

## Tesis de Posgrado

# Síntesis y análisis conformacional de 6,19-óxido y 11,19- óxidopregnanos

Brachet-Cota, Adriana Lina

1989

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias  
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Brachet-Cota, Adriana Lina. (1989). Síntesis y análisis conformacional de 6,19-óxido y 11,19-óxidopregnanos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2290\\_BrachetCota.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2290_BrachetCota.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Brachet-Cota, Adriana Lina. "Síntesis y análisis conformacional de 6,19-óxido y 11,19-óxidopregnanos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1989. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2290\\_BrachetCota.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2290_BrachetCota.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

**SINTESIS Y ANALISIS CONFORMACIONAL  
DE 6,19-OXIDO Y 11,19-OXIDOPREGNANOS**

ADRIANA LINA BRACHET-COTA  
1989

**SINTESIS Y ANALISIS CONFORMACIONAL  
DE 6,19-OXIDO Y 11,19-OXIDOPREGNANOS**

ADRIANA LINA BRACHET-COTA  
1989

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"SINTESIS Y ANALISIS CONFORMACIONAL  
DE 6,19-OXIDO Y 11,19-OXIDOPREGNANOS"

Director de tesis

Dr. Gerardo Burton

Lugar de trabajo

Departamento de Química Orgánica

ADRIANA LINA BRACHET-COTA

Tesis presentada para optar al título de  
Doctor en Ciencias Químicas

1989

- 2290 -  
y 2

Dedico esta tesis:

a Alberto José Brachet-Cota y Lina

Haydée Granara por su cariño y estímulo  
permanente;

a Sandra y Marisa Brachet-Cota por la

historia compartida.

Agradezco al Dr. Gerardo Burton,  
quien sugiriera el tema de la presente  
tesis, su interés y preocupación perma-  
nente por mi formación científica, sus  
enseñanzas y el afecto que me ha trans-  
mitido a lo largo de estos años.

## Agradecimientos

Al Dr. C. P. Lantos por los estudios de actividad mineralocorticoide, por todo el trabajo compartido y fundamentalmente, por el afecto y el apoyo recibido durante estos años.

A todos los miembros de UMYMFOR (CONICET-FCEN), por la ayuda humana y de equipamiento recibida:

Sr. C. G. Arabehty por los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

Lic. J. B. Rodriguez por el asesoramiento en la utilización de los cromatógrafos líquidos de alta resolución.

Sr. J. Aznárez por los espectros de masa y cgl-masa.

Lic. M. Rivero y Lic. M. M. Moglia por la realización de las cromatografías gas líquido.

Lic. M. Marcote por los microanálisis.

A los Dres. E. G. Gros, A. Seldes y G. Burton por todo el esfuerzo que realizan para lograr mejores condiciones de trabajo.

Al CONICET por las becas de iniciación y perfeccionamiento otorgadas.

Al Dr. L. Diaz (Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA) por los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y masa realizados.

Al personal de la biblioteca de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) por su amplia colaboración.

A los Dres. E. G. Gros y A. Seldes por la cordialidad y ayuda brindada en este período.

A los Dres. R. Erra y O. Varela por sus útiles consejos.

A Marta Romero por su cariño y su valiosa amistad.

A Edith Monteagudo y Lydia Galagovsky por haberme brindado su amistad y su importante y necesaria compañía a lo largo de estos años.

A Roldolfo Biekovsky, Eli Jares, Darío Doller y Hugo Caro por su cariño y los agradables momentos compartidos.

A mis compañeros de laboratorio Lydia Galagovsky, Edith Monteagudo, Alberto Ghini, Hugo Caro, Violeta Benedetti, Fernando Soriano, Pablo Mazzuchelli, Mario González, Adriana Veleiro y Osvaldo Teme Centurión por su cooperación y por haber generado un ambiente de trabajo sumamente agradable.

A Alberto José Brachet-Cota por la ayuda brindada en la impresión de esta tesis.

A mis amigos por el cariño y la contención que me brindaron en estos años.

A todo el personal del Depto. de Química Orgánica, profesores, docentes auxiliares y no docentes por su cordialidad permanente.



## Abreviaturas utilizadas

Ac	acetilo
aq	acuoso
(c)	concentrado
ccd	cromatografía en capa delgada
CLAR	cromatografía líquida de alta resolución
DOC	desoxicorticosterona
enO	efecto nuclear Overhauser
EM	espectrometría de masas
Et	etilo
lit.	literatura
Me	metilo
NBA	N-bromoacetamida
NBS	N-bromosuccinimida
NIS	N-iodosuccinimida
pág	página
PDC	dicromato de piridonio
Pi	piridina
PPTS	p-toluensulfonato de piridonio
PF	punto de fusión
RMN	resonancia magnética nuclear
T <sub>1</sub>	tiempo de relajación longitudinal
TFA	trifluoroacetato
THF	tetrahidrofurano
Ts	tosilo
UV	ultravioleta

## Nombres triviales utilizados

aldosterona:	11 $\beta$ ,21-dihidroxi-18-oxopregn-4-eno-3,20-diona 11 $\rightarrow$ 18 hemicetal
18-desoxialdosterona:	21-hidroxi-11,18- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,20-diona
desoxicorticosterona:	21-hidroxi-11,18- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,20-diona
$\Delta^{11}$ -desoxicorticosterona:	21-hidroxi-11,18- $\delta$ xidopregna-4,11-dieno-3,20-diona
18-hidroxicorticosterona:	11 $\beta$ ,18,21-trihidroxi-11,18- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,20-diona
acetato de pregnenolona:	3 $\beta$ -acetoxipregn-5-en-20-ona
pregnenolona:	3 $\beta$ -hidroxipregn-5-en-20-ona
progesterona:	pregn-4-eno-3,20-diona
11-cetoprogesterona:	pregn-4-eno-3,11,20-triona
6 $\beta$ -hidroxiprogesterona:	6 $\beta$ -hidroxipregn-4-eno-3,20-diona
$\Delta^{11}$ -progesterona:	pregna-4,11-dieno-3,20-diona
6,19- $\delta$ xidoprogesterona:	6,19- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,20-diona
6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona:	6,19- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,11,20-triona
11,19- $\delta$ xidoprogesterona:	11,19- $\delta$ xidopregn-4-eno-3,20-diona

## INDICE

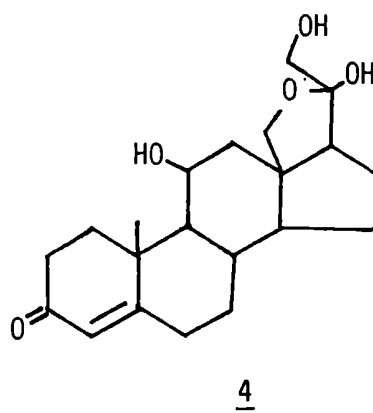
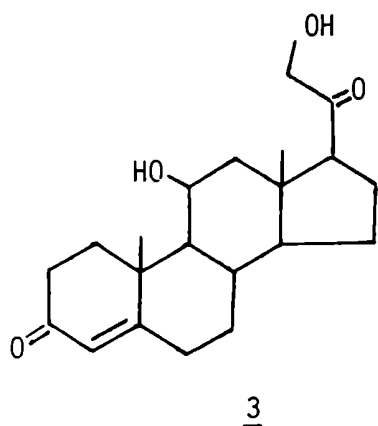
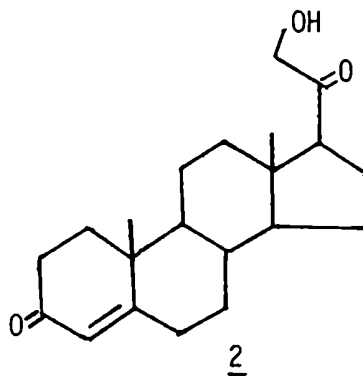
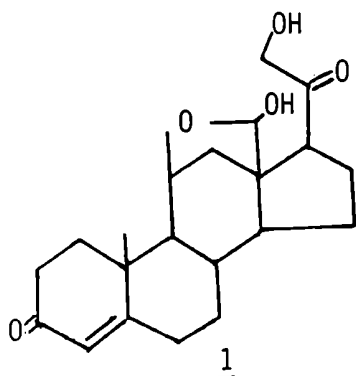
	pág
CAPITULO 1: INTRODUCCION	1
CAPITULO 2: REACCIONES DE FUNCIONALIZACION DEL METILO ANGULAR (C-19) EN ESTEROIDES	9
GENERALIDADES	9
OXIDACIONES CON $Pb(AcO)_4$	15
REACCIONES DE HIPOHALITOS DE ALQUILO	19
Preparación y descomposición de hipioditos	22
REACCIONES SECUNDARIAS	23
TRANSFORMACIONES DE 6 $\beta$ ,19-ETERES	30
METODOS DE SINTESIS DE 6,19- Y 11,19-OXIDOPREGNANOS	31
CAPITULO 3: SINTESIS DE 6,19-OXIDO Y 11,19-OXIDOPREGNANOS	38
REDUCCION DEL SISTEMA $\Delta^4$ -3-CETO DE 11-CETOPROGESTERONA	41
SINTESIS DE POSIBLES PRECURSORES DE 6,19-OXIDOPREGNANOS	43
Preparación de 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -bromohidrinás	44
Preparación de 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnanos	50
Preparación de 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetopregnanos	54
REACCION DE 6 $\beta$ -HIDROXIPREGNANOS CON REACTIVOS GENERADORES DE HIPOIODITOS	57
5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Bromohidrinás	58
6 $\beta$ -Hidroxiprogesterona	69

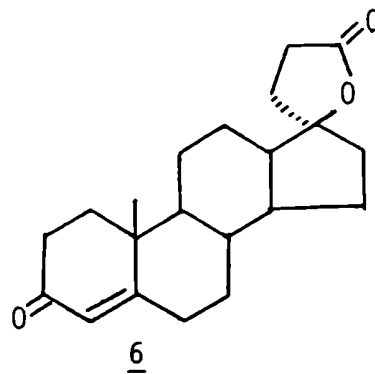
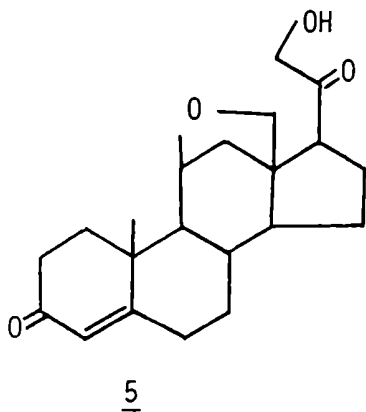
3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnan-20-ona	72
Conclusiones	77
SINTESIS DE 6,19-OXIDOPROGESTERONA ( <u>12</u> ) Y 6,19-OXIDO- 11-CETOPROGESTERONA ( <u>13</u> )	78
SINTESIS DE 11,19-OXIDOPROGESTERONA ( <u>14</u> )	82
<b>CAPITULO 4: SINTESIS DE 6-OXAESTEROIDES</b>	89
GENERALIDADES	89
SINTESIS DE 5 $\alpha$ -H-6-OXAPREGNANOS	91
<b>CAPITULO 5: ANALISIS CONFORMACIONAL</b>	96
ESTUDIO CONFORMACIONAL MEDIANTE METODOS COMPUTACIONALES	96
Generalidades	96
6,19-Oxidoprogesterona ( <u>12</u> )	109
6,19-Oxido-11-cetoprogesterona ( <u>13</u> )	120
11,19-Oxidoprogesterona ( <u>14</u> )	131
Conclusiones	136
DETERMINACION DE LAS BARRERAS ROTACIONALES DE METILOS ANGULARES POR EL METODO DE WOESSNER	143
Generalidades	143
Resultados	149

<b>CAPITULO 6: ACTIVIDAD MINERALOCORTICOIDE</b>	<b>157</b>
<b>CAPITULO 7: PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>161</b>
GENERALIDADES	161
SINTESIS DE PREGNANESTEROIDES	164
SINTESIS DE 6,19-OXIDOPREGNANOS	173
SINTESIS DE 11,19-OXIDOPREGNANOS	179
SINTESIS DE 6-OXAPREGNANOS	182
MEDICION DE LOS TIEMPOS DE RELAJACION LONGITUDINAL ( $T_1$ ) E INCREMENTO POR EFECTO NUCLEAR OVERHAUSER (ENO)	184
Medición de $T_1$	185
Medición del incremento nuclear Overhauser ( $\eta$ )	187
METODOS COMPUTACIONALES	189
<b>APENDICE</b>	<b>200</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>207</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>213</b>

**CAPITULO 1**  
**INTRODUCCION**

La aldosterona (1) y la desoxicorticosterona (2) son hormonas esteroideas naturales producidas por la corteza suprarrenal, las cuales presentan actividad mineralocorticoide. La aldosterona, la hormona natural de mayor potencia, es sintetizada en células de la zona glomerulosa de la corteza adrenal a partir de 2 (DOC), via corticosterona (3) y 18-hidroxicorticosterona (4) mediante sucesivas hidroxilaciones mediadas por el citocromo P-450. Estas hormonas regulan el balance de electrolitos de los fluidos del organismo, promoviendo la excreción de iones potasio y la retención de iones sodio [1].



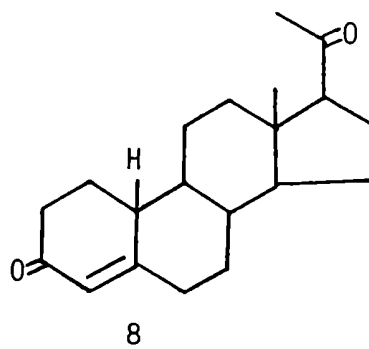
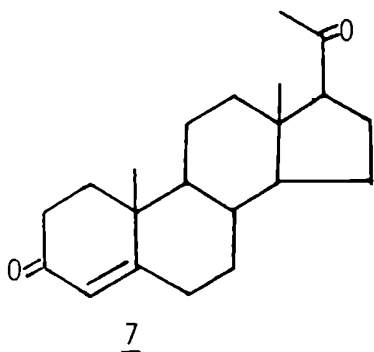


Una pequeña modificación en la estructura de aldosterona, el reemplazo del grupo aldehídico hemiacetal por un anillo 11 $\beta$ ,18- $\delta$ xido, como en la 18-desoxialdosterona (5), produce un comportamiento antagonista de la función mineralocorticoide [2].

Sobre la base de estudios estructurales de progestágenos se ha propuesto que la conformación del anillo A es responsable, en primera instancia, de la iniciación y permanencia de la unión de la hormona al receptor, y la conformación del anillo D dirige el tipo de respuesta biológica producida (agonista-antagonista), ya sea porque estabiliza un cambio conformacional en el receptor o porque participa en una subsecuente interacción macromolecular en la unión al receptor [2].

Este razonamiento resulta válido cuando se compara la estructura de la espironolactona (6) [3], un antimineralocorticoide, con la aldosterona (1). Ambas poseen una conformación del anillo A similar y difieren en la forma y capacidad para formar puentes de hidrógeno de los sustituyentes del anillo D.





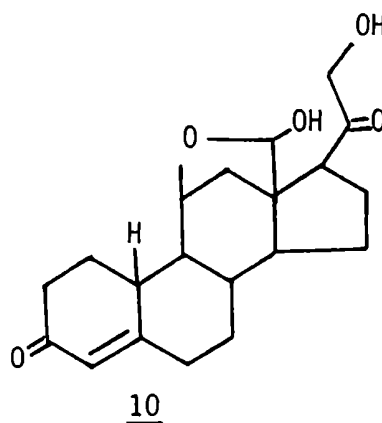
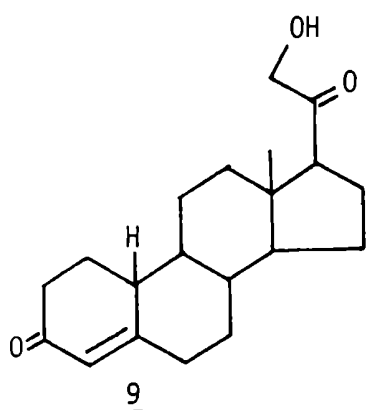
Se ha encontrado que el comportamiento de progesterona (7) es dependiente de las dosis empleadas. Si se inyectan dosis entre 5 y 100  $\mu\text{g}/100 \text{ g}$  de peso a ratas machos adrenalectomizadas, éstas retienen más sodio que sus controles. El efecto es máximo a 10  $\mu\text{g}$  descendiendo linealmente a medida que se incrementan las dosis [4]. Estudios realizados con dosis altas sobre ratas adrenalectomizadas revelaron que progesterona (7) bloquea la acción sodio-retentora de desoxicorticosterona (2) pero que no elimina sodio 'per se'. Se ha propuesto que dicha hormona podría ser metabolizada por tejidos periféricos de rata a metabolitos sodio-retentores tanto como a metabolitos natriuréticos [4].

El hecho de que a determinadas dosis progesterona (7) presente actividad antimineralocorticoide puede explicarse en función de la ausencia de un grupo donador de un enlace de H en el anillo D. En el caso de 19-norprogesterona (8) donde se ha reemplazado el metilo 19 de progesterona (7) por un hidrógeno, se observa un comportamiento agonista de la función mineralocorticoide [6]. Este hecho,

restringe el alcance de la compartimentalización de la afinidad de unión al receptor y la actividad biológica de la molécula en cuestión [2a].

El comportamiento agonista de 19-norprogesterona (8) se puede explicar considerando que la remoción del metilo-19 aumenta la afinidad del anillo A por el sitio receptor [7], en una extensión tal que compensa la reducción de la capacidad del anillo D para la formación de enlaces de H, necesarios para la activación del receptor [2a]. En el mismo sentido la formación de 19-nordesoxicorticosterona (9), por remoción del metilo-19 de 2, aumenta la capacidad mineralocorticoide [7].

19-nordesoxicorticosterona (9) ha sido aislada de orina de ratas y humanos con problemas de hipertensión [7,8]. Se ha sugerido que este esteroide y posiblemente derivados similares de hormonas esteroidales estrechamente relacionadas podrían estar asociados con el desarrollo de la hipertensión en humanos o funcionar como marca-



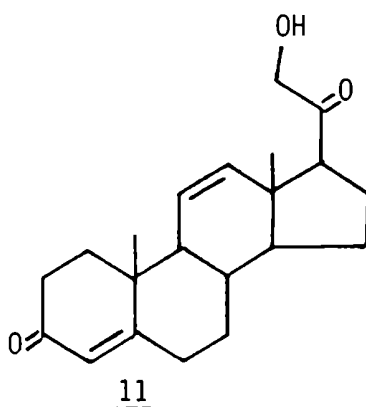
dores de ésta [9]. La formación espontánea de 19-nor análogos de esteroides adrenales indicaría que sus efectos hormonales podrían tener considerable significancia fisiológica o patofisiológica [7]. Por otro lado, se ha demostrado que 19-noraldosterona (10) es un potente mineralocorticoide, el cual equipara en actividad a aldosterona (1) [9].

Está generalmente aceptado el importante rol que juega el grado de planicidad del anillo A, junto con la función  $\Delta^4$ -3-ceto, en la unión a receptores androgénicos (RA), receptores progestágenos (RP) y receptores mineralocorticoides (RM). La afinidad por el receptor también se vería afectada, en forma positiva o negativa, por la presencia de grupos polares en distintas posiciones del esteroide y por el tamaño del sustituyente en posición C-9 [10]. La curvatura del esteroide, así como su torsión se presentan como parámetros interesantes para la comparación de la actividad biológica, dado que afectan la disposición espacial relativa y por lo tanto la accesibilidad de los grupos funcionales esenciales (por ejemplo los grupos carbonílicos en posición C-3 y C-20 en esteroides). Considerando las interacciones de tipo hidrofóbicas que se generan entre la hormona y el receptor, y el tamaño limitado del sitio receptor, Schmit y Rousseau propusieron también como parámetros útiles el área superficial y el volumen de la molécula [11].

Se han estudiado los requerimientos conformacionales para la unión al receptor mineralocorticoide, para lo cual se ha analizado la respuesta biológica de compuestos funcionalmente simples, en los cuales no se produjeran interferencias en la acción debidas a grupos funcionales particulares. Se observó que la remoción de algunos

sustituyentes (el metilo-19 ó el grupo 11 $\beta$ -hidroxi) ó la formación de un 11,12-dehidroesteroide induce un aumento de la actividad mineralocorticoide [1,12]. Esto estaría vinculado con una disminución del impedimento estérico sobre la cara  $\beta$  del esteroide y por consiguiente con un aumento de la planaridad con respecto al núcleo esteroidal normal.

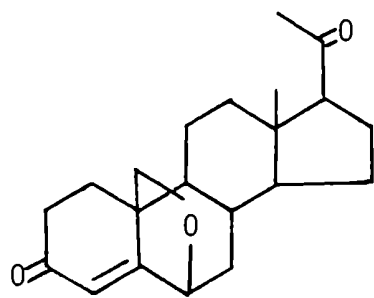
En particular Kamata y colaboradores [1], observaron que 21-hidroxipregna-4,11-dieno-3,20-diona (11,  $\Delta^{11}$ -DOC) resultó ser un mineralocorticoide más potente que DOC (2). Mediante el análisis de rayos X y cálculos utilizando el programa MMP1 demostraron que el aumento de la actividad biológica estaría relacionado con el hecho de que la introducción de un doble enlace en posición 11,12 en DOC aumenta el grado de planicidad de la misma. Estos resultados permitieron confirmar que los receptores esteroidales poseen un espacio estrecho para acomodar a la hormona.



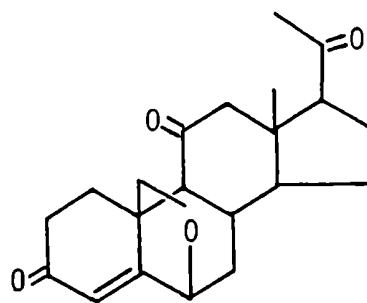
Por otro lado es de esperar que las modificaciones antes mencionadas confieran a la molécula cierta flexibilidad haciéndola fácilmente deformable por interacción con el receptor, dada la baja energía necesaria para la interconversión entre conformeros; esto traería aparejado una pérdida de la especificidad [13].

En consecuencia, es necesario distinguir entre estructuras planas rígidas y flexibles. El presente trabajo de tesis ha sido orientado hacia la síntesis de esteroides rígidos, donde sus conformaciones están fijadas por la introducción de puentes 6,19-óxido y 11,19-óxido, en los cuales se encontrarían disminuidas las interacciones sobre la cara  $\beta$ , aumentando el grado de planicidad de las mismas. Sobre los mismos se realizaron estudios conformacionales por RMN  $^{13}\text{C}$  y cálculos de mecánica molecular.

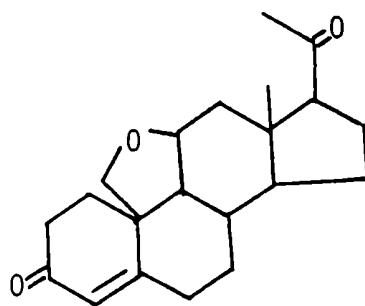
Los esteroides sintetizados fueron 6,19-óxidoprogesterona (12), 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) y 11,19-óxidoprogesterona (14). Cálculos de mecánica molecular (capítulo 5) indicaron que 14 es la más simple de tales estructuras que posee los grupos claves esenciales para la actividad mineralocorticoide y una estructura globalmente plana, además de poseer un grupo polar sobre la cara  $\beta$  (el puente oxígeno) el cual es un factor importante que contribuiría a la acción biológica. Por otro lado un puente 6,19-óxido, según se dedujo de cálculos de mecánica molecular (capítulo 5), distorsiona la unión de los anillos A-B brindando una estructura plana para los anillos B-D con el grupo carbonílico C-3 dirigido hacia la cara  $\alpha$  del esteroide.



12



13



14

**CAPITULO 2**  
**REACCIONES DE FUNCIONALIZACION DEL METILO**  
**ANGULAR (C-19) EN ESTEROIDES**

## GENERALIDADES

Las reacciones selectivas sobre centros no activados son de considerable importancia en química orgánica para el desarrollo de métodos tanto sintéticos como degradativos. Un método útil para la funcionalización de átomos de carbono no activados lo constituyen las reacciones de formación de éteres cíclicos que utilizan la proximidad de un grupo funcional, por ejemplo un hidroxilo, a un enlace C-H no activado del esqueleto rígido de la molécula. En tales reacciones se emplean reactivos generadores de radicales en solventes no polares. De este modo se pueden oxidar grupos metilos a carbinoles, aldehidos o ácidos a través de un éter cíclico intermediario [14a].

En el caso de los esteroides todos los métodos eficaces para funcionalizar los metilos angulares (C-18 y C-19) transcurren a través de intermediarios de alta energía, capaces de atacar enlaces C-H no activados. Estos intermediarios son radicales libres o grupos fotoexcitados en los cuales el centro atacante tiene cierto carácter radicalario [14a]. La selectividad se logra mediante el uso de reacciones intramoleculares, donde la especie reactiva generada sobre la misma molécula del esteroide se encuentra en un centro estéricamente fijo y próximo al metilo angular o bien, es capaz de tomar una ubicación adecuada (por ejemplo rotación alrededor de un enlace). En estos sistemas policíclicos rígidos, un radical alcoxilo puede sustraer un hidrógeno primario a través de un estado de transición cíclico de seis miembros si se encuentra ubicado en



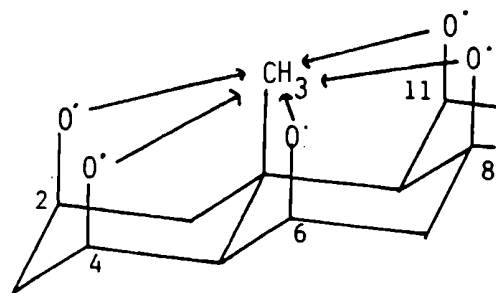
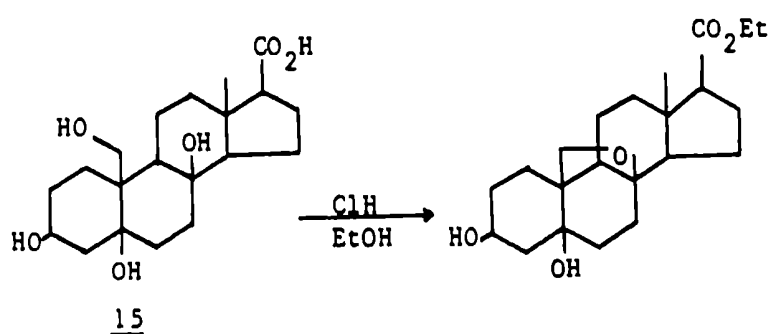


Figura 1- Radicales alcoxilo que guardan una relación 1,3-diaxial con el CH<sub>3</sub>-19.

ciertas posiciones estéricamente determinadas. Para el caso del CH<sub>3</sub>-19 estas se indican en la figura 1, correspondiendo a aquellas que guardan una relación 1,3-diaxial con el metilo en cuestión. Sin embargo, en el caso particular de 8 $\beta$ -hidroxiesteroides las dificultades que se presentan para su preparación excluye a estos compuestos como precursores en las reacciones de ciclación.



La preparación de 8,19-epoxiderivados, suele hacerse por métodos indirectos como por ejemplo en la reacción del ácido etáánico 15 con ácido clorhídrico en etanol [15].

La reacción de funcionalización de centros no activados puede dividirse en tres pasos (figura 2), los cuales se describen brevemente a continuación:

1-Formación del heteroradical (sobre oxígeno o nitrógeno).

2-Transferencia de hidrógeno (del carbono al heteroátomo).

3-Reacción ulterior del radical carbono.

**Formación del hetero radical:**- El radical  $X\cdot$  se forma por homólisis térmica ó fotoinducida del enlace  $X-R$ . Las reacciones más importantes de este tipo son las que utilizan radicales alcóxilo los cuales pueden generarse por métodos convencionales como ser la fotólisis de nitritos ( $X=O$ ;  $R=NO$ ) [16] o la ruptura de hipocloritos ( $X=O$ ;  $R=Cl$ ) [17]. Otros dos métodos de amplia utilización son la oxidación de alcoholes con  $Pb(AcO)_4$  [18] y la ruptura de hipocloritos de alquilo [19]; estos últimos métodos presentan la ventaja adicional que el alcóxido formado (en la figura 2, I con  $X=O$  y  $R=Pb(AcO)_3$  ó iodo) se genera in situ en la mezcla de reacción.

En las reacciones de alcoholes con  $Pb(AcO)_4$  la evidencia acumulada sugiere que el enlace  $X-R$  ( $X=O$ ,  $R=Pb(AcO)_3$ ) tiene carácter iónico. En este caso el radical alcóxilo se forma por transferencia de un electrón (inducida en forma térmica o fotoquímica) del oxígeno al plomo.

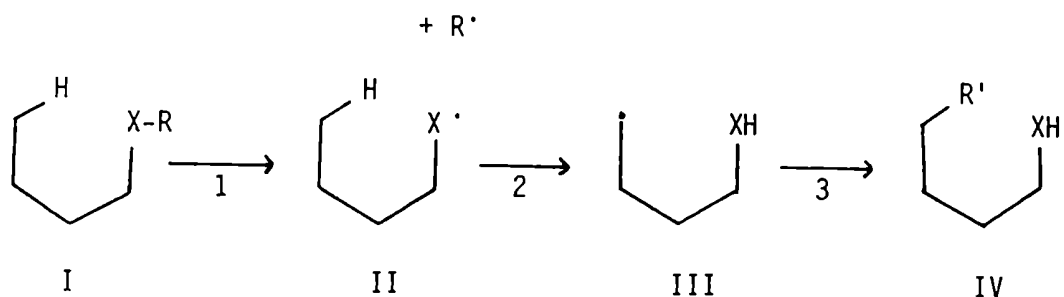


Figura 2- Funcionalización de centros no activados.

**Transferencia de hidrógeno.**— La sustracción intramolecular de un hidrógeno corresponde a la transferencia de un átomo de hidrógeno del centro no activado a un radical libre presente en la misma molécula, siendo los más comunes los corrimientos 1,5.

La eficiencia en la sustracción de un átomo de hidrógeno de un centro no activado es fuertemente dependiente de la distancia entre el radical alcóxilo y los átomos de hidrógeno del grupo considerado. Utilizando modelos Dreiding, Kalvoda y colaboradores propusieron que la velocidad de sustracción de H es máxima cuando la distancia internuclear entre el oxígeno y el carbono del metilo es 2,5–2,7Å. La velocidad disminuye rápidamente con el incremento de la distancia, siendo la reacción muy lenta a distancias mayores de 3Å [20]. En esta tesis se determinaron las distancias entre el oxígeno y el carbono no activado mediante cálculos de mecánica molecular utilizando el programa PCMODEL, encontrándose que la máxima velocidad de sustracción corresponde a una distancia de alrededor de 2,9Å (Capítulo 3). Se consideró que las conforma-

ciones del sustrato en el estado fundamental podrían reflejar las geometrías correspondientes al estado de transición [21].

El estado de transición más favorable para la transferencia intramolecular de hidrógeno es un anillo de 6 miembros en forma silla, Consecuentemente el hidrógeno ubicado en el átomo de carbono  $\delta$  es atacado preferencialmente.

Si no se encuentra un hidrógeno a la distancia óptima para la transferencia intramolecular, el radical alcoxilo puede reaccionar según otros caminos energéticamente favorables. Las reacciones competitivas más importantes son las reacciones de sustracción de hidrógeno intermoleculares (las cuales regeneran el alcohol de partida) que pueden evitarse utilizando solventes que no contengan átomos de hidrógeno que reaccionen fácilmente, por ejemplo benceno. Un camino alternativo para el radical alcoxilo, que toma gran importancia en ausencia de un hidrógeno en un carbono  $\delta$ , es la  $\beta$ -fragmentación (figura 3) que en el caso de los esteroides conduce a compuestos carbonílicos y/o seco-esteroides. Su importancia varía de acuerdo al método de producción del radical alcoxilo y es más pronunciada en la reacción con  $Pb(AcO)_4$ , menos en la fotólisis de nitritos y menos aún en las reacciones de hipohalitos.

En general el grado de fragmentación lo determina la estructura del radical alcoxilo. Estas reacciones se discutirán con mayor detalle en la página 23.

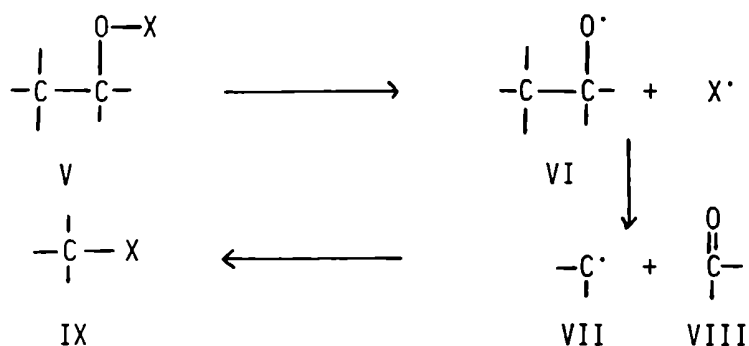


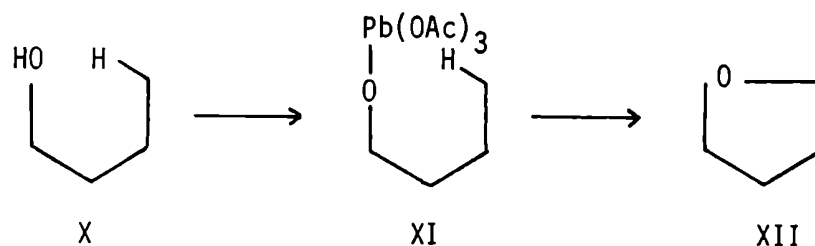
Figura 3- Reacción de  $\beta$ -fragmentación.

**Reacción ulterior del radical carbono.**— En la mayoría de los casos el radical carbono formado por sustracción de hidrógeno en el paso 2 reacciona con el radical  $\text{R}^\bullet$  formado en la homólisis del enlace  $\text{X-R}$ . En particular, esto se aplica a las reacciones que involucran hipohalitos; en la reacción con  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ , los pasos que conducen a la formación del derivado del tetrahydrofurano a partir del oxiradical son menos claros.

Para analizar la formación de éteres cíclicos resulta conveniente discutir por separado las reacciones que utilizan tetraacetato de plomo de aquellas que emplean hipohalitos de alquilo dado que presentan ciertas diferencias. Como se ha mencionado la reacción secundaria más importante es la  $\beta$ -fragmentación que conduce a compuestos carbonílicos y seco-esteroides. Para una mejor comprensión se comenzará discutiendo la reacción de ciclación intramolecular dejando para la sección siguiente el análisis de las posibles reacciones competitivas.

OXIDACIONES CON  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ 

La oxidación de alcoholes con  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$  fue la primer reacción usada para la oxidación de un grupo metilo angular en esteroides [20]. Consiste en la eliminación formal de dos átomos de hidrógeno del sustrato que posee un grupo hidroxilo dando lugar a la formación de un éter tipo tetrahidrofurano (XII).

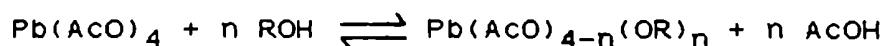


El curso de la reacción de oxidación se puede dividir en tres etapas:

- 1-Formación del alcóxido de Pb a partir del alcohol y  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ .
- 2-Formación del radical alcoxilo.
- 3-Formación del éter.

Debido a la alta energía necesaria para romper homolíticamente un enlace O-H se supone que la interacción del reactivo con el alcohol conduce a un intermediario fácilmente fragmentable, probablemente un alcóxido de plomo, el cual se descompone tanto térmica como fotolíticamente. Aunque los alcóxidos no han sido aislados es

dable esperar que con alcoholes voluminosos como los alcoholes esteroidales, la principal estructura que contribuye en tal equilibrio (especialmente con exceso del oxidante) es con  $n=1$ .



El equilibrio anterior está fuertemente influenciado por factores estéricos en el alcohol de partida. De este modo alcoholes secundarios y terciarios con impedimento estérico reaccionan lentamente.

Una ventaja de este método, al igual que en el caso de los hipohalitos que se discuten más adelante, es el hecho que el derivado del alcohol se forma in situ. Debido a que se encuentra presente un exceso de oxidante, la sustracción de hidrógeno intermolecular (por ej. reacción con el solvente) no afecta el rendimiento.

La conversión completa de un alcohol al producto es sólo posible si la descomposición del alcóxido de plomo(IV) es mucho más rápida que la descomposición del acilato de plomo(IV). Esto sólo se da con acetato y benzoato, y en menor medida para propionato e isobutirato de plomo(IV) [22].

Los requerimientos estéricos para la reacción de alcoholes con tetraacetato de plomo ya fueron descriptos en la sección anterior. En el caso que el radical oxígeno y el átomo de carbono en posición  $\delta$  se encuentren en una disposición relativa fija, la formación del éter cíclico ocurre según el mecanismo indicado en la figura 4 [20], mientras que en el caso que los centros reactivos no se encuentren fijos se postula un mecanismo via ion carbonio.

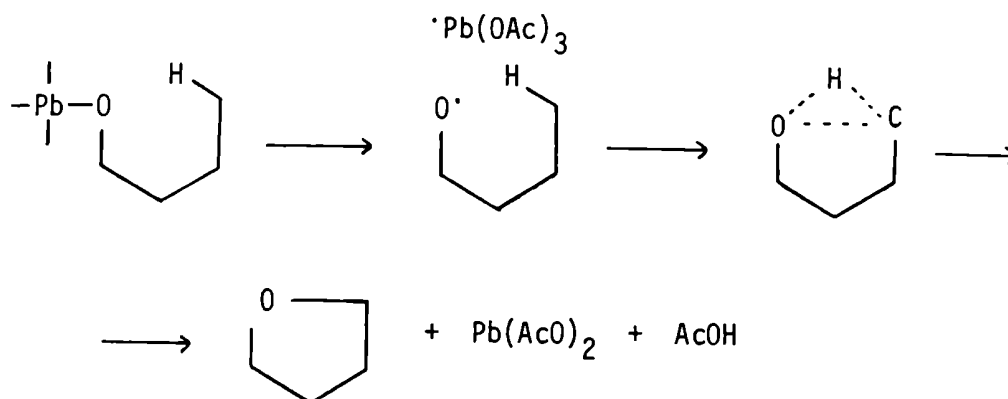


Figura 4- Formación del éter cíclico a partir de un alcóxido de plomo(IV).

Los ésteres y grupos hidroxilos acetilados son estables bajo las condiciones experimentales. Por otra parte en el caso de los cetales generalmente los rendimientos observados en reacciones térmicas son bajos. Los dobles enlaces no interfieren seriamente con el curso de la reacción siempre que la disposición relativa del grupo hidroxilo libre y el grupo metilo angular no cambie drásticamente.

La oxidación de alcoholes con  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$  utilizando iniciación térmica usualmente se lleva a cabo en benceno, aunque también pueden usarse ciclohexano o metilciclohexano como solventes [23]. En solventes de alto punto de ebullición, suele observarse acetilación cuando se usa el oxidante especialmente seco debido a la formación de anhídrido acético [24].



Utilizando 4 $\beta$ - y 6 $\beta$ -hidroxiesteroides se determinó que la velocidad de formación del éter correspondiente está influenciada principalmente por la velocidad de formación del alcóxido de plomo [22]. De acuerdo al equilibrio de la página 16, este último proceso se puede acelerar por agregado de una base. Desafortunadamente la base también aumenta la velocidad de heterólisis del enlace Pb-O (o transferencia de dos electrones del átomo de oxígeno al de plomo) dado que facilita la remoción de un protón de un carbono carbinólico y, de este modo, la formación de cetona. En consecuencia, para promover la formación del éter por descomposición térmica del alcóxido de Pb, es recomendable utilizar un medio ácido (agregado de AcOH) aunque esto disminuya la velocidad de reacción de 5 a 10 veces [22]. Estas condiciones no pueden usarse si el sustrato contiene grupos sensibles tales como cetales, dobles enlaces o cetonas.

Las desventajas de la oxidación térmica con Pb(AcO)<sub>4</sub> pueden revertirse fácilmente mediante la fotodescomposición de los alcóxidos de plomo [25]. La irradiación del alcóxido de plomo con luz de longitud de onda superior a 330 nm induce la transferencia de un electrón del oxígeno al plomo. Puesto que la fotólisis se realiza a temperatura ambiente donde la velocidad de transferencia de dos electrones catalizada por base (oxidación de alcoholes secundarios a cetonas) es muy baja, puede usarse una base como piridina para aumentar la velocidad de formación del alcóxido de Pb; lográndose una reducción apreciable del tiempo de reacción [14a]. La excitación específica del proceso radicalario por luz también aumenta la selectividad de la reacción. De este modo, cetales, cetonas, dobles enla-

ces, etc quedan inalterados. Los rendimientos obtenidos resultan mayores en la reacción fotoinducida que en la que utiliza iniciación térmica.

### REACCIONES DE HIPOHALITOS DE ALQUILO

La ruptura homolítica de hipioditos de alquilo conduce, al igual que en el caso del tetraacetato de plomo, a una sustitución intramolecular sobre un átomo de carbono no activado siendo los productos finales generalmente derivados de tetrahidrofurano [19]. Los hipioditos de alquilo se descomponen homolíticamente a temperaturas superiores a 60°C en átomos de iodo y radicales alcoxilo. Esta descomposición se acelera en presencia de átomos de iodo. Una adecuada concentración de átomos de iodo se obtiene por irradiación del iodo disuelto con luz de una longitud de onda entre 500 y 550 nm, en la región de la principal banda de absorción del iodo (522 nm en hidrocarburos saturados y 512 nm en hidrocarburos halogenados). Por esta razón la reacción procede bien en solventes no polares, en los cuales el iodo es soluble, mientras que en solventes aromáticos como benceno, en el cual se forman complejos de transferencia de carga con iodo, la concentración de átomos de iodo formados por irradiación no es suficientemente grande [20].

Los hipohalitos secundarios se descomponen fácilmente produciendo cetonas, sin embargo la tendencia para la descomposición heterolítica catalizada por base disminuye al pasar de hipoclorito a hipobromito y a hipiodito. En consecuencia, la aptitud para la funcio-

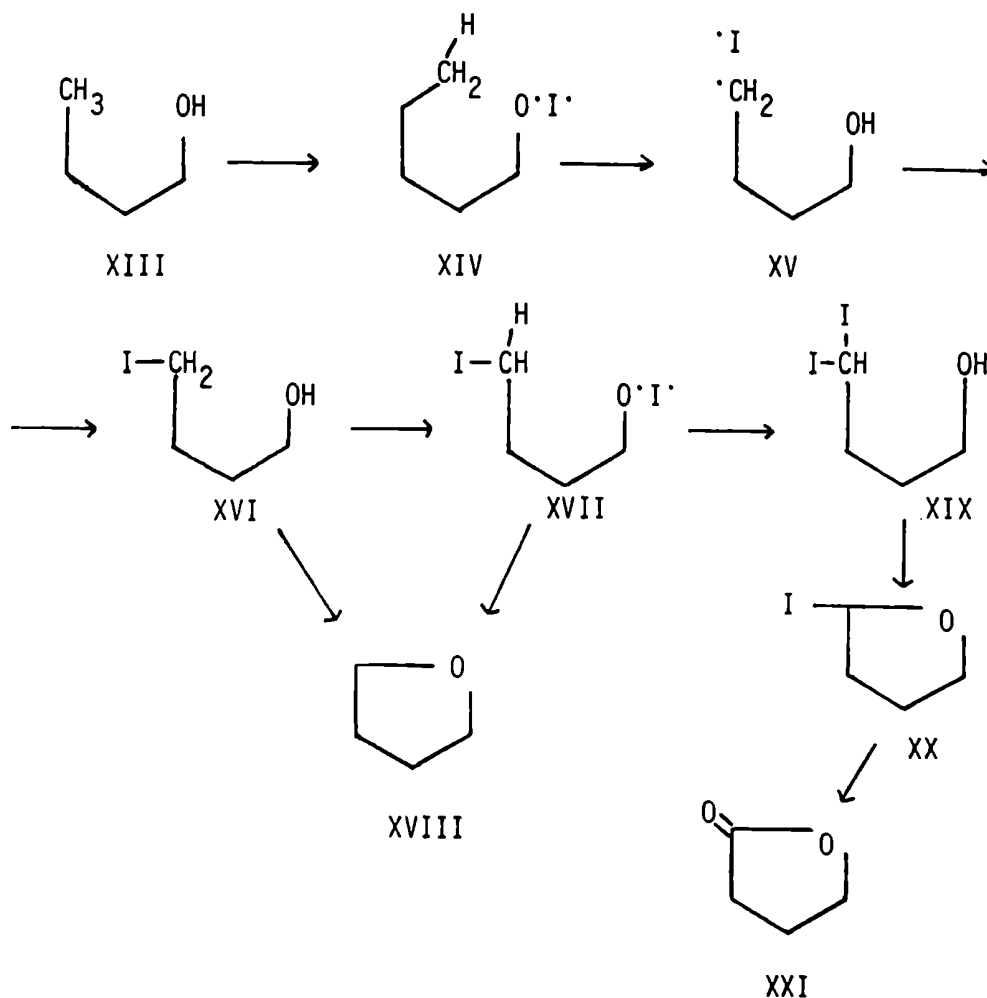


Figura 5- Reacciones de hipioditos de alquilo.

nalización del metilo angular en esteroides aumentaría en el mismo orden. Las reacciones de hipioditos son, generalmente, más aplicables que las de hipobromitos o hipocloritos puesto que en las condiciones neutras de la reacción no reaccionan fácilmente con cetonas o dobles enlaces carbono-carbono.

El producto primario de la fotólisis de hipohalitos es una 1,5-halohidrina, la estabilidad de la cual aumenta al pasar de iodo a bromo a clorohidrinas. Si la eliminación del haluro de hidrógeno no ocurre espontáneamente, la halohidrina puede convertirse en el deri-

vado de tetrahidrofurano por tratamiento con base. En la figura 5 se esquematiza el mecanismo de la reacción y los posibles productos que se obtienen.

Al igual que el hipiodito (XIV), la iodohidrina (XVI) puede convertirse en el hipiodito (XVII) en el medio de reacción si la eliminación de yoduro de hidrógeno es lenta. Las reacciones subsiguientes se encuentran determinadas según el ordenamiento estérico que adopten los centros reactivos en (XVI) en el caso en que se encuentren fijos el carbono  $\alpha$  al oxígeno y el enlace  $\gamma$ - $\delta$ . En consecuencia la descomposición del hipiodito XVII puede dar lugar a la formación de un iodoéter (XX) el cual puede ser posteriormente oxidado a lactona o dar lugar al derivado de tetrahidrofurano correspondiente (XVIII).

La relación de las velocidades de las reacciones XVI-XVIII y XVI-XVII, que determinan el producto formado, depende fundamentalmente de dos factores [20]:

- 1-La conformación del grupo iodometileno en los intermediarios XVI y XVII [26]
- 2-La eficiencia con que se forman y/o descomponen los hipioditos.

En un sistema policíclico saturado, como es el caso de las moléculas esteroidales, la rotación de un grupo iodometileno axial se encuentra severamente impedida por la presencia de sustituyentes axiales sobre la misma cara. Bajo estas circunstancias en 6 $\beta$ -hidroxi-19-iodoesteroides (figura 6) la orientación de los centros reactivos 6 $\beta$ -oxi y -CH<sub>2</sub>I corresponde a la disposición en el estado de transición de una reacción de desplazamiento S<sub>N</sub>2 y en conse-

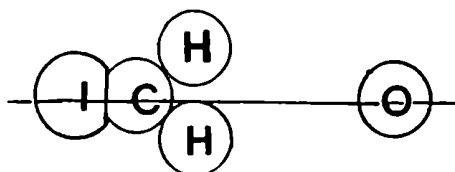
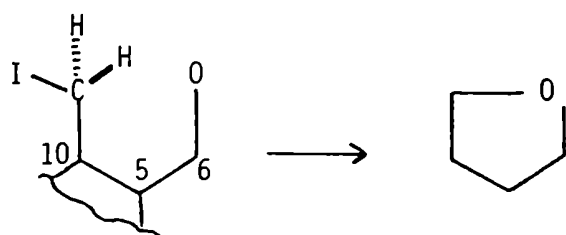


Figura 6- Orientación relativa de los centros reactivos en  
6 $\beta$ -hidroxi-19-iodoesteroides

cuencia la energía de activación para la conversión XVI-XVIII (figura 5) es baja. Por el contrario este ordenamiento no se encuentra si el átomo de oxígeno se ubica en una posición 2 $\beta$ , 4 $\beta$  u 11 $\beta$ . En este caso si el factor 2 mencionado más arriba es favorable la reacción procedería por sustracción de un segundo hidrógeno de XVI para dar XX.

En relación al factor 2, en aquellos casos donde por impedimento estérico se reduzca la velocidad de formación de hipiodito se encontraría favorecida la formación del éter cíclico (ej. 11 $\beta$ -hidroxiesteroides) aunque la orientación del grupo iodometileno no sea la adecuada para la reacción de desplazamiento.

#### Preparación y descomposición de hipioditos

Aunque no se han aislado hipioditos de alquilo, estos se pueden preparar in situ a partir de un alcoxilo y iodo por reacciones

de intercambio de alcoholes con reactivos que contienen iodo positivo, como por ejemplo de  $HgO/I_2$ , hipoclorito de t-butilo/ $I_2$ , hipoiodito de t-butilo ( $t-BuOK/I_2$ ), NBS/ $I_2$ , NIS, hipoiodito de acetilo ( $(AcO)_4Pb/I_2$ ). Los mejores solventes para la preparación de hipoioditos son hidrocarburos saturados (ciclohexano) o en ciertos casos hidrocarburos halogenados ( $Cl_4C$ ;  $Cl_2CH_2$ ).

La descomposición de hipoioditos puede ser inducida por calor y por moléculas de iodo excitadas y se ha demostrado que en ciclohexano resulta muy efectiva luz de longitud de onda entre 500 y 550 nm [14a].

#### REACCIONES SECUNDARIAS

La ciclación intramolecular que da lugar a la formación de compuestos tipo tetrahidrofurano, es uno de los caminos posibles que pueden tomar las reacciones de oxidación de alcoholes esteroi-  
dales secundarios y terciarios (en los cuales el hidroxilo está directamente unido al sistema policíclico), en solventes no polares por acción de tetraacetato de plomo o reactivos generadores de hipoioditos. Existen otras dos vías posibles las cuales bajo ciertas circunstancias se vuelven importantes; estas son la oxidación de alcoholes secundarios a cetonas y la  $\beta$ -fragmentación con formación de compuestos seco-esteroi-  
dales que contienen grupos carbonílicos (figura 7). La reacción de fragmentación es la ruta preferida de no existir un enlace C-H en posición  $\delta$  al radical alcóxilo como

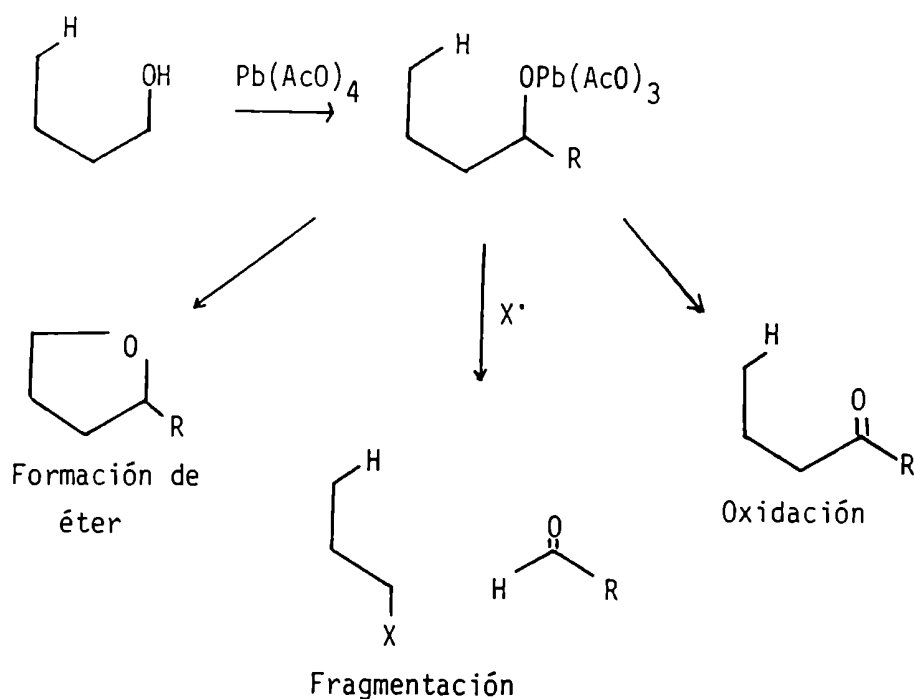


Figura 7- Formación de éter y reacciones secundarias con  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ .

ya se mencionara (pág 13). En caso contrario esta reacción es mucho más frecuente con  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$  que con otros reactivos generadores de radicales.

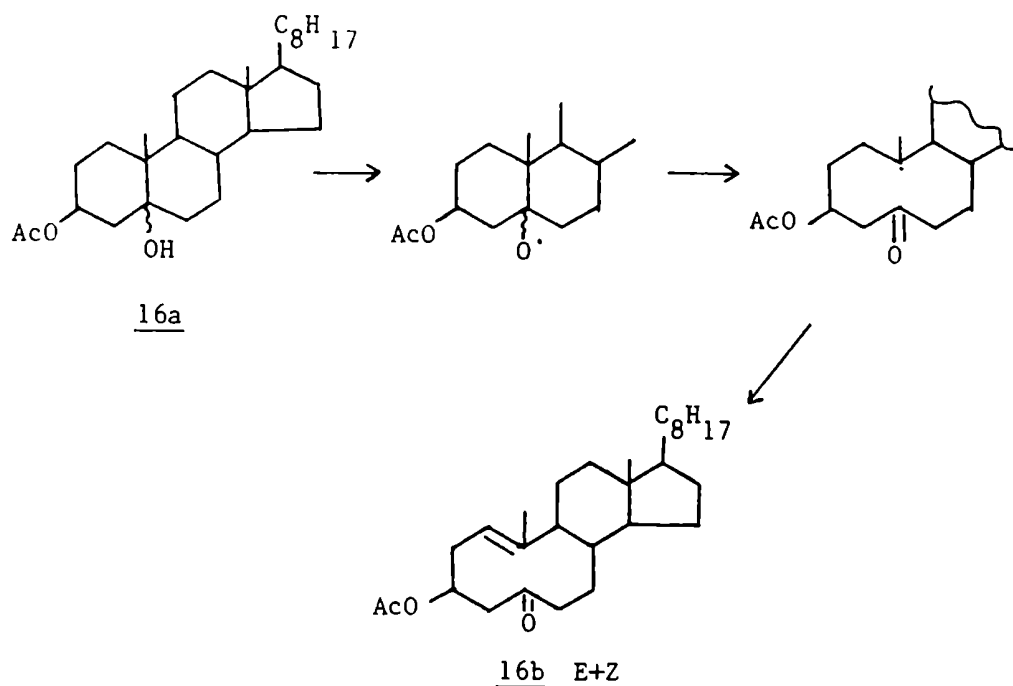
La velocidad de la reacción de ruptura aumenta con la estabilidad del radical formado. Paralelamente otros factores juegan un rol importante, como ser la estabilidad de la cetona formada, la disminución de tensiones por pérdida de grupos voluminosos, la estabilización del estado de transición por contribución de estructuras polares y, en compuestos cíclicos (particularmente anillos grandes),

la disminución de la tensión como resultado de la apertura de un anillo. Estos factores también determinan el grado de competición entre la sustracción de hidrógeno intramolecular y la reacción de fragmentación.

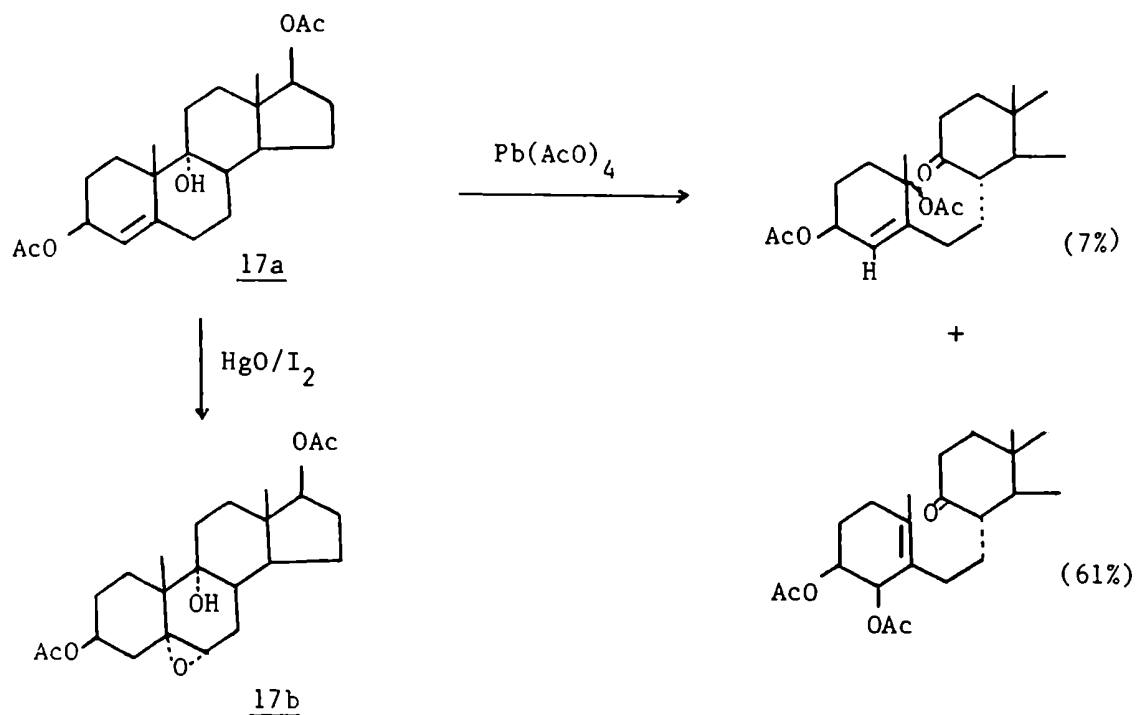
En el caso de la reacción de fragmentación derivada del empleo de tetraacetato de plomo como agente oxidante, se ha sugerido que el complejo del oxidante con el carbonilo o el incipiente grupo carbonilo facilita esta reacción [20]. Esto también podría explicar el proceso de recombinación del radical carbono con el fragmento carbonílico, el cual ocasionalmente produce la epimerización de uno o dos centros asimétricos. Esta reacción particular ha sido observada al tratar 4 $\beta$ -hidroxi, 11 $\beta$ -hidroxi, 6 $\alpha$ -metil-6 $\beta$ -hidroxi y 3,5 $\beta$ -ciclo-6 $\alpha$ -hidroxi esteroides con tetraacetato de plomo.

Los radicales alcoxilo obtenidos a partir de 5-hidroxiesteroides (16a) sufren una reacción de  $\beta$ -fragmentación que involucra la ruptura del enlace C(5)-C(10) para dar como productos finales cetonas del tipo de 16b tanto por acción del Pb(AcO)<sub>4</sub> [27,28] como por acción de reactivos generadores de hipioditos como HgO/I<sub>2</sub> [29,30], aunque es preciso aclarar que existen diferencias entre las reactividades del Pb(AcO)<sub>4</sub> y el HgO/I<sub>2</sub> que pueden deberse a factores dependientes de la naturaleza y modo de acción de los mismos los cuales no han sido aún totalmente elucidados [31]. Lorenc y colaboradores [31] consideran que el principal factor que regula la dirección en que se produce la reacción de  $\beta$ -fragmentación es la estabilidad relativa del radical carbono terciario formado.





Recientemente, Mihailovic y colaboradores estudiaron las transformaciones oxidativas de un alcohol esteroidal terciario homoalilico, 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxi-9 $\alpha$ -hidroxiandrost-4-eno (17a) [32] inducidas por Pb(AcO)<sub>4</sub> y por HgO/I<sub>2</sub> en presencia de luz. En el caso de la reacción con Pb(AcO)<sub>4</sub>, al no cumplimentarse los requerimientos estéricos para una ciclación intramolecular, la misma toma el curso de una  $\beta$ -fragmentación. El radical alcoxi sufre preferencialmente la ruptura del enlace C(9)-C(10) para dar el radical alílico terciario estable. Luego, gracias a una oxidación posterior de un electrón, el carbocatión resultante puede acetoxilarse en posición C(10) ó C(4). Al utilizar como agente oxidante HgO/I<sub>2</sub> se obtuvo como producto principal el 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epóxiderivado (17b, 58% de rendimiento). La presencia del grupo 9 $\alpha$ -hidroxi jugaría un rol crucial



en la adición de oxígeno afectando tanto la estereoquímica como la eficiencia de la epoxidación del doble enlace olefínico en dicho compuesto. Los autores sugieren la formación de un complejo entre el reactivo  $\text{HgO}/\text{I}_2$  (o alguna especie reactiva derivada del mismo) y la molécula de sustrato con participación del grupo  $9\alpha$ -hidroxi, pero no reúnen la evidencia necesaria para plantear un mecanismo. Nuevamente queda establecido el modo de acción diferente del tetraacetato de plomo frente al  $\text{HgO}/\text{I}_2$ .

Suginome y colaboradores han estudiado el reordenamiento radical fotoinducido de hipiodito de colesterilo, generado *in situ* a partir de colesterol (**18**) por un exceso de óxido de mercurio y yodo, a 2-iodo-3-formiloxi-4-nor-2,3-secocolest-5-eno (**19**) con

la formación adicional de otros epoxicompuestos minoritarios [33]. El mecanismo propuesto considera que el radical alcóxido derivado del alcohol homoalílico cíclico se convierte, mediante una reacción de  $\beta$ -fragmentación, en un radical alilo intermediario. Debido a la alta concentración de hipiodito en el medio el radical alilo es oxidado a un derivado hipiodito el cual, en presencia de luz, es transformado en un nuevo radical alcóxido. Un camino propuesto para este nuevo radical alcóxido es el ataque intramolecular al carboni-

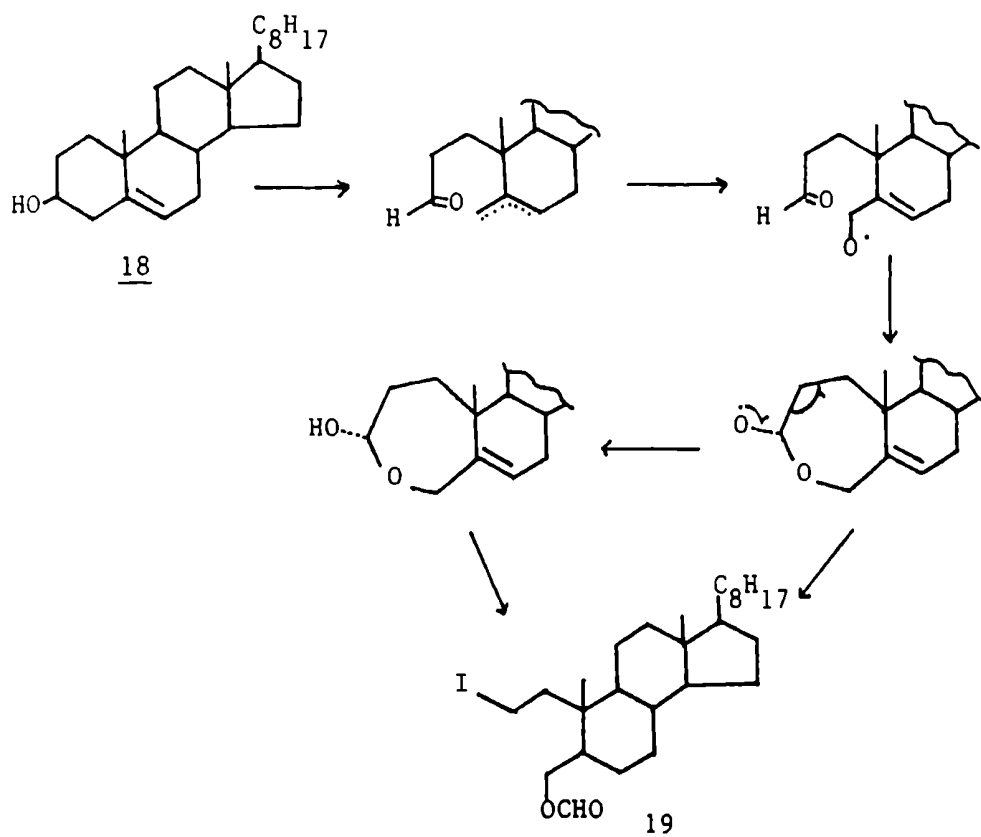


Figura 8- Reordenamiento radical fotoinducido de hipiodito de colesterol

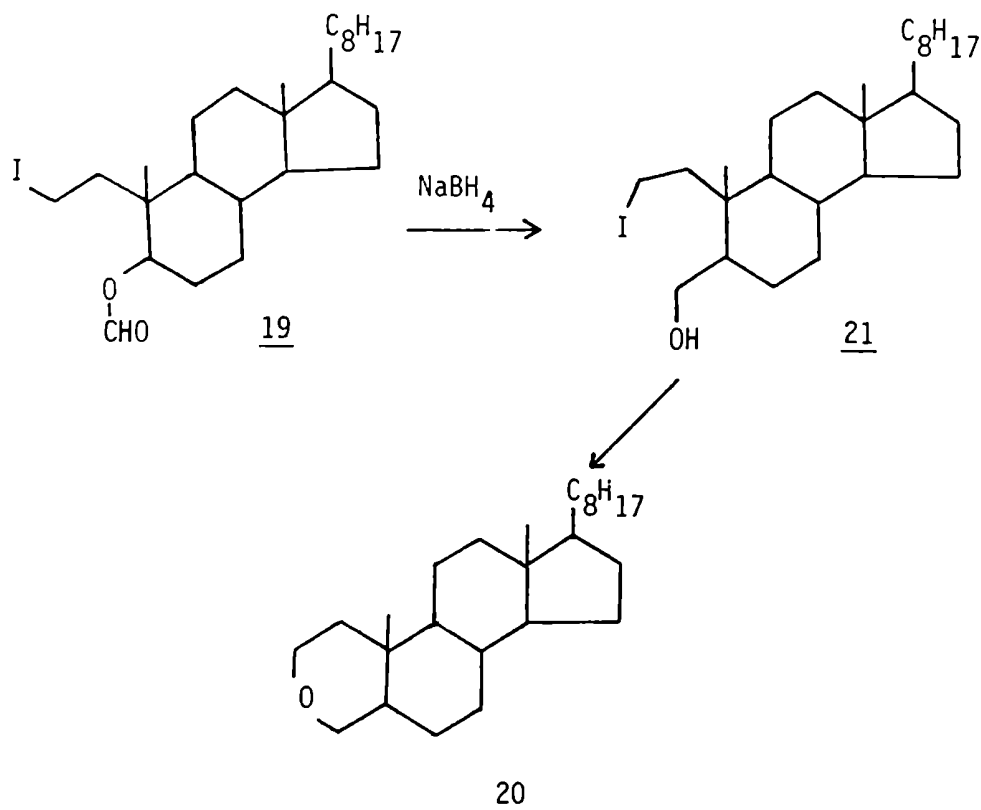


Figura 9- Reacción de 2-iodo-3-formiloxi-4-nor-2,3-secocolest-5-eno con NaBH<sub>4</sub>/THF

lo del formilo desde la cara  $\beta$  de la molécula para formar un radical  $3\alpha$ -alcoxilo el cual mediante una reacción de  $\beta$ -fragmentación conduce al formiato aislado (figura 8).

Este formiato puede ser transformado en 3-oxacolest-3-eno (**20**) por acción de NaBH<sub>4</sub>/THF [33] mediante una hidrólisis reductiva del grupo formilo a 3-hidroxi-2-iodo-4-nor-2,3-secocolest-5-eno (**21**) seguida por un desplazamiento nucleofílico intramolecular del yodo (figura 9).

Estos resultados condujeron a la conclusión de que puede utilizarse un reordenamiento radicalario fotoinducido, realizado en condiciones neutras, para obtener eficientemente oxaesteroides a partir de hidroxisteroides adecuadamente funcionalizados [34,35].

#### TRANSFORMACIONES DE 6 $\beta$ ,19-ETERES

Los compuestos del tipo 5 $\alpha$ -halógeno-6 $\beta$ ,19-éter resultan ser intermediarios claves para la transformación del metilo angular de C-10 en grupos hidroximetilo, aldehído, ácido y hasta para su eliminación que conduce a los 19-noresteroides. Estos compuestos se preparan a partir del correspondiente esteroide 5,6-insaturado por agregado del ácido hipohalogenoso para dar el 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroxiderivado el cual resulta ser el precursor del éter cíclico.

Si bien la apertura reductiva del éter con Zn/isopropanol o ácido acético es posible tanto sobre el bromoéter (figura 10, camino a) como sobre la cetona  $\alpha,\beta$  insaturada (figura 10, camino b) [36] en la literatura se encuentra recomendado el camino a dado los resultados poco satisfactorios obtenidos en el camino b [37,38]. La eficiencia de la apertura reductiva de cetoéteres  $\alpha,\beta$ -insaturados aumenta al pasar de Zn/AcOH a Zn/AcOH(aq) a amalgama de Zn/etanol. Las condiciones vigorosas requeridas para la reducción con Zn/AcOH glacial conducen por otra parte a la acetilación del grupo 19-hidroxilo [39].

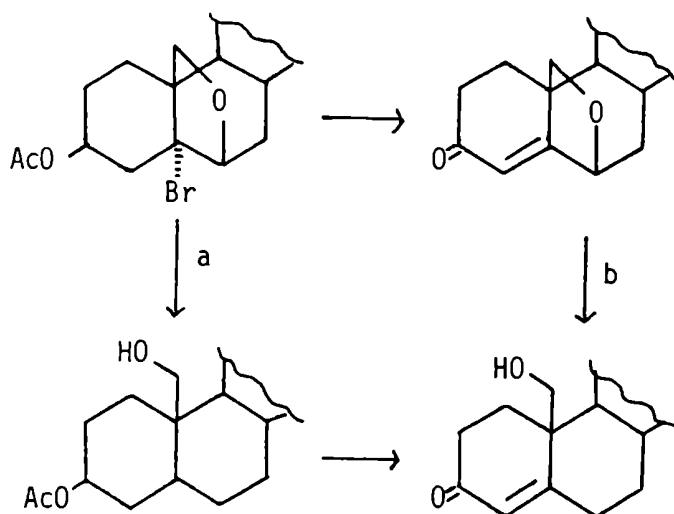


Figura 10- Apertura de 6β,19-éteres.

#### MÉTODOS DE SÍNTESIS DE 6,19- Y 11,19-OXIDOPREGNANOS

Las síntesis propuestas en literatura para 6,19-oxidoprogesterona (12) siguen principios idénticos [36,37,40]; en las mismas la formación del éter cíclico 6,19 (24) se realizó partiendo de acetato de pregnenolona 22 por reacción de la bromohidrina 23a con  $Pb(AcO)_4$  o  $Pb(AcO)_4/I_2$  con un rendimiento que oscilaba entre un 30 y un 50%. La 6,19-oxidoprogesterona se obtuvo con un rendimiento total que variaba entre un 17 y un 30% por oxidación del

hidroxiéter 25. El esquema sintético se muestra en la figura 11.

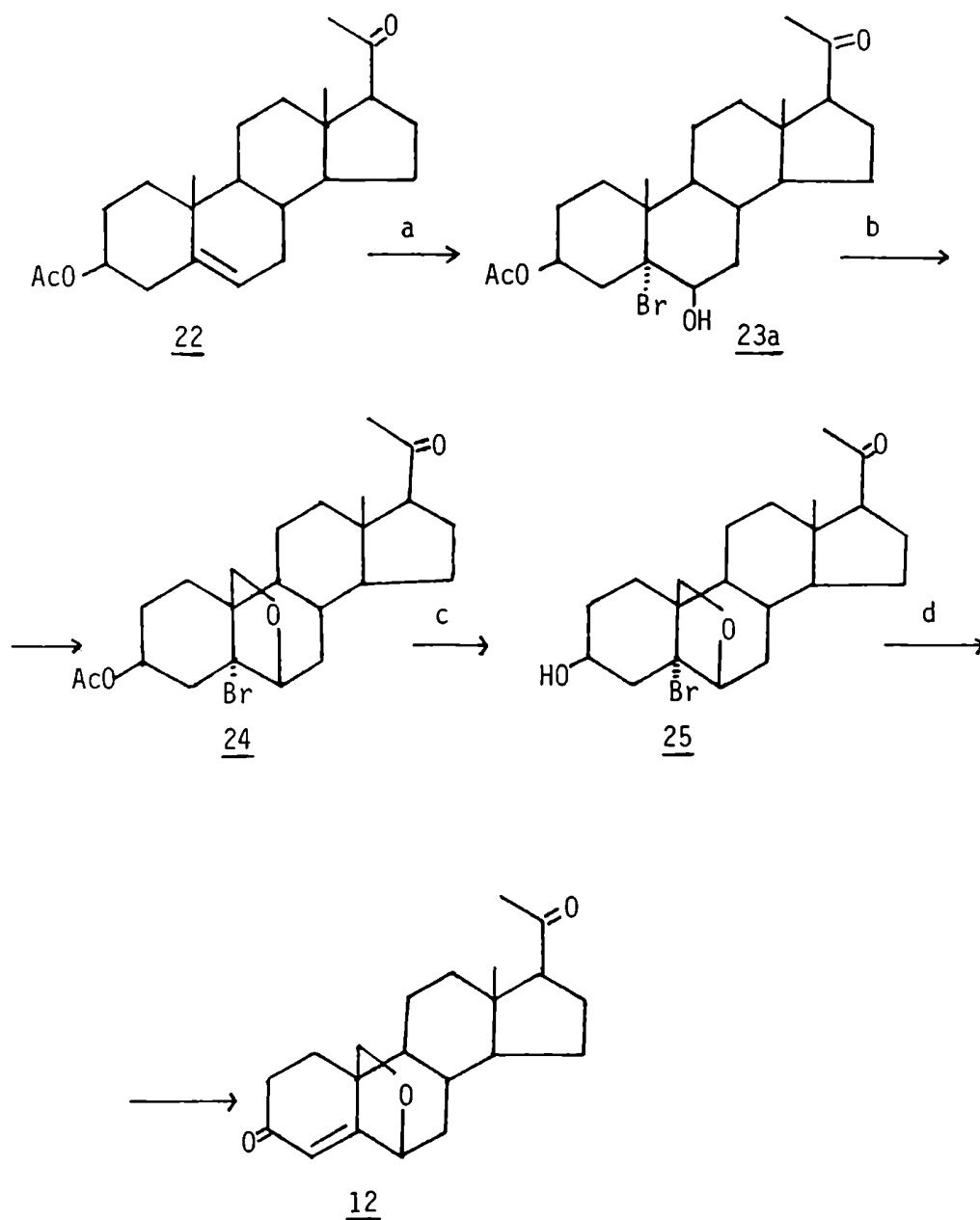


Figura 11- Síntesis de 6,19-dihidroprogesterona (12) [37]. a)  $\text{NBA}/\text{HClO}_4$ ; b)  $\text{Pb}(\text{AcO})_4/\text{I}_2$ ; c)  $\text{NaOH}$  14%; d)  $\text{CrO}_3/\text{AcOH}$ . (Rendimiento 29,5%).

Con respecto a la 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) y la 11,19-óxidoprogesterona (14), las síntesis descritas en la literatura se pueden clasificar en dos grupos. En un primer grupo se ubicarían las que utilizan un 6 $\beta$ -hidroxiderivado (26) como precursor de la reacción de ciclación intramolecular (figura 12) y conducen a la formación de 6,19-óxido-11-ceto-progesterona (13) [41,42] y, por reacciones posteriores a 11,19-óxidoprogesterona (14) [41]. Dentro del segundo grupo se encontrarían las que usan un 11 $\beta$ -hidroxiderivado (27) como precursor del éter cíclico (figuras 13 y 14) y conducirían a la formación de 11,19-óxidoprogesterona (14) [43-46].

Los rendimientos totales obtenidos son bajos y en algunos casos se informan valores sin purificación previa; por otra parte los compuestos se encuentran descritos sólo parcialmente ya que no se informan más datos que los espectros de infrarrojo y ultravioleta; incluso se observa que algunos datos no concuerdan de una referencia bibliográfica a otra [41,43,45]. En el caso de 11,19-óxidoprogesterona (14) no se registra en literatura un valor único de absorptividad molar y los valores informados para el PF son bastante poco precisos ya que oscilan en un rango de 10°C.

En el caso del 6 $\beta$ -hidroxiderivado (26) [40-42] la formación del 6 $\beta$ ,19-éter se realizó con Pb(AcO)<sub>4</sub> o con derivados de hipiodito (Pb(AcO)<sub>4</sub>/I<sub>2</sub>) con un rendimiento de aproximadamente 30%, mientras que el rendimiento total de la preparación de 6,19-óxido-11-ceto-progesterona (13) fue 25%. Las reacciones subsiguientes rinden 11,19-óxidoprogesterona (14) con un rendimiento total que



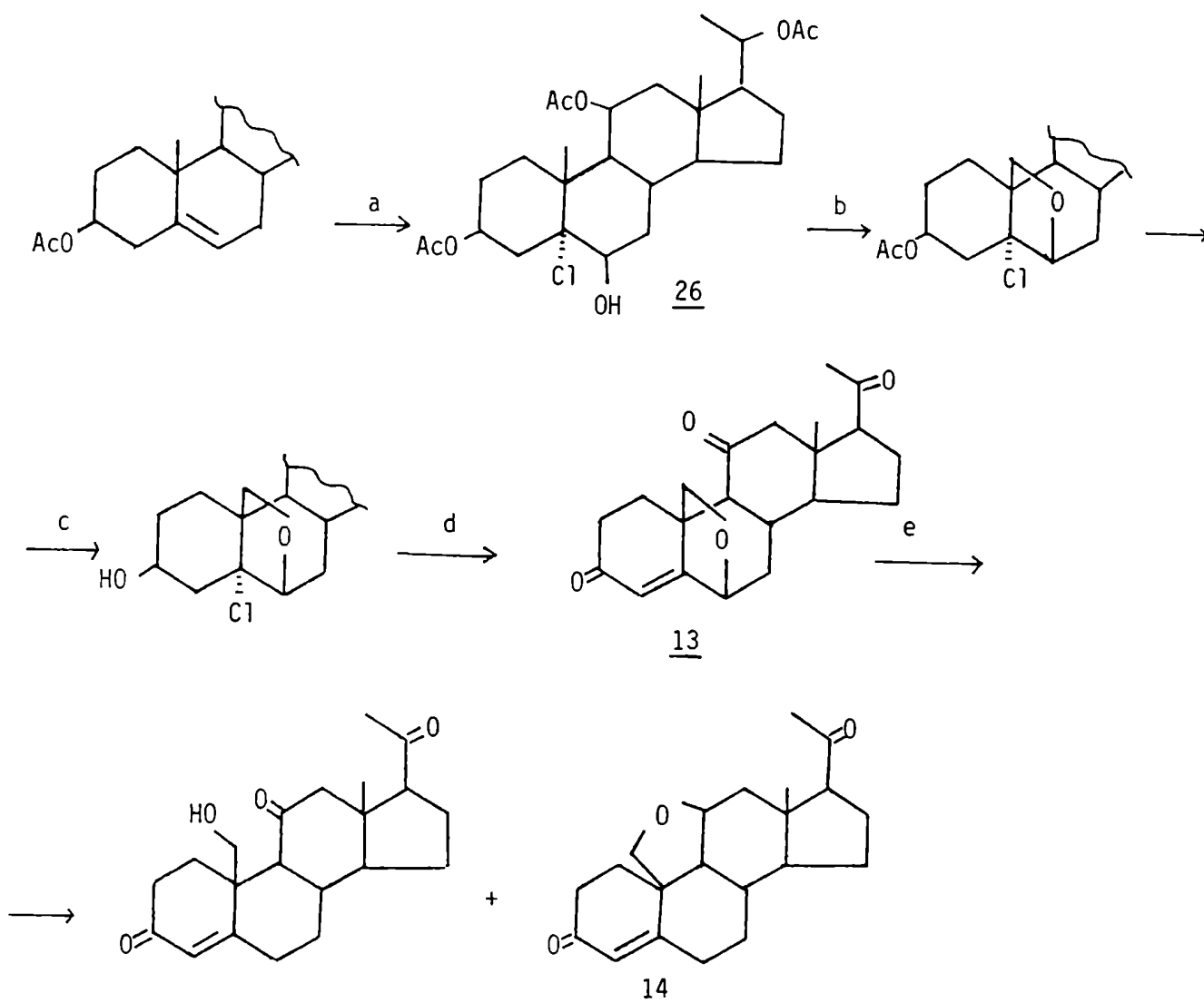


Figura 12- Síntesis de 6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona (**13**) y 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (**14**) [41]. a)  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ; b)  $\text{Pb}(\text{AcO})_4/\text{I}_2/h\nu$ ; c)  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{K}_2\text{CO}_3$ ; d) reactivo de Jones; e) 1)  $\text{Zn}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ , 2)  $\text{AcONa}$ .

va de un 0,5 a un 8% (figura 12) (este último sobre un crudo de reacción sin purificar) [41,42].

En los métodos que utilizan 11 $\beta$ -hidroxiderivados (27) [43-46] la formación del 11,19- $\delta$ xido se realizó por medio de  $Pb(AcO)_4/I_2$  (derivados de hipiodito) [43,44] ó por la reacción de Barton (fotólisis de nitritos) [32,33]. En el primer caso (figura 13) 14 se obtuvo con un rendimiento global de un 10% (sin purificar); en el segundo caso (figura 14) el éter 11,19 fue obtenido con un rendimiento del 11,4% siendo el producto final una mezcla de 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (14) y 11,19- $\delta$ xidopregn-5-eno-3,20-diona (28) con un rendimiento global de 5,3%, en este caso los autores informan punto de fusión y espectros UV, IR y microanálisis de la mezcla, aclarando además, que no obtuvieron resultados satisfactorios al intentar isomerizar el doble enlace desde  $\Delta^5$  a  $\Delta^4$  (de 28 a 14). Esta reacción de isomerización se informa en una patente [47] en la que someten a la mezcla anterior a un tratamiento con  $ClH/Cl_2CH_2$  obteniendo 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (14) aunque con un rendimiento del 49%.

De lo mencionado se desprende ~~que~~ que los caminos descriptos no son los más aptos para las síntesis de los compuestos en cantidad y grado de pureza suficiente como para que posteriormente sean sometidos a ensayos biológicos y mediciones espectroscópicas. En el caso particular de la 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (14) al hecho de observarse los menores rendimientos se suma que en ninguno de los trabajos mencionados se ha logrado aislar en forma pura el compuesto y esto se refleja en la gran variedad de datos de punto de fusión que se informan en literatura. Conjuntamente con esto se puede afirmar que

no existe una caracterización clara del compuesto ya que por ejemplo la absorptividad molar informada por Hesse y Pechet ( $\epsilon = 98400$ ) [45], es muy superior a la esperada para un sistema  $\Delta^4$ -3-ceto y no concuerda con el valor obtenido por Kalvoda (15800) [41].

Las anteriores evidencias experimentales permiten concluir que hasta el momento no se habría descrito un camino sintético para 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (**14**) y 6,19- $\delta$ xido-11-ceto-progesterona (**13**) con un verdadero valor preparativo, a la vez que no se ha realizado una caracterización clara y completa de los compuestos.

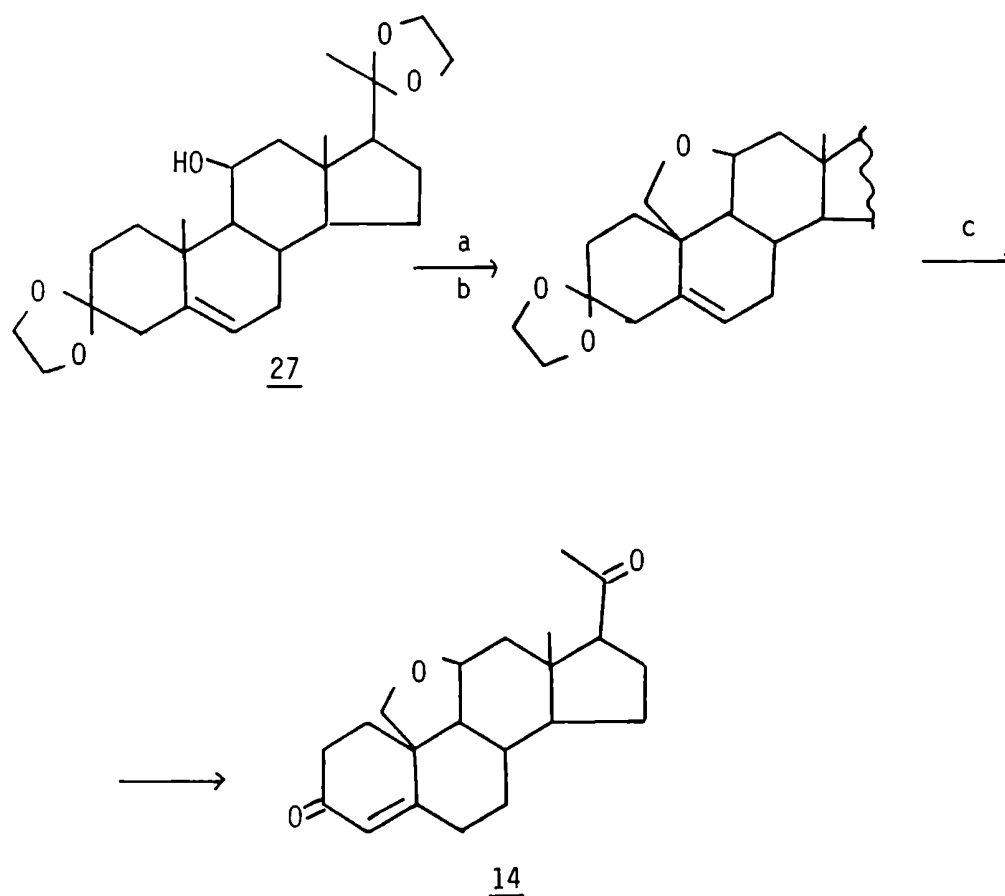


Figura 13- Síntesis de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (**14**) [43]. a)  $\text{Pb}(\text{AcO})_4/\text{I}_2/\text{CaCO}_3/\text{ciclonhexano}/\Delta$ ; b)  $\text{AgAcO}/\text{Pi}$ ; c)  $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ .

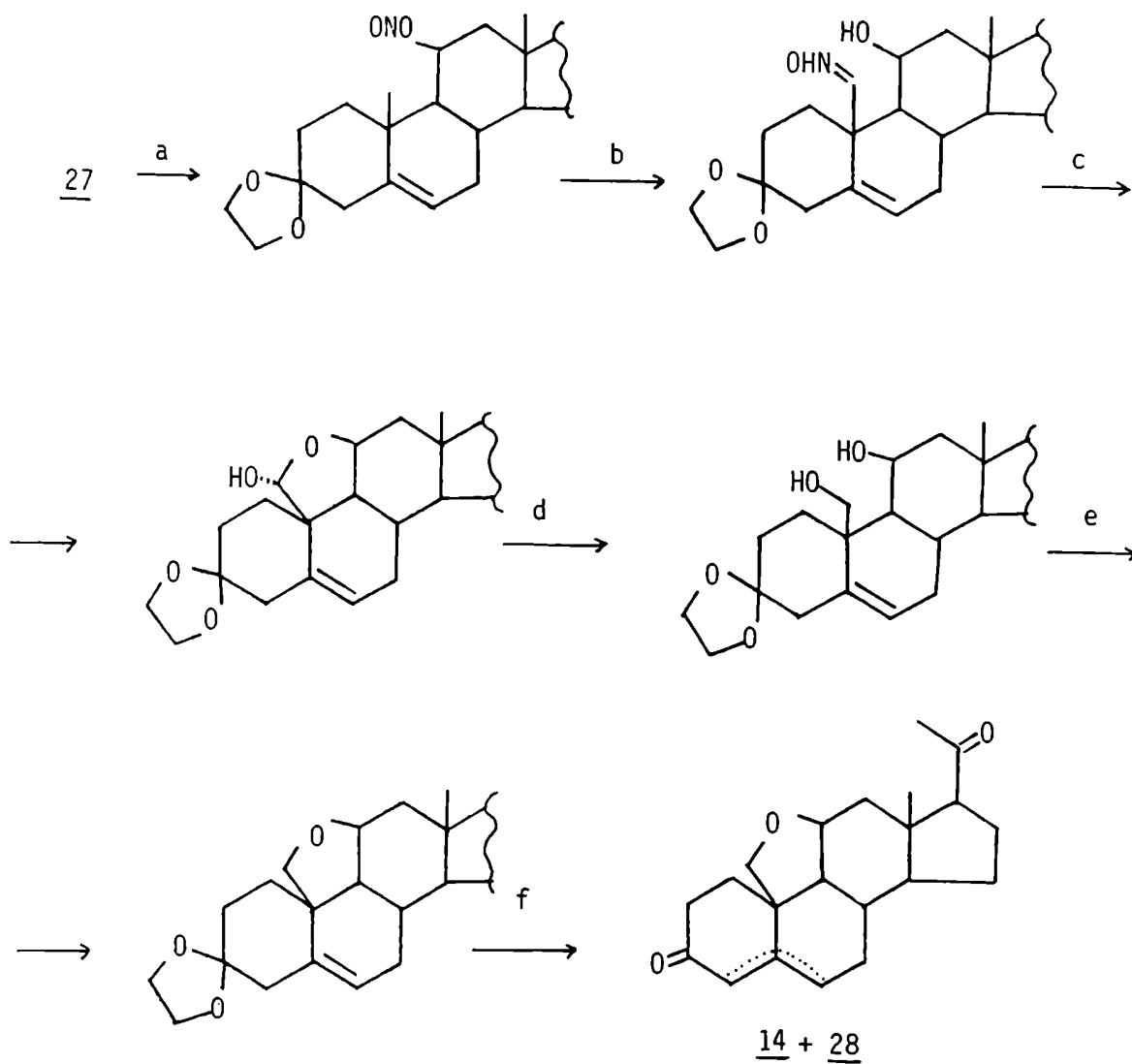


Figura 14- Síntesis de 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (**14**) [45]. a)  $\text{NOCl}/\text{Pi}$ ; b) Tolueno/lámpara de arco de  $\text{Hg}/\text{N}_2$ ; c)  $\text{HNO}_2$ ; d)  $\text{LiAlH}_4$ ; e)  $\text{TsCl}/\text{Pi}$ ; f)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /acetona.

### CAPITULO 3

SINTESIS DE 6,19-OXIDO Y 11,19-OXIDOPREGNANOS

Los bajos rendimientos de los métodos disponibles para la obtención de 11,19-óxidoprogesterona (14) (ver página 33) no los hacían aptos para la preparación de dicho compuesto en cantidad y pureza adecuados para su uso posterior en ensayos biológicos y estudios conformacionales por RMN. En consecuencia se encaró el desarrollo de una síntesis eficiente de 14 a partir de un producto comercial de bajo costo. Un análisis preliminar del problema indicó que dicho compuesto debería poseer funcionalizado el C-11. En base a estos requisitos se eligió la 11-cetoprogesterona (29) como material de partida. En la figura 15 se esquematizan las distintas rutas posibles hacia 11,19-óxidoprogesterona (14), así como una derivación para la obtención de 6,19-óxido-11-ceto-progesterona (13)

La funcionalización del metilo 19 constituía un punto clave cualquiera fuera la secuencia a seguir. De acuerdo con lo discutido en el capítulo 2 se decidió llevar a cabo dicha funcionalización mediante la reacción de hipiodito sobre un derivado 6 $\beta$ -hidroxilado (Figura 15, paso a).

La formación del 11 $\beta$ ,19-óxido podía realizarse por dos vías alternativas: reducción de un hemiacetal cíclico (Figura 15, paso b) ó ciclación de un 11 $\beta$ ,19-diol (paso c). Si bien ambas presentaban antecedentes en la literatura [41,45] los métodos descriptos resultaban ineficientes.

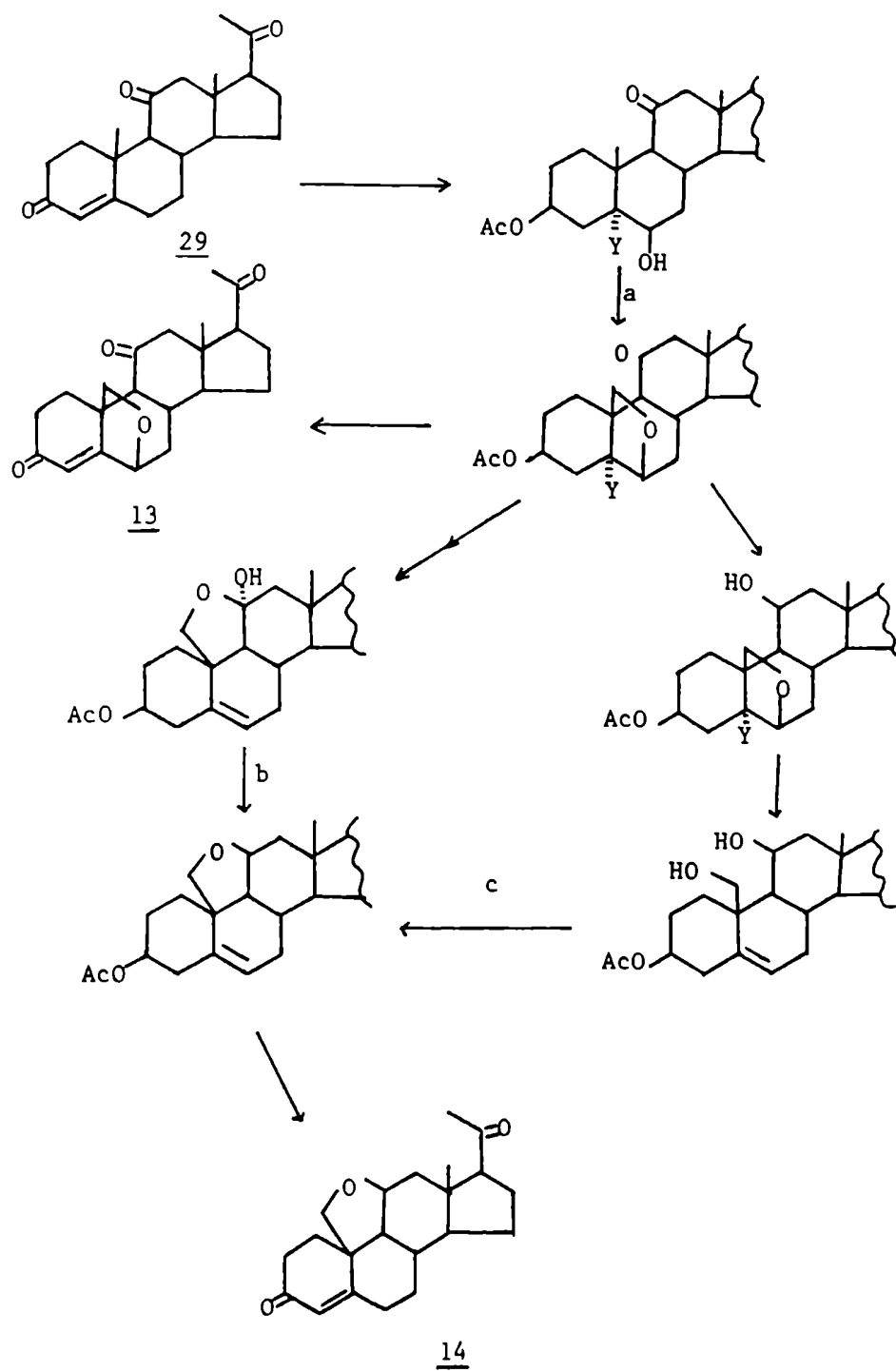


Figura 15- Aproximaciones sintéticas a **13** y **14**

La 6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona (13), por otra parte, podía obtenerse a partir del 6,19- $\delta$ xido intermediario que resultaba así común a ambas preparaciones. La síntesis de la 6,19- $\delta$ xidoprogesterona (12) no presentaba mayores inconvenientes ya que para la misma podía seguirse un esquema similar al planeado para el 11-ceto derivado 13 pero partiendo de un 11-desoxiesteroide. Si bien se encontraban descriptos diversos métodos para la preparación de (12), se ensayaron distintas aproximaciones sintéticas utilizándolas como modelos para la preparación del 11-cetoderivado (13).

Se plantearon inicialmente tres 6 $\beta$ -hidroxiderivados como posibles precursores de 6,19- $\delta$ xidos: una 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -bromohidrina (figura 15, Y=Br), un 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diol (Y=OH) y un 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetoesteroide que podría utilizarse en una secuencia alternativa según se indica en la figura 16. Los dos primeros podían obtenerse a partir de un 3 $\beta$ -acetoxi- $\Delta^5$ -esteroide mientras que el tercero podía prepararse directamente a partir de un  $\Delta^4$ -3-cetoesteroide.

Para desarrollar la primera posibilidad fue necesaria entonces, la reducción de la 11-cetoprogesterona (29) al 3 $\beta$ -acetoxi- $\Delta^5$ -esteroide correspondiente; la segunda alternativa se estudió sobre el 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diol derivado de acetato de pregnenolona (22). La alternativa de la figura 16 sólo se estudió para el caso de 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (30, fig.16 R= H<sub>2</sub>) según se discute en la página 69.



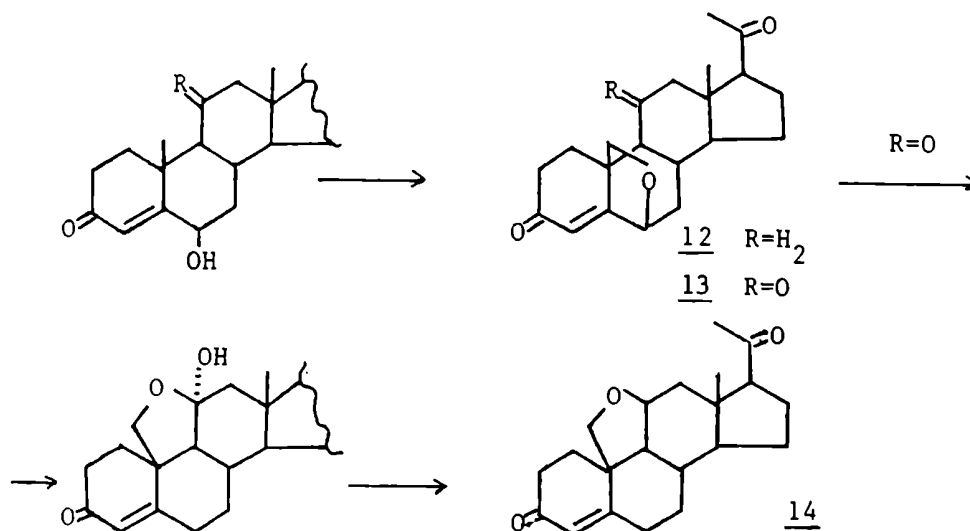
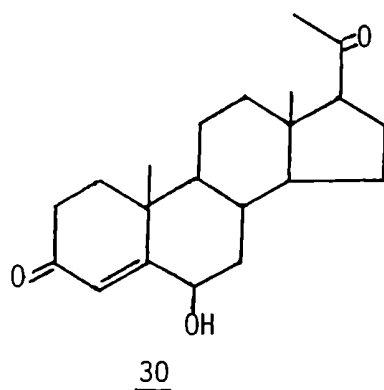
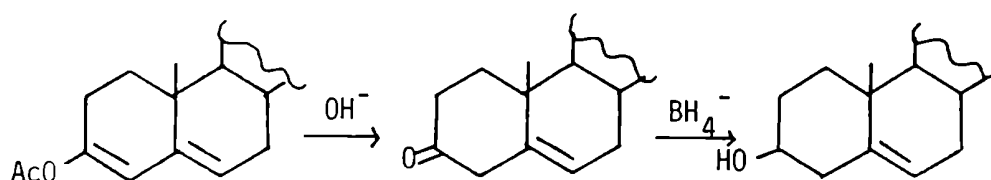


Figura 16- Secuencia alternativa para la preparación de 12, 13 y 14 a partir de 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetoesteroides.



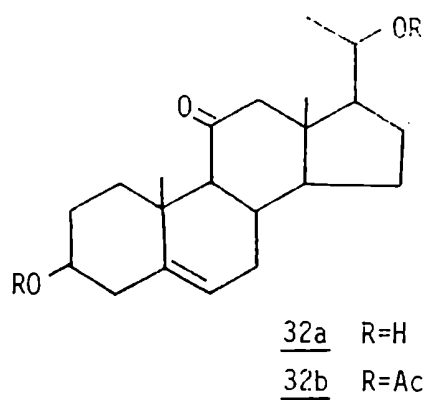
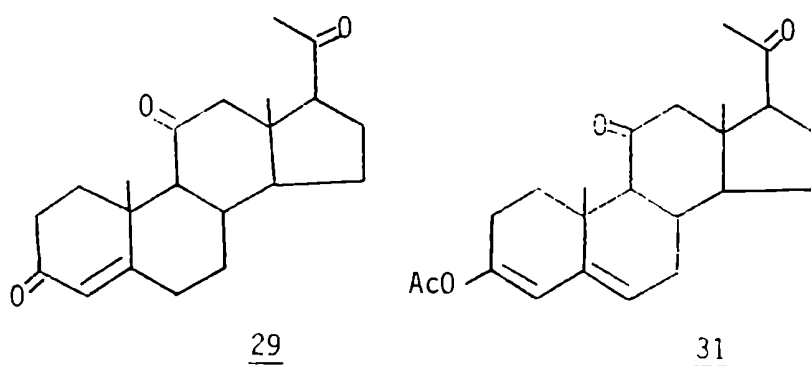
#### I. REDUCCION DEL SISTEMA $\Delta^4$ -3-CETO DE 11-CETOPROGESTERONA

Se ensayaron distintas condiciones de reducción utilizando  $\text{AlLiH}_4$  y  $\text{NaBH}_4$  [14b], sin embargo los resultados obtenidos no



fueron del todo satisfactorios ya que se obtuvieron mezclas de alcoholes isómeros, difíciles de trabajar. Por ejemplo, la reducción de 11-cetoprogesterona (**29**) con  $\text{AlH}_4\text{Li}$  en THF a ebullición dió lugar a una mezcla de 3,11,20-trioles que contenía los isómeros  $3\alpha$ ,  $3\beta$ ,  $11\alpha$ ,  $11\beta$ ,  $20\alpha$  y  $20\beta$ . Por otra parte la reducción del enolacetato de un  $\Delta^4$ -3-cetoesteroide con  $\text{NaBH}_4/\text{EtOH}$  rinde exclusivamente el  $3\beta$ -HO- $\Delta^5$ -esteroide buscado. En este caso, en el medio alcalino se produce la hidrólisis del enolacetato a la  $\Delta^5$ -3-cetona la cual es reducida rápida y estereoespecíficamente por el  $\text{NaBH}_4$  [48,49].

El enolacetato de 11-cetoprogesterona (**31**) se obtuvo de manera muy sencilla y con altos rendimientos por tratamiento de 11-cetoprogesterona con una mezcla de cloruro de acetilo y anhídrido acético (3hs,  $70^\circ\text{C}$ ) [50]. La reducción con  $\text{NaBH}_4/\text{EtOH}$  en medio alcalino seguida de acetilación con anhídrido acético/piridina rindió la  $3\beta,20\beta$ -diacetoxipregn-5-en-11-ona (**32b**) (conteniendo un 20% del isómero  $20\alpha$ ). Los intentos de realizar una reducción selectiva del enolacetato frente al grupo 20-ceto fueron infructuosos; más aún, en las condiciones utilizadas se observó una reducción parcial del carbonilo en posición 11 al  $11\beta$ -alcohol. Dado que la acetilación del grupo  $11\beta$ -hidroxi transcurre con dificultad y mucho más lentamente que los hidroxilos en posiciones  $3\beta$  ó  $20$ , el compues-



to 32b obtenido luego de la acetilación contenía una pequeña proporción del 11 $\beta$ -hidroxiderivado correspondiente. La oxidación de esta mezcla con reactivo de Jones produjo la cetona 32b con excelente rendimiento.

## II. SINTESIS DE POSIBLES PRECURSORES DE 6,19-OXIDOPREGNANOS

Tal como se indicara, la funcionalización del metilo 19 se encaró partiendo de un 6 $\beta$ -hidroxiderivado y a través del correspondiente 6,19-óxido. Se describen a continuación las aproxima-

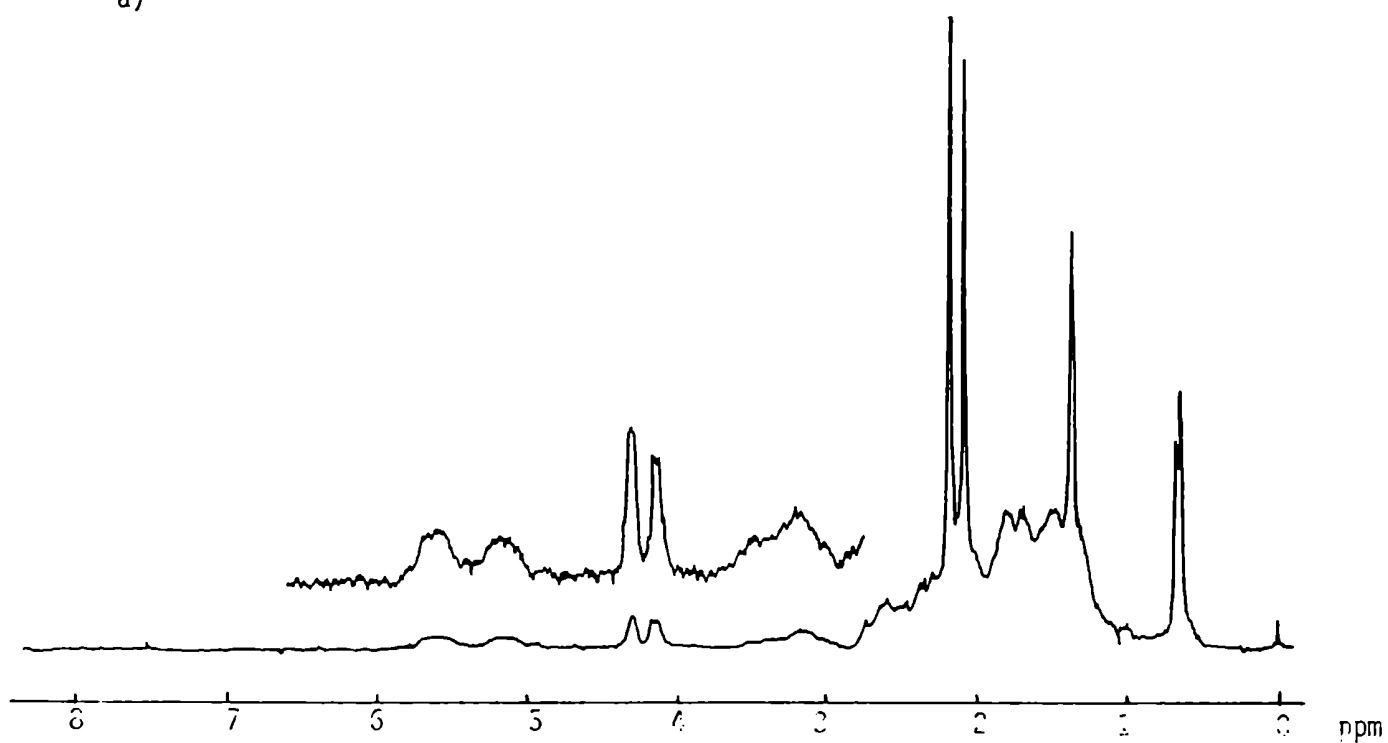
ciones sintéticas para la preparación de los 6 $\beta$ -hidroxiesteroides ensayados.

### II.1. Preparación de 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -bromohidrinas

Se encuentra descripta la reacción de acetato de pregnenolona (22) con ácido hipobromoso (generado a partir de N-bromosuccinimida (NBS) o N-bromoacetamida (NBA) y ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>)) para dar exclusivamente el 5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxiderivado (23a) con rendimientos que oscilan entre un 40 y un 90% [36,37,51-53]. Más recientemente Kirk y colaboradores informaron que por agregado de ácido hipobromoso a acetato de pregnenolona se formaban, además del 6 $\beta$ -hidroxiderivado, la bromohidrina isómera (23b), el 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido (33a) y el 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diol (34) [54]. Cuando se llevó a cabo la reacción de 22 con NBS/HClO<sub>4</sub> en dioxano:agua, se obtuvo además de la bromohidrina buscada (23a) la bromohidrina isómera 23b en una relación 1:1, según se pudo determinar por RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la mezcla de reacción (figura 17). Las señales del espectro de RMN <sup>1</sup>H de 23b resultaron muy similares a las de 23a, observándose desplazamientos a campos altos para el H-3 y el H-6.

En el espectro de RMN <sup>13</sup>C, las resonancias de 23b también presentaban sólo pequeñas diferencias con las de 23a en la región de los anillos C y D pero mostraron importantes desplazamientos a campos altos para las resonancias de los carbonos 10 y 11 (ver apéndice pág 201). Por otra parte, las señales de los carbonos de los anillos A y B fueron coincidentes con las correspondientes del 3 $\beta$ -acetoxi-6 $\beta$ -bromo-5 $\alpha$ -hidroxicolestano [55]. Al intentar la separación cromatográfica de la mezcla de bromohidrinas utilizando una

a)



b)

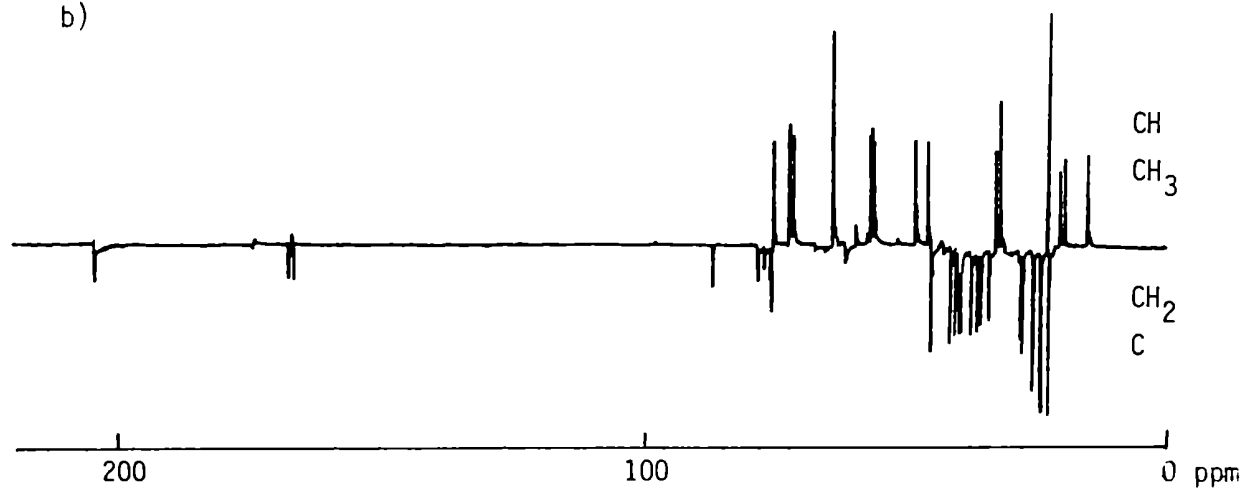
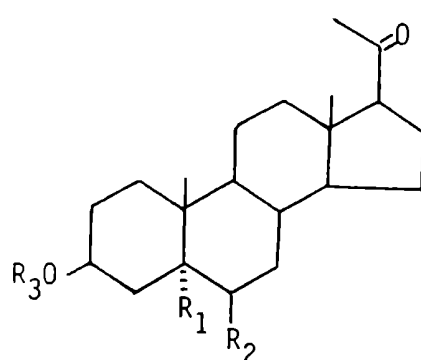
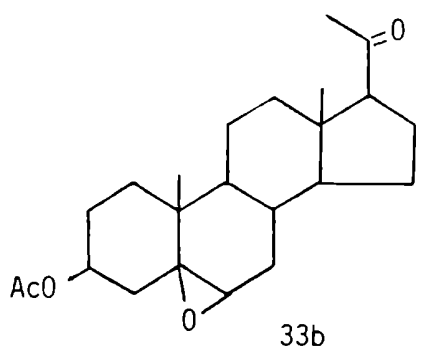
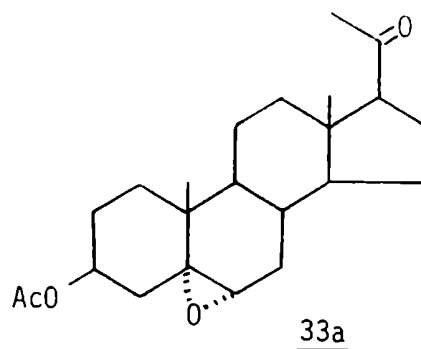
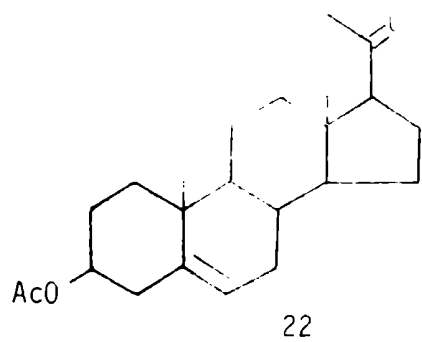


Figura 17- Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (a) y  $^{13}\text{C}$  (APT) (b) de la mezcla de las bromohidrinas 23a y 23b.



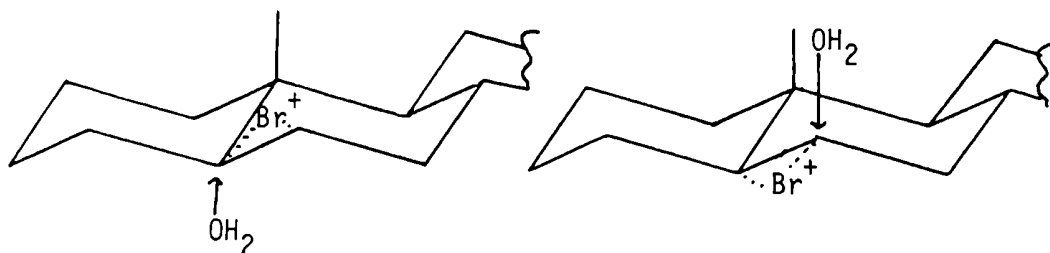
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<u>23a</u>	Br	OH	Ac
<u>23b</u>	OH	Br	Ac
<u>34</u>	OH	OH	Ac
<u>35a</u>	OH	OCH <sub>3</sub>	Ac
<u>36a</u>	OCH <sub>3</sub>	OH	Ac
<u>35b</u>	OH	OCH <sub>3</sub>	H
<u>36b</u>	OCH <sub>3</sub>	OH	H

columna de silica gel y mezclas de hexano:acetato de etilo como eluyente, sólo se aisló el 6 $\beta$ -hidroxi-5 $\alpha$ -bromo derivado (23a) y una mezcla de dos compuestos caracterizados por RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C como el 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -óxido (33a) y el 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -óxido (33b). Cuando se usaron como eluyentes mezclas de Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH se aislaron los derivados metoxilados 5 $\alpha$ -hidroxi-6 $\beta$ -metoxi (35a) y 5 $\alpha$ -metoxi-6 $\beta$ -hidroxi (36a). En ningún caso pudo aislarse la bromohidrina isómera 23b, debido probablemente a que la misma se descomponía en las condiciones de la separación.

Cuando la mezcla de bromhidrinas fue tratada con  $\text{KCO}_3\text{H}$  en  $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ , se obtuvo cuantitativamente una mezcla 1:1 de los epóxidos **33a** y **33b** los que resultaron idénticos a los obtenidos en la separación cromatográfica. Los epóxidos isómeros se separaron por CLAR y la estereoquímica del grupo 5,6-epóxido se determinó por RMN  $^1\text{H}$ , en base a la resonancia del H-6 [56].

Las condiciones extremadamente suaves requeridas para la formación del epóxido confirmaron que ambas bromhidrinas poseían los grupos hidroxilo y bromo en configuración trans-diaxial ( $5\alpha,6\beta$ ), de este modo el  $5\alpha,6\alpha$ -óxido (**33a**) derivaría de la bromhidrina **23b** y el  $5\beta,6\beta$ -óxido (**33b**) de **23a**.

Por último, por tratamiento de los epóxidos **33a** y **33b** con metanol y cantidades catalíticas de ácido sulfúrico, se obtuvo  $3\beta,5\alpha$ -dihidroxi- $6\beta$ -metoxipregnan-20-ona (**35b**) y  $3\beta,6\beta$ -dihidroxi- $5\alpha$ -metoxipregnan-20-ona (**36b**) respectivamente. La comparación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y los espectros de masa con los de los derivados metoxilados aislados de la cromatografía en columna de la mezcla de bromhidrinas (**23a** + **23b**) usando  $\text{Cl}_2\text{CH}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  como eluyente, confirmó que **35a** y **36a** eran los derivados 3-acetilados de **35b** y **36b** respectivamente. La formación de estos compuestos durante el proceso cromatográfico podría proceder por reacción de los epóxidos **33a** y **33b** con el metanol utilizado como eluyente, catalizada por el ácido bromhídrico liberado en la formación de los epóxidos.



Con respecto a la reacción de formación de bromohidrininas puede concluirse que la adición de ácido hipobromoso a 3 $\beta$ -acetoxi-5-en-esteroides no es estereoespecífica. La adición del ion bromonio sobre la cara  $\alpha$  de la molécula del esteroide daría lugar a la bromohidrina 23a como consecuencia del ataque de agua sobre el C-6, mientras que la adición a la cara  $\beta$  rendiría la bromohidrina 23b por ataque de agua sobre el C-5. Finalmente, el hecho de que ambas bromohidrininas se formaban en cantidades iguales indicaría que el ataque inicial, es decir la formación del ion bromonio, sobre la cara  $\alpha$  o la cara  $\beta$  se encontraba igualmente favorecido.

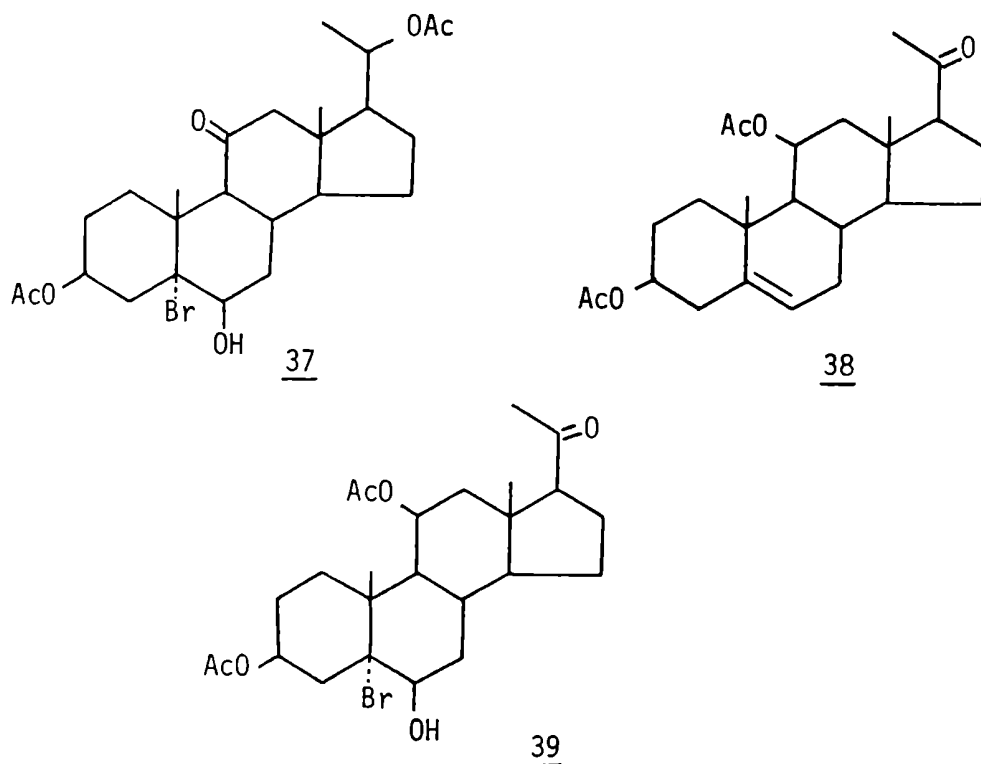
Los efectos que controlan las adiciones electrofílicas a dobles enlaces se caracterizan generalmente como electrónicos, estereoelectrónicos y estéricos. La adición de ácido hipobromoso a acetato de colesterol es un ejemplo de dominancia de efectos estereoelectrónicos (productos trans-diaxiales, regla de Furst-Plattner) frente a los electrónicos (regla de Markownikoff) [58]. En este último ejemplo la regla de Markownikoff indica que el correspondiente bromonio 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$  debería sufrir el ataque por el agua sobre el C-5; por el contrario, el curso de la reacción está dominado por factores



estereoelectrónicos los cuales favorecen la ruptura sobre el C-6 para dar la bromohidrina trans diaxial.

Considerando la baja especificidad con que se obtenía la bromohidrina útil (23a) utilizando NBS/HClO<sub>4</sub> se decidió ensayar un método alternativo con NBA/HClO<sub>4</sub>/éter/THF [57]. En este caso, se obtuvo la bromohidrina buscada (23a) con un rendimiento superior al 75% siendo el 25% restante la bromohidrina isómera (23b). Esto estaría indicando que al reemplazar NBS por NBA la reacción de formación de bromohidrinas aumenta su estereoespecificidad, favoreciéndose en mayor medida la adición inicial del ión bromonio sobre la cara  $\alpha$  con posterior ataque de la molécula de agua sobre el C-6. En consecuencia en el caso de utilizar NBA, ésta no podría considerarse como un simple generador *in situ* de ácido hipobromoso.

La presencia de un grupo ceto en C-11 modificó el rendimiento en la formación de la bromohidrina. Cuando se trató la 3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diacetoxi-pregn-5-en-11-ona (32b) con NBA/HClO<sub>4</sub> se obtuvo en forma casi exclusiva el 5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxi derivado (37). En relación a este punto, Kirk y col. [54] observaron una mejora en la estereoespecificidad de la reacción con NBA/HClO<sub>4</sub> al pasar de acetato de pregnenolona (22) a 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -diacetoxipregn-5-en-20-ona (38), donde se obtuvo en forma prácticamente cuantitativa la bromohidrina deseada (39). Esto fue atribuido a la mayor compresión estérica de la cara  $\beta$  por efecto del sustituyente axial 11 $\beta$ -acetoxi. Este forzaría al grupo metilo C-19 a acercarse más de lo usual a la cara  $\beta$  del enlace  $\Delta^5$ -olefínico, conduciendo a un ataque preferencial sobre la cara  $\alpha$ .



Sin embargo en el caso del 11-cetoderivado **32b** no existe compresión estérica en la cara  $\beta$ , y en este caso la formación preferencial del  $5\alpha,6\alpha$ -bromonio debería ser asistida por otros factores de estabilización (un efecto similar se analiza en la página 62 mediante cálculos de mecánica molecular).

## II.2. Preparación de $5\alpha,6\beta$ -dihidroxipregnanos

Los 5,6-epóxidos esteroidales constituyen excelentes precursores de esteroides  $6\beta$ -hidroxilados, mediante su conversión en los respectivos  $5\alpha,6\beta$ -dioles por hidrólisis ácida.

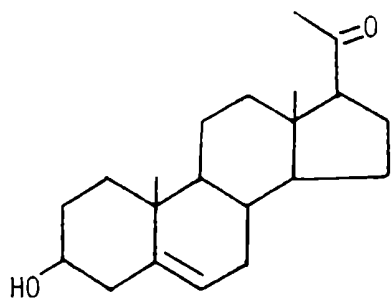
Inicialmente se sintetizaron los  $5\alpha,6\alpha$  y  $5\beta,6\beta$  epóxidos de pregnanos con distintos grupos funcionales en posición 3 (acetato,

hidroxilo, ceto, etilendioxi) y a continuación se estudiaron sus reacciones de apertura.

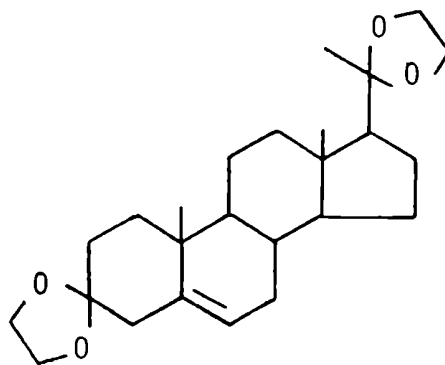
En el caso de esteroides con fusiones de anillo trans-anti-trans existe una marcada preferencia a la formación de  $\alpha$ -epóxidos, lo cual puede atribuirse a la compresión estérica de la cara  $\beta$  del núcleo esteroidal por la presencia de los dos grupos metilos angulares lo que implica un ataque preferencial del reactivo por la cara  $\alpha$ . En el caso de los  $\Delta^5$  esteroides, la proporción de epóxido  $\alpha$  varía entre un 50 y un 90%.

Los epóxidos se sintetizaron según el procedimiento descrito por Michaud y colaboradores [59] usando ácido m-cloroperbenzoico (AMCPB) en una mezcla bifásica de  $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq})/\text{Cl}_2\text{CH}_2$ . El método es lo suficientemente suave como para permitir la síntesis de epóxidos de  $\Delta^5$  esteroides con grupos funcionales lábiles como por ejemplo cetales, en cuyos casos los métodos convencionales no resultan apropiados por el medio ácido que presentan. De esta forma se prepararon los 5,6 epóxidos a partir de pregnenolona (40), acetato de pregnenolona (22) y 3,3,20,20-bisetilendioxi-pregn-5-eno (41). En los tres casos se obtuvieron mezclas de epóxidos  $\alpha$  y  $\beta$  observándose un exceso del isómero  $\alpha$  sólo en el caso de pregnenolona (80% de 42a).

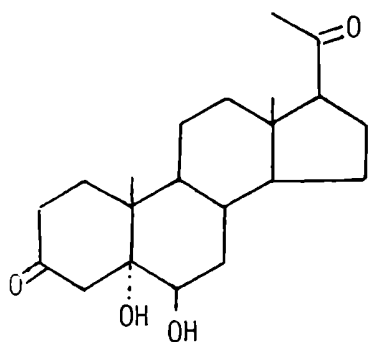
La oxidación de  $3\beta$ -hidroxi- $5\alpha,6\alpha$ -epoxipregna-20-ona (42a, con un 20% de 42b) con reactivo de Jones dió con alto rendimiento  $5\alpha,6\alpha$ -epoxipregnan-3,20-diona (44a, conteniendo un 20% de 44b). La hidrólisis de la mezcla de epóxidos de acetato de pregnenolona (33a y 33b) y de  $5\alpha,6\alpha$ -epoxipregnan-3,20-diona con ácido sulfúrico 1,5N/dioxano dieron exclusivamente los  $5\alpha,6\beta$ -dioles 34



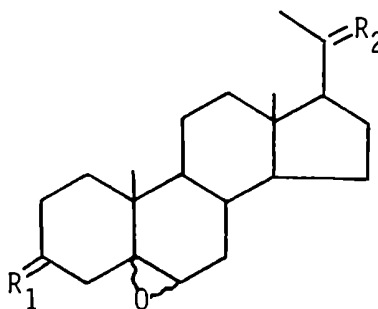
40



41



45



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	5,6-óxido
<u>42a</u>	3β-OH, H	O	α
<u>42b</u>	3β-OH, H	O	β
<u>43a</u>	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	α
<u>43b</u>	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	β
<u>44a</u>	O	O	α
<u>44b</u>	O	O	β

y 45 respectivamente. Los intentos de apertura de los epóxidos correspondientes del biscetal de la progesterona (43a y 43b) dieron resultados variados dependiendo de las condiciones utilizadas. Se observaron dos reacciones competitivas: la hidrólisis del

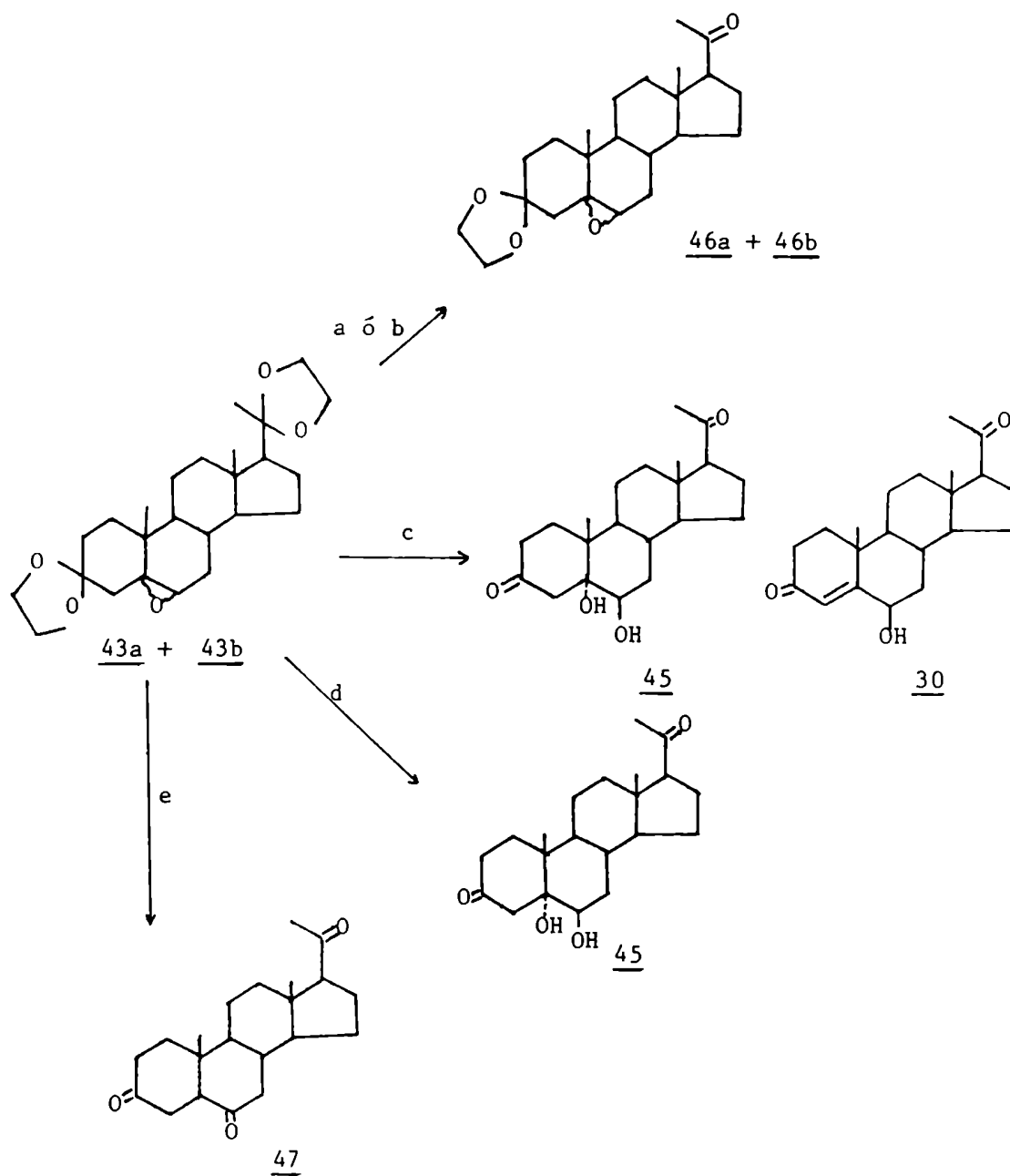


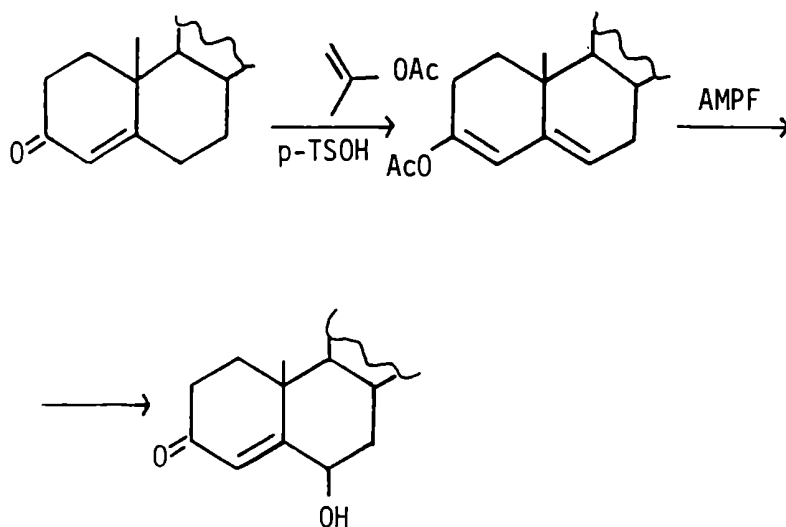
Figura 18- Reacciones de apertura de los epóxidos 43a y 43b.

a) acetona/ácido p-toluensulfónico; b) AcOH; c) PPTS;  
 d) ácido sulfúrico 1,5 N/dioxano; e) Clorhidrato de  
 piridonio.

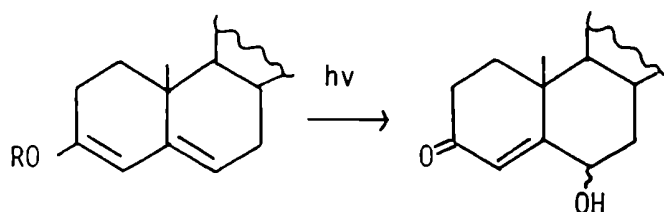
cetal y la apertura del epóxido, encontrándose que la reactividad de ambos grupos estaba alterada, es decir una relación interdependiente en sus reactividades. Los resultados obtenidos se resumen en la figura 18.

### II.3. Preparación de 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetopregnanos

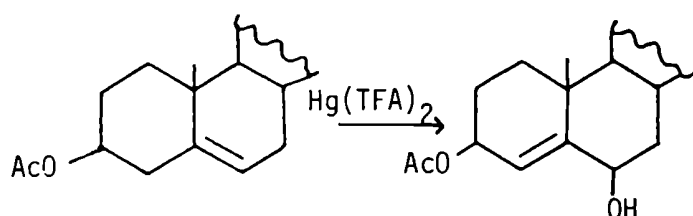
Romo y col. [60] describieron la introducción de un grupo 6 $\beta$ -hidroxi en  $\Delta^4$ -3-cetonas esteroideas con rendimientos del 25% por conversión de las mismas en el enolacetato (con acetato de isopropenilo/ácido p-toluensulfónico) seguido de oxidación con ácido monoperoftálico. La estereoespecificidad de la reacción indicaría que la oxidación de 3-acetoxi- $\Delta^{3,5}$ -dienos ocurriría exclusivamente por ataque del perácido por la cara  $\beta$  [61].



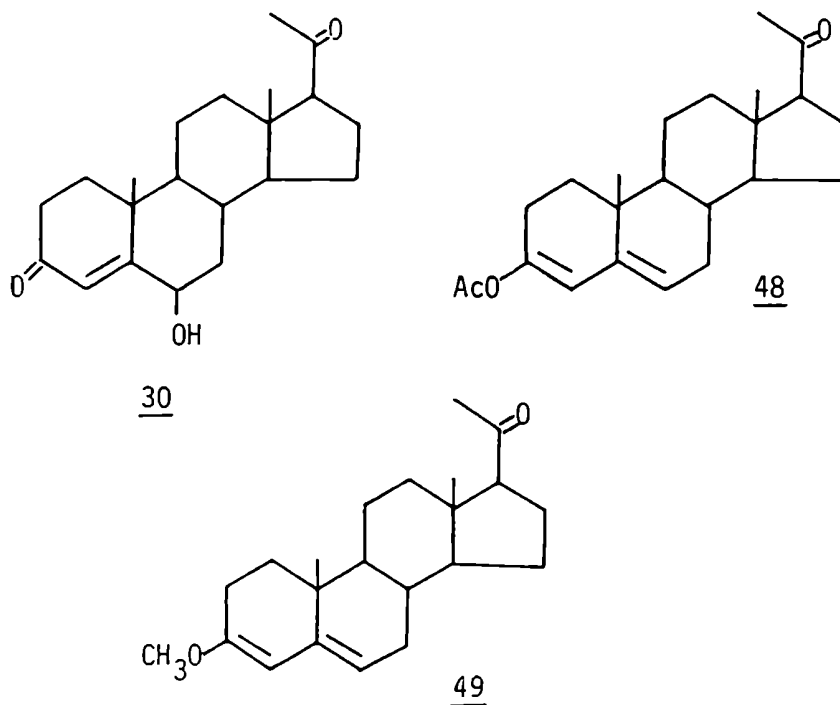
Más recientemente [62] se describió la introducción de un grupo 6 $\beta$ -hidroxi por fotooxidación de enoléteres obtenidos a partir de  $\Delta^4$ -3-cetonas dejando al esteroide en solución etanólica, tres semanas a la luz del sol. El rendimiento de 6 $\beta$ -hidroxiesteroide, luego de la purificación, fue de 30%. Previamente Bardi y col. [63] habían descrito la reacción de autooxidación de  $\Delta^{3,5}$ -dien-3-enoléteres a 6 $\alpha$  y 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetonas en ausencia de ácidos, por un proceso de radicales libres iniciado por luz y/o por generadores de radicales libres, e inhibido por antioxidantes.



También puede convertirse un  $\Delta^5$ -esteroide en un 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -esteroide mediante un reordenamiento alílico utilizando trifluoroacetato de mercurio(II) (reacción de Treibs modificada) con un rendimiento de alrededor de un 40% [64].



Cuando se aplicó el método de Romo y col. al enolacetato de progesterona (**48**), pero realizando la oxidación con ácido *m*-cloroperbenzoico se obtuvo 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (**30**) con un rendimiento



del 71%. Idéntico resultado se obtuvo por oxidación del 3-metilenol-éter de progesterona (**49**) en las mismas condiciones. La formación del isómero 6 $\beta$  concuerda con los trabajos anteriores, produciéndose el ataque del perácido sobre la cara  $\beta$  del esteroide. Si bien no se analizaron los productos secundarios de la reacción, la modificación introducida mejora los métodos anteriores en cuanto a rendimiento y sencillez.



### III. REACCION DE 6 $\beta$ -HIDROXIPREGNANOS CON REACTIVOS GENERADORES DE HIPOIODITOS

Al discutir las oxidaciones con  $Pb(AcO)_4$  o reactivos productores de hipioditos (tales como  $Pb(AcO)_4/I_2$  o  $HgO/I_2$ ) en solventes no polares, de alcoholes esteroidales secundarios y terciarios en los cuales el grupo hidroxilo está unido directamente al sistema policíclico, se vió que las mismas pueden proceder según diferentes caminos (capítulo 2):

- i) Ciclación intramolecular a éteres del tipo tetrahidrofurano.
- ii)  $\beta$ -fragmentación oxidativa a seco-esteroides con grupos carbonilos.
- iii) Conversión en cetonas y acetatos.

Cual de estos procesos competitivos prevalezca, dependerá de la posición del grupo hidroxilo y de los rasgos estructurales del sustrato por lo cual el curso de la reacción se encontrará fuertemente influenciado por factores estéricos y/o estereoelectrónicos. En el caso que la molécula no contenga un grupo  $\delta$ -CH adecuado desde el punto de vista estérico para la ciclación intramolecular, el radical alcóxido generado (por ejemplo por homólisis del enlace Pb-O del alcóxido de plomo) sigue preferencialmente un camino de  $\beta$ -fragmentación.

Una vez sintetizados los 6 $\beta$ -hidroxiderivados seleccionados como precursores apropiados para la formación del anillo 6,19-óxido, se procedió a estudiar el curso de la reacción de oxidación de los

5 $\alpha$ -bromoderivados,  $\Delta^4$ -3-cetoderivados y 5 $\alpha$ -hidroxiderivados mediante reactivos generadores de hipiodito. A continuación se describen los resultados obtenidos.

### III.1. 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -bromohidrinás

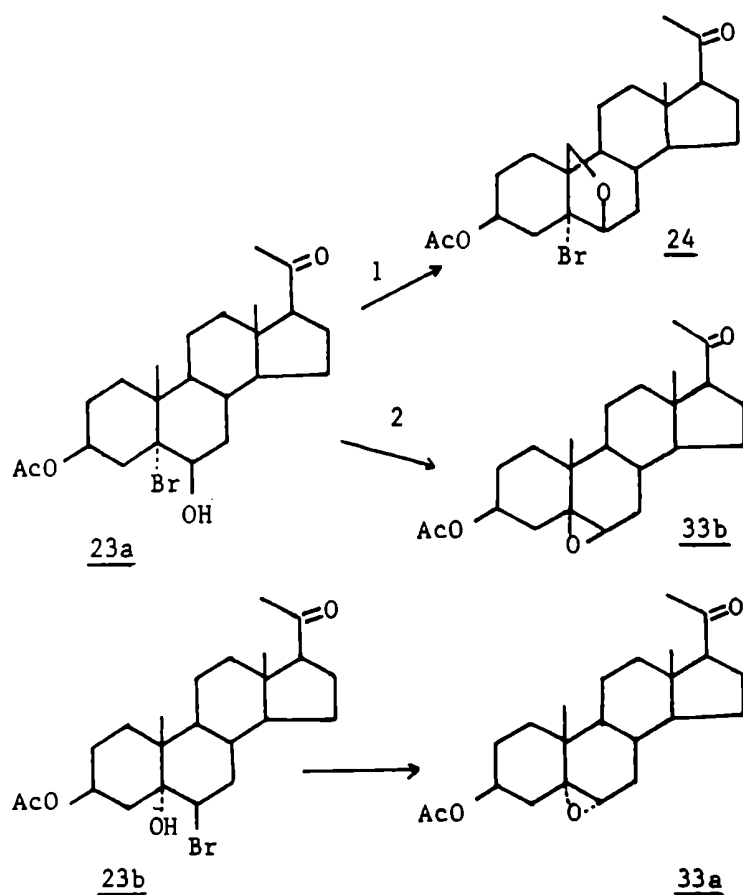
Estos compuestos son los precursores clásicos de 6,19- $\delta$ xidoesteroides. Bagli y colaboradores obtuvieron los correspondientes 6 $\beta$ ,19- $\delta$ xidos al tratar 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroxiesteroides con Pb(AcO)<sub>4</sub> tanto en presencia como en ausencia de I<sub>2</sub> [36]. Los rendimientos obtenidos fueron consistentemente superiores (alrededor de un 70%) en los casos en que se encontraba presente I<sub>2</sub>, mientras que en ausencia del mismo se obtenían mayoritariamente las cetonas correspondientes.

Akhtar y Barton propusieron el uso de HgO/I<sub>2</sub> para la generación in situ de hipioditos a partir de una variedad de alcoholes esteroidales [65] en reacciones inducidas ya sea por calor o por luz. Los productos resultantes corresponden a los originados a través de intermediarios del tipo hipiodito; comparativamente el procedimiento con HgO/I<sub>2</sub> es más limpio y tiene mayores rendimientos.

En el presente trabajo se comenzó utilizando como agente oxidante Pb(AcO)<sub>4</sub>/I<sub>2</sub> y como sustrato 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxipregnan-20-ona (**23a**) obtenido en la reacción de formación de bromohidrinás (pág 44). Debido a las dificultades encontradas para la separación cromatográfica y purificación de la mezcla de bromohidrinás (pág 46) se utilizó el crudo de reacción dado que el 6 $\beta$ -hidroxiderivado (**23a**) se convertiría en el 6 $\beta$ ,19- $\delta$ xido (**24**) mientras el 5 $\alpha$ -hidroxi-6 $\beta$ -bromoderivado (**23b**) rendiría en el medio de reac-

ción el 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido 33a. Cuando la reacción se realizó con iniciación térmica en benceno durante 18 horas, se observaron dos reacciones competitivas: 1) Reacción por radicales libres conducente al 6 $\beta$ ,19-óxido (24) buscado y 2) Reacción de tipo iónico para formar el 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epóxido (33b) a partir de la bromohidrina 23a y el 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido (33a) a partir de 23b.

Los resultados obtenidos no fueron satisfactorios debido a que se obtuvo un porcentaje de conversión de la bromohidrina útil (23a) en el 6 $\beta$ ,19-óxido de un 60%. Se ensayó entonces la reacción alternativa con HgO/I<sub>2</sub> en CCl<sub>4</sub> (iniciación térmica, 8 horas, 50°C) sobre la mezcla de bromohidrinas (23a,23b), obteniéndose un porcentaje de conversión de la bromohidrina (23a) análogo al obtenido con Pb(AcO)<sub>4</sub>.



Se consideró entonces que el tipo de iniciación utilizada (térmica) resultaba desfavorable para una reacción de tipo radicalaria, favoreciéndose las reacciones de tipo iónico (mayor porcentaje de epóxido  $\beta$ ), que se intensificaba con el prolongado tiempo de reacción necesario (8-18 hs). Por otra parte existían dificultades en el abastecimiento de  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$  que sumadas a las propias derivadas del uso de este reactivo (reacciones de oxidación laterales que conducían a mezclas de productos de difícil separación y purificación) llevaron a continuar trabajando con el sistema  $\text{HgO}/\text{I}_2$ .

Se decidió ensayar la reacción con iniciación lumínica provista por una lámpara de tungsteno de 300 Watt. Al utilizar una relación 23a/ $\text{HgO}/\text{I}_2$  de 1mmol/0,79g/0,54g y un tiempo de reacción de 1,5 hs se obtuvo una mayor cantidad del epóxido  $\beta$  (33b) en detrimento

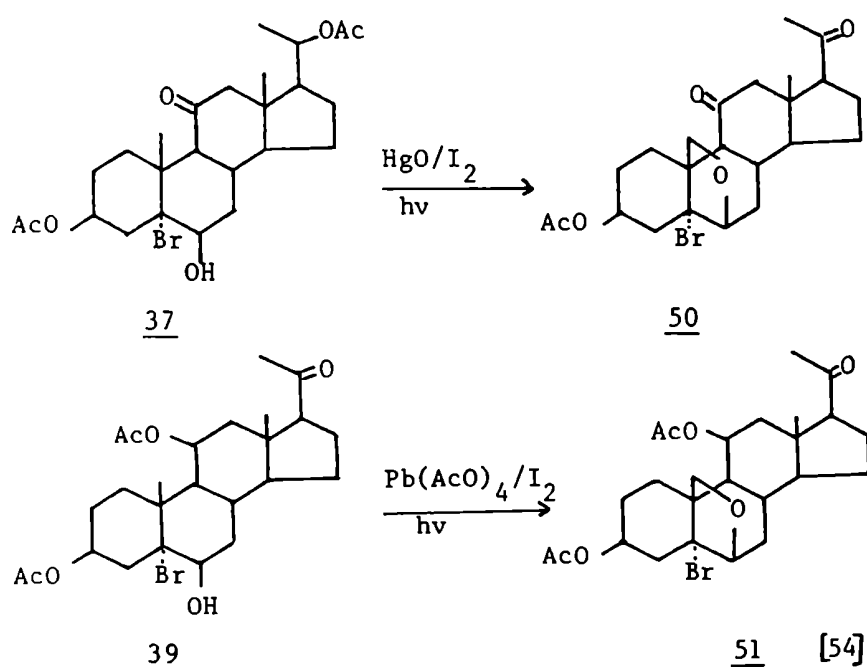
Tabla 1- Porcentaje de conversión de la bromohidrina 23a en 24 (R) en las distintas condiciones ensayadas.

Reactivos	Iniciación	R(%)
<u>23a</u> / $\text{HgO}/\text{I}_2$ 1mmol/1,63g/1,95g	térmica	60
<u>23a</u> / $\text{AcO}$ ) <sub>4</sub> $\text{Pb}/\text{I}_2$ 1mmol/0,91g/0,25g	térmica	60
<u>23a</u> / $\text{HgO}/\text{I}_2$ 1mmol/0,79g/0,54g	lumínica	50
<u>23a</u> / $\text{HgO}/\text{I}_2$ 1mmol/1,44g/2,17g	lumínica	100

del 6,19- $\delta$ xidoesteroide (24). Sin embargo al utilizar una relación Bromh./HgO/I<sub>2</sub> de 1 mmol/1,44g/2,17g y un tiempo de reacción de 0,5hs se obtuvo una conversión completa de la bromohidrina (23a) en el éter 6 $\beta$ ,19 (24) según se determinó por CLAR y por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. Los porcentajes de conversión obtenidos se resumen en la tabla 1.

Al realizar la reacción con HgO/I<sub>2</sub> según las condiciones seleccionadas sobre la 11-cetobromohidrina (37) esta resultó más reactiva obteniéndose un porcentaje de conversión en 50 similar al caso anterior, en sólo quince minutos.

Kirk y colaboradores informaron que la funcionalización del C-19 de 39 mediante la reacción con Pb(AcO)<sub>4</sub>/I<sub>2</sub>/luz era asistida por la presencia del grupo 11 $\beta$ -acetoxi, obteniéndose un rendimiento casi cuantitativo del éter 51 [54]. Los autores atribuye-



ron ésto, a la compresión estérica de la cara  $\beta$  por la presencia de los grupos metilos angulares y el grupo  $11\beta$ -acetoxi, que acortaría la distancia entre el metilo 19 y el grupo  $6\beta$ -hidroxi más de lo usual. Se favorecería así la sustracción del H del grupo metilo.

Sin embargo los resultados aquí obtenidos con el 11-cetoderivado, indicaron que el aumento de reactividad observado en el caso de la  $11\beta$ -acetoxibromohidrina (**39**) no podría atribuirse sólo a la compresión estérica de la cara  $\beta$  ya que la presencia del grupo 11-ceto no contribuiría en ese sentido a pesar de inducir un efecto similar. Para clarificar este punto se decidió determinar las conformaciones de mínima energía correspondientes a los compuestos en cuestión, por cálculos de mecánica molecular mediante el programa PCMODEL. Como se mencionó anteriormente, Kalvoda y col., determinaron que la formación de 6,19-óxidos es altamente dependiente de la rigidez del sistema y de la distancia entre el C-19 y el grupo  $6\beta$ -hidroxi para la cual propusieron un valor óptimo de 2,5-2,7 Å (basados en modelos Dreiding). Estudios previos realizados sobre dicha reacción de funcionalización mediante modelos moleculares utilizando el programa MACROMODEL indicaron que existe una buena correlación entre las distancias calculadas y los resultados experimentales [21].

En la tabla 2 se resumen los valores de las distancias entre el C-19 ( $\delta$ -CH) y el oxígeno del grupo  $6\beta$ -hidroxi para  $3\beta$ -acetoxi- $5\alpha$ -bromo- $6\beta$ -hidroxipregnan-20-ona (**23a**), y los correspondientes 11-ceto (**37**) y  $11\beta$ -acetoxi (**39**) derivados. Se consideró que las mismas podrían ser asimiladas a las distancias entre oxígeno e hidrógeno en el estado de transición de seis miembros [21]. En los

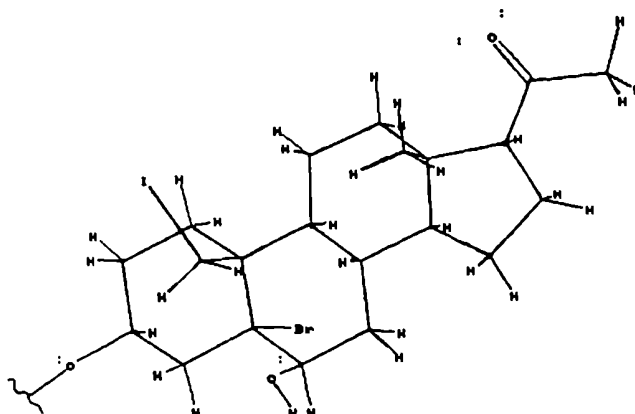
Tabla 2- Distancias C(19)-O(6) en los conformeros de mínima energía de 6 $\beta$ -hidroxiesteroides (programa PCMODEL).

Compuesto	distancia C-O (Å)
<u>23a</u>	2,95
<u>37</u>	2,95
<u>39</u>	2,49

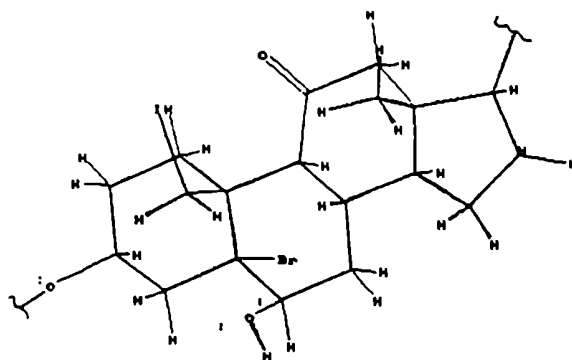
dos primeros, dichas distancias resultaron idénticas y superiores al valor óptimo medido por Kalvoda mediante modelos Dreiding. Es decir, que la diferencia de reactividad por introducción del grupo 11-ceto no podía atribuirse a una menor distancia entre el radical alcoxilo y el H en posición  $\delta$ . Por otra parte este resultado resaltaría importancia al valor de la distancia en cuestión cuando esta se reduce por debajo de ciertos límites.

Una segunda posibilidad era que una vez producida la sustracción de H, el grupo iodometileno del 19-iododerivado intermediario adoptara distintas conformaciones en los compuestos en cuestión, facilitándose en algún caso la subsiguiente reacción de sustitución nucleofílica intramolecular ( $SN_2'$ ). Las conformaciones de mínima energía de los derivados 19-iodo de los compuestos 23a, 37 y 39 (52, 53 y 54 respectivamente) se muestran en las figura 19. Como se puede observar en las tres situaciones el yodo (grupo saliente) y el oxígeno (grupo entrante) adoptan las posiciones adecuadas para un desplazamiento de tipo  $SN_2'$ . Por otra parte las

a)



b)



c)

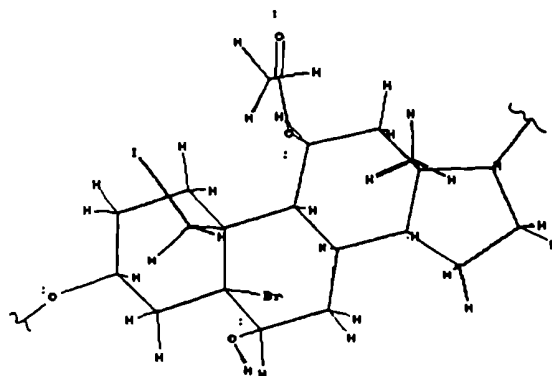


Figura 19- Conformaciones de mínima energía de 52 (a), 53 (b), y 54 (c).



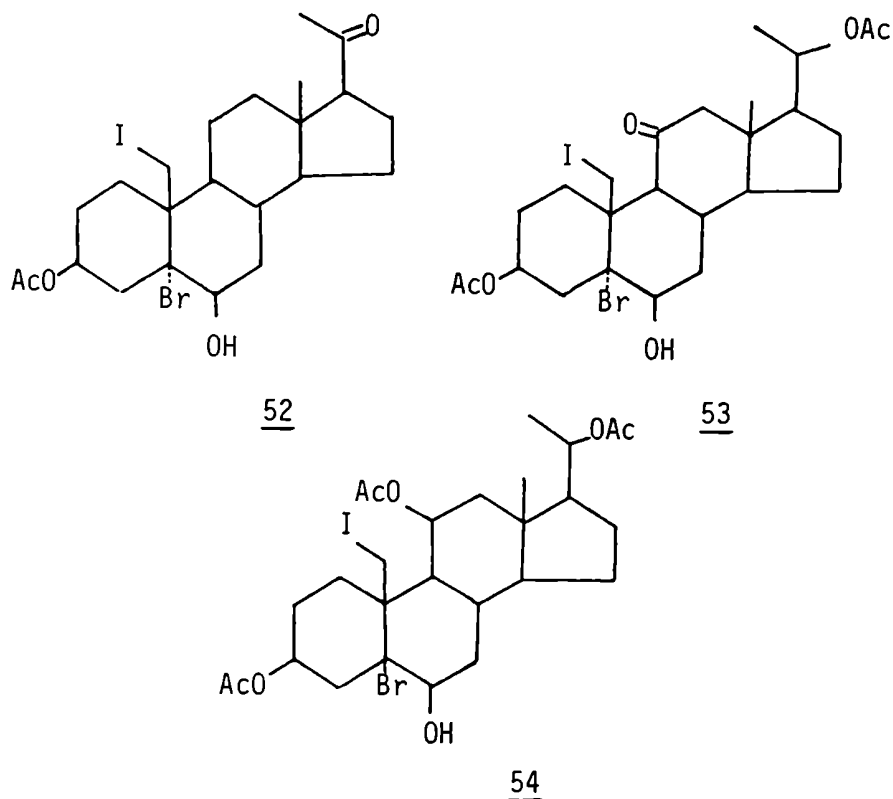


Tabla 3- Distancias C(19)-O(6) y ángulos I-C(19)-O(6) en los conformeros de mínima energía de 6 $\beta$ -hidroxi-19-iodo-esteroides (programa PCMODEL).

Compuesto	distancia C-O (Å)	ángulo I-C-O (°)
<u>52</u>	2,86	154,74
<u>53</u>	2,92	149,66
<u>54</u>	2,82	154,21

distancias entre el grupo iodometileno y el oxígeno son muy parecidas (tabla 3). En consecuencia, la diferencia de reactividad tampoco podría atribuirse a este factor.

Finalmente se analizó si existían diferencias en los estados de transición de la ciclación intramolecular, considerando que el grupo 11-ceto podría producir una distorsión conformacional que disminuyera su energía estabilizándolo. Para los cálculos se eligió la situación en que los órdenes de enlace de las uniones C(19)-I y C(19)-O(6 $\beta$ ) eran iguales (que correspondería al máximo de la curva de energía para la reacción) partiendo de la conformación de mínima energía del 19-iodo derivado correspondiente. La unión C(19)-O(6 $\beta$ ) se realizó a través de uno de los pares electrónicos del oxígeno como puede verse en la figura 20.

En el caso de 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxi-19-iodopregnan-20-ona (52) la energía ( $E_1$ ) asociada al conformero más estable por cálculos mediante mecánica molecular fue de 56,72 Kcal/mol; la energía asociada ( $E_2$ ) al estado de transición de  $SN_2'$  correspondiente al mismo compuesto fue de 66,12 Kcal/mol indicando una energía de activación de 9,4 Kcal/mol. Al realizar el mismo cálculo para el compuesto con el grupo 11-ceto (53) la barrera energética fue de 10,63 Kcal/mol, mientras que para el 11 $\beta$ -acetoxi derivado (54) se obtuvo un valor de 9,20 Kcal/mol.

De los valores calculados se desprende que no existe una diferencia sustancial entre las barreras energéticas en los casos considerados, con lo cual el grupo 11-ceto no produciría una estabilización del estado de transición que justifique las diferencias de reactividad observadas. Sin embargo debe considerarse que los cálculos de mecánica molecular no tienen en cuenta fenómenos de estabilización por superposición de orbitales (del tipo de los efectos estereoelectrónicos) con lo cual podría inferirse que el origen de la

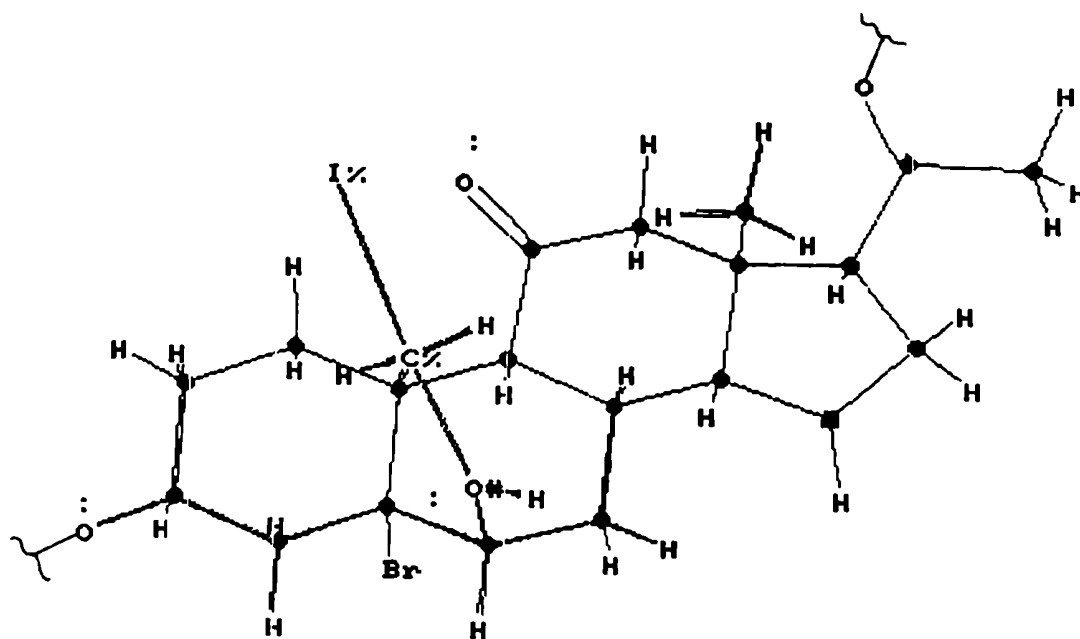
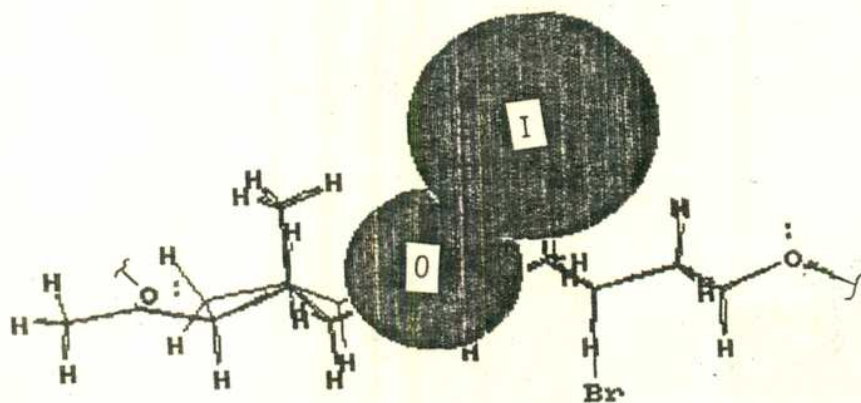


Figura 20- Conformación del estado de transición de la ciclación intramolecular de 53

diferencia de reactividad observada podría encontrarse en algún factor de este tipo. Como una aproximación a este punto se calcularon las esferas de Van der Waals para el oxígeno del sustituyente en posición 11 y el yodo en los compuestos 53 y 54. Observándose en ambos casos que la distancia entre dichos sustituyentes era

a)



b)

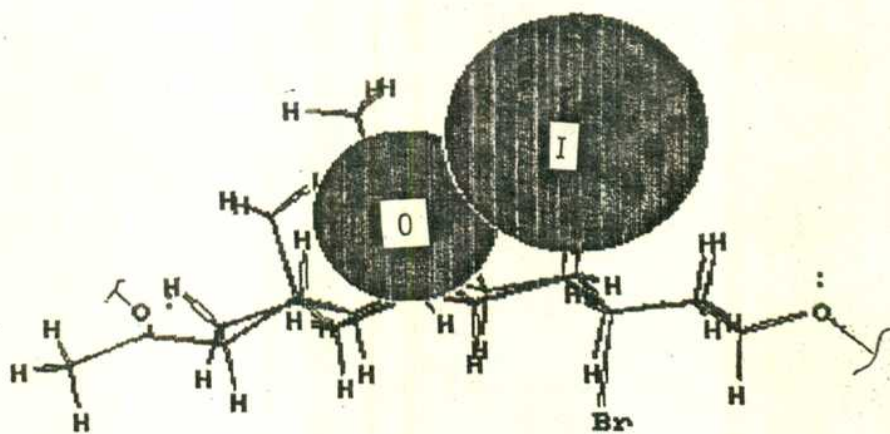
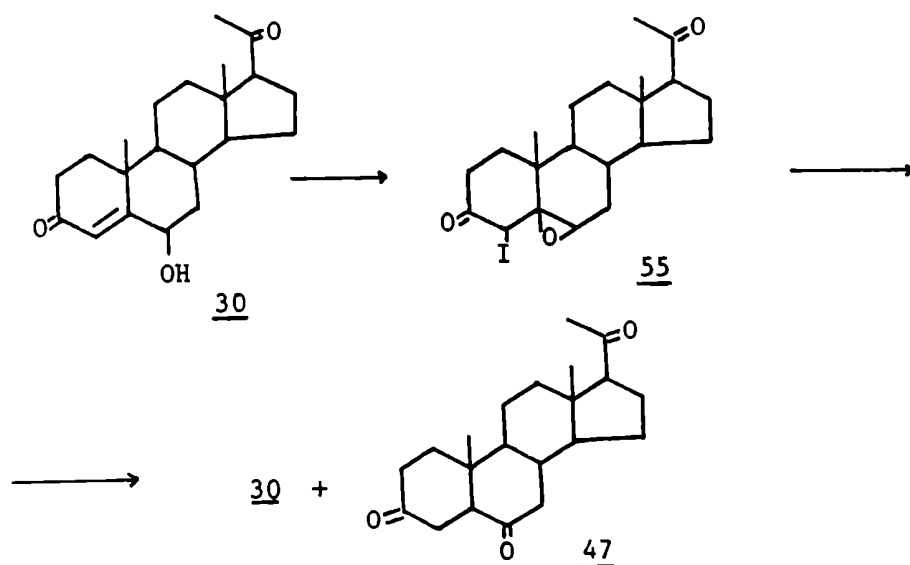


Figura 21- Esferas de Van der Waals para el yodo y el oxígeno del sustituyente en posición 11 para 53 (a) y 54 (b). Distancias O(11)-I, 53: 3,24Å, 54: 3,26Å; radios de Van der Waals, I: 2,15Å, O: 1,40Å.

menor que la suma de sus radios de Van der Waals. En la figura 21 se observa una superposición neta de las esferas de Van der Waals de los sustituyentes. Estos resultados apoyarían la intervención de un factor de estabilización en la reacción de ciclación del tipo antes mencionado que favorecería la reacción global en el caso de las bromohidrinas 39 y 37. Debe tenerse en cuenta finalmente que la inestabilidad de los 19-iodo derivados intermediarios en las condiciones de reacción, puede afectar negativamente el rendimiento si estos no sufren la reacción de ciclación intramolecular rápidamente.

### III.2. 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona

Cuando se realizó la reacción con HgO/I<sub>2</sub> en CCl<sub>4</sub> a temperatura ambiente bajo condiciones fotolíticas sobre 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (30) se obtuvo un único producto identificado como 4 $\alpha$ -iodo-5 $\beta$ ,6 $\beta$ - $\delta$ xidopregnano-3,20-diona (55), el cual en solución de



cloroformo desprendía iodo dando una mezcla del compuesto de partida y pregnano-3,6,20-triona (47).

La estructura de 55 fue determinada a partir de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$  desacoplado de  $^1\text{H}$  (apéndice, pág 205) (figura 22). Las asignaciones fueron confirmadas según su fase relativa en el espectro APT y por experimentos de desacople heteronuclear selectivos. De este modo en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto 55 se observó además de los singuletes para ambos metilos angulares (C-18 a 0,60 ppm y C-19 a 0,90 ppm) y para  $\text{CH}_3$ -21 (2,12 ppm), un doblete correspondiente a un  $^1\text{H}$  a 3,21 ppm ( $J=1,5$  Hz), el cual podía atribuirse al  $6\alpha$ -H de un  $5\beta,6\beta$  epóxido y un singulete a 4,23 ppm correspondiente al H-4. La estereoquímica del C-4 fue tentativamente asignada como  $4\alpha$ -iodo considerando los requerimientos estéricos del átomo de iodo y el desplazamiento químico del H-4.

El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  indicó la presencia de carbonilos en C-3 y C-20 a 216,7 y 208,7 ppm respectivamente y la ausencia de carbonos olefínicos, además de las señales correspondientes a los carbonos del  $\beta$ -epóxido (63,5 y 64,7 ppm). La señal correspondiente a un metino a 32,9 ppm fue asignada al C-4 por desacoplamiento selectivo. El espectro de masas del compuesto 55 presentó un ion molecular a  $m/z$  456 y un ion intenso correspondiente a la pérdida de iodo ( $m/z$  329).

La formación de 55 puede explicarse considerando que la distancia C(19)-O(6 $\beta$ ) en  $6\beta$ -hidroxiprogesterona es de 3,12Å según cálculos de mecánica molecular lo cual dificultaría la sustracción de un H del C-19 por parte del radical alcoxilo formado inicialmente.

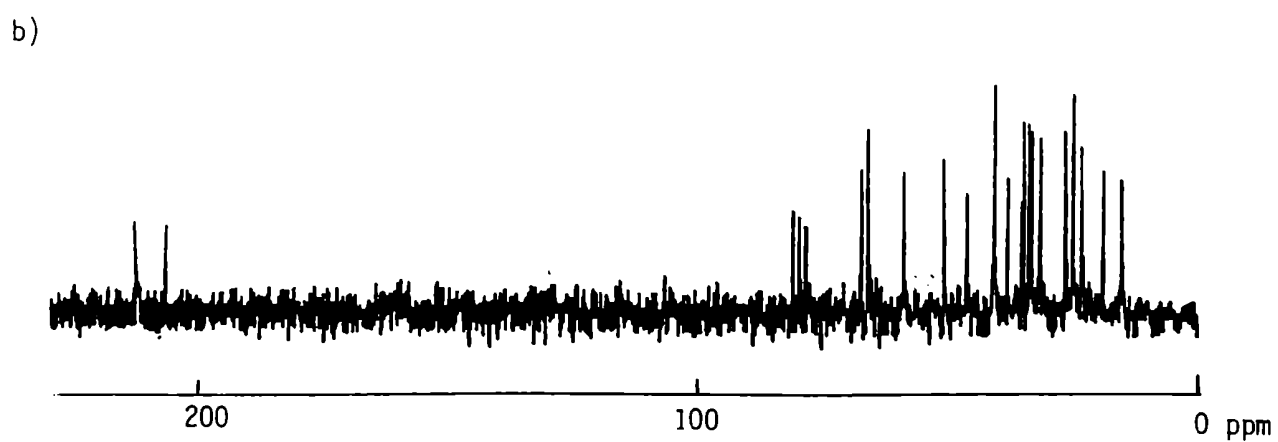
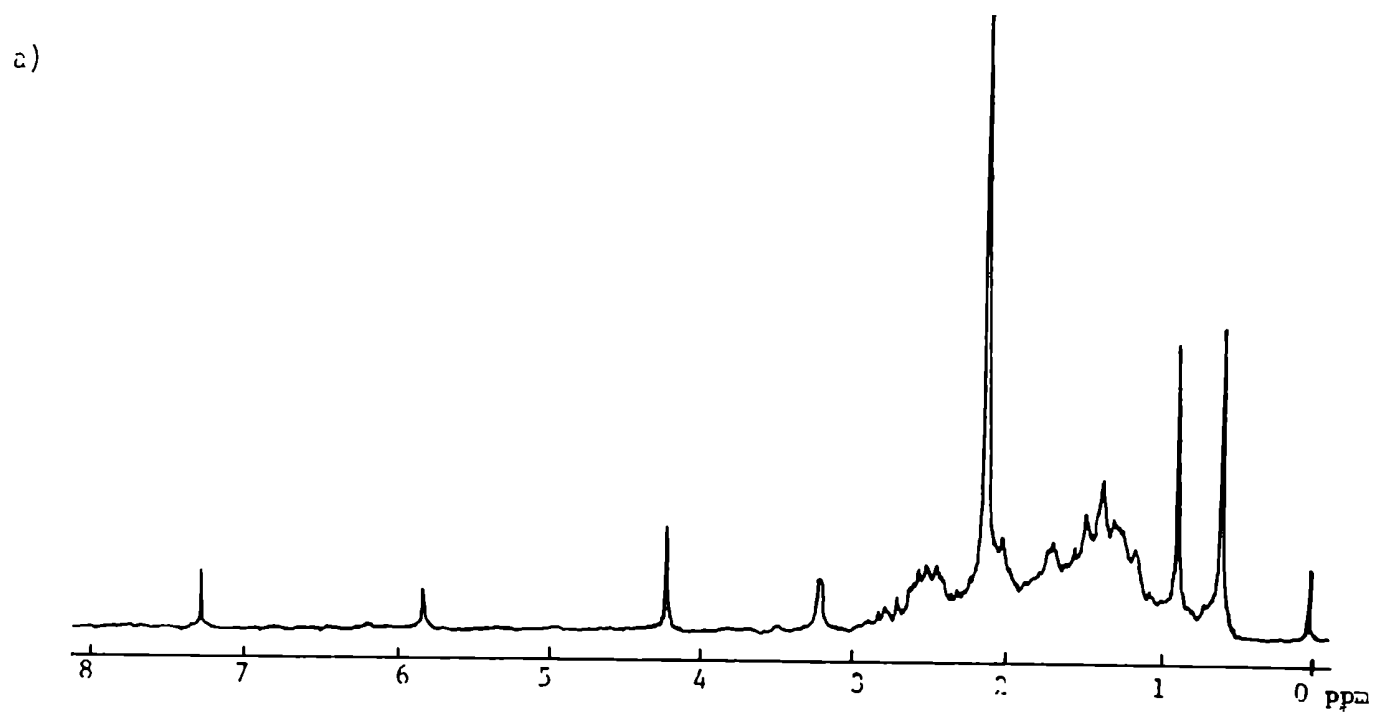


Figura 22- Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (a) y  $^{13}\text{C}$  (b) de 55

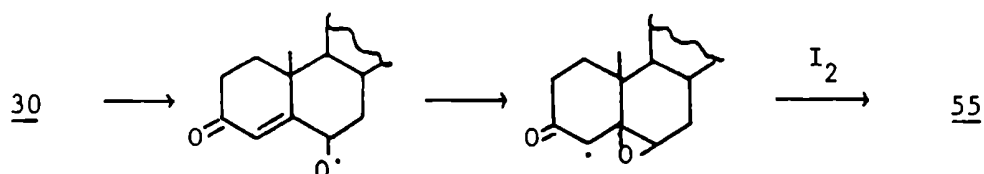
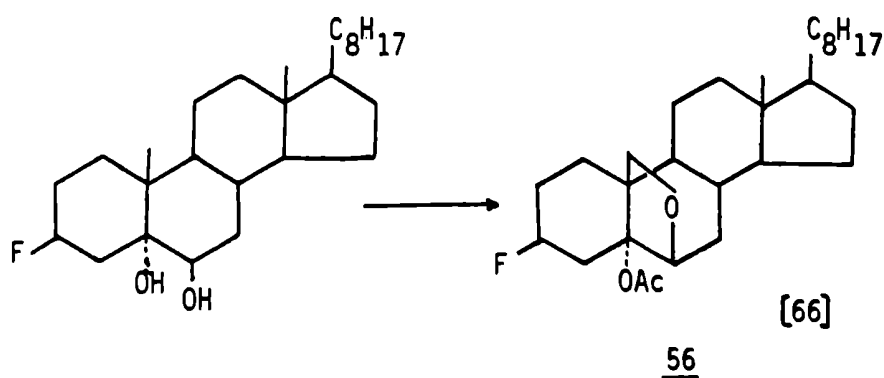


Figura 23- Formación de 55

te. Por otra parte, la proximidad del doble enlace en posición 4,5 permitiría un camino de reacción como el indicado en la figura 23; el radical carbono resultante en C-4 sería finalmente atrapado por un átomo de iodo rindiendo el compuesto 55.

### III.3. 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnan-20-ona

Como se mencionó en el capítulo 2 los alcoxiradicales derivados de 5-hidroxiesteroides sufren reacciones de  $\beta$ -fragmentación que involucran escisión del enlace C(5)-C(10) dando lugar a 5,10-seco-5-cetoesteroides. Sin embargo, los datos sobre el curso de la reac-

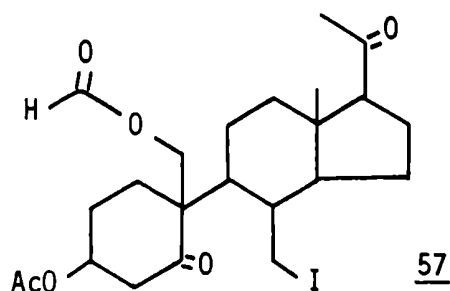




ción de hipioditos de  $5\alpha,6\beta$ -dioles están limitados a la oxidación con  $Pb(AcO)_4$  donde se obtuvo el  $5\alpha$ -acetoxi- $6,19$ -oxidoesteroide (56) junto con productos de fragmentación no identificados [66].

Cuando se llevó a cabo la reacción de  $3\beta$ -acetoxi- $5\alpha,6\beta$ -dihidroxi-pregnan-20-ona (34) con  $HgO/I_2$ , en iguales condiciones que para el  $5\alpha$ -bromo- $6\beta$ -hidroxi derivado 23a pero extendiendo el tiempo de reacción a 3 horas se obtuvo el secoesteroide  $3\beta$ -acetoxi- $7$ -iodo- $19$ -formiloxi- $5,7$ -seco- $6$ -norpregnano- $5,20$ -diona (57) con un rendimiento del 87%. Dicho compuesto resultó ser estable en estado sólido y protegido de la luz pero en solución liberaba yodo dando lugar a una mezcla compleja que no fue posteriormente analizada.

La estructura de 57 se estableció por RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  desacoplado de  $^1H$  (figura 24). Las asignaciones fueron confirmadas por experimentos de desacople heteronuclear selectivo. El espectro de RMN  $^1H$  indicó la presencia de un sólo metilo angular a 0,71 ppm que se asignó al metilo 18. Se observó un cuarteto AB en 4,32 y 4,54 ppm ( $J_{gem}=12$  Hz) correspondiente a los hidrógenos no equivalentes de un grupo metileno, el cual fue asignado a los H-19. Esta asignación se complementaba con la aparición a campos bajos (8,12 ppm) de una señal para un hidrógeno, atribuida a un formiato por lo



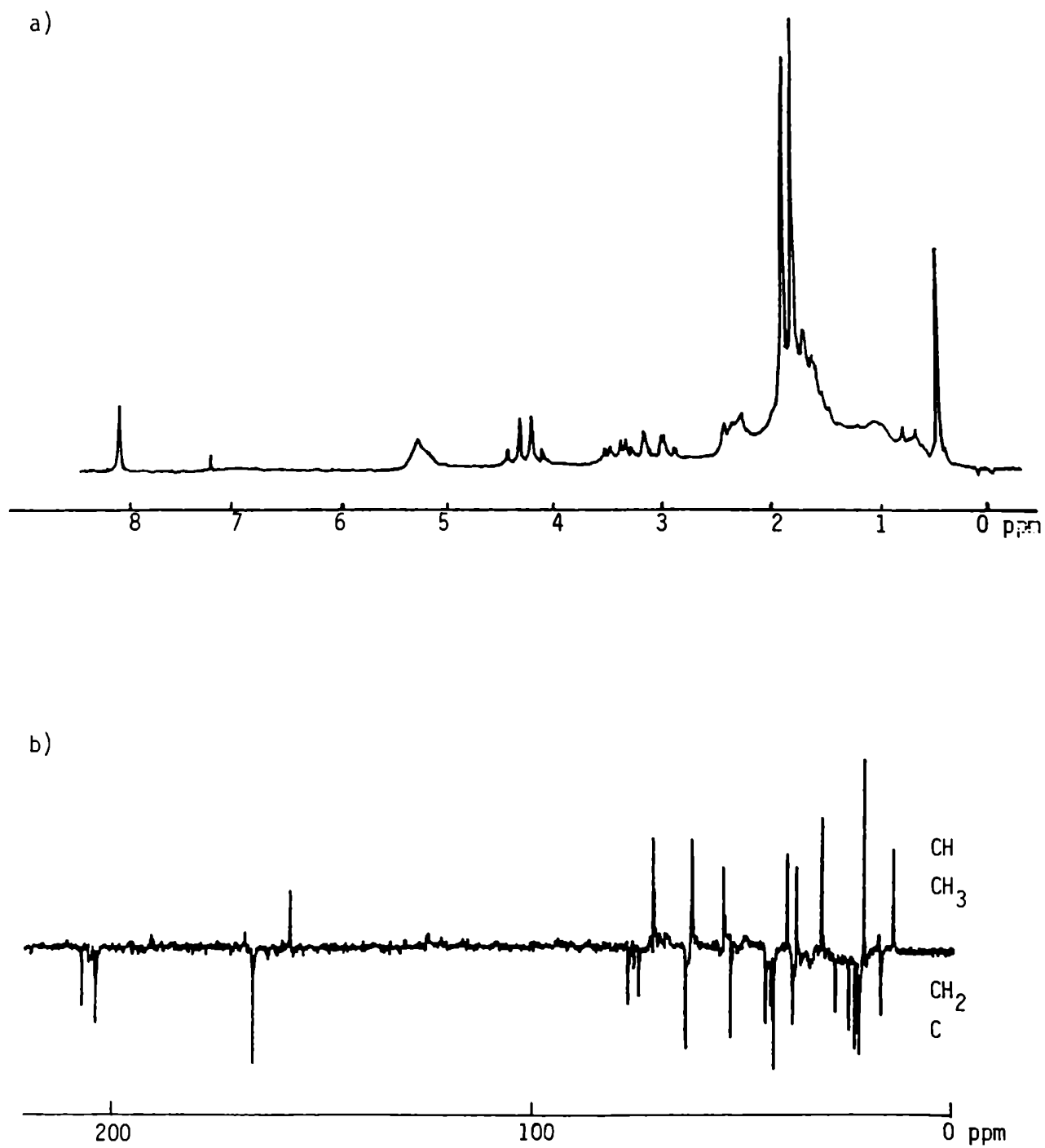


Figura 24- Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (a) y  $^{13}\text{C}$  (APT) (b) de 57

que el C-19 se consideró sustituido por un grupo formiloxi. El  $H_{\alpha}$ -C(3) se observó como un multiplete sin resolver a 5,42 ppm y el doble doblete a 3,63 ppm ( $J_{gem}=15$  Hz;  $J_{3\alpha,4\alpha}=4,5$  Hz) fue asignado al  $H_{\alpha}$ -C(4). En función de estos resultados la señal para  $H_{\beta}$ -C(4) se esperaba alrededor de 2,1 ppm superpuesta con otras resonancias. Finalmente los dos dobles dobletes a 3,15 y 3,42 ppm ( $J_{gem}=12$  Hz) indicaron la presencia de otro grupo metileno sustituido que fue asignado al C-7, en concordancia con los datos obtenidos del espectro de  $^{13}C$ .

El espectro de RMN  $^{13}C$  mostró la presencia de sólo tres grupos metilos (C-18, C-21 y acetato) y un grupo metileno fuertemente protegido a 17,0 ppm el cual fue asignado al C-7 unido al iodo. Los carbonos carbonílicos por encima de 160 ppm se asignaron a las cetonas de C-5 y C-20 (211,8 ppm y 208,5 ppm) y a los grupos acetiloxi y formiloxi (169,7 ppm y 160,5 ppm), en concordancia a lo observado en el espectro de RMN  $^1H$ . Las asignaciones para los carbonos 3, 4, 7, 18, 19 y 21 fueron confirmadas por experimentos de desacople

Tabla 4- Correlación C-H por irradiación selectiva de 57.

Irradiación $\delta$ $^1H$ (ppm)	C afectado $\delta$ $^{13}C$ (ppm)	Asignación
3,18	16,95	CH <sub>2</sub> -7
2,9*	44,98	CH <sub>2</sub> -4
2,10	31,20	CH <sub>3</sub> -21
5,02	72,37	CH-3

\* H-4 $\alpha$  3,6 ppm; H-4 $\beta$  2,14 ppm.

de  $^1\text{H}$  selectivo, observándose un singulete en RMN  $^{13}\text{C}$  para el carbono unido directamente al protón irradiado (Tabla 4).

Finalmente, el espectro de masa del compuesto 57 no presentó ion molecular pero presentó iones a  $m/z$  345 ( $\text{M}-\text{I}-\text{AcOH}$ ); 299 ( $345-\text{HCO}_2\text{H}$ ) y 191 ( $\text{M}-\text{I}-\text{anillo A}-\text{H}$ ).

Considerando lo analizado en el capítulo 2 sobre las transformaciones fotoinducidas con  $\text{HgO}/\text{I}_2$  sobre derivados esteroidales, la formación del compuesto 57 a partir del diol puede explicarse según el mecanismo de la figura 25. El  $5\alpha$ -hidroxi-6,19-óxidoesteroide formado inicialmente reaccionaría posteriormente dando lugar al radical 5-oxi seguido de ruptura del enlace 5,6. El radical carbono formado puede ser oxidado posteriormente por el sistema  $\text{HgO}/\text{I}_2$  con ruptura del enlace 6,7 y formación de un radical metileno el cual finalmente sería atrapado por el iodo. El C(6) del anillo

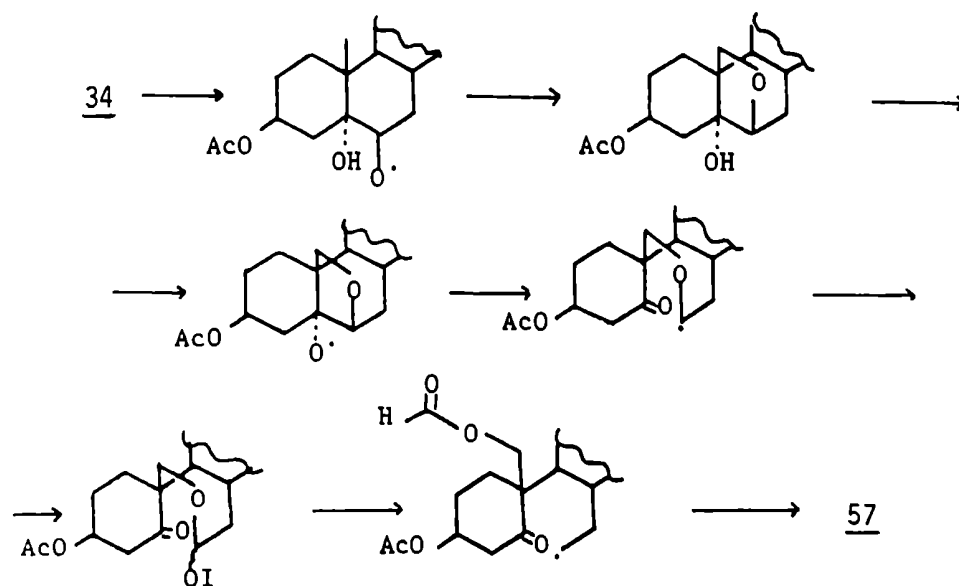


Figura 25- Formación de 57

esteroidal daría lugar entonces, al grupo formiloxi unido al C(19).

Los cálculos de mecánica molecular realizados sobre el diol **34** indicaron que en el confórmero de mínima energía la distancia C(19)-O(6 $\beta$ ) es de 3,0Å. El mayor tiempo de reacción necesario para el diol **34** respecto de la bromohidrina **23a** puede atribuirse a que el diol presenta la distancia límite para que la reacción de ciclación sea propicia. El desarrollo subsiguiente de la reacción está influenciado por la presencia de un grupo lábil en la molécula (5 $\alpha$ -hidroxi) que en el medio de reacción es susceptible de ser oxidado. El radical oxi formado en posición 5 $\alpha$  reaccionaría como es de esperar (capítulo 2) según una vía de  $\beta$ -fragmentación.

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis permitieron evaluar la reactividad de 6 $\beta$ -hidroxiesteroides frente a un oxidante suave como HgO/I<sub>2</sub> en presencia de luz en términos de la funcionalidad presente en el C(5). Por otra parte el secoesteroide **57** obtenido por la reacción sobre 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxi-3 $\beta$ -acetoxipregnan-20-ona (**34**) con un rendimiento de 87% fue visualizado como un importante sintón de 6-oxaesteroides. Los estudios realizados a ese fin se describen en el capítulo 4.

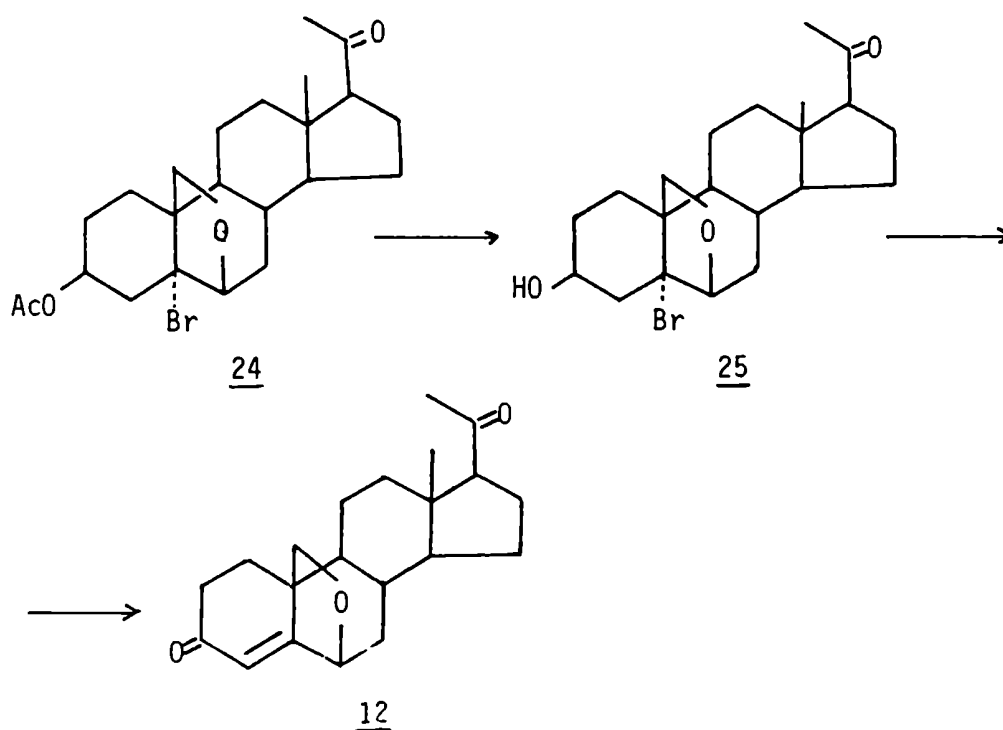
#### III.4. Conclusiones

Como consecuencia de los resultados obtenidos al tratar 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxi-pregnan-20-ona (**34**) y 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (**30**) con HgO/I<sub>2</sub>, se decidió realizar la síntesis de 6,19-óxido-progesterona (**12**) a partir de la bromohidrina **23a** y la de 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (**13**) y 11,19-óxidoprogesterona (**14**) a partir de la correspondiente 11-cetobromohidrina **37**.

#### IV. SINTESIS DE 6,19-OXIDOPROGESTERONA (12) Y 6,19-OXIDO-11-CETO-PROGESTERONA (13)

Como se mencionó en la página 40 ambas síntesis se realizaron según caminos similares, utilizando los resultados obtenidos con el 11-desoxiderivado (12) como modelo para la síntesis de 13.

El tratamiento de 24 (pág 61) con NaOH 10% (15 minutos, N<sub>2</sub>) dió el 3β-hidroxiderivado (25) con buenos rendimientos [53]. La conversión de 25 en 12 se realizó utilizando CrO<sub>3</sub>/AcOH [37] produciéndose la oxidación del 3β-hidroxiderivado a 3-ceto y la eliminación de ácido bromhídrico para dar directamente 6,19-óxido-progesterona (12) con un rendimiento de 39,4% respecto de acetato de pregnenolona (22). En las condiciones de reacción utilizadas el éter 6,19 resultó inalterado. En la figura 26 se muestra el espectro de RMN <sup>13</sup>C de 12.



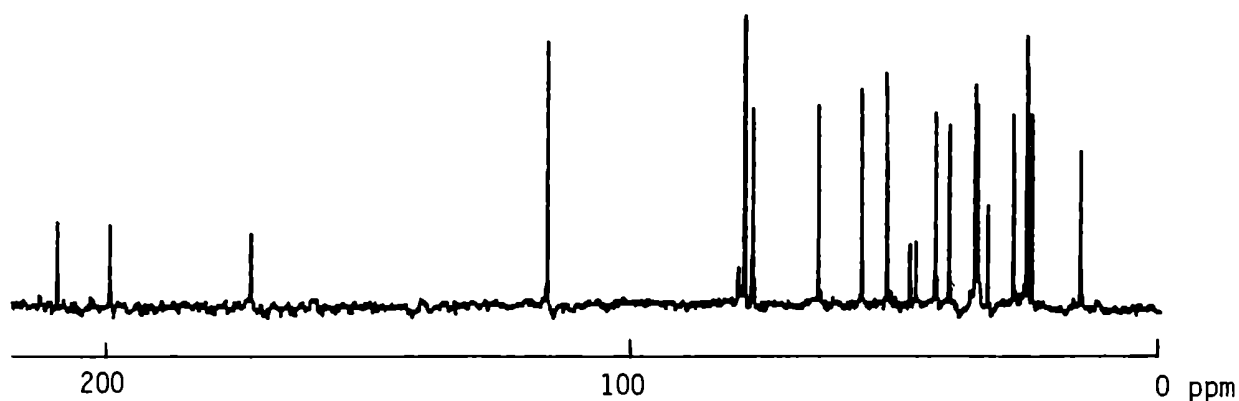
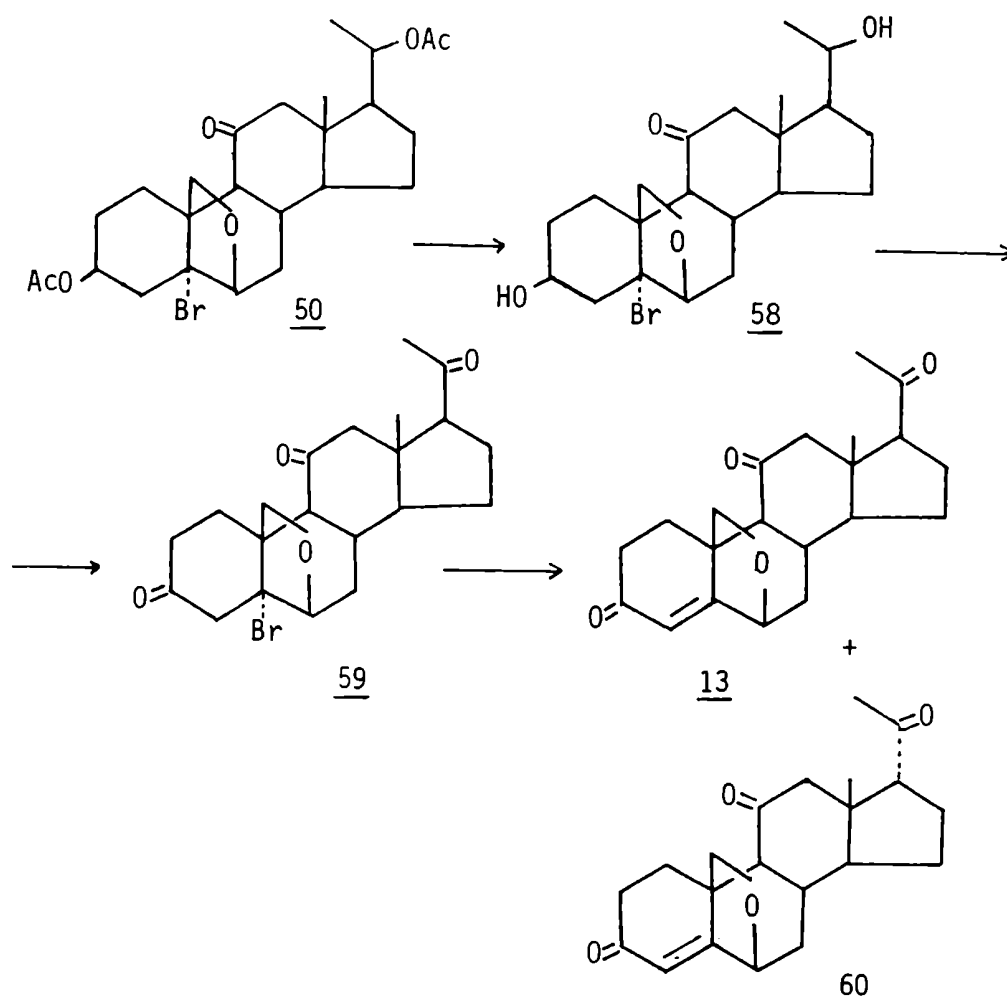


Figura 26- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 6,19-oxidoprogesterona  
(12).

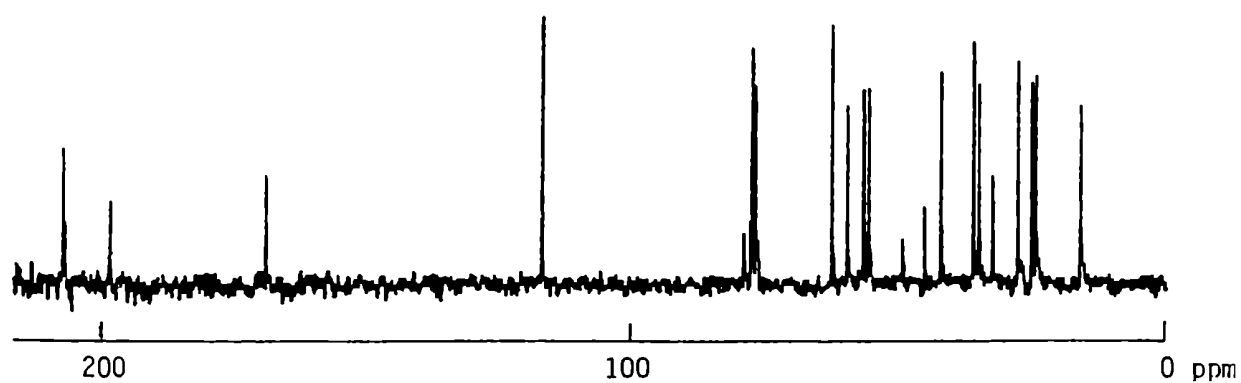
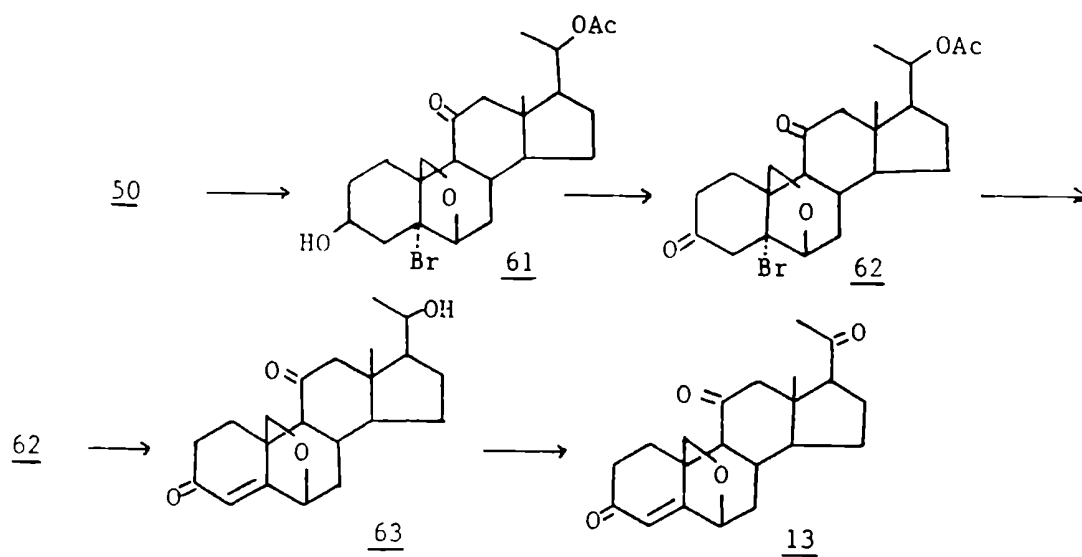
Los resultados obtenidos al intentar reproducir el esquema sintético sobre 50 (pág 61) fueron ligeramente diferentes. Se observó que si bien la desacetilación de la posición 3 en medio de NaOH metanólico ocurría rápidamente la misma reacción en posición 20 requería alrededor de 36 hs para completarse, formándose 58. Por otro lado al realizar la oxidación con  $\text{CrO}_3/\text{AcOH}$  no se produjo conjuntamente la deshidrohalogenación, como en el caso anterior, obteniéndose la cetona 59. Cuando ésta última se trató con NaOH/Metanol, se obtuvo una mezcla del  $\Delta^4$ -3-cetoesteroide buscado (13) y el



producto de isomerización en C-17 **60** según pudo determinarse por RMN  $^1\text{H}$ .

Con el propósito de evitar la inversión de la cadena lateral, se desacetiló selectivamente **50** al 3 $\beta$ -hidroxiderivado **61**, el cual por oxidación con Jones dió lugar a **62**. El tratamiento posterior con NaOH produjo en el mismo paso la deshidrohalogenación y la desacetilación obteniéndose **63**, el cual por oxidación con reactivo de Jones produjo la 6,19-dioxo-11-cetoprogesterona (**13**) con un rendimiento global del 32% respecto a 11-cetoprogesterona. En la figura 27 se muestra el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de **13**.





## V. SINTESIS DE 11,19-OXIDOPROGESTERONA (14)

Como se indicó en la figura 15 (pág 39), la síntesis de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (14) podía realizarse por dos rutas equivalentes a partir de un 6,19- $\delta$ xido-11-cetopregnano como 50. Por otra parte, según el esquema ya utilizado por Kalvoda, la 6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona (13) sintetizada previamente también resultaba un posible precursor de 14 aunque con rendimientos pobres [41,65]. En la figura 28 se resumen estas posibilidades.

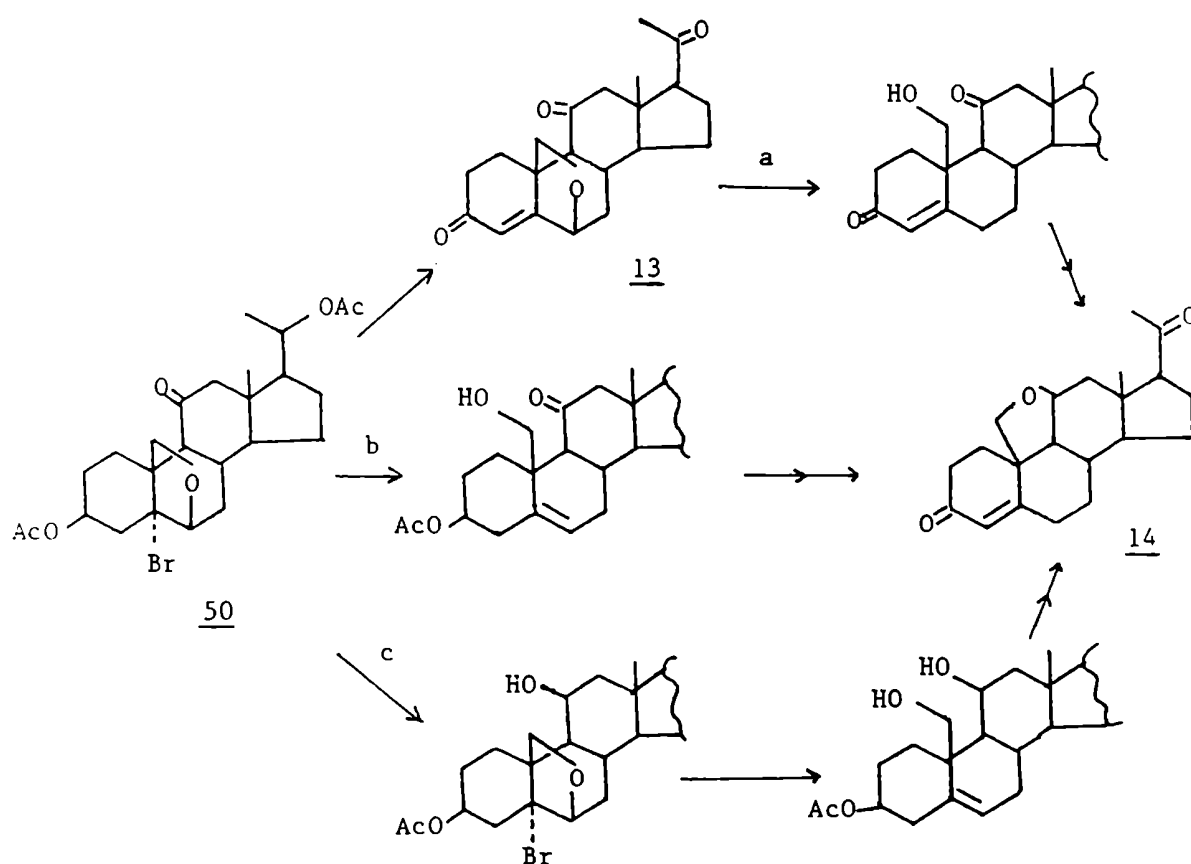
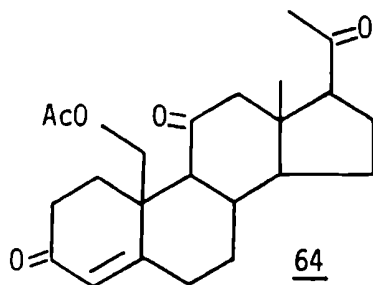
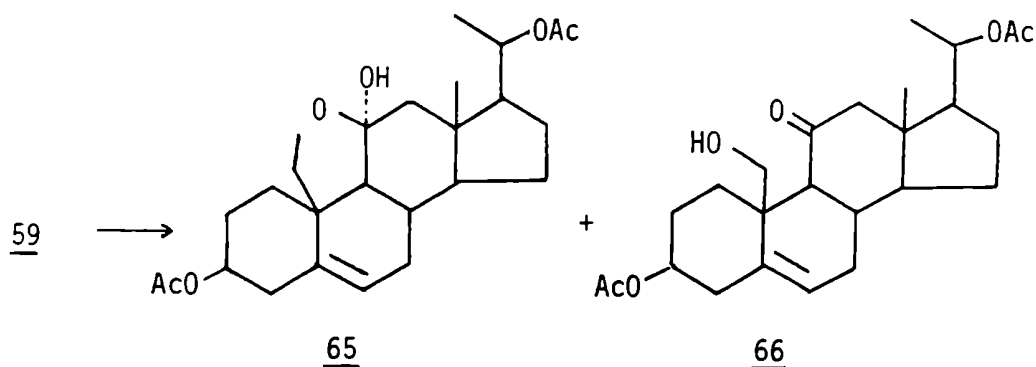


Figura 28- Posibles caminos sintéticos para la obtención de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (14)



Dado que se disponía de 13, se decidió estudiar la apertura del anillo 6,19-óxido en este compuesto (figura 28, camino a). La eficiencia de la apertura reductiva es mayor con el sistema Zn/AcOH/H<sub>2</sub>O [23] por lo cual se ensayaron distintas temperaturas y tiempos de reacción. El sistema  $\Delta^4$ -6,19-óxido resultó ser bastante difícil de alterar obteniéndose luego de 5 horas de reacción bajo reflujo el compuesto 19-acetilado 64 con bajo rendimiento.

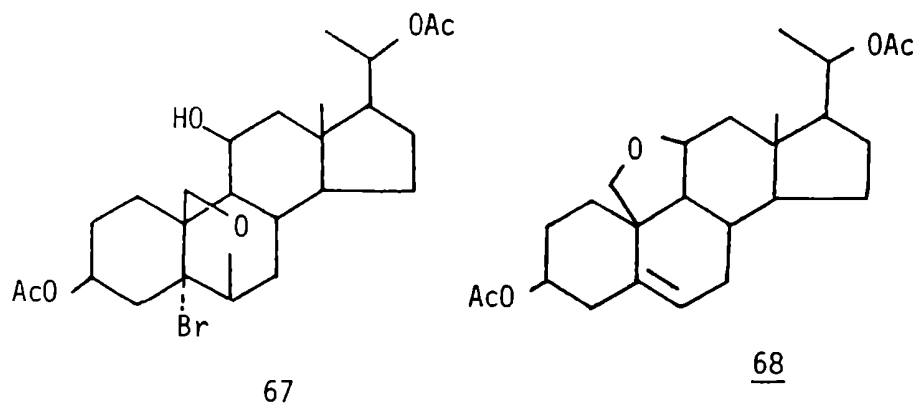
Paralelamente, se ensayó la apertura reductiva del bromoéter 50 (figura 28, camino b). Kirk y col obtuvieron buenos resultados [38] al realizar la apertura del anillo 6,19-óxido directamente sobre el 11-desoxi análogo de 50 (24). En el presente trabajo, la apertura reductiva con Zn/AcOH/H<sub>2</sub>O realizada sobre 50 no dio resultados del todo satisfactorios por lo que se modificaron las condiciones de reacción utilizando Zn activado y trazas de I<sub>2</sub>, de modo que en el medio de reacción se formara ZnI<sub>2</sub> que favorecería la apertura del éter. En este último caso el resultado fue totalmente exitoso, obteniéndose una mezcla del hemiacetal cíclico 65 y la 19-hidroxicetona 66 (7:3), según pudo establecerse por RMN-<sup>13</sup>C (65, C-11 a  $\delta$  107,5 ppm; 66, C-11 a  $\delta$  208,3 ppm). En síntesis



previas de compuestos relacionados se encontró que este tipo de hidroxicetonas puede existir en la forma cíclica o abierta [68].

Por otra parte 50 se redujo al 11 $\beta$ -hidroxiderivado 67 con  $\text{CNBH}_3\text{Na}$ /metanol no lográndose la apertura del éter 6,19 en este caso en las condiciones usadas más arriba. Considerando los buenos resultados obtenidos en la apertura de 50 a 65, esta ruta (camino c) fue descartada.

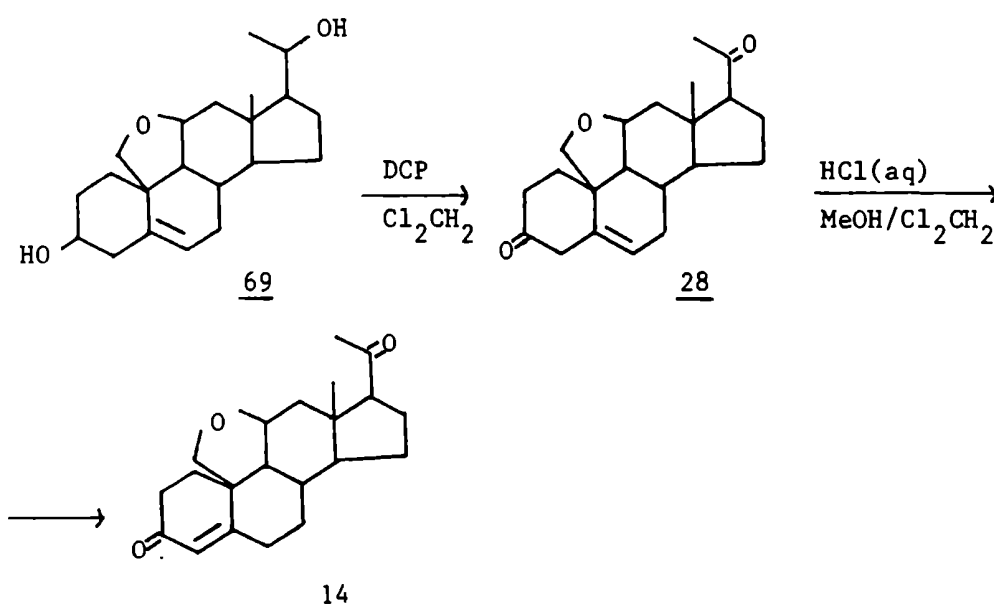
A continuación se decidió ensayar la reducción directa del hemiacetal cíclico 65 al 11 $\beta$ ,19-óxido correspondiente. Dicha transformación (un hemiacetal en su correspondiente éter) podía llevarse a cabo con trietilsilano [69] pero además de las dificultades inherentes al uso de este reactivo y su peligrosidad existía el inconveniente que la proporción de hidroxicetona 66 presente daría lugar a un 11,19-diol como producto secundario. Por otra parte el  $\text{NaCNBH}_3$  había sido utilizado para la reducción de dimetilcetales a éteres en medio  $\text{ClH}$ /metanol [70]. Este reactivo ofrecía varias ventajas como ser la facilidad de manipuleo, y el hecho que el



consumo del reactivo (es decir el grado de avance de la reacción) podía seguirse por el viraje de un indicador apropiado (naranja de metilo) debido a que la reacción se lleva a cabo a pH 3 y en el transcurso de la misma se consumen protones. Además el hecho que la reacción ocurría en medio ácido, favorecería la forma hemiacetal 65 o tal vez el metilcetal correspondiente que se formaría por reacción de 65 con metanol. El tratamiento de 65 (conteniendo un 30% de 66) con  $\text{NaCNBH}_3$  en metanol a pH 2-3 dió lugar al éter 68 con excelente rendimiento.

El siguiente paso consistió en la hidrólisis de los acetatos de C-3 y de C-20. Debido a la reactividad diferente de ambos frente a NaOH metanólico y los rendimientos pobres que se obtenían con este reactivo, se decidió ensayar métodos alternativos de desacetilación. El uso de  $\text{MeONa/MeOH}$  y de  $\text{MeOH/H}_2\text{O/NEt}_3$  [71] dió resultados comparables a los anteriores debiéndose recurrir a la reducción de los acetatos con  $\text{AlLiH}_4$ . En este último caso se obtuvo con buen rendimiento el diol 69 resultando la reacción eficaz, rápida y limpia.

Para obtener la  $\Delta^4$ -3,20-diona a partir de 69 se ensayó la oxidación con  $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{acetona}$ ,  $\text{CrO}_3/\text{AcOH}$  y dicromato de piridonio/trifluoroacetato de piridonio/ $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  [72]. Los mejores resultados se obtuvieron con el último sistema aunque no fueron del todo satisfactorios, observándose que los oxidantes en medio ácido producían la ruptura y oxidación del éter 11,19. En consecuencia se decidió utilizar un oxidante suave como el dicromato de piridonio en  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  en presencia de tamices moleculares de 3Å (24 hs, bajo  $\text{N}_2$ ) obteniéndose 28 con buen rendimiento. La isomerización del doble enlace 5,6 se llevó a cabo en fase heterogénea con catálisis ácida, por tratamiento de una solución de 28 en  $\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{MeOH}$  con  $\text{HCl}$  (dil) durante una noche [47], obteniéndose cuantitativamente 14. El rendimiento global luego de purificar por CLAR fue de 30% a partir de 11-cetoprogesterona. En la figura 29 se muestra el espectro de  $\text{RMN-}^{13}\text{C}$  de 14 y en la figura 30 se resume la secuencia sintética desarrollada para la obtención de 13 y 14.



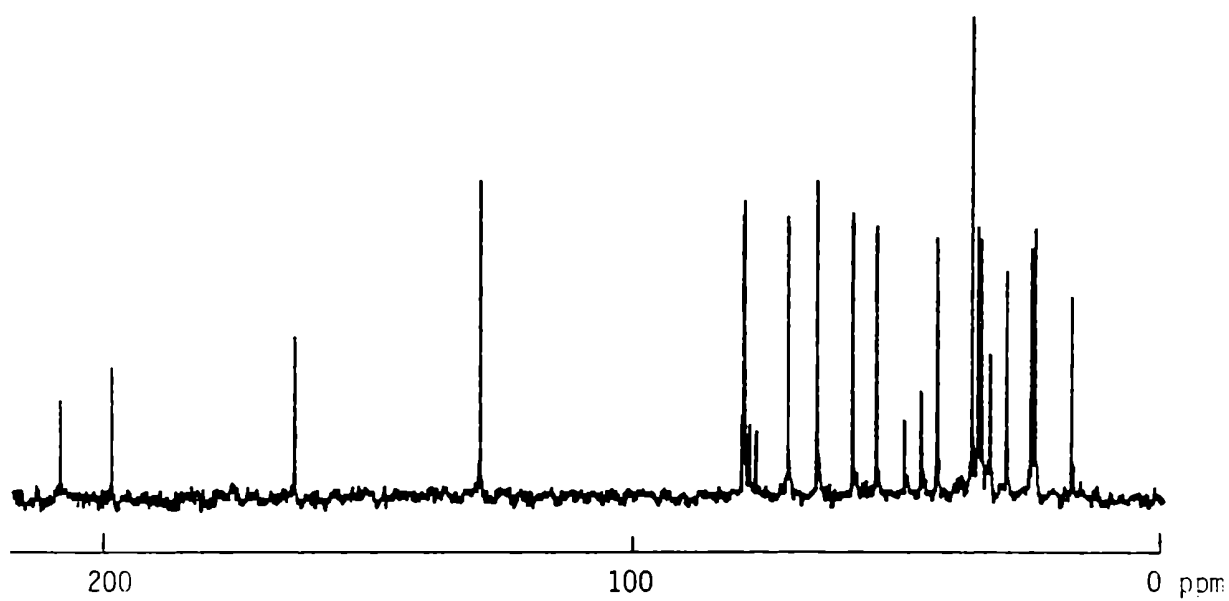


Figura 29- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 11,19-óxidoprogesterona  
(14).

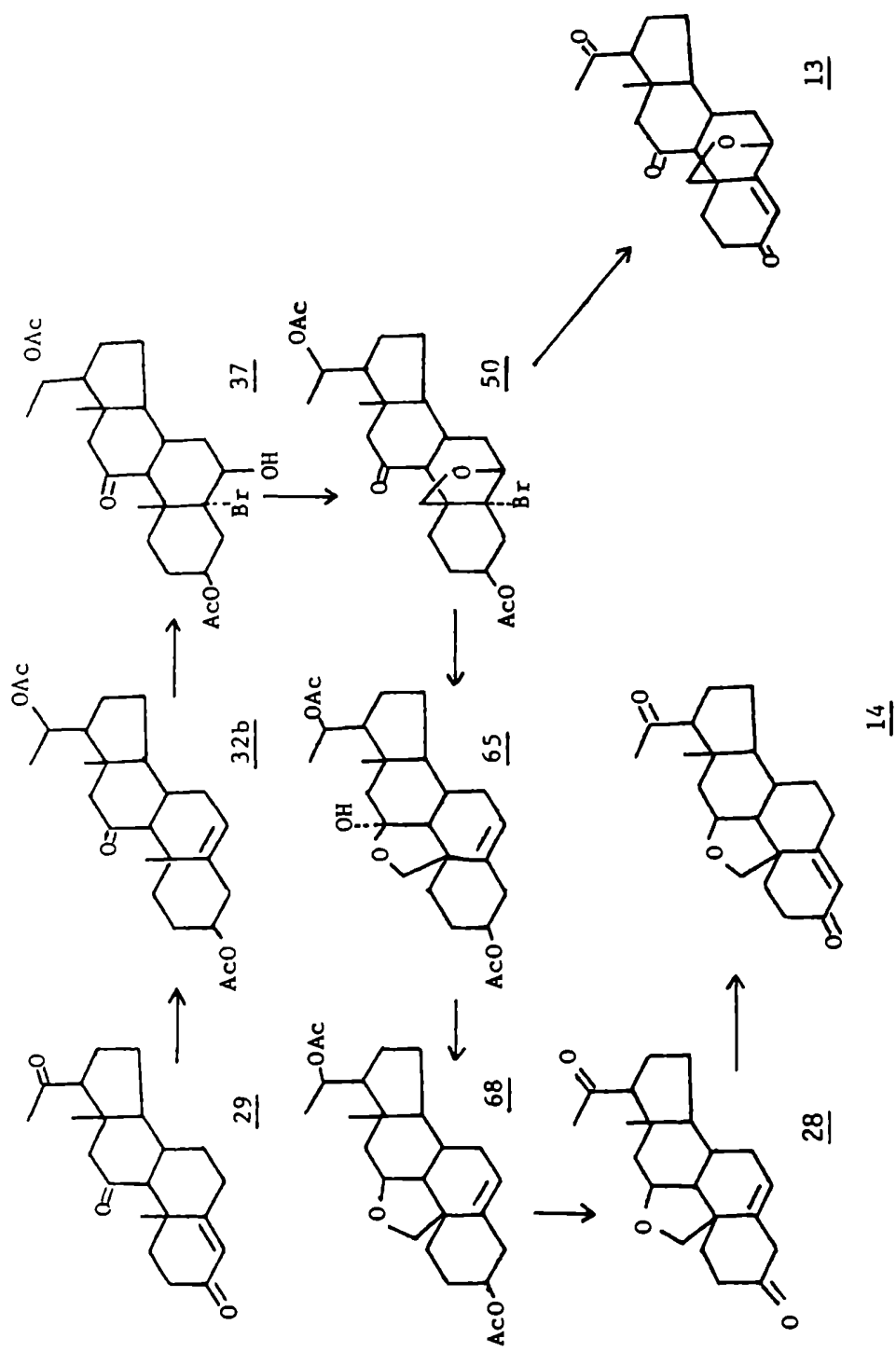


Figura 30- Secuencia sintética desarrollada para la obtención de 6,19-dihidro-11-cetoprogesterona (**13**) y 11,19-dihidroprogesterona **14**. a) 1)  $\text{AcCl}/\text{Ac}_2\text{O}$ , 2)  $\text{BH}_4\text{Na}$ , 3)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ; 4) Jones; b)  $\text{NBA}/\text{HClO}_4$ ; c)  $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{hv}$ ; d)  $\text{Zn}/\text{AcOH}/\text{I}_2$ ; e)  $\text{NaCNBH}_3$ ; f) 1)  $\text{LAH}$ , 2)  $\text{PDC}/\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{MS}$  **3A**; g)  $\text{HCl}(\text{c})/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}_2\text{CH}_2$ ; h) 1)  $\text{NaOH}/\text{MeOH}$ , 2) Jones.



**CAPITULO 4**  
**SINTESIS DE 6-OXAESTEROIDES**

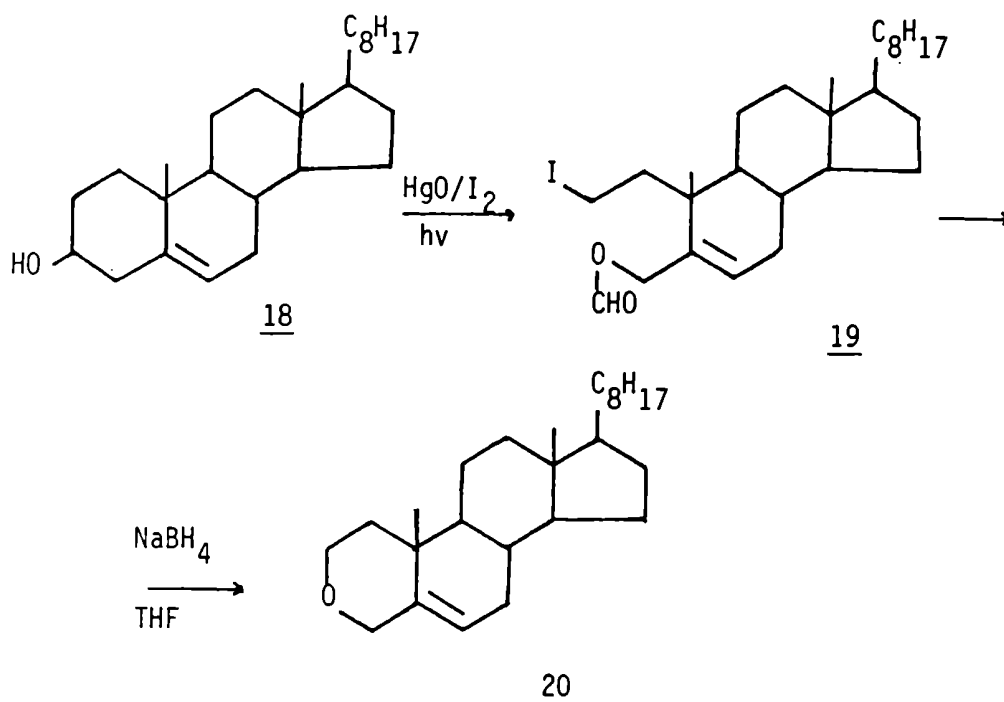
## RDEES

Los sistemas heterocíclicos esteroidales donde un átomo de carbono del esqueleto esteroideal es reemplazado por un heteroátomo (oxígeno en este caso) resultan de interés debido a que suelen presentar propiedades biológicas y farmacológicas diferentes a sus análogos carbonados. Sin embargo existen pocas rutas sintéticas hacia 6-oxaesteroides. Una de las principales se basa en la síntesis total de esteroides carbocíclicos de Torgov para la preparación de 6-aza, oxa o tiaestranos [73].

En 1960 Jacobs y Brownfield describieron la preparación de análogos esteroidales en los cuales el carbono 6 del anillo B se reemplazó por un oxígeno, dando lugar a la formación de 6-oxaesteroides [74] con un rendimiento total bajo (10%).

Una secuencia sintética cetona-lactona-éter [75] fue aplicada por Pettit y Kasturi para obtener un anillo de tetrahidropirano en donde el paso clave era la reducción de la lactona a éter cíclico con  $\text{BF}_3\text{:eter}/\text{AlH}_4\text{Li}$  con un rendimiento del 45%. Sin embargo ésta sólo fue utilizada para la obtención de 4-oxaesteroides. Un método de preparación de 6-tiaesteroides que puede ser aplicado a la preparación de 6-oxaesteroides se basa también en la reducción de una lactona intermediaria [76].

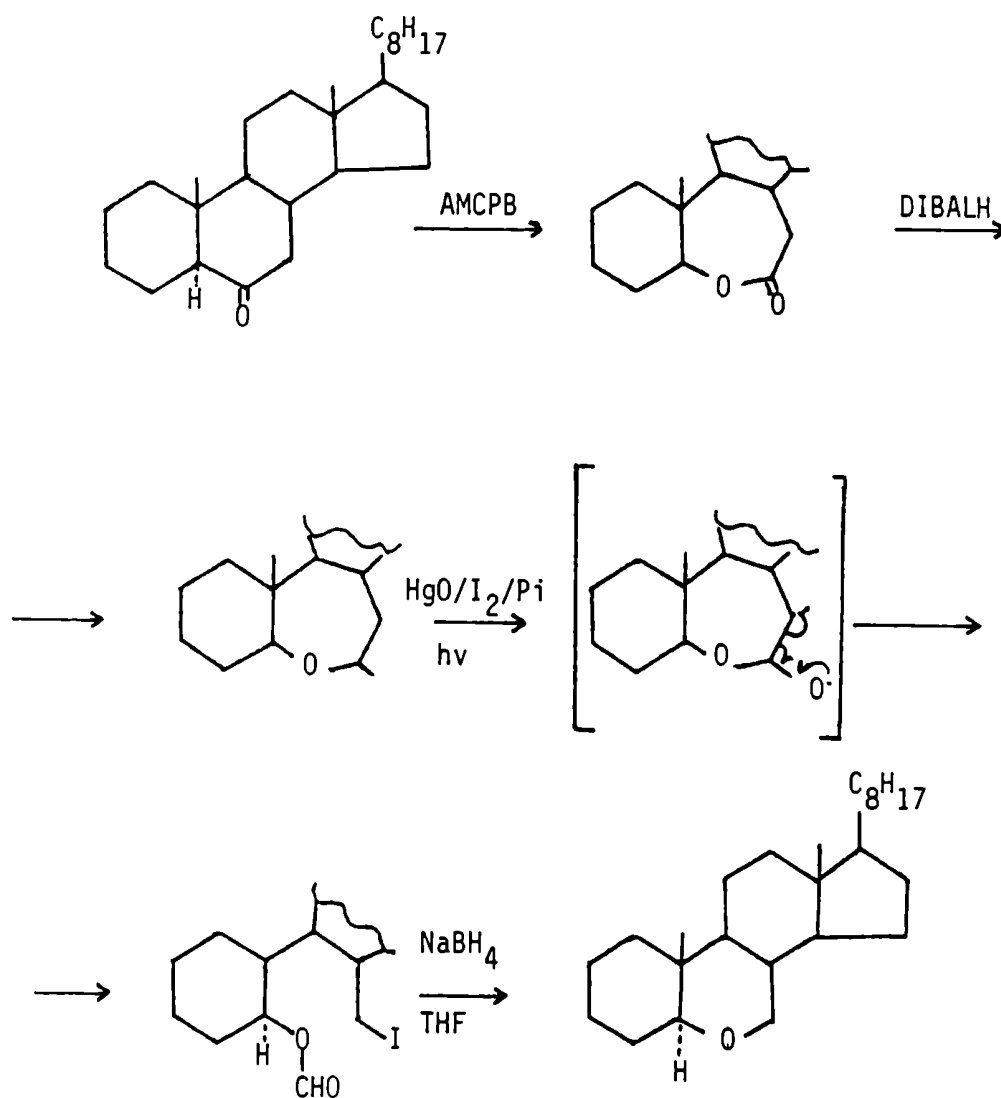
Suginome y colaboradores realizaron una serie de transformaciones fotoinducidas conducentes a oxaesteroides tal como se mencionó en el capítulo 2, por tratamiento de 2-iodo-3-formiloxi-4-nor-2,3-



-secolest-5-eno (**19**) [33] generado por un reordenamiento fotoinducido, con  $\text{NaBH}_4$  en THF bajo reflujo obteniéndose cuantitativamente 3-oxacolest-5-eno (**20**).

Estos resultados condujeron a los autores a la conclusión de que podía utilizarse un reordenamiento radicalario fotoinducido, realizado en condiciones neutras, para obtener eficientemente oxaesteroides a partir de hidroxisteroides adecuadamente funcionalizados.

Posteriormente [35] los mismos autores obtuvieron 6-oxaesteroides mediante la irradiación de los lactoles correspondientes en benceno, utilizando como reactivo  $\text{HgO}/\text{I}_2$ . Los formiatos intermedios daban lugar a 6-oxaesteroides con un rendimiento global del 50%.



### SINTESIS DE $5\alpha$ -H-6-OXAPREGNANOS

En la presente tesis, la obtención del 5,6-secoesteroide 57, tal como se mencionó en el capítulo 3, abrió la posibilidad de una ruta alternativa hacia 6-oxaesteroides a partir del  $5\alpha,6\beta$ -dihidroxiesteroide correspondiente. La reducción de 57 con  $NaBH_4/EtOH$  condujo a 3 $\beta$ -acetoxi-19,20-dihidroxi- $5\alpha$ -H-6-oxapregnano (70) con

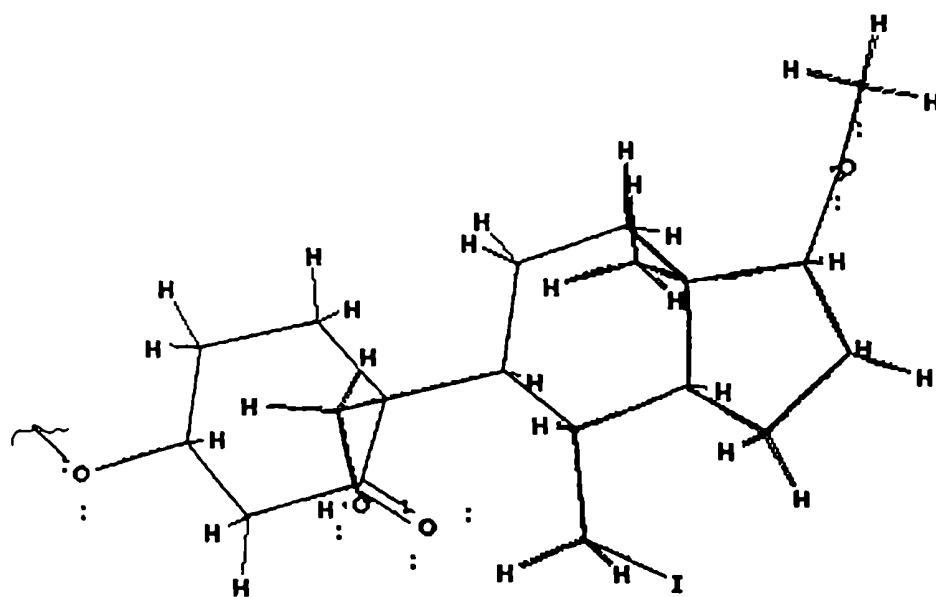
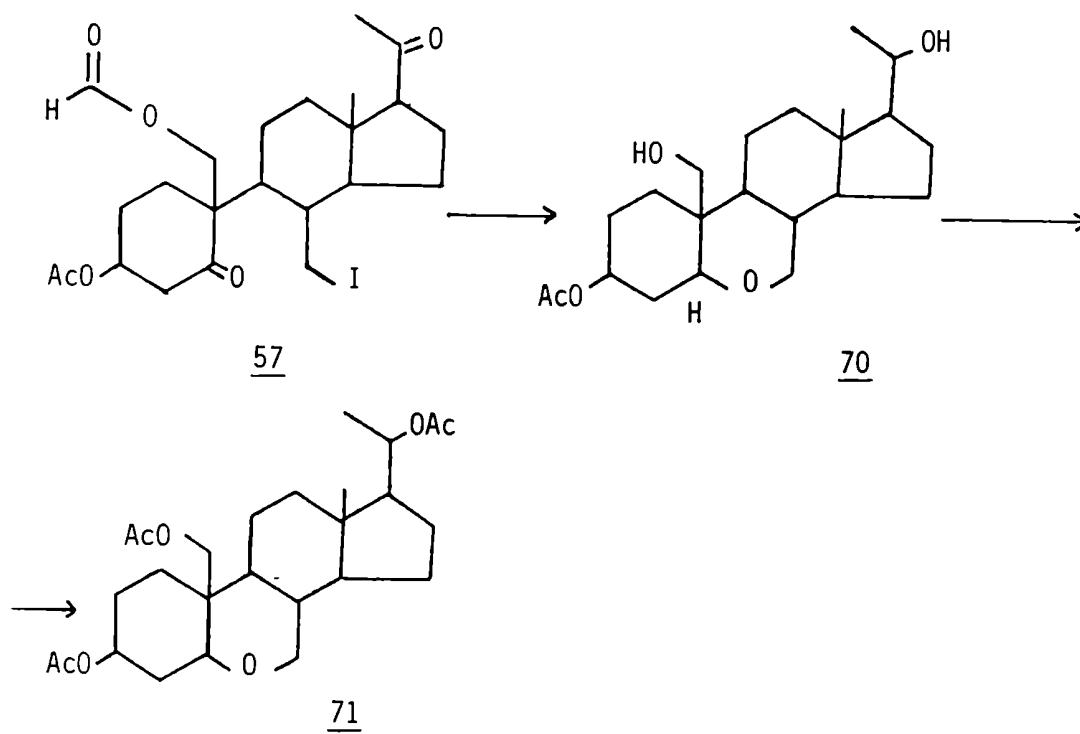


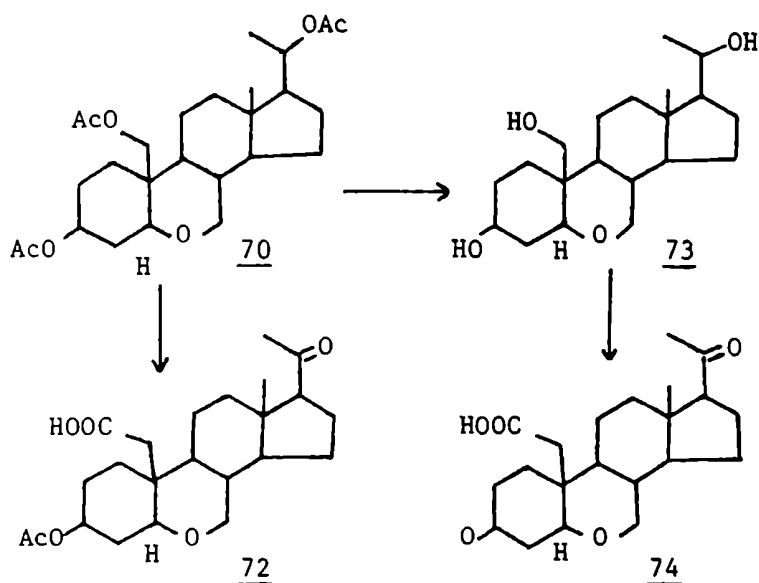
Figura 31- Conformero de mínima energía de **57**.

un rendimiento de 80%. Para facilitar su purificación éste fue acetilado a **71**. La asignación de la estereoquímica del hidrógeno  $5\alpha$  se basó en consideraciones de tipo estéricas que permiten suponer que el ataque del borohidruro se realizaría desde la cara  $\alpha$  del esteroide debido a que presenta un menor impedimento según pudo analizarse de los rotámeros obtenidos por rotación del enlace 9-10 en el compuesto **57** mediante el programa PCMODEL. En la figura 31 se muestra el conformero de mínima energía. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto **71** (figura 32a) se observó una señal ancha a 5,2 ppm correspondiente al H-3 y un multiplete a 4,86 ppm que fue asignado al H-20. La señal correspondiente a  $\text{CH}_2$ -19 resultó un cuarteto AB con una constante de acoplamiento de 11 Hz en donde a partir de datos espectrales se pudieron calcular los desplazamientos químicos (4,42 ppm y 4,20 ppm). El H- $5\alpha$  correspondía a la parte X de un sistema ABX siendo la señal correspondiente un doble doblete centrado en 4,10 ppm ( $J_{5\alpha,4\alpha}=5$  Hz y  $J_{5\alpha,4\beta}=12$  Hz). La señal correspondiente al H-7 $\beta$  (ecuatorial) resultó un doble doblete centrado en 3,60 ppm en el que se observan dos constantes de acoplamiento  $J_{7\beta,8}=5$  Hz y  $J_{7\beta,7\alpha}=11$  Hz mientras que el H-7 $\alpha$  presentó un triplete centrado a 3,32 ppm ( $J_{7\alpha,7\beta}=J_{7\alpha,8}=11$ Hz). El  $\text{CH}_3$ -18 se observó como un singulete a 0,66 ppm y el  $\text{CH}_3$ -21 como un doblete a 1,16 ppm ( $J=6$ Hz). Los valores de las constantes de acoplamiento obtenidos mediante PCMODEL fueron  $J_{7\alpha,8}=11,6$  Hz;  $J_{7\beta,8}=5,2$  Hz;  $J_{5\alpha,4\alpha}=2,4$  Hz;  $J_{5\alpha,4\beta}=11,6$  Hz. En la figura 32b se muestra el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  de **71**.

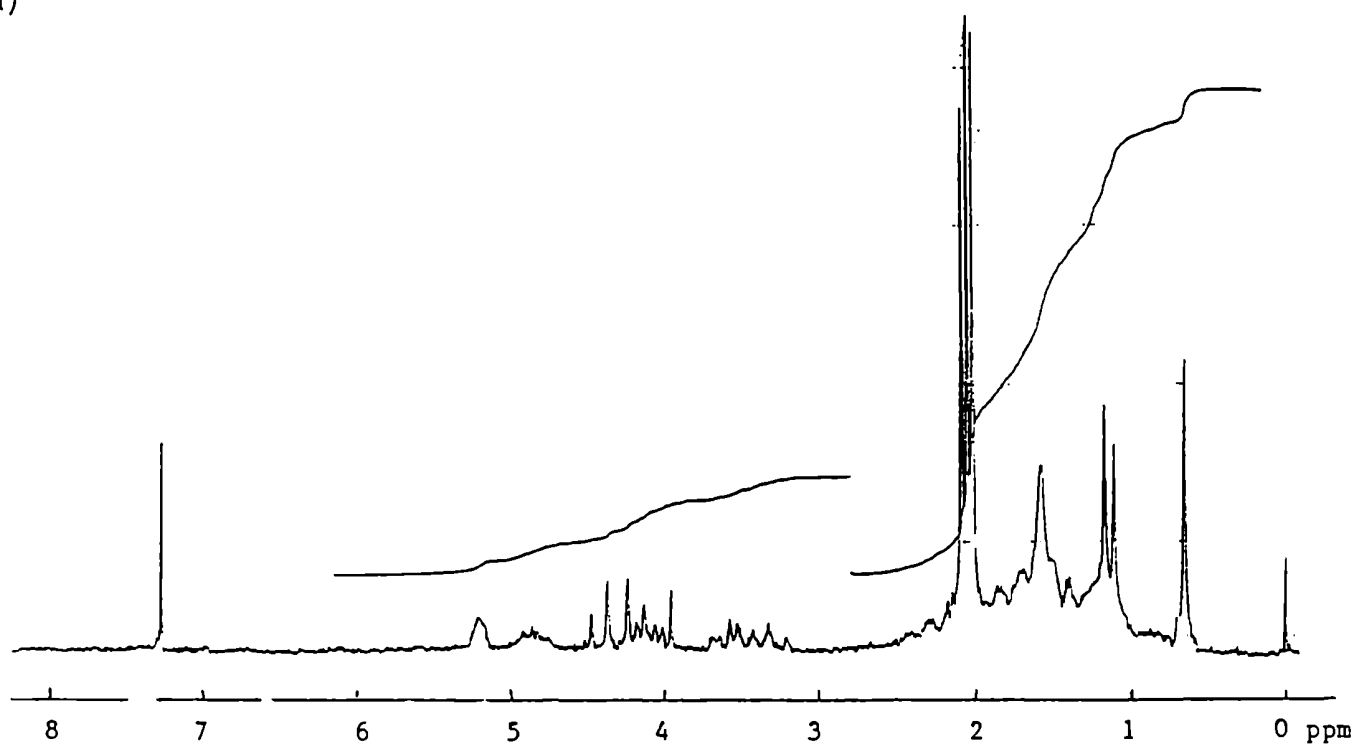
El hecho de obtener oxaesteroides 19-hidroxilados brindó una ventaja adicional al método propuesto ya que dicha funcionalización

los convierte en potenciales precursores de 19-nor-oxaesteroides. Si bien dichas transformaciones se encontraban fuera de los objetivos de este trabajo de tesis, se realizaron algunas reacciones sobre 70 con vistas a su posterior aplicación en síntesis de oxaesteroides. Dado que los compuestos 19-carboxilados resultan ser los precursores inmediatos hacia los 19-noresteroides correspondientes se procedió a oxidar 70 con reactivo de Jones obteniéndose 72. Paralelamente se hidrolizó 70 con NaOH/MeOH obteniéndose el 3 $\beta$ -hidroxiesteroide correspondiente (73), el cual fue posteriormente oxidado a 74 con el reactivo de Jones. En todos los casos el anillo B resultó inalterado.

Los productos obtenidos se identificaron por sus espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (ver Apéndice pág 206) y de masa. El trabajo de investigación continua en este sentido.



a)



b)

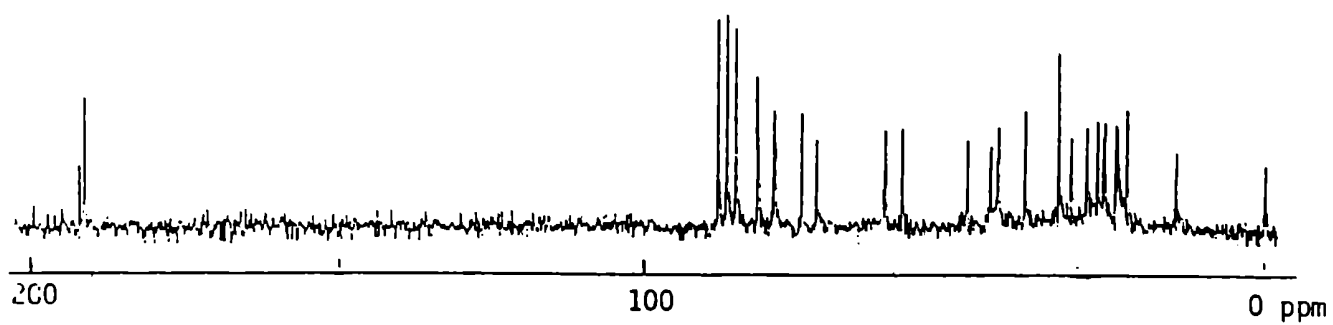


Figura 32- Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (a) y  $^{13}\text{C}$  (b) de 71.



**CAPITULO 5**  
**ANALISIS CONFORMACIONAL**

## ESTUDIO CONFORMACIONAL MEDIANTE METODOS COMPUTACIONALES

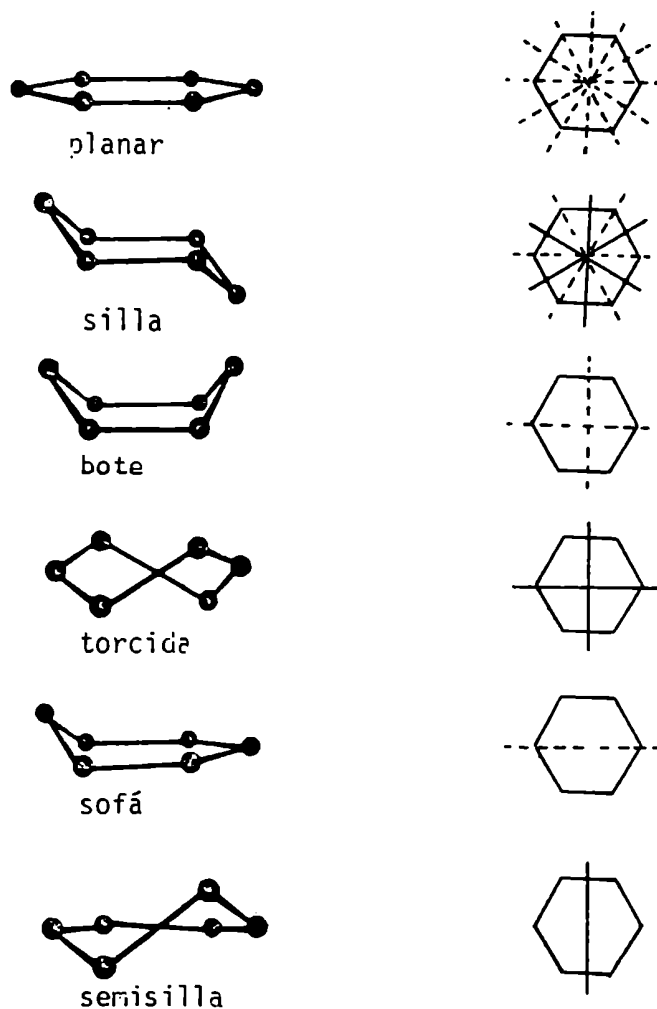
Dada la influencia que presentan ciertos rasgos conformacionales sobre la actividad biológica, un estudio de la correlación estructura-actividad mineralocorticoide en esteroides demanda un conocimiento previo no sólo de la estructura molecular sino además de la conformación de los compuestos involucrados. En virtud de los objetivos propuestos resultó de interés encarar el análisis conformacional de 6,19-óxidoprogesterona (12), 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) y 11,19-óxidoprogesterona (14).

### GENERALIDADES

El análisis conformacional consta de una descripción tanto cualitativa como cuantitativa de la molécula del esteroide en su totalidad, de los anillos individuales y de los sustituyentes. La conformación total del esteroide se puede determinar cualitativamente mediante una proyección del mismo sobre el plano de cuadrados mínimos que contenga a los átomos de los anillos B, C y D. En dicha proyección queda claramente ilustrada la desviación del anillo A con respecto al resto de la molécula, la cual puede medirse mediante el ángulo diedro entre dicho plano y el plano de cuadrados mínimos para A. Este dato resulta de sumo interés ya que refleja en forma cuantitativa el grado de planicidad de la molécula. La torsión a lo largo del esteroide se puede observar en la orientación relativa de los grupos metilos angulares la cual se puede medir por medio del ángulo de pseudorotación C(19)-C(10)-C(13)-C(18) cuya magnitud

y signo indicará la extensión y dirección de la torsión. En 19-nor esteroides se utiliza el ángulo C(1)-C(10)-C(13)-C(18) o el ángulo C(5)-C(10)-C(13)-C(18).

Para determinar la conformación de un anillo se recurre a los ángulos de torsión dado que, una vez especificados todos los ángulos y longitudes de enlace del ciclo, únicamente se requieren dos ángulos de torsión endocíclicos que contengan sólo un enlace en común para definir totalmente la conformación de un anillo de seis miembros. Altona y colaboradores han estudiado la conformación del anillo D en una serie de derivados esteroidales [78] para lo cual definieron dos parámetros: un parámetro conformacional, el ángulo de fase, y un parámetro geométrico, el ángulo torsional máximo. La limitación que presenta este método es que su uso se restringe a anillos de cinco miembros. Duax y Norton realizaron una evaluación cuantitativa más general que puede utilizarse para anillos de cualquier tamaño [77]. En la misma se incluyeron consideraciones de simetría, la cual generalmente brinda información sobre la conformación, y surge del análisis comparativo de los ángulos de torsión. Cada molécula (o más exactamente cada conformación molecular) puede clasificarse según su simetría; ésta puede caracterizarse por el número y el tipo de elementos de simetría presentes que por medio de la operación de simetría correspondiente devuelve a la molécula a un estado indistinguible del original. Los dos tipos de elementos de simetría considerados para definir la conformación de un anillo son el plano especular perpendicular al plano dominante del anillo en cuestión y el eje de rotación  $C_2$  (de orden dos) en el plano del anillo.



En un anillo de cinco miembros existen diez elementos de simetría posibles, cinco planos especulares (perpendiculares al plano dominante) y cinco ejes de rotación de orden dos, que se encuentran presentes si el anillo posee la conformación de mayor simetría, es decir, la planar. Las conformaciones posibles para un anillo de este tipo son la conformación sobre, la cual posee únicamente un plano de simetría especular que atraviesa el átomo que se encuentra fuera del plano y la conformación semisilla, que posee sólo un eje  $C_2$  de simetría que bisecta el enlace entre los dos átomos que se encuentran fuera del plano. Los anillos de seis miembros tienen

doce elementos de simetría potenciales los cuales deben ser considerados para determinar la conformación del anillo. Las rotaciones de segundo, tercero y sexto orden perpendiculares al plano dominante no serán tenidas en cuenta en esta discusión. Un análisis de los elementos de simetría presentes en las posibles conformaciones de anillos de seis miembros revela que la conformación plana, altamente simétrica, contiene todos los posibles elementos de simetría; la siguiente conformación en un orden de simetría decreciente, la conformación silla, posee tres planos y tres ejes de simetría; las conformaciones bote y torcida (twist) poseen cada una dos elementos de simetría mutuamente perpendiculares; las conformaciones de menor simetría, el sofá y la semisilla tienen sólo un elemento simple de simetría cada una.

Altona propuso un formalismo para medir en forma precisa el grado en que un dado anillo de cinco miembros se desvía de la simetría ideal [78]. Posteriormente, Duax y Norton [77] definieron dos parámetros de asimetría ( $\Delta C_5$  y  $\Delta C_2$ ) que permiten determinar exactamente la conformación de cualquier anillo relativa a la conformación ideal y relativa a cualquier otro anillo de composición similar; los mismos miden el grado de desviación del sistema ideal de cualquiera de los posibles elementos de simetría. El método consiste en comparar los ángulos de torsión relacionados por los elementos de simetría que se consideran presentes. Los ángulos de torsión relativos a un plano especular se encuentran invertidos (figura 33a), es decir que en la conformación ideal tendrán igual magnitud pero signo opuesto por lo que su suma tendería a cero. Por el contrario, los ángulos de torsión correspondientes a ejes de rota-

ción de segundo orden se encuentran directamente relacionados (figura 33b) siendo idénticos en magnitud y signo, de modo que se comparan por diferencia que en la conformación ideal tendería a cero. Las desviaciones de los anillos de la conformación ideal ( $\Delta C_3$  y  $\Delta C_2$ ) se calculan según las siguientes ecuaciones donde  $m$  es el número de comparaciones individuales y  $\phi_i$  y  $\phi_i'$  son los ángulos de torsión relacionados por simetría.

$$\Delta C_3 = \frac{\sum (\phi_i + \phi_i')^2}{m}$$

$$\Delta C_2 = \frac{\sum (\phi_i - \phi_i')^2}{m}$$

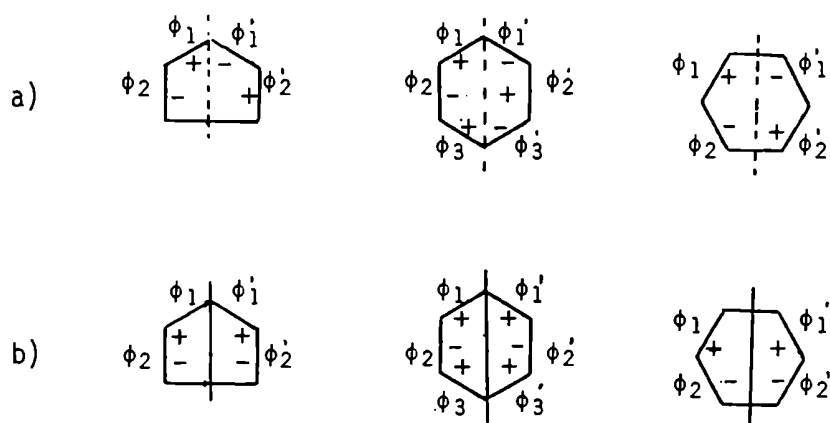


Figura 33- a) Ángulos de torsión relacionados por planos especulares; b) Ángulos de torsión relacionados por ejes de rotación.

Los parámetros de asimetría para anillos saturados de seis miembros permiten detectar la naturaleza de las distorsiones provocadas por la fusión de anillos y el tipo de sustituyentes presentes. En un anillo saturado perfectamente simétrico que posee conformación silla la magnitud de los seis parámetros de asimetría tiende a cero. Generalmente, en esteroides, los anillos saturados poseen una conformación silla distorsionada en donde se retiene algún elemento de simetría a expensas de otro, y la comparación de los parámetros de simetría permite atribuir el origen de la asimetría a una torsión ó a un plegamiento o aplanamiento del anillo. Si se obtiene un buen eje de rotación (es decir que el parámetro correspondiente tiende a cero) y el mismo es ortogonal a un plano de simetría pobre, el anillo se encuentra torcido con respecto a la situación ideal; en cambio, si un buen plano de simetría es ortogonal a un eje de rotación pobre, el anillo sufrió un plegamiento o aplanamiento con respecto a la situación ideal. El valor promedio de las magnitudes absolutas de los ángulos de torsión en un anillo permite distinguir entre un anillo plegado (promedio alto) y uno aplanado (promedio bajo); también es posible describir el grado de plegamiento o aplanamiento de un anillo midiendo las desviaciones de sus átomos con respecto al mejor plano de cuadrados mínimos. Este se elige entre los tres planos posibles que contienen cuatro átomos de carbono cada uno, siendo el mejor aquel que presente las menores desviaciones.

El análisis conformacional incluye una descripción de las configuraciones presentes en la unión entre los anillos fusionados, para lo cual se utilizan los términos cis, trans, cuasi-cis, cuasi-trans.

En las uniones trans los ángulos de torsión endocíclicos centrados sobre el lado común a los anillos fusionados tienen signo opuesto, en las uniones cis dichos ángulos poseen el mismo signo. Si una unión involucra un átomo de carbono trigonal se aplican los descriptores cualitativos cuasi-cis o cuasi-trans dependiendo del signo del enlace común. Los valores de los ángulos de torsión endocíclicos sugieren la naturaleza de la torsión sobre la unión de los anillos y el grado en que las uniones son torcidas, plegadas o aplanadas. Una medida de las distorsiones que presentan los núcleos esteroidales la brinda el ángulo diedro entre determinados planos definidos para grupos seleccionados de cuatro átomos de carbono, este dato se relaciona directamente con el ángulo diedro entre las uniones. En la tabla 5 se muestran los átomos que componen cada plano. Para referirse al ángulo diedro entre el plano A y el plano A-B se utiliza la notación A/A-B. La elección del plano D o D' usados para definir el anillo D depende de la conformación observada en dicho anillo; si el anillo D tiende a un  $13\beta$ -sobre se utiliza el plano D' como referencia, en cambio el plano D se utiliza cuando el anillo tiende a un  $14\alpha$ -sobre.

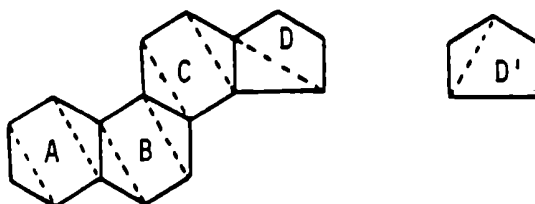




Tabla 5- Planos utilizados para definir ángulos diedros en las uniones de los anillos.

Plano	Composición
A	C(1), C(2), C(4), C(5)
A-B	C(1), C(5), C(6), C(10)
B	C(6), C(7), C(9), C(10)
B-C	C(7), C(8), C(9), C(11)
C	C(8), C(11), C(12), C(14)
C-D	C(12), C(13), C(14), C(15)
D	C(13), C(15), C(16), C(17)
D'	C(14), C(15), C(16), C(17)
C-D'	C(12), C(13), C(17), C(14)

El análisis conformacional se completa con las orientaciones relativas de los grupos metilos y sustituyentes presentes en la molécula con respecto al núcleo esteroidal.

Como ya se mencionó, el conocimiento de la disposición geométrica de los átomos en la molécula resulta un requisito indispensable para realizar el estudio de correlaciones entre estructura y actividad biológica de una serie de esteroides. Según el modelo descrito anteriormente se realizó el análisis conformacional de 6,19-6oxidoprogesterona (12), 6,19-6xido-11-cetoprogesterona (13) y 11,19-6oxidoprogesterona (14). El estudio se realizó sobre las conformaciones de mínima energía obtenidas mediante los programas MMX y PCMODEL 2.0. Las mediciones de ángulos de torsión y distancias interatómicas se realizaron mediante el programa PCMODEL 2.0; el cálculo de planos de cuadrados mínimos, los ángulos entre planos y las desviaciones de átomos respecto al plano se realizaron por medio del programa PLANOS 89.1 especialmente diseñado para este fin.

El análisis de esteroides por métodos cristalográficos sugiere que las conformaciones observadas en el estado sólido corresponden o están muy cercanas al mínimo de energía. En general, para confirmar la capacidad de un método computacional para predecir geometrías moleculares se comparan los valores obtenidos por cálculo con los datos cristalográficos. Un análisis de este tipo para progesterona, fue realizado por Adelantado y colaboradores [79] utilizando como método de cálculo un método computacional mecano-cuántico semiempírico (programa MOPAC). Los resultados que obtuvieron coinciden en gran medida con los datos cristalográficos encontrándose las mayores discrepancias en el valor del ángulo de torsión de la cadena lateral (C(16)-C(17)-C(20)-O(20) ( $\alpha$ ), hecho que no invalida el método dado que debe tenerse en cuenta que el programa MOPAC considera una estructura en fase gaseosa y no incluye efectos del estado sólido.

Freeman encontró que existía una buena correspondencia entre los valores de energía obtenidos mediante el programa PCMODEL y datos experimentales y de literatura para una serie de compuestos como octano, adamantano, norbornanos, etc [80]. En el presente trabajo, para corroborar la validez de los datos obtenidos mediante PCMODEL y MMX, también se realizó un análisis comparativo con datos de rayos X para progesterona (7) [77]. A partir de los valores resumidos en la tabla 6 se puede concluir que existe una muy buena concordancia entre ambos métodos encontrándose las mayores diferencias en las conformaciones de mínima energía para la cadena lateral.

Tabla 6- Comparación de parámetros geométricos para progesterona

(7) según MMX/PCMODEL y rayos X.

	MMX/PCMODEL		RAYOS X [77]
	Confórmero A	confórmero B	
Angulos (°)			
anillo A/plano C(5)-C(17)	-25,2	-25,1	-24,7
plano A/plano A-B	153,6	153,2	153
plano A-B/B	125,8	125,9	126
plano B/B-C	131,9	132,0	132
plano B-C/C	131,4	131,1	129
plano C/C-D	132,8	132,9	134
plano C-D/D	134,6	134,2	133
C(19)-C(10)-C(13)-C(18)	5,6	5,1	8
C(13)-C(17)-C(20)-O(20)*	-16,4	119,1	115,8
C(16)-C(17)-C(20)-O(20)*	-141,1	-3,7	-6,6
Distancias (Å)			
O(3)-O(20)*	11,1	12,0	12,0
O(3)-C(18)	9,1	9,1	9,1
O(3)-C(19)	4,9	4,9	4,9
O(3)-C(21)*	12,3	11,2	11,2
O(20)-C(18)*	3,1	3,6	3,6
O(20)-C(19)*	7,4	8,3	8,3
O(20)-C(21)	2,4	2,4	2,3
C(18)-C(19)	4,8	4,9	4,8
C(18)-C(21)*	4,4	3,7	3,6
C(19)-C(21)*	8,9	7,7	7,7

\*- Parámetros dependientes de la orientación de la cadena lateral

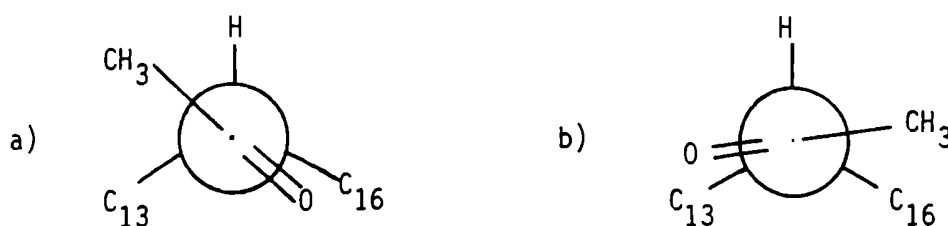


Figura 34- Orientaciones de la cadena lateral de progesterona

(7) según Profeta y col. [82]. A  $\alpha = -135^\circ$ , B  $\alpha = -4^\circ$

Duax realizó el estudio de la conformación de la cadena lateral mediante datos cristalográficos de rayos X encontrando un aparente conflicto con datos obtenidos por un método de cálculo (programa GEMO) [81] el cual fue resuelto por Profeta y colaboradores [82] al demostrar que no se observaban tales discrepancias utilizando un modelo de campo de fuerza adecuado como el MM2 (igual al utilizado por PCMODEL y MMX). Este último predice el ángulo de mínima energía encontrado en el cristal de progesterona por Duax. Esta concordancia se debe a que el programa MM2 considera la tendencia de los grupos alifáticos a eclipsar grupos carbonílicos. En este sentido, los dos mínimos obtenidos por Profeta de la curva de energía rotacional del enlace C(17)-C(20) (figura 34), uno de los cuales coincide con el obtenido por Duax al estado sólido, corresponden a conformaciones de la cadena lateral donde el grupo carbonilo se encuentra eclipsando al enlace C(13)-C(17) (confórmero A,  $\alpha = -135^\circ$ ) y al enlace C(16)-C(17) (confórmero B,  $\alpha = -4^\circ$ ) [82] respectivamente, resultando ambas conformaciones más estables que aquella en que el grupo carbonilo eclipsa el  $17\alpha\text{-H}$ . Ambos confórmeros presentan una diferencia energética de 0,3 Kcal/mol resultando una distribución poblacional según Boltzman de 68% y 32% respectivamente. El hecho que al estado sólido se observe uno de los confórmeros ( $\alpha = -6,6^\circ$ ) puede explicarse considerando que las fuerzas de empaquetamiento cristalino estabilizarían la estructura cuyo carbonilo se encuentra geométricamente más accesible para las interacciones intermoleculares. Por otra parte, dada la poca diferencia de energía entre los confórmeros obtenidos mediante MM2, el cual considera una molécula aislada en un medio de constante dieléctrica 1,5 donde no existen fuerzas

de empaquetamiento cristalino ni fuerzas de solvatación, es de esperar que ambos se encuentren presentes en solución.

En el presente trabajo se analizaron ambos confórmeros (A y B) para progesterona, encontrándose que la diferencia energética entre ambos era pequeña (0,1Kcal), siendo el confórmero de menor energía el que presenta un valor de  $\alpha = -141,1^\circ$  (figura 35) el cual corresponde aproximadamente al  $\alpha = -135^\circ$  obtenido por Profeta. Como se observa en la Tabla 6 los parámetros correspondientes al núcleo esteroidal se mantienen aproximadamente constantes al modificar la disposición espacial de la cadena lateral por lo que al realizar el análisis conformacional de los compuestos se fijó la cadena lateral según la disposición A. La contribución relativa de cada uno de los confórmeros al equilibrio en solución se analizó más detalladamente al realizar el cálculo de las barreras rotacionales del metilo-18 según el método de Woessner (pág 143), dado que la disposición relativa de la cadena lateral influiría en la velocidad de rotación de dicho metilo.

En la tabla 7 se comparan los ángulos de torsión ( $\alpha$ ) obtenidos en los confórmeros de mínima energía de 6,19-6xidoprogestero-na (12), 6,19-6xido-11-cetoprogestero-na (13) y 11,19-6xidoprogestero-na (14) con los de progesterona (7), considerando la cadena lateral según la orientación A. Se observa que las magnitudes de dichos ángulos no se encuentran apreciablemente afectadas por los cambios estructurales. A continuación se detalla el análisis conformacional de los compuestos 12, 13 y 14.

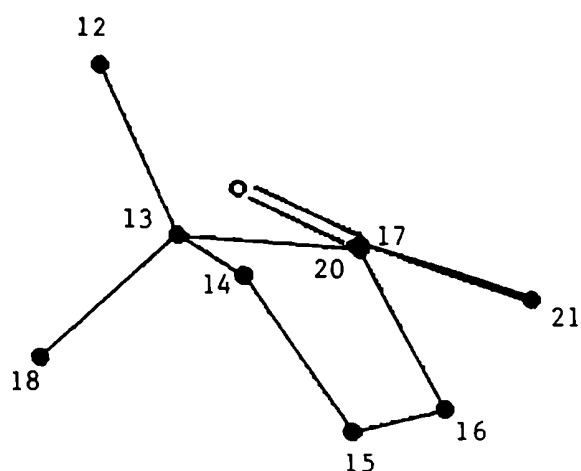


Figura 35- Conformación de la cadena lateral de progesterona  
(7) vista a través del enlace 17-20.

Tabla 7- Angulos de torsión de la cadena lateral obtenidos  
mediante los programas MMX/PCMODEL.

	C(16)-C(17)-C(20)-O(20) ( $\alpha$ )	C(13)-C(17)-C(20)-O(20)
progesterona	-141,1	-16,4
6,19- $\delta$ xido- progesterona (confórmero 1)	-145,7	-20,9
6,19- $\delta$ xido- progesterona (confórmero 2)	-145,2	-20,4
6,19- $\delta$ xido-11-ceto- progesterona (confórmero 1)	-138,4	-14,1
6,19- $\delta$ xido-11-ceto- progesterona (confórmero 2)	-140,8	-21,3
11,19- $\delta$ xido- progesterona	-147,1	-21,7

## I. 6,19-OXIDOPROGESTERONA (12)

Los dos conformeros de mínima energía obtenidos para este compuesto diferían fundamentalmente en la conformación del anillo A (sofá 2 $\beta$  para el conformero 1 y sofá 1 $\beta$  para el conformero 2) que se transmite a la conformación del anillo B en donde se retuvo la simetría especular. El conformero 2 resultó 3,8 Kcal/mol más estable que el 1, indicando que este sería el predominante en el equilibrio. En el conformero 1, el menor valor promedio de ángulos diedros del anillo B indicó que la molécula sufrió un aplanamiento; mientras en el conformero 2, el mayor valor promedio de los ángulos diedros del anillo indicó un plegamiento. Este hecho se reflejó en distancias O(3)-C(17) de 9 y 8,7 Å para los conformeros 1 y 2 respectivamente y en la desviación del anillo A con respecto al plano de referencia de C(5) a C(17) (-43,65° y -56,99° respectivamente).

### conformero 1

En la figura 36 se muestra la proyección de la molécula del esteroide, en una vista paralela, sobre el plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos C(5) a C(17). La desviación del anillo A queda ilustrada por el valor del ángulo entre el plano de cuadrados mínimos del anillo A (C(3), C(4), C(5) y C(10)) y el plano de referencia anteriormente mencionado (-43,65°), mientras

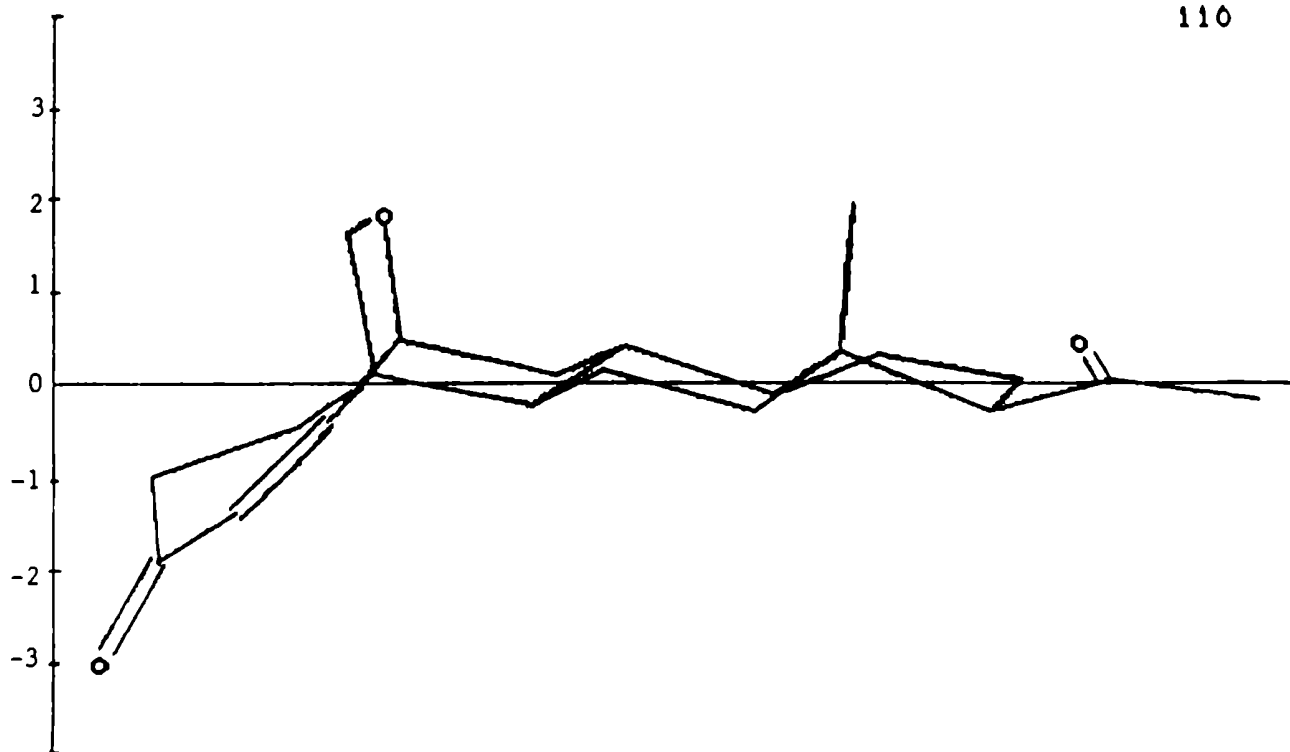


Figura 36- Proyección del conformero 1 de 6,19-oxidoprogesterona (12) sobre el plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos de C(5) a C(17).

que la planaridad de la zona de los anillos B-D se manifiesta en la desviación standard media de los átomos C(5) a C(17) respecto del plano de referencia que los contiene ( $\sigma=0,27\text{\AA}$ ). En estos compuestos donde el metilo-19 se encuentra sustituido formando un puente éter la torsión del núcleo esteroideal a lo largo de una línea de unión entre C(10) y C(13) puede describirse por el valor del ángulo de torsión C(5)-C(10)-C(13)-C(18) ( $-117,06^\circ$ ).

Anillo A- Este presentó una conformación 2B-sofá (figura 37), siendo la simetría dominante la especular, en donde el plano que presentó las menores desviaciones de la idealidad fue el que



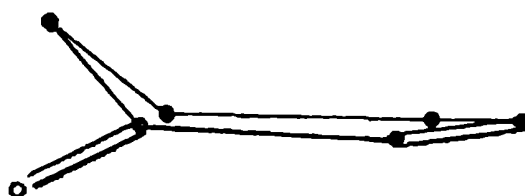


Figura 37- Conformación de mínima energía del anillo A.

pasa por los átomos C(2) (que se encuentra fuera del plano) y el C(5). El siguiente elemento en orden decreciente de simetría fue un eje de rotación que bisecta los enlaces 1-2 y 4-5. Finalmente, el elemento de simetría ortogonal al plano que atraviesa el átomo C(2) es un eje de rotación que bisecta el enlace 1-10 el cual presentó la mayor desviación. Estas conclusiones quedan reflejadas en los valores de los parámetros de asimetría correspondientes:  $\Delta C_5^2 = 2,16$ ;  $\Delta C_2^{1,2} = 26,26$ ;  $\Delta C_2^{1,10} = 56,93$ . El promedio de los ángulos diedros en el anillo fue  $26,4^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos C(3), C(4), C(5) y C(10) fueron: C(1)  $-0,01$ ; C(2)  $0,61$ ; C(3)  $0,01$ ; C(4)  $0,03$ ; C(5)  $0,04$ ; C(10)  $-0,02$  Å.

**Anillo B-** La conformación de mínima energía para el anillo B resultó una silla distorsionada con simetría dominante especular ( $\Delta C_5^5 = 4,3$ ). El siguiente elemento de mayor simetría fue el eje de rotación que bisecta el enlace 5-6 ( $\Delta C_2^{5,6} = 6,8$ ); la simetría

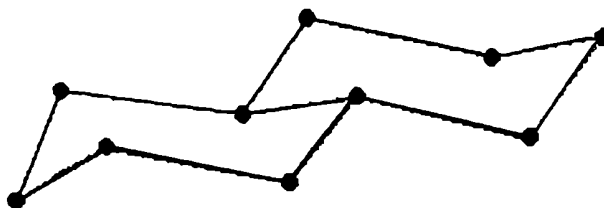


Figura 38- Conformaciones de mínima energía para los anillos B y C.

perdida se reflejó en el valor del parámetro correspondiente a un eje de rotación ortogonal al plano mencionado en primer lugar ( $\Delta C_2^{6,7} = 21,9$ ). El promedio de los ángulos diedros del anillo fue  $59,2^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos C(6), C(7), C(9) y C(10) resultaron: C(5)  $-0,81$ ; C(6)  $0,02$ ; C(7)  $-0,02$ ; C(8)  $0,60$ ; C(9)  $0,02$ ; C(10)  $-0,02$  Å. En la figura 38 se ilustran las conformaciones correspondientes a los anillos B y C.

**Anillo C-** Este poseía una conformación silla altamente simétrica (las magnitudes de los seis parámetros de asimetría están por debajo de 6,5) con simetría especular dominante ( $\Delta C_5^{11} = 0,8$ ); el siguiente elemento de simetría en un orden decreciente fue el eje de rotación que bisecta el enlace 8-14 ( $\Delta C_2^{8,14} = 3,2$ ) y finalmente, la mayor desviación de la situación ideal se observó en el eje de rotación que bisecta el enlace 8-9 ( $\Delta C_2^{8,9} = 6,2$ ). El

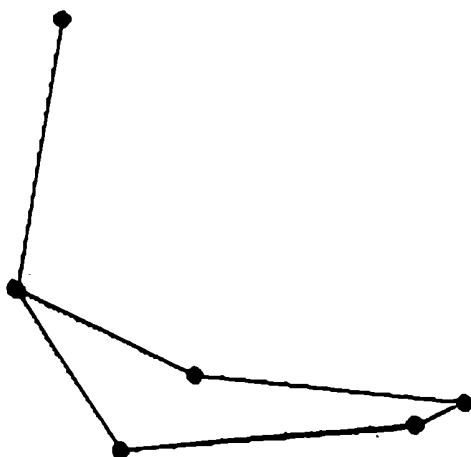


Figura 39- Conformación de mínima energía del anillo D.

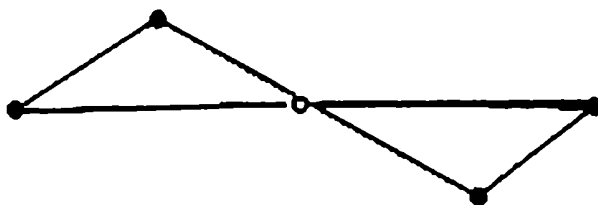


Figura 40- Conformación de mínima energía del anillo E.

promedio de los ángulos diedros del anillo fue  $57,1^\circ$ . Las desviaciones al plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(8), C(9), C(12) y C(13) fueron: C(8) 0,00; C(9) 0,00; C(11) 0,65; C(12) 0,00; C(13) 0,00; C(14)  $-0,70 \text{ \AA}$ .

Anillo D- Este presentó una conformación intermedia entre una silla  $13\beta, 14\alpha$  y un sobre  $13\beta$  (figura 39). Los parámetros de asime-

tria correspondientes fueron  $\Delta C_5^{13}=10,3$  y  $\Delta C_2^{13,14}=11$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(14), C(15), C(16) y C(17) fueron: C(13) 0,70; C(14) -0,03; C(15) 0,06; C(16) -0,04; C(17) 0,02 Å.

El sustituyente 6 $\beta$ ,19-epóxido crea dos anillos adicionales. El anillo de cinco miembros (E, figura 40) posee una conformación de mínima energía de semisilla con dominancia de simetría de rotación

Tabla 8- Parámetros geométricos del confórmero 1 de 6,19-óxido-progesterona (12)

Ángulos diedros correspondientes a la unión entre anillos:

A/A-B	-19,9°	B/B-C	-44,9°	C/C-D	-47,0°
A-B/B	59,4°	B-C/C	49,0°	C-D/D	45,7°

Conformaciones de las uniones entre anillos:

A/B	cuasi-cis	J*	= 74,2°
B/C	trans	T*	= 103,3°
C/D	trans	T*	= 108,3°

Orientación de grupos funcionales:

Sustituyente	Orientación	Distancia del plano C(5)-C(17)
C(18)	$\beta$ -axial	1,8 Å
C(19)	"	1,5 Å
O(6)	"	1,7 Å
O(20)	"	0,5 Å
O(3)	-	-3,0 Å

Distancias interatómicas entre grupos funcionales:

O(3)-O(6)	5,6 Å	O(6)-C(18)	8,8 Å
O(3)-O(20)	10,4 Å	O(6)-C(19)	1,4 Å
O(3)-C(18)	8,8 Å	O(6)-C(21)	8,9 Å
O(3)-C(19)	5,1 Å	C(18)-C(19)	5,0 Å
O(3)-C(21)	11,5 Å	C(18)-C(21)	4,3 Å
O(6)-O(20)	8,0 Å	C(19)-C(21)	8,9 Å

\* J, T: suma de los valores absolutos de los ángulos de torsión endocíclicos centrados sobre el lado común a los anillos fusionados.

( $\Delta C_2^{5,10} = 5,7$ ;  $\Delta C_5^5 = 14$ ). El anillo de siete miembros posee una conformación bote donde C(6), C(7), C(9) y C(10) forman la base del bote. En la tabla 8 se resumen los restantes datos del confórmero 1.

### Confórmero 2

La figura 41 ilustra la desviación del anillo A con respecto al plano de referencia C(5) a C(17) de este confórmero, la magnitud de la misma se obtuvo del ángulo entre el plano de cuadrados mínimos del anillo A y el plano de referencia ya mencionado ( $-56,99^\circ$ ).

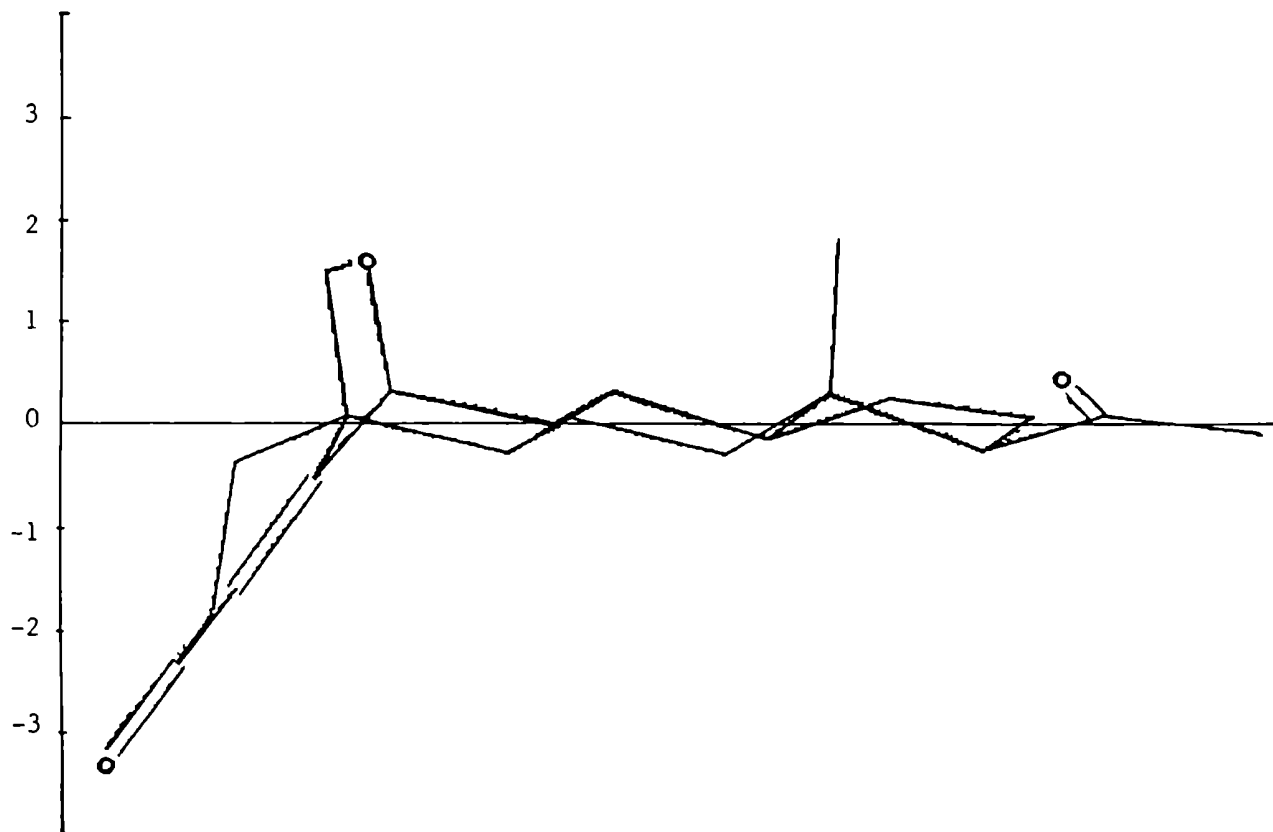


Figura 41- Proyección del confórmero 2 de 6,19- $\delta$ oxidoprogesterona (12) sobre el plano de cuadrados mínimos definido por los átomos de C(5) a C(17).

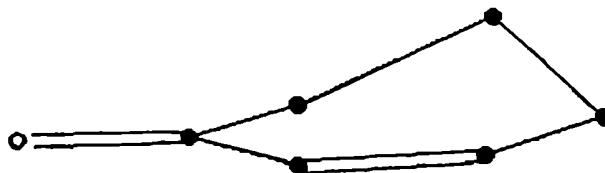


Figura 42- Conformación de mínima energía para el anillo A.

La desviación standard media de los átomos C(5) a C(17) del plano que los contiene fue 0,27 Å. La torsión del núcleo esteroidal a lo largo de un eje que une los átomos C(10) y C(13) fue medida por el ángulo de torsión C(5)-C(10)-C(13)-C(18) (-121,21°).

**Anillo A-** Este presentó una conformación de mínima energía 1B-sofá (figura 42) con simetría dominante especular ( $\Delta C_5^1 = 4,5$ ); el elemento siguiente de mayor simetría correspondió al eje de rotación que bisecta el enlace 1-2 ( $\Delta C_2^{1,2} = 20$ ). El elemento de mayor asimetría fue el eje ortogonal al plano mencionado en primer término ( $\Delta C_2^{2,3} = 49,7$ ). El promedio de los ángulos diedros fue 25,8°. Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(3), C(4), C(5) y C(10) fueron: C(1) 0,57; C(2) -0,07; C(3) 0,00; C(4) 0,00; C(5) 0,00; C(10) 0,00 Å.

**Anillo B-** La conformación de mínima energía para el anillo B (figura 43) es una silla distorsionada donde se ha retenido la simetría especular ( $\Delta C_5^5 = 0,48$ ) a expensas de la simetría de rota-

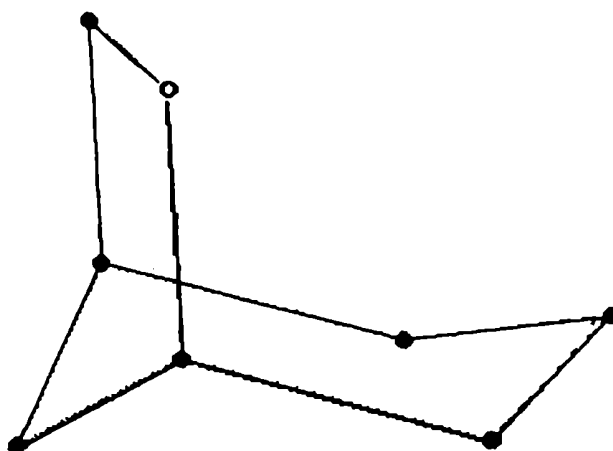


Figura 43- Conformaciones de mínima energía de los anillos B y E.

ción ( $\Delta C_2^{6,7} = 26,48$ ). El siguiente elemento de mayor simetría, luego del plano que atraviesa C(5), fue el eje de rotación que bisecta el enlace 5-10 ( $\Delta C_2^{5,10} = 13,2$ ). El promedio de los ángulos diedros fue  $61,3^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(6), C(7), C(9) y C(10) fueron: C(5)  $-0,85$ ; C(6)  $0,00$ ; C(7)  $0,00$ ; C(8)  $0,61$ ; C(9)  $0,00$ ; C(10)  $0,00$  Å.

**Anillo C-** Este presentó una conformación silla (figura 44) con dominancia de simetría especular ( $\Delta C_5^{11} = 1$ ) aunque sin mayores desviaciones para los restantes elementos de simetría ya que todos los parámetros de asimetría resultaron inferiores a 7 ( $\Delta C_2^{8,9} = 7$ ;  $\Delta C_2^{11,12} = 4,5$ ). El promedio de los ángulos diedros fue  $56,7^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(8), C(9), C(12) y C(13) fueron: C(8)  $0,00$ ; C(9)  $0,00$ ; C(11)  $0,64$ ; C(12)  $0,00$ ; C(13)  $0,00$ ; C(14)  $-0,70$  Å.

**Anillo D-** La conformación de este anillo se encontró intermedia entre un sobre 13B y una semisilla 13B,14α (figuras 44 y

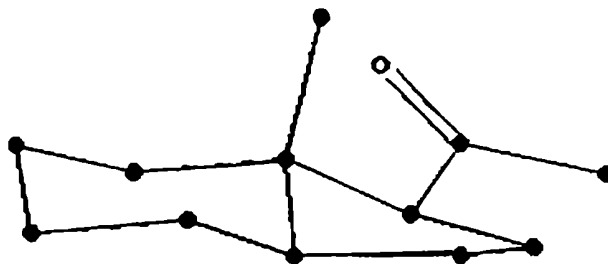


Figura 44- Conformaciones de mínima energía de los anillos C y D

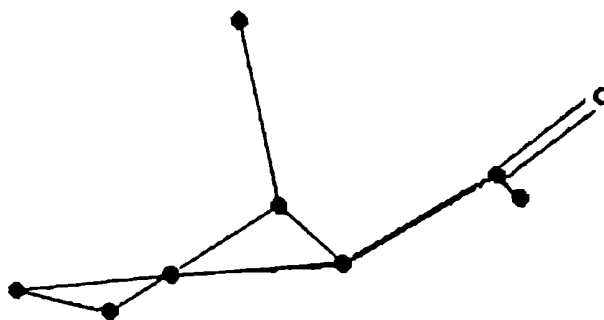


Figura 45- Conformación de mínima energía del anillo D (semi-silla)

45). Los parámetros de asimetría correspondientes fueron  $\Delta C_5^{13} = 9,9$  y  $\Delta C_2^{13,14} = 11,3$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos C(14), C(15), C(16) y C(17) fueron: C(13) 0,70; C(14) -0,03; C(15) 0,05; C(16) -0,04; C(17) 0,02 Å.



**Anillo E-** Este anillo generado a partir del sustituyente 6 $\beta$ ,19-epóxido, tiene una conformación intermedia entre una semi-silla 5 $\alpha$ ,10 $\beta$  (figura 46) y un sobre 5 $\alpha$  (figura 43). Los parámetros de asimetría correspondientes fueron  $\Delta C_5^5 = 9,4$  y  $\Delta C_2^{5,10} = 9$ . La conformación del anillo de siete miembros se encontró similar a la que presentaba el confórmero 1. En la tabla 9 se resumen los restantes parámetros geométricos obtenidos.

Tabla 9- Parámetros geométricos del confórmero 2 de 6,19-óxidoprogesterona (12).

Angulos diedros correspondientes a la unión entre anillos:

A/A-B	20,6°	B/B-C	-45,2°	C/C-D	-47,4°
A-B/B	60,9°	B-C/C	48,3°	C-D/D	45,4°

Conformaciones de las uniones entre anillos:

A/B cuasi-cis	J= 96,8°
B/C trans	T= 103,6°
C/D trans	T= 108,5°

Orientación de grupos funcionales:

Sustituyente	Orientación	Distancia del plano C(5)-C(17)
C(18)	$\beta$ -axial	1,8 Å
C(19)	"	1,6 Å
O(6)	"	1,7 Å
O(20)	"	0,4 Å
O(3)	-	-3,3 Å

Distancias interatómicas entre grupos funcionales:

O(3)-O(6)	5,7 Å	O(6)-C(18)	5,1 Å
O(3)-O(20)	10,1 Å	O(6)-C(19)	1,4 Å
O(3)-C(18)	8,6 Å	O(6)-C(21)	9,0 Å
O(3)-C(19)	5,3 Å	C(18)-C(19)	4,9 Å
O(3)-C(21)	11,2 Å	C(18)-C(21)	4,3 Å
O(6)-O(20)	8,0 Å	C(19)-C(21)	8,9 Å

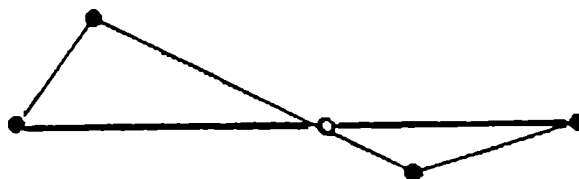


Figura 46- Conformación de mínima energía del anillo E  
(semisilla).

## II. 6,19-OXIDO-11-CETOPROGESTERONA (13)

Al igual que en el caso anterior, los dos conformeros de mínima energía obtenidos para este compuesto presentaban sus mayores diferencias en la conformación del anillo A (en el conformero 1 es un sofá 2 $\beta$  y en el conformero 2 es un sofá 1 $\beta$ ) que se trasmite, aunque en menor medida, al anillo B, sufriendo este último un plegamiento o aplanamiento según el caso que puede medirse por las distancias O(3)-C(17) (9 y 8,67 Å respectivamente para ambos conformeros). Se obtienen las mismas conclusiones si se considera que en ambos conformeros se ha retenido la simetría especular en el anillo B a expensas de la simetría de rotación y que el valor del promedio de los ángulos diedros en el caso del conformero 1 es menor que el del conformero 2, es decir que la molécula ha sido aplanada en el conformero 1 y plegada en el conformero 2. Las diferencias quedan claramente reflejadas al comparar los valores obtenidos para el ángulo

entre el plano de cuadrados mínimos para el anillo A y el plano de referencia que contiene los átomos de C(5) a C(17) para ambos conformeros (en el conformero 1 el valor es  $-44,87^\circ$  y para el conformero 2 es  $-59,17^\circ$ ). Energéticamente el conformero 2 resultó 3,3 Kcal más estable que el 1.

### Conformero 1

En la figura 47 se ilustra la proyección del esteroide sobre el plano de cuadrados mínimos definido por los átomos de C(5) a C(17). En la misma se observa claramente la desviación del anillo A la cual puede medirse mediante el ángulo entre el plano de cuadrados mínimos para el anillo A y el plano de referencia antes mencionado ( $-44,87$ ). La desviación standard media ( $\sigma$ ) de los átomos C(5) a C(17) respecto del plano que los contenía fue 0,28. La torsión del núcleo esteroideal a lo largo de la unión entre el C(10) y el C(13) es descripta por el ángulo de torsión C(5)-C(10)-C(13)-C(18) ( $-118,56^\circ$ ).

**Anillo A-** Este presentó una conformación de mínima energía de 2B-sofá (figura 48) con simetría dominante especular ( $\Delta C_5^2 = 2,6$ ), en orden de simetría decreciente el siguiente elemento de simetría fue el eje de rotación que bisecta el enlace 1-2 ( $\Delta C_2^{1,2} = 24,9$ ) y el elemento que reflejó la mayor desviación de la situación ideal fue el eje de rotación ortogonal al plano antes mencionado ( $\Delta C_2^{1,10} = 55,1$ ). El promedio de los ángulos diedros fue  $25,4^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos que contiene los átomos C(3), C(4), C(5) y C(10) fueron: C(1)  $-0,02$ ; C(2)  $0,58$ ; C(3)  $0,01$ ; C(4)  $-0,03$ ; C(5)  $0,04$ ; C(10)  $-0,02$  Å.

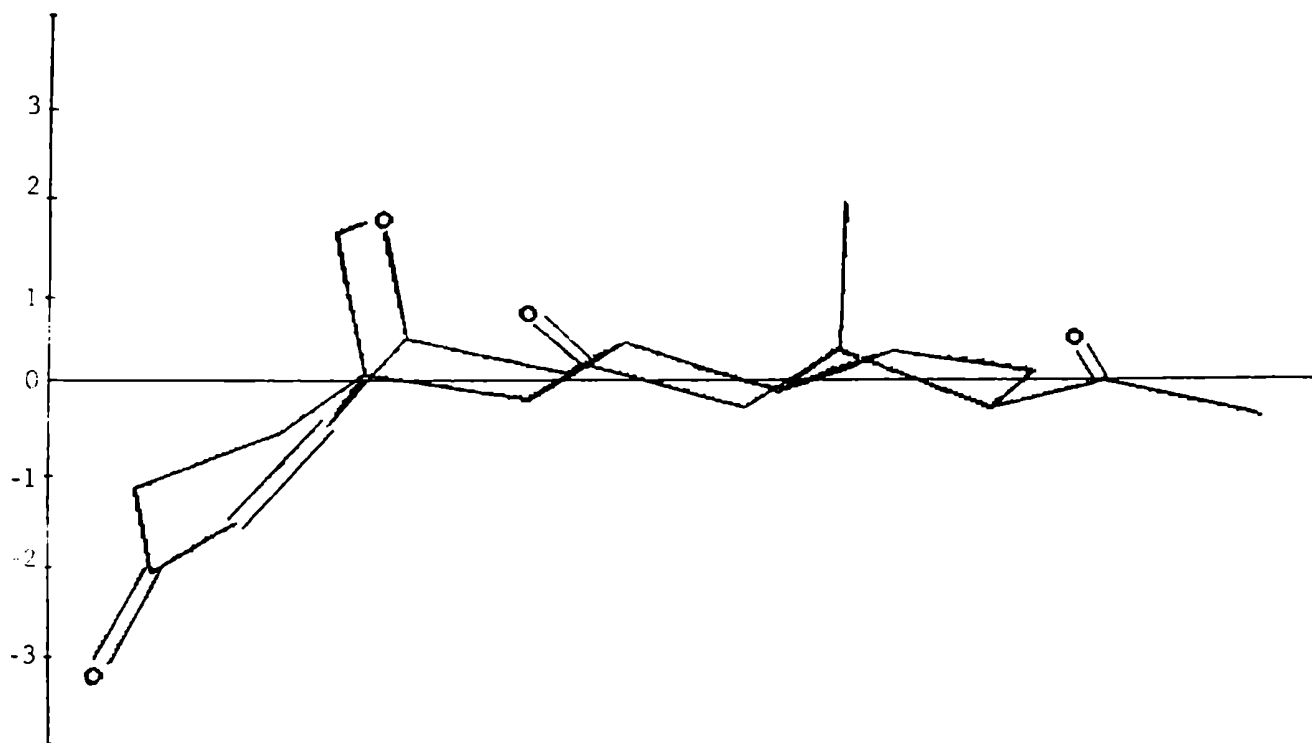


Figura 47- Proyección del conformero 1 de 6,19-óxidoprogesterona (13) sobre el plano de referencia que contiene los átomos de C(5) a C(17).

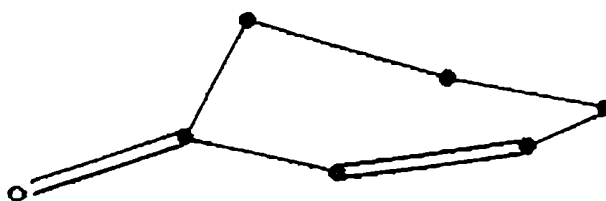


Figura 48- Conformación de mínima energía del anillo A.

Anillo B- La conformación del anillo B (figura 49) resultó una silla levemente distorsionada, donde la simetría dominante fue la

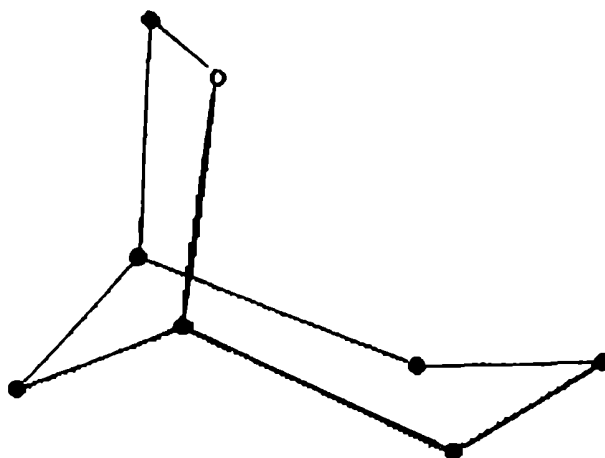


Figura 49- Conformación de los anillos B y E.

especular ( $\Delta C_5^5 = 5,5$ ) la cual fue retenida a expensas de la simetría de rotación ortogonal al plano mencionado ( $\Delta C_2^{6,7} = 23,5$ ). El mejor eje de rotación fue el que bisecta el enlace 5-6 ( $\Delta C_2^{5,6} = 6,4$ ). El promedio de los ángulos diedros fue  $58,7^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(6), C(7), C(9) y C(10) fueron: C(5)  $-0,81$ ; C(6)  $0,03$ ; C(7)  $-0,02$ ; C(8)  $0,59$ ; C(9)  $0,20$ ; C(10)  $-0,02$  Å.

**Anillo C-** La conformación del anillo C (figura 50) resultó una silla altamente simétrica donde todos los parámetros son inferiores a 4,2. El anillo presentó una dominancia de simetría especular ( $\Delta C_5^{11} = 1$ ), el valor del parámetro de asimetría correspondiente al eje de rotación que bisecta el enlace 8-14 fue 4,1. El mejor eje de rotación fue el que bisecta el enlace 9-11 ( $\Delta C_2^{9,11} = 3,6$ ). El promedio de los ángulos diedros fue  $56,9^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por C(8), C(9), C(12) y

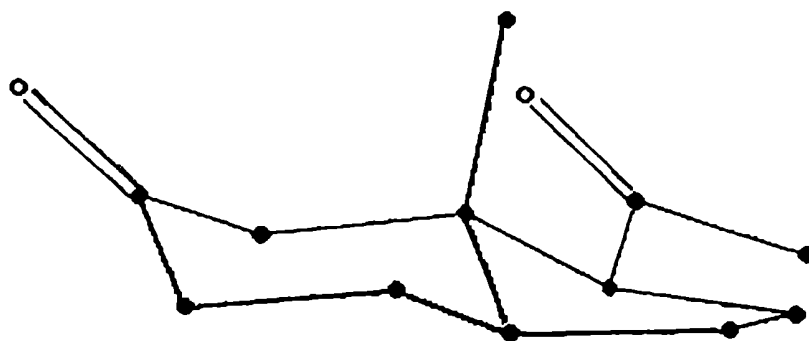


Figura 50- Conformaciones de mínima energía de los anillos C Y D.

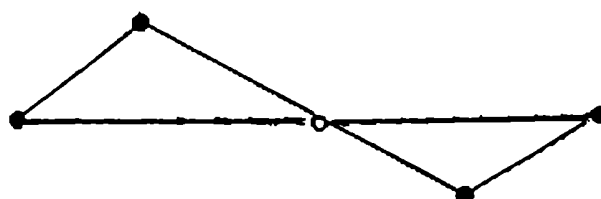


Figura 51- Conformación de mínima energía del anillo E  
(semisilla).

C(13) fueron: C(8) 0,00; C(9) 0,00; C(11) 0,64; C(12) 0,00; C(13) 0,00; C(14) -0,69 Å.

Anillo D- La conformación de mínima energía para el anillo D (figura 50) fue un sobre-13 $\beta$  cuyos valores de los parámetros de

asimetría fueron:  $\Delta C_5^{13} = 8,2$ ;  $\Delta C_2^{13,14} = 13,7$  y  $\Delta C_2^{13,17} = 33,3$ .

Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(14), C(15), C(16) y C(17) fueron: C(13) 0,71; C(14) -0,03; C(15) 0,05; C(16) -0,03; C(17) 0,02 Å.

**Anillo E-** Este presentó una conformación de mínima energía de semisilla  $5B,10\alpha$  ( $\Delta C_2^{5,10} = 3,9$ ). En la figura 51 se ilustra esta conformación preferencial.

Tabla 10- Parámetros geométricos del confórmero 1 de 6,19-óxido-  
-11-cetoprogesterona (13).

Ángulos diedros correspondientes a la unión entre anillos:

A/A-B	-19,6°	B/B-C	-43,0°	C/C-D	-47,2°
A-B/B	60,0°	B-C/C	48,8°	C-D/D	44,7°

Conformaciones de las uniones entre anillos:

A/B	cuasi-cis	J=	73,9°
B/C	trans	T=	100,0°
C/D	trans	T=	107,9°

Orientación de grupos funcionales:

Sustituyente	Orientación	Distancia del plano C(5)-C(17)
C(18)	$\beta$ -axial	1,8 Å
C(19)	"	1,5 Å
O(6)	"	0,6 Å
O(20)	"	0,3 Å
O(3)	-	-3,1 Å

Distancias interatómicas entre grupos funcionales:

O(3)-O(6)	5,6 Å	O(6)-C(18)	5,1 Å
O(3)-O(20)	10,5 Å	O(6)-C(19)	1,4 Å
O(3)-C(18)	8,8 Å	O(6)-C(21)	9,0 Å
O(3)-C(19)	5,2 Å	C(18)-C(19)	5,0 Å
O(3)-C(21)	11,5 Å	C(18)-C(21)	4,5 Å
O(6)-O(20)	8,0 Å	C(19)-C(21)	9,0 Å

El análisis del anillo de siete miembros se corresponde con los anteriores. En la tabla 10 se resumen los restantes parámetros geométricos obtenidos.

### Confórmero 2

La conformación total de la molécula del confórmero 2 de 6,19-6xido-11-cetoprogesterona se muestra en la figura 52. La desviación del anillo A con respecto al plano definido por los átomos de C(5) a C(17) es  $-59,17^\circ$ , en este caso se observa una mayor desviación que en el confórmero 1. La desviación standard media ( $\sigma$ ) de los átomos C(5) a C(17) respecto del plano que los contiene fue 0,32 Å. La torsión a lo largo del núcleo esteroideal queda reflejada por el valor del ángulo de torsión C(5)-C(10)-C(13)-C(18) ( $-120,68^\circ$ ).

**Anillo A-** Este presentó una conformación de mínima energía de 1B-sofá cuya simetría dominante es la especular ( $\Delta C_5^1 = 4,8$ ) (figura 53). La mayor desviación de la situación ideal se observó en el eje de rotación que bisecta el enlace C(2)-C(3), el mejor eje de rotación correspondió al que bisecta el enlace C(1)-C(2) ( $\Delta C_2^{2,3} = 49,4$  y  $\Delta C_2^{1,2} = 19,6$ ). El promedio de los ángulos diedros del anillo fue  $25,6^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(3), C(4), C(5) y C(10) fueron: C(1) 0,56; C(2) -0,07; C(3) 0,00; C(4) 0,00; C(5) 0,00; C(10) 0,00 Å.

**Anillo B-** Este anillo presentó una conformación silla altamente distorsionada (figura 54) con una dominancia de la simetría especular ( $\Delta C_5^5 = 2,6$ ) correspondiendo la mayor asimetría al eje de rotación que bisecta el enlace C(9)-C(10) ( $\Delta C_5^{9,10} = 28,9$ ).



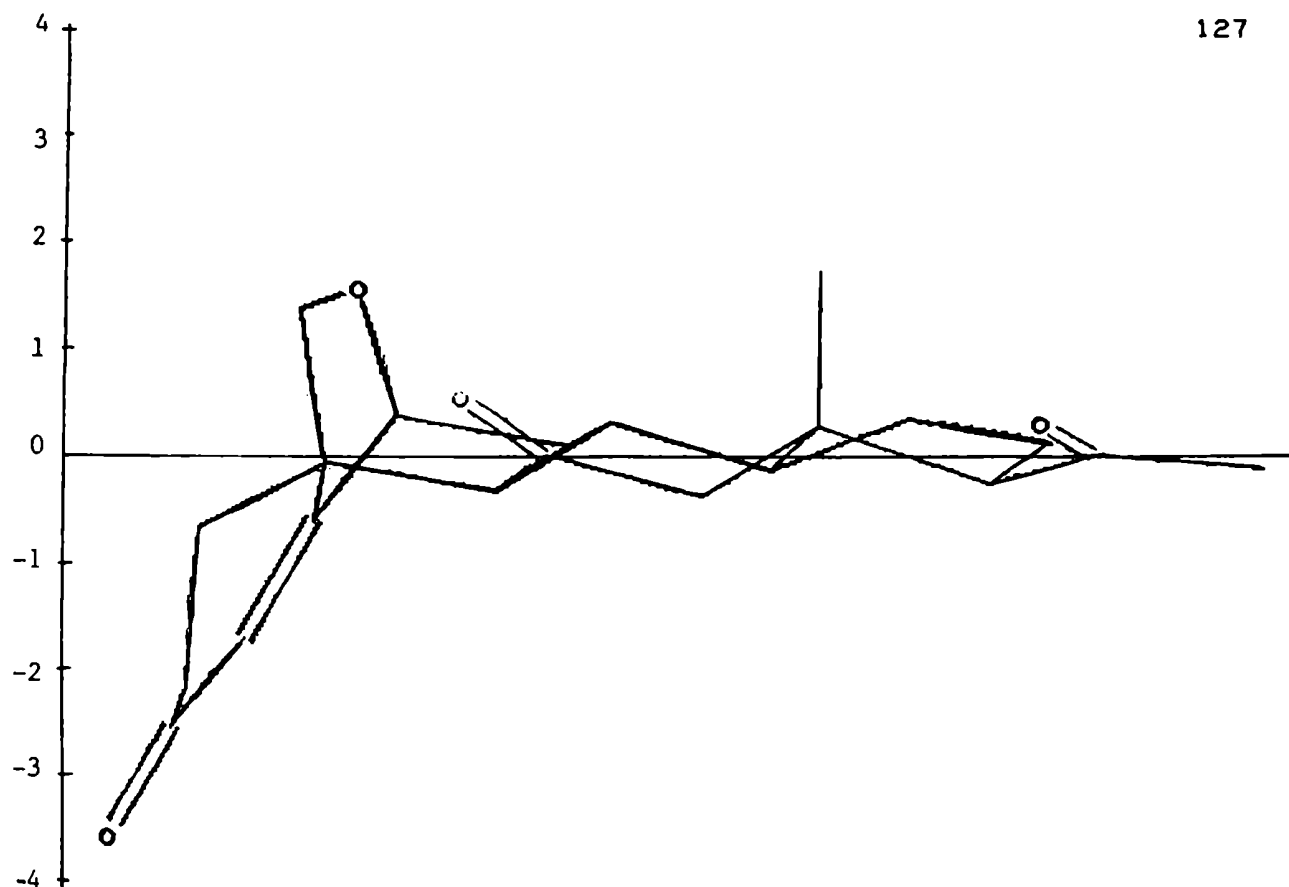


Figura 52- Proyección del conformero 2 de 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) sobre el plano de referencia definido por los átomos de C(5) a C(17).



Figura 53- Conformación de mínima energía del anillo A

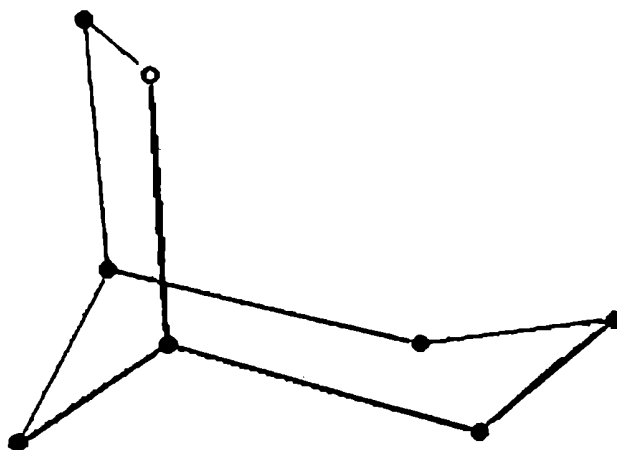


Figura 54- Conformación de mínima energía de los anillos B y E.

El mejor eje de rotación fue el que bisecta el enlace C(5)-C(6),  $\Delta C_2^{5,6} = 11,8$ . El valor promedio de los ángulos diedros del anillo fue  $60,2^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(6), C(7), C(9) y C(10) fueron: C(5)  $-0,85$ ; C(6)  $0,01$ ; C(7)  $-0,01$ ; C(8)  $0,58$ ; C(9)  $0,01$ ; C(10)  $-0,01$  Å.

**Anillo C-** Este presentó una conformación silla de gran simetría dado que los valores de todos los parámetros se encontraron por debajo de 3,7 (figura 55). La simetría especular fue la dominante ( $\Delta C_5^{11} = 0,5$ ), el siguiente elemento en orden decreciente de simetría fue el eje de rotación que bisecta el enlace C(8)-C(9),  $\Delta C_2^{8,9} = 2,2$ , la mayor desviación de la situación ideal se encontró en el eje de rotación que bisecta el enlace C(9)-C(11),  $\Delta C_2^{9,11} = 3,7$ . El valor promedio de los ángulos diedros del anillo

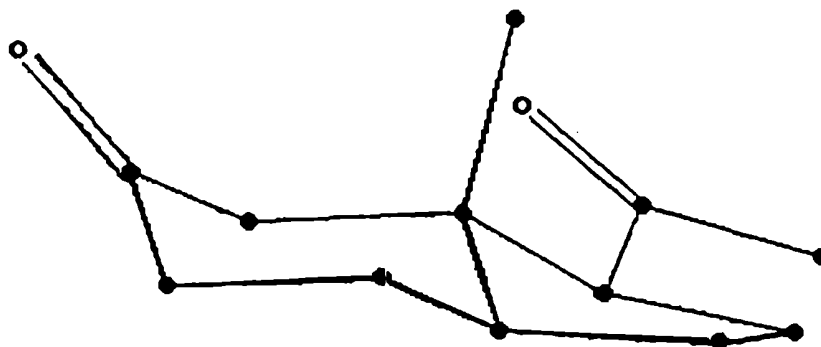


Figura 55- Conformación de mínima energía de los anillos C y D.

llo fue  $57,7^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(8), C(9), C(12) y C(13) fueron: C(8) 0,00; C(9) 0,00; C(11) 0,66; C(12) 0,00; C(13) 0,00; C(14)  $-0,70 \text{ \AA}$ .

Anillo D- Este presentó una conformación de mínima energía de sobre-13 $\beta$  (figura 55) ( $\Delta C_5^{13} = 8,1$ ;  $\Delta C_2^{13,14} = 13,5$ ). Las desviaciones del plano definido por los átomos C(14), C(15), C(16) y C(17) fueron: C(13) 0,69; C(14)  $-0,03$ ; C(15) 0,05; C(16)  $-0,03$ ; C(17) 0,00  $\text{ \AA}$ .

Anillo E- Este anillo se generó a partir del 6 $\beta$ ,19-epóxido y presentó una conformación 5 $\alpha$ ,10 $\beta$ -semisilla (figura 56), los parámetros de asimetría correspondientes fueron  $\Delta C_2^{5,10} = 7,5$ ;  $\Delta C_5^5 = 10,4$ .

El anillo de siete miembros no presentó modificaciones con respecto a las estructuras anteriores. En la tabla 11 se resumen los restantes parámetros obtenidos.

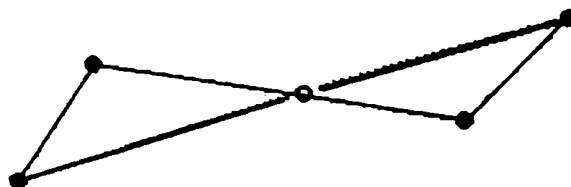


Figura 56- Conformación de mínima energía del anillo E  
(semisilla).

Tabla 11- Parámetros geométricos del conformero 2 de 6,19-6xido  
-11-cetoprogesterona.

Ángulos diedros correspondientes a la unión entre anillos:

A/A-B	19,9°	B/B-C	-43,4°	C/C-D	-48,2°
A-B/B	63,2°	B-C/C	49,5°	C-D/D	43,5°

Conformaciones de las uniones entre anillos:

A/B	cuasi-cis	J=	95,6°
B/C	trans	T=	100,6°
C/D	trans	T=	107,3°

Orientación de grupos funcionales:

Sustituyente	Orientación	Distancia del plano C(5)-C(17)
C(18)	$\beta$ -axial	1,7 Å
C(19)	"	1,5 Å
O(6)	"	1,8 Å
O(20)	"	0,1 Å
O(3)	-	-3,5 Å

Distancias interatómicas entre grupos funcionales:

O(3)-O(6)	5,8 Å	O(6)-C(18)	5,2 Å
O(3)-O(20)	10,1 Å	O(6)-C(19)	1,4 Å
O(3)-C(18)	8,6 Å	O(6)-C(21)	9,0 Å
O(3)-C(19)	5,4 Å	C(18)-C(19)	4,9 Å
O(3)-C(21)	11,2 Å	C(18)-C(21)	4,4 Å
O(6)-O(20)	8,0 Å	C(19)-C(21)	8,9 Å

III. 11,19-OXIDOPROGESTERONA (14)

Cualitativamente se observa en la figura 57 la conformación total de la molécula de 11,19-oxidoprogesterona. Comparativamente a los esteroides estudiados anteriormente, este compuesto presenta la menor desviación del anillo A con respecto al plano de cuadrados mínimos definido por los átomos de C(5) a C(17) ( $-14,56^\circ$ ). La desviación standard ( $\sigma$ ) media de los átomos C(5) a C(17) respecto del plano que los contiene fue 0,26 Å. El ángulo de torsión C(5)-C(10)-C(13)-C(18) fue  $-84,44^\circ$ .

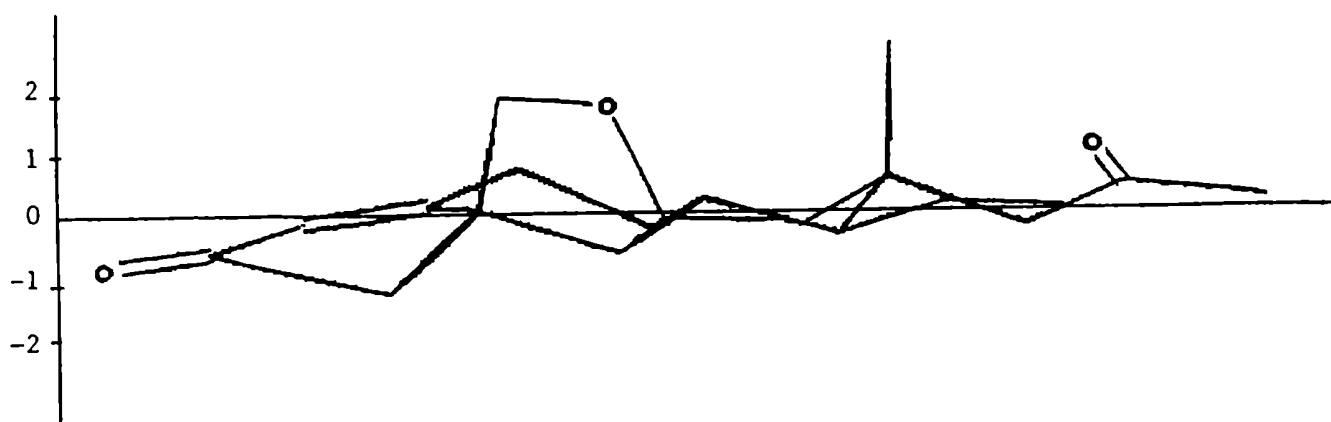


Figura 57- Proyección de la molécula de 11,19-oxidoprogesterona (14) sobre el plano de referencia definido por los átomos de C(5) a C(17).



Figura 58- Conformación de mínima energía del anillo A.

**Anillo A-** Este presentó una conformación de mínima energía  $1\alpha$ -sofá (figura 58) con una fuerte dominancia especular ( $\Delta C_5^1 = 0,3$ ), la mayor desviación se encontró en el eje de rotación ortogonal al plano mencionado en primer lugar,  $\Delta C_5^{2,3} = 52,0^\circ$ . Los parámetros para los dos ejes restantes coincidieron en un valor de 26. El promedio de los ángulos diedros del anillo fue  $25,8^\circ$ . Las desviaciones del plano definido por los átomos C(3), C(4), C(5) y C(10) fueron: C(1)  $-0,63$ ; C(2)  $0,00$ ; C(3)  $0,00$ ; C(4)  $0,00$ ; C(5)  $0,00$ ; C(10)  $0,00$  Å.

**Anillo B-** La conformación de mínima energía del anillo B (figura 59) fue una silla con algunas distorsiones, donde se retuvo la simetría de rotación ( $\Delta C_2^{5,10} = 2,8$ ) a expensas de la simetría especular ( $\Delta C_5^6 = 22,3$ ). Esto revela que el anillo sufrió una torsión con respecto a la situación ideal. El mejor plano especular fue el que atraviesa los átomos C(5)-C(8) ( $\Delta C_5^5 = 9,9$ ). El valor promedio de los ángulos de torsión fue  $50,7^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(6),



Figura 59- Conformación de mínima energía del anillo B.

C(7), C(9) y C(10) fueron: C(5)  $-0.44$ ; C(6)  $0,06$ ; C(7)  $-0,05$ ; C(8)  $0,75$ ; C(9)  $0,04$ ; C(10)  $-0,05$  Å.

**Anillo C-** Los cambios conformacionales que presentó el anillo C, con respecto a la situación ideal, son similares a los mencionados para el anillo B. Se trata de una silla (figura 60) en donde se retuvo la simetría de rotación a expensas de la especular, es decir que la molécula sufrió una torsión. El mejor eje de rotación fue el que bisecta el enlace C(8)-C(14) ( $\Delta C_2^{8,14} = 1,8$ ), el parámetro correspondiente al plano ortogonal al eje mencionado presentó un valor de  $17,2$ . El mejor plano especular fue el que atraviesa el átomo C(11) ( $\Delta C_s^{11} = 7,8$ ). El promedio de los ángulos diedros en el anillo fue  $53,9^\circ$ . Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(8), C(9), C(12) y C(13) fueron: C(8)  $0,04$ ; C(9)  $-0,04$ ; C(11)  $0,53$ ; C(12)  $0,03$ ; C(13)  $-0,03$ ; C(14)  $-0,73$  Å.

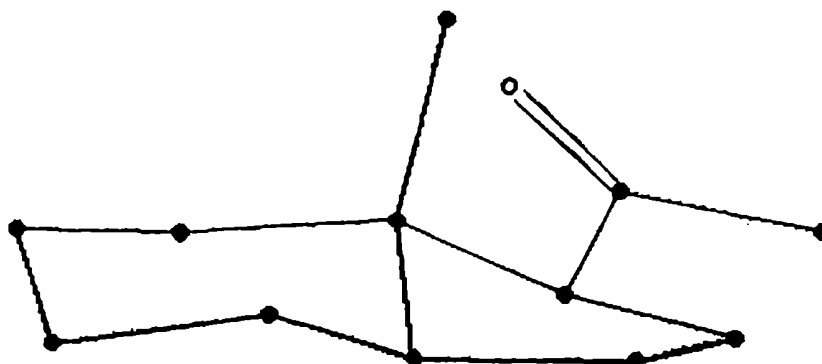


Figura 60- Conformación de mínima energía de los anillos C y D.

Anillo D- Este presentó una conformación sobre  $13\beta$  distorsionada (figura 60) ( $\Delta C_5^{13} = 9,8$ ;  $\Delta C_2^{13,14} = 11,8$ ). Las desviaciones del plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C(14), C(15), C(16) y C(17) fueron: C(13) 0,72; C(14) -0,03; C(15) 0,05; C(16) -0,04; C(17) 0,02 Å.

La formación del éter cíclico 11,19 da lugar a un nuevo anillo de cinco miembros (E) que tiene una conformación de mínima energía sobre  $9\alpha$  (figura 61) con dominancia de simetría especular ( $\Delta C_5^9 = 1,5$ ;  $\Delta C_2^{9,10} = 19,8$ ). En la tabla 12 se resumen los restantes parámetros geométricos obtenidos.



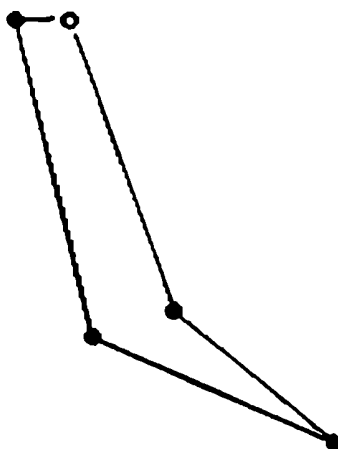


Figura 61- Conformación de mínima energía del anillo E.

Tabla 12- Parámetros geométricos de 11,19-óxidoprogesterona

(14).

Ángulos diedros correspondientes a la unión entre los anillos:

A/A-B	-31,7°	B/B-C	-59,2°	C/C-D	-43,2°
A-B/B	53,7°	B-C/C	45,0°	C-D/D	45,8°

Conformaciones de las uniones entre anillos:

A/B	cuasi-cis	J=	60,4°
B/C	trans	T=	118,8°
C/D	trans	T=	109,0°

Orientación de los grupos funcionales:

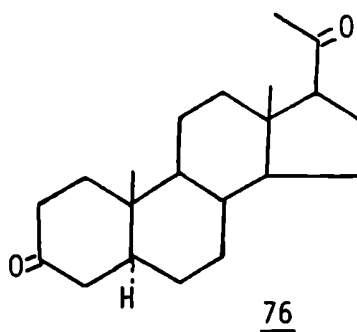
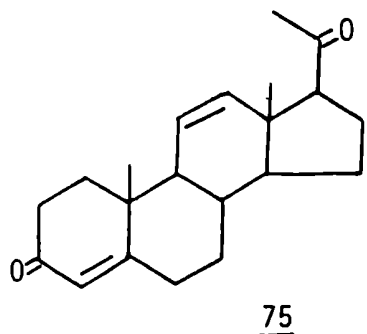
Sustituyente	Orientación	Distancia del plano C(5)-C(17)
C(18)	$\beta$ -axial	1,9 Å
C(19)	"	1,3 Å
O(6)	"	1,2 Å
O(20)	"	0,8 Å
O(3)	-	-0,7 Å

Distancias interatómicas entre grupos funcionales:

O(3)-O(11)	6,3 Å	O(11)-C(18)	3,3 Å
O(3)-O(20)	11,1 Å	O(11)-C(19)	1,4 Å
O(3)-C(18)	8,9 Å	O(11)-C(21)	7,0 Å
O(3)-C(19)	5,0 Å	C(18)-C(19)	4,2 Å
O(3)-C(21)	12,5 Å	C(18)-C(21)	4,3 Å
O(11)-O(20)	5,2 Å	C(19)-C(21)	8,2 Å

## CONCLUSIONES

A partir del análisis de las estructuras de mínima energía para los conformeros de 6,19- $\delta$ xidoprogesterona (12) y 6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona (13) se observó que ambos compuestos eran planos en la zona de los anillos B-C-D y parte del A con una curvatura apreciable hacia la cara  $\alpha$  del sistema  $\Delta^4$ -3-ceto mientras que la 11,19- $\delta$ xidoprogesterona (14) presentaba una estructura global plana del núcleo esteroidal. Estas conclusiones se reflejan claramente al comparar los valores del ángulo entre el anillo A y el plano de referencia C(5)-C(17), la distancia entre el O(3) y C(17), la distancia del O(3) al plano de referencia C(5)-C(17) y la desviación standard media de los átomos C(5) a C(17) respecto de este plano para los esteroides sintetizados (12, 13 y 14), progesterona (7), 11-cetoprogesterona (29),  $\Delta^{11}$ -progesterona (75) y



un esteroide típicamente plano  $5\alpha$ -pregnano-3,20-diona (76) (Tabla 13). El ángulo O(3)-C(3)-C(4)-C(5) ( $\phi$ ) indica el grado de planaridad del sistema pi. Debido a que la diferencia energética entre los conformeros 1 y 2 de los 6,19-óxidoesteroides se encuentra dentro del error del método no es posible establecer a partir de datos de cálculo la distribución poblacional en el equilibrio. Sin embargo, se puede inferir una tendencia considerando los datos de UV obtenidos. En el caso de 6,19-óxido-11-cetoprogesterona la longitud de onda máxima ( $\lambda_{\max}$ ) fue 238 nm que comparada con el valor calculado según las reglas de Woodward (249 nm) revelaría un alejamiento de la conjugación. Este hecho indicaría una mayor contribución del conformero 1 en el equilibrio considerando los datos calculados mediante PCMODEL. Para el caso de 11,19-óxidoprogesterona (14) se obtuvo una longitud de onda máxima ( $\lambda_{\max}$ ) de 242 nm siendo el valor calculado según las reglas de Woodward 244 nm lo cual concuerda con el dato obtenido mediante PCMODEL que indicaría que el sistema  $\Delta^4$ -3-ceto se encuentra perfectamente conjugado obteniéndose un dato más acerca de la planaridad del compuesto. En la figura 62 se comparan las proyecciones de la 11,19-óxidoproges-terona (14) y progesterona (7) sobre el plano de referencia, observándose la menor desviación del anillo A y la mayor planaridad que presenta la 11,19-óxidoprogesterona.

Como se mencionó en el capítulo 1, existe una aparente correlación entre la fuerza de la afinidad de unión para el receptor mineralocorticoide o la potencia de la actividad del mineralocorticoide *in vivo* y el grado de planaridad de las conformaciones de algunas hormonas mineralocorticoideas naturales y 18-deoxialdosterona

Tabla 13- Comparación de parámetros geométricos obtenidos con MMX/PCMODEL.

	O(3)-C(17) (Å)	$\beta$ (°)	O(3)/C(5)-C(17) (Å)	$\Phi$ (°)	$\sigma$ (Å)
6,19- $\delta$ xidoP ( <u>12</u> )					
confórmero 1A	9,0	-43,7	-3,0	162,8	0,27
confórmero 2A	8,7	-57,0	-3,3	-178,8	0,27
6,19- $\delta$ xido-11-cetoP ( <u>13</u> )					
confórmero 1A	9,0	-44,9	-3,1	164,5	0,28
confórmero 2A	8,7	-59,1	-3,5	-178,9	0,32
11,19- $\delta$ xidoP ( <u>14</u> )					
confórmero A	9,9	-14,6	-0,7	-179,3	0,26
confórmero B	9,9	-13,7	-0,7	-178,9	0,25
progesterona ( <u>7</u> )	9,7	-25,2	-1,7	178,7	0,23
11-cetoP ( <u>38</u> )	9,8	-24,9	-1,6	178,7	0,22
$\Delta^{11}$ -P ( <u>84</u> )	9,8	-19,4	-1,3	-179,8	0,26
5 $\alpha$ -pregnano 3,20-diona ( <u>76</u> )	9,8	-9,0	-1,4	-	0,24

$\beta$ : Angulo A/C(5)-C(17)

$\Phi$ : Angulo O(3)-C(3)-C(4)-C(5)

$\sigma$ : Desviación standard media de los átomos C(5)-C(17) al plano C(5)-C(17).

P: progesterona; A y B se refieren a las dos orientaciones posibles de la cadena lateral (pág 105).

sintética. Una fuerte unión al receptor y una alta actividad mineralocorticoide in vivo se manifiestan al eliminar sustituyentes que provocarían una curvatura hacia la cara  $\alpha$  (por ej. metilo-19 y 11 $\beta$ -hidroxi) y también después de la formación de un puente éter o

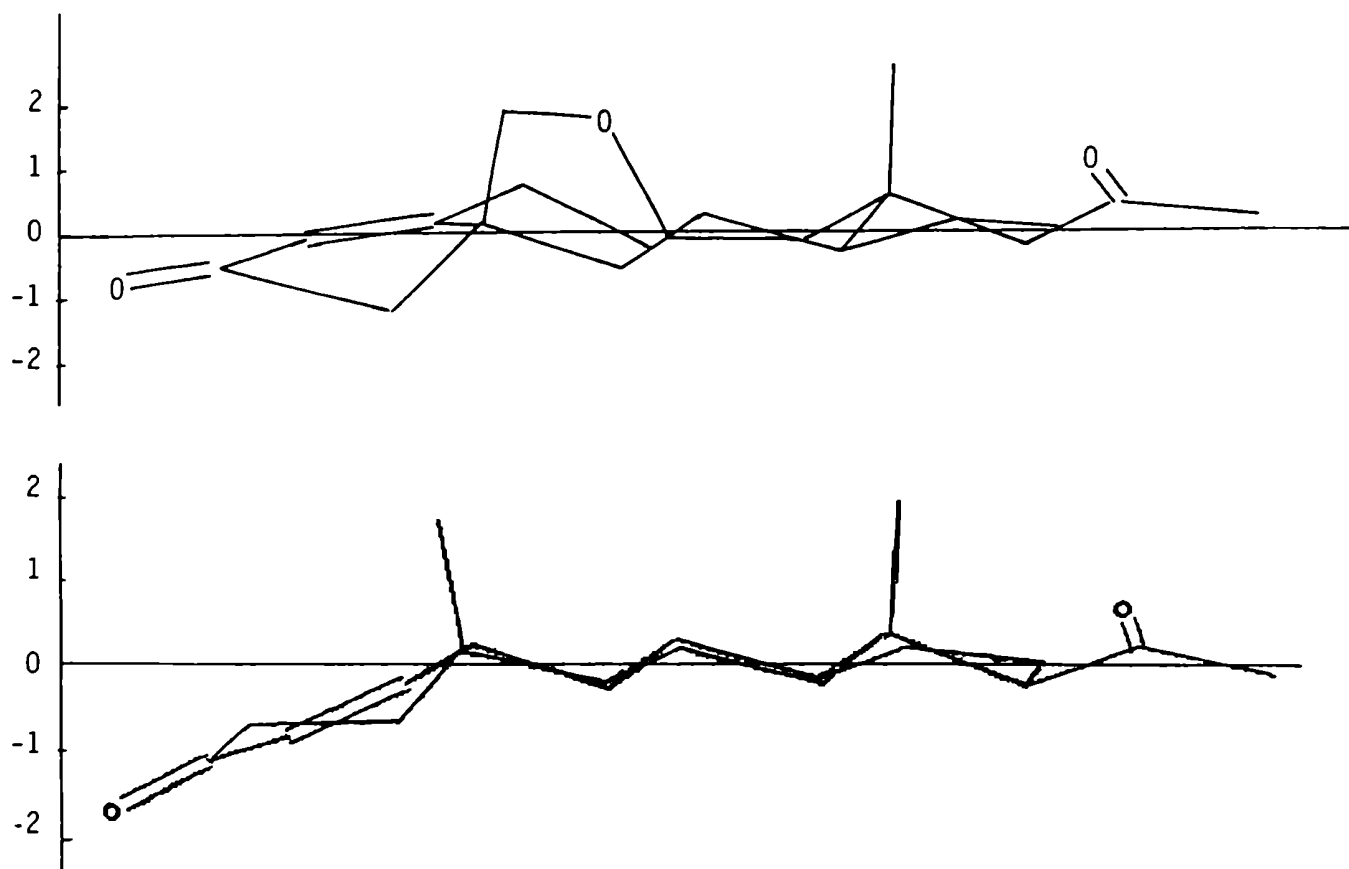


Figura 62- Comparación de las proyecciones de las estructuras de mínima energía de progesterona (7) y 11,19-dioxoprogesterona (14).

un puente acetal que podrían inducir en la molécula una conformación plana. En este sentido, Kamata y colaboradores [1] supusieron que un efecto conformacional similar al que se menciona, ocurriría con la introducción de un doble enlace entre el C(11) y el C(12),

en función de lo cual sintetizaron 21-hidroxipregna-4,11-dieno-3,20-diona (**11**,  $\Delta^{11}$ -DOC). El análisis del compuesto por difracción de rayos X y por cálculos usando el programa MMP1 indicó que  $\Delta^{11}$ -DOC es una molécula plana, observándose para la misma una afinidad al receptor mineralocorticoide aproximadamente 3 veces mayor que DOC (**2**).

A partir de estos datos, en el presente trabajo se realizó una superposición de cuadrados mínimos utilizando el programa PCMODEL entre  $\Delta^{11}$ -progesterona (**75**) y la 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (**14**) sintetizada resultando esta última visiblemente más plana que la primera. Los parámetros correspondientes a  $\Delta^{11}$ -progesterona calculados con MMX/PCMODEL se incluyen en la tabla 13. En consecuencia puede predecirse, en función de datos conformacionales, que la actividad biológica de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (**14**) sería aún mayor. Finalmente, cabe aclarar que debido a los resultados obtenidos del análisis en solución (pág 149), en la tabla 13 se incluyen los parámetros de los conformeros A y B correspondientes a las dos orientaciones de la cadena lateral de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona no observándose mayores diferencias entre los mismos.

Mediante cálculos con el programa PCMODEL es posible obtener las áreas polares y no polares de las esferas de hidratación y de Van der Waals (Tabla 14, figura 63). Estos datos son útiles dado que es sabido que las fuerzas de unión para interacciones esteroide-receptor son primariamente hidrofóbicas excepto para interacciones polares más específicas. En consecuencia correlaciones más precisas entre actividad y estructura deben incluir parámetros como superficie hidrofóbica, términos polares y términos relaciona-

Tabla 14- Areas polares y no polares de las esferas de hidratación y de Van der Waals.

	esfera de hidratación ( $\text{\AA}^2$ )		esfera de Van der Waals ( $\text{\AA}^2$ )	
	No polar	polar	No polar	polar
6,19- $\delta$ xidoprogesterona ( <u>12</u> )				
confórmero 1	395,8	89,0	265,1	57,8
confórmero 2	403,1	89,6	268,3	58,4
6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona ( <u>13</u> )				
confórmero 1	394,9	110,5	261,7	74,2
confórmero 2	391,8	109,7	259,8	76,6
11,19- $\delta$ xidoprogesterona ( <u>14</u> )	395,2	88,0	267,3	53,0
progesterona ( <u>7</u> )	419,5	75,9	277,7	43,0
11-cetoprogesterona ( <u>29</u> )	405,6	93,4	267,9	60,5
5 $\alpha$ -pregnano-3,20-diona ( <u>76</u> )	419,4	68,0	280,7	40,6

El área total es la suma de las áreas polares y no polares respectivas.

dos con la presencia y posición de grupos cetónicos [83]. La variación del coeficiente de partición octanol-agua (P) de la molécula estudiada, el cual es comunmente usado para predecir diversas propiedades biológicas de la misma (transporte transmembrana, unión a proteínas, afinidad a receptor, actividades farmacológicas), es generalmente descripta en función de parámetros geométricos de la molécula, entre los cuales se encuentran la superficie de las esferas de hidratación y el volumen [84].

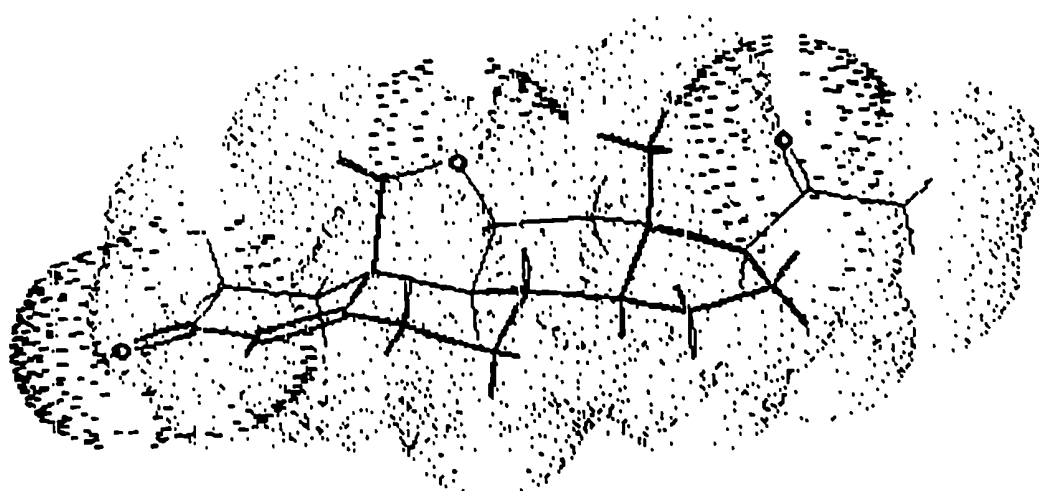
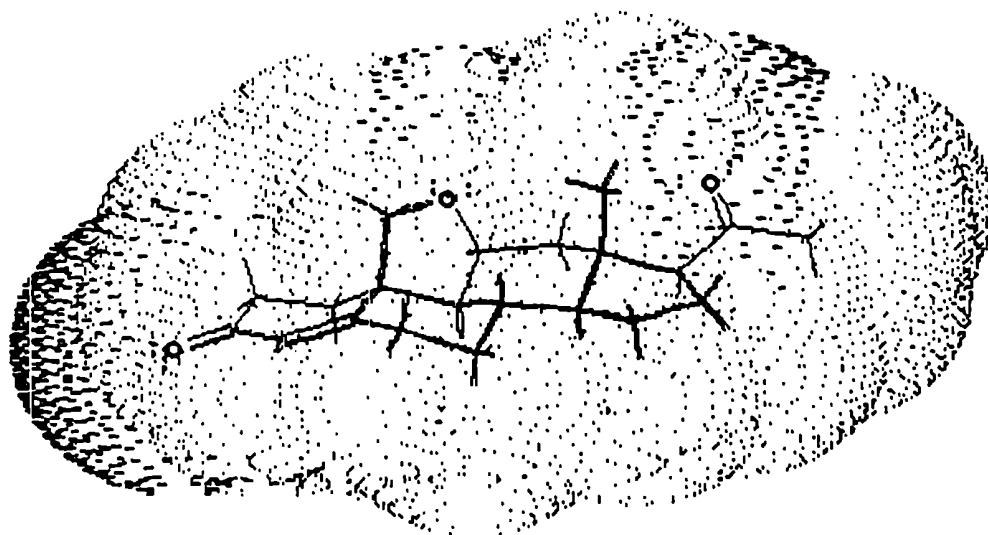


Figura 63- Esfera de hidratación y de Van der Waals de 11,19-6xi-  
doprogesterona (14) (MMX/PCMODEL)



## DETERMINACION DE LAS BARRERAS ROTACIONALES DE METILOS ANGULARES POR EL METODO DE WOESSNER

### Generalidades

La relajación dipolo-dipolo es el mecanismo de relajación predominante en núcleos de spin 1/2 unidos a otros núcleos del mismo spin. Los procesos de movimientos moleculares influyen en dicho mecanismo, pudiendo tratarse de movimientos de la molécula como un todo así como de ciertas porciones de la misma respecto del resto. En el caso particular de los esteroides estudiados, resulta interesante analizar la rotación del metilo angular 18 respecto del esqueleto esteroideal [85]. La velocidad de rotación de los metilos depende de la interacción de los mismos con otros átomos espacialmente cercanos, brindando datos acerca de la disposición tridimensional de la molécula. Woessner desarrolló la herramienta matemática que permite determinar la rotación de un metilo en cualquier molécula, en forma aislada del movimiento global de la misma [86].

La contribución de la relajación dipolo-dipolo ( $T_1(DD)$ ) a la relajación spin-red ( $T_1$ ) se puede determinar a partir de este último parámetro y del incremento por efecto nuclear Overhauser ( $\eta$ ) a través de la ecuación:

$$T_1(DD) = T_1 \frac{\eta(\text{máx})}{\eta}$$

donde, en el caso de la interacción  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$   $\eta(\text{máx})=1,988$ .

El  $T_1$  de un  $^{13}\text{C}$  puede relacionarse con su tiempo de correlación efectivo ( $\tau_c$ ) a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{T_1(\text{DD})} = N \gamma_C^2 \gamma_H^2 \hbar^2 r_{\text{CH}}^{-6} \tau_c$$

donde  $N$  corresponde al número de protones unidos al  $^{13}\text{C}$  que se relaja,  $\gamma_C$  y  $\gamma_H$  son las constantes giromagnéticas de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  respectivamente, y  $r_{\text{CH}}$  es la distancia de la unión C-H. En condiciones de movimiento isotrópico sin movimientos internos, el tiempo de correlación se relaciona con el coeficiente de difusión de la molécula ( $D$ ) según la siguiente ecuación:

$$\tau_c = \frac{1}{6D}$$

Cuando el movimiento molecular es anisotrópico aparecen tres coeficientes de difusión distintos según los tres ejes de referencia, complicándose notablemente la relación entre  $\tau_c$  y los coeficientes de difusión. En el caso que el átomo observado posea movilidad interna, aparece un nuevo término de difusión correspondiente al coeficiente de difusión interna ( $D_i$ ). Finalmente en el caso de los metilos, el eje de rotación de los mismos puede o no coincidir con el eje preferencial de difusión general.

En general, salvo casos muy particulares, se utiliza la aproximación de movimientos isotrópicos, simplificándose el problema. En ese caso los coeficientes de difusión general se reducen a uno sólo coincidiendo el eje de rotación interna del metilo con el molecu-

lar, ya que éste último no tiene una dirección preferencial debido al movimiento isotrópico.

Existe, además, una última consideración sobre el movimiento de un metilo:

-El movimiento puede ser tal que todas las orientaciones del metilo tengan igual probabilidad (movimiento I).

-El movimiento del metilo se produce por rápidos saltos entre algunas posiciones determinadas (por ejemplo las posiciones alternadas, donde la interacción estérica de los hidrógenos con los sustituyentes del carbono a que está unido el metilo es mínima) (movimiento II).

Dado que no existe consenso acerca de cual de estos mecanismos es el apropiado [87] en esta tesis se utilizaron ambas hipótesis para los cálculos. Las ecuaciones resultantes para la relajación de metilos luego de la aproximación anterior son (para los movimientos I y II respectivamente):

$$\frac{1}{T_1(\text{DD})} = 3 \gamma_C^2 \gamma_H^2 h^2 r_{\text{CH}}^{-6} \left( \frac{A}{6D} + \frac{B}{6D + 4D_i} + \frac{C}{6D + 4D_i} \right)$$

$$\frac{1}{T_1(\text{DD})} = 3 \gamma_C^2 \gamma_H^2 h^2 r_{\text{CH}}^{-6} \left( \frac{A}{6D} + \frac{B + C}{6D + 3/2 D_i} \right)$$

A, B, y C son factores geométricos determinados por el ángulo entre el vector que conecta el dipolo (en este caso la unión C-H) y el eje de rotación interna (C-CH<sub>3</sub>) [87].

Si se dispone del valor de D, es posible calcular D<sub>i</sub> a partir de las ecuaciones anteriores. D puede calcularse a partir del T<sub>1</sub>(DD) de un carbono rígido de la molécula, el cual sólo sufriría

el movimiento isotrópico general. Por lo tanto mediante la determinación de  $T_1$  y  $\eta$  del metilo y de un carbono del esqueleto rígido de la molécula es posible calcular la rotación interna del metilo.

Para simplificar los cálculos se realiza el cociente entre las ecuaciones que relacionan los  $T_1(DD)$  con los coeficientes de difusión general ( $D$ ) e interna ( $D_i$ ) para el carbono que interesa (metilo) y para un carbono del esqueleto rígido de la molécula (en general se usa un metino), resultando:

$$\frac{T_1\text{CH(DD)}}{T_1\text{CH}_3\text{(DD)}} = 18 \left( \frac{A}{6} + \frac{B}{6 + \rho} + \frac{C}{6 + 4\rho} \right)$$

$$\frac{T_1\text{CH(DD)}}{T_1\text{CH}_3\text{(DD)}} = 18 \left( \frac{A}{6} + \frac{B + C}{6 + 3/2\rho} \right)$$

$$\rho = \frac{D_i}{D}$$

para los movimientos I y II respectivamente.

Para obtener la barrera de rotación del metilo ( $V_0$ ) a partir de  $D_i$  debería hacerse un estudio en función de la temperatura, aplicándose una expresión del tipo de la de Arrhenius:

$$D_i = D_{i0} \exp\left(-\frac{V_0}{RT}\right)$$

Sin embargo debido al tiempo requerido para este tipo de determinaciones el método resulta poco práctico. En general se calcula  $V_0$  de la ecuación anterior considerando el valor de  $D_i$  a una sola temperatura.  $D_{i0}$  es el coeficiente de difusión rotacional de un metilo cuya rotación es libre ( $V_0=0$ ) y tiene un valor de:

$$D_{i0} = \frac{k}{I} T^{1/2} = 0,86 \cdot 10^{13} \text{ s}^{-1} \text{ (30°C)}$$

donde  $I$  es el momento de inercia del grupo metilo [88].

Debido a las suposiciones realizadas a lo largo de la deducción de las ecuaciones anteriores (movimiento isotrópico, eje de rotación interna coincidente con el eje general, derivación de  $V_0$  a partir de una sola temperatura), así como los errores en la medición de  $T_1$  y  $\eta$ , del método Woessner resultan valores semicuantitativos para las barreras de rotación. Sin embargo para una serie de compuestos relacionados, medidos en iguales condiciones, muchos de los errores sistemáticos y experimentales permanecen constantes, de modo que es posible utilizar el método en forma comparativa dentro de la serie [87].

Los antecedentes de estudios comparativos en esteroides son los realizados por Apsimon y colaboradores [85] y por M.D.Gonzalez en su tesis doctoral [89]. Los primeros emplearon la aproximación de movimiento isotrópico para la molécula esteroideal (dado que el tiempo de relajación del C-3, sobre el eje mayor del esteroide, no difería mayormente de los del resto de los carbonos del esqueleto esteroideal), y el movimiento homogéneo para los metilos (A=1/9, B=8/27 y C=16/27). Por último consideraron que el único mecanismo de relajación era el dipolo-dipolo, considerando  $T_1 = T_1(DD)$  (es decir  $\eta = 1,988$ ).

En cuanto a las limitaciones del método, en condiciones óptimas se ha encontrado que un error del 3% en la medición de  $T_1$  y del 2% en la correspondiente al enO, se traducen en un error del 10% en el valor de la barrera, siendo el porcentaje de error mayor para barreras menores a 1 Kcal/mol.

Las constantes A, B y C que aparecen en la ecuación que relaciona  $T_1$  con D son factores geométricos determinados por el ángulo  $\Delta$  entre el vector que conecta los dipolos (el enlace C-H) y el eje de rotación interna (C-CH<sub>3</sub>). En los primeros cálculos se asumió dicho ángulo como tetraédrico, encontrándose que cualquier desviación de esta situación significaría un considerable error en la barrera [90]. De igual modo se encontró que pequeños cambios en el valor del  $r_{CH}$  podrían alterar el cálculo del tiempo de correlación total.

En vista de los interesantes resultados obtenidos en la aplicación del método de Woessner por los autores mencionados, para la determinación de la rotación de los metilos angulares de esteroides y las alteraciones conformacionales que evidencian se decidió ensayar el método sobre 6,19-óxidoprogesterona (**12**), 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (**13**) y 11,19-óxidoprogesterona (**14**) de modo de obtener un dato experimental sobre la barrera de rotación del metilo 18 el cual brindaría información acerca de las diferencias conformacionales de dichos esteroides. Paralelamente se realizó el cálculo de la barrera de rotación del metilo para los conformeros obtenidos por PCMODEL y MMX, mediante cálculos de mecánica molecular (PCMODEL).

Estos cálculos además, permitieron medir los ángulos y distancias C-H con los cuales se corrigieron los valores de A, B y C, y el valor de  $\tau_c$ . Los valores de las barreras obtenidos en esas condiciones diferían en un 4% de los obtenidos con la aproximación tetraédrica, valor que está dentro del error del método.

## Resultados

Para la medición de  $T_1$  se eligió la técnica de inversión recuperación rápida (inversión recuperación pero sin permitir la completa relajación de los carbonos entre cada secuencia de pulsos) [90]. La ecuación que relaciona la intensidad de la señal observada con el tiempo de espera ( $T_m$ ) y  $T_1$  es la siguiente :

$$I_{\infty} - I_{T_m} = I_{\infty} [2 - \exp(-D'/T_1)] \exp(-T_m/T_1)$$

donde  $I_{T_m}$  e  $I_{\infty}$  son las intensidades de la señal de un carbono para un  $T_m$  cualquiera y  $T_m = \infty$  respectivamente;  $D' = A_t + T'$ .

Los  $T_1$  fueron calculados a partir de la ecuación anterior mediante una regresión no lineal de cuadrados mínimos [91], la cual no requiere la determinación de  $I_{\infty}$ , principal fuente de error en regresiones lineales simples [90b] y cuya medición insume un tiempo considerable.

La determinación de  $\eta$ , a través de la secuencia de pulsos esquematizada en la página 185, fue realizada en base a la integración de los picos, ya que no fue posible realizarlo en base a sus alturas debido a las variaciones en el ancho de los mismos entre los espectros con y sin enO.

Se determinaron los  $T_1$  y  $\eta$  de los esteroides indicados a una concentración de 100 mg/ml en  $CDCl_3$ . Los resultados se resumen en la tabla 15. En la misma se describen los valores obtenidos para los carbonos alifáticos solamente, ya que los olefinicos (C-4 y C-5) y los carbonílicos (C-3, C-20 y C-11) se hallaban en una región del espectro donde los ángulos de pulso efectivos para los pulsos de  $90^\circ$  y  $180^\circ$  eran sensiblemente menores [90b].

Tabla 15- Tiempo de relajación spin-red ( $T_1$ ), incremento por efecto nuclear Overhauser ( $\eta$ ) y tiempo de relajación dipolo-dipolo ( $T_1(\text{DD})$ ) de los carbonos alifáticos protonados de 6,19-óxidoprogesterona (12), 6,19-óxido-11-~~11~~ cetoprogesterona (13) y 11,19-óxidoprogesterona (14).

C	<u>12</u>			<u>13</u>			<u>14</u>		
	$T_1$	$\eta$	$T_1(\text{DD})$	$T_1$	$\eta$	$T_1(\text{DD})$	$T_1$	$\eta$	$T_1(\text{DD})$
1	0,58	1,46	0,79	0,58	1,60	0,73	b		
2	0,64	1,36	0,94*	0,63	1,73	0,73	0,68	1,38	0,97
6	a			a			0,68	1,42	0,95
7	0,55	1,46	0,75	0,55	1,98	0,55	0,67	1,67	0,80
8	1,17	1,66	1,39	c			b		
9	1,24	1,49	1,65	0,94	1,88	0,99*	1,21	1,23	1,95
11	0,64	1,63	0,79	-	-	-	a		
12	0,69	1,88	0,72	c			0,65	1,38	0,94
14	1,18	1,67	1,41	1,17	1,47	1,59	1,41	1,53	1,84
15	b			0,65	2,09	0,65	0,65	1,61	0,80
16	b			0,63	1,88	0,67	0,68	1,70	0,79
17	1,17	1,74	1,34	1,10	1,81	1,21	1,35	1,38	1,95
18	2,20	2,00	2,20	1,83	2,00	1,83	1,58	2,0	1,58
19	a			a			0,66	1,75	0,75
21	3,68	1,85	3,95	1,08	2,00	1,08	3,01	1,97	3,08

a-Señales superpuestas con el solvente

b-Señales superpuestas entre sí

c-Señales que presentan un decaimiento multiexponencial

\*-Datos descartados para el cálculo de  $\langle NT_1 \rangle$  en tabla 16.

Tampoco se indican los carbonos cuaternarios (C-10 y C-13) ya que el rango de  $T_m$  utilizado no era el adecuado para el cálculo de los  $T_1$  correspondientes, considerablemente mayores.

Según se deduce de la ecuación que relaciona los  $T_1(\text{DD})$  con  $\tau_c$ , todos los átomos de carbono de la parte rígida de la molécula (esqueleto esteroideal) con igual número de átomos de hidrógeno unidos (N) deberían poseer igual  $T_1(\text{DD})$ , es decir que el producto  $NT_1(\text{DD})$  debería mantenerse aproximadamente constante dentro del



error de la experiencia. En el caso del metilo angular (C-18) y el metilo C-21 el valor  $NT_1$  es mayor que en los carbonos del esqueleto rígido, debido a rotación interna de ambos metilos, lo cual disminuye el  $\tau_C$  y por lo tanto aumenta su  $T_1$ .

Para la aplicación del método de Woessner al caso particular de **12**, **13** y **14** se realizó la suposición de movimiento isotrópico y se ensayaron los dos mecanismos de rotación (movimientos I y II). Para evaluar en forma más ajustada el valor de D, se tomó el valor promedio de  $NT_1(DD)$  [89], obteniéndose al reemplazar además A, B y C por los valores indicados por Apsimon y colaboradores [85]:

$$\frac{T_1^{CH(DD)}}{T_1^{CH_3(DD)}} = 1/3 (1 + 16/(6 + \rho) + 16/(3 + \rho))$$

$$\frac{T_1^{CH(DD)}}{T_1^{CH_3(DD)}} = 1/3 (1 + 48/(6 + \rho^{3/2}))$$

para los movimientos I y II (tres posiciones preferenciales) respectivamente. Finalmente, para el cálculo de la barrera rotacional del metilo-18 se aplicó la ecuación del tipo de la de Arrhenius, mencionada anteriormente, utilizando  $D_{10} = 0,86 \cdot 10^{13} \text{ s}^{-1}$  (30°C) [88]. Los resultados se resumen en la tabla 16.

Paralelamente, se realizó el cálculo de las barreras rotacionales para el metilo C-18 de los diferentes conformeros de mínima energía obtenidos mediante mecánica molecular utilizando el programa PCMODEL. En la tabla 17 se resumen los valores de energía obtenidos por ambos métodos.

Tabla 16- Coeficientes de difusión general del esteroide (D) y de difusión interna del metilo-18 ( $D_i$ ) y barreras de rotación del metilo-18 ( $V_0$ ) en 12, 13 y 14

	<u>12</u>	<u>13</u>	<u>14</u>
$\langle NT_1 \rangle^a$	1,49	1,35	1,77
$D^b$	0,40	0,45	0,33
Movimiento 1 <sup>c</sup>			
$\rho$	19,05	16,64	6,13
$D_i^b$	7,60	7,54	2,05
$V_0^d$	2,85	2,49	3,63
Movimiento 2 <sup>e</sup>			
$\rho$	27,13	23,87	9,51
$D_i^b$	10,82	10,82	3,18
$V_0^d$	2,63	2,64	3,37

a- Promedio de los  $NT_1$  (en segundos) de los metilenos y metinos del esqueleto esteroidal.

b-  $10^{10} \text{ s}^{-1}$

c- Rotación homogénea

d- Kcal/mol

e- Rotación por saltos entre tres posiciones.

Tabla 17- Valores de energía calculados y experimentales para los esteroides 12, 13 y 14.

	anillo A	$\alpha$	$E_1$	$E_2$	$\Delta E$	$V_0$
<u>12</u>	2 $\beta$ -sofa	-145,7	55,94	58,46	2,52	2,85
	1 $\beta$ -sofa	-145,2	52,87	55,45	2,58	(2,63)
	2 $\beta$ -sofa	-25,4	55,84	58,90	3,06	
	1 $\beta$ -sofa	-34,1	52,70	56,51	3,81	
<u>13</u>	2 $\beta$ -sofa	-138,4	56,22	59,03	2,81	2,91
	1 $\beta$ -sofa	-140,8	54,02	56,80	2,78	(2,69)
	2 $\beta$ -sofa	-32,2	56,20	60,28	4,08	
	1 $\beta$ -sofa	-33,4	54,06	58,09	4,03	
<u>14</u>	1 $\alpha$ -sofa	-147,1	53,35	55,68	2,33	3,63
		-4,	52,89	55,82	2,93	(3,37)

$\alpha$ - Angulo de torsión C(16)-C(17)-C(20)-O(20) en grados

$E_1$ - Energía de la forma alternada en Kcal/mol (PCMODEL)

$E_2$ - Energía de la forma eclipsada en Kcal/mol (PCMODEL)

$\Delta E$ - Diferencia de energía ( $E_2 - E_1$ ) en Kcal/mol

$V_0$ - Barrera de rotación por el método de Woessner, movimiento I, (movimiento II); error aproximado 10-15 %.

Si bien existen diferencias en los valores obtenidos según se considere la rotación de los metilos como un movimiento de saltos (II) o continuado (I), en cuanto a su utilidad comparativa ambos condujeron a las mismas conclusiones. Sin embargo, dado que las barreras de rotación calculadas se obtuvieron como las diferencias de energía entre las conformaciones alternadas y eclipsadas [85], estas se corresponderían mejor con el mecanismo de rotación a saltos (II) que con el continuo (I).

En el caso de los 6,19-óxidoesteroides (**12** y **13**) los valores de las barreras obtenidos son prácticamente iguales. Comparando el valor obtenido experimentalmente (Woessner) con el calculado para cada conformero aislado se deduce que existiría una contribución importante en solución de los conformeros donde la disposición de la cadena lateral es tal que el grupo carbonílico en C-20 se encuentra "eclipsando" el enlace C(13)-C(17), siendo éstos predominantes en el caso del 11-ceto derivado **13**.

En el caso de la 11,19-óxidoprogesterona (**14**), la barrera rotacional obtenida experimentalmente resultó mayor que la de los anteriores lo cual indicaría una mayor contribución del conformero en donde el grupo carbonílico de la cadena lateral se encuentra eclipsando el enlace C(16)-C(17).

La energía de las formas eclipsadas depende de la interacción de los hidrógenos del metilo con los sustituyentes del carbono vecino, los cuales se eclipsan. En el caso del metilo-18 de los esteroides dichos sustituyentes corresponden a carbonos del esqueleto. En cambio la energía de las formas alternadas depende de las interacciones a larga distancia entre los metilos y aquellos grupos que se

encuentran en relación 1,3-diaxial con el mismo. Por ejemplo en el caso del metilo-18 de un androstano las interacciones se producen con los hidrógenos en posiciones 11 $\beta$ , 8 $\beta$  y 15 $\beta$ . La eliminación de alguno de dichos hidrógenos disminuye las interacciones a larga distancia, estabilizando las formas alternadas. Como consecuencia aumenta la barrera de rotación y disminuye la velocidad de rotación [85]. En cambio si se reemplaza alguno de los hidrógenos mencionados por un grupo más voluminoso suponiendo que no se producen modificaciones conformacionales la mayor interacción 1,3-diaxial provocará un aumento de la energía de las formas alternadas, disminuyendo la barrera de rotación [85].

Apsimon y colaboradores [85] informaron que el metilo-18 en el 11-cetoandrostano gira más lentamente que en el androstano. Esto se debería a la eliminación de la interacción entre el metilo y el H-11 $\beta$  que aumentaría la barrera de rotación. Por lo tanto, el H-11 $\beta$  se encontraría lo suficientemente cercano al metilo como para interactuar con el mismo. El hecho que las barreras rotacionales del metilo-18 para 6,19- $\delta$ oxidoprogesterona (12) y 6,19- $\delta$ oxido-11-cetoprogesterona (13) resultaran iguales (tabla 17) indicaría que la presencia de un puente 6,19- $\delta$ oxido en la molécula ocasiona una distorsión en la conformación de los anillos B y C que aleja al H-11 $\beta$  del metilo-18 con lo cual su ausencia o presencia no modifica la barrera de rotación.

Por otra parte si se comparan los valores de energía obtenidos por PCMODEL para los dos conformeros con el anillo A 2 $\beta$ -sofá en el compuesto 13, se observa que si bien un cambio en la orientación de la cadena lateral no afecta las energías correspondientes a las

formas alternadas existen mayores interacciones en la forma eclipsada del conformero con la cadena lateral en disposición B provocando un aumento de la barrera de rotación correspondiente. Se llega a conclusiones similares acerca de como influye el cambio de orientación de la cadena lateral en la velocidad de rotación del metilo-18 al analizar los restantes conformeros de los compuestos 12 y 13.

En el caso de la 11,19-óxidoprogesterona el valor de la barrera de rotación obtenida por el método de Woessner resultó mayor a los anteriores. Si bien en primera instancia este resultado está de acuerdo con lo esperado, dado que al eliminar la interacción con el H-11 $\beta$  se produciría una disminución de la energía de la forma alternada, los resultados obtenidos por cálculos de mecánica molecular indicaron que a igual conformación de la cadena lateral los valores de la barrera de rotación resultaron menores a los de 12 y 13. Esto se pudo explicar en función de la distorsión en la conformación del anillo C provocada por la presencia del anillo 11,19-óxido (en 14) lo cual ocasionaría un acercamiento del H-8 $\beta$  al metilo-18 con respecto a los compuestos 12 y 13. En consecuencia si bien se eliminaba la interacción con el H-11 $\beta$  se intensificaba la interacción con el H-8 $\beta$  dando por resultado neto una disminución de la barrera.

Los cálculos de las barreras rotacionales se realizaron utilizando el programa PCMODEL dado que el programa MMX no posee dicha opción de cálculo. El programa PCMODEL no considera la deslocalización de electrones pi en su cálculo pudiendo dar lugar a distorsiones en estructuras que contengan el sistema  $\Delta^4$ -3-ceto. Al

comparar las distancias entre el H-8 $\beta$  y el metilo-18 de 11,19- $\delta$ xido-progesterona (14) se observó que la distancia es menor (0,02Å) en la estructura según PCMODEL que en la calculada por MMX por lo que es de esperar que el valor obtenido de la barrera rotacional sea ligeramente menor al que se obtendría considerando el sistema pi.

Finalmente, el aumento del valor de la barrera de rotación obtenida por el método de Woessner con respecto a la calculada por PCMODEL puede atribuirse a interacciones intermoleculares en solución que provocarían una mayor torsión en el esteroide.

Cabe destacar que la buena correlación entre los valores experimentales y calculados para las barreras de rotación del metilo-18 no hace más que avalar las conclusiones obtenidas del análisis conformacional realizado mediante los programas MMX y PCMODEL.

**CAPITULO 6**  
**ACTIVIDAD MINERALOCORTICOIDE**

Los estudios de actividad mineralocorticoide fueron realizados por el Dr C.P.Lantos y la Dra M.C.Damasco, Departamento de Química Biológica, FCEN, UBA.

En el transcurso del presente trabajo de tesis se realizó la síntesis de esteroides rígidos cuyas conformaciones, tal como lo reveló el análisis conformacional (capítulo 5), poseían un grado de planicidad creciente al pasar de los 6,19-óxidoderivados (12, 13) a 11,19-óxidoprogesterona (14). Precisamente se demostró que tanto la 6,19-óxidoprogesterona (12) como la 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13), eran planas en la zona de los anillos B-C-D y parte del A con una curvatura apreciable hacia la cara  $\alpha$  del sistema  $\Delta^4$ -3-ceto. Por otro lado, la 11,19-óxidoprogesterona presentó una estructura global plana del núcleo esteroideal, además de poseer los grupos funcionales necesarios para la unión al sitio receptor.

La síntesis de tales compuestos permitió desarrollar un estudio sistemático sobre el efecto producido en la retención de sodio de los esteroides mediante cambios conformacionales en los mismos.

Los ensayos biológicos se encararon desde dos aspectos de la retención de sodio en ratas relativos a progesterona y sus análogos modificados estructuralmente. Se estudió el efecto de incrementar las dosis farmacológicas de cada compuesto y la influencia de cambios estructurales realizados sobre el esqueleto de progesterona.

Se midió la retención de sodio en ratas adrenalectomizadas tratadas con el esteroide correspondiente con respecto al lote de ra-



tas control. En cada caso se realizó un experimento en paralelo con 10  $\mu\text{g}$  de desoxicorticosterona (2). Los resultados se expresaron en porcentaje de retención relativo a desoxicorticosterona (2) ( $\%ret/\%ret\text{ DOC}$ ).

Los resultados se muestran en las curvas dosis-respuesta obtenidas (figuras 64 y 65).

Se observó que progesterona (7) produjo retención de sodio en dosis de 30  $\mu\text{g}$  en una extensión similar a DOC, desapareciendo este efecto a dosis más altas [4]. La introducción de un puente 6,19-óxido (12) modificó la curva dosis-respuesta con respecto al compuesto padre observándose que el segmento inicial de la curva era ascendente formándose un plateau a 50  $\mu\text{g}$ .

En el caso de 11-cetoprogesterona (29) el plateau se alcanzó a 10  $\mu\text{g}$  extendiéndose hasta 50  $\mu\text{g}$ , descendiendo luego. La introducción de ambas funcionalidades, un grupo 11-ceto y un puente 6,19-óxido (13) provocó un efecto sobre la curva dosis-respuesta tal que reunió las modificaciones antes mencionadas. A bajas dosis la respuesta fue nula (similar al compuesto 12), alcanzando un plateau a 30  $\mu\text{g}$ .

En el caso de los 11-cetoderivados, sin embargo debe tenerse en cuenta que el grupo ceto, al menos en corticoides es parcialmente convertido a 11 $\beta$ -hidroxi en tejidos periféricos, aún en ratas adrenalectomizadas.

Se realizó una experiencia con 5 $\alpha$ -pregnano-3,20-diona (76) por tratarse de un compuesto que posee una conformación plana pero con grupos funcionales distintos a los anteriores compuestos. La curva dosis-respuesta correspondiente mostró un plateau entre 30-75

$\mu\text{g}$  con un porcentaje de retención (relativo a DOC) superior a los compuestos anteriormente ensayados.

Los mejores resultados se obtuvieron con 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (14). En este caso se observó un plateau de respuesta máxima ya a 10  $\mu\text{g}$ , manteniéndose en un rango entre 10 y 75  $\mu\text{g}$ . Resulta interesante destacar que la respuesta obtenida en este caso fue un 50% mayor que en el caso del mineralocorticoide natural DOC (2). Por otro lado se han realizado ensayos preliminares observándose actividad a dosis menores a 10  $\mu\text{g}$  lo que indicaría que la acción mineralocorticoide de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona (14) podría ser comparable a la de aldosterona (1).

Los resultados obtenidos al realizar el análisis conformacional y los ensayos biológicos sobre los compuestos sintetizados permitieron confirmar la hipótesis acerca de la importancia de la planicidad de la molécula en su actividad hormonal. Conjuntamente se demostró que una conformación plana rígida (no deformable) como la de 14 sería la más adecuada para producir una respuesta mineralocorticoide máxima.

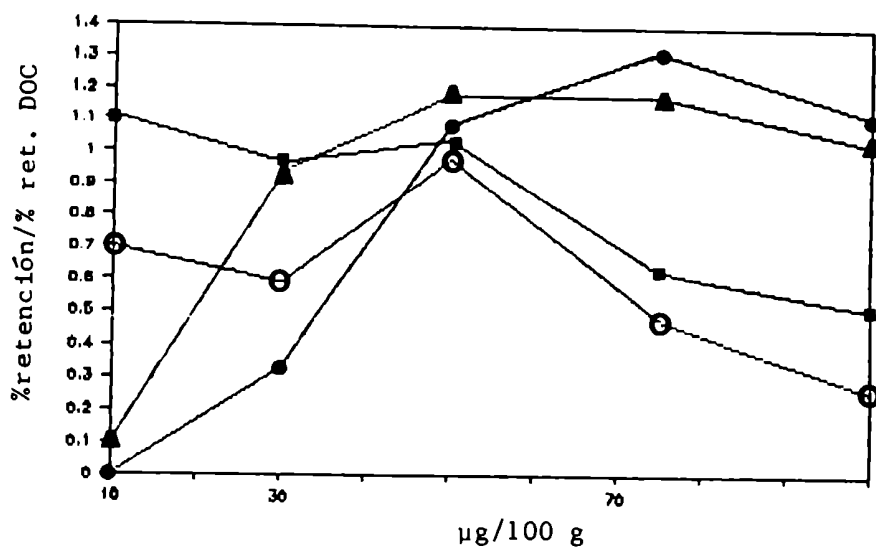


Figura 64- Curva Dosis-Respuesta de progesterona (■), 11-cetoprogesterona (●), 6,19-6xidoprogesterona (●) y 6,19-6xido-11-cetoprogesterona (▲).

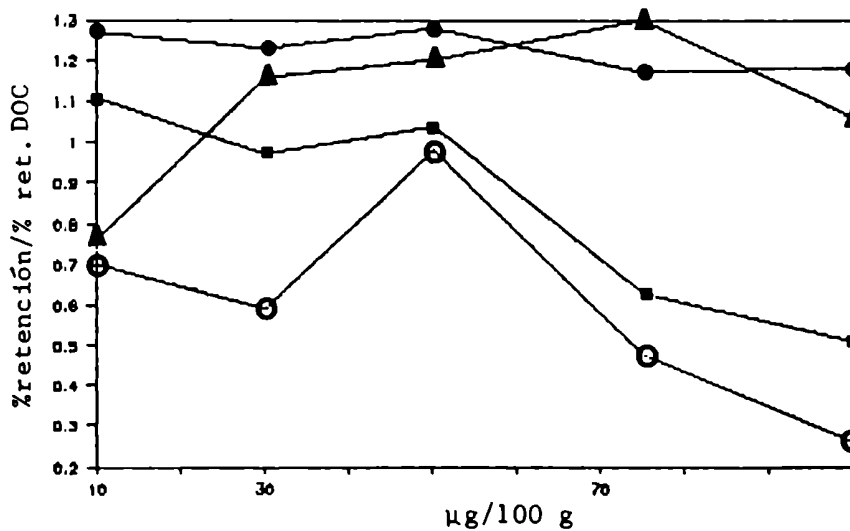


Figura 65- Curva Dosis-Respuesta de progesterona (■), 11-cetoprogesterona (●), 11,19-6xidoprogesterona (●) y 5α-pregna-3,20-diona (▲).

**CAPITULO 7**  
**PARTE EXPERIMENTAL**

## GENERALIDADES

Los puntos de fusión (PF) fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  (RMN  $^1\text{H}$ ) y  $^{13}\text{C}$  (RMN  $^{13}\text{C}$ ) se realizaron a 100 y 25,2 MHz respectivamente en un espectrómetro Varian XL-100-15, operando por pulsos y transformadas de Fourier, con una computadora 620/L-100 y una unidad de discos magnéticos Sykes-7000.

Se utilizó  $\text{CDCl}_3$  como solvente, excepto en los casos que se indica lo contrario. En todas las determinaciones se utilizó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) respecto del TMS y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). Las señales de RMN- $^1\text{H}$  se indican en cada caso como s (singulete), d (doblete), t (triplete), dd (doble doblete), c (cuarteto), m (multiplete), ba (banda ancha). Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  se obtuvieron en tubos de 5 mm aplicando pulsos de  $90^\circ$  y un tiempo de repetición de 4,7 seg sobre un ancho espectral de 1500 Hz. Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  se midieron en tubos de 5 mm aplicando pulsos de  $45^\circ$  y un tiempo de repetición de 0,71 seg, sobre un ancho espectral de 5700 Hz.

Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplados de  $^1\text{H}$  se obtuvieron por irradiación de los  $^1\text{H}$  a una frecuencia central correspondiente a 4 ppm modulada por un barrido de onda cuadrada. Las multiplicidades de las señales fueron determinadas por la téc-

nica de ecos de spin con desacople alternado (APT: test de protones vecinales [92]) utilizando la secuencia de pulsos  $90_{\pm x} - \tau - 180_{\pm y} - \tau - \text{FID}$  con  $\tau = 7$  mseg y cortando el desacoplador entre los dos primeros pulsos.

Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  con desacople selectivo se obtuvieron por irradiación de la señal de  $^1\text{H}$  deseada con una frecuencia única de baja potencia (0,5 Watt).

Los espectros de masa (EM) se realizaron a 70 ev en un espectrómetro de masa Varian-Mat-CH-7A, comandado por una computadora Varian-Mat-Data-System 166, por inserción directa de la muestra.

Los espectros de ultravioleta se realizaron en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 9121. Las mediciones se realizaron sobre soluciones de los esteroides 10% en etanol.

Las cromatografías líquidas de alta resolución (CLAR) preparativas se realizaron en un cromatógrafo líquido Micromeritics equipado con un inyector manual (modelo 730) y detector de índice de refracción, utilizando una columna Altech RS11 C18 HL  $10 \mu$  (10 x 500 mm).

Las cromatografías en capa delgada (ccd) analíticas se realizaron sobre sílica gel en cromatoplaques Aldrich o Merck. La detección se llevó a cabo por inmersión en una solución de ácido sulfúrico 20% en etanol y posterior calentamiento a  $100^\circ\text{C}$ , o por exposición a vapor de yodo. También se realizaron cromatografías analíticas en fase reversa en cromatoplaques HPTLC-RP18 (Aldrich). Los sistemas de desarrollo utilizados en ccd en silicagel analítica fueron: 1) hexano/Acetato de etilo (2:1), 2) hexano/Acetato de etilo (1:1), 3) Acetato de etilo, 4)  $\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{MeOH}$  (10:0,1), 5)  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , 6)

$\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{AcOEt}$  (2:1). Las mezclas de solventes están expresadas en relación de volúmenes (v:v).

Las cromatografías en columna (CC) se realizaron utilizando como adsorbente silicagel grado 923 malla 100-200 (D) Davidson Chemical o silicagel H (Merck, 10-40  $\mu\text{m}$ ) eluidas bajo presión de  $\text{N}_2$ . Las cromatografías Flash (CF) se realizaron utilizando sílica gel (Silicagel 60, malla 230-400, Merck 9385 o equivalente) y bajo presión de  $\text{N}_2$  [93].

Los solventes fueron purificados por destilación y evaporados a presión reducida a menos de 50°C en un rotavapor-R (Buchi). Los solventes para CLAR fueron bidestilados y filtrados a través de membranas de Teflón de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.

Los solventes anhidros se prepararon según las siguientes técnicas:

-El diclorometano se reflujo sobre pentóxido de fósforo, se destiló y se guardó sobre tamices moleculares (4Å).

-El éter etílico se pasó a través de una columna de alúmina (neutra) y se reflujo sobre sodio-benzofenona hasta coloración azul. Se destiló antes de usar

-El tetrahidrofurano (THF) se reflujo sobre sodio-benzofenona hasta coloración azul y se destiló antes de usar.

-El zinc se activó por tratamiento con ácido clorhídrico 1N y posterior lavado con agua, etanol absoluto, éter y luego secado en estufa de vacío a 110°C.

-El reactivo de Jones se preparó disolviendo 27 g de  $\text{CrO}_3$  en una mezcla de 23 ml de ácido sulfúrico (c) y 100 ml de agua.

## SINTESIS DE PREGNANESTEROIDES

**3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diacetoxipregn-5-en-11-ona (32b)**

Una solución de 11-cetoprogesterona (**29**, 2,04 g) en anhídrido acético (40 ml) y cloruro de acetilo (60 ml) se calentó con agitación durante 4 horas a 70-75°C bajo atmósfera de nitrógeno. Por evaporación a sequedad se obtuvo el 3-enolacetato (**31**, 2,3 g); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,64 (s, 3H, H-18), 1,2 (s, 3H, H-19), 2,13 (s, 3H, H-21), 2,15 (s, 3H, acetato), 5,37 (ba, 1H, H-6), 5,68 (m, 1H, H-3). **31** fue disuelto en etanol 95% (1,3 l) y enfriado a 5°C. A la solución anterior se agregó una solución de borohidruro de sodio (4,7 g) en etanol (83 ml) y agua (35 ml), agitándose la mezcla de reacción durante 2 hs a 5°C. Luego se trató con hidróxido de sodio acuoso 5% (23 ml) y se calentó hasta ebullición. La solución resultante se concentró, se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. Luego de la evaporación del solvente se obtuvo **32a**, RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,73 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,2 (s, 3H, H-19), 3,6 (m, 1H, H-20), 4,2 (m, 1H, H-3), 5,30 (ba, 1H, H-6); el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 202. **32a** se acetiló con anhídrido acético (15 ml) y piridina (15 ml) durante 24 hs a temperatura ambiente con agitación. El acetato crudo disuelto en acetona se trató con exceso de reactivo de Jones a 0°C durante 10 minutos bajo atmósfera de nitrógeno, la solución se volcó sobre una solución acuosa de  $\text{NaSO}_3\text{H}$  (10%) y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se evaporó el solvente. Se obtuvo **32b** (2,56 g), homogéneo en ccd (sistema 6), PF: 135-137°C (lit. 134-139°C [94]);



RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,55 (s, 3H, H-18), 1,12 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,2 (s, 3H, H-19), 2,04 (s, 6H, acetatos), 4,38-4,96 (m, 2H, H-3 y H-20), 5,30 (ba, 1H, H-6); el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 202.

### **3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxipregnan-20-ona (23a)**

**Método A-** A una solución de acetato de pregnenolona (**22**, 200 mg) en dioxano:agua (4:1) (5 ml) se agregó N-bromosuccinimida (140 mg) y ácido perclórico 12% (0,3 ml) a temperatura ambiente con agitación. Luego de 35 min se agregó bicarbonato de sodio y la solución se diluyó con agua. Se extrajo con éter, la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó el solvente. Se obtuvo una mezcla 1:1 de las bromohidrinis isómeras **23a** y **23b** (190 mg). RMN  $^1\text{H}$   
**23a**:  $\delta$  0,64 (s, 3H, H-18), 1,33 (s, 3H, H-19), 2,04 (s, 3H, acetato), 2,12 (s, 3H, H-21), 4,18 (ba, 1H, H-6), 5,47 (m, 1H, H-3);  
**23b**:  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 1,35 (s, 3H, H-19), 2,04 (s, 3H, acetato), 2,12 (s, 3H, H-21), 4,02 (ba, 1H, H-6), 5,04 (m, 1H, H-3). Los espectros RMN  $^{13}\text{C}$  de **23a** y **23b** se muestran en el apéndice, página 201.

**Método B-** Una solución de **22** (200 mg) en éter (2,4 ml) y THF (0,9 ml) se enfrió a 10°C con agitación. Se agregó ácido perclórico acuoso 7,5% (0,3 ml), seguido de N-bromoacetamida (119 mg) en 8 porciones durante un período de 25 min a 10-15°C protegida de la luz. Se agitó durante 30 min a temperatura ambiente y se agregó una solución acuosa de tiosulfato de sodio 1X. La mezcla se volcó sobre diclorometano-metanol (10:1), se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo con diclorometano-metanol (10:1). La fase

orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y por evaporación del solvente se obtuvo 23a (253 mg conteniendo 25% de 23b, ccd en sistema 2).

**3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -6xidopregnan-20-ona (33a) y 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -6xidopregnan-20-ona (33b)**

**Método A-** A una mezcla 1:1 de las bromohidrininas 23a y 23b obtenida por el método A (190 mg) disuelta en metanol (16,5 ml) se agregó una solución de  $\text{KHCO}_3$  (170 mg) en agua (1,6 ml) agitándose la solución a temperatura ambiente durante 18 hs. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se evaporó el solvente y el residuo (152 mg, una sola mancha por ccd en sistema 2) fue separado por CLAR preparativa (MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  85:15, 4 ml/min.). Se obtuvo 33a (74 mg) (TR 16,32 min), PF: 166-167°C (lit. 166-168°C [95a]); EM m/z 374 ( $\text{M}^+$ , 3%), 314 (M-AcOH, 99%); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0,58 (s, 3H, H-18), 1,09 (s, 3H, H-19), 2,02 (s, 3H, acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,90 (d, J=4Hz, 1H, H-6), 4,97 (m, 1H, H-3) y 33b (74 mg) (TR 14,9 min), PF: 133°C (lit. 133-134°C [95b]), EM: m/z 374 ( $\text{M}^+$ , 2,6%), 314 (M-AcOH, 100%); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,60 (s, 3H, H-18), 1,01 (s, 3H, H-19), 2,03 (s, 3H, acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 3,08 (d, J=2Hz, 1H, H-6), 4,78 (m, 1H, H-3). El espectro RMN  $^{13}\text{C}$  de 33a se describe en el apéndice, página 202 y el correspondiente a 33b en la página 203.

**Método B-** A una solución de acetato de pregenolona (22) (290 mg) en diclorometano (8 ml) se le agregó carbonato de sodio (173 mg) disuelto en agua (8 ml). Sobre la mezcla de reacción con fuerte agitación se agregó gota a gota una solución de ácido meta-

cloroperbenzoico (195 mg) en diclorometano (3 ml) en un período de 3 min, continuándose la agitación durante 3 hs a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó sucesivamente con una solución acuosa de  $\text{NaHCO}_3$  y de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó el solvente obteniéndose 300 mg de una mezcla 1:1 de 33a y 33b.

#### **3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnan-20-ona (34)**

A la mezcla de 33a y 33b (300 mg, obtenida según el método B) disuelta en THF (20 ml) se agregó ácido sulfúrico 1,5N (1,2 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 18 hs; se neutralizó con bicarbonato de potasio acuoso. Se extrajo con éter, la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó el solvente obteniéndose el diol 34 (310 mg), homogéneo en ccd (sistema 2), PF: 230-231°C (lit. 228-230°C [95c]); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,64 (s, 3H, H-18), 1,20 (s, 3H, H-19), 2,04 (s, 3H, acetato), 2,12 (s, 3H, H-21), 3,55 (t, J=2Hz, 1H, H-6), 5,16 (m, 1H, H-3); el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se muestra en el apéndice, página 203.

#### **3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxí-6 $\beta$ -metoxipregnan-20-ona (35b)**

A una solución de 33a (20 mg) en metanol (27 ml) se agregó ácido sulfúrico 1,5N (0,2 ml) y se agitó la mezcla de reacción una noche a temperatura ambiente. Se agregó una solución acuosa de bicarbonato de sodio y el precipitado se extrajo con diclorometano. Por evaporación del solvente se obtuvo 35b (15 mg), homogéneo en ccd (sistema 4), PF:167-168°C; EM: m/z 364 ( $\text{M}^+$ , 12%), 346 (M-H $_2\text{O}$ , 19%), 332 (M-MeOH, 5%), 314 (M-MeOH-H $_2\text{O}$ , 100%); RMN  $^1\text{H}$ :

$\delta$  0,64 (s, 3H, H-18), 1,10 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 2,97 (ba, 1H, H-6), 3,31 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,04 (m, 1H, H-3); el espectro de RMN <sup>13</sup>C se muestra en el apéndice, página 203.

### **3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihidroxi-5 $\alpha$ -metoxipregnan-20-ona (36b)**

El tratamiento del epóxido **33b** (33,5 mg) con metanol y ácido sulfúrico en idénticas condiciones a las utilizadas para **33a**, rindió **36b** (20 mg), homogéneo en ccd (sistema 4), PF: 237-239°C; EM: m/z 364 (M<sup>+</sup>, 5%), 346 (M-H<sub>2</sub>O, 9%), 232 (M-MeOH, 13%), 314 (M-MeOH-H<sub>2</sub>O, 100%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,63 (s, 3H, H-18), 1,18 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 3,16 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,90 (m, 1H, H-3), 3,92 (ba, 1H, H-6); el espectro de RMN <sup>13</sup>C se muestra en el apéndice, página 204.

### **3,3,20,20-bisetilendioxi-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -6xidopregnano (43a) y 3,3,20,20-bis-etilendioxi-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -6xidopregnano (43b)**

A una solución de progesterona (**7**, 200 mg) en etilenglicol (1,6 ml) y tolueno (7 ml) se agregó ácido p-toluensulfónico (6,5 mg) y se calentó bajo reflujo con una trampa separadora de agua Dean-Stark hasta que no se separó más agua del medio de reacción (aproximadamente 18 hs). La mezcla de reacción, una vez fría, se diluyó con una solución de bicarbonato de sodio 5% y se separó la fase orgánica. Esta se lavó con agua (2x), se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó el solvente. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de silicagel (solvente hexano-acetato de etilo 90:10), obteniéndose el bisetilendioxi derivado **41** (336 mg), PF 178-180°C (178-181°C [96]). El tratamiento de éste con ácido

m-cloroperbenzoico según el método B (pág 166) dió 342 mg de una mezcla 1:1 de los epóxidos 43a y 43b, ccd en sistema 2. 43a

RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,72 (s, 3H, H-18), 1,08 (s, 3H, H-19), 1,28 (s, 3H, H-21), 2,83 (d, J=4Hz, 1H, H-6), 3,94 (s, 8H, etilendioxo); el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se muestra en el apéndice, página 204; 43b

RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,76 (s, 3H, H-18), 1,01 (s, 3H, H-19), 1,28 (s, 3H, H-21), 3,06 (d, J=2Hz, 1H, H-6), 3,94 (s, 8H, etilendioxo); el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se muestra en el apéndice, página 205.

**3,3-etilendioxo-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxipregnan-20-ona (46a) y 3,3-etilendioxo-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxipregnan-20-ona (46b)**

**Método A-** La mezcla de 43a y 43b (129 mg) obtenida arriba se disolvió en acetona anhidra (5,7 ml), se agregó ácido p-toluen-sulfónico monohidrato (5,7 mg) y la mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 18 hs. La solución resultante se volcó sobre agua, se extrajo con diclorometano, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Luego de evaporar el solvente se obtuvieron 115 mg de una mezcla 1:1 de los epóxidos 46a y 46b, ccd en sistema 2. 46a RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,58 (s, 3H, H-18), 1,09 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 2,84 (d, J=4Hz, 1H, H-6), 3,95 (s, 8H, etilendioxo); 46b RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,60 (s, 3H, H-18), 1,01 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 3,07 (d, J=2Hz, 1H, H-6), 3,95 (s, 8H, etilendioxo).

**Método B-** La mezcla de 43a y 43b (30 mg) se trató con ácido acético (5 ml) con agitación durante 18 hs a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se volcó sobre una solución de bicarbonato de sodio 5% y se extrajo con diclorometano. La fase

orgánica se lavó con agua, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se evaporó el solvente obteniéndose 25 mg de una mezcla 1:1 de 46a y 46b.

#### **5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnano-3,20-diona (45)**

**Método A-** Pregnenolona (40) (250 mg) se trató con ácido m-cloroperbenzoico según el método B de la página 166 obteniéndose una mezcla del 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido 42a y 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epóxido (42b) en una relación 8:2 (260 mg), ccd en sistema 3. En una reacción paralela la mezcla fue separada por CLAR para su caracterización (MeOH-H<sub>2</sub>O 85:15, 4 ml/min.). 42a RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,58 (s, 3H, H-18), 1,08 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 2,92 (d, J=4Hz, 1H, H-6), 3,64 (m, 1H, H-3); el espectro RMN <sup>13</sup>C se muestra en el apéndice, página 204. 42b RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,60 (s, 3H, H-18), 1,00 (s, 3H, H-19), 2,10 (s, 3H, H-21), 3,06 (d, J=2Hz, 1H, H-6), 3,64 (m, 1H, H-3).

42a (260 mg conteniendo un 20% de 42b) se disolvió en acetona y se agregó reactivo de Jones hasta color naranja persistente, obteniéndose 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxipregnan-3,20-diona (44a, 230 mg, conteniendo un 20% de 44b, ccd en sistema 3). RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,60 (s, 3H, H-18, 44a), 0,62 (s, 3H, H-18, 44b), 1,28 (s, 3H, H-19, 44a), 2,12 (s, 3H, H-21, 44a), 2,16 (s, 3H, H-21, 44b), 2,96 (d, J=4Hz, 1H, H-6, 44a); el espectro RMN <sup>13</sup>C de 44a se muestra en el apéndice, página 205.

El tratamiento de la mezcla de epóxidos (230 mg) disuelta en THF (15 ml) con ácido sulfúrico 1,5N (9,2 ml) en las mismas condiciones que las descritas en la página 167 rindió 45 (237 mg), homogéneo en ccd (sistema 3). EM: m/z 348 (M<sup>+</sup>, 10,3%), 330 (M-H<sub>2</sub>O, 41%), 312 (M-2H<sub>2</sub>O, 44,4%), 43 (CH<sub>3</sub>CO, 100%); RMN

$^1\text{H}$ :  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 1,34 (s, 3H, H-19), 2,13 (s, 3H, H-21), 3,46 (t, J=4Hz, 1H, H-6).

**Método B-** Una mezcla de 43a y 43b (35 mg, obtenida como en la página 168) en acetona húmeda (1 ml) conteniendo p-toluen-sulfonato de piridonio (7,5 mg) se calentó bajo reflujo durante 8 hs. La mezcla se volcó sobre agua y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con solución de bicarbonato de sodio, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó el solvente. El residuo se recristalizó de acetona obteniéndose 10 mg del diol 45. En las aguas madres se detectó la presencia de 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona 30 como producto minoritario idéntico al obtenido más abajo (ccd en sistema 5).

**Método C-** Una mezcla de 43a y 43b (52 mg, obtenidos como en la página 168) se trató con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,5N en THF en las condiciones descritas en la página 167 durante 6 hs, obteniéndose luego del procesamiento extractivo el diol 45 (30 mg).

#### **Pregnano-3,6,20-triona (47)**

A una solución de 43a y 43b (37 mg, obtenidos como en la página 168) en acetona anhidra (5 ml) se le agregó clorhidrato de piridonio (4 mg) y se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Luego del procedimiento de extracción se obtuvo una mezcla de dos productos (26 mg, ccd en sistema 5), los cuales se separaron por cromatografía en columna de silicagel (solvente: hexano-AcOEt 4:1). El producto mayoritario resultó pregnano-3,6,20-triona (47), EM: m/z 330 ( $\text{M}^+$ , 2,8 %); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 0,96 (s, 3H, H-19), 2,15 (s, 3H, H-21).

**6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (30)**

**Método A-** Progesterona (**7**, 100 mg) se disolvió en anhídrido acético (6 ml), se agregó cloruro de acetilo (7,2 ml) y la solución se calentó a 85°C durante 18 hs bajo atmósfera de nitrógeno. Por evaporación a sequedad (a 1 Torr.) se obtuvo 3 $\beta$ -acetoxipregnan-3,5-dien-20-ona (**48**, 110 mg), homogéneo en ccd (sistema 6). RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 1,00 (s, 3H, H-19), 2,13 (s, 6H, H-21 y acetato), 5.40 (ba, 1H, H-6), 5,70 (d, J=4Hz, 1H, H-4).

A una solución del compuesto anterior en diclorometano (3 ml) se agregó sucesivamente una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (66 mg) en agua (3 ml) y una solución de ácido m-cloroperbenzoico (73 mg) en diclorometano (1,1 ml). La mezcla de reacción se dejó con agitación durante 3 hs a temperatura ambiente, se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó sucesivamente con NaCO<sub>3</sub>H (aq), Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (aq) y agua; se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó el solvente. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (solvente: diclorometano-acetato de etilo 85:15) obteniéndose **30** (75 mg). PF 176-178°C (lit. 179-180°C [60]). EM: m/z 330 (M<sup>+</sup> 73,4%), 312 (M-H<sub>2</sub>O, 10%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,70 (s, 3H, H-18), 1,38 (s, 3H, H-19), 2,14 (s, 3H, H-21), 4,36 (t, J=2Hz, 1H, H-6), 5,82 (d, J=4Hz, 1H, H-4); el espectro RMN <sup>13</sup>C se muestra en el apéndice, página 205.

**Método B-** Una solución de progesterona (**7**, 300 mg) en 2,2-dimetoxipropano-dimetilformamida 1:1 (5 ml) se trató con ácido p-toluensulfónico monohidratado (8 mg) y MeOH (0,1 ml). La mezcla de reacción se calentó a ebullición bajo reflujo durante 3,5 hs, se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó con una solución de bicarbonato de sodio (45 mg) en agua helada (200 ml). Se agitó du-



rante 30 minutos y se filtró obteniéndose el 3-metilenoléter 49 (290 mg), homogéneo en ccd (sistema 6). RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 0,97 (s, 3H, H-19), 2,14 (s, 3H, H-21), 3,58 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 5.13 (da,  $J=4\text{Hz}$ , 1H, H-4), 5,24 (da,  $J=4\text{Hz}$ , 1H, H-6).

El compuesto anterior se trató con AMCPB en idénticas condiciones que en el método A obteniéndose 30 (220 mg) luego de purificar por cromatografía flash.

#### SINTESIS DE 6,19-OXIDOPREGNANOS

##### 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6,19- $\delta$ oxidopregnan-20-ona (24)

**Método A-** Una solución del compuesto 23a (600 mg que contenían aproximadamente 25% de 23b obtenidos según el método B de la página 165) en  $\text{CCl}_4$  recientemente destilado (57,8 ml) se trató con óxido de mercurio rojo (1,9 g) e yodo (2,9 g). La mezcla de reacción fue vigorosamente agitada a temperatura ambiente mientras se la irradiaba con una lámpara de tungsteno de 300 watts (5000 lumen) durante 30 min. El sólido se filtró, la solución se diluyó con diclorometano, se lavó con tiosulfato de sodio acuoso y la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El producto crudo obtenido por evaporación del solvente fue separado por CLAR preparativa (solvente:  $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$  83:17, flujo: 4 ml/min), obteniéndose 33a (80 mg) y 24 (361 mg), homogéneo en ccd (sistema 2), PF: 148-151°C (lit. 152-154°C [53]); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 2,04 (s, 3H, acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 3,72 (d,  $J=9\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 3,94 (d,  $J=9\text{Hz}$ , 1H, H-19b), 4,06 (d,  $J=4\text{Hz}$ , 1H, H-6), 5,18 (m, 1H, H-3); el espectro de

RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 201.

**Método B-** Se agregó  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$  (80 mg) e iodo (22,4 mg) a una solución agitada de bromohidrina 23a (40 mg conteniendo aproximadamente un 50% de 23b obtenido según el método A de la página 165) en benceno (9 ml). La mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 18 hs, se enfrió y se purificó por cromatografía en columna de Florisil (solvente: benceno) obteniéndose 24 (12 mg).

**Método C-** Una solución de la bromohidrina 23a (100 mg conteniendo 50% de 23b) en  $\text{CCl}_4$  recientemente destilado (20 ml) se agitó durante 8 hs a  $50^\circ\text{C}$  con óxido de mercurio rojo (180 mg) e iodo (214 mg). La mezcla se procesó según el método A, obteniéndose 24 (30 mg).

### 6,19-óxidoprogesterona (12)

A una solución de bromoéter 24 (728 mg, obtenido según el método A) en metanol (87,4 ml) se agregó gota a gota hidróxido de potasio acuoso 14% (9,5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min a  $25^\circ\text{C}$ . Se acidificó con ácido clorhídrico diluido y se extrajo con éter; la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  rindiendo luego de evaporar el solvente el 3-hidroxiderivado 25 (600 mg) el cual fue disuelto en ácido acético (7 ml) y agua (1,7 ml). A la solución se agregó gota a gota durante 40 minutos una solución de  $\text{CrO}_3$  (305 mg) en ácido acético (3,9 ml) y agua (0,7 ml), a  $5^\circ\text{C}$  y la mezcla de reacción se agitó durante 2 hs a la misma temperatura. Se agregó una solución saturada de  $\text{ClNa}$  (30 ml) conteniendo  $\text{NaSO}_3\text{H}$  (639 mg) y se extrajo con éter; la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,

el producto resultante luego de evaporar el solvente se purificó mediante cromatografía flash (solvente hexano-acetato de etilo 2:1), obteniéndose **12** (345 mg), homogéneo en ccd (sistema 5). PF 141°C (lit. 142-143°C [36]); EM: m/z 328 (M<sup>+</sup>, 100%); 300 (M<sup>+</sup>-CO, 5,2%); 272 (M<sup>+</sup>-2CO, 34,5%); 270 (M<sup>+</sup>-CO-H<sub>2</sub>CO, 39,4%); RMN <sup>1</sup>H: δ 0,73 (s, 3H, H-18), 2,14 (s, 3H, H-21), 3,50 (dd, J<sub>gem</sub>=8Hz, J<sub>19a-g</sub>=1Hz, 1H, H-19a), 4,20 (d, J=8Hz, 1H, H-19b), 4,60 (d, J=6Hz, 1H, H-6), 5,80 (s, 1H, H-4); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 201.

#### **4α-iodo-5β,6β-oxidopregnano-3,20-diona (**55**)**

5β-Hidroxiprogesterona (**30**) (40 mg) en CCl<sub>4</sub> (5,5 ml) se trató con óxido de mercurio (176 mg) e iodo (259 mg) según el método A de la página 173 durante 1 h a temperatura ambiente, obteniéndose **55** (42 mg); EM: m/z 456 (M<sup>+</sup>, 0,5%), 329 (M-I, 62%), 287 (M-I-cetena, 66%), 286 (M-I-CH<sub>3</sub>CO, 79%), 127 (I, 81%), 43 (CH<sub>3</sub>CO, 100%). RMN <sup>1</sup>H: δ 0,60 (s, 3H, H-18), 0,90 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 3,21 (d, J=1,5 Hz, 1H, H-6), 4,23 (s, 1H, H-4); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 205.

#### **3β,20β-diacetoxi-5α-bromo-6,19-oxidopregnan-11-ona (**50**)**

Una solución de 3β,20β-diacetoxipregn-5-en-11-ona **32b** (256 mg) en éter (2,6 ml) y THF (1 ml) se trató con N-bromoacetamida en las condiciones del método B de la página 165 obteniéndose el 5α-bromo-6β-hidroxiderivado **37** (310 mg). RMN <sup>1</sup>H: δ 0,61 (s, 3H, H-18), 1,16 (d, J=4Hz, 3H, H-21), 1,53 (s, 3H, H-19), 2,03 (s, 6H,

acetatos), 4,18 (m, 1H, H-6), 5,50 (m, 1H, H-3); el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 204.

La bromohidrina obtenida se disolvió en  $\text{CCl}_4$  (25,4 ml) y se trató con óxido de mercurio rojo (870 mg) e yodo (1,28 g) en las condiciones del método A descrito en la página 173 durante 15 min. El producto resultante fue purificado por CLAR preparativa (solvente:  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  85:15, 4 ml/min), obteniéndose 50 (290 mg) homogéneo en ccd (sistema 6). RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,65 (s, 3H, H-18), 1,17 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 3H, H-21), 2,04 (s, 6H, acetatos), 3,90 (d,  $J=9\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 4,08 (m, 1H, H-6), 4,09 (d,  $J=9\text{Hz}$ , 1H, H-19b), 4,78 (m, 1H, H-20), 5,18 (m, 1H, H-3); el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 205.

#### 6,19-óxidopregn-4-eno-3,11,20-triona (13)

**Método A-** A una solución de 50 (102 mg) en metanol (100 ml) se agregó gota a gota hidróxido de sodio 10% (1,2 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a  $25^\circ\text{C}$ . Se acidificó con ácido clorhídrico diluido y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; por evaporación del solvente se obtuvo el 3-hidroxiderivado 61 (78,4 mg) el cual fue disuelto en acetona y tratado con exceso de reactivo de Jones hasta color naranja persistente a  $0^\circ\text{C}$  rindiendo 62 (68,8 mg). Una solución de este último producto en metanol (20 ml) se trató con hidróxido de sodio 10% (2,1 ml) como se indicó arriba durante 22 hs. Luego de acidificar con ácido clorhídrico diluido y extraer con éter, el producto (63, 43,6 mg) se oxidó con reactivo de Jones como se indicó arriba, obteniéndose luego de

purificar mediante cromatografía flash (solvente hexano-acetato de etilo 1:1) **13** (24 mg), homogéneo en ccd (sistema 2), PF 188-189°C (190-191°C [40-42]); UV  $\lambda_{\text{máx}}$  (etanol), 238 nm ( $\epsilon=3482$ ); EM: m/z 342 ( $M^+$ , 91%); 314 (M-CO, 67,5%); 286 (M-2CO, 100%); 285 (M-CO-HCO, 83,7%); 284 (M-CO-H<sub>2</sub>CO, 76,9%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,72 (s, 3H, H-18), 2,13 (s, 3H, H-21), 3,64 (dd,  $J_{\text{gem}}=8\text{Hz}$ ,  $J_{19a-g}=1\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 4,36 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H, H-19b), 4,72 (d,  $J=5\text{Hz}$ , 1H, H-6), 5,91 (s, 1H, H-4); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 201. Análisis, calculado para C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>, C: 73,66%, H: 7,66%; obtenido, C: 73,48%, H: 7,81%.

**Método B-** A una solución de **50** (80 mg) en metanol (20 ml) se agregó gota a gota hidróxido de sodio acuoso 10% (2,1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó durante 36 hs a 25°C. Se acidificó con ácido clorhídrico diluido y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rindiendo luego de evaporar el solvente el 3,20-dihidroxiderivado (**58**, 55 mg); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,77 (s, 3H, H-18), 1,16 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 3H, H-21), 3,66 (m, 2H, H-6 y H-20), 3,92 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 4,05 (m, 1H, H-3), 4,08 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H, H-19b). **58** se trató con CrO<sub>3</sub>/ácido acético-agua (ver preparación de **12**, página 174), obteniéndose 5 $\alpha$ -bromo-6,19- $\delta$ oxidopregnano-3,11,20-triona (**59**, 40 mg). RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,65 (s, 3H, H-18), 2,10 (s, 3H, H-21), 3,89 (d,  $J=10\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 4,09 (d,  $J=10\text{Hz}$ , 1H, H-19b), 4,15 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 1H, H-6). Esta se disolvió en metanol (5 ml) y se trató durante 30 min bajo atmósfera de nitrógeno con NaOH 10% (0,5 ml). Luego del procesamiento extractivo, el producto crudo se purificó por CLAR (solvente MeOH-H<sub>2</sub>O 80:20, 4 ml/min.), obteniéndose **13** (20 mg)

y 60 (10 mg), RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,96 (s, 3H, H-18), 2,13 (s, 3H, H-21), 3,63 (dd,  $J_{\text{gem}}=8\text{Hz}$ ,  $J_{19\text{a}-9}=1\text{Hz}$ , 1H, H-19a), 4,24 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H, H-19b), 4,59 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 1H, H-6), 5,89 (s, 1H, H-4).

**Reacción de 6,19- $\delta$ hidopregn-4-eno-3,11,20-triona con zinc/ácido acético**

A una solución de 13 (60 mg) en ácido acético (2 ml) se agregó zinc en polvo (320 mg) y la mezcla se calentó con agitación bajo reflujo durante 5 hs. La mezcla de reacción se volcó sobre una solución de bicarbonato de sodio 5% y se extrajo con éter; la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El producto obtenido por evaporación del solvente (55 mg) se purificó por cromatografía flash (solvente  $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-MeOH}$  1%), obteniéndose el 19-acetoxi derivado 64 (20 mg), homogéneo en ccd (sistema 3); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,64 (s, 3H, H-18), 1,98 (s, 3H, acetato), 2,13 (s, 3H, H-21), 4,75 (s, 2H, H-19), 5,90 (s, 1H, H-4).

**3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diacetoxi-5 $\alpha$ -bromo-11 $\beta$ -hidroxi-6,19- $\delta$ hidopregnano (67)**

Se disolvió 50 (50 mg) en metanol (2 ml) que contenía una traza de naranja de metilo y se agregó cianoborohidruro de sodio (25 mg) en porciones. La solución se agitó a 25°C durante 3 hs manteniéndose el pH entre 2-3 (color rojo a naranja) por adiciones periódicas de ácido clorhídrico 1N-metanol 1:1. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico 1N, se concentró y se diluyó con agua. Se extrajo con diclorometano, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Por evaporación del solvente se obtuvo 67 (49 mg), homogéneo en ccd (sistema 6); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,90

(s, 3H, H-18), 1,14 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 2,03 (s, 6H, acetatos), 3,92 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 4,06 (d, J=4Hz, 1 H, H-6), 4,10 (m, 1H, H-11), 4,42 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,82 (m, 1H, H-20), 5,16 (m, 1H, H-3); el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en la página 206.

## SINTESIS DE 11,19-OXIDOPREGNANOS

### 3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diacetoxi-11,19-oxidopregn-5-eno (68)

Sobre una solución de 50 (140 mg) en ácido acético (4,5 ml) y agua (0,2 ml), se agregó zinc activado en polvo (800 mg) en pequeñas porciones y un cristal de iodo. La mezcla de reacción se agitó durante 5 hs a 75°C, se filtró y se volcó sobre bicarbonato de sodio acuoso 5%. Se extrajo con éter:diclorometano 4:1, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , obteniéndose una mezcla del hemiacetal 65 y la hidroxicetona 66 7:3 (114 mg); RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,62 (s, 3H, H-18, 66), 0,72 (s, 3H, H-18, 65), 1,17 (d, J=6Hz, 3H, H-21, ), 2,04 (s, 6H, acetatos, ), 3,83 (d, J=16Hz, 1H, H-19a, 66), 3,84 (d, J=8Hz, 1H, H-19a, 65), 4,18 (d, J=8Hz, 1H, H-19b, 65), 4,20 (d, J=16Hz, 1H, H-19b, 66), 4,40-5,10 (m, 2H, H-3 y H-20), 5,64 (ba, 1H, H-6).

La mezcla anterior, sin purificación previa, se disolvió en metanol (6,1 ml) que contenía una traza de naranja de metilo y se agregó cianoborohidruro de sodio (67 mg) en porciones. La solución se agitó a 25°C durante 5 hs, manteniéndose el pH entre 2-3 (color rojo a naranja) por adiciones periódicas de ácido clorhídrico 1N-metanol 1:1. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídri-

co 1N, se concentró y se diluyó con agua. Se extrajo con diclorometano, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El residuo obtenido por evaporación del solvente se purificó por CLAR preparativa (solvente  $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$  90:10, 4 ml/min), obteniéndose **68** (68,7 mg), homogéneo en ccd (sistema 5); EM: m/z 356 (M-ACOH, 100 %); 326 (M-ACOH- $\text{CH}_2\text{O}$ , 11,7%); 296 (M-2ACOH, 4,0%); 266 (M-2ACOH- $\text{CH}_2\text{O}$ , 2,3%). RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,78 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 2,04 (s, 6H, acetatos), 3,70 (d, J=8Hz, 1H, H-19a), 3,94 (d, J=8Hz, 1H, H-19b), 4,25 (m, 1H, H-11), 4,50-5,00 (m, 2H, H-3 y H-20), 5,60 (da, J=6Hz, 1H, H-6); el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  se describe en el apéndice, página 206.

#### 11,19-6xidopregn-5-eno-3,20-diona (**28**)

El diacetato **68** (211 mg) se disolvió en THF anhidro (14 ml) y se agregó  $\text{AlLiH}_4$  (507 mg). La mezcla se calentó bajo reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 5 hs, se enfrió y se trató sucesivamente con éter saturado en agua, agua y ácido sulfúrico 1,5N (hasta disolución del precipitado). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó el solvente obteniéndose el diol **69** (164 mg). RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  0,88 (s, 3H, H-18), 1,13 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,70-3,90 (m, 2H, H-3 y H-20), 3,70 (d, J=8Hz, 1H, H-19a), 3,96 (d, J=8Hz, 1H, H-19b), 4,28 (m, 1H, H-11), 5,57 (da, J=6Hz, 1H, H-6). El producto anterior se disolvió en diclorometano seco (4 ml) y se trató con dicromato de piridonio (410 mg) y tamices moleculares activados (3A) en polvo (410 mg). La mezcla de reacción fue vigorosamente agitada bajo nitrógeno durante 24 hs a 25°C, se diluyó con éter y se filtró a través de Hyflo Supercell. El residuo obtenido



luego de evaporar el solvente (141 mg) se purificó por CLAR preparativa (solvente MeOH-H<sub>2</sub>O 83:17, 4 ml/min) obteniéndose 28 (92 mg), homogéneo en ccd (sistema 2), PF: 165-167°C; RMN-<sup>1</sup>H: δ 0,80 (s, 3H, H-18), 2,16 (s, 3H, H-21), 3,92 (dd, J=9Hz, J<sub>19a-9</sub>=1Hz, 1H, H-19a), 4,15 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,38 (m, 1H, H-11), 5,58 (ba, 1H, H-6); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 202.

#### 11,19-6xidopregn-4-eno-3,20-diona (14)

A una solución de 28 (92 mg) en diclorometano (3,4 ml) y metanol (11,5 ml), se agregó agua (0,8 ml) y ácido clorhídrico (c) (1,7 ml). La mezcla de reacción fue vigorosamente agitada 16 hs a 25°C, se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y por evaporación del solvente se obtuvo 14 (92 mg), homogéneo en ccd (sistema 2), PF: 166-168°C (lit. 167-170°C [41]); UV λ<sub>máx</sub> (etanol), 242 nm (ε=9237); EM: m/z 328 (M<sup>+</sup>, 6,3%); 298 (M-CH<sub>2</sub>O, 77,3%); 161 (M-Anillo C-Anillo D-CHO, 100%); RMN <sup>1</sup>H: δ 0,83 (s, 3H, H-18), 2,16 (s, 3H, H-21), 3,82 (dd, J<sub>gem</sub>=9Hz, J<sub>19a-9</sub>=1,5Hz, 1H, H-19a), 4,01 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,42 (m, 1H, H-11), 5,91 (s, 1H, H-4); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 201. Análisis, calculado para C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>, C: 76,79%, H: 8,59%; obtenido, C: 76,56%, H: 8,87%.

## SINTESIS DE 6-OXAPREGNANOS

**3 $\beta$ -acetoxi-7-iodo-19-formiloxi-5,7-seco-6-norpregnano-5,20-diona (57)**

3 $\beta$ -Acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnan-20-ona **34** (220 mg) en CCl<sub>4</sub> (25 ml) se trató con óxido de mercurio (800 mg) e iodo (1,2 g) según el método A de la página 173 durante 3 hs a temperatura ambiente obteniéndose el secoesteroide **57** (260 mg), homogéneo en ccd (sistema 1); EM: m/z 345 (M-I-AcOH, 4%), 299 (345-H<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>, 4%), 254 (M-I-Anillo C-Anillo D, 64%), 191 (M-I-Anillo A-H, 6%), 127 (I, 70%), 43 (CH<sub>3</sub>CO, 100%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,71 (s, 3H, H-18), 2,13 (s, 3H, H-21), 2,04 (s, 3H, acetato), 3,15 (dd, J=11 y 3Hz, 1H, H-7), 3,42 (dd, J=11 y 2Hz, 1H, H-7), 3,63 (dd, J=15 y 4,5Hz, 1H, H-4 $\alpha$ ), 4,32 (d, J=12Hz, 1H, H-19a), 4,54 (d, J=12Hz, 1H, H-19b), 5,42 (m, 1H, H-3), 8,12 (s, 1H, formiato); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 206.

**3 $\beta$ ,19,20-triacetoxi-5 $\alpha$ -H-6-oxapregnano (71)**

A una solución del secoesteroide **57** (109 mg) en etanol (12 ml) a 0°C se agregó borohidruro de sodio (27 mg). La mezcla de reacción se agitó 1 hora a 0°C y luego 2 hs a temperatura ambiente, se acidificó con ácido clorhídrico diluido, se concentró, se diluyó con agua y se extrajo con éter. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó obteniéndose el 19-hidroxi-6-oxaesteroide **70** (96 mg); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,79 (s, 3H, H-18), 1,14 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,33 (t, J=11Hz, 1H, H-7 $\alpha$ ), 3,49 (d, J=11Hz, 1H, H-19a), 3,58 (dd, J=5 y 11Hz, 1H, H-7 $\beta$ ), 3,66 (m, 1H, H-20), 4,04 (d,

J=11Hz, 1H, H-19b), 4,14 (dd, J=5 y 12Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 5,19 (m, 1H, H-3). **70** se disolvió en anhídrido acético (2 ml) y piridina (2 ml) y se dejó con agitación una noche; el producto obtenido luego del procesamiento extractivo, se purificó mediante cromatografía flash (solvente hexano/AcOEt 2:1) obteniéndose **71**, homogéneo en ccd (sistema 2), PF: 156-157°C; EM: m/z 404 (M-AcOH, 16,5%), 344 (M-2AcOH, 100%), 316 (M-2AcOH-CO, 53,5%), 284 (M-3AcOH, 6,5%), 256 (M-3AcOH-CO, 6,2%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 1,16 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,32 (t, J=11Hz, 1H, H-7 $\alpha$ ), 3,60 (dd, J=5 y 11Hz, 1H, H-7 $\beta$ ), 4,10 (dd, J=5 y 12Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 4,19 (d, J=11Hz, 1H, H-19a), 4,43 (d, J=11Hz, 1H, H-19b), 4,86 (m, 1H, H-20), 5,20 (m, 1H, H-3); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 206. Análisis, calculado para C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>7</sub>, C: 67,22%, H: 8,68%; obtenido, C: 67,55%, H: 9,01%.

#### Acido 3 $\beta$ -acetoxi-20-oxo-5 $\alpha$ -H-6-oxapregnan-19-oico (**72**)

Una solución de **70** (190 mg, obtenido como se indicó arriba) en acetona (8,4 ml) se trató con reactivo de Jones (0,84 ml) durante 4 hs a 0°C. Luego del proceso extractivo se obtuvo **72** (136 mg). EM: m/z 332 (M-AcOH, 12,5%), 314 (M-AcOH-H<sub>2</sub>O, 6%), 288 (M-AcOH-CO<sub>2</sub>, 2%), 304 (M-AcOH-CO, 1,8%), 286 (M-AcOH-HCO<sub>2</sub>H, 1,8%), 247 (M-AcOH-Anillo D-H, 9,3%), 43 (CH<sub>3</sub>CO, 100%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,66 (s, 3H, H-18), 2,06 (s, 3H, acetato), 2,14 (s, 3H, H-21), 3,40 (t, J=11Hz, 1H, H-7 $\alpha$ ), 3,79 (dd, J=5 y 11Hz, 1H, H-7 $\beta$ ), 4,47 (dd, J=5 y 13Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 5,17 (m, 1H, H-3), 5,7 (ba, 1H, CO<sub>2</sub>H).

**Acido 3,20-dioxo-5 $\alpha$ -H-6-oxapregnan-19-oico (74)**

A una solución de 70 (377 mg) en metanol (54 ml) se agregó gota a gota hidróxido de sodio 10% (5,9 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a 25°C. Se acidificó con ácido clorhídrico 1N y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rindiendo luego de evaporar el solvente el 3-hidroxiderivado 73 el cual fue disuelto en acetona y tratado con exceso de reactivo de Jones hasta color naranja persistente a 0°C. Luego del proceso extractivo se obtuvo 74 (280 mg). EM: m/e 348 (M<sup>+</sup>, 1,7%), 304 (M-CO<sub>2</sub>, 5,7%), 302 (M-HCO<sub>2</sub>H, 6,5%), 43 (CH<sub>3</sub>CO, 100%); RMN <sup>1</sup>H:  $\delta$  0,70 (s, 3H, H-18), 2,14 (s, 3H, H-21), 3,38 (t, J=11Hz, 1H, H-7 $\alpha$ ), 4,54 (dd, J=5 y 11Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 3,74 (dd, J=5 y 11Hz, 1H, H-7 $\beta$ ), 7,5 (ba, 1H, CO<sub>2</sub>H); el espectro RMN <sup>13</sup>C se describe en el apéndice, página 206.

**MEDICION DE LOS TIEMPOS DE RELAJACION LONGITUDINAL (T<sub>1</sub>) E INCREMENTO POR EFECTO NUCLEAR OVERHAUSER (ENO)**

Las mediciones se realizaron sobre 6,19- $\delta$ xidoprogesterona (12), 6,19- $\delta$ xido-11-cetoprogesterona (13) y 11,19- $\delta$ xidoproges-terona (14) sintetizadas según se describe en el capítulo 3. Los compuestos fueron recristalizados de MeOH y los precipitados recogidos por filtración a través de papel endurecido y manejados con materiales no metálicos, para evitar impurificar los esteroides con partículas paramagnéticas.

El  $\text{CDCl}_3$  utilizado fue destilado en un equipo de destilación previamente lavado con detergente (Oakite), con EDTA y finalmente agua desionizada, y secado en estufa ( $105^\circ\text{C}$ ). El solvente fue guardado bajo atmósfera de  $\text{N}_2$  sin agregado de desecantes, hasta su utilización.

Los  $T_1$  y enO se determinaron a la concentración de 100 mg/ml en  $\text{CDCl}_3$ , utilizándose tubos para RMN nuevos en cada caso.

### Medición de $T_1$

Para la medición de  $T_1$  se aplicó la secuencia de pulsos que se esquematiza en la figura 66. Los valores de  $D'$  ( $A_t + T'$ ) utilizados corresponden a la técnica de inversión-recuperación rápida, ya que dicho tiempo no es suficiente para lograr la relajación total de los carbonos, trabajándose en condiciones de estado estacionario, para lo cual se descartaron las cuatro primeras secuencias. Para restar importancia a pequeños errores en los pulsos se alternó la fase del pulso de  $90^\circ$ , realizándose una vez según  $+x'$  y otra vez según  $-x'$ , sumándose y restándose la FID obtenida según  $+y'$  en cada caso respectivamente.

Los valores de  $A_t$  (0,74 s) y  $T'$  (3,6 s) utilizados permitieron la determinación adecuada de valores de  $T_1$  de hasta 2,16 s dado que esto cumple la relación  $D'/T_1 > 0,5$ .

En cada caso se realizaron 8 espectros (1000 pulsos) con distintos valores de  $T_m$ , correspondiendo el último ( $T_f$ ) a un valor suficientemente grande como para producir la relajación total de los carbonos antes del pulso de  $90^\circ$ .

$$T_1 \quad [(180_{+x} - T_m - 90_{\pm x} \pm FID_{+y} - T')_n]_m$$

$T_m = T_{m-1} + I_m$	Fase	$FID_{+y}$
$I_m = I_{m-1} + SI$	$+x$	$+$
$T_f = 3(T_{f-1})$	$-x$	$-$

$$\eta \quad {}^{13}\text{C} \quad (T_a - 90_{+x} - FID_1 - T_b - 90_{+x} - FID_2)_n$$

${}^1\text{H}$	BA	BA
----------------	----	----

$$T_a = 6T_1$$

$$T_b = 9T_1$$

Figura 66- Secuencias de pulsos empleadas en la determinación del tiempo de relajación longitudinal ( $T_1$ ) y del incremento por efecto nuclear Overhauser ( $\eta$ ).

Para la automatización de la determinación secuencial de los espectros se utilizó la secuencia indicada en la figura 66. Esta permite una correcta distribución de los tiempos entre pulsos dentro de un rango determinado. En particular en los esteroides ensayados se utilizó un valor de  $T_m$  inicial de 0,1 s, de  $I_m$  inicial también de 0,1 s, mientras que el valor de SI elegido fue de 0,05 s. Los valores de  $I_m$  y  $T_m$  resultantes fueron los siguientes:

Espectro	1	2	3	4	5	6	7	8
$I_m$	-	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	-
$T_m$	0,10	0,25	0,45	0,70	1,00	1,35	1,75	5,25

Los primeros cuatro valores de  $T_m$  son los más adecuados para la determinación de los  $T_1$  de los carbonos del anillo esteroidal dado que se encuentran en el rango  $0,3 T_1 < T_m < 1,5 T_1$  (para  $T_1$  de 0,5 s), mientras que los espectros 3-7 presentan los valores más adecuados para la determinación de los  $T_1$  de los metilos angulares (para  $T_1=1,5$  s). De este modo se cubrió todo el rango de  $T_m$  necesario para las experiencias realizadas. Finalmente el espectro 8 daría una idea del valor de  $I_\infty$ .

Los espectros fueron representados graficamente con igual escala vertical, determinándose la altura de cada pico. Dichos valores fueron relacionados con los  $T_m$  correspondientes según la ecuación indicada en la página 149, obteniéndose a partir de ella los valores de  $T_1$  mediante una regresión no lineal de cuadrados mínimos, lo cual no requiere la determinación de  $I_\infty$ , disminuyendo el efecto de los errores de  $I_\infty$  en el valor de  $T_1$  presente en la regresión lineal ( $\log(I_\infty - I_{T_m})$  Vs  $T_m$ ). El listado del programa de computación utilizado para este cálculo se presenta en la página 195.

#### **Medición del incremento nuclear Overhauser ( $\eta$ )**

Para la medición de  $\eta$  se aplicó la secuencia de pulsos esquematizada en la figura 66 (pág 185). La misma permite la obtención simultánea de una FID con efecto nuclear Overhauser ( $FID_1$ ) y otra sin el mismo ( $FID_2$ ) (ambas correspondientes a espectros totalmente desacoplados de  $^1H$ ) evitándose así cualquier diferencia debida a la modificación de las condiciones de medición durante la determinación.

Experimentalmente,  $T_a$  correspondió a 8,97 s mientras que  $T_b$  fue 13 s, lo cual permite la correcta determinación del enO de aquellos carbonos cuyos  $T_1$  sean menores de 1,5 s, es decir adecuados para las experiencias desarrolladas.

Debido al distinto ensanchamiento de las señales en los espectros con y sin enO no fue posible determinar  $\eta$  en base a las alturas de las señales. Tampoco fue posible determinarlo en base a la integración de las señales en forma directa ya que no se pudo mantener la integración relativa de un espectro a otro. Por lo tanto se debió calcular la integración de cada señal relativa a la correspondiente al solvente ( $\text{CDCl}_3$ ) en cada uno de los espectros y luego comparar los valores obtenidos. El valor de  $\eta$  se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{I_{\text{enO}} - I_0}{I_0} \quad \text{o} \quad \eta = (I_{\text{enO}}/I_0) - 1$$

donde  $I_{\text{enO}}$  es la integración relativa al  $\text{Cl}_3\text{CD}$  en el espectro con enO e  $I_0$  es la integración relativa al  $\text{Cl}_3\text{CD}$  en el espectro sin enO.



## MÉTODOS COMPUTACIONALES

Los programas fueron ejecutados bajo Microsoft DOS 3.30 en una computadora IBM PS/2 30 con procesador Intel 8086 (8 MHz), coprocesador matemático Intel 8087, 640 K de memoria principal, 128 K de memoria de pantalla y 200 K de memoria auxiliar, disco rígido de 3,5" (20 Mb), disco flexible de 3,5" (720 Kb), monitor color de alta resolución, tarjeta gráfica MCGA operando en modo VGA monocromático (640x480 pixels) para la presentación de gráficos de alta resolución y un dispositivo puntero tipo 'ratón'. La impresión de gráficos se realizó en una impresora IBM Proprinter 4202.

PCMODEL (versión 2.0) es una versión para 300 átomos del programa MODEL (versión VAX 1.1) de C. Still, Universidad de Columbia. Fue modificado por Kosta Steliou Universidad de Montreal y adaptado para IBM-PC y compatibles por M.M. Midland, Riverside, Universidad de California. Las modificaciones tratan principalmente de hacer la estructura de archivos del PCMODEL compatible con MMX, MM2, MNDO y MOPAC, agregando algunas características mejoradas del MMX y también mejoras en los gráficos. Aunque se hace una referencia explícita a los programas de Allinger MM2 y MMP2 (QCPE) a lo largo de todo el PCMODEL, tanto MM2 como MMP2, en sus formas actuales, no logran manejar muchos detalles que el PCMODEL les atribuye. PCMODEL es un programa de modelado molecular interactivo el cual utiliza la mayoría de las características del programa MMX excepto para cálculos pi VESCF y analizador de ángulos diedros. El programa está diseñado de manera que resulte fácil de utilizar y tiene una variedad de opciones para crear y presentar estructuras, así como opciones de pre-

sentación y cálculo de superficies moleculares, superposición de conformeros, cálculo de constantes de acoplamiento  $^1\text{H}-^1\text{H}$  (ecuación de Altona [97]), etc.

El programa MMX deriva del MM2 (QCPE 395) con las subrutinas pi del MMP1 (QCPE 318) incorporadas. Está basado en el MM2P de D. Roher, adaptado a Microsoft Fortran 77 V. 4.0 por J.J.Gajewski y K.E.Gilbert. Incluye además rutinas pi ampliadas y de convergencia rápida. Incorpora constantes del MODEL V 1.3 (Clark Still) y tiene una capacidad máxima de 128 átomos. El programa opera en forma no interactiva y es complementario del PCMODEL. El campo de fuerza MMX utilizado por PCMODEL y MMX es una extensión del MM2 de Allinger [98] que incorpora el concepto de parámetros generalizados de C. Still, permitiendo el cálculo de una gran variedad de estructuras. La versión utilizada reconoce 60 tipos de átomos incluyendo radicales, aniones, cationes, metales de transición y átomos de estados de transición.

Los programas PCMODEL (V. 2.0) y MMX fueron adquiridos a Serena Software, Bloomington, Indiana.

El cálculo de planos de cuadrados mínimos se realizó con el programa PLANOS (V.89.1). Este permite calcular a partir de un archivo en formato MMX (obtenido por PCMODEL o MMX) el mejor plano para un grupo de átomos, determinar desviaciones de átomos a los planos calculados y ángulos entre planos. El programa fue escrito en QuickBasic Microsoft V 4.0 y compilado como archivo ejecutable. El código fuente se indica a continuación.

```

REM *****PLANOS V 89.1 por G. Burton (26-4-89)*****
DECLARE SUB angulo (aa!, aa2!, bb!, bb2!, ang!!)
DECLARE SUB desv (a!, b!, c!, cord1!, cord2!, cord3!, des!!)
DECLARE SUB leer (l!)
DECLARE SUB numero (a!, b!, l!l!, nuo!!)
ON ERROR GOTO handler
REM $STATIC
SCREEN 0: COLOR 2, 0: CLS : archX = 0: KILL "planos.out"
FRINT "          CALCULO DE PLANOS DE CUADRADOS MINIMOS": PRINT
start: INPUT "Nombre del archivo"; AR$: IF AR$ = "" THEN END
archX = 1: OPEN AR$ FOR INPUT AS #1
OPEN "planos.out" FOR APPEND AS #2
FRINT #2, "PLANOS 89.1"
PRINT #2, "          CALCULO DE PLANOS DE CUADRADOS MINIMOS": PRINT #2,
CALL leer(LI$): CALL numero(61, 65, LI$, natom): NOMB$ = LEFT$(LI$, 60)
PRINT #2, AR$: PRINT #2, NOMB$
lab1:
FOR j = 1 TO 2
    CALL leer(LI$)
NEXT j
IF LEFT$(LI$, 1) <> " " THEN CALL leer(LI$)
CALL numero(1, 5, LI$, ncon)
CALL numero(26, 30, LI$, natch)
IF natch MOD 8 > 0 THEN ncon = 1 + ncon + INT(natch / 8) ELSE ncon = ncon + natch / 8

FOR j = 1 TO ncon
    INPUT #1, LI$
NEXT j

DIM cord(natom, 3)
FOR j = 1 TO natom STEP 2
    IF EOF(1) THEN GOTO lab2
    FOR k = 1 TO 3
        INPUT #1, cord(j, k)
    NEXT k
    INPUT #1, junk1, junk2
    IF EOF(1) OR j + 1 > natom THEN GOTO lab2
    FOR k = 1 TO 3
        INPUT #1, cord(j + 1, k)
    NEXT k
    INPUT #1, junk1, junk2
lab2: NEXT j

DIM plano(natom, 10): DIM aa(10): DIM bb(10): DIM cc(10): pl = 1
lab3: top = 1: j = 1
WHILE top <> 0
    INPUT "atome para calcular plano medio (0 para terminar)"; top
    plano(j, pl) = top: j = j + 1
WEND

```

```

xa = 0: ya = 0: za = 0: n = 0
FOR j = 1 TO natom
  IF plano(j, pl) <> 0 THEN
    xa = cord(plano(j, pl), 1) + xa
    ya = cord(plano(j, pl), 2) + ya
    za = cord(plano(j, pl), 3) + za
    n = n + 1
  END IF
NEXT j
xa = xa / n: ya = ya / n: za = za / n
u2 = 0: v2 = 0: uv = 0: uz = 0: vz = 0
FOR j = 1 TO natom
  IF plano(j, pl) = 0 THEN GOTO lab4
  u2 = u2 + (cord(plano(j, pl), 1) - xa) ^ 2
  v2 = v2 + (cord(plano(j, pl), 2) - ya) ^ 2
  uv = uv + (cord(plano(j, pl), 1) - xa) * (cord(plano(j, pl), 2) - ya)

  uz = uz + (cord(plano(j, pl), 1) - xa) * cord(plano(j, pl), 3)
  vz = vz + (cord(plano(j, pl), 2) - ya) * cord(plano(j, pl), 3)
lab4: NEXT j
d = u2 + v2 - uv ^ 2
a = (uz + v2 - uv + vz) / d: b = (vz + u2 - uv + uz) / d: c = za - a * xa - b * ya
aa(pl) = -a / b: cc(pl) = -c / b: bb(pl) = 1 / b
CLS : PRINT "mejor plano para los atomos"
FOR j = 1 TO natom
  IF plano(j, pl) <> 0 THEN PRINT plano(j, pl); " ";
NEXT j
PRINT : PRINT : PRINT "Ecuación del plano A * x - y + B * z + C = 0"
PRINT "A="; aa(pl): PRINT "B="; bb(pl): PRINT "C="; cc(pl): PRINT
INPUT "Desea calcular desviaciones al plano (S/N)"; Q%
IF Q% = "N" OR Q% = "n" THEN GOTO lab6
PRINT "CALCULO DE DESVIACIONES DE ATOMOS RESPECTO DEL PLANO"
PRINT
lab31: DIM atomos(natom): tap = 1: j = 1
WHILE tap <> 0
  INPUT "atomo para calcular desviacion (0 para terminar)"; tap
  atomos(j) = tap: j = j + 1
WEND
IF atomos(1) = 0 THEN GOTO lab5

PRINT #2, "  Desviaciones del plano medio definido por los atomos"
FOR j = 1 TO natom
  IF plano(j, pl) <> 0 THEN PRINT #2, plano(j, pl); " ";
NEXT j
PRINT #2, : PRINT #2,
FOR j = 1 TO natom
  IF atomos(j) = 0 THEN GOTO lab5
  CALL desv(aa(pl), bb(pl), cc(pl), cord(atomos(j), 1), cord(atomos(j), 2), cord(atomos(j), 3))
  PRINT #2, USING "##"; atomos(j); : PRINT USING "##"; atomos(j);
  PRINT #2, "      "; PRINT "      ";
  PRINT #2, USING "+###.####"; des: PRINT USING "+###.####"; des
lab5: NEXT j

```

```

PRINT #2, : PRINT #2, : PRINT : INPUT "Desea calcular otras desviaciones (N/S)"; Q$
CLS : IF Q$ = "S" OR Q$ = "s" THEN ERASE atomos: GOTO lab31
lab6: IF pl = 10 THEN GOTO lab7
PRINT : PRINT "Desea calcular otro plano para "; AR$; " (S/N)"; : INPUT ""; Q$
CLS : IF Q$ (<) "N" AND Q$ (<) "n" THEN pl = pl + 1: ERASE atomos: GOTO lab3
IF pl = 1 THEN GOTO fin
lab7: PRINT "CALCULO DE ANGULOS ENTRE PLANOS"
PRINT
PRINT "Planos disponibles:"
FOR k = 1 TO pl
  PRINT "plano "; k; " : "; : PRINT #2, "plano "; k; " : ";
  FOR j = 1 TO natom
    IF plano(j, k) (<) 0 THEN PRINT plano(j, k); " "; : PRINT #2, plano(j, k);
  NEXT j
  PRINT : PRINT #2,
NEXT k
IF pl = 2 THEN j = 1: k = 2: GOTO lab81
lab8: INPUT "angulo entre planos (#, #; 0,0 para terminar)"; j, k
IF j = 0 OR k = 0 THEN GOTO fin
lab81: CALL angulo(aa(j), aa(k), bb(j), bb(k), ang)
PRINT #2, "angulo entre planos "; j; "/" ; k; " ° "; : PRINT #2, USING "+###.##"; ang; : PRINT #2, "°":
PRINT USING "+###.##"; ang; : PRINT "°": PRINT
IF pl = 2 THEN GOTO fin ELSE GOTO lab8

fin:
PRINT #2, : PRINT #2, "fin de "; NOMB$
PRINT #2, "*****"
PRINT #2,
CLOSE #1: CLOSE #2
PRINT : PRINT : INPUT "desea calcular otra molcula (S/N)"; Q$
IF Q$ (<) "N" AND Q$ (<) "n" THEN ERASE cord, plano, atomos, aa, bb, cc: CLS : GOTO start
lab9: PRINT : INPUT "Imprimir los datos antes de salir (S/N)"; Q$
SELECT CASE Q$

    CASE "N", "n"
      END
    CASE "S", "s"
      SHELL "COPY planos.out prn"
    CASE ELSE
      GOTO lab9
END SELECT
END

```

```

handler: xx = ERR
      IF xx = 53 AND archx = 0 THEN
          RESUME NEXT
      ELSEIF xx = 53 AND archx = 1 THEN
          PRINT "el archivo no existe"
          RESUME start
      ELSE
          ERROR xx
          ON ERROR GOTO 0
      END IF

SUB angulo (aa1, aa2, bb1, bb2, ang1)
REM angulos entre -90 y +90
coseno = (aa1 * aa2 + bb1 * bb2 + 1)
seno = SQR((bb1 - bb2) ^ 2 + (bb1 + aa2 - aa1 + bb2) ^ 2 + (aa2 - aa1) ^ 2)
IF aa2 > aa1 OR (aa2 = aa1 AND bb2 < bb1) THEN seno = -seno
IF coseno = 0 AND seno = 1 THEN
    ang1 = 90
ELSEIF coseno = 0 AND seno = -1 THEN
    ang1 = -90
ELSE ang1 = ATN(seno / coseno) * 180 / 3.141592654
END IF
END SUB

SUB desv (a1, b1, c1, cord1, cord2, cord3, des1)
des1 = -(a1 + cord1 - cord2 + cord3 + b1 + c1) / SQR(a1 ^ 2 + b1 ^ 2 + 1)
END SUB

SUB leer (l%)
l% = "": S% = ""
WHILE S% <> CHR$(10)
    S% = INPUT$(1, #1): l% = l% + S%
WEND
END SUB

SUB numero (a, b, LI1%, num1)
n% = ""
FOR i = a TO b
    TEMP% = MID$(LI1%, i, 1): IF TEMP% <> " " THEN n% = n% + TEMP%
NEXT i
IF n% <> "" THEN num1 = VAL(n%) ELSE num1 = 0
END SUB

```

El cálculo de tiempos de relajación longitudinal se realizó por el programa EXPFIT (V. 89.2). El mismo realiza el ajuste de los datos experimentales de intensidad de señales en una secuencia de tipo inversión-recuperación a una ecuación exponencial según el método descrito por M. Sass y D. Ziessow [91]. La salida de datos incluye el valor de  $T_1$  para cada núcleo y el coeficiente de correlación correspondiente. Como segunda opción el programa permite el ajuste de cualquier juego de datos a una ecuación exponencial genérica. El programa fue escrito en QuickBasic Microsoft 4.0 y compilado como archivo ejecutable. el código fuente se indica a continuación.

```
REM +++++EXPFIT V 89.2 por G. Burton (22-5-89)+++++
```

```

DECLARE SUB ITER ()
OPTION BASE 1: REM $DYNAMIC
ON ERROR GOTO handler
DIM T(10), S(10), Z(10), NU$(2)
start: VIEW PRINT: SCREEN 0: COLOR 15, 1: CLS
LOCATE 10, 30: PRINT "**** E X P F I T ****"
LOCATE 13, 23: PRINT "Elija el ajuste a realizar (1 ó 2):"
LOCATE 15, 25: PRINT "1.Cálculo de T1 I=a+b*EXP(tau/T1)"
LOCATE 17, 25: PRINT "2.Ajuste general Y=a+b*EXP(k*X)"
IDLE1: QS = INKEY$: IF QS <> "1" AND QS <> "2" THEN GOTO IDLE1
LIIX = 2: COIX = 1: K = 0: B = 0: CORR = 0: arch$ = ""
arc2X = 0: KILL "FITEXP.BA1": KILL "FITEXP.BA2"

IF QS = "2" THEN GOSUB PANT0: PRINT "Entrada", "X", "Y": FIT$ = "FITEXP.BA2": GOTO lab1
GOSUB PANT2: INPUT "Nombre"; NOM$: INPUT "Número de núcleos"; NN$: ERASE NU$: REDIM NU$(NN)
FIT$ = "FITEXP.BA1": OPEN FIT$ FOR APPEND AS #1: WRITE #1, NOM$: CLOSE #1
FOR W = 1 TO NN
lab0: GOSUB PANT2: INPUT "Núcleo y posición"; NU$(W)
GOSUB PANT0: PRINT "Entrada", "tau", "Intensidad", , LEFT$(NOM$, 15); " "; LEFT$(NU$(W), 8)

lab1: GOSUB PANT1: CLS : PRINT 1, : LIIX = CSRLIN: COIX = POS(0)
GOSUB PANT2: INPUT "Número de datos"; NX
ERASE T, S: REDIM T(NX), S(NX)

```

```

FOR I = 1 TO NX
  GOSUB PANT2
  IF Q$ = "2" THEN INPUT "X, Y"; T(I), S(I) ELSE INPUT "tau, Intensidad"; T(I), S(I)
  GOSUB PANT1: PRINT T(I), S(I): IF I < NX THEN PRINT I + 1,
  LIIX = CSRLIN: COIX = POS(0)
NEXT I
lab2: GOSUB PANT2: COLOR 1, 11: PRINT "E"; : COLOR 11, 1: PRINT "DITAR",
COLOR 1, 11: PRINT "C"; : COLOR 11, 1: PRINT "ALCULAR",
COLOR 1, 11: PRINT "R"; : COLOR 11, 1: PRINT "ECOMENZAR",
COLOR 1, 11: PRINT "T"; : COLOR 11, 1: PRINT "ERMINAR"
lab21: OPC$ = INKEY$
SELECT CASE OPC$
  CASE "e", "E"
    GOSUB EDITAR
  CASE "c", "C"
    GOTO lab3
  CASE "r", "R"
    GOTO lab0
  CASE "t", "T"
    GOTO lab4
  CASE ELSE
    GOTO lab21
END SELECT

lab3: OPEN FIT$ FOR APPEND AS #1
IF Q$ = "1" THEN WRITE #1, NU$(W)
FOR I = 1 TO NX
  WRITE #1, T(I), S(I)
NEXT I
IF Q$ = "1" THEN WRITE #1, -9999, -9999
CLOSE #1
GOSUB PANT2
reit: IF Q$ = "2" THEN
  PRINT "Ecuación Y=a+b*EXP(k*X)"
  INPUT "Entrar un valor tentativo de k: ", A
ELSE
  INPUT "Entrar un valor tentativo de T1: ", A
  A = -1 / A
END IF
GOSUB PANT2: INPUT "Error porcentual de iteración"; EP

CALL ITER
IF A = 0 THEN GOSUB PANT2: PRINT "*****ITERACION DIVERGENTE*****": GOTO reit

IF Q$ = "2" THEN
  GOSUB PANT0: PRINT "Ecuación Y=a+b*EXP(k*X)"
  GOSUB PANT1: CLS : LOCATE 8, 1: PRINT "k="; A
ELSE
  GOSUB PANT0
  PRINT "Ecuación I=a+b*EXP(tau/T1)", , LEFT$(NOM$, 15); " "; LEFT$(NU$(W), 8)
  GOSUB PANT1
  CLS : LOCATE 8, 1: PRINT "T1="; -1 / A

```



```

END IF
LOCATE 10, 1: PRINT "a="; K: LOCATE 12, 1: PRINT "b="; B
LOCATE 15, 1: PRINT "Coeficiente de Correlación: "; CORR
OPEN FIT$ FOR APPEND AS #1: WRITE #1, A, K, B, CORR: CLOSE #1
GOSUB PANT2: INPUT "APRETAR CUALQUIER TECLA PARA CONTINUAR", OPC$
IF Q$ = "2" THEN GOTO lab4
NEXT W

lab4: CLS : COLOR 1, 11: PRINT "I"; : COLOR 11, 1: PRINT "MPRIMIR",
COLOR 1, 11: PRINT "G"; : COLOR 11, 1: PRINT "RABAR",
COLOR 1, 11: PRINT "R"; : COLOR 11, 1: PRINT "ECOMENZAR",
COLOR 1, 11: PRINT "P"; : COLOR 11, 1: PRINT "AUSA",
COLOR 1, 11: PRINT "A"; : COLOR 11, 1: PRINT "BANDONAR PROGRAMA"
lab5: OPC$ = INKEY$
SELECT CASE OPC$
  CASE "I", "i"
    GOSUB IMPR
  CASE "G", "g"
    CLS : INPUT "Nombre de archivo"; arch$
    ORDEN$ = "COPY " + FIT$ + " " + arch$
    SHELL ORDEN$
  CASE "r", "R"
    GOTO start
  CASE "P", "p"
    SHELL
  CASE "A", "a"
    GOTO fin
  CASE ELSE
    GOTO lab5
END SELECT
GOTO lab4

fin: CLS : INPUT "ABANDONAR PROGRAMA (S/N)"; OPC$
IF OPC$ = "s" OR OPC$ = "S" THEN END ELSE GOTO lab4
END

DATA 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0
PANT0:
  VIEW PRINT 1 TO 2: SCREEN 0: COLOR 11, 1
  CLS
RETURN

PANT1:
  VIEW PRINT 2 TO 22: SCREEN 0: COLOR 10, 0
  LOCATE LI1%, CO1%
RETURN

```

```

PANT2:
    VIEW PRINT 23 TO 24: SCREEN 0: COLOR 11, 1
    CLS
RETURN

EDITAR:
    DO
        GOSUB PANT2: INPUT "Número de entrada a alterar"; JX

        LOOP UNTIL JX <= NX AND JX > 0
        IF Q$ = "1" THEN INPUT "tau, Intensidad"; T(JX), S(JX) ELSE INPUT "X,Y"; T(JX), S(JX)
        GOSUB PANTI: CLS : LI1X = CSRLIN: CO1X = POS(0)
        FOR I = 1 TO NX
            PRINT I, T(I), S(I)
        NEXT I
        LI1X = CSRLIN: CO1X = POS(0)
RETURN lab2

IMPR:
    OPEN FIT$ FOR INPUT AS #1
    IF Q$ = "2" THEN
        FOR I = 1 TO NX
            INPUT #1, TMP1, TMP2
        NEXT I
        INPUT #1, A, K, B, CORR
        LPRINT "Ecuación Y=a+b*EXP(k*X)": LPRINT " "
        LPRINT "k="; A: LPRINT "a="; K: LPRINT "b="; B:
        LPRINT "Coeficiente de Correlación="; CORR
    ELSE
        INPUT #1, NOM$: LPRINT NOM$: LPRINT " "
        FOR W = 1 TO NNX
            INPUT #1, NU$(W)
            DO
                INPUT #1, TMP1, TMP2
                LOOP UNTIL TMP1 = -9999 AND TMP2 = -9999
                INPUT #1, A, K, B, CORR
                LPRINT NU$(W), "T1="; -1 / A, "Coef. de corr.="; CORR
            NEXT W
    END IF
    CLOSE #1
    RETURN

handler: xx = ERR
    IF xx = 53 AND arc2X = 0 THEN
        RESUME NEXT
    ELSEIF xx = 53 AND arc2X = 1 THEN
        PRINT "el archivo no existe"
        RESUME start
    ELSE
        ERROR xx
        ON ERROR GOTO 0
    END IF

```

```

SUB ITER STATIC
  SHARED T(), S(), Z(), NX, ER, A, K, B, CORR
  DIV = 0
  INI1: RESTORE: READ E2, E, STE, SE, S, TE, TE2, ST2E, T2E, T2E2
  FOR I = 1 TO NX
    E2 = E2 + EXP(2 * A * T(I)): E = E + EXP(A * T(I))
    STE = STE + S(I) * T(I) * EXP(A * T(I))
    SE = SE + S(I) * EXP(A * T(I)): S = S + S(I)
    TE = TE + T(I) * EXP(A * T(I))
    TE2 = TE2 + T(I) * EXP(2 * A * T(I))
    ST2E = ST2E + S(I) * T(I) ^ 2 * EXP(A * T(I))
    T2E = T2E + T(I) ^ 2 * EXP(A * T(I))
    T2E2 = T2E2 + T(I) ^ 2 * EXP(2 * A * T(I))
  NEXT I
  G = (NX * E2 - E ^ 2) * STE + (SE * E - S * E2) * TE + (S * E - NX * SE) * TE2
  GD = (NX * TE2 - TE * E) * STE + (NX * E2 - E ^ 2) * ST2E + (SE * TE - S * TE2) * TE
  GD = GD + (SE * E - S * E2) * T2E + 2 * (S * E - NX * SE) * T2E2
  A = A - G / GD: ERR2 = ABS(G / GD * 100 / A)
  IF DIV = 0 THEN
    DIV = ERR2
  ELSEIF ERR2 > DIV THEN
    A = 0: GOTO FINIT
  END IF
  IF ERR2 > ER THEN
    PRINT "Error % = "; ERR2: DIV = ERR2
    GOTO INI1
  ELSE B = (S * E / NX - SE) / (E ^ 2 / NX - E2): K = (S - B * E) / NX
  END IF
  ERASE Z: REDIM Z(NX): ZZ = 0: SS = 0
  FOR I = 1 TO NX
    Z(I) = K + B * EXP(A * T(I))
    ZZ = ZZ + (Z(I) - S / NX) ^ 2: SS = SS + (S(I) - S / NX) ^ 2
  NEXT I
  CORR = ZZ / SS
  FINIT:
  END SUB

```

**APENDICE**

A continuación se detallan los desplazamientos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de los principales compuestos sintetizados en el presente trabajo de tesis. Las asignaciones se basaron en asignaciones previas de esteroides [55], en la fase relativa del correspondiente espectro APT y, en algunos casos, por irradiación selectiva de los hidrógenos respectivos.

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS DE  $^{13}\text{C}$ 

Carbono	<u>12</u>	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>23a</u>	<u>23b</u>	<u>24</u>
1	33,13	33,51	34,58	34,38	32,80	32,72
2	40,95	40,59	33,36	26,30	26,51	26,83
3	198,38	198,50	198,17	72,11	71,39	69,77
4	114,76	116,36	127,96	38,38	38,97	41,24
5	171,44	168,98	163,09	87,09	75,62	74,37
6	76,98	76,48	32,74	75,24	56,07	82,05
7	26,44	23,56	28,01	35,09	36,36	23,31
8	33,63	30,94	34,47	30,64	30,64	33,28
9	50,00	54,22	57,24	47,34	44,94	48,59
10	45,83	47,99	47,33	38,71	38,87	45,80
11	22,90	207,56	77,88	21,06	21,06	22,59
12	38,37	43,76	41,10	40,37	39,43	
13	44,66	55,31	44,05	44,27	44,27	44,58
	54,78	58,33	52,68	55,92	55,36	54,55
15	23,87	26,20	23,33	24,24	24,24	23,68
16	23,87	22,84	22,72	22,82	22,82	22,92
17	63,03	61,43	64,04	63,54	63,54	63,30
18	13,63	14,29	15,54	13,54	13,54	13,79
19	75,40	76,00	69,49	17,94	18,93	67,40
20	208,65	207,29	208,19	209,53	209,53	208,95
21	31,29	34,49	30,96	31,47	31,47	31,39
$\text{CH}_3\text{C}\underline{\text{O}}_2$	-	-	-	170,39	171,06	170,04
$\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}_2$	-	-	-	21,33	21,33	21,27

Carbono	<u>28</u>	<u>31</u>	<u>32a</u>	<u>32b</u>	<u>33a</u>
1	35,07	32,27	36,65	36,48	32,16
2	50,16	32,82	36,12	35,49	27,18
3	208,52	121,61	71,25	73,08	71,17
4	37,25	139,60	32,74	32,28	36,04
5	135,35	147,55	141,71	140,18	65,10
6	123,95	115,87	119,93	120,53	58,91
7	28,96	24,50	31,33	27,13	28,59
8	31,96	32,39	33,52	32,94	29,85
9	53,67	57,94	60,53	59,07	42,38
10	47,16	34,59	36,79	37,40	35,03
11	77,11	207,30	211,86	210,00	20,62
12	41,15	56,24	57,74	57,08	38,43
13	43,92	46,39	45,66	44,98	43,88
14	52,66	54,90	54,24	53,43	56,91
15	23,44	23,79	25,88	25,40	24,23
16	22,60	23,24	24,34	23,70	22,70
17	64,13	61,59	56,85	53,65	63,30
18	15,30	13,99	13,16	12,93	13,25
19	73,20	18,04	18,59	18,11	15,86
20	207,62	208,91	69,43	71,79	209,08
21	31,12	30,96	23,63	19,31	31,47
CH <sub>3</sub> C <u>O</u> <sub>2</sub>		168,52	-	169,99	170,00
<u>C</u> H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>		20,72	-	21,27	21,29

Carbono	<u>33b</u>	<u>34</u>	<u>35a</u>	<u>35b</u>	<u>36a</u>
1	32,40	31,96	31,84	30,91	31,87
2	27,18	34,24	29,10	32,14	29,97
3	71,15	71,39	71,06	67,55	70,84
4	37,93	36,73	37,26	41,16	34,37
5	62,38	75,26	75,74	76,18	78,54
6	63,59	75,59	85,55	85,47*	69,56
7	36,69	26,55	26,65	29,30	26,60
8	29,74	30,17	30,59	30,63	29,75
9	50,84	44,92	45,38	45,72	44,55
10	35,09	38,84	38,56	38,53	39,43
11	21,89	20,97	21,06	21,17	21,05
12	38,78	38,13	39,00	39,04	38,99
13	43,83	44,25	44,31	44,38	44,33
14	56,24	55,94	56,11	56,18	56,03
15	24,38	24,22	24,38	24,40	24,34
16	22,84	22,70	22,81	22,83	22,80
17	63,26	63,57	63,73	63,76	63,72
18	13,12	13,40	13,51	13,56	13,50
19	17,05	16,42	16,14	16,32	17,44
20	208,92	209,67	209,25	209,53	209,25
21	31,42	31,33	31,46	31,50	31,41
CH <sub>3</sub> C=O	170,28	170,96	170,64	-	170,56
C=CH <sub>3</sub>	21,28	21,32	21,44		21,38
OCH <sub>3</sub>	-	-	57,78	57,97	48,35

\* Asignado por irradiación selectiva del <sup>1</sup>H correspondiente.



Carbono	<u>36b</u>	<u>37</u>	<u>41</u>	<u>42a</u>	<u>43a</u>
1	31,13	33,33	36,23	32,39	31,29
2	32,18	26,16	31,61	30,87	29,19
3	67,49	72,22	109,18	68,19	108,75
4	34,35	37,87	41,70	39,64	39,42
5	78,79	87,86	139,87	65,66	65,03
6	69,68	74,39	121,77	58,96	58,17
7	33,45	34,95	31,40	28,57	30,90
8	30,06	31,70	31,01	29,77	30,80
9	44,66	57,46	49,61	42,42	57,79
10	39,43	40,20	36,53	34,80	35,58
11	21,17	210,41	20,79	20,59	21,66
12	39,10	57,96	39,36	38,38	39,03
13	44,44	46,26	41,70	43,80	41,73
14	56,13	54,18	56,46	56,88	56,07
15	24,40	25,55	24,45	24,15	24,48
16	22,84	23,55	22,94	22,60	22,88
17	63,77	53,66	58,06	63,23	63,12
18	13,55	13,41	12,86	13,18	12,75
19	17,60	17,26	18,82	15,85	15,64
20	209,36	71,86	111,65	210,60	111,73
21	31,47	19,59	23,76	31,39	23,67
CH <sub>3</sub> <u>C</u> O <sub>2</sub>	-	170,09	-	-	-
<u>C</u> H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>		21,36	-	-	
O <u>C</u> H <sub>3</sub>	48,08*		-		-
O <u>C</u> H <sub>2</sub>			64,03		63,99

\* Asignado por irradiación selectiva de los <sup>1</sup>H correspondientes.

Carbono	<u>43b</u>	<u>44a</u>	<u>30</u>	<u>50</u>	<u>55</u>
1	32,18	34,28	37,03	40,83	32,58
2	28,39	38,90	34,14	26,51	31,58
3	109,28	209,92	200,00	71,94	216,72
4	41,42	48,03	126,12	32,83	32,86*
5	62,91	67,69	168,04	73,78	63,47
6	64,46	60,06	72,72	80,85	64,70
7	49,82	29,88	38,36	25,53	31,02
8	29,31	31,23	29,68	34,08	29,35
9	57,29	43,80	53,40	59,53	48,17
10	35,00	36,62	38,57	44,50	35,70
11	20,38	22,04	20,94	209,69	21,22
12	39,03	39,59	37,93	56,87	38,43
13	42,15	45,20	43,94	47,44	43,72
14	56,68	58,11	55,91	53,73	56,20
15	24,48	25,52	24,28	25,84	24,40
16	22,79	24,02	22,80	22,44	22,95
17	63,12	64,56	63,42	53,73	63,47
18	12,86	14,40	13,36	13,29	13,05
19	17,08	16,75	19,43	67,99	16,82
20	111,76	210,81	209,11	69,51	208,69
21	23,55	32,61	31,40	19,49	31,36
CH <sub>3</sub> <u>C</u> O <sub>2</sub>	-	-	-	169,62	-
<u>C</u> H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	-	-	-	21,00	-
O <u>C</u> H <sub>3</sub>	-	-	-	-	-
O <u>C</u> H <sub>2</sub>	64,19	-	-	-	-

\* Asignado por irradiación selectiva del hidrógeno correspondiente.

Carbono	<u>57</u>	<u>67</u>	<u>68</u>	<u>69</u>	<u>71</u>	<u>74</u>
1	24,83	33,13	34,47	34,62	24,06	24,02
2	28,05	26,62	40,03	43,93	27,86	35,92
3	72,37*	72,76	73,21	71,02	72,55	208,86
4	44,98*	28,22	29,11	31,64	29,62	38,43
5	211,80	72,76	136,69	137,75	70,33	74,60
6	160,46	81,75	123,87	122,93	-	-
7	16,95*	25,06	28,02	29,17	66,43	66,93
8	39,66	29,67	31,73	31,84	34,52	31,29
9	37,42	55,40	55,95	53,94	38,31	40,86
10	53,50	41,09	47,04	46,96	39,43	48,11
11	23,03	68,17	77,33	77,72	23,05	21,50
12	38,37	45,55	41,83	42,53	38,40	41,65
13	42,92	42,38	42,54	42,09	42,65	44,27
14	55,23	48,16	52,11	52,16	52,06	53,18
15	23,41	23,51	25,45	25,60	23,21	23,44
16	22,27	22,84	23,43	23,64	25,61	23,05
17	62,97	51,34	54,05	59,13	54,51	62,59
18	13,92	15,35	14,38	14,25	12,71	13,30
19	64,56	68,71	73,77	73,88	64,33	176,78
20	208,51	69,99	72,77	69,76	70,12	209,20
21	31,20*	19,78	19,80	23,33	19,88	33,80
CH <sub>3</sub> <u>C</u> O <sub>2</sub>	169,70	170,16	170,10	-	170,05	
<u>C</u> H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	21,09	21,33	21,35		21,45	

\* Asignado por irradiación selectiva de los hidrógenos correspondientes.

**RESUMEN**

El presente trabajo de tesis estuvo orientado hacia la síntesis de esteroides rígidos donde sus conformaciones estuvieran fijadas mediante la utilización de puentes 6,19-óxido y 11,19-óxido, en los cuales se encontrarían disminuidas las interacciones sobre la cara  $\beta$ , aumentando el grado de planicidad de las mismas. Sobre los mismos se realizaron estudios conformacionales por RMN  $^{13}\text{C}$  y cálculos utilizando mecánica molecular.

Los esteroides sintetizados fueron 6,19-óxidoprogesterona (12), 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) y 11,19-óxido-progesterona (14).

En el transcurso del mismo se han desarrollado los temas que se detallan a continuación.

En el capítulo 1 se analizan los requerimientos conformacionales necesarios para la actividad mineralocorticoide. Tanto la aldosterona (1) como la desoxicorticosterona (2) (hormonas naturales) y por otra parte 19-norprogesterona (8) y la 19-nordesoxicorticosterona (9), presentan actividad mineralocorticoide. Sin embargo, estos compuestos no tienen características estructurales comunes considerando las diferencias de funcionalidad involucradas, salvo cuando esas estructuras se comparan desde el punto de vista de la conformación del sistema de anillos del esteroide y la ubicación espacial relativa de grupos funcionales característicos (20-ceto, 3-ceto). Los compuestos mencionados tienen en común la planicidad de la molécula o al menos la flexibilidad suficiente como para adquirir una conformación plana. Si bien esta condición

ha sido reconocida como uno de los requerimientos para la acción mineralocorticoide, debe distinguirse entre estructuras planas rígidas y flexibles (o deformables), ya que éstas últimas pueden adaptar su conformación para interaccionar con un receptor determinado.

En el capítulo 2, se describen los antecedentes de la reacción de funcionalización del metilo-19 de esteroides. Se detallan los sistemas oxidantes descriptos para la reacción de funcionalización y se analizan algunas posibles reacciones secundarias.

Los bajos rendimientos de los métodos disponibles para la obtención de 11,19- $\delta$ oxidoprogesterona no los hacían aptos para la preparación de dicho compuesto en cantidad y pureza adecuados para su posterior uso en ensayos biológicos y estudios conformacionales por RMN  $^{13}\text{C}$ . En consecuencia se encaró el desarrollo de una síntesis eficiente a partir de 11-cetoprogesterona. La funcionalización del metilo-19 constituyó un punto clave y la misma se llevó a cabo mediante la reacción de hipiodito sobre un derivado 6 $\beta$ -hidroxilado.

En el capítulo 3 se describen los resultados obtenidos al realizar las síntesis de 6,19- y 11,19- $\delta$ oxidopregnanos.

Inicialmente se plantearon tres 6 $\beta$ -hidroxiderivados como posibles precursores de 6,19- $\delta$ óxidos: un 5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxipregnano, un 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diol y un 6 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^4$ -3-cetopregnano. En una primera etapa se procedió a sintetizar dichos precursores, siendo los mismos 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxipregnan-20-ona (**23a**), 3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diacetoxi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroxipregnan-11-ona (**37**), 3 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnan-20-ona (**34**) y 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (**30**). Para la preparación de los mismos se optimizaron los métodos existentes, introduciéndose algunas modificaciones (por ejemplo en la prepa-

ración de 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (**30**). A continuación se ensayó la reacción de oxidación con reactivos generadores de hiponhalitos sobre los 6 $\beta$ -hidroxiderivados. Las condiciones de la reacción de funcionalización fueron optimizadas, seleccionándose el sistema HgO/I<sub>2</sub> con iniciación lumínica. A partir de las bromohidrinas **23a** y **37** se obtuvo el 6,19-óxido correspondiente con muy buen rendimiento. En el caso de 6 $\beta$ -hidroxiprogesterona (**30**) se obtuvo 4 $\alpha$ -iodo-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -óxidopregnano-3,20-diona (**55**) lo cual puede explicarse considerando que la distancia C(19)-O(6 $\beta$ ) en **30** es de 3,12Å según cálculos de mecánica molecular lo cual dificultaría la sustracción de un hidrógeno del C-19 por parte del radical alcóxilo formado inicialmente, produciéndose entonces el ataque del alcóxilo sobre el C(5). Al realizar la reacción con HgO/I<sub>2</sub> con iniciación lumínica sobre el 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diol (**34**) se obtuvo 3 $\beta$ -acetoxi-7-iodo-19-formiloxi-5,7-seco-6-norpregnano-5,20-diona (**57**), en este caso el desarrollo de la reacción está influenciado por la presencia de un grupo lábil en la molécula (5 $\alpha$ -hidroxi) que en el medio de reacción es susceptible de ser oxidado. El radical oxi formado en posición 5 $\alpha$  reaccionaría según una vía de  $\beta$ -fragmentación, conduciendo al secoesteroide **57**. Este último fue visualizado como un importante sintón de 6-oxaesteroides.

Como consecuencia de los resultados obtenidos se decidió realizar la síntesis de **12** a partir de la bromohidrina **23a** y de **13** y **14** a partir de la 11-cetobromohidrina **37**. Se obtuvieron los compuestos buscados con buenos rendimientos. En el caso de la síntesis de 11,19-óxidoprogesterona (**14**) el punto clave fue la reducción del carbonilo en posición 11 y su ciclación al 11,19-óxi-

do. Sin embargo, esta secuencia de eventos no resultaron los más acertados debido a la resistencia a la apertura del 6,19-óxido en el 11 $\beta$ -hidroxi derivado, en el presente trabajo fue posible realizar con altos rendimientos la reducción directa del 11,19-hemicetal (65) al éter cíclico (68) por tratamiento con cianoborohidruro de sodio.

En el capítulo 4 se describen los resultados obtenidos en la preparación de 6-oxaesteroides a partir del secoesteroide 57.

En el capítulo 5 se detalla el análisis conformacional mediante métodos computacionales (MMX/PCMODEL), así como el cálculo de las barreras rotacionales del metilo-18 mediante el método de Woessner para los compuestos sintetizados.

A partir del análisis de las estructuras de mínima energía obtenidas mediante PCMODEL/MMX para los conformeros de 6,19-óxidoprogesterona (12) y 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (13) se observó que ambos compuestos eran planos en la zona de los anillos B-C-D y parte del A con una curvatura apreciable hacia la cara  $\alpha$  del sistema  $\Delta^4$ -3-ceto mientras que la 11,19-óxidoprogesterona (14) presentaba una estructura global plana del núcleo esteroideal.

Para realizar el cálculo de las barreras rotacionales según el método de Woessner fue necesario medir el tiempo de relajación longitudinal ( $T_1$ ) y el incremento por efecto nuclear Overhauser (enO) de los carbonos de los compuestos considerados. Paralelamente se realizó el cálculo de las barreras rotacionales para el metilo-18 de los diferentes conformeros de mínima energía obtenidos mediante mecánica molecular utilizando el programa PCMODEL. Cabe destacar que la buena correlación entre los valores experimentales y



los calculados para las barreras de rotación del metilo-18 no hacen más que avalar las conclusiones obtenidas del análisis conformacional realizado mediante los programas MMX y PCMODEL.

En el capítulo 6 se hizo un resumen de la actividad mineralocorticoide obtenida para los compuestos sintetizados. Los mejores resultados se obtuvieron para 11,19-óxidoprogesterona (14). Resulta interesante destacar que la respuesta obtenida en este caso fue un 50 % mayor que el caso del mineralocorticoide natural DOC (2). Por otro lado se han realizado ensayos preliminares observándose actividad a dosis menores a 10 µg lo que indicaría que la acción mineralocorticoide de 14 podría ser comparable a la de aldosterona (1).

Los resultados obtenidos al realizar el análisis conformacional y los ensayos biológicos sobre los compuestos sintetizados permitieron confirmar la hipótesis acerca de la importancia de la planicidad de la molécula en su actividad hormonal. Conjuntamente se demostró que una conformación plana rígida (no deformable) como la de 14 sería la más adecuada para producir una respuesta mineralocorticoide máxima.

En el capítulo 7 se describen la parte experimental de la labor realizada, donde se detallan las síntesis realizadas, las técnicas espectroscópicas especiales empleadas y los métodos computacionales utilizados. Se incluyen, además, los datos espectroscópicos (RMN <sup>1</sup>H, EM y UV) de los compuestos sintetizados.

En el Apéndice se detallan los desplazamientos químicos de RMN <sup>13</sup>C obtenidos para los compuestos preparados a lo largo del presente trabajo de tesis.

Parte de los resultados descritos en esta tesis han dado origen a las siguientes publicaciones:

- "On the reaction of 3 $\beta$ -acetoxypregn-5-en-20-ona with N-bromosuccinimide-perchloric acid".

A.L.Brachet-Cota y G.Burton.

Rev. Latinoamer. Quím., 17, 41 (1986).

- "Mercuric oxide-iodine oxidation of 6 $\beta$ -hydroxypregnanes. Influence of the C-5 functionality".

A.L.Brachet-Cota y G.Burton.

Z. Naturforsch., 43b, 491 (1987).

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1- S.Kamata, T.Matsui, N.Haga, M.Nakamura, K.Odaguchi, T. Itoh, T.Shimizu, T.Suzuki, M.Ishibashi, F.Yamada y G. Katoh, J. Med. Chem., **30**, 1647 (1987).
- 2- a) W.L.Duax, J.F.Griffin, P.D.Strong, J.W.Funder y S.Ulick, J. Amer. Chem. Soc., **104**, 7291 (1982). b) S.Ulick, D.Marver, W.Adam y J.W.Funder, Endocrinology, **104** (5), 1352 (1979).
- 3- J.A.Cella, C.M.Kagawa, J. Amer. Chem. Soc., **79**, 4808 (1957).
- 4- M.S.Lavallaz, M.C.Damasco, M.Ansaldo, C.P.Lantos y G. Burton, An. Asoc. Quim. Argent., **77**, 169 (1989).
- 5- C.M.Kagawa, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **99**, 705 (1958).
- 6- J.W.Funder y W.R.Adam, Endocrinology, **109**, 313 (1981).
- 7- K.N.Wynne, J.Mercer, J.R.Stockigt y J.W.Funder, Endocrinology, **107**, 1278 (1980).
- 8- S.L.Dale, M.M.Holbrook, F.H.Field, F.Aladar Bencsath y J.C. Melby, Steroids, **45**, 91 (1985).
- 9- D.J.Morris, J.Gorsline, P.A.Tresco y M.Harnik, Steroids, **46**, 1003 (1985).
- 10- M.E.Wolff, J.Baxter, P.A.Kollman, D.L.Lee, I.D.Kuntz, E. Bloom, D.Matulich y J.Morris, Biochemistry, **17**, 3201 (1978).
- 11- J.P.Schmit y G.G.Rousseau, J. Steroid Biochem., **9**, 921 (1978).
- 12- T.Terasawa y T.Okada, Tetrahedron, **42**, 537 (1986).

- 13- J. Delettré, J.P.Mornon, G.Lepicard, T.Ojasoo y J.P. Raynaud, J. Steroid Biochem., **13**, 45 (1980).
- 14- J.Fried y J.Edwards, "Organic Reactions in Steroid Chemistry", V.N.R., New York, (1975), a) Vol. II, pág 237, b) Vol. I, pág 61.
- 15- K.Otto y M.Ehrenstein, J. Org. Chem., **26**, 2871 (1961).
- 16- A.L.Nussbaum y C.H.Robinson, Tetrahedron, **17**, 35 (1962).
- 17- M.Akhtar y D.H.R.Barton, J. Amer. Chem. Soc., **83**, 2213 (1961).
- 18- G.Cainelli, M.L.Mihailovic, D.Arighi y O.Jeger, Helv. Chim. Acta, **42**, 1124 (1959).
- 19- Ch.Meystre, K.Heusler, J.Kalvoda, P.Wieland, G.Anner y A. Wettstein, Experientia, **17**, 475 (1961).
- 20- K.Heusler y J.Kalvoda, Angew. Chem. Int. Ed., **3**, 525 (1964).
- 21- S.Burke, L.A.Silks III, y S.M.S.Strickland, Tetrahedron Lett., **29**, 2761 (1988).
- 22- K.Heusler, Tetrahedron Letters, **15**, 3975 (1964).
- 23- A.Bowers, E.Denot, L.C.Ibañez, M.E.Cabezas y R.J.Ringold, J. Org. Chem., **27**, 1862 (1962).
- 24- M.Lj.Mihailovic, Z.Maksimovic, D.Jeremic, Z.Cekovic y A. Milovanovic, Tetrahedron, **21**, 1395 (1965).
- 25- J.Kalvoda y K.Heusler, Chem. Ind. (London), 1431 (1963).
- 26- J.Kalvoda, K.Heusler Ch.Meystre, P.Wieland, G.Anner y A. Wettstein, Gazz. Chim. Ital., **93**, 140 (1963).

- 27- M.L.Mihailovic, M.Stefanovic, L.Lorenc y M.Gasic, Tetrahedron Lett., 1867 (1964).
- 28- M.L.Mihailovic, L.Lorenc, M.Gasic, M.Rogic, A.Melera y M. Stefanovic, Tetrahedron, 22, 2345 (1966).
- 29- M.Akhtar y S.Marsh, J. Chem. Soc. (C), 937 (1966)
- 30- M.L.Mihailovic, L.Lorenc y V.Paulovic, Tetrahedron, 33, 441 (1977).
- 31- L.Lorenc, L.Bondarenko, M.Rajkovic, A.Milovanovic y M.Lj. Mihailovic, Tetrahedron, 39, 3609 (1983).
- 32- M.L.Mihailovic, L.Lorenc, M.Dabovic y M.Bjelakovic, Tetrahedron, 6201 (1988).
- 33- H.Suginome, A.Furusaki, K.Kato, N.Maeda y F.Yonebayashi, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 236 (1981).
- 34- H.Suginome y S.S.Yamada, J. Org. Chem., 49, 3753 (1984).
- 35- H.Suginome y S.S.Yamada, J. Org. Chem., 50, 2489 (1985).
- 36- J.F.Bagli, P.F.Morand y R.Gaudry, J. Org. Chem., 28, 1207 (1963).
- 37- R.K.Sengal, J. Chem. Research (S), 188 (1984).
- 38- D.Kirk, M.S.Rajagopalan y M.J.Varley, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2225 (1983).
- 39- J.Kalvoda, K.Heusler, H.Veberwasser, G.Anner y A. Wettstein, Helv. Chim. Acta, 46, 1361 (1963).
- 40- K.Heusler, J.Kalvoda, Ch.Meystre, H.Veberwasser, P.Wieland, G.Anner y A.Wettstein, Experientia, 18, 464 (1962).

- 41- J.Kalvoda, K.Heusler, G.Anner y A.Wettstein, Helv. Chim. Acta, **46**, 1017 (1963).
- 42- CIBA Ltda. Fr. 1,341,601, Chem. Abstr., **60**, 5604d (1964).
- 43- J.Kalvoda, K.Heusler, G.Anner y A.Wettstein, Helv. Chim. Acta, **46**, 618 (1963).
- 44- CIBA Ltda. Brit. 941,140. Chem. Abstr., **60**, 8099c (1964).
- 45- R.Hesse y M.Pechet, J. Org. Chem., **30**, 1723 (1965).
- 46- K.G.Holden y J.F.Kerwin U.S. 3,170,934, Chem. Abstr., **65**, 20195e (1965).
- 47- A.Wettstein, G.Anner, K.Heusler, J.Kalvoda y H.Veberwasser, U.S. 3,170,934, Chem. Abstr., **64**, 5177g (1966).
- 48- B.Belleau y T.F.Gallagher, J. Amer. Chem. Soc., **73**, 4458 (1951).
- 49- W.G.Dauben y J.F.Eastham, J. Amer. Chem. Soc., **73**, 4463 (1951).
- 50- J.J.Schneider, Tetrahedron, **28**, 2717 (1972).
- 51- D.Burn, B.Ellis, V.Petrow, I.A.Stuart-Webb y D.M. Williamson, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 4092 (1957).
- 52- S.V.Sunthakar y D.V.Telang, Tetrahedron Lett., **26**, 2113 (1969).
- 53- A.Bowers, R.Villoti, J.A.Edwards, E.Denot y O.Halpern, J. Amer. Chem. Soc., **84**, 3204 (1962).
- 54- D.Kirk y B.L.Yeoh, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2945 (1983).

- 55- J.W.Blunt y J.B.Stothers, Org. Magn. Reson., **9**, 439 (1977).
- 56- K.Jankowski y J.J.Daigle, Synthesis, **32** (1971).
- 57- S.Fujii, K.Momoi, M.Okamoto, T.Yamano, T.Okada y T. Terasawa, Biochemistry, **23**, 2558 (1984).
- 58- P.Kocovsky y I.Stieborova, J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 1969 (1987).
- 59- D.P.Michaud, N.T.Nashed y D.M.Jerina, J. Org. Chem., **50**, 1835 (1985).
- 60- J.Romo, G.Rosenkranz, C.Djerassi y F.Sondheimer, J. Org. Chem., **19**, 1509 (1954).
- 61- D.H.R.Barton, Hassel, Pitzer y Prelog, Science, **49**, 119 (1954).
- 62- F.Sweet y B.R.Samant, J. Org. Chem., **49**, 2634 (1984).
- 63- R.Gardi y A.Lusignani, J. Org. Chem., **32**, 2647 (1967).
- 64- G.Massiot, H.P.Husson y P.Potier, Synthesis, 722 (1974).
- 65- M.Akhtar y D.Barton, J. Amer. Chem. Soc., **86**, 1528 (1964).
- 66- J.C.Lanet y M.Mousseron-Canet, Bull. Soc. Chim. Fran., 1751 (1969).
- 67- O.Halpern, I.Delfin, L.Magaña y A.Bowers, J. Org. Chem., **31**, 693 (1966).
- 68- J.S.Baran, J. Org. Chem., **29**, 527 (1964).
- 69- L.Fieser y M.Fieser, Reagents for Organic Synthesis (J. Wiley y Sons, Inc.) N.Y. (1967) Vol I, pag 1218.



- 70- D.A.Horne y A.Jordan, Tetrahedron Lett., **42**, 1357 (1978).
- 71- N.L.Holder y B.Fraser-Reid, Can. J. Chem., 3357 (1973).
- 72- E.J.Corey y G.Schmidt, Tetrahedron Lett., **43**, 399 (1979).
- 73- H.O.Huisman, Angew. Chem. Int. Ed., **10**, 450 (1971).
- 74- T.Jacobs y R.Brownfield, J. Amer. Chem. Soc., **82**, 4033 (1960).
- 75- G.Pettit y T.Kasturi, J. Org. Chem., **26**, 4557 (1961).
- 76- W.N.Speckamp y H.Kesselaar, Tetrahedron Lett., **38**, 3405 (1974).
- 77- W.L.Duax y D.A.Norton, Atlas of Steroid Structure, Plenum Press, N.Y., (1975) Vol I.
- 78- C.Altona , H.J.Geise y C.Romers, Tetrahedron, (**24**), 13, (1968).
- 79- J.M.Adelantado y W.G.Richards, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1253 (1986).
- 80- P.K.Freeman, J. Amer. Chem. Soc., **111**, 1942 (1989).
- 81- W.L.Duax, J.F.Griffin y D.C.Rohrer, J. Amer. Chem. Soc., **103**, 6705 (1981).
- 82- S.Profeta, Jr., P.A.Kollman y M.E.Wolff, J. Amer. Chem. Soc., **104**, 3745 (1982).
- 83- J.P.Raynaud, T.Ojasoo, M.M.Bouton, D.Philibert, Drug Design, (Ed. E.J.Ariens), Academic Press, N.Y., **8**, 169 (1979).
- 84- N.Bodor, Z.Gabanyi y Chu-Kuok Wong, J. Amer. Chem. Soc., **111**, 3783 (1989).

- 85- J.W.Apsimon, H.Beierbeck y J.K.Saunders, Can. J. Chem., **53**, 338 (1975).
- 86- D.E.Woessner, J. Chem. Phys., **37**, 647 (1962).
- 87- J.B.Lambert, R.J.Nienhuis y J.W.Keepers, Angew. Chem. Int. Ed., **20**, 487 (1981).
- 88- H.Fujiwara, T.Takagi, M.Sugiura y Y.Sasaki, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 903 (1983).
- 89- M.D.Gonzalez, Tesis Doctoral (FCEN, UBA), (1985) pág 253.
- 90- M.L.Martin, J.J.Delpuech y G.J.Martin, Practical NMR Spectroscopy, Heyden & Son Ltd, N.Y. (1980) a) pág 256, b) pág 274, c) pág 267.
- 91- M.Sass y D.Ziessow, J. Mag. Res., **25**, 263 (1977).
- 92- J.N.Shoolery, J. Nat. Prod., **47**, 1765 (1984).
- 93- W.C.Still, M.Kahn y A.Mitra, J. Org. Chem., **43**, 2923, (1978).
- 94- K.Heusler, J.Kalvoda, Ch.Meystre, G.Anner y A.Wettstein, Helv. Chim. Acta, **45**, 2161 (1962).
- 95- a) A.Bowers y H.J.Ringold, Tetrahedron, **3**, 14 (1958);  
b) B.Ellis y V.Petrow, J. Chem. Soc (C), 4417 (1956); c)  
A.Bowers, E.Denot, R.Urquiza y L.M.Sanchez, Tetrahedron, **8**, 116 (1960).
- 96- R.Antonucci, S.Bernstein, R.Lenhard, K.J.Sax y J.H. Williams, J. Org. Chem., **17**, 1369, (1952).
- 97- C.A.G. Haasnoot, F.A.A.M. de Leew y C.Altona, Tetrahedron, **36**, 2783 (1980).
- 98- a) N.L.Allinger y Y.H.Yuh, QCPE, **12**, 395 (1980); b)  
S.Profeta, Jr., QCPE Bull., **1**, 57 (1981).