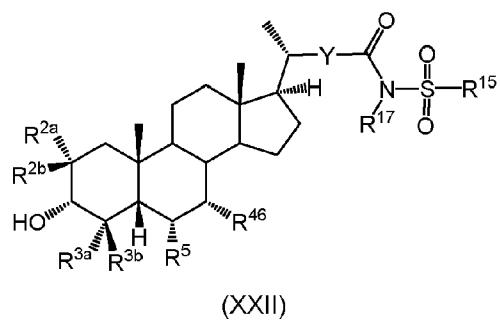


(XXIV)

15 donde R¹⁵ y R¹⁷ son como se definen en la reivindicación 1;

en presencia de un agente de acoplamiento tal como 1-etil-3(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) y una base tal como dimetilaminopiridina;

para dar un compuesto de fórmula general (XXII):



donde Y, R^{2a}, R^{2b}, R^{3a}, R^{3b}, R⁵, R¹⁵ y R¹⁷ son como se definen en la reivindicación 1 y R⁴⁶ es como se define para la fórmula general (XII); y

desproteger el compuesto de fórmula general (XXII).

FIGURA 1

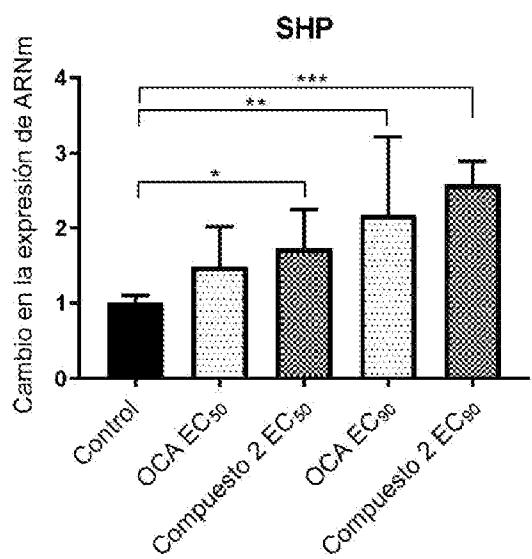


FIGURA 2

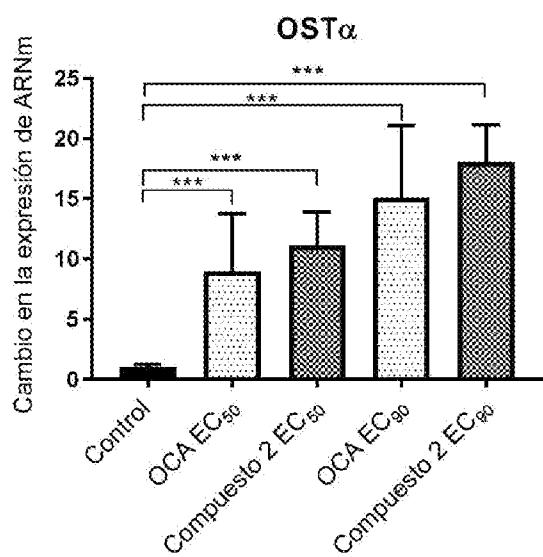


FIGURA 3

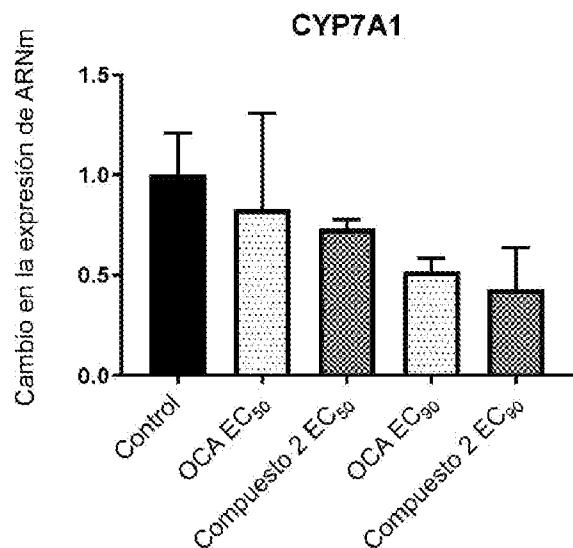


FIGURA 4

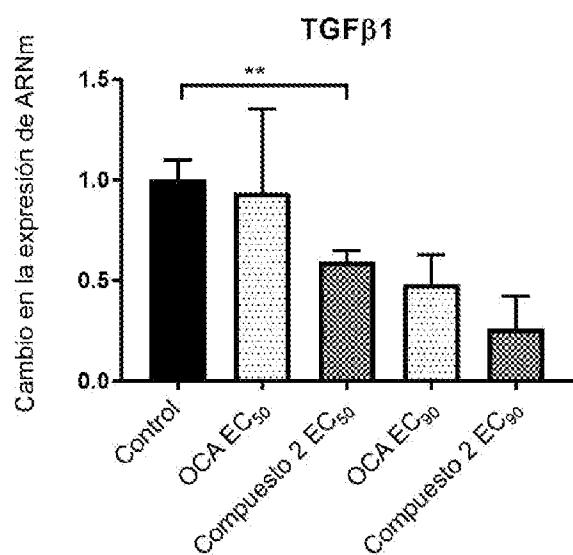


FIGURA 5

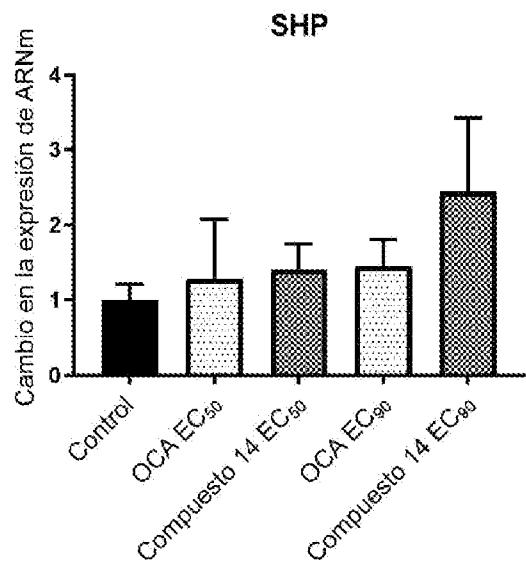


FIGURA 6

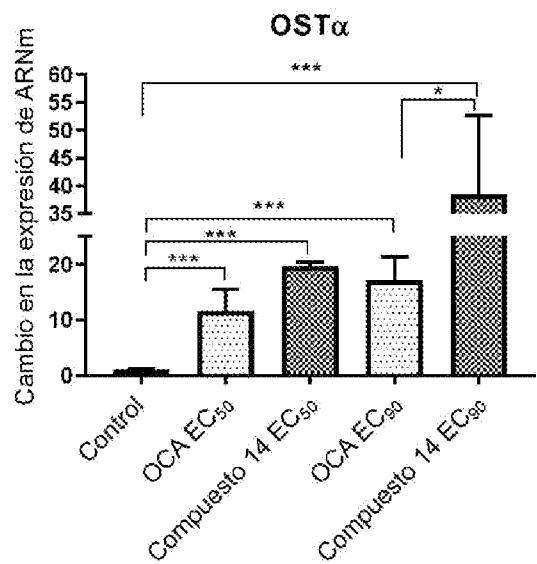


FIGURA 7

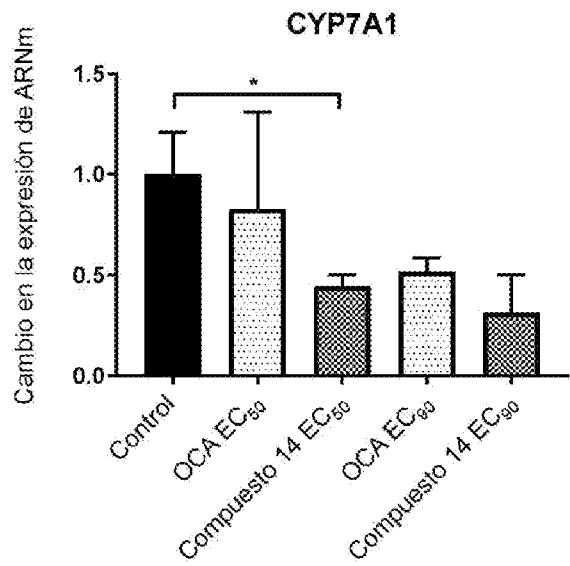


FIGURA 8

