

Tesis de Posgrado

Síntesis y análisis conformacional de 18-hidroxipregnanos

Benedetti, Miryan Olga Violeta

1991

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. 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. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Benedetti, Miryan Olga Violeta. (1991). Síntesis y análisis conformacional de 18-hidroxipregnanos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2438_Benedetti.pdf

Cita tipo Chicago:

Benedetti, Miryan Olga Violeta. "Síntesis y análisis conformacional de 18-hidroxipregnanos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1991. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2438_Benedetti.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"SINTESIS Y ANALISIS CONFORMACIONAL DE
18-HIDROXIPREGNANOS"

Autor

Lic. MIRYAN OLGA VIOLETA BENEDETTI

Director de tesis

Dr. GERARDO BURTON

Lugar de trabajo

Departamento de Química Orgánica

Tesis presentada para optar por el título de

DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

1991

*Tesis.
2438
ej. 2*

a Olga y Lola

a mis padres

a Juan David, mi hermano preferido

a mi gran amor Fabio

Mi profundo agradecimiento
al Dr. Gerardo Burton, por
su preocupación y apoyo
permanentes en mi formación
científica durante estos
años compartidos.

Agradezco además:

A la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Orgánica, por haberme brindado la oportunidad y el lugar de trabajo para realizar la presente tesis.

Al Dr. E.C. Ashby y el Georgia Institute of Technology por proporcionarme un lugar de trabajo durante la escritura de la tesis.

Al Dr. R. Plaskon por su gran ayuda en el manejo de la computadora Silicon Graphics.

A las personas que trabajan en UMYMFOR, por su ayuda brindada:

al Sr C.G. Arabehty por el entrenamiento en el manejo del XL-100, a las Lic. M. Rivero y M. Marcote por los microanálisis,

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

al Lic. E. Hughes y Lic. M.M. Moglia por el asesoramiento en el uso del cromatógrafo gas-líquido,

al Dr. J.B. Rodríguez por el asesoramiento en el uso de los cromatógrafos líquidos de alta resolución,

al Dr. E.G. Gros, Dra. A. Seldes y Dr. G. Burton por sus esfuerzos dedicados a mejorar las condiciones de trabajo.

A todo el personal docente y no docente del Departamento de Química Orgánica y de la Biblioteca Central por su importante colaboración.

Al Dr. L. Diaz (Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA) por los espectros de RMN ^1H realizados.

A Rolfy Biekovsky, Edith Monteagudo y Adriana Brachet-Cota por los útiles consejos de los primeros pasos.

A Sergio Giacobello, mi eterno compañero del "42".

A toda "la banda N.N." por el gran cariño brindado, especialmente en mi época de soledad.

A mis compañeros de laboratorio Edith Monteagudo, Adriana Brachet-Cota, Lydia Galagovsky, Adriana Veleiro, Osvaldo Teme Centurión, Pablo Mazzuchelli, Fernando Soriano, Ingrid Kaufman y Verónica Nevado por la cálida atmósfera de trabajo compartida.

A Margarita Bolet por su cariño y "pujanza latinoamericana".

A todos los amigos del Departamento y de GaTech, por los buenos momentos compartidos.

ABREVIATURAS UTILIZADAS.

ác.	ácido
Ac	acetilo
AIBN	azobisisobutironitrilo
aq	acuoso
(c)	concentrado
ccd	cromatografía en capa delgada
CC	cromatografía en columna
CF	cromatografía flash
CLAR	cromatografía líquida de alta resolución
conf.	confórmero
CPP	cromatografía en placa preparativa
DAIB	diacetoxiodobenceno
dil	diluido
DOC	desoxicorticosterona
EM	espectrometría de masas
lit.	literatura
NBA	N-bromoacetamida
pág.	página
PDC	dicromato de piridonio
p.f.	punto de fusión
RMN	resonancia magnética nuclear
SPDD	single pulsed delayed decoupling
THF	tetrahidrofurano

NOMBRES TRIVIALES UTILIZADOS

3-acetato de pregnenolona	3 β -acetoxipregn-5-en-20-ona
aldosterona	11 β ,21-dihidroxi-18-oxopregn-4-eno-3,20-diona
11-cetoprogesterona	pregn-4-eno-3,11,20-triona
corticosterona	11 β ,21-dihidroxipregn-4-eno-3,20-diona
cortisol	11 β ,17 α ,21-trihidroxipregn-4-eno-3,20-diona
18-desoxialdosterona	21-hidroxi-11,18- δ hidropregn-4-eno-3,20-diona
11-desoxicorticosterona	21-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona
Δ^1 -desoxicorticosterona	21-hidroxipregna-4,11-dieno-3,20-diona
18-hidroxi-6,19- δ hidroprogesterona	18-hidroxi-6,19- δ hidropregn-4-en-3,20-diona
18-hidroxi-11,19- δ hidroprogesterona	18-hidroxi-11,19- δ hidropregn-4-en-3,20-diona
18-hidroxiprogesterona	18-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona
6,19- δ hidroprogesterona	6,19- δ hidropregn-4-en-3,20-diona
11,19- δ hidroprogesterona	11,19- δ hidropregn-4-en-3,20-diona
pregnenolona	3 β -hidroxipregn-5-en-20-ona
progesterona	pregn-4-eno-3,20-diona

INDICE

	pág.
CAPITULO 1: INTRODUCCION	1
CAPITULO 2: REACCIONES DE FUNCIONALIZACION DEL METILO ANGULAR C-18 EN ESTEROIDES.	12
INTRODUCCION	13
DESCRIPCION DE LOS PASOS DE REACCION	15
1-Ruptura homolítica	15
2-Transferencia de hidrógeno	15
3-Reacción del radical carbono	17
Reacciones laterales	17
REACCION DE HIPOIODITO	18
FOTOLISIS DE NITRITOS (REACCION DE BARTON)	23
FUNCIONALIZACION DE COMPUESTOS ORGANICOS CON IODO HIPERVALENTE	26
COMPUESTOS FUNCIONALIZADOS EN C-18 Y C-19	28
CAPITULO 3: SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (<u>18</u>)	35
INTRODUCCION	36
METODOS DESCRIPTOS	37
SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA A PARTIR DE 3-ACETATO DE PREGNENOLONA (<u>21</u>)	41
a-Reducción del carbonilo en C-20	41
b-Funcionalización del metilo angular C-18	43

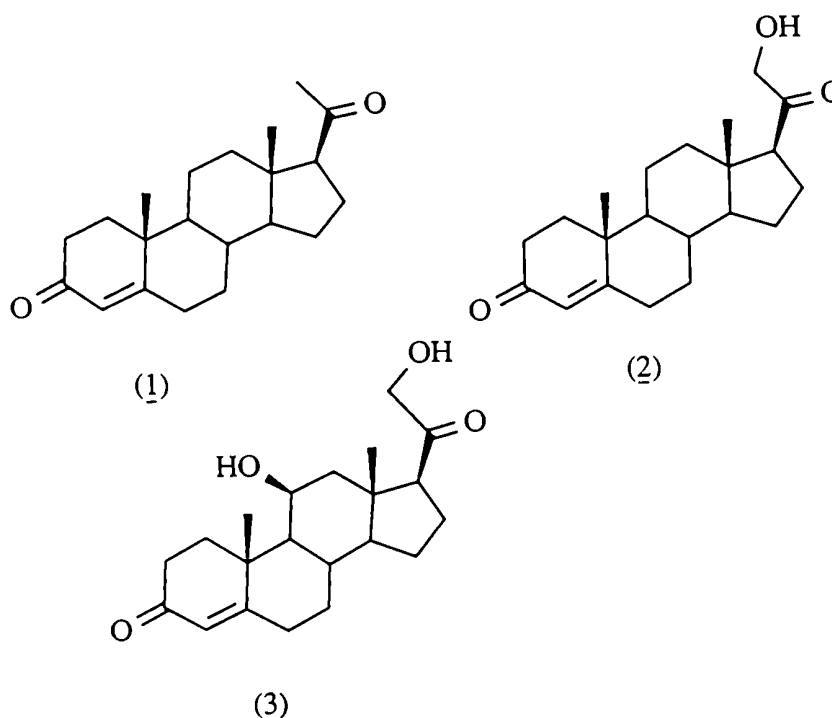
c-Oxidación simultánea de los hidroxilos en C-3 y C-20	54
d-Hidrólisis del iodo en C-18	55
SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA A PARTIR DE 20 β -HIDROXIPREGN-4-EN-3-ONA (<u>30</u>)	57
Síntesis de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona	57
Obtención de 18-hidroxiprogesterona	59
 CAPITULO 4: SINTESIS DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (<u>19</u>) Y 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (<u>20</u>)	62
SINTESIS DE UN POSIBLE PRECURSOR DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDO PROGESTERONA	64
I-Secuencia de funcionalización de metilos C-19/C-18	66
II-Funcionalización simultánea de C-18 y C-19	67
III-Secuencia de funcionalización C-18/C-19	69
SINTESIS DE 3 β -ACETOXI-5 α -BROMO-18-iodo-6,19-OXIDOPREG- NAN-20-ONA (<u>59</u>)	70
Observaciones	71
OBTENCION DEL PRECURSOR 5 α -BROMO-3 β -HIDROXI-18-iodo- -6,19-OXIDOPREGNAN-20-ONA (<u>60</u>)	78
TRANSFORMACION DE <u>60</u> en <u>19</u>	81
SINTESIS DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (<u>20</u>)	85
Caminos sintéticos planteados	85
SINTESIS DEL PRECURSOR 20 β -HIDROXI-11,19-OXIDOPREGN-4-EN- -3-ONA (<u>71</u>)	89
TRANSFORMACION DE <u>71</u> EN <u>20</u>	91

CAPITULO 5: SINTESIS DE D-HOMO-18-NOR-ESTEROIDES	94
D-HOMO-ESTEROIDES CONOCIDOS	96
RESULTADOS OBTENIDOS	101
CAPITULO 6: ANALISIS CONFORMACIONAL	106
ANTECEDENTES	107
ANALISIS CONFORMACIONAL	109
I-Conformación general	110
II-Conformación por anillos	112
ANALISIS CONFORMACIONAL DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTE-	
RONA (<u>19</u>)	116
I-Conformación General	116
II-Conformación por anillos	120
ANALISIS CONFORMACIONAL DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTE-	
RONA (<u>20</u>)	130
I-Conformación general	130
II-Conformación por anillos	137
OBSERVACIONES	147
CAPITULO 7: PARTE EXPERIMENTAL	154
GENERALIDADES	155
SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (<u>18</u>)	158
I-A partir de 3-acetato de pregnenolona (<u>21</u>)	158
II-A partir de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (<u>30</u>)	161
SINTESIS DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (<u>19</u>)	164
SINTESIS DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (<u>20</u>)	168
SINTESIS DE 3 β -ACETOXI-17(13 \rightarrow 18)ABEO-PREGN-5-EN-20-ONA	173

APENDICE: DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS DE ^{13}C	175
APENDICE: METODOS COMPUTACIONALES	183
RESUMEN	205
BIBLIOGRAFIA	212

CAPITULO 1
INTRODUCCION

Dentro de los esteroides naturales de 21 carbonos, se encuentran las hormonas adrenocorticales, las cuales se biosintetizan en la corteza suprarrenal. Son derivados de la progesterona (1) con un grupo hidroxilo en C-21, siendo éstas características estructurales de la actividad corticoidea. Pueden poseer además funciones oxigenadas en posiciones 11, 17 y/o 18. Ejemplos son la 11-desoxicorticosterona (DOC) (2) y la corticosterona (B) (3).

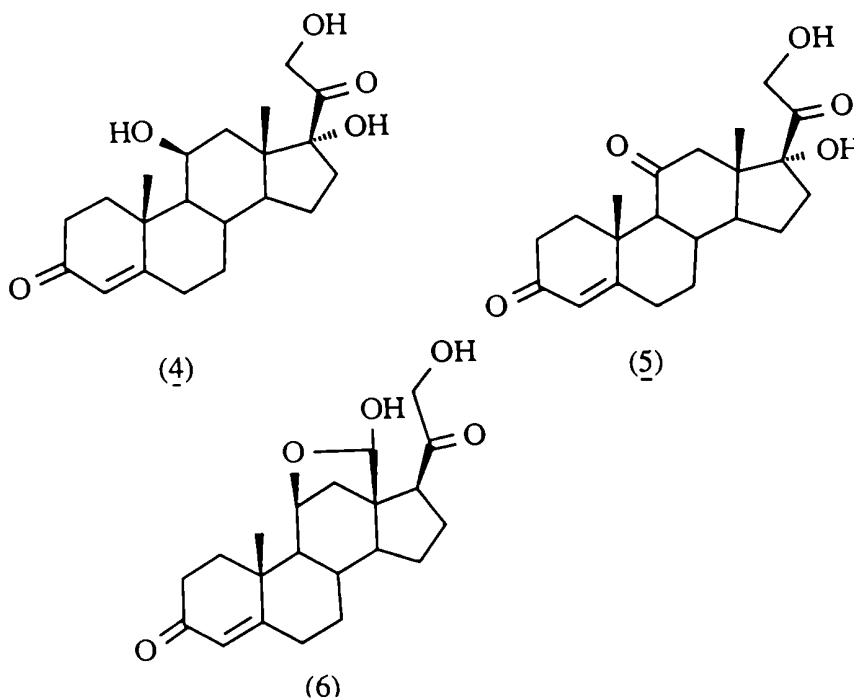


La actividad de estas hormonas puede ser separada en dos tipos:

(a) la glucocorticoide, que entre otras acciones influye en el balance de hidratos de carbono en el organismo como por ejemplo lo hacen el cortisol (4) y la cortisona (5). El cortisol es el glucocorticoide natural más activo y tiene la

característica estructural de poseer un grupo hidroxilo en posición 17a,

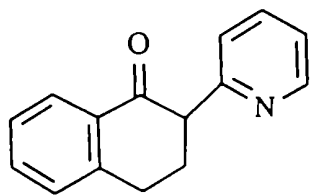
(b) la mineralocorticoide, que interviene en el balance de sodio y potasio del organismo como por ejemplo la aldosterona (6) y la 11-desoxicorticosterona (2), siendo el primero un compuesto natural y el más potente conocido, cuya característica que lo diferencia es la de tener una función oxigenada en C-18 [Lantos, 1981; Witzmann, 1981].



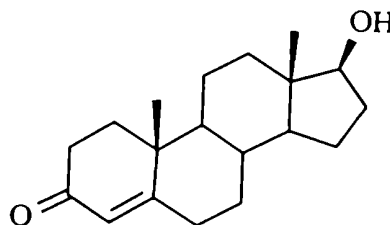
La falta de mineralocorticoides es uno de los síntomas de la enfermedad de Addison, y produce la pérdida de sodio del organismo, disminuyendo la presión arterial. Esto es tratado clínicamente con la administración de DOC (2), un mineralocorticoide menos activo que la aldosterona, capaz de compensar la falta de la misma.

La producción excesiva de mineralocorticoides, como ocurre en la enfermedad de Cushing, tiene como consecuencia la retención de sodio e hipertensión arterial [Lehoux, 1979; Witzmann, 1981]. En este caso el exceso se puede regular ya sea inhibiendo la biosíntesis en cualquiera de sus pasos desde progesterona, o bien interfiriendo en la unión de la aldosterona al receptor mediante compuestos que puedan evitar así que se desarrolle el mecanismo de acción de la misma; estos compuestos se llaman antagonistas.

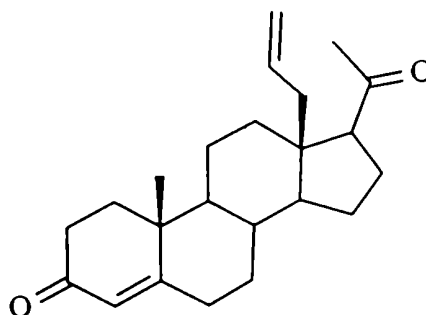
Se conocen moléculas no esteroideas capaces de inhibir la biosíntesis en alguno de sus pasos; por ejemplo, el SU9055 (7) es efectivo para la oxidación de C-18 pero tiene el inconveniente de inhibir también la hidroxilación en C-17, y por lo tanto la producción de cortisol (4) y andrógenos como la testosterona (8) [Parvez, 1979]. Recientemente Viger y colaboradores consideraron la



(7)



(8)



(9)

posibilidad de inhibir la enzima 18-hidroxilasa incorporando compuestos que puedan unírsele covalentemente y encontraron que un compuesto sustituido en C-18 como 18-etilidén-progesterona (9) era efectivo en la disminución de la producción de aldosterona [Viger, 1989].

El inconveniente de detener la biosíntesis en alguno de sus pasos es que se produce la acumulación del esteroide anterior y además se inhibe la biosíntesis de todas las demás hormonas en las que participa la enzima inhibida. Se generan así desbalances en el organismo y efectos secundarios que hacen que los inhibidores de biosíntesis no puedan ser usados clínicamente [Parvez, 1979].

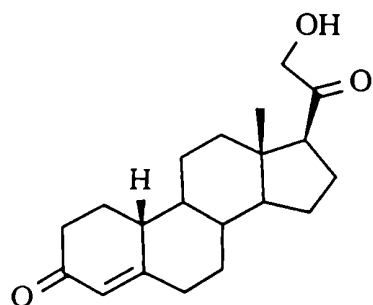
En el caso de los antagonistas, se conoce de estudios estructurales realizados con esteroides de alta afinidad por receptores estrógenos (E), progestágenos (P), mineralocorticoides (MC), y glucocorticoides (GC), que la unión al receptor se produce cuando puede haber un acercamiento muy ajustado entre el receptor y el anillo A del esteroide. Para dichos receptores las necesidades estructurales se resumen en la tabla 1 [Duax, 1988].

Tabla 1- Requerimientos estructurales del anillo A de distintas hormonas esteroidales según Duax y col.

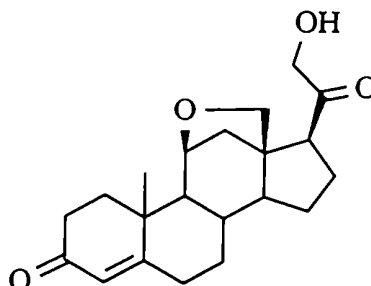
Receptor	Grupos funcionales	características conformacionales
E	anillo aromático	plana
P	3-ceto- Δ^4	semisilla invertida 1 β ,2 α
MC	3-ceto- Δ^4	1 α -sobre a 1 α -semisilla *
GC	3-ceto- Δ^4	curvado hacia la cara α

* El puente C-11/C-18 en aldosterona da lugar a una conformación 1 α -semisilla del anillo A.

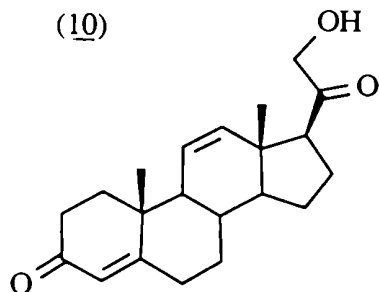
En general se observa mayor unión al receptor MC, al eliminar sustituyentes que hacen que el anillo A se tuerza hacia la cara α (como son el metilo-19 y el 11 β -hidroxilo) o al introducir puentes éter o cetálicos que puedan inducir a la molécula a una conformación global más plana. Yamakawa y colaboradores analizaron la afinidad de los mineralocorticoides naturales corticosterona (3), 11-desoxicorticosterona (2), 19-nor-11-desoxicorticosterona (10), y las sintéticas 18-desoxialdosterona (11) y Δ^{11} -desoxicorticosterona (12), midiendo el desplazamiento que producen de [3 H]-aldosterona del receptor MC. Encontraron que 3 era el de menor afinidad ya que tiene sus metilos C-18 y C-19 y su 11 β -hidroxilo en posiciones 1,3 diaxiales que dan la máxima repulsión, y por lo tanto la molécula se curva hacia la cara α .



(10)



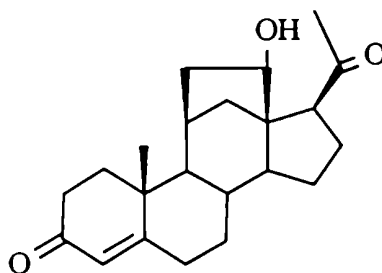
(11)



(12)

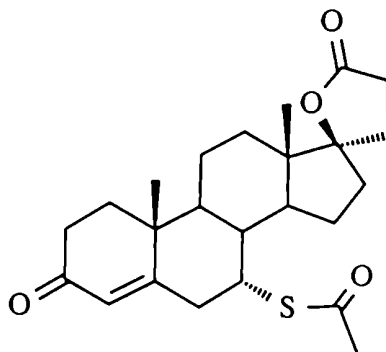
Luego le sigue 11 en donde se elimina la interacción 1,3 diaxial entre el sustituyente 11- β y C-18, al formar el puente éter. En el caso de 2 sólo existen interacciones entre el hidrógeno 11 β y los metilos 18 y 19, las cuales desaparecen al introducir el doble enlace entre C-10 y C-11 en el compuesto 12. Finalmente 10 sólo tiene el C-18 en posición axial y por lo tanto las interacciones repulsivas son mínimas [Yamakawa, 1986].

Hasta ahora se ha relacionado la mayor o menor afinidad por el receptor MC con factores estéricos, resultando mayor cuanto menores son las interacciones sobre la cara β que curven a la molécula hacia la cara α . También se puede analizar el tipo de respuesta que induce la hormona en su receptor que depende de interacciones de tipo electrostáticas y/o uniones de hidrógeno. La aldosterona (6) que tiene una fuerte actividad agonista, pasa a ser antagonista cuando se elimina el hidroxilo en C-18 (11) [Duax, 1982], mientras que si se remueve el hidroxilo de C-21 como en 21-desoxialdosterona (13) sigue siendo agonista pero de menor actividad [Koshida, 1990; Wynne, 1981].



(13)

Otros compuestos como progesterona (1) y la espirolactona 14 tienen sus grupos formadores de uniones de hidrógeno bastante modificados en su disponibilidad espacial con respecto a aldosterona 6, y actúan como antagonistas [Witzmann, 1981].



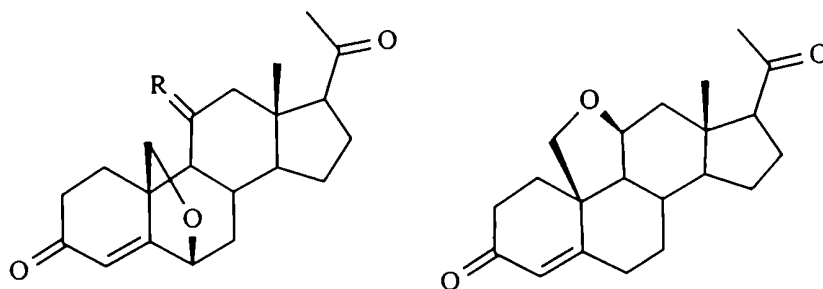
(14)

En el caso de la progesterona (1), al eliminar el grupo metilo-19 se obtiene una molécula en donde la actividad pasa a ser agonista, y lo mismo ocurre al agregar un doble enlace entre C-11 y C-12 en el compuesto 14 [Kamata, 1987]. Estos resultados indican que una molécula con estructura más plana generaría la respuesta inversa a la estructura original, lo cual podría explicarse considerando que la mayor afinidad que existe en la zona del anillo A por el receptor logra compensar la falta de uniones de hidrógeno en la zona del anillo D para generar la respuesta agonista [Wynne, 1980].

Se puede concluir que es difícil poder predecir el tipo de respuesta biológica que va a dar una determinada estructura esteroi- dal ya que pequeños cambios en ella producen grandes variaciones que van de agonistas a antagonistas y viceversa.

En un trabajo anterior realizado en este grupo de investigación [Brachet-Cota, 1989], se propuso la síntesis de estructuras de

esteroides que fueran globalmente planas pero que no permitieran que la molécula tuviera flexibilidad, como ocurría al introducir un doble enlace C11-C12 en Δ^{11} -desoxicorticosterona (12). En este caso si bien se lograba aumentar la actividad, también se perdería especificidad en la respuesta biológica [Delettré, 1980]. Se sintetizaron 6,19-óxidoprogesterona (15), 6,19-óxido-11-cetoprogesterona (16) y 11,19-óxidoprogesterona (17), esteroides rígidos donde las conformaciones estan fijadas por los puentes éter que además disminuyen interacciones sobre la cara β , aumentando la planicidad de la zona de anillos B y C.



(15) R=H

(16) R=O

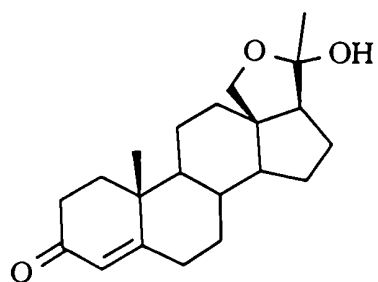
(17)

Se observó por cálculos de mecánica molecular, que el puente 6,19-óxido distorsiona la unión de anillos A-B dirigiendo al grupo carbonilo en C-3 hacia la cara α del esteroide, mientras que el puente 11,19-óxido le da al anillo A una forma prácticamente plana. Ensayos biológicos realizados in vivo permitieron observar que los mejores resultados se obtuvieron con la última estructura, la cual tiene una respuesta 50% mayor que el mineralocorticoide natural DOC (2), a pesar de no estar hidroxilado en posición 21 [Brachet-Cota, 1989].

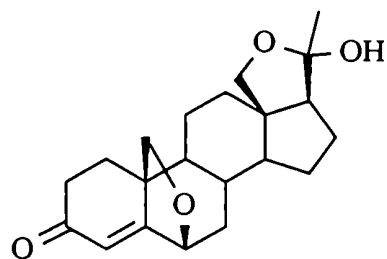
En el presente trabajo de tesis se propuso como objetivo la síntesis de estructuras de esteroides con conformación global plana que tengan mayor rigidez, lo cual podría dar mayor especificidad a la respuesta biológica según se mencionó anteriormente (pág 6).

Los esteroides con un grupo hidroxilo en C-18 y un carbonilo en C-20, se encuentran casi exclusivamente en su forma hemicetálica; tal es el caso de la 18-hidroxiprogesterona (18), según datos de RMN ^{13}C [Genard, 1978]. Esto daría mayor rigidez a la zona del anillo D y cadena lateral, y por lo tanto mayor afinidad por el receptor MC agregando además otras posibilidades de interacciones de tipo electrónico y de uniones de hidrógeno, que pueden llegar a modificar el tipo de respuesta. Esta suposición queda confirmada si se tienen en cuenta los resultados de los ensayos biológicos realizados in vitro e in vivo para 18 [Weet, 1985], con una alta afinidad por el receptor y una ligera respuesta antagonista. Los compuestos sintetizados fueron 18-hidroxi-6,19-óxidoproges-terona (19) y 18-hidroxi-11,19-óxidoproges-terona (20), no descritos en la literatura. También se realizó por métodos computacionales, el estudio de las conformaciones más estables en las que pueden existir estos compuestos

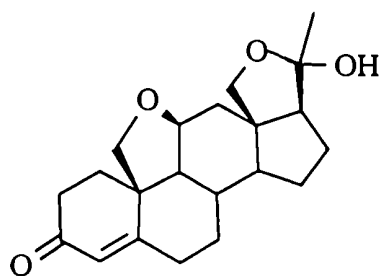
Se describe además una síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) por rutas mejoradas con respecto a las descritas en la literatura [Barton, 1975; Choay, 1973; Meystre, 1966; Slaunwhite, 1975]



(18)



(19)



(20)

CAPITULO 2
REACCIONES DE FUNCIONALIZACION DEL
METILO ANGULAR C-18 EN ESTEROIDES.

INTRODUCCION

Los metilos angulares C-18 y C-19 en el esqueleto esteroideal fueron vistos durante muchos años como una parte inalterable de la molécula pues el hecho de que se encuentran unidos a átomos de carbono cuaternarios que pertenecen a la fusión de anillos los hace inaccesibles a los reactivos químicos usuales. La necesidad de obtener rutas sintéticas para la síntesis de aldosterona (6) y 19-nor-esteroides, estimularon la búsqueda de métodos suaves que pudieran introducir sustituyentes en estos metilos en forma controlada [Kirk, 1968]. Todos los métodos que se han desarrollado para funcionalizar los metilos angulares involucran intermediarios radicalarios, los cuales debido a su alta energía son capaces de atacar uniones C-H no activadas. Para que la reacción sea selectiva, es necesario que la especie atacante esté en el esteroide y, como en toda reacción intramolecular, debe cumplir con ciertos requerimientos estéricos [Fried, 1975-b].

En particular para los esteroides, estos requerimientos pueden ser asignados con bastante precisión ya que poseen un sistema de anillos fusionados que le dan al esqueleto una rigidez considerable. En la figura 1 se representan la posiciones del esteroide desde donde se han realizado ataques a los metilos angulares usando átomos de oxígeno activados. Se puede observar que todas las posiciones guardan una relación 1,3 diaxial con los metilos en cuestión.

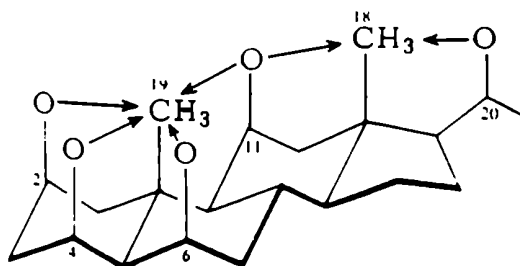
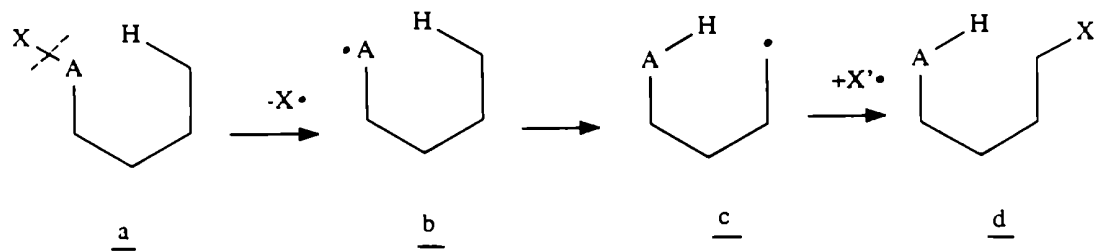


Figura 1- Posiciones para la funcionalización de los metilos angulares.

Se ha propuesto un mecanismo general para los distintos métodos conocidos para la funcionalización de metilos que consiste en una reacción de sustitución radicalaria que consta de 3 pasos según se muestra en la figura 2 [Heusler, 1964].



A=N,O

Figura 2- Mecanismo general de la funcionalización de carbonos no activados.

DESCRIPCION DE LOS PASOS DE REACCION.

1-Ruptura homolítica.

Esta puede ser iniciada térmica o fotoquímicamente. Para el caso en que A es nitrógeno y X es cloro se tiene la reacción de Hoffman-Löffler-Freytag, cuyo mecanismo coincide con el planteado en la figura 2 [Wolf, 1963]. Las reacciones más importantes por su interés sintético, son las que tienen un átomo de oxígeno en posición A. Ejemplos de este caso son la fotólisis de nitritos con A=O y X=NO, llamada también la reacción de Barton [Nussbaum, 1962] y la ruptura de hipocloritos, en donde A=O y X=Cl [Akhtar, 1961].

Otros métodos para la obtención de oxígeno radicalario son, la oxidación de alcoholes con tetraacetato de plomo [Cainelli, 1959] y la ruptura de hipioditos de alquilo [Meystre, 1961]. La ventaja de estos métodos sobre los descritos anteriormente es que el reactivo inestable a de la figura 2, no necesita ser formado y aislado en un paso aparte, ya que cuando se lo obtiene a partir del alcohol (A=O, X=H) también se produce in situ su ruptura para dar el intermedio b con el radical oxígeno [Heusler, 1964].

2-Transferencia de hidrógeno.

El estado de transición más favorable para que el hidrógeno pueda ser transferido, es a través de un intermediario cíclico de 6 miembros según se observa en la figura 2-b, y que además pueda adoptar una conformación de silla más estable. Los requerimientos estéricos son más importantes que los energéticos, pues se conocen ejemplos en los que se sustrae un hidrógeno no activado en un carbono en posición 5 frente a uno que tenga una unión más débil en posición 6.

Se ha determinado que existe un rango de distancias óptimo entre el radical oxígeno y el hidrógeno que será sustraído, y éste depende de la orientación que tenga la unión C-H atacada con respecto al radical oxígeno atacante. En el caso de los esteroides no se puede asegurar cual es la conformación del grupo metilo en el estado de transición y en consecuencia se toma como referencia la distancia entre el oxígeno y el carbono del metilo. Estas mediciones fueron hechas en modelos moleculares tipo Dreiding, sobre un gran número de compuestos, encontrándose que la distancia óptima oscilaba entre 2,5 y 2,7 Å. A mayor distancia la velocidad de la reacción va disminuyendo y más allá de 3 Å no se produce [Heusler, 1964].

Posteriormente dichas distancias fueron medidas por métodos computacionales que usan cálculos de mecánica molecular. Se encontró con el programa Macromodel que la distancia óptima entre el carbono y el oxígeno es de 3 Å [Burke, 1988], mientras que el programa PCModel dió 2,9 Å como la mejor distancia [Brachet-Cota, 1989]. Estos últimos datos son más precisos, ya que eliminan los errores que se cometen al extrapolar mediciones hechas en los modelos Dreiding.

Solamente en algunos casos en que la relación espacial entre el oxígeno y el carbono metílico no está fijada en forma rígida, los rendimientos siguen siendo altos, como por ejemplo en el ataque del hidroxilo en C-20 al metilo C-18. Si la configuración del hidroxilo es 20 α , el conformero más estable tiene la distancia óptima y la reacción es más rápida y transcurre con buen rendimiento. En cambio, si la configuración es 20 β , el conformero de distancia óptima no es el más estable y la reacción tiene bajo rendimiento

[Fried, 1975-b]. Esto será discutido con más detalle en el capítulo de síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) (capítulo 3).

3-Reacción del radical carbono.

En este paso el radical generado reacciona con otro radical libre X' para dar el producto d de la figura 2. Se ha comprobado usando marcación con ^{15}N , que para la reacción de Barton, este paso se produce a través de un mecanismo de radicales libres tipo fuera de la caja de solvente [Akhtar, 1964-a]. Es probable que este mecanismo sea aplicable a las demás reacciones de tipo hipohalito.

Reacciones laterales.

La más importante es la sustracción de H intermolecular, que regenera el alcohol de partida, según la figura 3-a. Esto puede ser eliminado con el uso de solventes que no tengan H como el tetracloruro de carbono, o con hidrógenos difíciles de sustraer, como el benceno.

Otra reacción lateral es la ruptura de uniones C-C adyacentes al radical oxígeno, y su mecanismo puede verse en la figura 3-b. Su importancia depende del método usado para generar el radical oxígeno siendo más importante con el tetraacetato de plomo, de menor importancia en la fotólisis de nitritos y aún menor en la de hipohalitos [Fried, 1975-b].

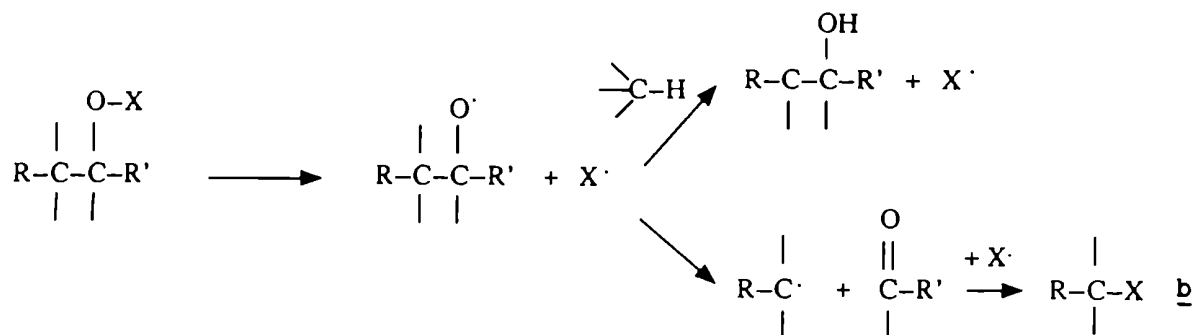


Figura 3- Reacciones laterales.

REACCION DE HIPOIODITO.

Este término se usa para identificar a la reacción con ruptura homolítica de hipioditos de alquilo que conduce a una sustitución intramolecular en carbonos no activados. Si bien estos hipioditos no fueron aislados, se pueden generar por reacciones de intercambio entre el alcohol y reactivos que contengan iodo electropositivo, para luego producir la ruptura in situ. Ejemplos de dichos reactivos son: óxido de mercurio y iodo, hipiodito de ter-butilo generado con terbutóxido de potasio y iodo, N-bromosuccinimida y iodo, y también acetatos de metales pesados como por ejemplo tetraacetato de plomo y iodo [Heusler, 1964].

Debido a que los hipioditos y el iodo no reaccionan con cetonas o uniones dobles carbono-carbono en medio neutro, éstos son más aplicables que los hipocloritos e hipobromitos [Fried, 1975-b].

Los solventes no polares como los hidrocarburos saturados (ciclohexano) y los hidrocarburos halogenados (tetracloruro de carbono, diclorometano), son los más adecuados para la preparación de los hipioditos. Los hipioditos de alquilo preparados de esta forma, pueden ser descompuestos homolíticamente por encima de 60°C. Esta ruptura es acelerada por átomos de iodo, que pueden obtenerse en la concentración necesaria por irradiación de una solución de iodo con luz de longitud de onda entre 500 y 550 nm. Este valor comprende la banda de absorción del iodo para los distintos solventes usados y cuyo valor es 522 nm en hidrocarburos saturados y 512 nm en hidrocarburos halogenados [Heusler, 1964]. Por esta razón la reacción procede bien en solventes no polares en donde el iodo se disuelve normalmente, mientras que en solventes aromáticos como benceno en donde se forman complejos de transferencia de carga con átomos de halógeno, la concentración de átomos de iodo libres formados por irradiación no es suficiente [Nonhebel, 1974].

En la figura 4 se resumen los pasos de la reacción de hipioditos. Se observa que luego de la formación del hipiodito b se obtiene la iodohidrina c, la cual puede liberar ioduro de hidrógeno en forma espontánea para dar el éter tetrahidrofurano f. En muchos casos, esta pérdida no es espontánea, y se aísla el intermediario c, el cual puede ser forzado a la ciclación para dar f usando medio básico [Heusler, 1964]. Se han obtenido de esta forma uniones

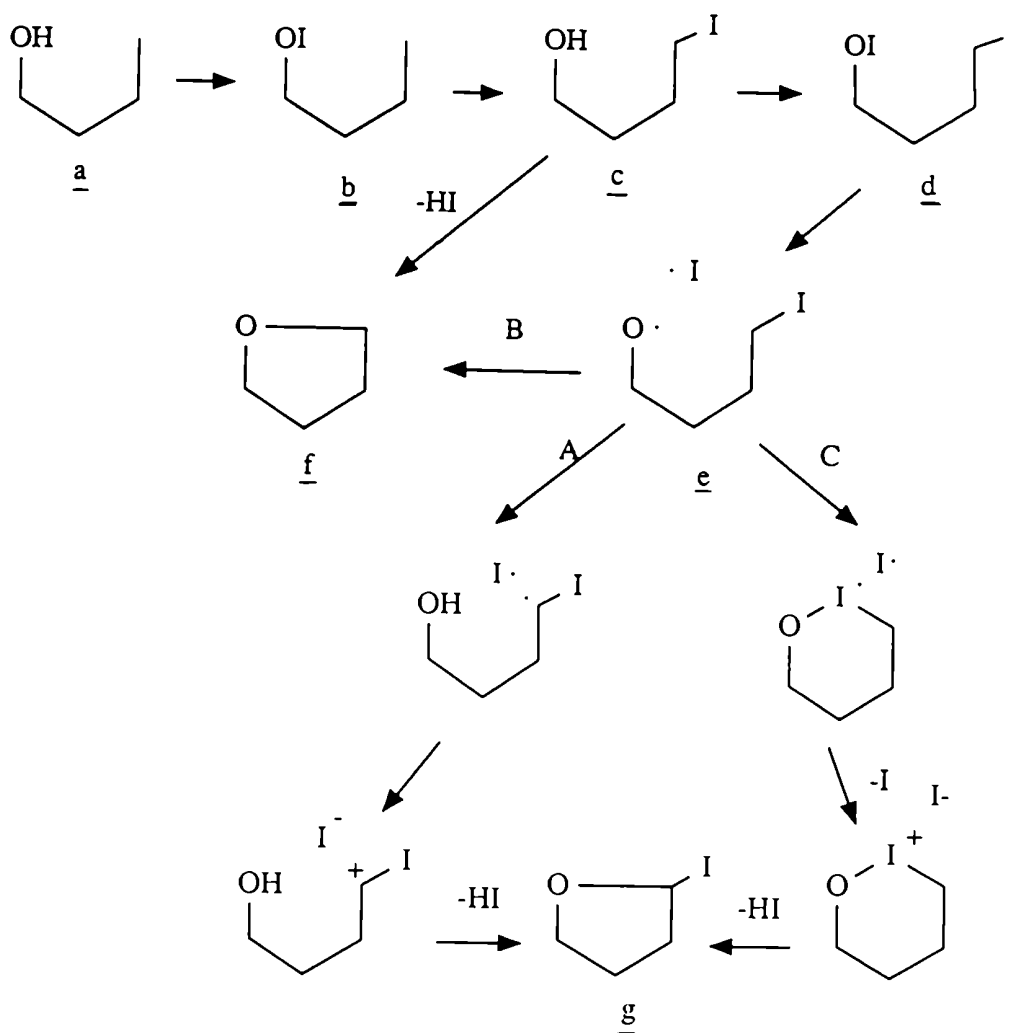


Figura 4- Reacciones de los hipioditos de alquilo.

puede ser transformado en su correspondiente hipiodito d, el cual por homólisis da el producto e.

puente éter en todas las posiciones con oxígeno radicalario marcadas en la figura 1 [Kirk, 1968].

De la misma forma en que el alcohol a de la figura 4 es transformado en el hipiodito, el iodoalcohol c en la mezcla de reacción puede ser transformado en su correspondiente hipiodito d, el cual por homólisis da el producto e.

Las reacciones subsiguientes van a estar determinadas por el tipo de arreglo espacial que tengan los centros de reacción. En el caso en que éstas sean uniones fijas, hay tres posibles orientaciones diferentes para el átomo de oxígeno con respecto al grupo CH_2I las cuales se esquematizan en la figura 5.

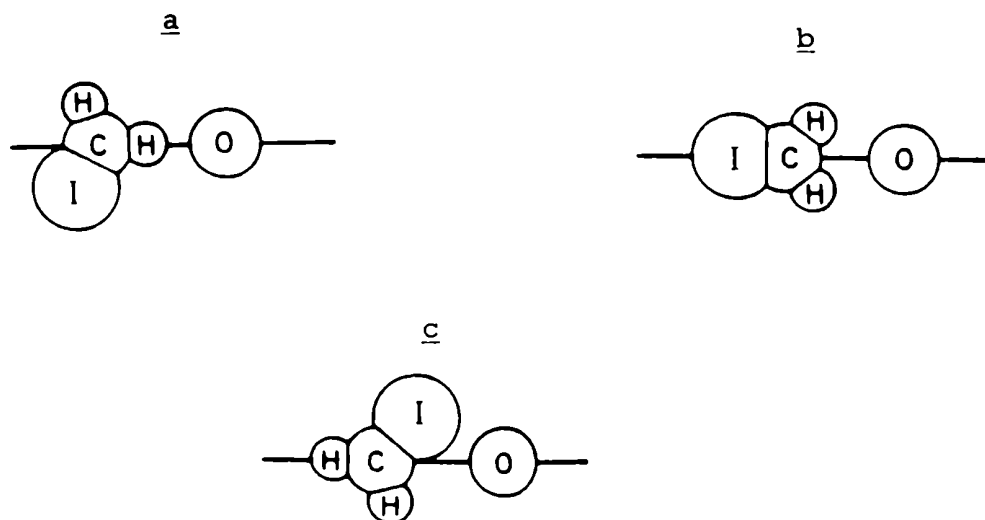


Figura 5- Orientaciones para el átomo de oxígeno con respecto al grupo CH_2I .

En el caso a en donde el oxígeno, el carbono y su correspondiente hidrógeno están en la misma línea, se favorece la sustracción del hidrógeno y la reacción seguirá el camino A planteado en la figura 4. Para el caso b los hidrógenos están al costado, pero el yodo está en la línea. Esta disposición favorece el reemplazo del yodo por el oxígeno con la inversión de la configuración del carbono, dando el éter f de la figura 4. Finalmente para el caso c de la figura 5, el arreglo es tal que no puede ocurrir ni la sustracción

de hidrógeno ni la sustitución. De todas formas existe una interacción entre el radical oxígeno y el átomo de yodo dando un intermediario de tipo yodonio según se observa en la figura 4 camino C, el cual finalmente pierde yoduro de hidrógeno para dar g, el mismo que se obtiene en el caso a [Heusler, 1964].

En general, para los sistemas policíclicos saturados, la rotación del grupo CH_2I axial está bastante impedida por grupos sustituyentes que también son axiales en la misma cara. Se observó que las orientaciones de los grupos CH_2I de C-18 y C-19 en esteroides son según se muestran en el esquema de la figura 6.

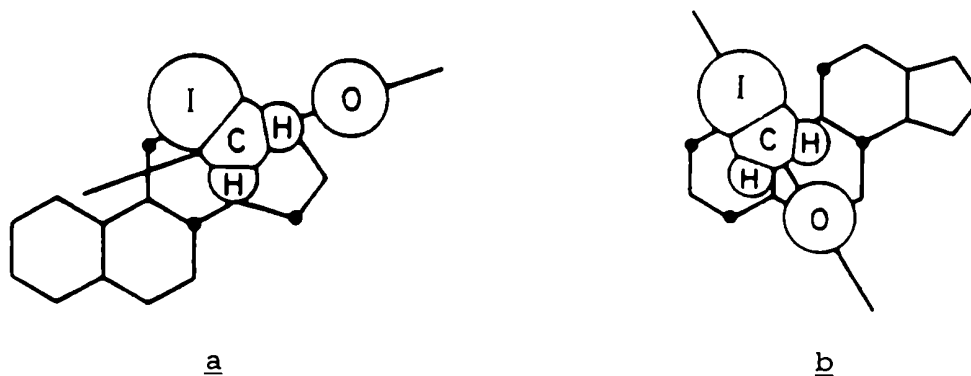


Figura 6- Orientación del grupo CH_2I en C-18 y C-19.

Se puede observar que para el 19-yodo derivado de la figura 6-b se tiene una orientación del tipo b de la figura 5 y por lo tanto la energía del estado de transición para que ocurra la sustitución es baja, dando así el éter entre los carbonos C-6 y C-19. Para el 18-yodo derivado de la figura 6-a se observa un arreglo idéntico al

caso a de la figura 5, en donde la sustracción de otro hidrógeno está favorecida [Fried, 1975-b]. Esto ocurre cuando se usa el sistema $Pb(AcO)_4/I_2$ para generar el hipiodito; sin embargo cuando se usa HgO/I_2 ó $Hg(AcO)_2/I_2$, la velocidad de formación del hipiodito es más lenta y por lo tanto sólo se obtienen productos de monosustitución tipo éter tetrahidrofurano entre C-18 y C-20 [Heusler, 1964]. En condiciones controladas puede llegar a aislarse la 1,5-iodohidrina, es decir con iodo en C-18 y alcohol en C-20 [Meystre, 1961].

FOTOLISIS DE NITRITOS (REACCION DE BARTON).

Se ha determinado estudiando modelos simples de nitritos alifáticos y alicíclicos que esta reacción también transcurre a través de un estado de transición de seis miembros. Al irradiar el nitrito en condiciones adecuadas, se obtiene el radical oxígeno y una molécula de óxido nítrico que son liberadas de la caja de solvente según se determinó usando nitrógeno marcado como fue comentado anteriormente (pág.17). A continuación, ocurre la transferencia del hidrógeno y finalmente el radical carbono se combina con el óxido nítrico del medio dando el nitroso derivado, el cual se isomeriza rápidamente para dar la oxima. Los pasos de la reacción pueden verse en el esquema planteado en la figura 7 [Kirk, 1968]. Como durante la fotólisis de los nitritos se forman cantidades discretas de moléculas de óxido nítrico y además éstas no quedan en la caja de solvente para poder reaccionar inmediatamente con el radical

carbono que se forma, se pensó en la posibilidad de agregar un radical alternativo que pudiera competir por el sitio activo. De esta forma se logró el intercambio de radicales durante la fotólisis de nitritos introduciéndose iodo, bromo y deuterio en las posiciones C-18 y C-19 del anillo esteroidal [Akhtar, 1965; 1964-b].

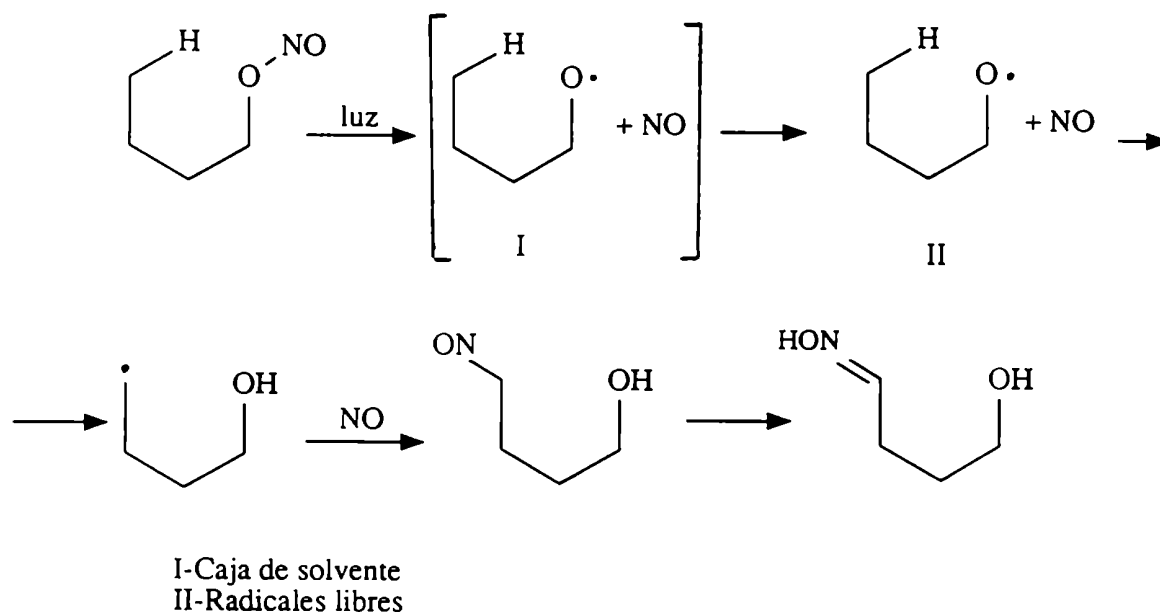


Figura 7- Mecanismo de la reacción de Barton.

OXIDACION DE ALCOHOLES CON TETRAACETATO DE PLOMO.

Cuando se trata un alcohol con $Pb(AcO)_4$ en un solvente no polar en condiciones térmicas o con irradiación lumínica, se obtienen principalmente productos derivados del éter tetrahidrofurano. Según se puede observar en el esquema de la reacción en la figura 8, en el primer paso se produce la formación reversible del alcóxido de

plomo. Este en medio neutro no polar sufre una ruptura lenta homolítica del enlace entre el plomo y el oxígeno produciendo el radical alcoxilo, el cual se cicla para dar como producto principal el éter de cinco miembros. Se observó que los requerimientos estéricos de esta reacción son similares a los de las reacciones analizadas anteriormente [Kirk, 1968; Heusler, 1964].

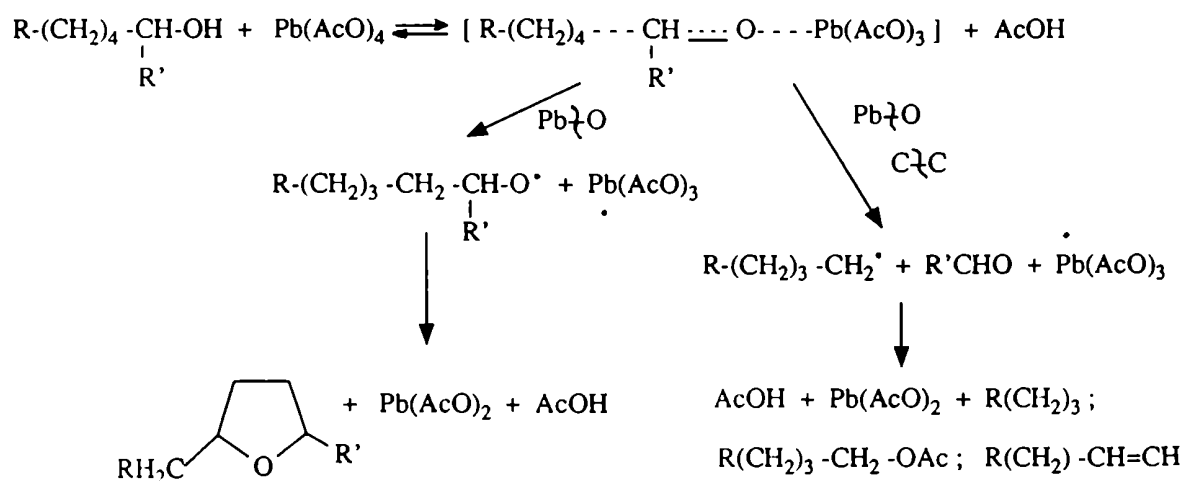


Figura 8- Mecanismo de la oxidación de alcoholes con $\text{Pb}(\text{AcO})_4$.

Una reacción que ocurre en forma alternativa es la ruptura del enlace C-C adyacente al oxígeno, lo cual genera radicales que dan como productos alcanos, olefinas y acetatos. Esto hace que el método tenga menores rendimientos que cuando se agrega iodo para generar hipioditos, que reaccionan más rápida y eficientemente, como por ejemplo en la obtención del éter entre C-6 y C-19 en

esteroides. De todas formas, este método tiene la ventaja de dar mejores resultados en la obtención de éteres cíclicos que cuando se usa la ruta de hipioditos para los casos en que ésta da preferentemente productos de bifuncionalización, como por ejemplo en la síntesis del éter entre C-18 y C-20.

Por este comportamiento se puede decir que la ciclación con tetraacetato de plomo no es sensible a factores conformacionales, a diferencia de lo que ocurre al haber un átomo de iodo involucrado en el intermediario [Kirk, 1968]. En este caso se supone que la reacción transcurre ayudada por un mecanismo alternativo con pares radicalarios, los cuales se transforman en pares iónicos. Esto también explica los resultados obtenidos con otros ejemplos de centros reactivos no fijos como lo son ciertos compuestos alifáticos ensayados [Heusler, 1964].

FUNCIONALIZACION DE COMPUESTOS ORGANICOS CON IODO HIPERVALENTE.

Se ha observado que existen ciertas similitudes en las capacidades sintéticas de compuestos orgánicos con I(III) y I(V), y los derivados orgánicos de metales pesados como Hg(II), Tl(III) y Pb(IV) [Moriarty, 1986]. En particular los compuestos de iodo dicarboxilato se comportan como agentes oxidantes y metilantes de manera similar al $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ [Banks, 1966].

En función de estas características Suárez y colaboradores ensayaron la reacción de funcionalización intramolecular de carbonos no

activados sobre diversos compuestos, usando diacetoxiodobenceno (DAIB) y yodo en un solvente no polar como el ciclohexano, con irradiación lumínica. La reacción sirvió para generar tanto radicales sobre nitrógeno de nitroaminas, cianaminas, fosforoamidatos para dar epimino compuestos [Armas, 1985] y amidas para dar lactamas [Hernández, 1987], como también radicales oxígeno de alcoholes para dar éteres o iodohidrinas [Concepción, 1984].

Los autores encontraron que este sistema es más conveniente que los desarrollados anteriormente, por sus mejores rendimientos y además que se puede trabajar en una relación casi estequiométrica de reactivos, evitando así los grandes excesos de oxidante de los sistemas con metales pesados como así también su toxicidad. Otra de las ventajas es que las condiciones más suaves de este sistema dan como resultados productos de monosustitución como éteres cíclicos de 5 y 6 miembros y iodoalcoholes, evitando la bifuncionalización que da como productos lactoles y α -iodoéteres [Concepción, 1984].

También se ensayó la reacción con compuestos organiodados mono y pentavalentes en las mismas condiciones, obteniéndose menores rendimientos debido a la reacción lateral de oxidación del alcohol [Armas, 1989].

Se ha propuesto que los radicales alcoxilo se forman por reacción del alcohol con el hipiodito de acetilo que se genera in situ según la reacción siguiente [Armas, 1989]:



Esto puede suponerse ya que existe evidencia que el DAIB en ausencia de I_2 es capaz de descomponerse en condiciones de irradiación lumínica, formando radicales como $C_6H_5-\dot{I}-AcO$, acetoxilo y metilo, que pueden actuar como fotoiniciadores para la polimerización de monómeros [Georgiev, 1987]. El hipiodito de acetilo nunca fue aislado, pero se ha postulado que existe como intermediario en numerosas reacciones como la de Hunsdiecker y en la descomposición en presencia de iodo de acetatos de metales como $AgAcO$, $Hg(AcO)_2$ y $Pb(AcO)_4$ [Armas, 1989].

COMPUESTOS FUNCIONALIZADOS EN C-18 Y C-19.

Entre las síntesis de compuestos funcionalizados en ambos metilos angulares que existen en la literatura, se pueden observar principalmente 3 tipos de estrategias: la funcionalización de C-18 primero y luego C-19, la funcionalización de C-18 partiendo de un compuesto 19-nor y la funcionalización simultánea de ambos metilos.

Entre las del primer tipo se encuentra descripta la síntesis de 18,19-dihidroxi-11-desoxicorticosterona, un metabolito de hidroxilación de 18-hidroxi-11-desoxicorticosterona catalizada por el citocromo P-450. En el mismo trabajo también se describe la síntesis de 18,19-dihidroxi-progesterona (22) cuyo esquema se muestra en la figura 9, a partir del compuesto comercial 3-acetato de pregnenolona (21) [Fujii, 1984]. Para esta síntesis, los autores utilizan la reacción de hipiodito generado con tetraacetato de plomo para

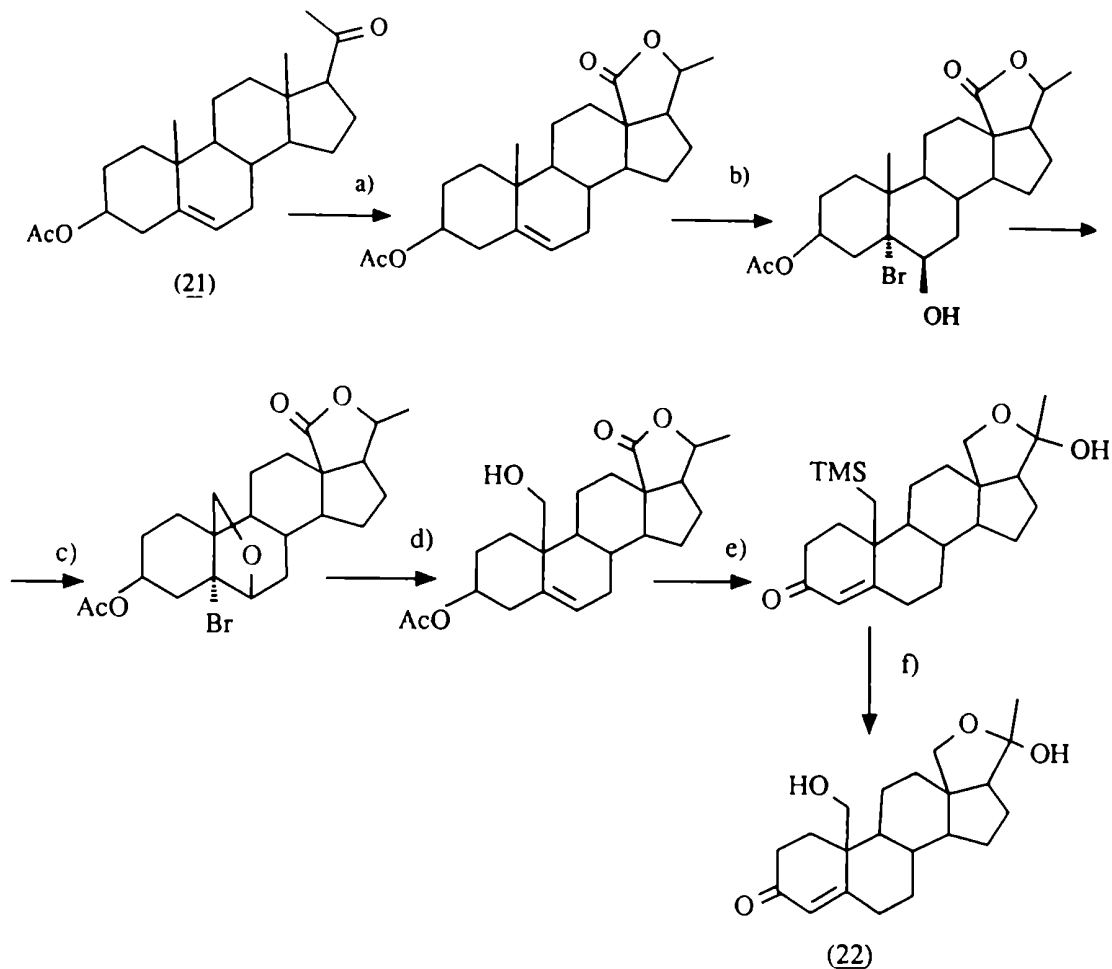


Figura 9- Síntesis de 18,19-dihidroxi-progesterona (22) [Fujii, 1984]. a) 1) $\text{LiAlH}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3/\text{THF}$, 2) $\text{PbAcO}_4/\text{I}_2/\text{ciclohexano}/\text{luz y calor}$, 3) $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{acetona}$; b) $\text{NBA}/\text{HClO}_4/\text{THF}/\text{éter aq.}$; c) $\text{Pb}(\text{AcO})_4/\text{I}_2/\text{ciclohexano}/\text{luz y calor}$; d) $\text{Zn}/\text{ác. acético aq.}$; e) 1) cloruro de isobutildimetilsililo/dimetilformamida/imidazol, 2) $\text{LiAlH}_4/\text{THF}$, 3) isopropóxido de aluminio/tolueno/acetona/reflujo; f) $(\text{nBu})_4\text{N}^+\text{F}^-/\text{THF}$.

ambos metilos angulares. El C-18 se funcionalizó como lactona la cual se usó como grupo protector en el resto de la síntesis, para luego ser transformada en el 18-hidroxilo y 20-ceto en los pasos finales. La desventaja de este método radica en que luego se debe reducir y oxidar el alcohol secundario frente al primario con el método de Oppenauer (el cual no tiene muy buen rendimiento), necesitándose además proteger el 19-hidroxilo como silil-éter lo cual disminuye aún más el rendimiento total de la síntesis (3,3%).

Otra estrategia sintética en la que se funcionaliza primero el metilo de C-18, es la utilizada por Harnik y colaboradores para la obtención de 19-hidroxi aldosterona (24), que se realizó según el esquema de la figura 10 [Harnik, 1985]. En la misma se partió de la lactona 23 funcionalizada en C-18 y C-21 y además protegida en C-3 y C-20, la cual fue sintetizada y caracterizada por Heusler. En dicha síntesis, la funcionalización en C-18 para dar la lactona transcurre con bajo rendimiento (41%) [Heusler, 1961].

El 5 α -bromo-6,19-éter intermediario de esta reacción fue posteriormente utilizado por el mismo grupo de investigación para sintetizar 19-noraldosterona, un potente mineralocorticoide [Harnik, 1986].

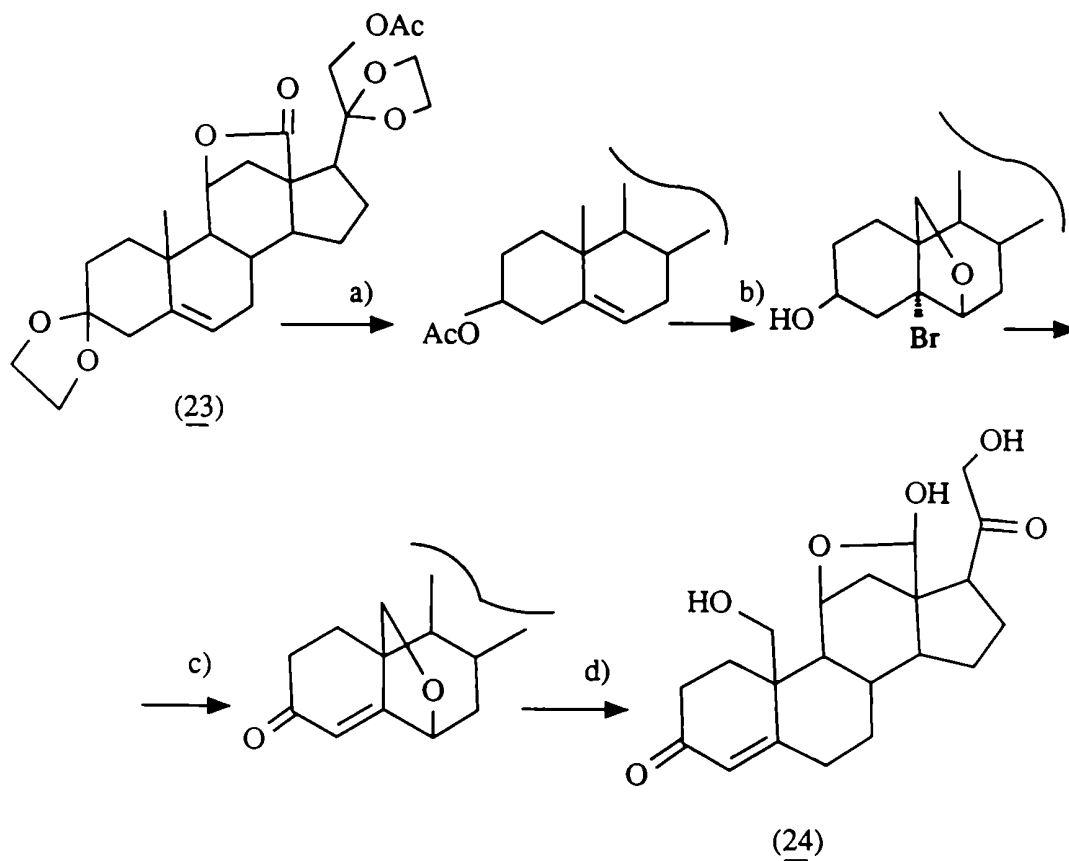


Figura 10- Síntesis de 19-hidroxialdosterona (24) [Harnik, 1985].

- a) 1)HCl 0,5N/dioxano, 2)CH₃SiI/Ac₂O, 3)NaBH₄/THF, 4)Ac₂O/Py; b) 1)N-bromoacetamida/HClO₄/dioxano, 2)Pb(AcO)₄/I₂/ciclohexano, 3)KHCO₃; c) 1)Jones/acetona, 2)NaAcO; d) 1)Zn/AcOH/isopropanol, 2)etilénglicol/PTS, 3)DIBAH/tolueno/CH₂Cl₂, 4)HCl-5%/dioxano.

Para la estrategia en donde se parte de un compuesto sin C-19, sobre el cual se funcionaliza C-18, se tiene como ejemplo la

síntesis parcial del progestágeno desogestrel (26) (13-etil-11-metilén-18,19-dinor-17 α -etnil-17 β -hidroxipregn-4-en-3-ona) a partir del 19-nor esteroide 25 que generalmente se obtiene por reducción de Birch de estranos aromatizados en el anillo A. Se puede observar el esquema de síntesis empleado por los autores en la figura 11.

El paso clave de la síntesis es la funcionalización de C-18 desde el hidroxilo 11- β que da principalmente la lactona, la cual es posteriormente usada para agregar un carbono en C-18 y luego por reducción de Wolf-Kishner obtener el etilo en C-13, presente en 26 [Heuvel, 1988].

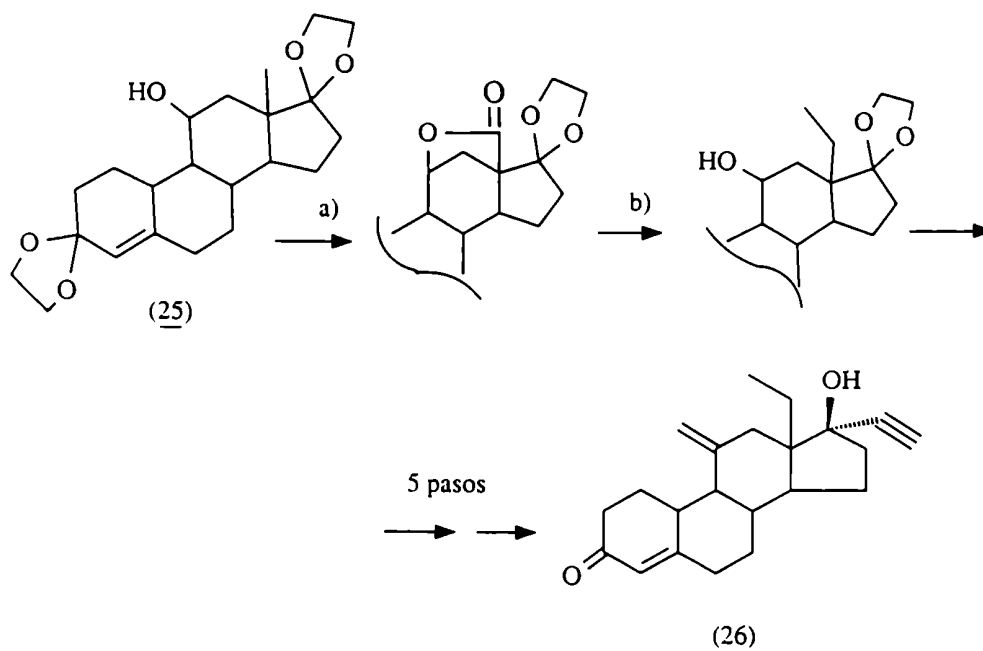


Figura 11- Síntesis de desogestrel (26) [Heuvel, 1988].

a) $\text{Pb}(\text{AcO})_4 / \text{I}_2 / \text{ciclohexano} / \text{AIBN}$ b) 1) $\text{Mg} / \text{CH}_3 \text{Br} / \text{éter}$
2) hidracina / etilén glicol.

En cuanto a la funcionalización simultánea de ambos metilos, se encuentra descrita la reacción del 3 β -acetoxi-11 β -hidroxi-lanostano (27) con Pb(AcO)₄/I₂/ciclohexano con iniciación térmica y fotoquímica, que da el iodoéter con 53% de rendimiento (figura 12). De todas formas éste fue posteriormente usado para obtener el metilo en C-19, por reducción con LiAlH₄ [Roller, 1970].

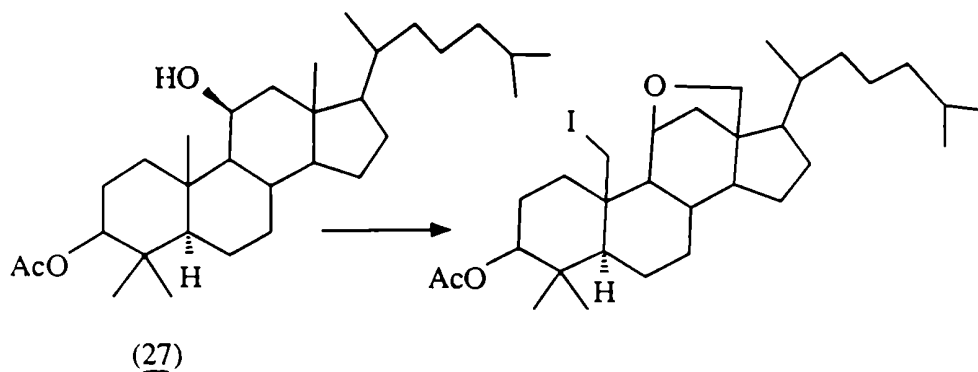
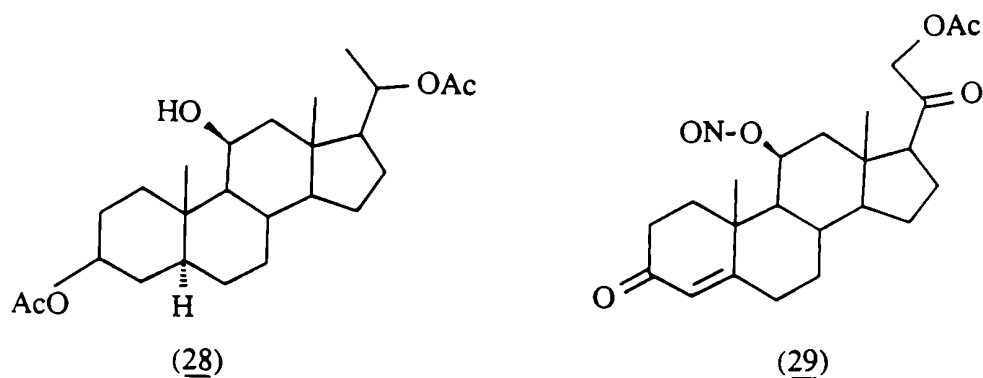


Figura 12- Síntesis de un compuesto bifuncionalizado [Roller, 1970].

La misma reacción fue ensayada con el 3 β ,20 β -diacetoxi-11 β -hidroxi-5 α H-pregnano (28), aislándose únicamente productos que sólo



tienen uno u otro de los metilos angulares funcionalizados [Heusler, 1963]. En el caso de usar la reacción de Barton en 11 β -nitrito-21-acetoxi-corticosterona (29), tampoco se obtuvieron productos funcionalizados en ambos metilos simultáneamente [Barton, 1961].

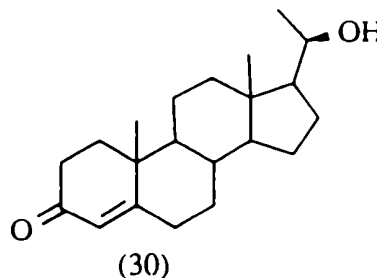
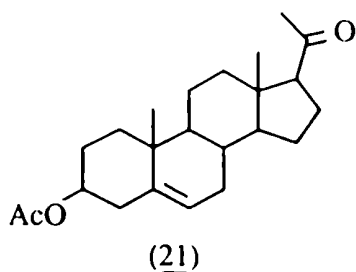
CAPITULO 3

SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (18).

INTRODUCCION.

Considerando la estructura de las moléculas que se buscaba sintetizar, 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) y 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20) (capítulo 1), se observó que uno de los pasos clave en cualquiera de los posibles caminos de síntesis sería la funcionalización del metilo angular C-18. Por esto, inicialmente se decidió encarar la síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18), como modelo para ensayar los métodos de funcionalización de C-18 disponibles (capítulo 2), y analizar las ventajas y desventajas de cada uno en las transformaciones posteriores necesarias para llegar a la estructura final. Este compuesto resultaba además necesario como control para analizar la respuesta en los ensayos biológicos a realizarse con 19 y 20, y su costo elevado (5 mg= 110.40 U\$\$, catálogo Sigma 1991), hacía deseable disponer de una síntesis sencilla del producto.

Un compuesto apropiado para usar como material de partida era el 3-acetato de pregnenolona (21). Este poseía el sistema 3 β -acetoxi- Δ^5 que puede convertirse fácilmente en el 3-ceto- Δ^4 , y la cadena lateral necesaria para el ataque al C-18, además de un costo bastante accesible (5g= 13,60 U\$\$, catálogo Aldrich 1991). También se realizó la síntesis a partir de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (30),



cual ya contiene el sistema 3-ceto- Δ^4 y el alcohol en C-20 para realizar el ataque a C-18. Este es comercial, y si bien su precio es más elevado (25mg= 7,05 U\$S, catálogo Sigma 1991), tiene la ventaja de poder transformarse en 18-hidroxiprogesterona (18) en sólo 3 pasos de síntesis con buen rendimiento, utilizando el método desarrollado en esta tesis que se describe más adelante.

METODOS DESCRIPTOS.

Barton y colaboradores [Barton, 1975], desarrollaron una síntesis de 18-hidroxiprogesterona (figura 13) con un rendimiento global de 3,5%. El bajo rendimiento se debía a que la fotólisis del nitrito para dar el 18-nitrato compuesto (paso b, figura 13) a partir del 20 β -nitrito derivado tenía un rendimiento de 14%. Para el 20 α -nitrito derivado el rendimiento era mayor (47%), pero éste sólo se obtenía en un 13% en la reducción con NaBH₄. Además, la reacción de Oppenauer, usada para oxidar el sistema 3 β -hidroxi- Δ^5 tiene menor rendimiento que la reacción de Jones [Le, 1986]; según los autores, con este último reactivo únicamente pudieron obtener el producto de sobreoxidación 3,6-diceto- Δ^4 , pero como se verá más adelante en este capítulo, el reactivo de Jones sí puede ser usado para obtener el 3-ceto- Δ^4 derivado con buen rendimiento, en condiciones controladas. En esta síntesis tampoco se aprovechó la posibilidad de oxidar simultáneamente a los hidroxilos en C-3 y C-20, agregando un paso de reacción innecesario.

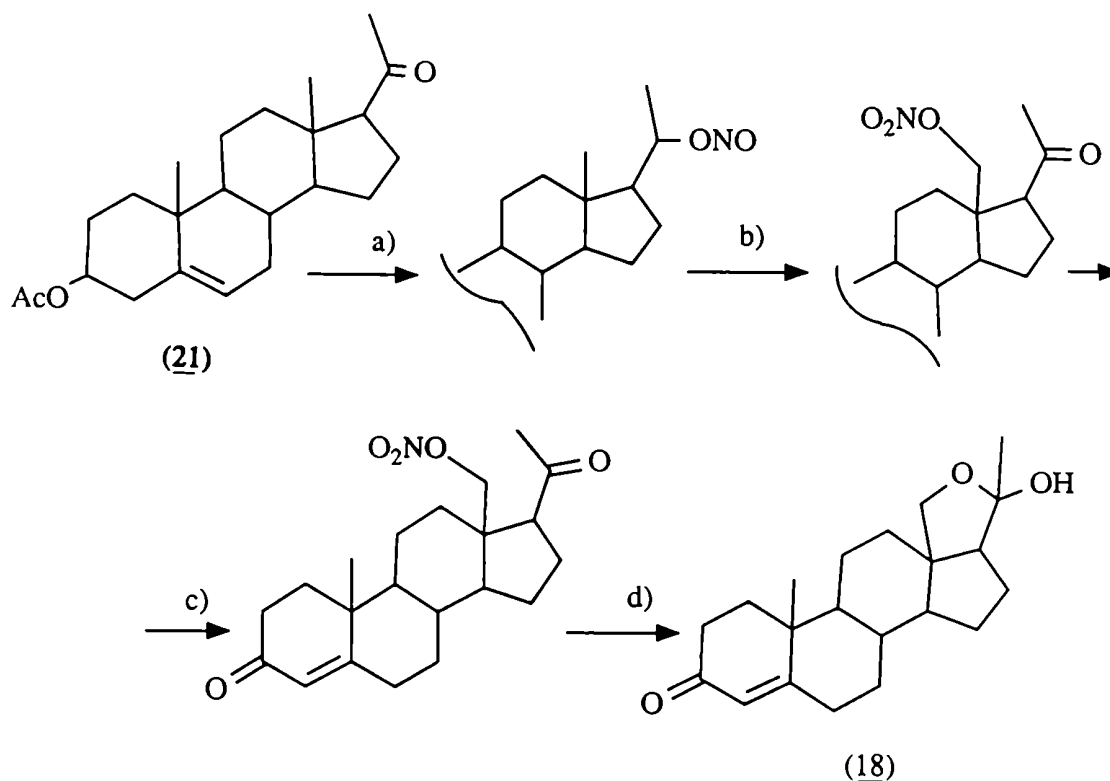


Figura 13- Síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) [Barton, 1975].

a) 1) NaBH_4 / THF / H_2O , 2) NOCl / Py; b) 1) luz,
 2) Jones / acetona; c) 1) HClO_4 / metanol,
 2) $\text{Al}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_3$ / tolueno / acetona / reflujo
 (Oppenauer); d) Zn / NH_4AcO / metanol. Rendimiento
 total = 3,5%.

Otra síntesis desarrollada, por el grupo de la empresa CIBA (Suiza) [Meystre, 1966; Fried, 1975-b], parte de progesterona (1), la cual es protegida selectivamente para obtener el producto con el que se realiza la funcionalización del metilo angular C-18, según se muestra en la figura 14. El rendimiento total es de 15%. En este

caso, la funcionalización del C-18 se llevó a cabo con tetraacetato de plomo, usando yodo en relación 0,5-1 molar con respecto al esteroide, con lo cual se obtenía el 18-yodo-20-hidroxiderivado, mucho más estable que el 18-yodo-18,20-óxido obtenido al usar yodo diez veces en exceso.

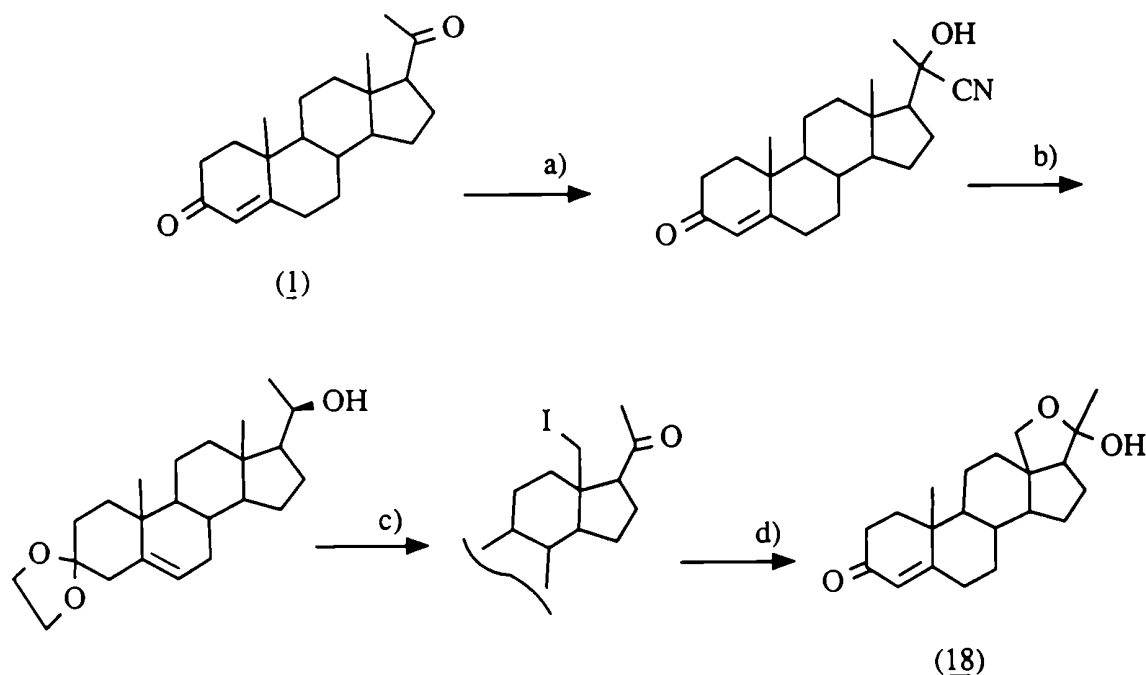


Figura 14- Síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) [Meystre, 1966]. a) $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OH})\text{CN}$; b) 1) p-toluensulfónico/etilenglicol, 2) KOH/piridina; c) 1) $\text{Pb}(\text{AcO})_4/\text{I}_2$ /ciclohexano/luz y reflujo, 2) Jones/acetona; d) 1) AgAcO /metanol/reflujo, 2) $\text{AcOH}(\text{aq.})$ /reflujo. Rendimiento total=15%.

Finalmente, una tercera síntesis parte de 3-acetato de pregnenolona (21), y utiliza la secuencia de reacciones indicadas en la figura 15, con un rendimiento total de 19% [Slaunwhite, 1975]. En

este caso se funcionalizó el metilo angular C-18 usando tetraacetato de plomo con exceso de yodo, seguido de oxidación con cromato de plata, obteniéndose la 18,20-lactona. Posteriormente se redujo todo el sistema a los alcoholes y se oxidaron los secundarios frente a los primarios con el reactivo de Oppenauer. Esta síntesis posee el mayor rendimiento de todas las descritas, pero tiene la desventaja de usar reacciones poco selectivas frente a otros grupos funcionales al construir el sistema 18-hidroxi-20-ceto, y por lo tanto no resultaba útil como modelo para la obtención de productos 18-hidroxilados más funcionalizados como son 19 y 20.

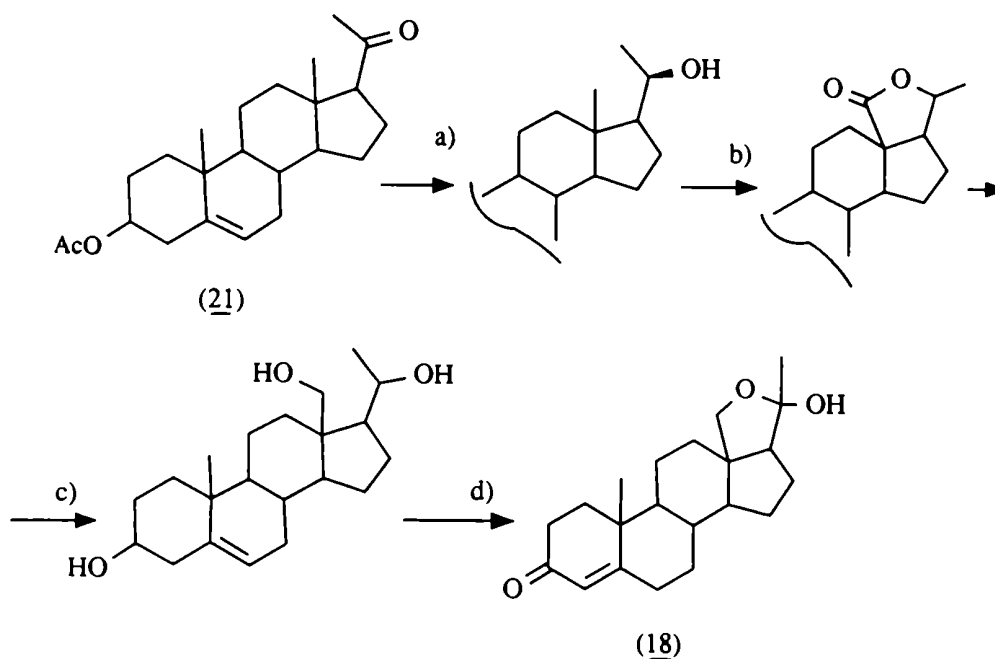


Figura 15- Síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) [Slaunwhite, 1975]. a) NaBH_4 / THF / H_2O ; b) 1) $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ / I_2 (exc.) / ciclohexano / luz y reflujo, 2) Ag_2CrO_4 / ác. sulfúrico / acetona; c) H_4AlLi / THF; d) $\text{Al}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_3$ / tolueno / acetona / reflujo (Oppenauer). Rendimiento total=19%.

SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (18) A PARTIR DE 3-ACETATO DE PREGNENOLONA (21).

a-Reducción del carbonilo en C-20.

Para poder realizar la funcionalización intramolecular de C-18, era necesario tener un grupo 20-hidroxilo sobre el cual se pudiera generar el radical alcoxilo. Es conocido que siempre que se reduce la cetona en la posición C-20 de un pregnano, se obtiene principalmente el isómero 20 β -hidroxilo (20R) y minoritariamente el isómero 20 α -hidroxilo (20S) [Fried, 1975-a]. Se analizó con el programa PCModel (apéndice de métodos computacionales) cuales eran los conformeros más estables de 3-acetato de pregnenolona (21) para las diferentes orientaciones que pudiera adoptar la cadena lateral. Por rotación del ángulo diedro (τ) definido por los átomos C(16)-C(17)-C(20)-O(20) se encontraron dos tipos de conformeros de mínima energía. Sus representaciones según proyecciones de Newman a lo largo del enlace C(17)-C(20) se pueden observar en la figura 16. Cuando la cadena lateral tienen su grupo carbonilo cercano al enlace C(16)-C(17) se encontró que todos los conformeros con ángulo de torsión $0^\circ < \tau < 60^\circ$ tiene energía similar. Los conformeros a y b representan los ángulos de torsión τ extremos y se puede observar que el acercamiento del hidruro ocurriría por la cara α , ya que la cara β está impedida por el metilo C-18, generando así el isómero 20 β . Cuando el carbonilo esta orientado hacia el enlace C(13)-C(17) se encontró un único conformero con $\tau = -141^\circ$, y se encuentra inclinado de forma tal que el acercamiento del hidruro por la cara α está impedido por el anillo C, mientras que el

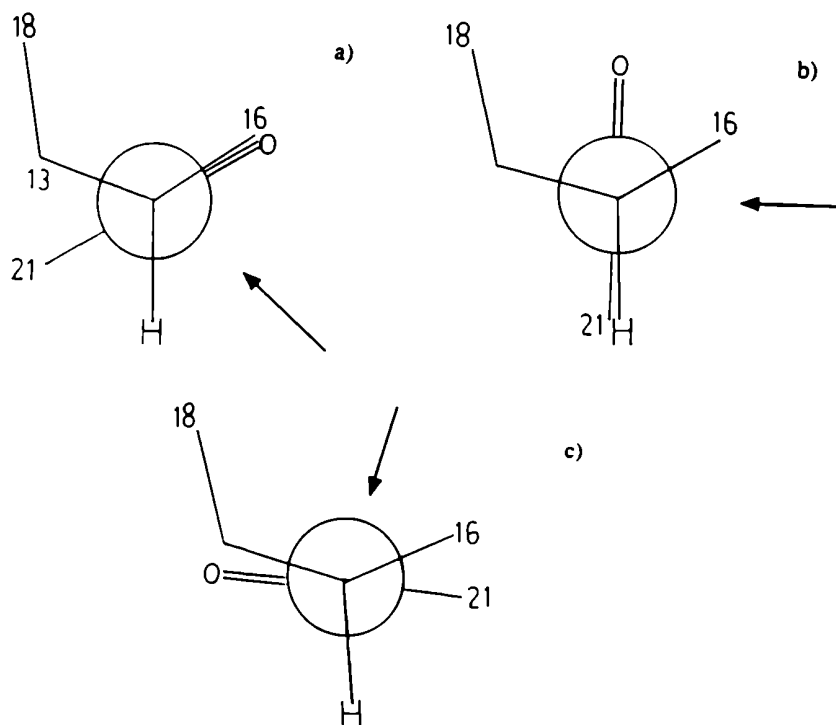
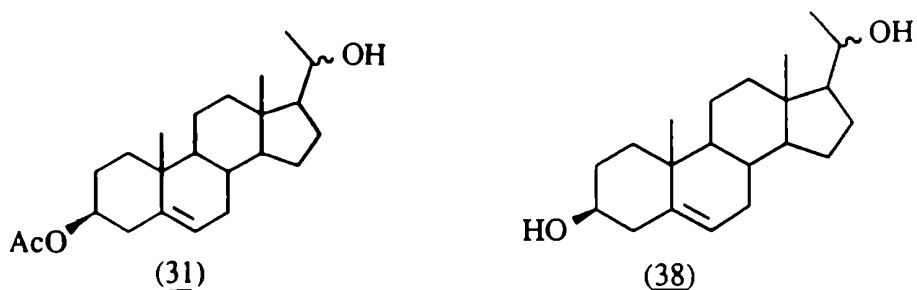


Figura 16- Proyecciones de Newman para el enlace C(17)-C(20) de 3-acetato de pregnenolona (21). Confórmeros a con $\tau=0^\circ$; b con $\tau=-60^\circ$; c con $\tau=-141^\circ$.

metilo C-18 no produce impedimento estérico en la cara β . Es decir que en este caso el acercamiento sería por la cara β , rindiendo entonces el isómero 20 β .

Los métodos de reducción más usados en la literatura, utilizan LiAlH_4 ó NaBH_4 , que tienen la desventaja de ser básicos, y por lo tanto se debería trabajar cuidadosamente para no hidrolizar al acetato de C-3 en 21, generando así mezclas de 31 y 3 β ,20-dihidroxipregn-5-eno (38), que por poseer otro grupo hidroxilo en C-3 puede interferir en el paso posterior de generación de radicales en el hidroxilo de C-20. Un reactivo de gran utilidad para este caso



resultó ser el NaCNBH_3 , cuya baja velocidad de descomposición a pH ácido permite trabajar a pH mayor o igual a 3, evitando el riesgo de hidrólisis del acetato protector [Lane, 1975]. En este caso, se obtuvo un rendimiento de 80% del isómero 20 β y 10% del isómero 20 α . Se continuó trabajando con los epímeros sin separar, ya que ambos pueden dar la reacción de funcionalización y luego, al ser reoxidados, rinden el mismo producto.

b-Funcionalización del metilo angular C-18.

Como se discutió en el capítulo 2, esta reacción es muy dependiente de la distancia entre los centros involucrados. Según cálculos computacionales con programas de mecánica molecular, se determinó que en las estructuras de mínima energía la distancia óptima entre el O de C-20 y el C de C-18 es de 2,9-3 Å para que la reacción ocurra. Cuando se utilizó el programa Macromodel, dicho valor fue el obtenido en varios diterpenos, y sirvió para poder pronosticar el comportamiento de la reacción de Barton según las estructuras sobre las cuales luego se realizó la experiencia [Burke, 1988]. Este valor fue obtenido posteriormente con el programa PCModel-MMX sobre varios 6 β -hidroxiesteroides, en la funcionalización del metilo angular C-19, los cuales también coinciden con los resultados experimentales [Brachet-Cota, 1989].

Con este último programa, se calcularon las distancias entre el carbono del metilo C-18 y el oxígeno del hidroxilo en C-20, sobre los conformeros que resultaron de rotar el enlace entre los carbonos C-17 y C-20 para ambos epímeros en C-20. Estos valores se muestran en la tabla 2, en donde sólo se consideran los conformeros más estables y que además tengan el hidroxilo dentro del rango en que puede ocurrir la reacción, según se puede observar en la figura 17. Se puede observar en la tabla 2, que tanto para 30 como para 31 en la configuración 20 α , el conformero 2 (20 α -2), que tiene la distancia óptima, es también el de menor energía y por lo tanto el más estable. Para la configuración 20 β , el conformero 1 (20 β -1)

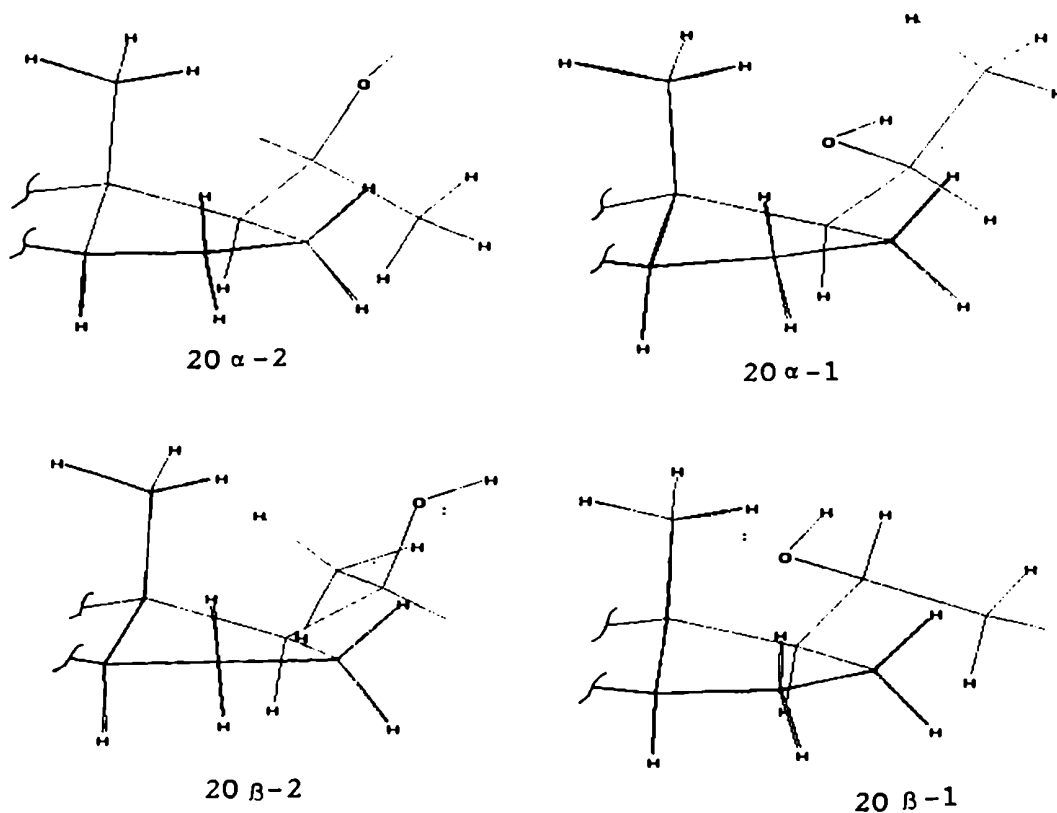


Figura 17- Conformeros más estables para los epímeros 20 α -hidroxi y 20 β -hidroxi de 30 y 31.

Tabla 2- Cálculos de distancias y energías para las moléculas 30 y 31 realizados con el programa PCModel-MMX. (ver figura 17 para estructuras)

confórmero	Distancia C-O (Å)		Energía (kcal/mol)	
	<u>31</u>	<u>30</u>	<u>31</u>	<u>30</u>
20 α -1	3,47	3,49	49,2	39,3
20 α -2	2,97	2,98	47,0	37,3
20 β -1	3,39	3,44	45,3	35,4
20 β -2	2,99	3,02	48,4	38,7

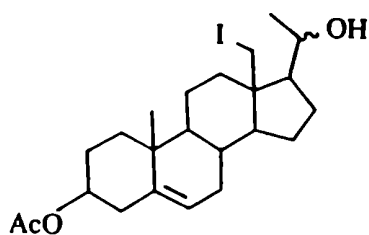
más estable tiene una distancia entre los centros reactivos entre 3,39 y 3,44 Å, es decir mayor a la ideal, existiendo entonces una mayor competencia entre las reacciones intermoleculares frente a las intramoleculares. Esto afirmaría la dependencia de la distancia para la funcionalización de C-18, en donde siempre se ha observado experimentalmente que los 20 α -hidroxi esteroides reaccionan a mayor velocidad y con mejor rendimiento [Barton, 1975; Concepción, 1984; Fried, 1975-b].

Considerando lo que se discutió más arriba, el 20 β -hidroxiesteroide es el producto mayoritario en la reducción del carbonilo de C-20 y también el menos favorable para la funcionalización de C-18, lo cual explica los bajos rendimientos para la obtención de 18 en los métodos descritos en la literatura, y para los productos funcionalizados en C-18 en general [Kirk, 1975-a; Chinn, 1978; Fujii, 1984; Heuvel, 1988]. Al decidir que sistema de reactivos era conveniente ensayar, se descartó el uso de los 20-nitritos (reacción de Barton) por sus bajos rendimientos para esta posición en particular. Entonces se tuvo en cuenta la experiencia anterior para

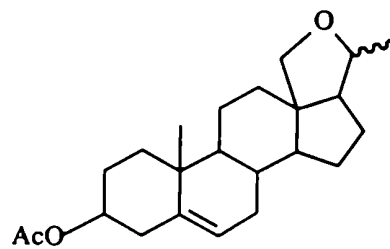
la funcionalización de C-19 desde los 6 β -hidroxiderivados, y por lo tanto también se descartó el uso de la reacción de hipiodito generado con tetraacetato de plomo y iodo, ya que da con facilidad productos laterales de sobreoxidación [Brachet-Cota, 1989].

b-1. Reacción con óxido de mercurio/iodo: Se probó el sistema HgO/I₂/CCl₄ de muy buen rendimiento para los 6 β -hidroxiesteroideos [Brachet-Cota, 1987], y los resultados más importantes obtenidos sobre el reactivo 31 se resumen en la tabla 3. La reacción fue ensayada a temperatura ambiente y variando el tiempo, encontrándose que a los 30 minutos comenzaba a dar producto funcionalizado en C-18 (entrada 1) pero que al aumentar el tiempo tanto el reactivo como el producto se descomponían (entrada 2). Luego, con el agregado de piridina, se logró disminuir esta descomposición (entradas 3 y 4). Aquí el producto principal fue el éter entre C-18 y C-20 (42) obteniéndose ambos epímeros en C-20 en proporción 8:2 de β : α y algo de producto de oxidación en C-20 (21).

Se ensayó la utilización de una lámpara de luz UV onda larga (Ultrasol, 300 watts, 360nm), observándose que la velocidad de la reacción aumentaba pero la selectividad de los productos formados era menor, dando mezclas de 32 y 42.



(32)



(42)

Tabla 3- Reacción de 31 con óxido de mercurio/iodo/CCl₄.

	Reactivos	Condiciones temp.(°C) tiempo(s)		Productos (rend.%)
1	[a]	20	30	<u>32</u> (5) [c]
2	[a]	20	60	prod. descomp.
3	[b]	20	60	<u>32</u> (5) [c]
4	[b]	20	90	<u>42</u> (13), <u>21</u> (5);[d]

[a] 31/HgO/I₂ (1:10:15)

[b] 31/HgO/I₂/piridina (1:10:15:45).

[c] Rendimientos estimados por RMN ¹H.

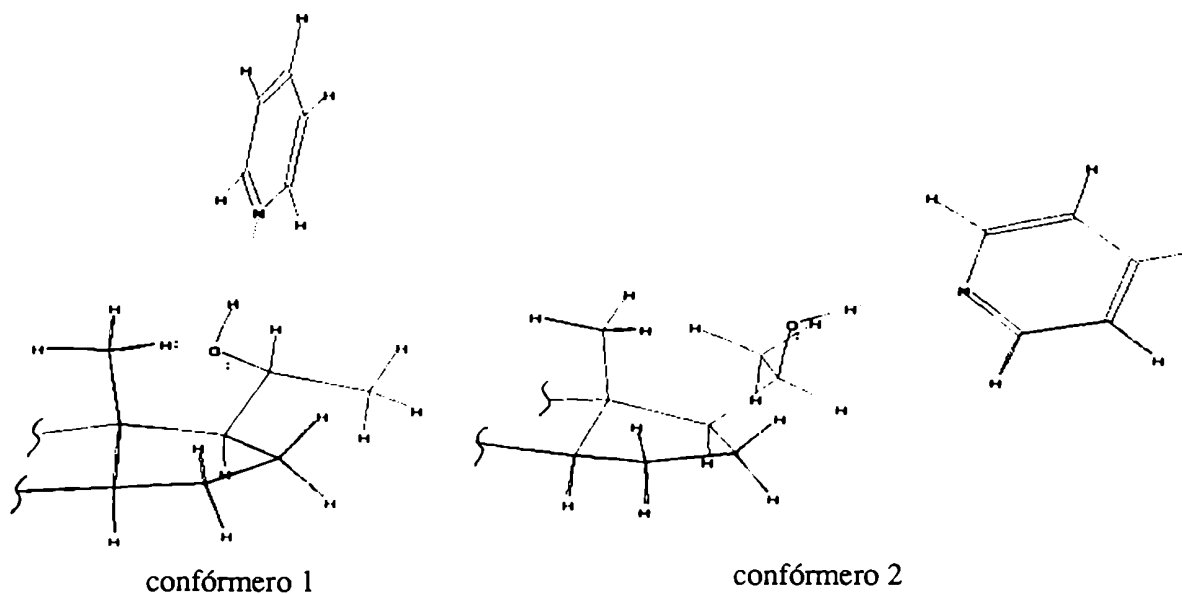
[d] Rendimientos de productos aislados. No hay 31.

Se analizó entonces que cambio podría producir el agregado de una base en el medio de reacción, para lo cual se calculó para el complejo del alcohol 20 β -hidroxipregn-5-eno con piridina cuales eran las energías y las distancias entre los centros reaccionantes de los conformeros posibles. Estos valores se muestran en la tabla 4 para los dos conformeros considerados más arriba. Las estructuras espaciales correspondientes a los mismos complejos, obtenidas con el programa PCModel-MMX, se pueden observar en la figura 18.

Comparando los valores obtenidos para la molécula 31 con y sin piridina, se puede decir que la variación de la distancia es despreciable para el conformero 1, mientras que existe un ligero acercamiento para el conformero 2. El hecho más destacable es la disminución en un 30% en la diferencia de energía de ambos conformeros. Esto implicaría que existe en este medio una mayor población de moléculas con el grupo hidroxilo ubicado en la distancia óptima para la reacción intramolecular, y entonces existe mayor probabilidad de que ésta ocurra, que es lo que se observó en la práctica.

Tabla 4- Cálculos para la molécula 31, efectos de la piridina.

	con piridina		sin piridina	
confórmers:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>2</u>
distancia (Å)	3,38	2,93	3,39	2,99
energía (kcal/mol)	46,4	48,6	45,3	48,3
diferencia en energías	2,2		3,1	

Figura 18- Complejos con piridina para 31 configuración 20 β .

En un principio, se pensó en la posibilidad de utilizar el 18,20-éter 42 para obtener 18-hidroxiprogesterona (18), lo cual implicaba la ruptura del 18,20-éter. Se ensayó el método descrito en la literatura para la apertura del 6,19-éter que utiliza zinc en ácido acético acuoso [Fried, 1975-b], y las mismas condiciones pero con agregado de iodo [Brachet-Cota, 1990], pero en ningún caso se

observó modificación para el éter de 42. Se decidió probar con un ácido de Lewis en presencia de un agente acilante, entonces se sintetizó ZnI_2 anhidro [Brauer, 1963], y se usó anhídrido acético como solvente y reactivo acilante. En estas condiciones se obtuvo un producto mayoritario que resultó ser el de la apertura del éter, acetilado en C-18 y C-20 (43), aislándose por cromatografía por columna de sílica un 52% del mismo (figura 19). Este producto resultó tener la configuración C-20 β (R), es decir idéntica a la del éter mayoritario de partida en 42, por lo tanto la reacción transcurrió con retención de la configuración [Benedetti, 1990]. Este resultado fue el opuesto al caso en que se utilizó el complejo BF_3 -éter etílico en anhídrido acético sobre el éter 18,20 β -óxido 42(20R), en donde la configuración del C-20 del triacetato 43 era inversa (20S). Para esta reacción se postuló un mecanismo de apertura de anillo que transcurre a través de un ataque del ión acetato por detrás del C-20, produciendo de esta forma la inversión del centro quiral. [Ram, 1962]

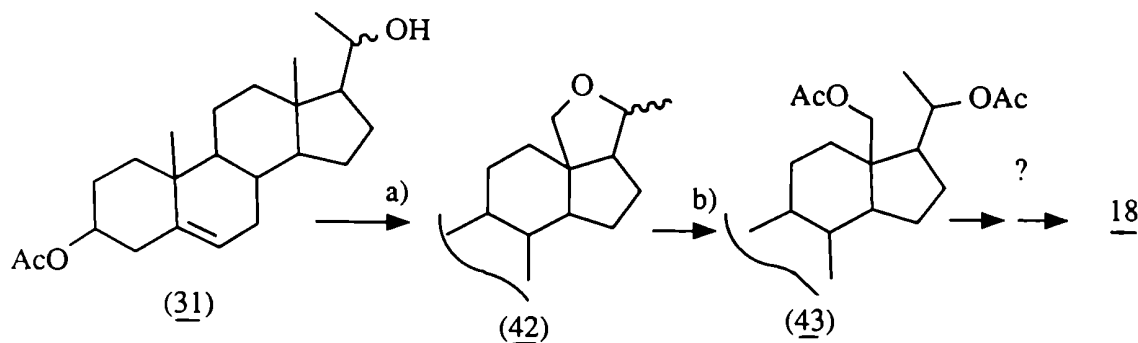


Figura 19. Apertura del 18,20-éter. a) HgO/I_2 /piridina/ CCl_4 /luz;
b) ZnI_2 / Ac_2O .

El mismo triacetato 43 había sido sintetizado por reducción con LiAlH_4 del hemicetal 3 β -acetoxi-18-hidroxipregn-5-en-20-ona y posterior acetilación con Ac_2O /piridina [Labler, 1960]. La configuración del C-20 en el producto obtenido en este caso, no pudo ser determinada por métodos espectroscópicos, pero sí por comparación con datos de punto de fusión de la literatura, ya que existe una diferencia de 23°C entre ambos epímeros. Probablemente aquí la ruptura del éter y el ataque del ión acetato transcurre a través de un mecanismo tipo "caja", en donde el zinc coordinado al éter intervenga direccionando el acercamiento del anión acetato, dando así el producto con la misma configuración. Esta retención fue también observada en otras moléculas, pero se pierde cuando se utiliza un nucleófilo que da un medio más iónico como el cloruro de acetilo, que favorece así mecanismos unimoleculares dando los cloroderivados como mezcla racémica.

b-2. Reacción con diacetoxiodobenceno (DAIB): Como se comentó en el capítulo 2, Suárez y colaboradores encontraron que el compuesto de iodo hipervalente diacetoxiodobenceno (DAIB) en presencia de iodo y con un solvente no polar como el ciclohexano, al ser irradiado con luz visible es capaz de generar radicales alcóxilo a partir de un alcohol, que pueden funcionalizar átomos de carbono no activados. La mayor ventaja del método es que no necesita grandes excesos de oxidante como ocurre en los métodos que usan sales de metales pesados.

Se han presentado resultados con diversas posiciones en esteroides y diterpenos, observándose que en todos los casos la reacción sólo daba el producto de monosustitución y con buenos

rendimientos. En particular fue ensayada con el alcohol 31-20 β usando una relación de los reactivos 31/DAIB/I₂ de 1:1,1:1 irradiando durante 30 min a 35°C. Se obtuvo así el iodoalcohol 32-20 β con 61% de rendimiento. [Concepción, 1984]

Para poder ensayar la reacción fue necesario sintetizar el reactivo. Existen varios métodos descriptos para la síntesis de DAIB, y en todos se parte de iodobenceno. [Fieser, 1967; Vogel, 1978; McKillop, 1989]. El método más sencillo es el que prepara una solución de ácido peracético a partir de anhídrido acético y peróxido de hidrógeno 100 vol., sobre el cual luego se agrega el iodobenceno [Pausacker, 1953]. Normalmente se recristaliza con ácido acético diluido, pero en este caso se utilizó tolueno, ya que las trazas de ácido remanentes interferían en la reacción intramolecular del esteroide.

Al repetir la reacción en las condiciones descriptas, se observó que sólo un 25% del reactivo 31 fue transformado en el iodoalcohol 32, según se indica en la tabla 5, entrada 1. Al aumentar la

Tabla 5- Reacción del 20-hidroxi esteroide 31 con DAIB.

	solvente	temp.(°C)	tiempo(min)	rendimiento (%)		
				<u>31</u>	<u>32</u>	[a]
1	ciclohexano	40	30	75	25	
2	"	65	60	35	45	
3	"	70	180	25	50	[b]
4	"	70	300	descomposición[b]		
5	CCl ₄	25	90	0	80	

[a] Rendimientos estimados por RMN ¹H. En todos los casos se usó una relación 31/DAIB/I₂ de 1:1,1:1.

[b] A los 90 min se volvió a agregar la misma cantidad de DAIB y I₂.

temperatura y el tiempo de reacción (entradas 2 y 3), se observó un aumento en la producción del iodoalcohol 32 pero seguía quedando reactivo 31. Al dejar la reacción durante más tiempo a altas temperaturas, finalmente se observó la descomposición del esteroide en productos varios no determinados (entrada 4). Se pensó entonces utilizar un solvente que no tuviera hidrógenos que pudieran interferir en la reacción. Se ensayó la reacción en CCl_4 (entrada 5) para el cual se observó una mayor velocidad en la reacción que transcurría a temperatura ambiente, logrando así que todo el reactivo 31 se transformara para dar 32 con buen rendimiento. También se probó el agregado de piridina, pero esto produjo una disminución en la velocidad de la reacción. Con todo esto, se pudo finalmente comprobar que este método era mucho más eficiente para la funcionalización de C-18 que el uso del sistema $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{CCl}_4$, y que se obtenía un producto diferente como el iodoalcohol 32, sin detectarse ciclación al éter 42.

Se ensayó además la reacción sobre el diol 44 de la figura 20. Se obtuvo principalmente el producto de ciclación 45 y sólo una

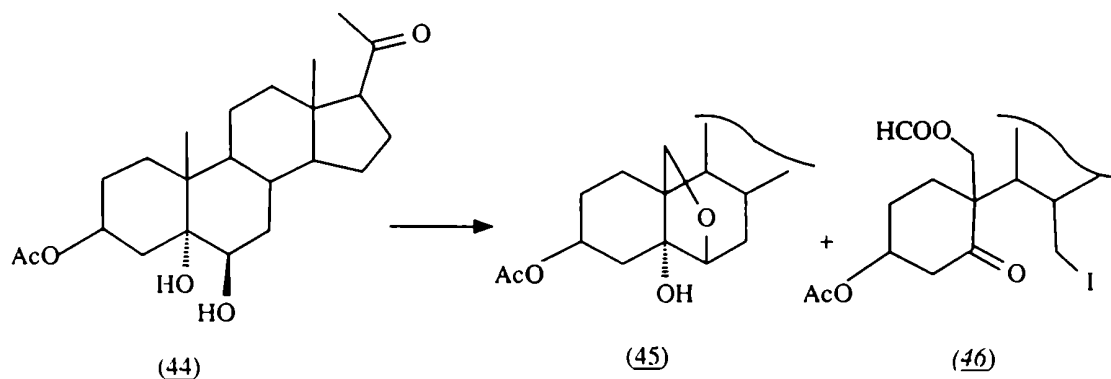


Figura 20. Reacción del diol 44 con $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$.

pequeña proporción del producto de ruptura 46. Este último fue el único producto observado cuando se usó el sistema $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{CCl}_4$ para la funcionalización del metilo angular C-19 sobre el diol 44 [Brachet-Cota, 1987]. Esto confirmaría que el método no sólo es más efectivo, sino que además es más suave.

Con este resultado final para la funcionalización de C-18, quedaba por decidir que camino seguir para la síntesis de 18. Se trató al iodoalcohol 32 con t-butóxido de potasio en t-butanol, obteniéndose el éter 42 pero con el acetato en C-3 hidrolizado. Por lo tanto podría seguirse con el esquema de síntesis planteado en la figura 19 a través del 18,20-diacetato 43. Se pensó en utilizar al iodoalcohol 32 el cual contenía las funcionalidades en C-18 y C-20 diferenciadas (si se compara con el 18,20-diacetato 43), evitándose así el tener que hacerlo posteriormente. Podía entonces primero oxidarse el hidroxilo de C-20 para obtener la iodocetona 47 y luego buscar condiciones para seguir trabajando en las zonas de anillo A y B, según el camino A de la figura 21. Cuando se intentó hidrolizar en medio básico al acetato en el C-3, en vez del 3 β -hidroxiderivado 48 se observó la pérdida del iodo para dar la ciclopropilcetona 49. Esto será discutido con más detalle en el capítulo 5.

Los intentos de transesterificar al acetato de C-3 en 47 con medio ácido y metanol, no dieron resultado. Dado que el compuesto 48 no podía ser obtenido a partir de la iodocetona 47, se siguió el camino B de la figura 21.

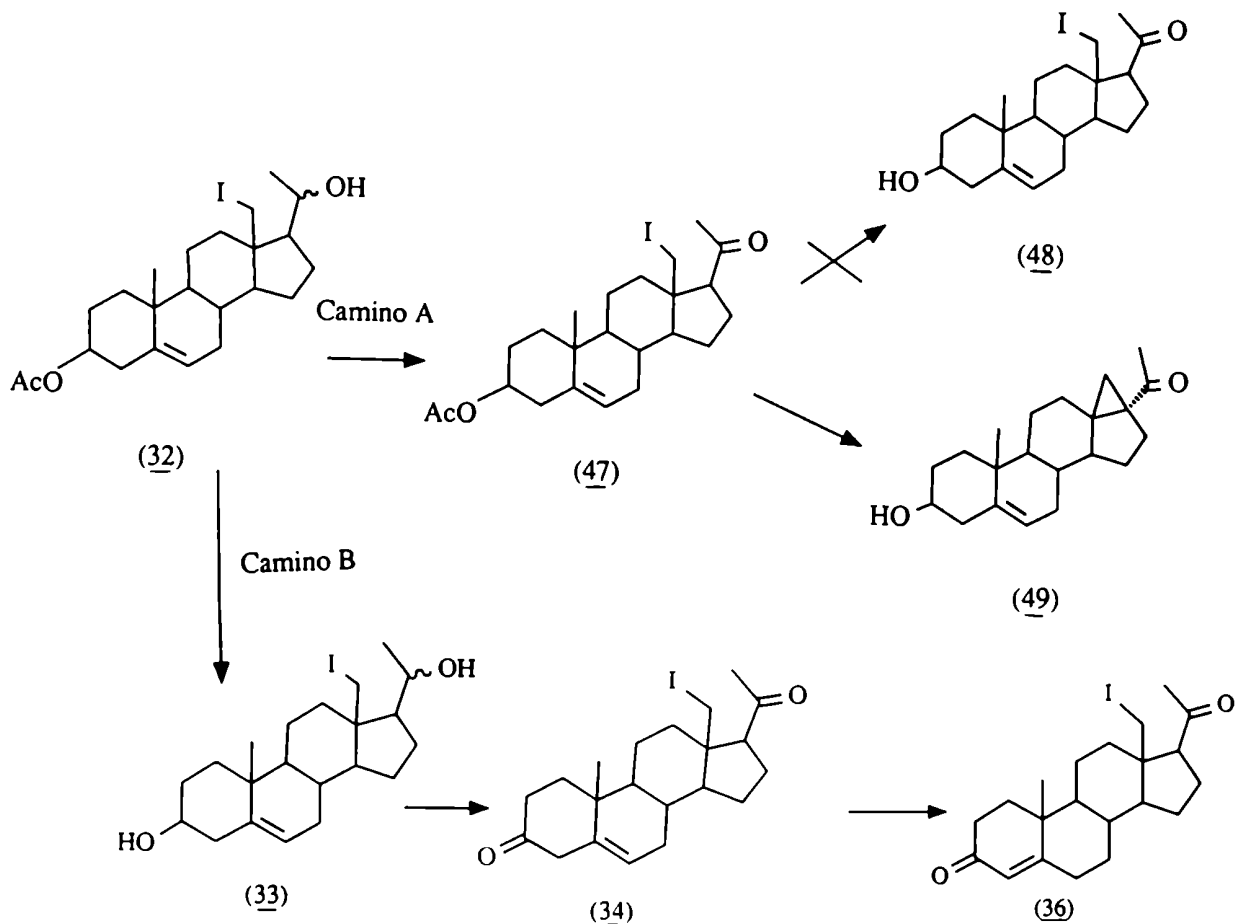


Figura 21. Posibles caminos sintéticos a seguir para la transformación del iodoalcohol **32**.

c-Oxidación simultánea de los hidroxilos en C-3 y C-20.

Una vez sintetizado el diol **33**, por tratamiento del iodoalcohol **32** en medio básico, se debían encontrar condiciones para oxidar ambos hidroxilos. Se ensayó el oxidante dicromato de piridonio (PDC) en CH_2Cl_2 anhidro en presencia de tamices moleculares en polvo [Corey, 1979], cuya principal ventaja es su medio neutro. Se

probó el mismo sobre el 20-hidroxiesteroide 31, y el iodoalcohol 32 encontrándose que el hidroxilo del primero fue transformado a la cetona correspondiente, mientras que el del compuesto 32 no sufrió modificaciones, probablemente debido a que el átomo de iodo voluminoso interfería en la oxidación del hidroxilo cercano.

Dado que el reactivo de Oppenauer no podía ser usado, pues su medio básico produciría nuevamente la ciclopropilcetona (figura 21), se decidió entonces ensayar el reactivo de Jones que utiliza un medio ácido y resulta más efectivo que el anterior para el sistema 3β -hidroxi- Δ^5 . Para trabajar en escala pequeña se ha aconsejado usar soluciones más diluídas [Le, 1986] que las comúnmente utilizadas [Djerassi, 1956] y también burbujear nitrógeno en la mezcla de reacción para desplazar al oxígeno y evitar la formación del subproducto de sobreoxidación 3,6-diceto- Δ^4 [Le, 1986], como ocurría en la síntesis de Barton y colab. [Barton, 1975] (ver pág. 37). En esta tesis se trabajó con el 18-iodo-diol 33, usando un 15% de exceso del reactivo de Jones, y se obtuvo la 18-iodo-dicetona 34 como producto principal con buen rendimiento. Esta última fue isomerizada a la Δ^4 -3-cetona 36 por tratamiento con ácido p-toluensulfónico en acetona.

d-Hidrólisis del iodo en C-18.

El carácter neopentílico del metileno C-18 de 36, hace que las reacciones de tipo intermoleculares estén poco favorecidas para el iodo unido a dicho carbono. Es conocido el método de hidrólisis de la iodocetona 47 con el uso de sales de plata en acetona y agua [Choay, 1973] o en dioxano y agua [Kirk, 1975-a] para dar el

hemiacetal 18,20-epoxi-20-hidroxi. Se ha propuesto que en este caso la reacción transcurre con la pérdida del yodo promovida por la sal de plata, y el ataque simultáneo de la función oxigenada en C-20 sobre C-18, formando un intermediario de tipo oxonio como se aprecia en la figura 22-a [Choay, 1973]. Si la cadena lateral es 17a y no 17b, la iodocetona no se altera al ser tratada con acetato de plata en dioxano acuoso ya que el carbonilo no puede atacar al metileno angular [Kirk, 1976].

Un mecanismo similar fue observado en el caso en que se trató a un α -iodoacetato con acetato de plata en ác. acético acuoso que desplazaba al yodo con ataque simultáneo del carbonilo para dar un intermediario tipo oxonio (figura 22-b) [Woodward, 1958]. Este mismo resultado fue observado en el caso en que el halógeno era bromo, a pesar de no ser tan buen grupo saliente como el yodo [Weinstein, 1942]. En nuestras manos, este último método resultó ser más rápido y efectivo que los métodos descritos anteriormente, dado que no se encontraron trazas de ciclopropilcetona como ocurría al usar dioxano como solvente [Kirk, 1975-a]. Se obtuvo

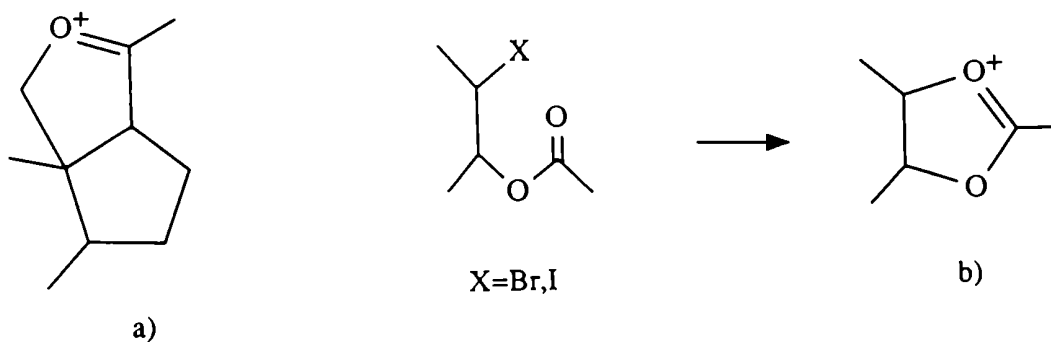


Figura 22. Intermediarios oxonio.

18-hidroxiprogesterona 18 a partir de la iodocetona 36 con un rendimiento de 75%, y un rendimiento global de 29% a partir de 3-acetato de pregnenolona (21).

SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (18) A PARTIR DE 20 β -HIDROXI-PREGN-4-EN-3-ONA (30).

Síntesis de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (30).

En la literatura se conocen diversas síntesis de 30, como por ejemplo las que utilizan progesterona (1) como reactivo de partida

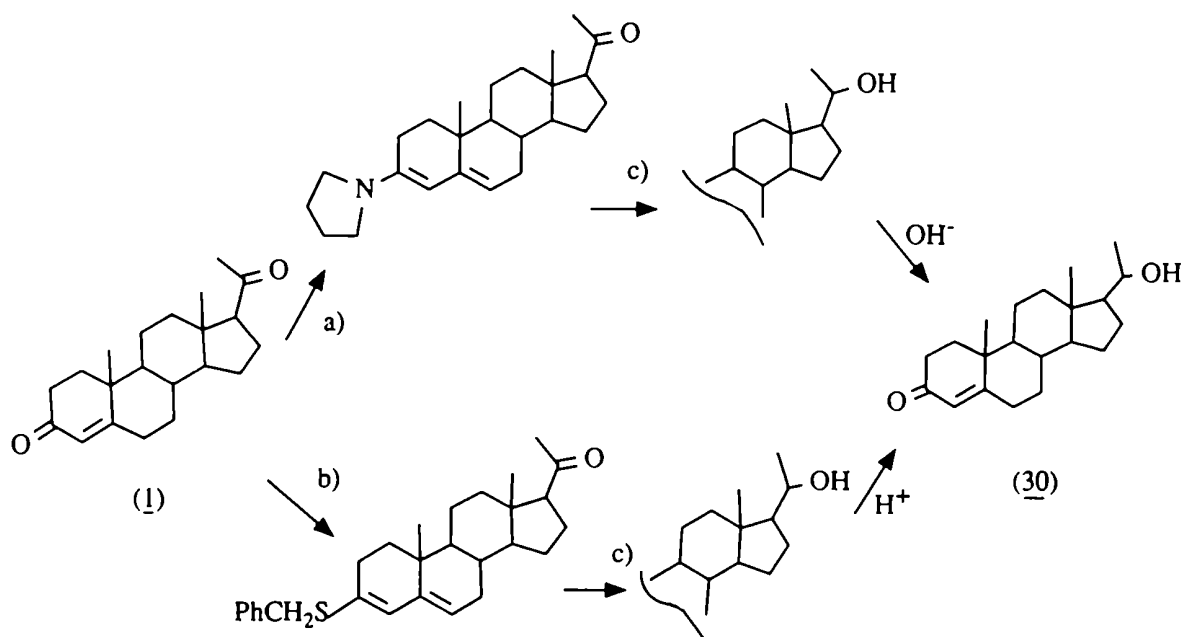


Figura 23- Síntesis de 30 a través de la enamina [Weisenborn, 1959]. a)pirrolidina/metanol; c)LiAlH₄/THF

Síntesis de 30 a través del tioenol-éter [Romo, 1951].

b)encil-mercaptano/clorhidrato de piridina/etanol;

c)idem al anterior.

y protegen el sistema 3-ceto- Δ^4 ya sea a través de la enamina o del tioenol-éter, para poder así reducir el carbonilo de C-20 según la figura 23.

Existen otras síntesis de 30 en las que no se utilizan grupos protectores. Estas son la oxidación del 3 β ,20 β -dihidroxi-pregn-5-eno con diclorodicianobenzoquinona (DDQ) [Burn, 1960] o la reducción de progesterona con NaBH₄ en metanol frío [Norymberski, 1955] que producen 30 en un sólo paso, pero con bajos rendimientos.

Dado que se contaba con una cantidad importante de 3 β ,20-diformil-oxipregn-5-eno (39) (sintetizado a partir del compuesto comercial pregnenolona (37)), se decidió encarar la síntesis de 30 usando la

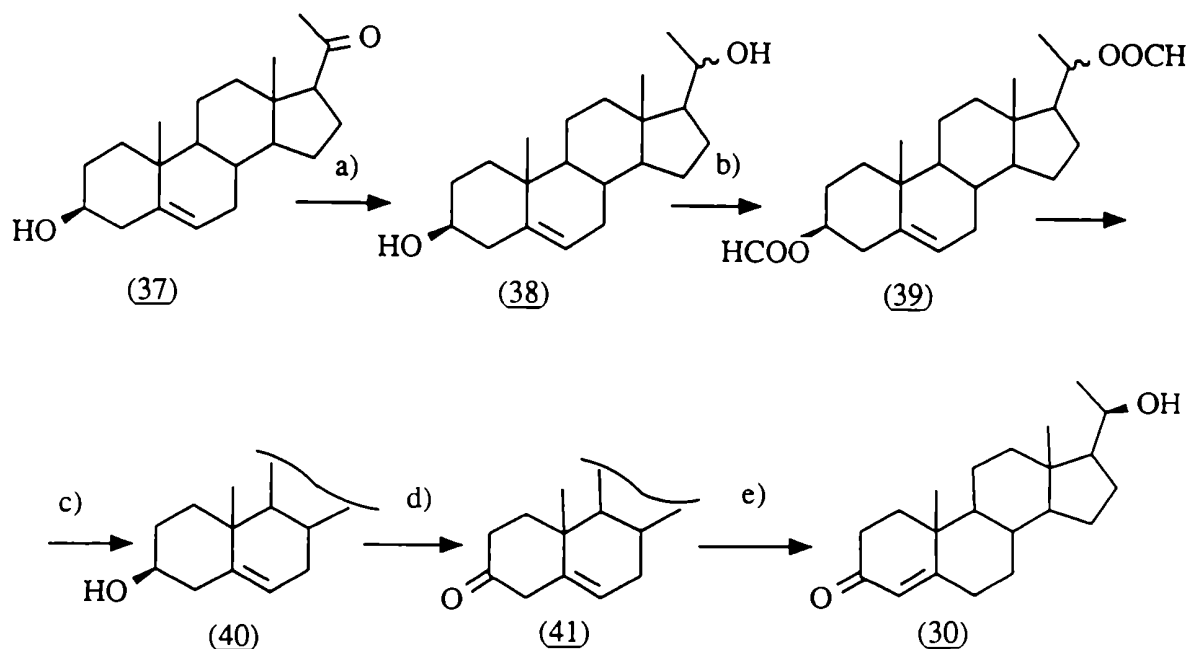


Figura 24- Síntesis de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (30).

- a) NaCNBH₃/HCl(dil)/metanol; b)ác. fórmico;
- c)KHCO₃/metanol; d)Jones/acetona;
- e)HCl/H₂O/CH₂Cl₂/metanol.

hidrólisis selectiva de los formiatos. Esto se logró con buen rendimiento al usar una base débil, pudiendo así diferenciar las funcionalidades de C-3 y C-20. Posteriormente se pudo hidrolizar el formiato de C-20 y a la vez conjugar el doble enlace con el carbonilo de C-3. Los pasos realizados se muestran en la figura 24, con un rendimiento total de 54% desde 37.

Obtención de 18-hidroxiprogesterona (18).

Una vez sintetizado el compuesto 30, se siguió la síntesis según la secuencia que se muestra en la figura 25 (esquema general de las síntesis desarrolladas). Aquí se trabajó con el isómero 20 β de 30, pues al ser purificado se lo obtuvo libre del isómero 20 α . Los detalles de cada reacción fueron discutidos en la descripción de la síntesis anterior desde 3-acetato de pregnenolona (21). Se obtuvo 18-hidroxiprogesterona (18) con un rendimiento global de 35%.

En el espectro de RMN ^{13}C (figura 26 a) se puede observar la señal del C-20 con desplazamiento correspondiente al hemiacetal (107ppm). No se encontraron señales correspondientes a la forma abierta (20-ceto-18-hidroxilo) de acuerdo al lo descrito en la literatura [Genard, 1978] en donde además se asignó la configuración del C-20 como R. En el espectro de RMN ^1H (figura 26 b) realizado a 300 MHz, se puede observar la señal de los 2 hidrógenos de C-18 como un doble doblete prácticamente superpuesto (3,7ppm) y una señal de menor intensidad (3,6ppm) que probablemente corresponda a una pequeña proporción del epímero 20S en equilibrio.

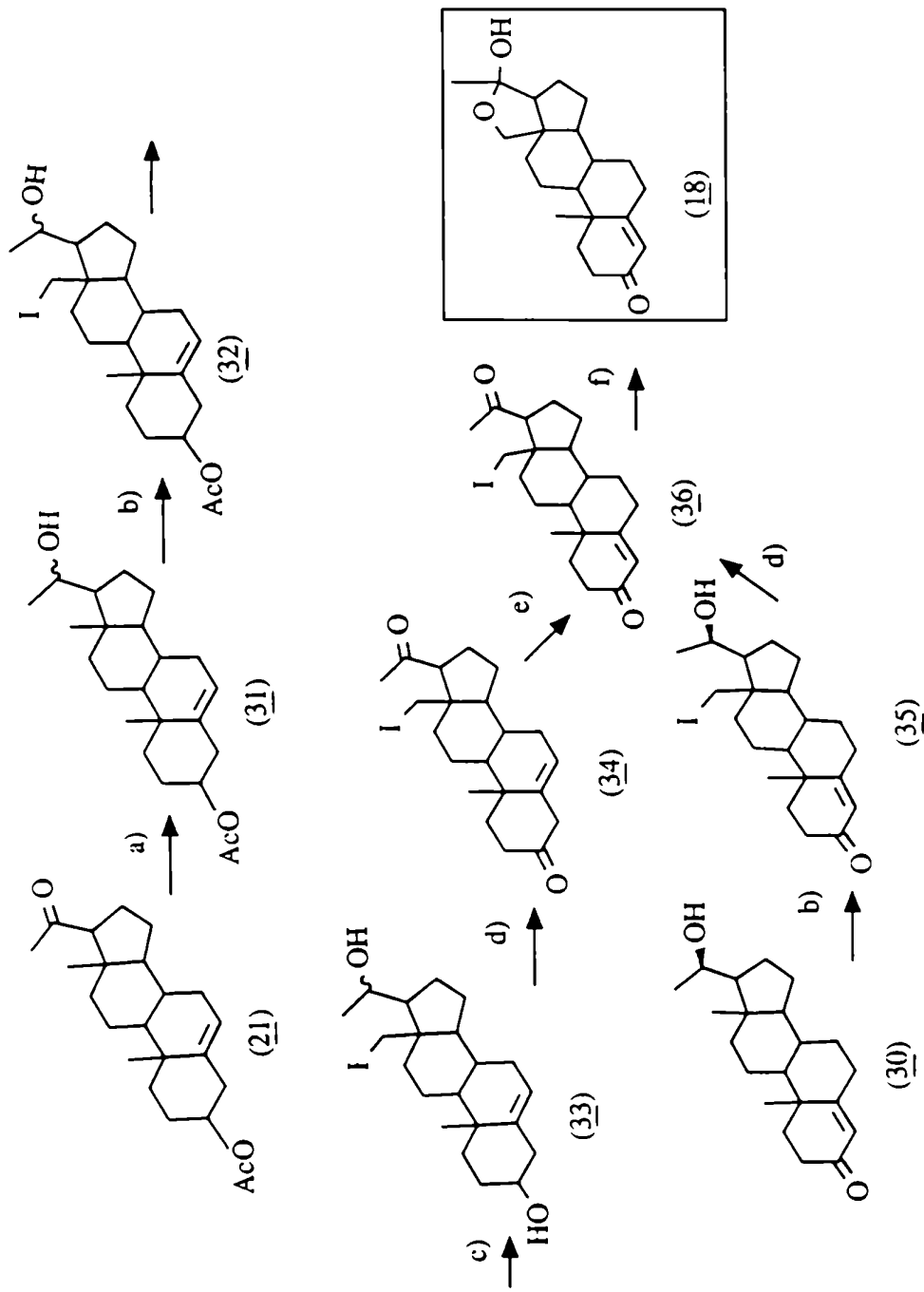
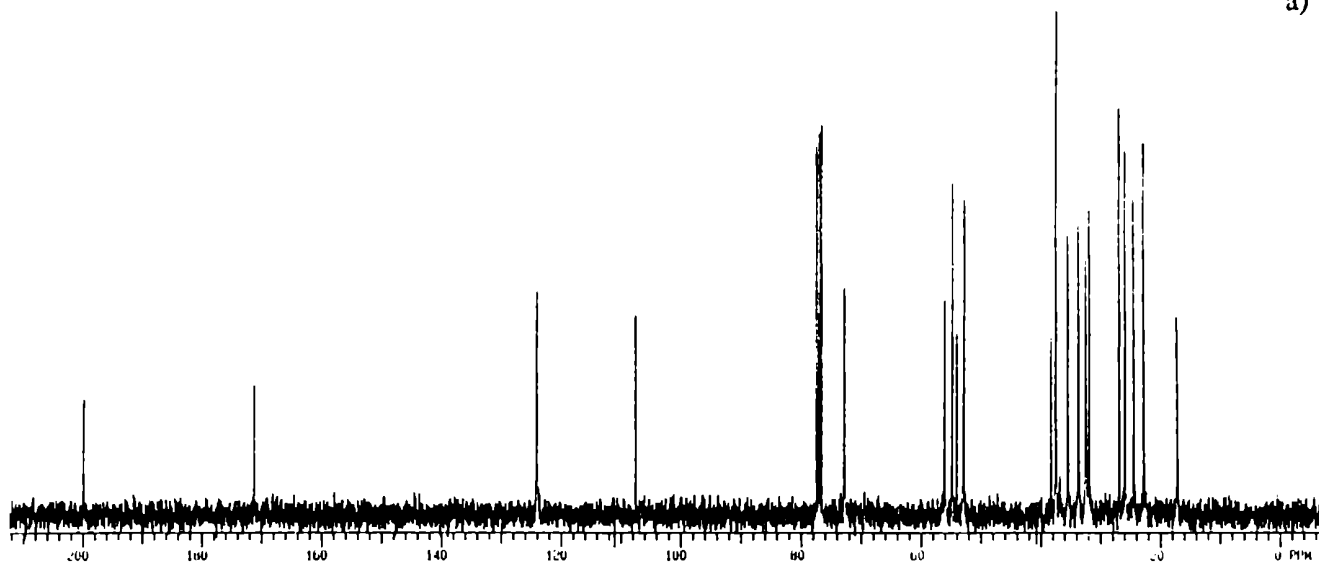


Figura 25- Síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18).

a) $\text{NaCNBH}_3/\text{HCl}(\text{dil})/\text{metanol}$; b) $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$; c) NaOH 10%/metanol; d) Jones/acetona; e) ác. p-toluensulfónico/acetona; f) AgAcO/AcOH aq./calor. Rendimiento total desde 21, 29% y desde 30, 35%.

a)



b)

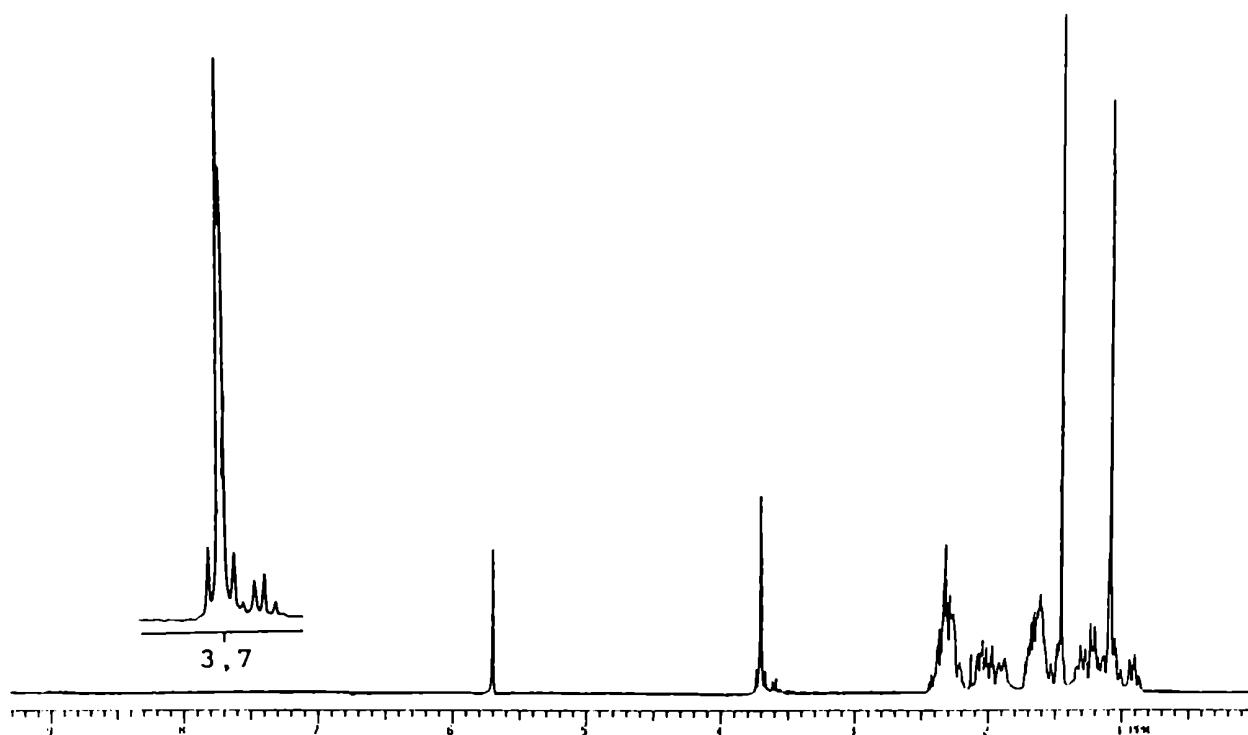


Figura 26- Espectros de RMN a) ^{13}C , b) ^1H (300 MHz) de 18-hidroxiprogesterona (18).

CAPITULO 4

SINTESIS DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (19)
Y DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (20).

Según se mencionó en el capítulo 2, existen en la literatura algunas síntesis de compuestos funcionalizados en ambos metilos angulares. De todas éstas, la que resultó de mayor interés para ser analizada fue la síntesis de 18,19-dihidroxiprogesterona (22) [Fujii, 1984] cuyos pasos se mostraron en la figura 9 (pág. 29). En ella se partió de 3-acetato de pregnenolona (21), y si bien el producto final fue diferente a las estructuras que se plantearon como objetivo de esta tesis, en su camino se obtuvo un intermedio bifuncionalizado 50 que podría haber sido útil en la síntesis de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19). Los caminos posibles con la utilización de dicho compuesto se muestran en la figura 27, y estos serían: la transformación del anillo lactónico E y luego la del anillo A, o la secuencia inversa.

Para llevar a cabo la primera secuencia, se debería comenzar reduciendo la lactona con LiAlH_4 [Fujii, 1984], sin embargo se

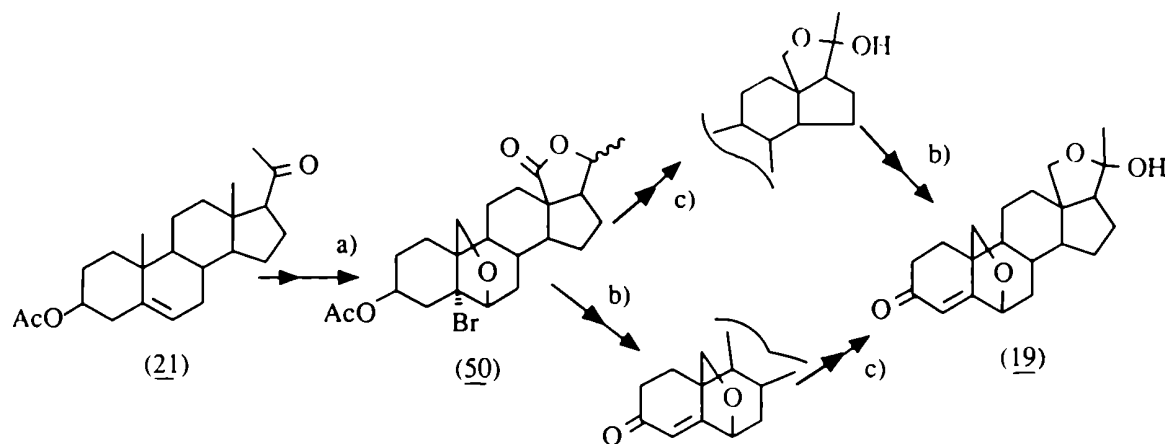


Figura 27- a) síntesis del compuesto 50 según pasos detallados en la figura 9 [Fujii, 1984], b) transformaciones en anillo A, c) transformaciones en anillo E.

encontró evidencia sobre la reducción de bromuros terciarios en condiciones similares a las usadas para la lactona [Jefford, 1972] con lo cual se perdería la posibilidad de obtener el doble enlace de 19. En la secuencia inversa, luego de efectuar la transformación b), se debería reducir la lactona del anillo E (transformación c)) y consecuentemente se reduciría el carbonilo de C-3. Esto podría ser salvado ya que posteriormente en la oxidación del hidroxilo en C-20 también se reoxidaría. Entonces se debería utilizar la oxidación de Oppenauer que no tiene tan buen rendimiento como la oxidación de Jones, sumado a que la funcionalización de C-18 a través de la 18,20-lactona es de menor rendimiento según se discutió en el capítulo anterior. Considerando los buenos resultados obtenidos con el sistema DAIB/I₂/CCl₄ en la síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18) se optó por desarrollar un camino de síntesis que utilizara este reactivo para la funcionalización de C-18.

SINTESIS DE UN POSIBLE PRECURSOR DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (19).

El 18-iodo-bromoéter 54 funcionalizado en ambos metilos podría ser transformado posteriormente en 19 como se puede observar en la figura 28. En ésta se muestran las diferentes estrategias posibles partiendo del compuesto comercial 3-acetato de pregnenolona (21), alternando la secuencia de funcionalización de los metilos o haciéndolo en un solo paso en forma simultánea. Se ensayaron todas las alternativas, y los resultados se presentan a continuación.

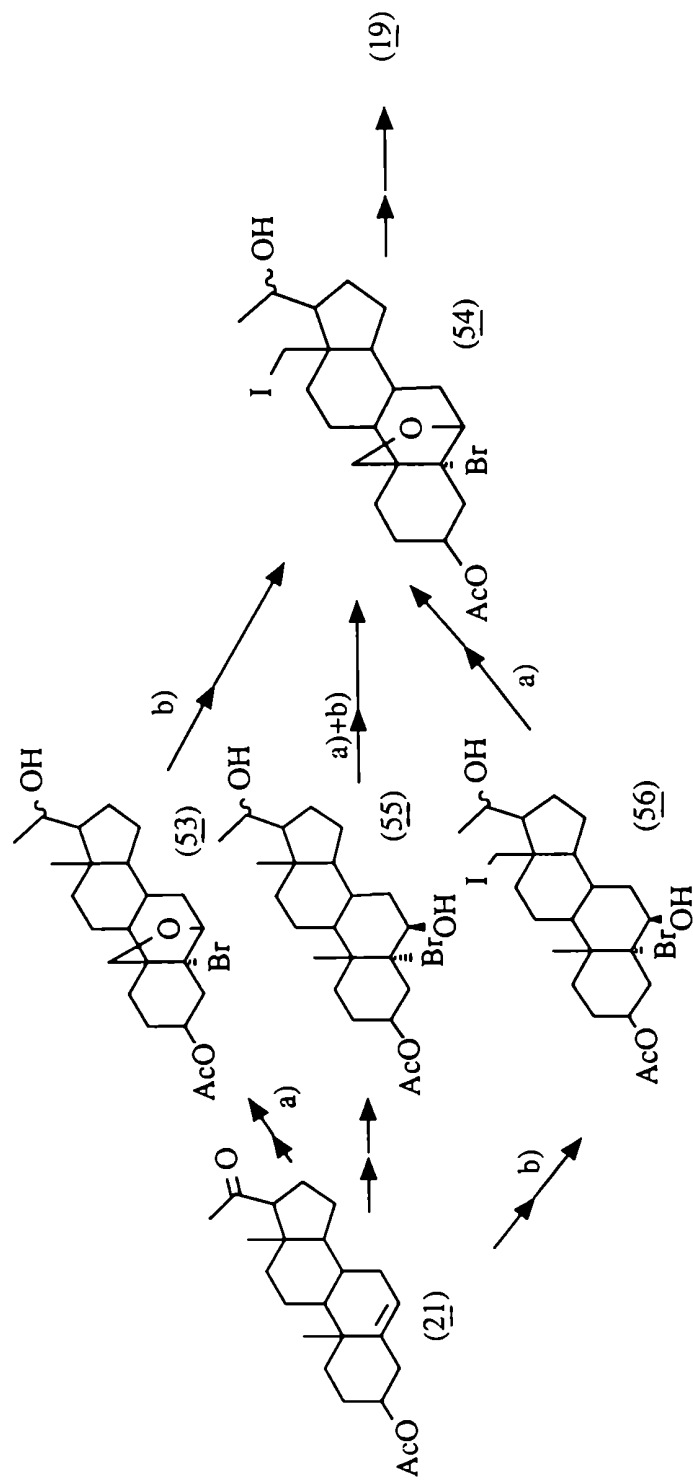


Figura 28- a) Funcionalización del metilo C-19 b) funcionalización del metilo C-18.

I-Secuencia de funcionalización de metilos C-19/C-18.

Esta secuencia correspondía a la síntesis del intermediario bifuncionalizado 54 a través del bromoéter 53. Se realizó a partir de 21 según se muestra en la figura 29.

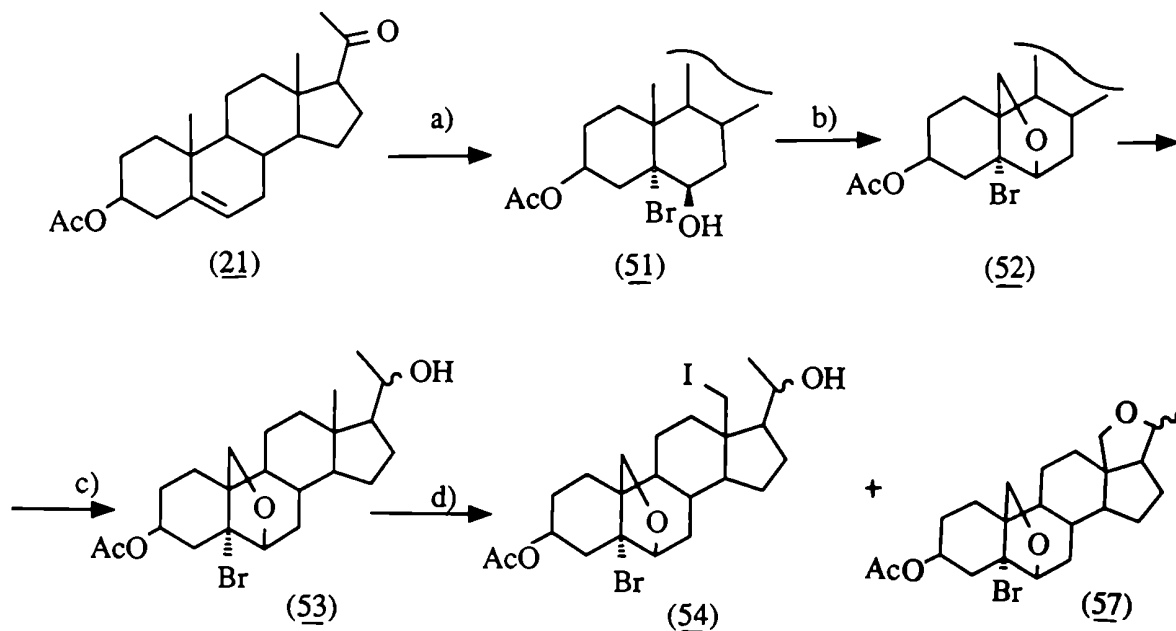


Figura 29- a) NBA/HClO₄/THF/éter/H₂O; b) HgO/I₂/CCl₄/luz;
 c) NaCNBH₃/HCl/metanol; d) DAIB/I₂/CCl₄/luz ó
 HgO/I₂/CCl₄/luz.

La bromohidrina 51 se obtuvo por tratamiento de acetato de pregnenolona con N-bromoacetamida (NBA) y ácido perclórico en fase heterogénea [Fujii, 1984] y luego se transformó en el 6,19-éter 52 usando HgO/I₂ en tetracloruro de carbono con irradiación lumínica [Brachet-Cota, 1990]. Finalmente se redujo el carbonilo en C-20 en medio suave usando cianoborohidruro de sodio, obteniéndose 53 con

buen rendimiento. Sobre éste se ensayó la funcionalización del C-18 con DAIB/I₂/CCl₄ tomando como base las mejores condiciones obtenidas para la síntesis del iodoalcohol 32 descritas en el capítulo anterior. Se ajustó la temperatura y el tiempo hasta obtener los mejores resultados. Todos los ensayos se analizaron por RMN ¹H observándose en el mejor caso la desaparición de la señal del metilo C-18 pero sólo un 25% del 18-iododerivado buscado 54, siendo el resto una mezcla compleja de compuestos que no fueron identificados. También se ensayó la reacción usando el sistema HgO/I₂/CCl₄, pero se obtuvieron mezclas de 54 y el correspondiente producto de ciclación, el 18,20-éter 57, con menor rendimiento.

II-Funcionalización simultánea de C-18 y C-19.

La bromohidrina 55 podía ser utilizada para la funcionalización de ambos metilos en un solo paso ya que posee hidroxilos en posiciones 6β y 20 para formar los radicales alcoxilo por generación de sus hipioditos respectivos. Para determinar si el mismo reactivo de iodo hipervalente que resultaba efectivo en la funcionalización de C-18 serviría también para C-19 y así podía ser usado en un solo paso, se ensayó el mismo sobre la bromohidrina 51. Se encontró que en iguales condiciones, la velocidad para la funcionalización de C-19 era aproximadamente el doble, ya que en la mitad del tiempo necesario para C-18, se pudo transformar toda la bromohidrina 51 en el bromoéter 52 con un rendimiento similar al del sistema óxido de mercurio/iodo. En la figura 30 se resume la secuencia seguida para obtener 54 a través de la 20-hidroxi-bromohidrina 55.

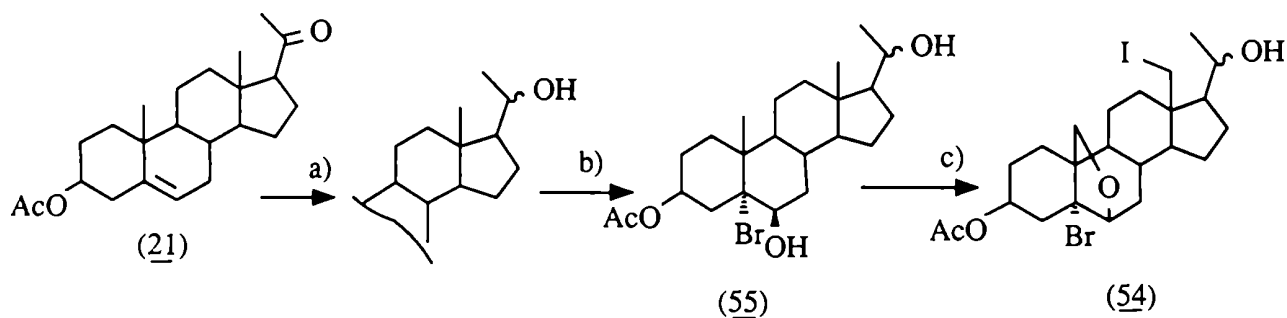


Figura 30- a) $\text{NaCNBH}_3/\text{HCl}/\text{metanol}$; b) $\text{NBA}/\text{HClO}_4/\text{THF}/\text{éter}/\text{H}_2\text{O}$;
c) $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$.

En el paso b) se obtuvo una pequeña proporción del producto de oxidación en posición 20, debido a que la NBA puede actuar como oxidante de alcoholes secundarios [Jones, 1954]. Sin embargo no fue posible invertir la secuencia de los pasos a) y b), ya que la bromohidrina no resultó estable al medio reductor.

Finalmente se ensayó la reacción de funcionalización de los metilos usando 1,1 equivalentes de DAIB y iodo por cada equivalente de esteroide 55. Al analizar la reacción por RMN ^1H se observó la desaparición de las señales de ambos metilos, y si bien casi todo el C-19 se transformó en el bromoéter, sólo se obtuvo un 25% del 18-iododerivado 54, es decir que nuevamente la funcionalización de C-18 tuvo bajo rendimiento en la producción del compuesto deseado.

III- Secuencia de funcionalización C-18/C-19.

En el caso de la funcionalización simultánea de los metilos de 55 la mayor velocidad de la reacción sobre C-19 comparada con C-18 daría lugar a un mayor número de moléculas que reaccionarían a través de un intermediario del tipo del bromoéter 53 mientras que sólo una fracción minoritaria lo haría a través de uno del tipo de la iodo-bromohidrina 56. Para evitar intermediarios del tipo de 53 que según se vió más arriba no podían ser funcionalizados eficientemente en C-18, se decidió probar una secuencia que incorpora primero el iodo al C-18 dando lugar en una segunda etapa a la bromohidrina 56.

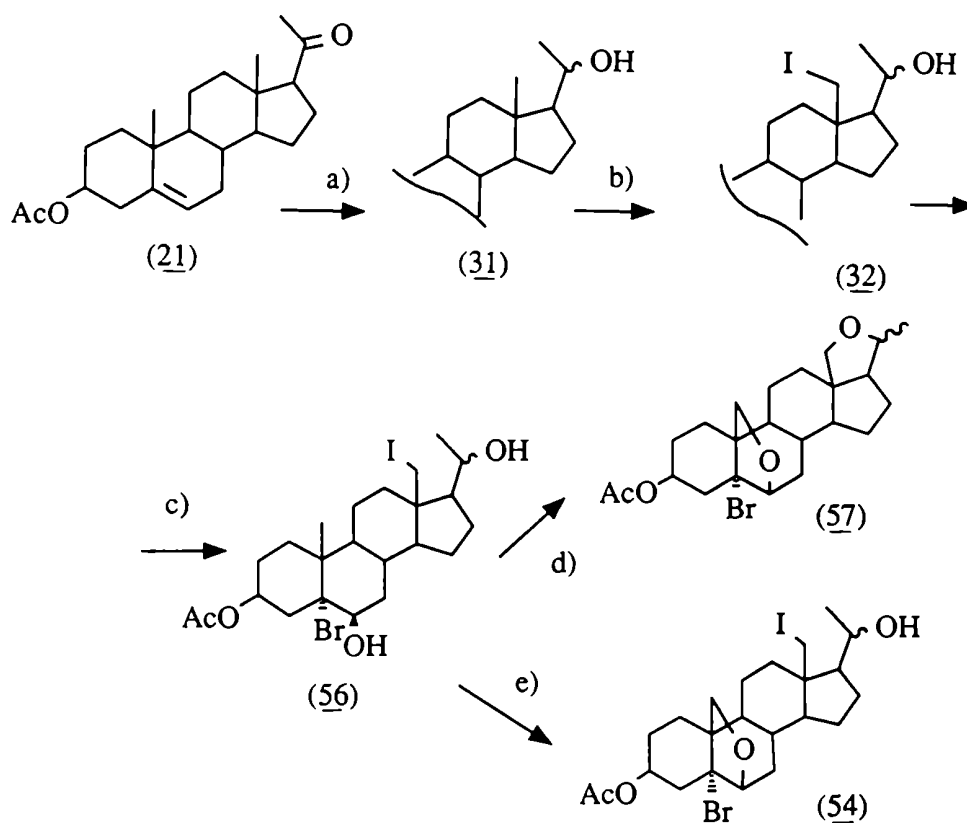


Figura 31- a) $\text{NaCNBH}_3/\text{HCl}/\text{metanol}$; b) $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$;
 c) $\text{NBA}/\text{HClO}_4/\text{THF}/\text{éter}/\text{H}_2\text{O}$; d) $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$;
 e) $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$.

En la figura 31 se presentan las reacciones realizadas para obtener 56 a partir de 3-acetato de pregnenolona (21) de acuerdo al esquema descrito y las reacciones posteriores para la funcionalización de C-19. Cuando se funcionalizó el C-19 con DAIB (paso e) se observó que gran parte del iodo unido al C-18 se perdía dando productos de descomposición no identificados. Por otra parte al intentar la reacción con el sistema de óxido de mercurio/iodo para obtener el 6,19-éter, se produjo la eliminación del iodo dando el 18,20-éter 57 entre otros productos. El puente 18,20-éter no resultaba útil pues no podía ser transformado en el hemiacetal presente en 19 sin modificar también al 6,19-éter.

SINTESIS DE 3 β -ACETOXI-5 α -BROMO-18-iodo-6,19-oxidopregnan-20-ona (59).

Considerando que el iodoalcohol presente en 56 podía resultar inestable en las condiciones de funcionalización de C-19, se decidió ensayar esta última secuencia utilizando un intermediario oxidado en posición 20. Se preparó el compuesto funcionalizado en C-18 y C-19 59, análogo de 54 con el hidroxilo de C-20 oxidado, según la secuencia de la figura 32. En este caso, se oxidó previamente el alcohol de C-20 en el compuesto 32 para obtener la iodocetona 47, sobre la cual se preparó la bromohidrina 58 necesaria para funcionalizar al C-19. Tanto el uso de DAIB/I₂ como de HgO/I₂ dieron el bromoéter 59 funcionalizado en C-18 con buen rendimiento, siendo mucho menor la pérdida del iodo en C-18 que en las preparaciones anteriores.

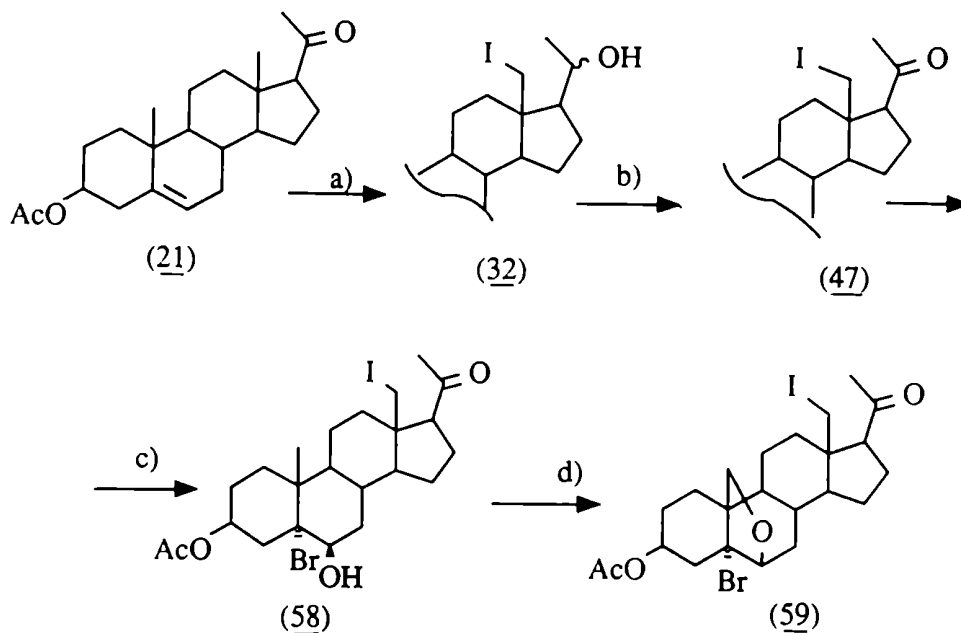


Figura 32- a) 1)NaCNBH₃/HCl/metanol, 2)DAIB/I₂/CCl₄/luz;
 b)Jones/acetona; c)NBA/HClO₄/THF/éter/H₂O;
 d)HgO/I₂/CCl₄/luz ó DAIB/I₂/CCl₄/luz.

Observaciones.

Al analizar los datos de la tabla 6 se puede observar que en los compuestos 53 y 55 la distancia C-18/O-20 está dentro de los valores necesarios para que se produzca la funcionalización de C-18, si se compara con el valor de 31, cuyos resultados experimentales fueron positivos para la síntesis del iodoalcohol 32. De hecho, tanto en el bromoéter 53 como en la bromohidrina 55 todo el metilo C-18 reaccionaba, aunque el rendimiento en la unión del iodo radicalario con el carbono C-18 radicalario para dar 54 era pobre.

Tabla 6- Distancias C-O calculadas con PCModel para diversos compuestos ensayados.

molécula	<u>31</u>	<u>53</u>	<u>55</u>	<u>51</u>	<u>56</u>	<u>58</u>
distancia C-19/O-6	--	--	2,94	2,95	2,95	2,95
distancia C-18/O-20	3,38	3,37	3,40	--	--	--

Al reaccionar 56 (posee la distancia óptima para funcionalizar C-19 según se compara con 51) se perdía una gran parte del iodo en C-18, es decir que el compuesto 54 no podría acomodar al éter 6,19 y al iodo en C-18 al mismo tiempo. Sin embargo al ensayar con el 20-cetoderivado 58 se obtuvo 59 con ambos metilos funcionalizados, por lo que resultaría más estable que su análogo 54 reducido en C-20. La diferencia esencial entre ambos es que en la cadena lateral se cambia la hibridación del C-20 de sp^3 tetraédrico (alcohol) a sp^2 plano (carbonilo), y dado que el átomo de iodo es muy voluminoso, esto parecería influir en la estabilidad relativa de ambos compuestos.

Se analizaron las barreras de energía para la rotación de la unión entre C-13 y C-18 en el iodoalcohol 54 y la iodocetona 59 para sus conformeros más estables de la cadena lateral. Se usó el programa PCModel con el cual se varió el ángulo diedro definido por los átomos I-C(18)-C(13)-C(14) y se calculó la energía resultante de la modificación. Al variar dicho ángulo en pasos de 2° en ambas direcciones a partir del mínimo de energía, se obtuvieron los valores de las curvas de la figura 33. Es destacable el mayor valor de la barrera para 54 en el sentido de giro en que el iodo se acerca a la cadena lateral (valores positivos). Esto confirmaría

que 59 tiene efectivamente mayor "espacio" que 54 para poder acomodar al átomo de iodo. El mismo análisis se realizó para el iodoalcohol 32 y la iodocetona correspondiente 47, (figura 33) encontrándose que los valores de las barreras de energía en ambos guardan una relación similar. Sin embargo el grupo iodoalcohol en el compuesto 32 resultó mucho más estable y se obtuvo con buen rendimiento (su barrera energética es menor que para 54), aunque en la práctica siempre se pudo manejar a la iodocetona 47 con menores problemas de descomposición.

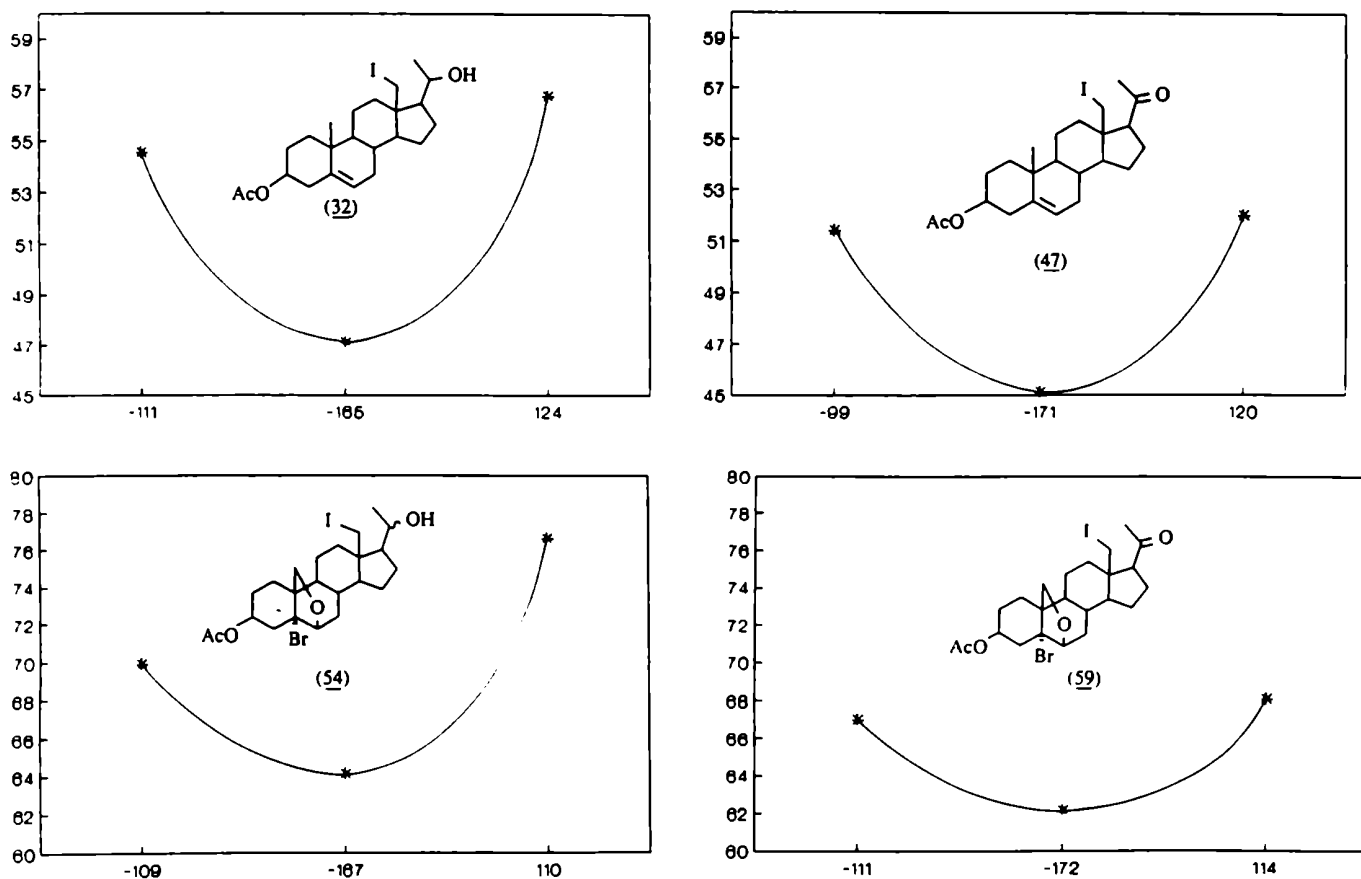


Figura 33- Barreras de energía para la rotación del CH_2I en los compuestos 54, 59, 32 y 47.

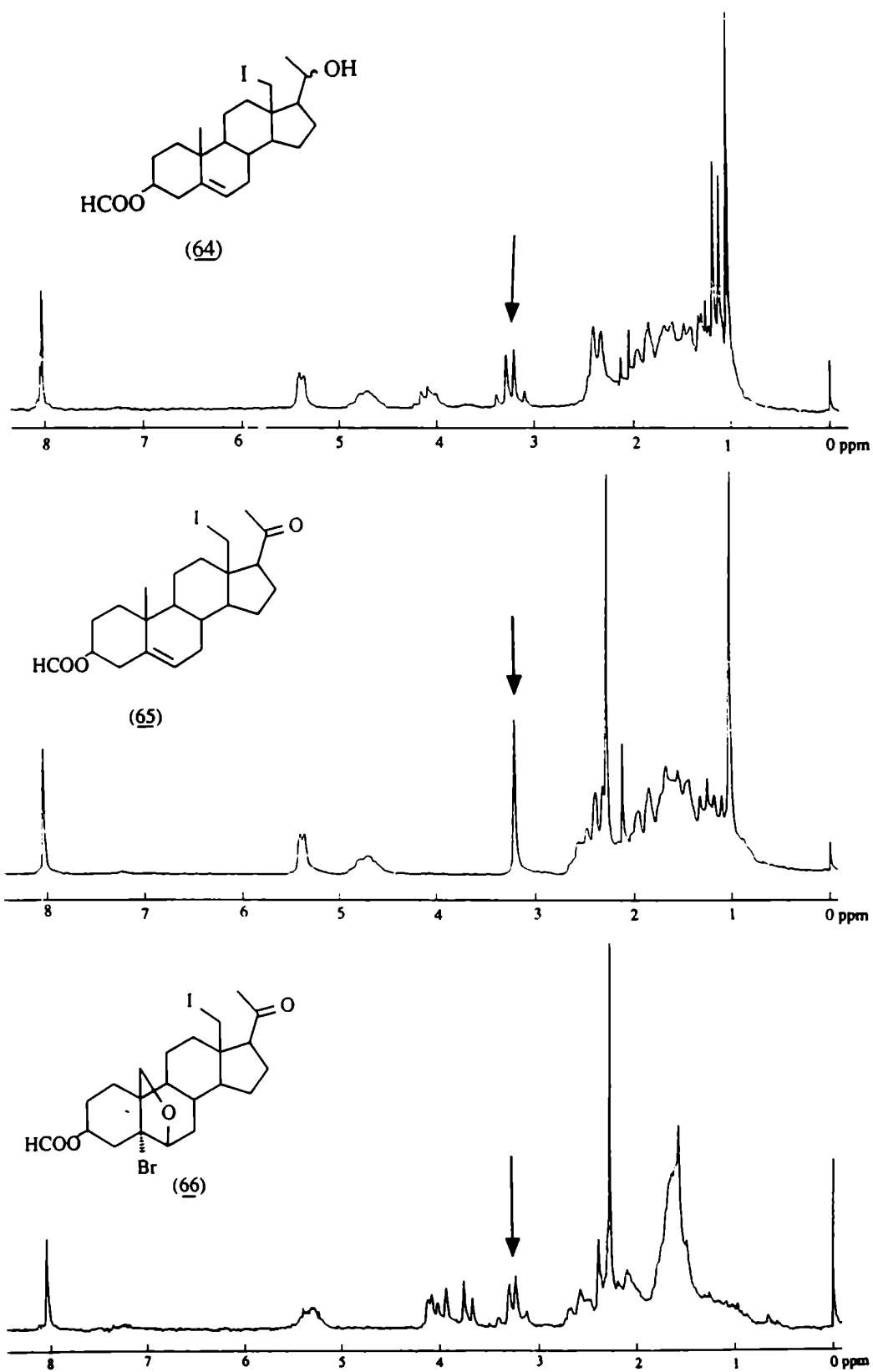


Figura 34- Espectros de RMN ^1H de los compuestos 64, 65 y 66.

En los espectros RMN ^1H del iodoalcohol 64 y la iodocetona 65 (figura 34) se puede observar el efecto de la menor facilidad de rotación del grupo iodometileno en el iodoalcohol. Los dos hidrógenos del C-18 del iodoalcohol son un sistema AB, es decir que el entorno para cada hidrógeno es diferente y esto se debería a la rotación impedida. Para la iodocetona en cambio, los H-18 son equivalentes dando un singulete, es decir que el grupo iodometileno gira con mayor libertad. También puede observarse en el espectro de 66, que a pesar de ser una iodocetona el metileno C-18 aparece como un sistema AB, por lo tanto el 6,19-éter estaría afectando la libre rotación del grupo iodometileno. Estos compuestos fueron sintetizados según se describe en el siguiente título (pág. 78).

Al analizar la superficie de van der Waals y la superficie electrostática de cargas de los iodoalcoholes 32 y 54 (figura 35), no se observaron superposiciones de nubes de electrones entre el éter y el yodo, ni un gran acercamiento de las zonas electronegativas. Pero se debe tener en cuenta que la mayor diferencia entre el iodoalcohol 32 y el iodoalcohol 54 es que este último tiene un grupo electronegativo en la misma cara que puede llegar a interactuar de alguna forma por repulsión electrostática. Tampoco se debe descartar la posibilidad de que el puente éter por estar unido a la fusión de anillos, y dada la rigidez del anillo esteroideal, esté actuando por transmisión conformacional sobre los centros reactivos.

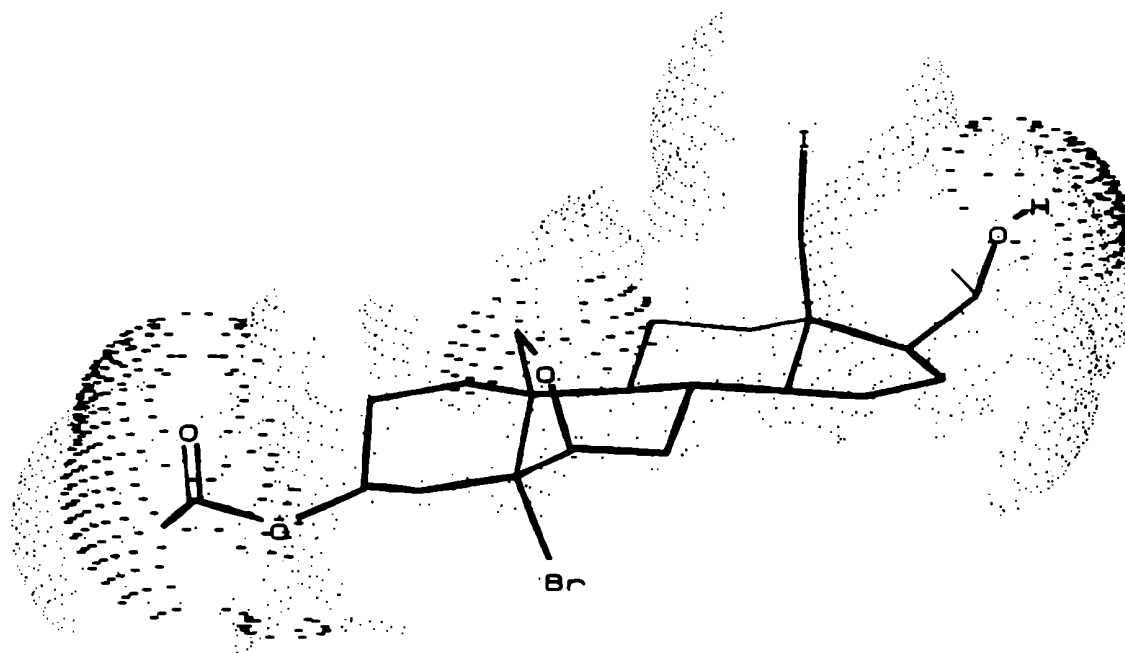
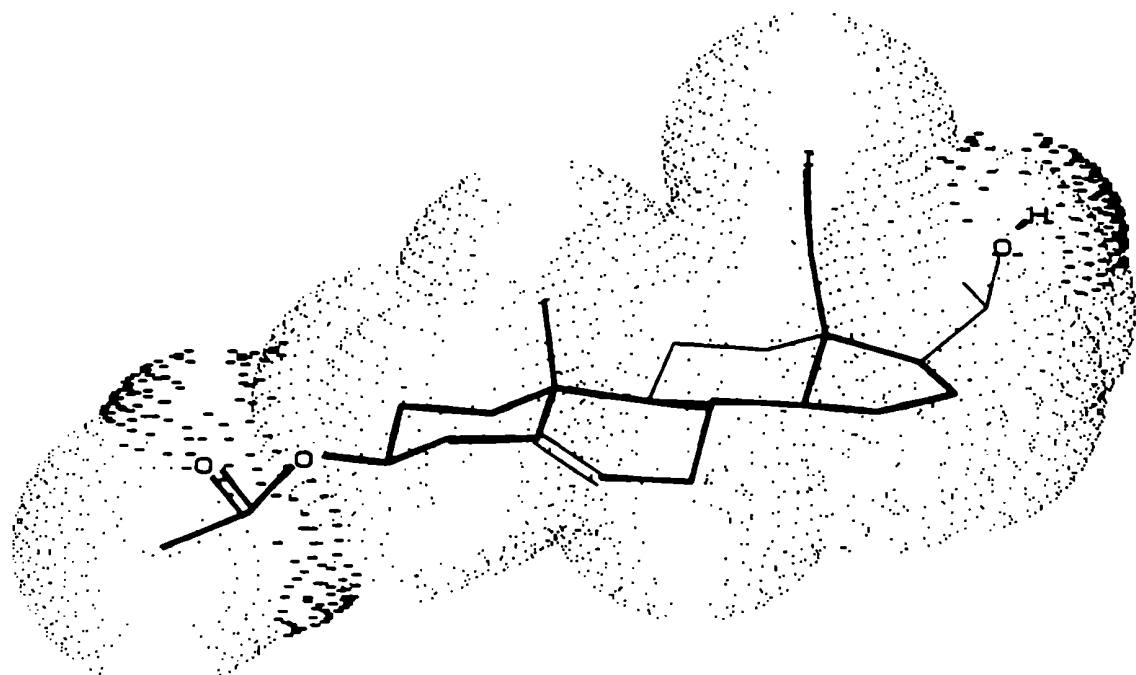


Figura 35- Superficies de van der Waals de 32 y 54 según representación realizada con el programa PCmodel.

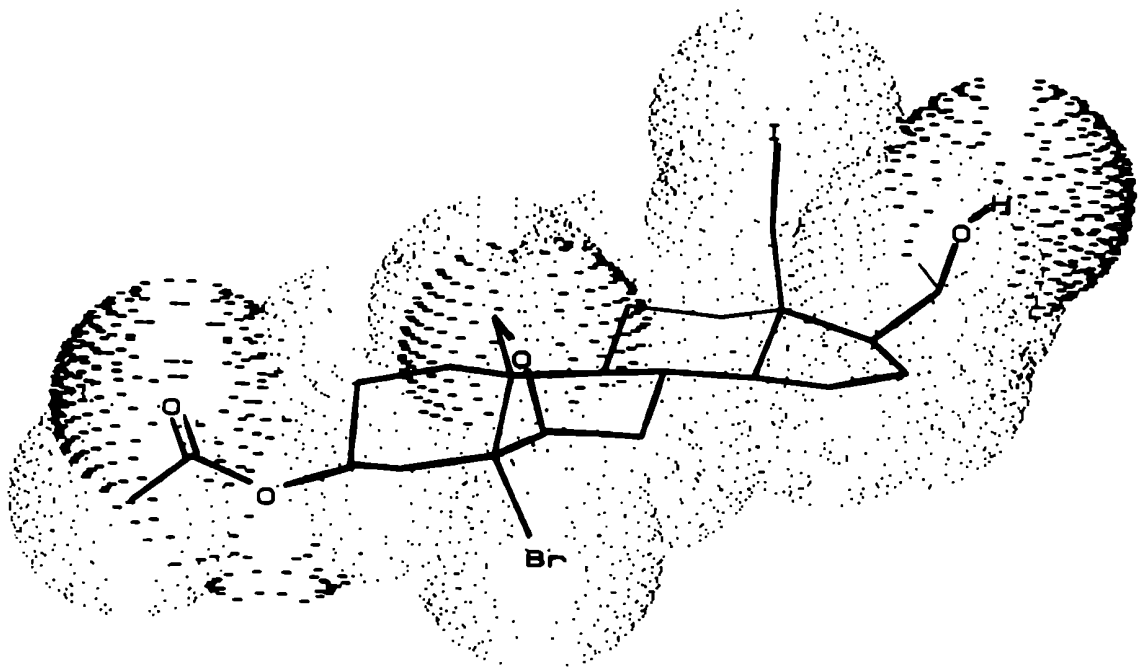
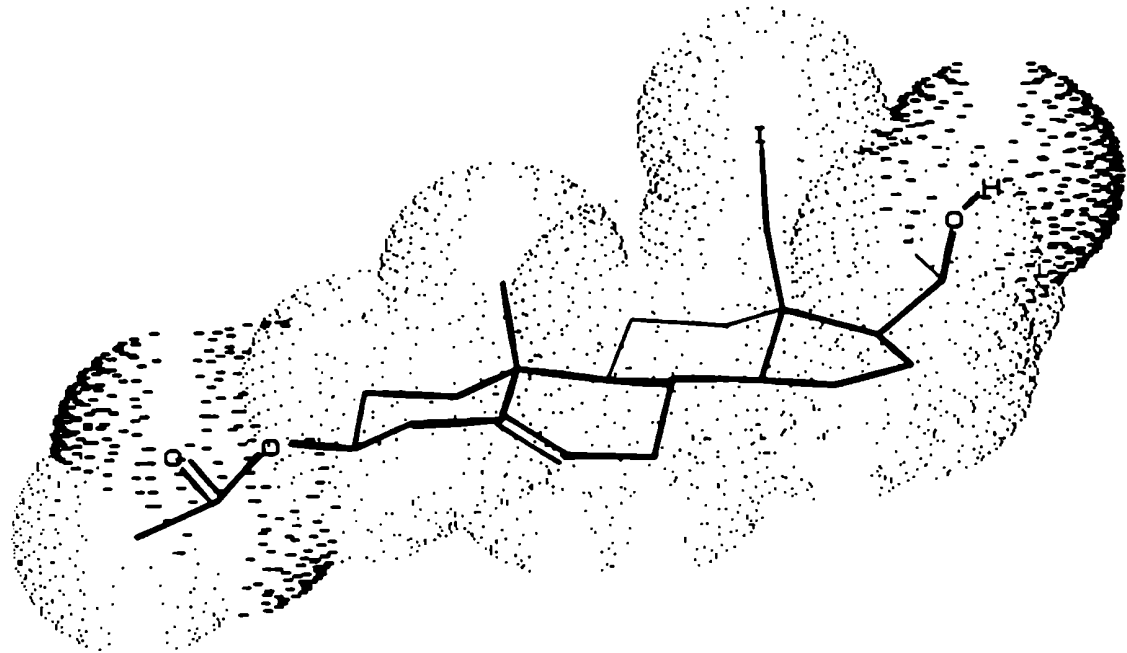


Figura 35 (continuación)- Superficies electrostáticas de cargas de 32 y 54 según representación realizada con el programa PCmodel.

OBTENCION DEL PRECURSOR 5 α -BROMO-3 β -HIDROXI-18-iodo-6,19-oxido-PREGNAN-20-ONA (60).

Una vez obtenida la iodocetona 59, debía desprotegerse el hidroxilo de C-3 para poder formar en el anillo A el sistema 3-ceto- Δ^4 . Con este compuesto se tuvo el mismo problema que con la iodocetona 47 del capítulo anterior. Al trabajar en medio básico con NaOH, se formó la ciclopropilcetona 61 (figura 36) por eliminación del iodo. Al ensayar un medio básico más suave como trietilamina en metanol y agua [Holder, 1973], la reacción resultó muy lenta, dando finalmente una mezcla de productos de descomposición. Tampoco pudo lograrse la transesterificación en medio ácido suave con ácido p-toluensulfónico en metanol.

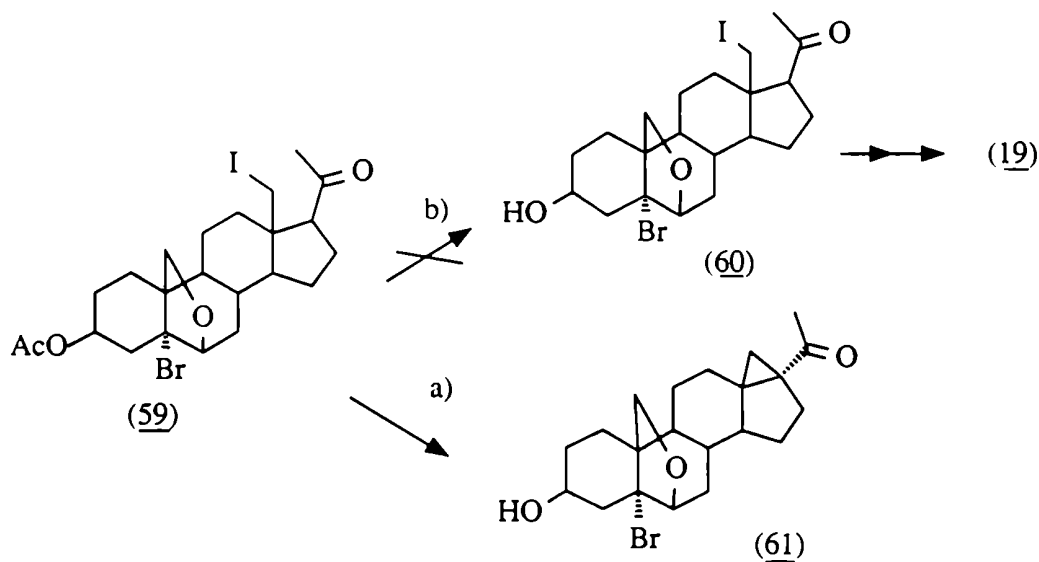


Figura 36- Transformaciones de 59. a) NaOH/metanol; b)ác. p-toluensulfónico/metanol.

Si bien una alternativa podría haber sido sintetizar previamente el 18,20-hemicetal para que no se produjera al saponificar la eliminación que da la ciclopropilcetona 61, en ese caso debería protegerse el hemicetal como su cetal metílico para evitar la oxidación del hidroxilo de C-18 durante la oxidación del hidroxilo en C-3. La complicación de este camino sintético era que el cetal probablemente no sería estable al medio ácido [Choay, 1973] de la oxidación con reactivo de Jones o con CrO_3 en ác. acético, los reactivos usados para oxidar análogos con el bromoéter y el hidroxilo en C-3 [Brachet-Cota, 1989]. Tampoco resultaba conveniente la protección del hidroxilo en C-18 como acetato por el bajo rendimiento de la acetilación que requería condiciones enérgicas para poder desplazar el equilibrio a la forma abierta [Kirk, 1975-a].

Se decidió ensayar la síntesis del compuesto 60 utilizando un protector del 3 β -hidroxilo que pudiera ser eliminado en un medio suave sin alterar al resto de los grupos funcionales. Para un protector de este tipo se debería tener en cuenta que podría llegar a perderse en algún paso de síntesis antes de llegar al producto 60, y por lo tanto se deberían ajustar las condiciones para que esto no ocurriera. Se ensayó la utilización del éster fórmico sobre el hidroxilo en C-3, y la síntesis para la obtención de 60 debió ser modificada según se indica en la figura 37. Se partió de pregnenolona (37) comercial, que fue formilada con ác. fórmico 98% para dar 62, sin necesidad de usar catálisis ácida como en el método original de Oliveto [Oliveto, 1955], o básica según Hofle y colab. [Hofle, 1978]. Así la reacción resultó más fácil de manejar en la práctica ya que sólo necesita evaporarse el ácido fórmico sin tener que eliminar el catalizador previamente del medio de

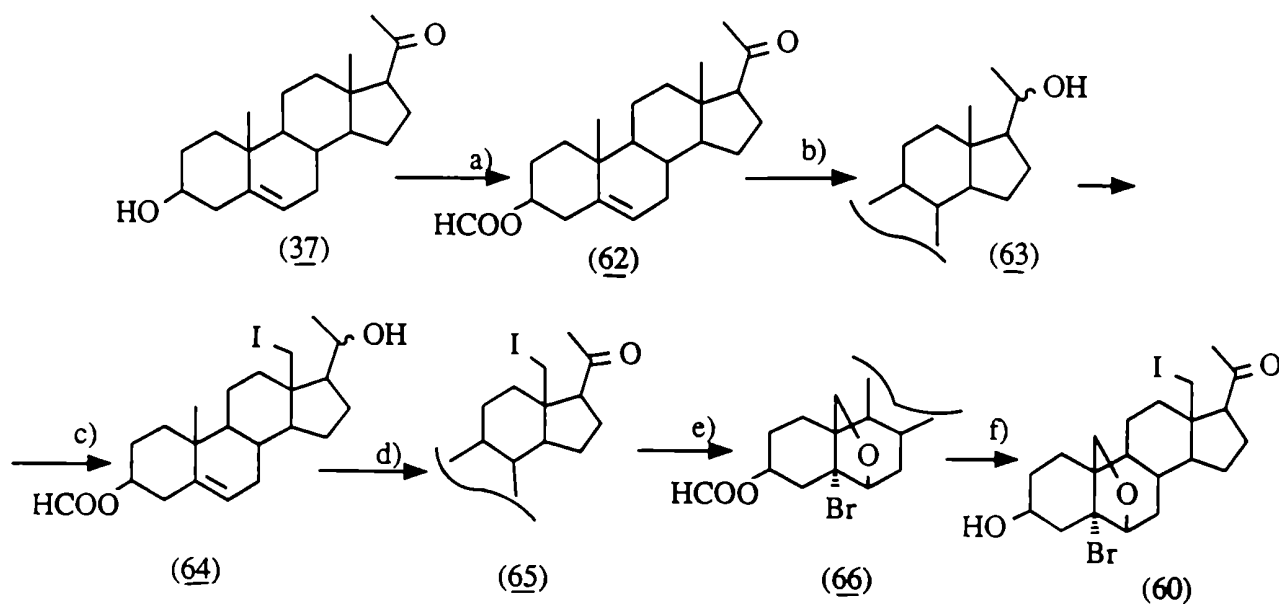


Figura 37- a) HCOOH ; b) $\text{NaCNBH}_3/\text{HCl}/\text{metanol}$;
 c) $\text{DAIB}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$; d) $\text{Jones}/\text{acetona}$; e)
 1) $\text{NBA}/\text{HClO}_4/\text{THF}/\text{éter}/\text{H}_2\text{O}$, 2) $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$;
 f) $\text{KHCO}_3/\text{metanol}$.

reacción. Se observó que la utilización de ácido fórmico con mayor contenido de agua, disminuía drásticamente la velocidad de la reacción, siendo sí necesario en este caso el uso de catalizador.

Para el paso b), nuevamente resultó muy útil el reductor cianoborohidruro de sodio, usando como indicador naranja de metilo. El control del pH (aprox. 3) durante los agregados de HCl resultó fundamental para evitar la transesterificación del 3-formiato con el solvente metanol. Se obtuvo así el producto reducido en C-20 **63** con buen rendimiento.

A continuación se realizó la funcionalización del C-18 y la oxidación con reactivo de Jones, la cual fue inmediatamente neutralizada a 0°C, evitándose de este modo la pérdida del formiato y obteniéndose la iodocetona 65. Se sintetizó la bromohidrina por tratamiento con NBA, teniendo la precaución de agregar el ácido perclórico gota a gota para evitar altas concentraciones del ácido, y luego se funcionalizó el C-19 usando óxido de mercurio/iodo. Este reactivo se prefirió frente al uso de diacetoxiidobenceno dado que el iodobenceno producido por este último como subproducto complicaba la purificación del esteroide.

La hidrólisis del formiato en C-3 (paso f), se ensayó usando ác. p-toluensulfónico en etanol absoluto, que había resultado eficiente en ensayos de transesterificación con el compuesto formilado 62 y en otras estructuras esteroideas según datos de literatura [Oliveto, 1955]. Sobre el bromoéter 66 en cambio, estas condiciones no condujeron al 3-hidroxiesteroide 60. Se ensayó entonces el uso de un medio básico suave como KHCO_3 en metanol, que saponificó al formiato sin alterar la iodocetona, pudiendo finalmente obtenerse el producto 60 buscado.

TRANSFORMACION DE 60 en 19.

Una vez obtenido el intermediario 60, restaba modificarlo en la zona del anillo A para dar el grupo 3-ceto- Δ^4 , y en la cadena lateral para dar el hemicetal. El primer paso sería la oxidación del hidroxilo en C-3, como se puede ver en la figura 38. El reactivo de Jones que fue efectivo en la obtención de la iodocetona 34,

dió la cetona sin descomposición del bromoéter. Dado que el sistema acetato de plata ác. acético puede eliminar al iodo en C-18 precipitando la sal de plata, se consideró que este medio podría también utilizarse para eliminar el bromo de C-5, evitándose entonces el uso de un paso específico para esta reacción que normalmente se hace en medio básico [Ueberwasser, 1963; Brachet-Cota, 1990]. Al prolongar el tiempo de reacción en el paso b), se lograron ambas transformaciones simultáneamente (eliminación del iodo en C-18 y del bromo en C-5), obteniéndose finalmente 19.

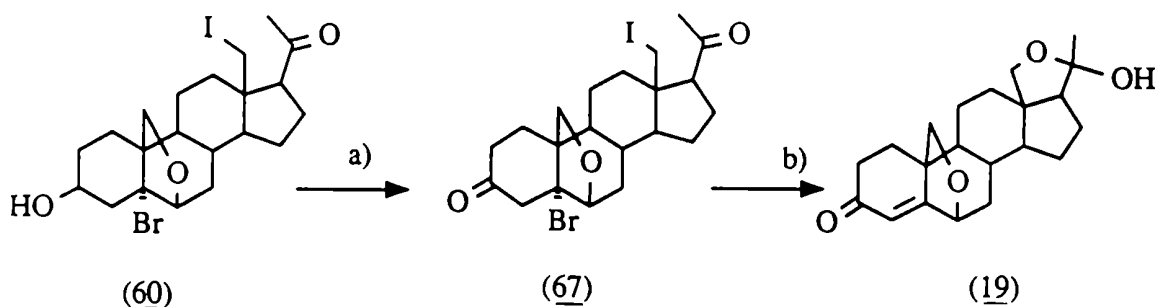


Figura 38- Transformación de 60. a) Jones/acetona; b) AgAcO/AcOH(aq.).

En la figura 39 se resume el esquema general de la síntesis de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) que se realizó en 9 pasos y con un rendimiento global del 7%. En la figura 40 se muestran los espectros RMN ^1H y ^{13}C de 19.

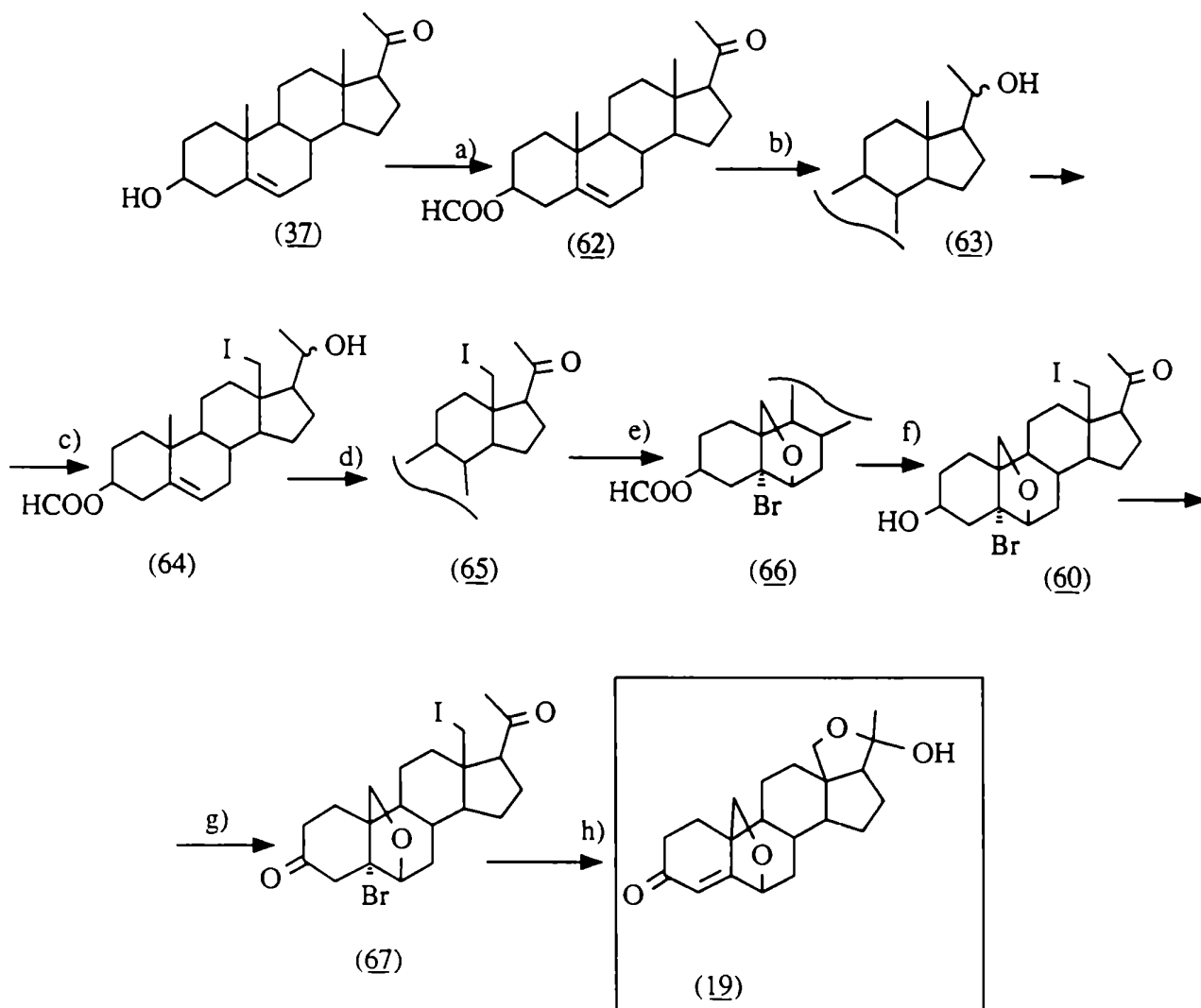


Figura 39- Esquema general de síntesis de 18-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (19). Reactivos: a) HCOOH; b) NaCNBH₃/HCl/metanol; c) DAIB/I₂/CCl₄/luz; d) Jones/acetona; e) 1) NBA/HClO₄/THF/éter/H₂O, 2) HgO/I₂/CCl₄/luz; f) KHCO₃/metanol; g) Jones/acetona; h) AgAcO/AcOH(aq.).

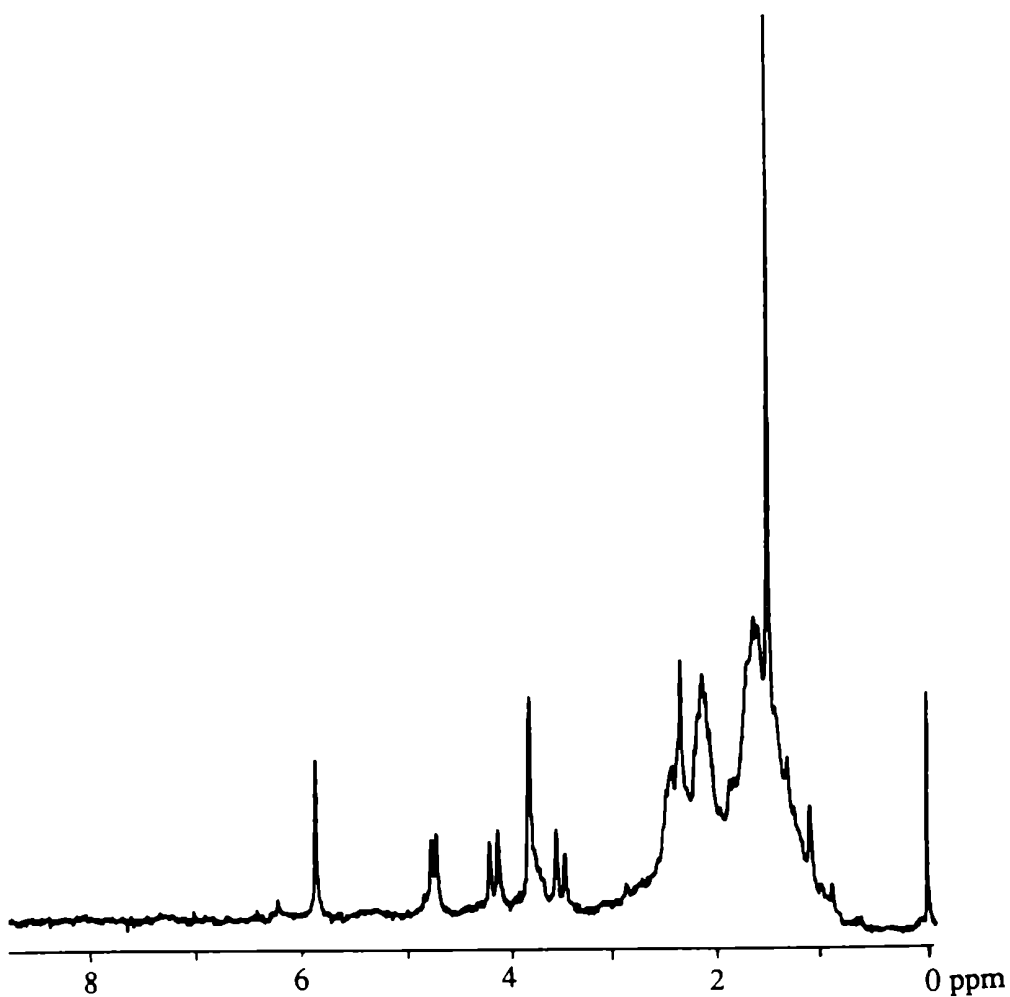
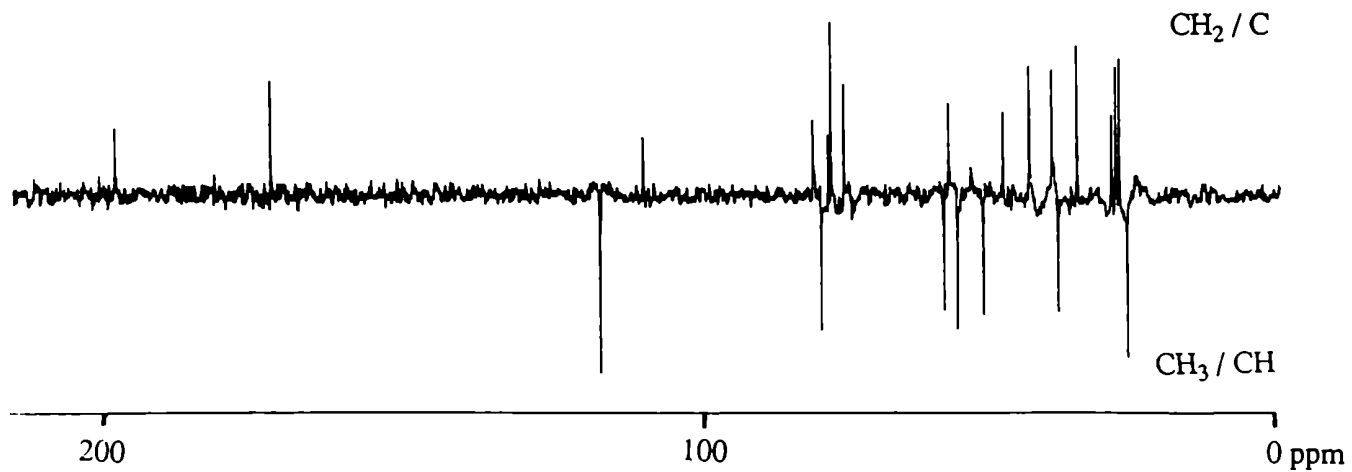


Figura 40- Espectros de RMN ^1H y ^{13}C de 18-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (19).

SINTESIS DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (20).**Caminos sintéticos planteados.**

Un análisis preliminar de la estructura de 20, indicó que la 11-cetoprogesterona (68) resultaba un material de partida adecuado y de bajo costo. La funcionalidad en C-11 permitía la formación del éter cíclico 11,19 en forma análoga a la utilizada en la síntesis de 11,19-óxidoprogesterona (17) [Brachet-Cota, 1990]. En la figura 41 se presentan las posibles rutas sintéticas que se plantearon a partir del precursor para obtener el producto 20.

El camino A sigue una estrategia equivalente a la empleada en la síntesis de 19, con la funcionalización de C-18 seguida de la de C-19. Esta ruta resultaba complicada de llevar adelante por el hecho de tener que trabajar desde el principio con el yodo unido a C-18, y dado que se necesitan varias reacciones más para llegar al producto final 20 que en el caso de 19, debería usarse algún protector que como se vió en la síntesis de este último, no es conveniente. Si bien era factible ajustar las condiciones en todas las reacciones para no perder el átomo de yodo, el mayor número de pasos dificultaba esta aproximación.

Otros caminos posibles estarían dados al utilizar como intermediario el bromoéter 69 conocido [Brachet-Cota, 1990], y se podrían plantear entonces tres alternativas:

- 1) A través de la funcionalización del C-18 desde el hidroxilo 11 β usando el bromoéter 70 (camino B de la figura 41). El programa PCModel dió un valor de 3,11 Å para la distancia entre el O-11 y el C-18 cercano al valor de la distancia O-20/C-18 en el compuesto 31

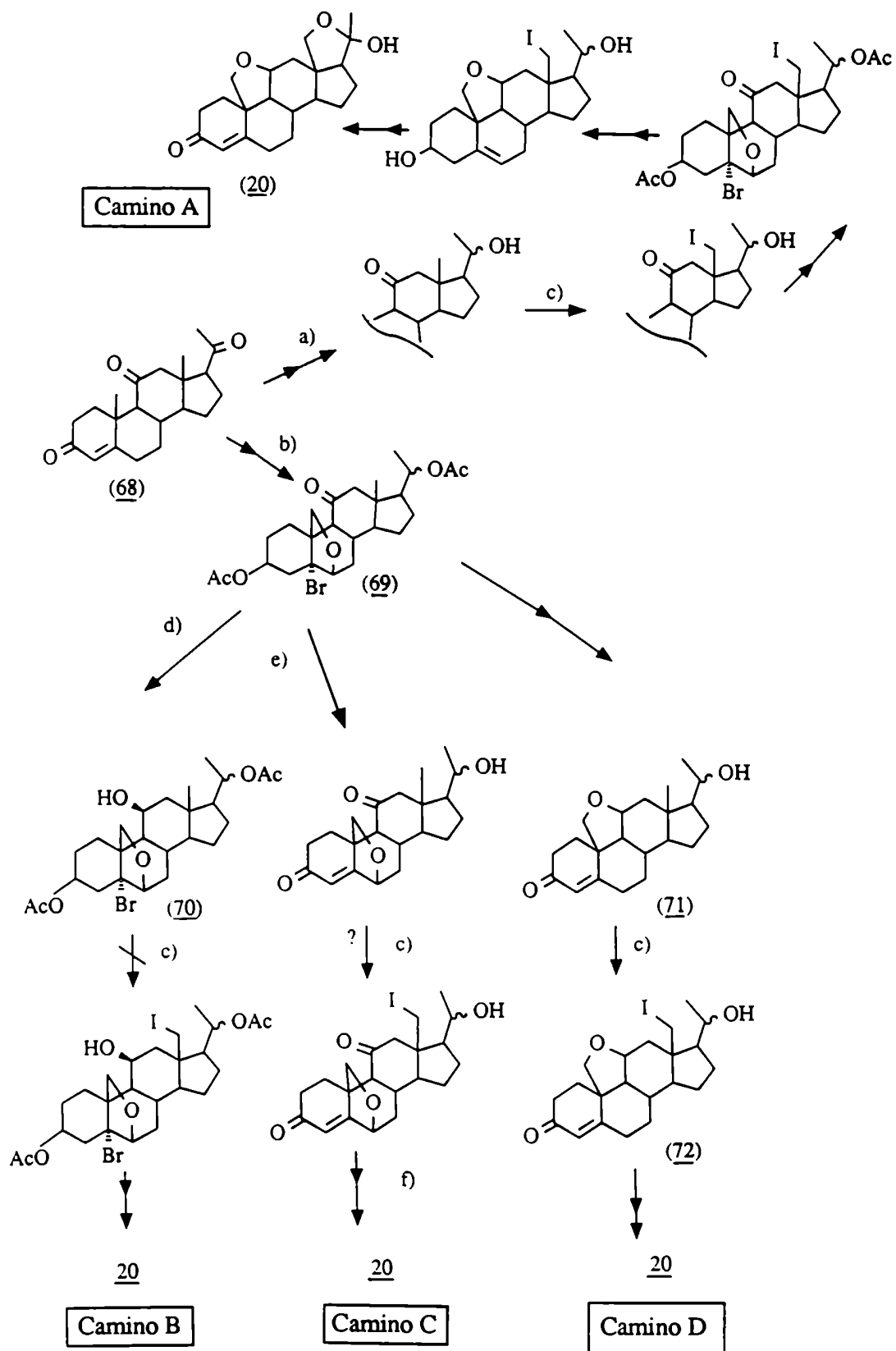


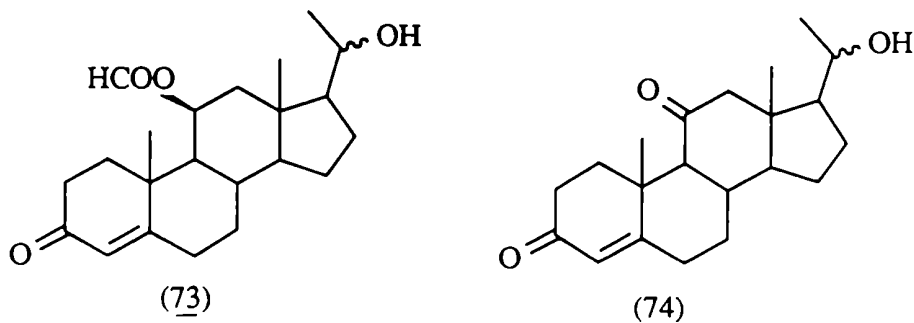
Figura 41- Caminos planteados para la síntesis de 18-hidroxi-11,19-
-óxidoprogesterona (20).

en la configuración 20a (2,97 A) y menor al del epímero 20B (3,39 A) medidos para los conformeros más estables. En consecuencia se podía predecir la formación del radical sobre el C-18 en 70; éste fue sintetizado por reducción del 11-ceto bromoéter 69 con cianoborohidruro de sodio en medio ácido (paso d), pero al ensayar la funcionalización con DAIB/I₂ si bien se observó por RMN ¹H la desaparición de la señal del metilo C-18, no se obtuvo el 18-iododerivado en forma similar a lo ocurrido con el bromoéter 53 (pág. 67).

2) Una segunda posibilidad sería mediante la transformación e; en el compuesto resultante se podría funcionalizar desde C-20 al metilo C-18 (camino C), el 6,19-éter luego podría ser abierto y transformado en el 11,19-éter en los pasos indicados como f. Sin embargo como se vió en la síntesis de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19), la presencia del 6,19-éter dificultaba la obtención del 18-iodo-20-hidroxiderivado. Además en la funcionalización del C-18 con tetraacetato de plomo y yodo, se observó que la presencia de un grupo 11-ceto hace que la reacción sea particularmente ineficiente [Kirk, 1981]. En consecuencia esta aproximación no parecía posible.

3) Finalmente podía sintetizarse el compuesto con el 11,19-éter 71 y luego funcionalizar al C-18 desde el hidroxilo en C-20 (camino D). Este resultaba de interés, ya que de obtenerse el compuesto iodado 72, podría transformarse en el producto deseado 20 en 2 pasos de síntesis.

Si se compara al compuesto 19 con el compuesto 20, éste también contiene un átomo de oxígeno (perteneciente al éter) en la cara β pero se encuentra ubicado en otra posición. A priori, se podría pensar que la mayor cercanía del oxígeno en este último caso podría influir igual o más desfavorablemente en la obtención del 18-iododerivado. Sin embargo existía el antecedente de la síntesis de 18-hidroxicorticosterona realizada por Kirk y colab. [Kirk, 1981], en la cual observaron que si la funcionalización de C-18 se realizaba con tetraacetato de plomo y yodo sobre un esteroide con un grupo 11 β -formiato (73) la misma transcurría eficientemente, mientras que si el grupo funcional era un 11-ceto (74) la reacción tenía muy bajo rendimiento. En consecuencia, un oxígeno en posición 11 β favorecería la reacción de hipiodito.



Se midieron con el programa PCModel-MMX las distancias entre el carbono C-18 y los oxígenos del hidroxilo 20 β , del formiato 11 β y del carbonilo de la función 11-ceto en los compuestos 71, 73 y 74; los valores se muestran en la tabla 7. Se puede observar que la distancia entre C-18 y O-20 es similar en todos los casos a la del compuesto 31 (tabla 2, capítulo 3). La distancia al O-11 para 71 es intermedia entre las distancias de los compuestos ensayados por Kirk (73 y 74), ya que al estar unido al C-19 se encuentra desviado en esa dirección.

Tabla 7- Distancias interatómicas entre C-18 y O-20 y O-11
(PCModel-MMX).

	<u>71</u>	<u>73</u>	<u>74</u>
distancia C-18/O-20*	3,45	3,41	3,43
distancia C-18/O-11	3,21	2,94	3,59

* medida para el confórmero del epímero 20 β que es más estable

SINTESIS DEL PRECURSOR 20 β -HIDROXI-11,19-OXIDOPREGN-4-EN-3-ONA
(71).

De acuerdo a lo discutido más arriba, era necesario sintetizar al 11,19-éter 71 para ensayar la reacción de funcionalización del metilo C-18. La secuencia de síntesis realizada hasta el 11,19-éter 76 a través de los intermediarios que se muestran en la figura 42, fue idéntica a la desarrollada previamente [Brachet-Cota, 1990], con la variación en el paso b) de usar menor cantidad de borohidruro de sodio y de solvente, logrando un mejor control de la reacción y minimizando la formación del subproducto reducido en el carbonilo de C-11.

Luego se desprotegió selectivamente el hidroxilo de C-3 frente al de C-20 con NaOH/metanol, se oxidó a la 3-cetona y se isomerizó el doble enlace. Finalmente, cuando se intentó desacetilar el compuesto 77 en C-20 por tratamiento con base, se necesitaron tiempos prolongados que condujeron a productos de descomposición del 11,19-éter. La reducción con hidruro de aluminio y litio sobre los dos acetatos de 76, utilizada en el trabajo original no pudo

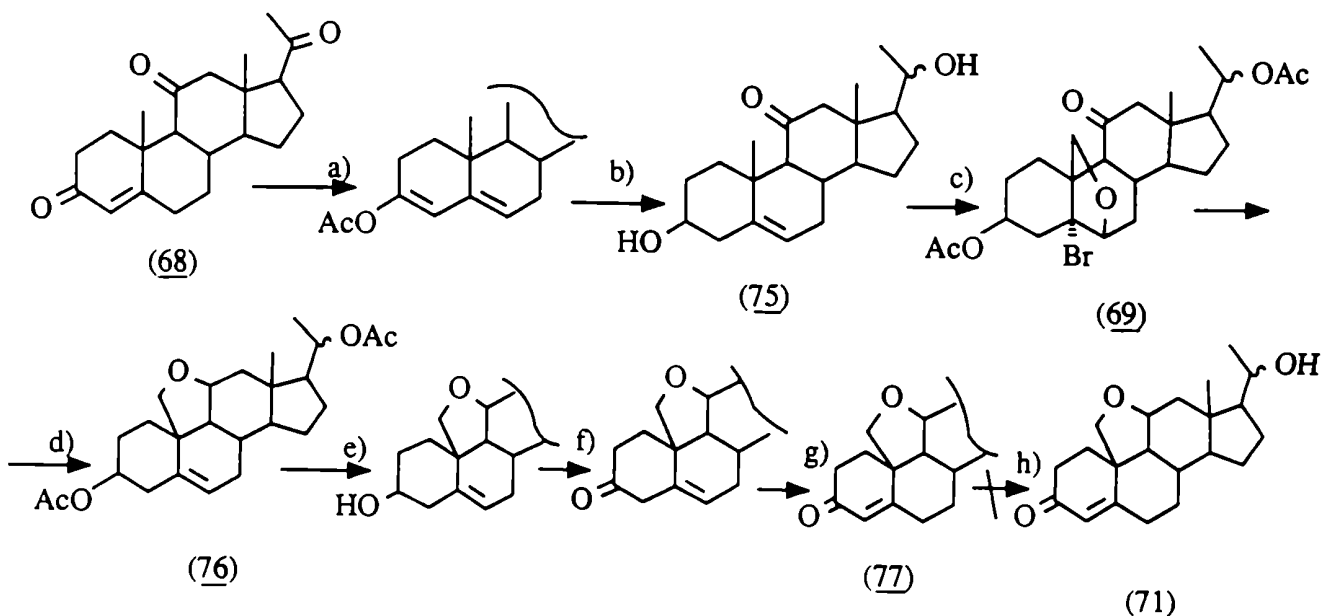


Figura 42 a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcCl}$; b) $\text{NaBH}_4/\text{NaOH}/\text{etanol}$; c)
 1) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{piridina}$, 2) $\text{NBA}/\text{HClO}_4/\text{THF}/\text{éter}/\text{H}_2\text{O}$,
 3) $\text{HgO}/\text{I}_2/\text{CCl}_4/\text{luz}$; d) 1) $\text{Zn}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{I}_2$,
 2) $\text{NaCNBH}_3/\text{HCl}/\text{metanol}$; e) $\text{NaOH}/\text{metanol}$; f) $\text{Jones}/\text{acetona}$;
 g) $\text{HCl}/\text{CCl}_2\text{H}_2$; h) $\text{KOH}/\text{metanol}$.

ser aplicado en 77 pues se reduciría también el carbonilo de C-3.

Dados los buenos resultados obtenidos con el formiato como protector del grupo hidroxilo en la síntesis de 19, (pág. 79), se decidió modificar la ruta sintética a partir del diol 75, según se muestra en la figura 43. En el paso c se debió volver a formular los alcoholes, ya que los formiatos se perdían parcialmente durante la reducción con NaCNBH_3 que requiere pH menor de 3, para reducir el hemicetal formado luego de la apertura reductiva del bromoéter 79. El diformiato 80, pudo ser hidrolizado selectivamente en posición 3 con KHCO_3 y luego oxidado para dar 81. El tratamiento posterior con HCl en fase heterogénea conjugó el doble enlace,

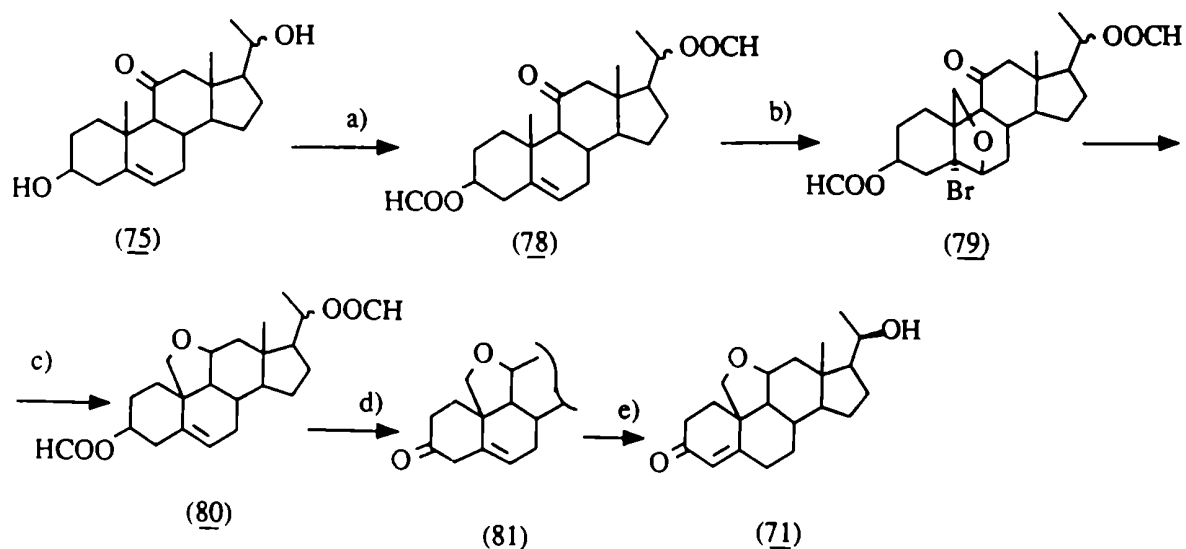


Figura 43- a) HCOOH; b) 1) NBA/HClO₄/THF/éter/H₂O,
 2) HgO/I₂/CCl₄/luz; c) 1) Zn/AcOH/H₂O/I₂,
 2) NaCNBH₃/HCl/metanol, 3) HCOOH; d) 1) KHCO₃/metanol,
 2) Jones/acetona; e) HCl/CH₂Cl₂.

e hidrolizó el formiato en C-20 en un solo paso. El producto se purificó por cromatografía en columna obteniéndose el epímero 20β-hidroxi 71

TRANSFORMACION DE 71 EN 20.

El tratamiento de 71 con DAIB/I₂/luz condujo al iodoalcohol 72 que fue convertido finalmente en el hemicetal 20 por los dos pasos ya mencionados de oxidación e hidrólisis del iodo unido a C-18 con AgAcO/AcOH. Con todo esto, la síntesis total de 20 se realizó en 14 pasos (figura 44) con un rendimiento global de 3%. En la figura 45, se muestran los espectros de RMN ¹H y ¹³C de 20.

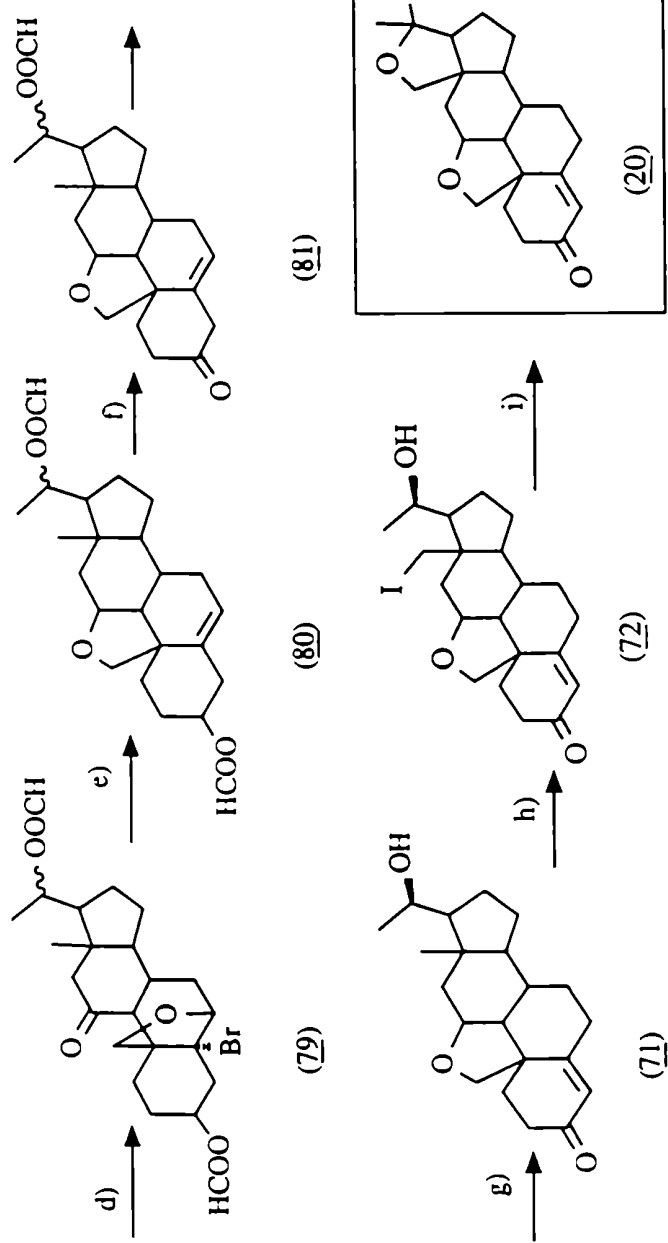


Figura 44- Esquema general de la síntesis de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20).
 Reactivos: a) Ac₂O/AcCl; b) NaBH₄/NaOH/etanol; c) HCOOH; d) 1) NBA/HClO₄/THF/éter/H₂O, 2) HgO/I₂/CCl₄/luz; e) 1) Zn/ACOH/H₂O/I₂, 2) NaCNBH₃/HCl/metanol, 3) HCOOH; f) 1) KHCO₃/metanol, 2) Jones/acetona; g) HCl/CH₂Cl₂; h) DAIB/I₂/CCl₄/luz; i) 1) Jones/acetona, 2) AgAcO/ACOH/H₂O.

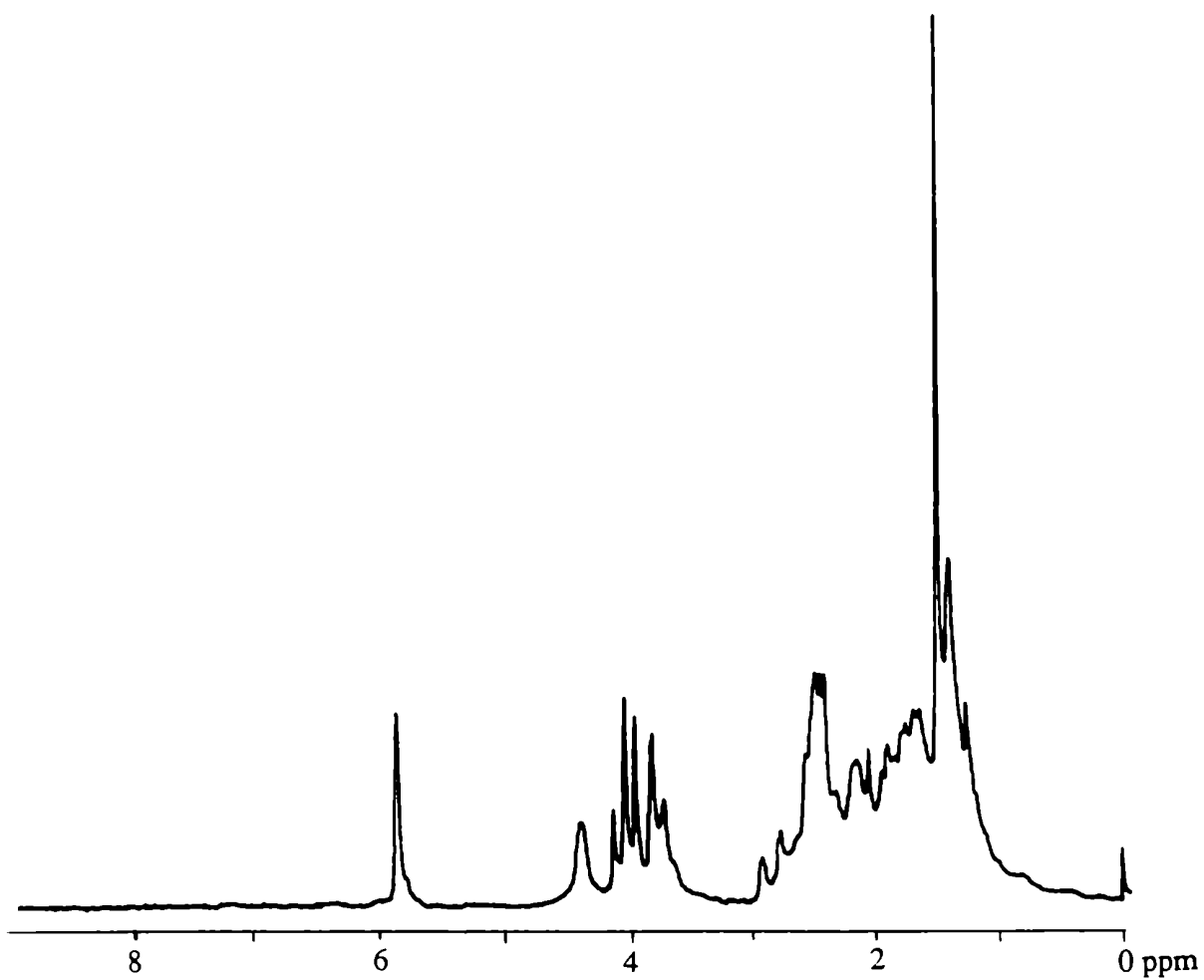
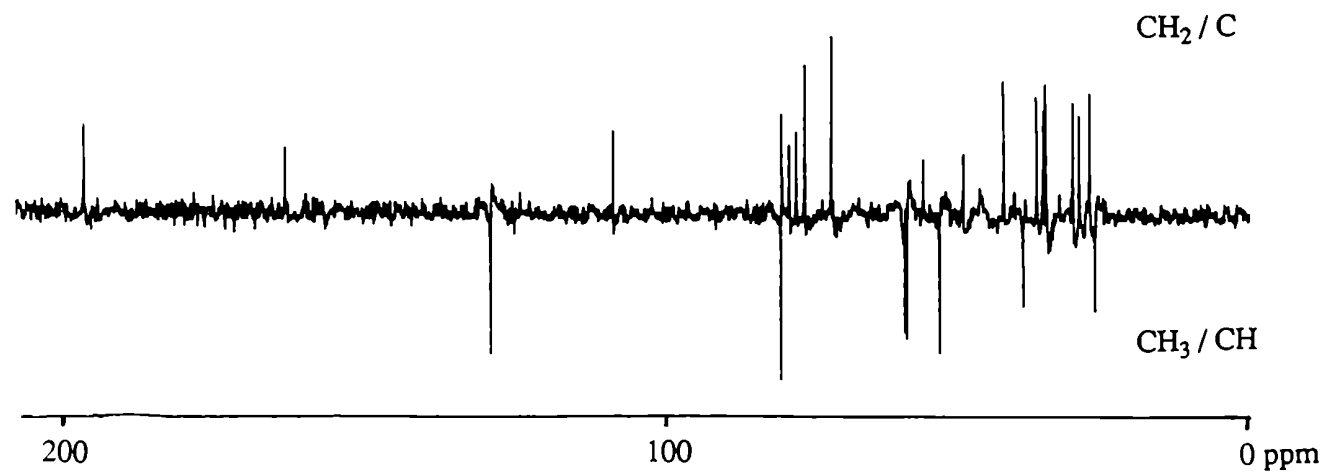


Figura 45- Espectros de RMN ^1H y ^{13}C de 18-hidroxi-11,19-óxi-doprogesterona (20).

CAPITULO 5

SINTESIS DE D-HOMO-18-NOR-ESTEROIDES.

Como se comentó en el capítulo 1, se ha postulado que existe una relación entre la mayor o menor actividad biológica frente a los receptores mineralocorticoides (MC) para una determinada estructura esteroidal, de acuerdo con las modificaciones en la zona del anillo D [Duax, 1988].

Por esto resultó de interés el estudio de la expansión del anillo D de la ciclopropilcetona 49 para dar el derivado D-homo-18-nor (figura 46), del cual existen pocos ejemplos sintéticos o naturales conocidos. Dicha transformación implicaría pasar de un sistema de anillos de 5 miembros y 3 miembros fusionados, a un anillo de 6 miembros lo cual es termodinámicamente favorable debido a la disminución de tensiones en las uniones.

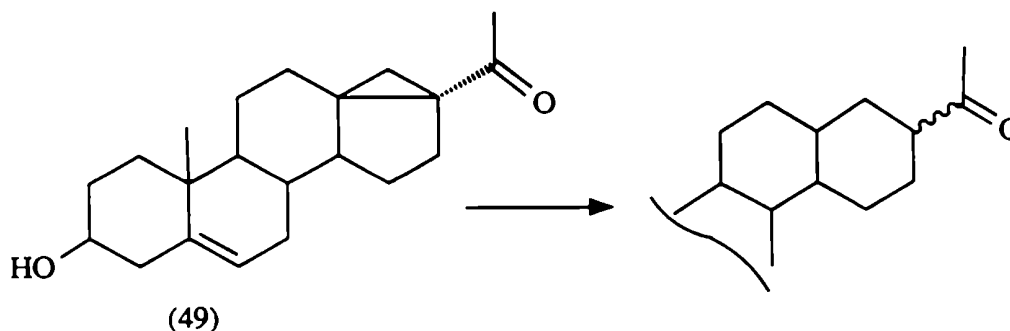


Figura 46- Expansión a D-homo-18-noresteroides.

La ciclopropilcetona 49 fue obtenida como se detalló en el capítulo 3, figura 21. Una ciclopropilcetona similar fue detectada por primera vez en el año 1962 [Heusler, 1962] como subproducto de la hidrólisis de la iodocetona con acetato de plata para la obtención de 18-hidroxiprogesterona (18). Lo mismo fue observado

por Kirk y colab., [Kirk, 1976] quienes propusieron que se originaba a través del enol por ataque posterior intramolecular sobre el C-18 y formación de la unión entre C-17 y C-18 con eliminación simultánea del iodo. Esto fue corroborado al tratar la iodocetona con una solución de una base en metanol, favoreciendo así la formación del enolato. En estas condiciones el único producto fue la ciclopropilcetona, sin encontrarse trazas del producto 18-hidroxilado (figura 47). Kirk y colab. intentaron revertir el producto de eliminación hacia la iodocetona de partida por agregado de ioduro de hidrógeno en ácido acético anhidro pero en esas condiciones se obtuvo la iodocetona isómera con la cadena lateral 17 α , más estable que la 17 β .

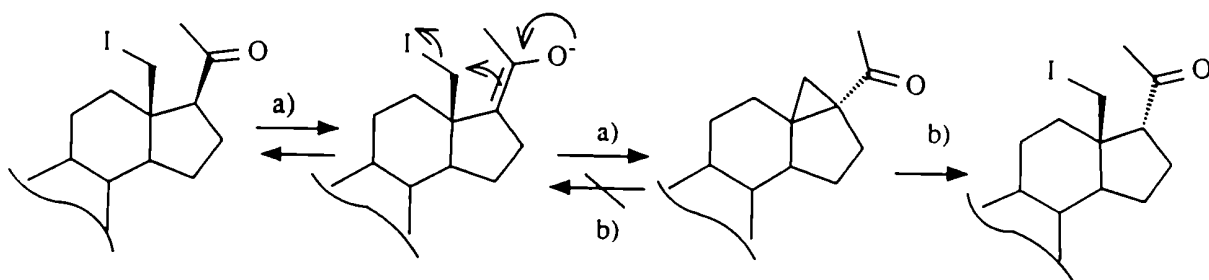


Figura 47- Formación de una ciclopropilcetona y su ruptura en medio ácido. a) KOH/Metanol; b) HI/AcOH.

D-HOMOESTEROIDES CONOCIDOS.

Estos pueden clasificarse en primera instancia en dos tipos: aquellos en que la expansión se da por inclusión de un carbono de

la cadena lateral en C-17 y aquellos en que la expansión se da por inclusión del C-18. Estos últimos son a su vez 18-nor esteroides pues carecen de metilo angular en C-13.

Por tratamiento de un 17 α -hidroxipregnano ya sea en medio básico o con un ácido de Lewis, pueden obtenerse productos que incorporan el C-20 al anillo D, por migración de la unión C-13/C-17 (figura 48, a), y/o de la unión C-16/C-17 (figura 48, b), siendo el o los tipos de productos y las proporciones obtenidas dependientes de las condiciones usadas para la reacción. [Kirk, 1975-b; Fukushima, 1955; Schor, 1990]

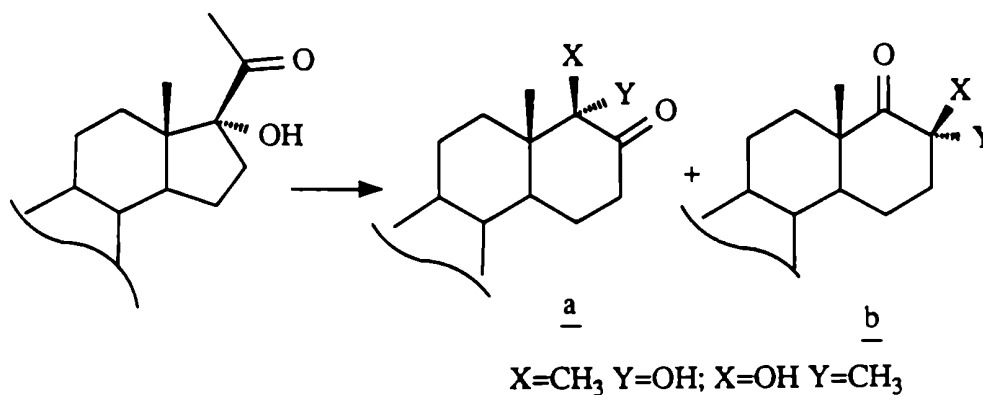


Figura 48- D-homoesteroides por inclusión de la cadena lateral.

Dentro de los 18-nor-D-homo esteroides pueden citarse algunos whithanólidos presentes en las plantas Nicandra physaloides [Bates, 1972] y Salpichroa organifolia [Veleiro, 1991] de la familia de las Solanáceas, que poseen el anillo D aromatizado. En estudios biosintéticos realizados por Whiting y colab. [Gill, 1986-a y 1986-b] con precursores marcados isotópicamente se ha propuesto que estos compuestos se forman por incorporación del C-18 al anillo D y posterior aromatización, según se esquematiza en la figura 49.

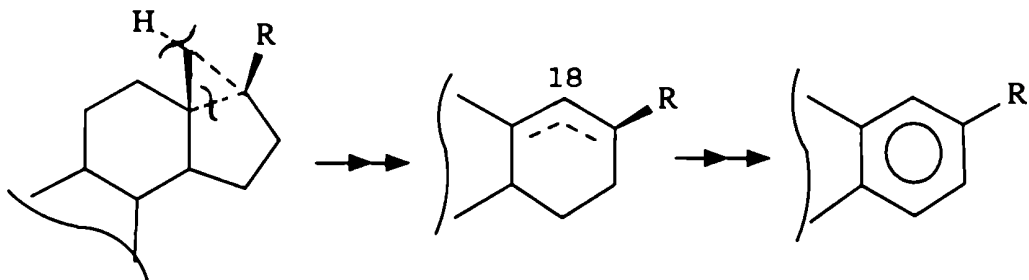


Figura 49- D-homoesteroide por incorporación de C-18.

Se encuentra descrita en la literatura la síntesis de esteroides con anillos D aromáticos por construcción total del núcleo esteroi- dal, utilizando cicloadiciones intramoleculares [Kametani, 1980].

Whiting y colab. sintetizaron el compuesto d de la figura 50, el cual puede transformarse en el precursor biosintético e de los

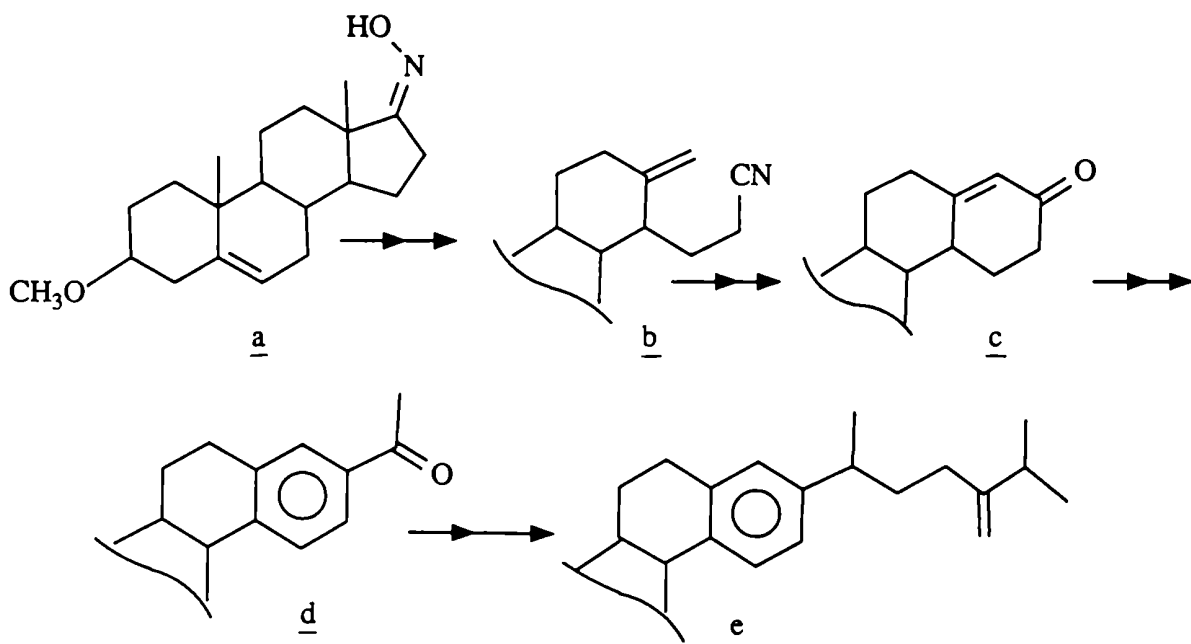


Figura 50- Síntesis propuesta de un precursor biosintético de withanólidos.

withanólidos del tipo Nic [Blumbach, 1986]. La ruta seguida, utiliza la ruptura de la unión C-13/C-17 a partir de la oxima a para luego, a través del nitrilo b, poder formar la unión entre C-17/C-18 y obtener el producto expandido c. Posteriormente se introdujo la cadena lateral usando un litio ditiano, y luego de algunos pasos utilizados para aromatizar el anillo D se obtuvo el producto d.

Un camino biomimético alternativo, sería primero formar un catión en C-18 y luego producir la expansión del anillo D por migración de la unión C-13/C-17 para dar la unión C-17/C-18 (17(13→18)-abeo). El primer paso es análogo a la introducción de un átomo de iodo en el metilo angular C-18, mientras que el segundo paso de la migración del enlace, estaría dado por la formación de la ciclopropilcetona y su posterior expansión, según fue planteado en la figura 46. Una posibilidad para lograr este reordenamiento sería el uso de un ácido fuerte que por coordinación a la cetona, reordenaría los enlaces de la forma en que se muestra en la figura 51.

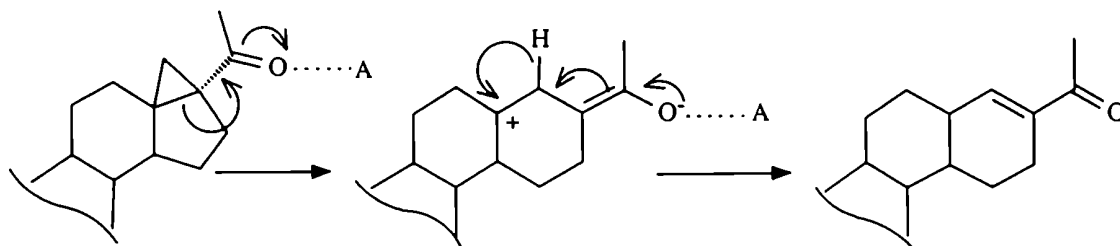


Figura 51- Mecanismo de apertura de la ciclopropilcetona en presencia de un ácido.

Esto fue realizado por Choay y colab. [Choay, 1980], quienes al tratar la ciclopropilcetona derivada de la progesterona con trifluoruro de boro en benceno caliente, obtuvieron la 17(13→18)-abeopregna-4,17-dieno-3,20-diona, que resultó ser, como se determinó por estudios biológicos, un potente antiandrógeno, con posibles aplicaciones en problemas clínicos de hipersexualismo.

En esta tesis se estudió la apertura reductiva de las ciclopropilcetonas 49 y 82 de modo de obtener un producto sin el doble enlace conjugado en el anillo D. Existían antecedentes en la literatura sobre la apertura reductiva de ciclopropilcetonas en las que se utilizó Zn y ZnCl₂ en etanol a reflujo [Dekker, 1975; Murphy, 1981]. Los resultados se muestran en la figura 52. En general la reacción transcurría con buenos resultados para las ciclopropilcetonas bencílicas y benzoílicas, y con menos eficiencia al tener grupos sustituyentes con menor posibilidad de conjugación.

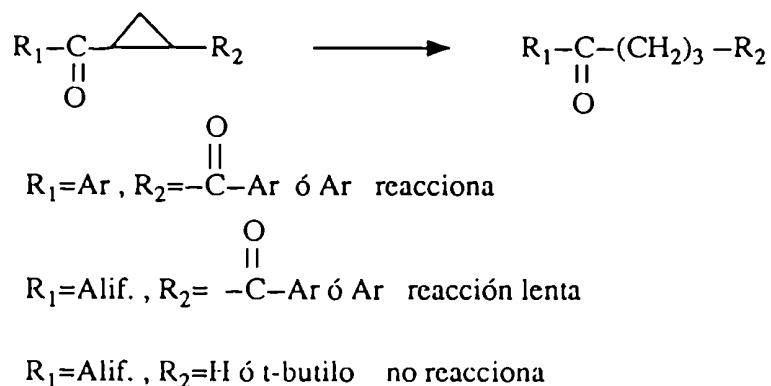


Figura 52- Apertura reductiva de ciclopropilcetonas con Zn y ZnCl₂.

Los hidruros de estaño son reductores que se caracterizan por su selectividad y según el sustrato y las condiciones pueden reaccionar por un mecanismo iónico o radicalario [Kuivila, 1970]. Se encontraba descrito un método de apertura reductiva de ciclopropilcetonas, que utilizaba hidruro de tributilestaño, tanto con iniciación térmica con azobisisobutironitrilo (AIBN), como fotoquímica con irradiación ultravioleta. El mecanismo se muestra en la figura 53 y fue confirmado por los autores utilizando deuteruro de tributilestaño, que dió el producto deuterado correspondiente al mecanismo planteado [Pereyre, 1970].

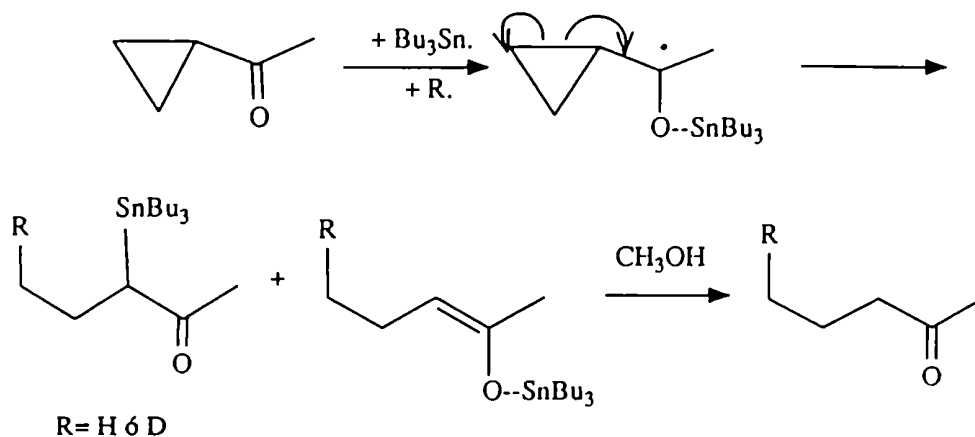


Figura 53- Apertura reductiva de las ciclopropilcetonas con hidruro de tributilestaño.

RESULTADOS OBTENIDOS

El tratamiento de 49 con Zn y iodo en ácido acético y anhídrido acético (mezcla capaz de formar ZnI_2 in situ) a temperatura ambiente no produjo el reordenamiento de la ciclopropilcetona, a

pesar de ser el ioduro de zinc un ácido de Lewis fuerte. Cuando la reacción se llevó a cabo a 100°C, se obtuvo una mezcla compleja de productos de descomposición que no fue ulteriormente analizada. Por lo tanto este ácido de Lewis no resultó ser lo suficientemente efectivo para el sustrato 49 que no estaba estabilizado por conjugación como en el caso presentado en la figura 52.

Se ensayó entonces la apertura de las ciclopropilcetonas esteroi-
dales 49 y 82 con HBu_3Sn iniciada con AIBN a 80°C, es decir en
condiciones radicalarias. Se utilizó tolueno como solvente a 110°C
y se encontró que la reacción transcurría con aproximadamente 50%
de rendimiento y era muy lenta (4 días). Dado que las reacciones
que son radicalarias se pueden inhibir en presencia de solventes y
como el esteroide se solubilizaba en el HBu_3Sn líquido en
caliente, se ensayó la reacción sin solvente y a 80°C. En este
caso, se obtuvo un producto más puro, especialmente si el esteroide
estaba acetilado en el hidroxilo de C-3 (82). La mezcla resultante
fue acetilada y purificada, obteniéndose la mezcla de los epímeros
en C-17 en relación 8:2 del producto con la cadena lateral 17 β
axial 83 y la cadena lateral 17 α ecuatorial 84, como se muestra
en la figura 54. El producto mayoritario se formaría por el ataque
del hidruro desde la cara α menos impedida dejando a la cadena
lateral orientada hacia la cara β . La reacción transcurriría con
control cinético dado que se obtiene mayoritariamente el producto
menos estable con la cadena lateral axial.

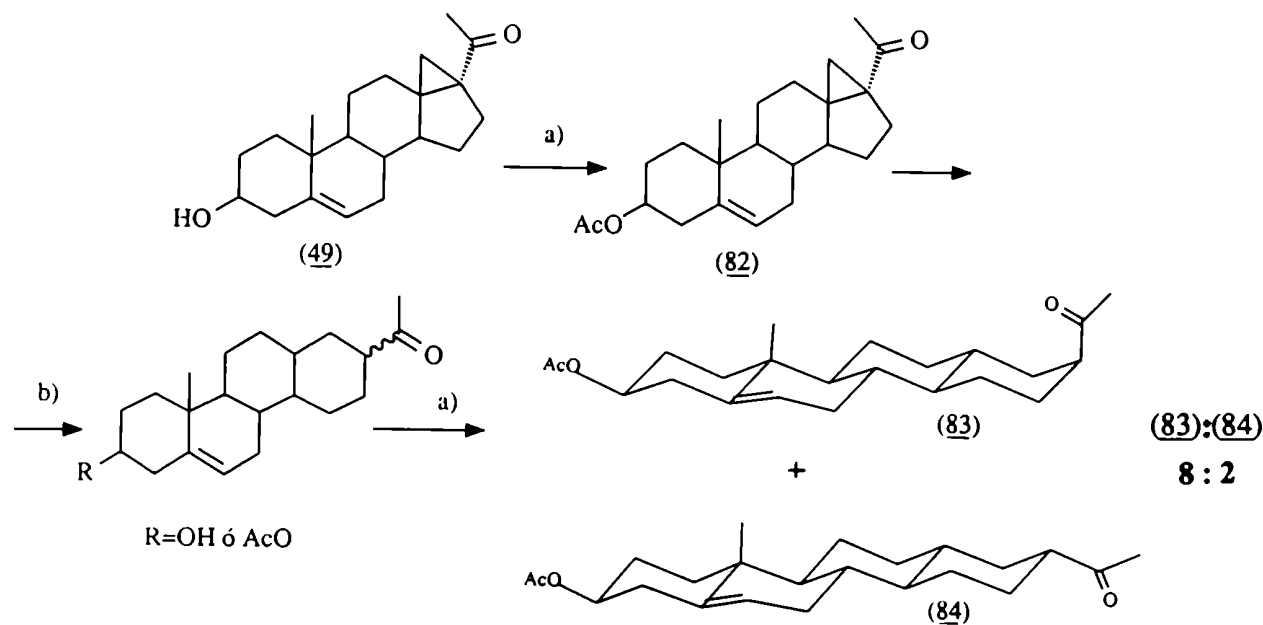


Figura 54- Síntesis de 17(13→18)-abeo-3β-acetoxi-17β-pregn-5-en-20-ona (83) y 17(13→18)-abeo-3β-acetoxi-17α-pregn-5-en-20-ona (84). Reactivos: a)Ac₂O/piridina, b)HBu₃Sn/AIBN/calor.

La identificación de los compuestos 83 y 84 no descritos en la literatura se pudo realizar en base a los espectros SPDD de RMN ¹³C (figuras 55 y 56 respectivamente). En estos se observó la desaparición de la señal del carbono cuaternario de C-13 y la ausencia de la señal del metilo C-18. La identificación de los epímeros se realizó a partir de los espectros de RMN ¹H, teniendo en cuenta que el producto 83 (figura 55) posee el H-17 ecuatorial más desprotegido que en el 84 (figura 56), donde H-17 es axial. El trabajo de investigación de este nuevo tipo de estructuras, continúa.

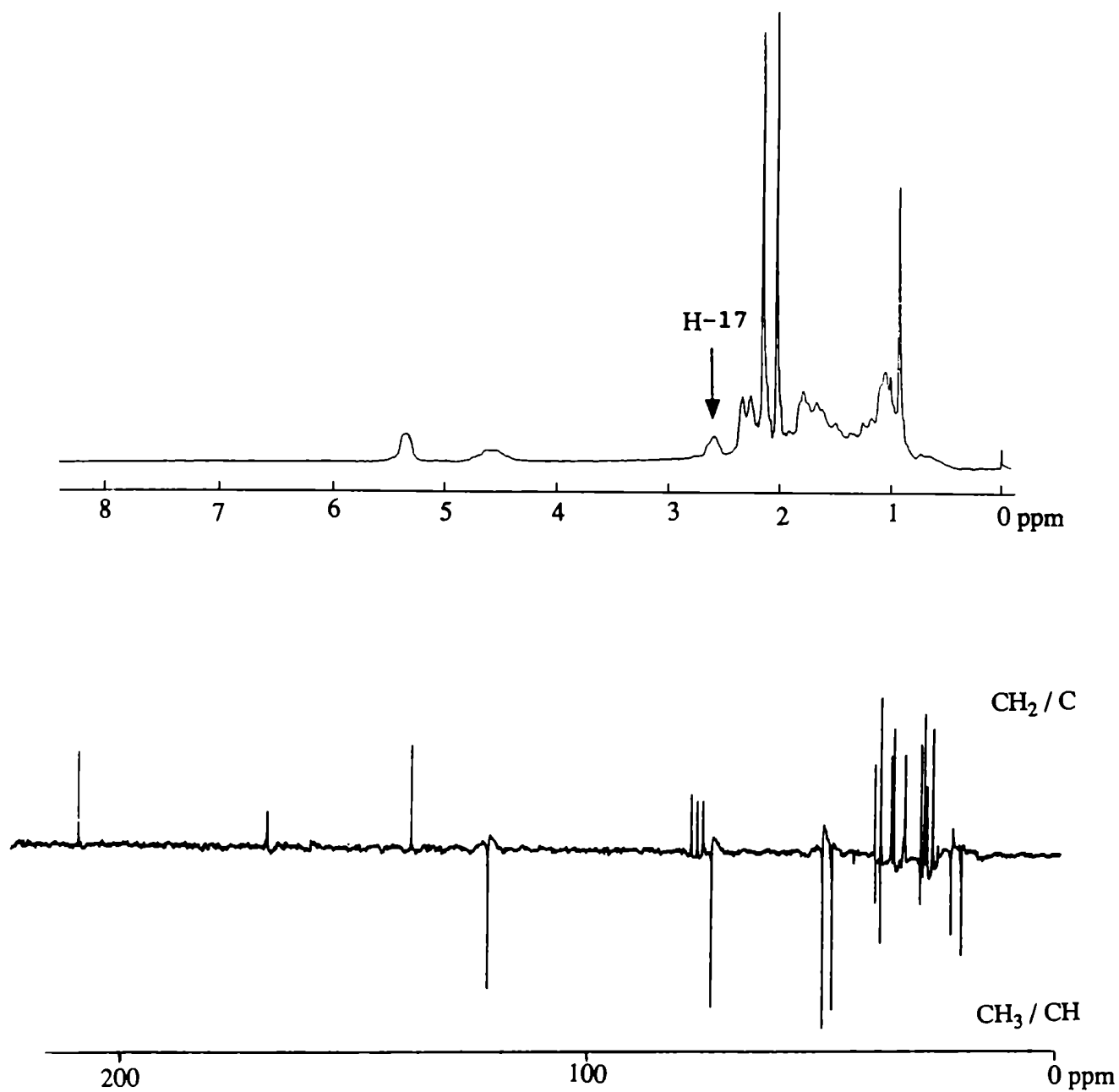


Figura 55- Espectros de RMN ^1H y ^{13}C de 17(13→18)-abeo-
-3β-acetoxi-17β-pregn-5-en-20-ona (83).

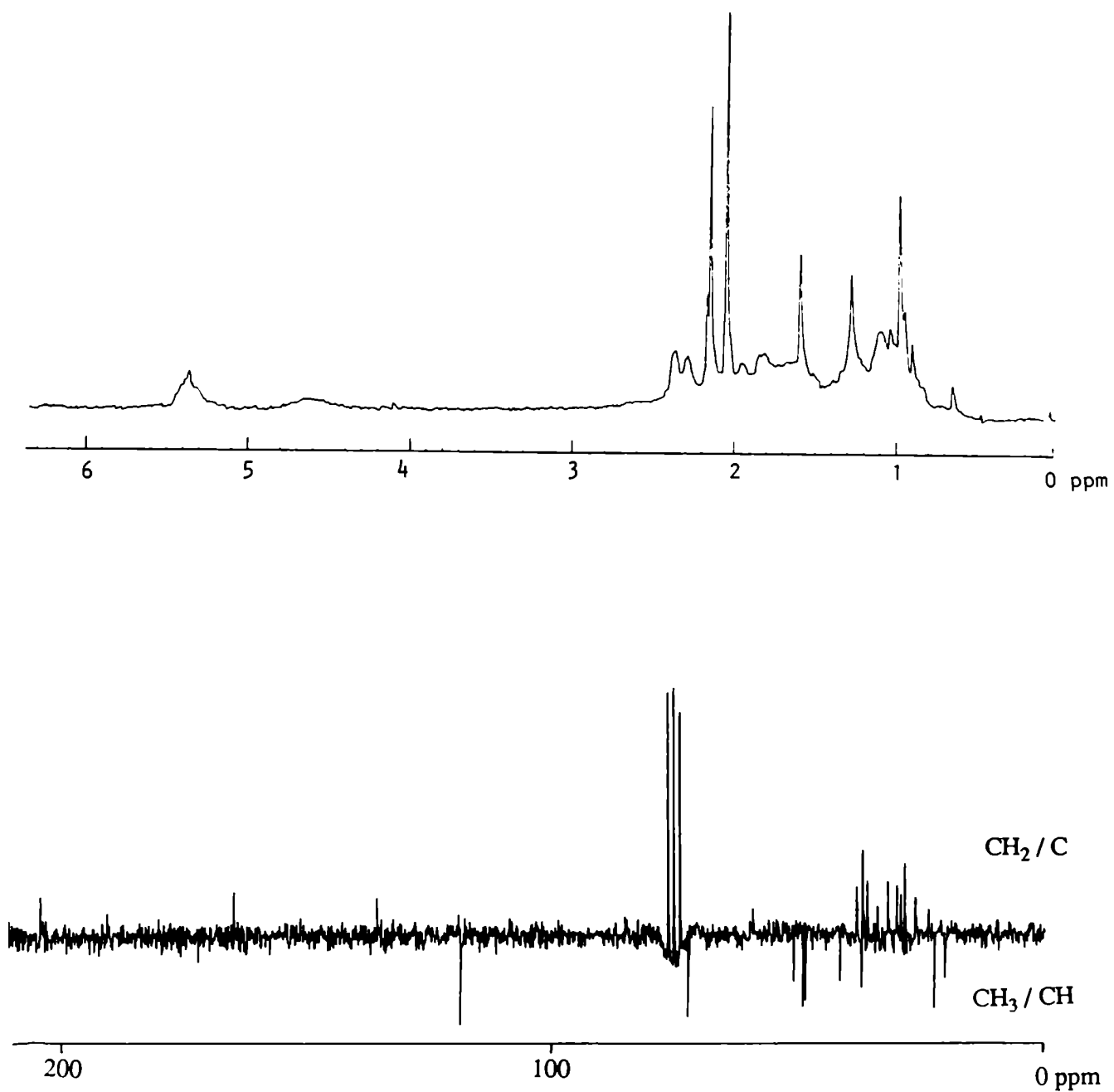
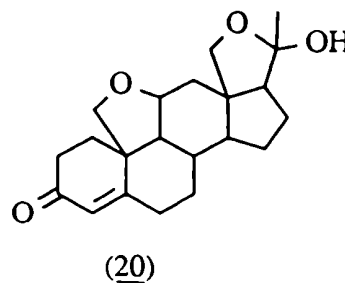
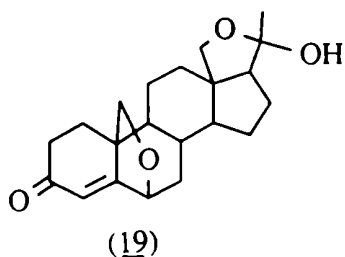


Figura 56- Espectros de RMN ¹H y ¹³C de 17(13→18)-abeo-
-3β-acetoxi-17α-pregn-5-en-20-ona (84).

CAPITULO 6
ANALISIS CONFORMACIONAL.

Se ha observado en gran cantidad de trabajos de investigación sobre hormonas esteroidales que existe una estrecha relación entre la estructura de una molécula y su actividad biológica. No sólo es importante el tipo, posición y estereoquímica de los grupos funcionales que posee, sino además la posibilidad de orientarlos en la forma requerida por el receptor, lo cual estará dado por la flexibilidad conformacional de la estructura [Duax, 1976].

Por este motivo resultó de interés realizar un análisis conformacional de los compuestos nuevos sintetizados 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) y 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20) tomando como base las estructuras obtenidas por cálculos de mecánica molecular utilizando el campo de fuerza MMX (ver apéndice de métodos computacionales).



ANTECEDENTES.

El análisis conformacional de derivados del ciclohexano fue inicialmente enunciado por Barton [Barton, 1950], y a partir de entonces se realizaron una gran cantidad de trabajos tanto en estructuras acíclicas como cíclicas de diversos tamaños [Eliel, 1965; Hanach, 1965]. Un estudio profundo sobre la conformación de

un gran número de esteroides a partir de sus datos cristalográficos por difracción de rayos X, fue realizado por Duax y colaboradores [Duax, 1975; Griffin, 1984]. Se obtuvo así una descripción cuantitativa de cada anillo del núcleo esteroideal y una cualitativa de la molécula en general.

Para estos sistemas de anillos fusionados se ha encontrado que el análisis de los elementos de simetría por anillo da la información exacta sobre la conformación del mismo. Otro tipo de descriptor de la conformación de anillos, son los parámetros de pseudorotación. Estos son necesarios en el análisis de sistemas flexibles, es decir con baja barrera de energía entálpica para la interconversión de formas estables, lográndose así una descripción más refinada de las propiedades geométricas. Aplicaciones de este estudio en esteroides fueron realizadas por Altona y colaboradores para el anillo D de diversos androstanos, pregnanos y colestanos [Altona, 1968]. Análogamente para anillos de 6 miembros se analizaron las formas bote y bote retorcido, llamadas también formas flexibles del ciclohexano [Bucourt, 1975]. Estas se observaron en el anillo A de 3-ceto esteroides, en el anillo D de D-homo-17 α -ceto esteroides [Allinger, 1964] y en los anillos B y C para el caso en que se encuentran unidos en forma cis [Buys, 1968].

Los compuestos 19 y 20 fueron observados por espectroscopía de RMN ^1H y ^{13}C en solución en CCl_3D , únicamente en su forma 18 \rightarrow 20 hemicetálica, sin encontrarse trazas de las formas abiertas. La presencia del anillo tetrahydrofurano que incorpora a la cadena lateral, deja a ésta inmovilizada y fija también la posición del C-17, eliminando la posibilidad de pseudorotación del anillo D en estos casos.

En el anillo A se tienen dos "fuerzas" opuestas, la del carbonilo y el doble enlace que tienden a adoptar una conformación coplanar contra los dos grupos metileno que tratan de curvar la molécula. Si bien la ciclohexen-2-ona puede tener dos conformeros (semisilla y sobre) dada la similitud entre ambos no se ha podido establecer por métodos experimentales cual es el que predomina, aunque se esperaba que fuera el sobre según cálculos teóricos [Abraham, 1988]. En el caso de los esteroides, el anillo A se encuentra fusionado a otro ciclohexano, produciendo así cambios en la conformación inducida por grupos funcionales distantes y es lo que Barton designó como "transmisión conformacional" [Barton, 1957]. En los datos conformacionales obtenidos por rayos X para sistemas Δ^4 -3-ceto, se encontraron conformaciones tipo semisilla, sobre e intermedias, dependiendo de la estructura general [Duax, 1976].

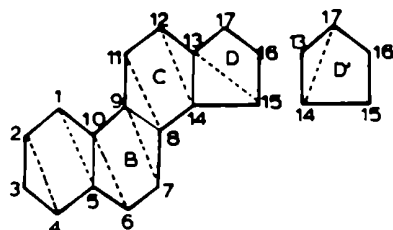
ANÁLISIS CONFORMACIONAL.

El análisis conformacional se realizó sobre los datos geométricos obtenidos a partir de los cálculos de mecánica molecular realizados con el programa PCModel-MMX (apéndice de métodos computacionales). Se encuentran ejemplos en la literatura sobre la evaluación de la capacidad de métodos computacionales para predecir geometrías de moléculas; los datos del programa PCModel [Freeman, 1989] fueron comparados con datos experimentales de difracción de rayos X, encontrándose buena correspondencia. El programa PCModel utiliza el campo de fuerza MMX, el cual es una versión mejorada del campo de fuerza MM2 desarrollado por Allinger y colaboradores. Recientemente

se ha descrito la extensión de dicho campo al MM3 [Allinger, 1989], y ambos fueron evaluados con diferentes tipos de compuestos. Entre otros se analizó la correspondencia con los datos cristalográficos de un esteroide, encontrándose buena correspondencia, salvo para los enlaces C-C y ángulos diedros del anillo D. Esto fue atribuido a las fuerzas de empaquetamiento que se encuentran presentes en los cristales, y que no existen en las moléculas en el estado gaseoso, que es el modelo que se utiliza en los cálculos de mecánica molecular.

I-Conformación general.

El análisis para determinar la curvatura general del núcleo esteroideal se realizó según la técnica de cuadrados mínimos descrita por Duax y colaboradores [Duax, 1975]. Esta consiste en determinar el mejor plano que pasa a través de un grupo de átomos de forma tal que la suma de los cuadrados de las distancias de dichos átomos al plano es minimizada. El cálculo de los planos de cuadrados mínimos se realizó utilizando el programa Planos V.90.2. que se encuentra detallado en el apéndice de métodos computacionales. Se calculó el plano de cuadrados mínimos ajustado a cuatro átomos para cada anillo del esteroide, y a partir de éste se midieron las distancias de los átomos pertenecientes al anillo. En la figura 57 se muestran los átomos utilizados para definir los planos por anillo o por unión de anillos. El anillo D fue elegido como el plano D o D' dependiendo de la conformación observada. Si el anillo tendía a la forma 13 β -sobre se utilizó D', en cambio para una forma 14 α -sobre se utilizó D como referencia.



<u>Plano</u>	<u>Composición</u>
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)

Figura 57- Átomos utilizados en la definición de planos.

Se analizaron las orientaciones relativas de los metilos angulares y los sustituyentes que se encuentran en cada molécula con respecto al núcleo esteroidal. También se analizó el tipo de conformación en la fusión de anillos. Los diferentes casos se denominan con los términos: cis, trans, cuasi-cis y cuasi-trans. El signo de los ángulos diedros endocíclicos de cada anillo centrados en la unión común de los anillos, define el tipo de unión. Si son del mismo signo es cis, y si son de distinto signo es trans. Si la fusión contiene un átomo de carbono trigonal, se agrega el término cuasi, y de la misma manera que antes, los signos definen si es cuasi-cis o cuasi-trans. Además se calcularon las sumas de los valores absolutos de los ángulos diedros en la fusión de anillos. Estos valores dan una medida relativa de la flexión o planaridad en dicha zona. En general, cuanto mayor es el valor de la suma se tiene un sistema más flexionado mientras que a menor valor es más aplanado [Bucourt, 1975]. Finalmente el estudio de la conformación general se completó con la medición de los ángulos de pseudotorsión

C19-C10...C13-C18 de los metilos angulares que indican la mayor o menor torsión a lo largo de la molécula.

II-Conformación en anillos.

Se calcularon los promedios de los valores absolutos de los ángulos diedros endocíclicos, que dan una idea sobre la planaridad o plegado de cada anillo. La conformación fue evaluada cuantitativamente por comparación de los ángulos diedros relacionados a través de los elementos de simetría, de la forma descrita por Duax y colab. [Duax, 1975; Griffin, 1984]. Se pueden encontrar dos tipos de elementos de simetría: el plano especular (C_s) perpendicular al plano dominante del anillo, y el eje de rotación (C_2) que se encuentra en el plano del anillo. La ubicación de la simetría en los anillos depende del número de átomos que contiene. Para anillos con número impar de átomos, todos los elementos de simetría pasan por uno de los átomos e intersectan el enlace opuesto. En anillos con número par de átomos, los elementos pueden pasar por dos átomos opuestos o intersectar dos enlaces opuestos en el anillo.

En los anillos de 5 miembros existen 10 posibles elementos de simetría, 5 planos especulares y 5 ejes de rotación, cada uno de los cuales pasa por cada átomo del anillo. En la figura 58 se observa la conformación plana, que posee los 10 elementos de simetría teniendo entonces la mayor simetría posible. También se muestra la forma sobre ideal que únicamente contiene un plano especular que pasa por el átomo que está fuera del plano. Finalmente la conformación semisilla ideal tiene simetría de eje de rotación según el enlace que contiene los dos átomos fuera del

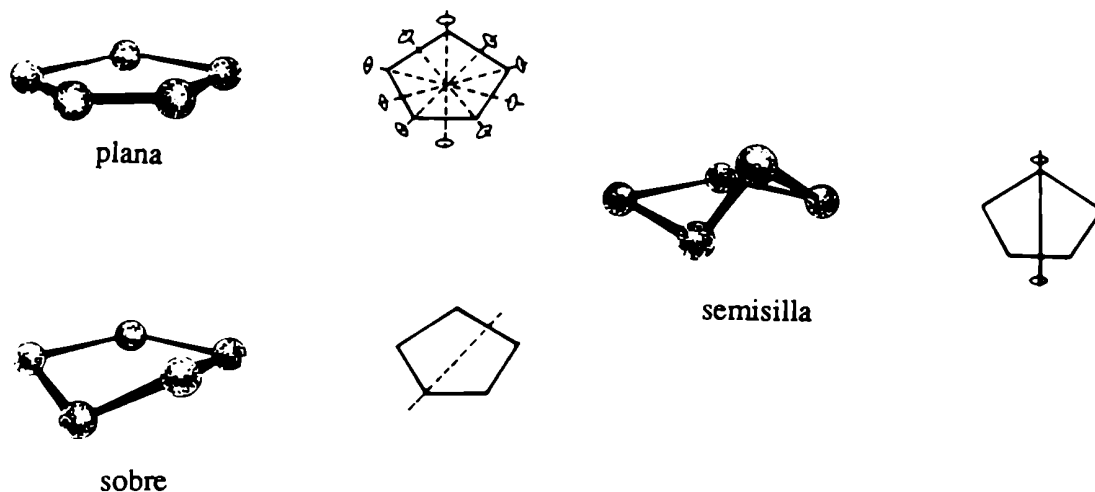


Figura 58- Elementos de simetría en anillos de 5 miembros. Las líneas punteadas indican planos especulares y las líneas llenas ejes de rotación.

plano. Los anillos de 6 miembros tienen 12 elementos de simetría, los cuales están contenidos en la forma plana y que es por lo tanto la de mayor simetría. Las conformaciones que son comúnmente observadas se muestran en la figura 59. La forma silla contiene 3

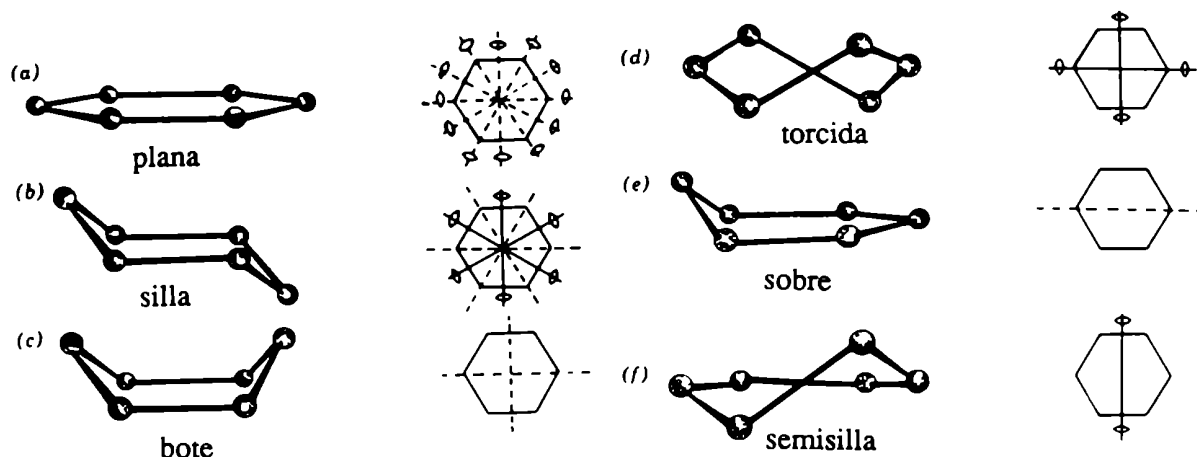


Figura 59- Elementos de simetría en anillos de 6 miembros.

planos especulares y 3 ejes de rotación. Las formas bote y torcida poseen 2 elementos de simetría que son perpendiculares entre sí. Las formas sobre y semisilla poseen un sólo elemento de simetría. Duax y colab. [Duax, 1975] definieron los parámetros de asimetría que son una medida del grado de distorsión de un sistema no ideal con respecto a la simetría ideal. Los ángulos de torsión que se relacionan en forma especular, están relacionados inversamente (igual magnitud y signos opuestos) y se comparan por adición. Los ángulos de torsión que se relacionan por ejes de rotación, están relacionados directamente (igual magnitud y signos) y estos ángulos se comparan por sustracción. Las ecuaciones que definen los parámetros son:

$$\Delta C_s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\phi_i + \phi_i')^2}{m}}$$

$$\Delta C_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\phi_i - \phi_i')^2}{m}}$$

siendo ΔC_s el parámetro de los planos especulares y ΔC_2 el parámetro de los ejes de rotación, donde m es el número de comparaciones y ϕ_i y ϕ_i' son los ángulos de torsión relacionados simétricamente según se aprecia en la figura 60. Allí se presentan los tipos de ángulos relacionados que existen para anillos de 5 y 6 miembros, según el signo de los ángulos de torsión endocíclicos. Para indicar la posición del parámetro de asimetría que se analiza, se agrega el número del átomo o enlace que intersecta. Los parámetros de asimetría en anillos son útiles para detectar el tipo de distorsión causada por la fusión de anillos o la presencia de sustituyentes. Por ejemplo, en un anillo saturado de 6 miembros que es perfectamente simétrico con conformación silla hay 6 parámetros

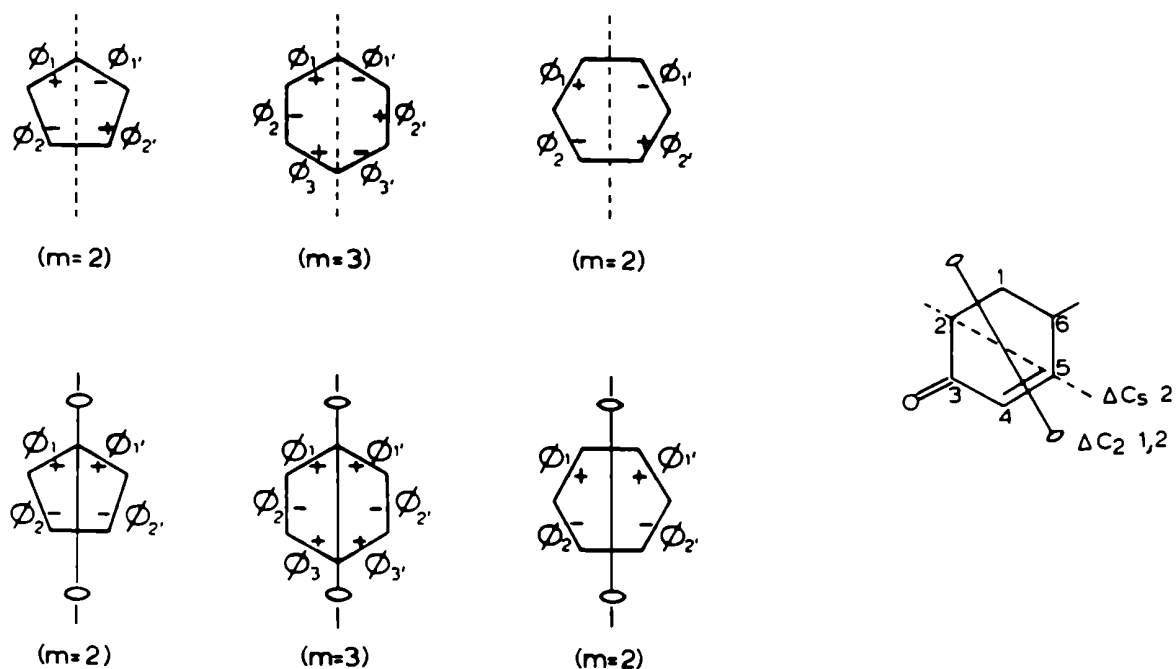


Figura 60- Angulos de torsión relacionados a través de los elementos de simetría (ejes de rotación y planos de simetría) para las distintas conformaciones de los anillos de 5 y 6 miembros. Ejemplo de nomenclatura de los parámetros de asimetría ΔC_s y ΔC_2 .

de asimetría (3 de rotación y 3 especulares) que tienen un valor de cero. Los parámetros que tienen valores grandes denotan la pérdida de simetría debido a aplanamientos o flexiones del anillo. Duax y colaboradores establecieron la relación que existe entre los parámetros de asimetría y las conformaciones posibles para anillos de 5 y 6 miembros [Griffin, 1984].

ANALISIS CONFORMACIONAL DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (19).**I-Conformación general.**

Se observaron 4 conformeros de mínima energía. Estos provienen de la combinación de las dos posibles conformaciones en la fusión de los anillos A y B (cuasi-cis o cuasi-trans), y del anillo F (C18 sobre y O18-C20 semisilla). En la figura 61 se muestran las proyecciones de dichos conformeros según el plano definido por los átomos C5-C17. Estas fueron realizadas con el programa Proyecciones V.90.2, que se encuentra descrito en el apéndice de métodos computacionales. Se puede observar en los conformeros 1 y 2 ambos con fusión de anillos A y B cuasi-trans, la diferencia en la orientación del hidroxilo en C20. Esta es producida en el conformero 1 por su anillo F que se encuentra como C18 sobre, mientras que el conformero 2 se encuentra como O18-C20 semisilla. La misma diferencia se observa al comparar los conformeros 3 y 4. En estos últimos el anillo A adopta la conformación 1 β -sobre, produciendo una curvatura del mismo hacia la cara α del esteroide.

En la tabla 8 se presentan los parámetros geométricos calculados con el programa PCModel-MMX y el programa Planos V.90.2. Se determinaron así los planos correspondientes a cada anillo y unión de anillos y el ángulo de torsión entre los mismos. Es destacable el aumento de aproximadamente 20° entre los conformeros 1 y 3 o los conformeros 2 y 4, para el ángulo que mide la desviación del anillo A y el plano C5-C17. Otra diferencia importante es la variación de los ángulos de torsión entre el plano A y el plano AB, comparando los conformeros de la misma forma que en el punto anterior. Todo esto es consecuencia de la variación conformacional en la fusión de

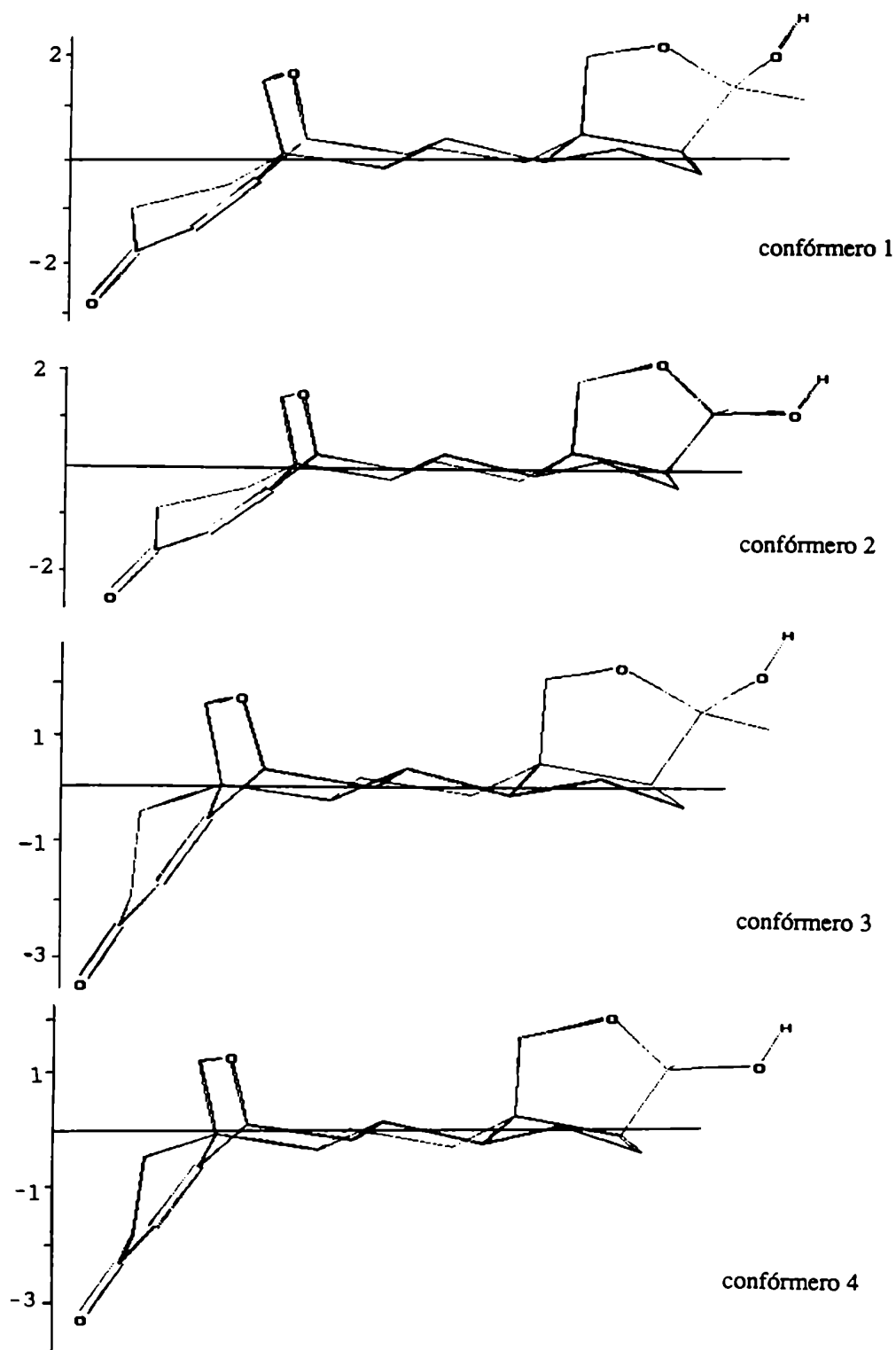


Figura 61- Proyección lateral (A) de los conformeros de 18-hidroxi-
-6,19-óxidoprogesterona (19) obtenidos con PCModel-MMX.

los anillos A y B, que es cuasi-trans en los conformeros 1 y 2 y cuasi-cis en los conformeros 3 y 4. También se presentan los valores de energía según se calcularon con el programa PCModel-MMX, encontrándose que el conformero 3 fue el más estable. Este resultado es similar al obtenido para la molécula 6,19-óxidoprogesterona (15) en donde se observó que el conformero más estable era el que poseía una unión de anillos A y B cuasi-cis [Brachet-Cota, 1989]. Se analizaron además las conformaciones de las uniones de anillos y sus respectivos valores J y T, que son la suma de los valores absolutos de los ángulos de torsión endocíclicos del enlace en común en la fusión de anillos.

Tabla 8- Parámetros geométricos de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19)

Ángulos (°) diedros correspondientes a la unión de los anillos:

conformeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
anillo A/plano C5-C17	-41,62	-40,29	-60,84	-59,78
plano A/ plano A-B	-21,17	-21,71	21,30	27,31
A-B/ B	58,79	58,26	66,60	60,20
B/ B-C	-44,91	-45,27	-44,88	-45,16
B-C/ C	48,62	49,44	48,33	49,11
C/ C-D	-47,02	-48,03	-44,20	-47,72
C-D/ D	49,10	50,84	46,35	50,62
Energía (kcal/mol)	62,8	66,0	59,0	62,3

Conformación en la unión de los anillos:

	conformero 1	conformero 2	conformero 3	conformero 4
A/B (J°)	cuasi-t(69,0)	cuasi-t(68,0)	cuasi-c(97,8)	cuasi-c(97,7)
B/C (T°)	trans (104,1)	trans (103,4)	trans (104,2)	trans (103,4)
C/D (T°)	trans (102,2)	trans (102,5)	trans (102,6)	trans (102,4)

En la tabla 9 se detallan las distancias entre los átomos de los grupos funcionales y el plano C5-C17, y las distancias interatómicas entre los mismos. Se observa una diferencia de aproximadamente 0,8 Å para la distancia del O3 al plano C5-C17 entre los confórmeros 1 y 3 ó entre los confórmeros 2 y 4, debido a la torsión del anillo A. También existe un alejamiento de 0,7 Å para el O20 entre los confórmeros 1 y 2 ó los confórmeros 3 y 4, debido a la dife-

Tabla 9- Constantes geométricas de los confórmeros más estables de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19).

Distancias de grupos funcionales al plano C5-C17 (orientaciones):

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C18 (β -axial)	1,97	1,94	1,94	1,96
C19 (β -axial)	1,50	1,53	1,54	1,57
O18	2,20	2,32	2,17	2,33
O6 (β -axial)	1,63	1,61	1,65	1,59
O3 (ecuatorial)	-2,88	-2,75	-3,53	-3,45
O20	1,97	1,28	1,95	1,31

Distancias interatómicas entre grupos funcionales.

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
O3-O6	5,57	5,55	5,76	5,76
O3-O18	10,13	10,25	9,70	9,82
O3-O20	11,26	11,70	10,80	11,09
O6-O18	6,45	6,24	6,50	6,26
O6-O20	7,35	8,15	7,44	8,16
O18-O20	2,32	2,34	2,32	2,34

Ángulos de pseudotorsión C19-C10...C13-C18.

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
ángulos	-18,0	-21,0	-19,5	-22,4

rencia conformacional del anillo F. Esto también produce un aumento de 3° (entre conformero 1 y conformero 2 ó conformero 3 y conformero 4) en el ángulo de pseudotorsión general de la molécula, mientras que el pasar de cuasi-trans a cuasi-cis produce un aumento de $1,5^\circ$ (entre conformero 1 y conformero 3 ó conformero 2 y conformero 4).

II-Conformación por anillos.

A continuación se describe el análisis cuantitativo que se realizó en cada anillo del núcleo esteroideal para los cuatro conformeros de mínima energía. Se calcularon los valores de los parámetros según las fórmulas descritas más arriba. Esto fue realizado con el programa Lotus 1-2-3, el cual contiene una planilla de cálculo. Los gráficos fueron realizados con el programa Quattro Pro 1.0, compatible con los archivos generados con el programa Lotus, y cuya salida gráfica es más completa.

Anillo A.-Este presentó una conformación de mínima energía que fue 2β -sobre para los conformeros 1 y 2, parámetro de asimetría menos desviado del ideal (elemento dominante) el del plano especular, que atraviesa los átomos C2 y C5 ($\Delta C_s^2=7,43$ en el conformero 1 y $\Delta C_s^2=8,4$ en el conformero 2). El siguiente elemento de simetría dominante fue el eje de rotación que bisecta los enlaces C1-C2 y el opuesto C4-C5 ($\Delta C_2^{1,2}=18,4$ en el conformero 1 y $\Delta C_2^{1,2}=17,1$ en el conformero 2). El valor más alejado fue el del eje de rotación que pasa por los enlaces C1-C10 y C3-C4 (conformero 1 $\Delta C_2^{1,10}=52,4$ y conformero 2 $\Delta C_2^{1,10}=52,0$).

La conformación 1β -sobre fue la de menor energía para los conformeros 3 y 4, cuyo elemento dominante fue el del plano

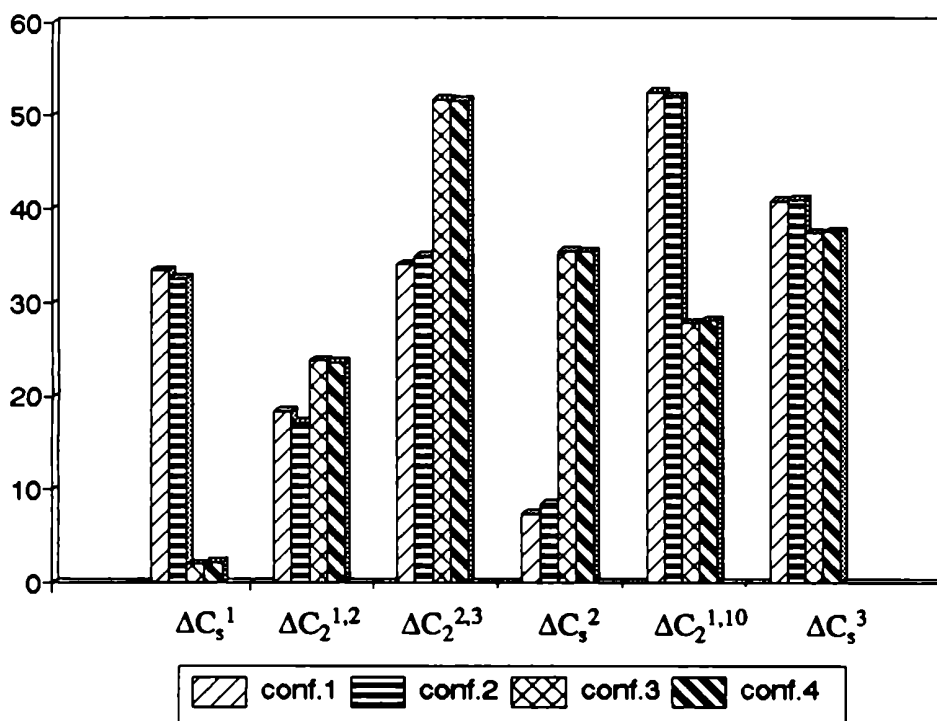


Figura 62- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo A realizada con el programa Quattro Pro.

especular que pasa por el C1 ($\Delta C_3^1=1,9$ para el conformero 3 y $\Delta C_3^1=2,2$ en el conformero 4). El siguiente elemento de simetría fue el eje de rotación por el enlace C1-C2 ($\Delta C_2^{1,2}=23,8$ y $23,5$ para el conformero 3 y 4 respectivamente). El elemento de simetría más alejado del ideal fue el eje de rotación que pasa por el enlace

Tabla 10- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo A.

C2-C3 ($\Delta C_{2^2,3}=51,6$ para ambos conforméromos). Todos estos datos pueden compararse a partir del gráfico de la figura 62.

Los promedios de los ángulos endocíclicos oscilaron entre 24,7 y 25,5 para los diferentes conforméromos. En la tabla 10 se muestran las desviaciones de los átomos del anillo A con respecto al plano de cuadrados mínimos que pasa por los C3, C4, C5 y C10. En ésta se observa como la mayor desviación corresponde al C2 para el conforméromo 1 y conforméromo 2 (2 β -sobre) mientras que es el C1 para los conforméromos 3 y 4 (1 β -sobre). En la figura 63 se encuentran las representaciones de los anillos A de los diferentes conforméromos.

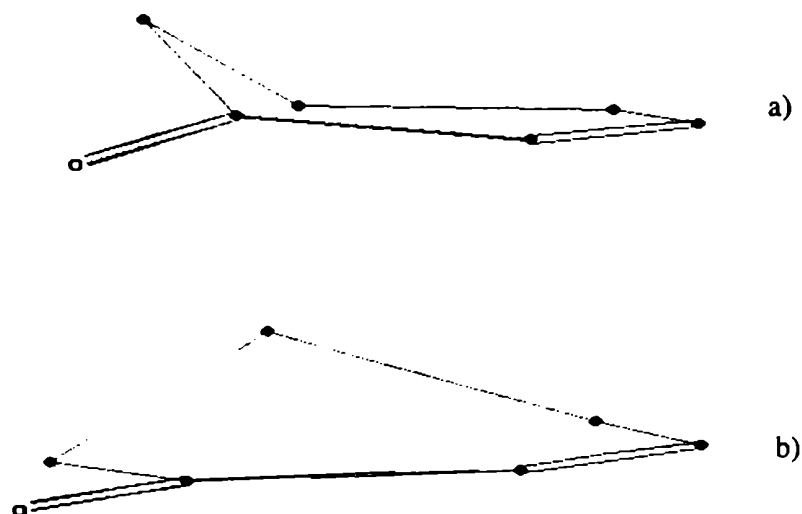


Figura 63- Anillo A de: a) conforméromo 1, b) conforméromo 3.

Anillo B.- En este anillo la conformación de menor energía fue la silla distorsionada para todos los conforméromos (figura 68). Los valores de los parámetros de asimetría calculados se representan en la figura 64. Para los conforméromos 1 y 2 el elemento de simetría dominante fue intermedio entre el eje de rotación por el enlace C5-C6 ($\Delta C_{2^5,6}=5,1$ y $5,6$ respectivamente) y el plano especular por el átomo C5 ($\Delta C_s^5=5,5$ y $4,4$). En los conforméromos 3 y 4 el

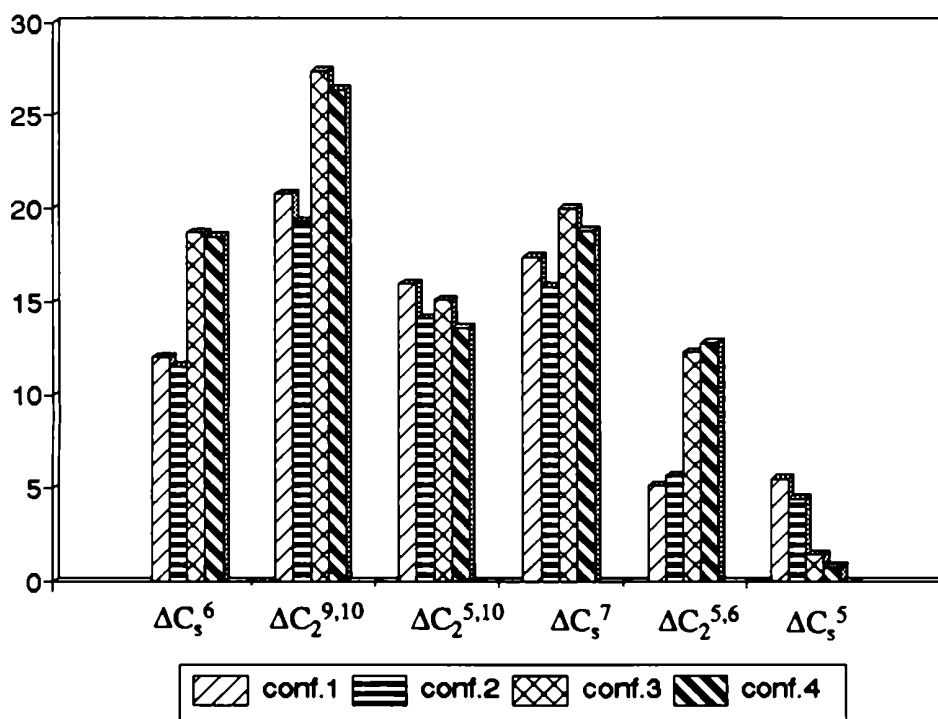


Figura 64- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo B.

elemento de simetría dominante fue este último, con valores poco alejados del ideal ($\Delta C_3^5=1,4$ y $0,7$ respectivamente). La variación del tipo de distorsión se debe a la diferencia conformacional en la fusión de anillos A y B, que se transmite al anillo B. El elemento de simetría más distorsionado en todos los casos fue el del eje de rotación que pasa por el enlace C9-C10 (valores de $\Delta C_2^{9,10}$ son 20,8, 19,3, 27,4, 26,4 correspondientes a los conformeros 1, 2, 3 y 4). El promedio de los ángulos de torsión endocíclicos fue: conformero 1=58,7°; conformero 2=58,9°; conformero 3=61,0°; conformero 4=61,3°; y por lo tanto el primero tiene el valor más cercano a 56° que corresponde a la silla del ciclohexano, según se midió experimentalmente [Bucourt, 1975]. En la tabla 11 se muestran las desviaciones de los átomos con respecto al plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C6, C7, C9 y C10.

Tabla 11- Distancias (A) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo B.

confórmers:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C5	-0,80	-0,80	0,85	0,85
C6	0,02	0,02	0,01	0
C7	-0,02	-0,02	0	0
C8	0,60	0,62	0,60	0,61
C9	0,02	0,02	0	0
C10	-0,02	-0,02	0	0
promedios	58,69°	58,94°	60,97°	61,30°

Anillo C.-También se observó una silla distorsionada pero en menor magnitud que en el anillo B (figura 66). Como se puede encontrar en el gráfico de la figura 65, los parámetros de asimetría tienen valores en el rango de 0-15. Estos son menores que los correspondientes al anillo B, que resultaron ser entre 0-30, como se aprecia en la figura 64.

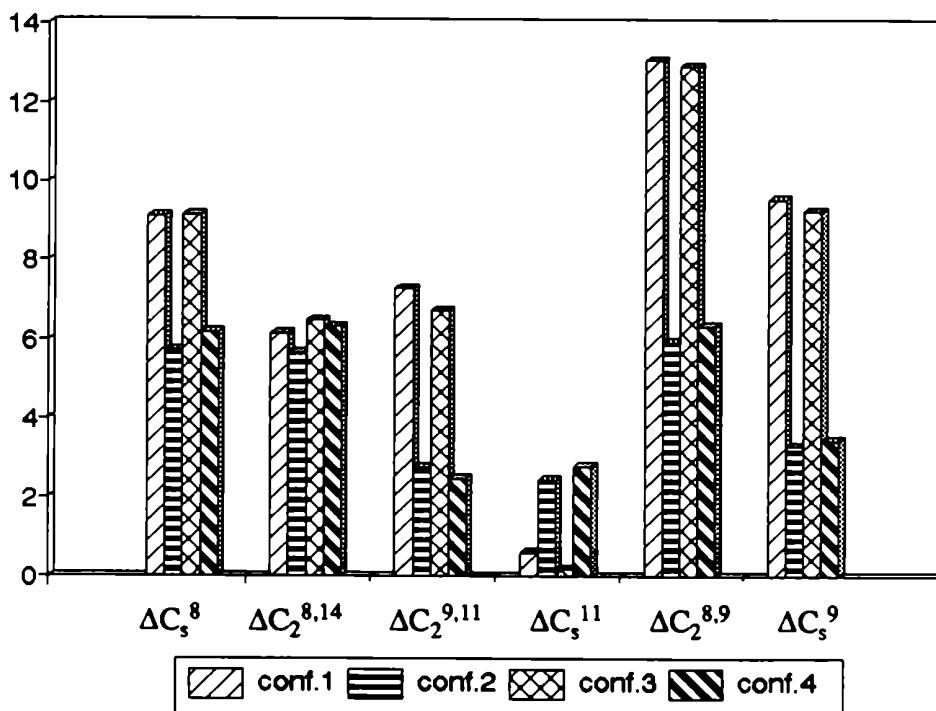


Figura 65- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo C.

El elemento de simetría dominante fue el del plano especular que pasa por C11 para el confórmero 1 ($\Delta C_s^{11}=0,6$) y el confórmero 3 ($\Delta C_s^{11}=0,2$). En los confórmeros 2 y 4 el elemento de simetría dominante fue intermedio entre el eje de rotación por el enlace C9-C11 (confórmero 2 $\Delta C_2^{9,11}=2,76$; confórmero 4 $\Delta C_2^{9,11}=2,49$) y el plano especular por el C11 (confórmero 2 $\Delta C_s^{11}=2,45$; confórmero 4 $\Delta C_s^{11}=2,79$). Para todos los confórmeros la mayor distorsión se observó en el eje de rotación por el enlace C8-C9 ($\Delta C_2^{8,9}=13,1, 5,9, 12,9, 6,3$ para los confórmeros 1, 2, 3 y 4 respectivamente). Los valores de los parámetros de asimetría en la figura 65 sugieren que los confórmeros 1 y 3 tienen formas similares para este anillo mientras que los confórmeros 2 y 4 lo son entre sí. Esto probablemente ocurre debido a la diferencia en la conformación del anillo F que es la misma en cada par de confórmeros analizado en el párrafo anterior. El promedio de los ángulos diedros del anillo y las desviaciones de los átomos respecto al plano de cuadrados mínimos que contiene a los átomos C8, C9, C12 y C13 se encuentran resumidas en la tabla 12.

Tabla 12- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo C.

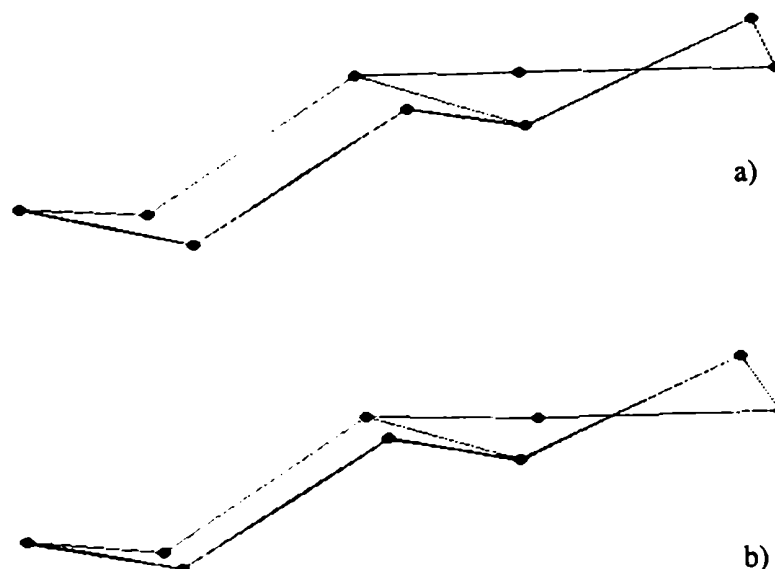


Figura 66- Anillos C y D de: a) conformero 1, b) conformero 2.

Anillo D.-La conformación de este anillo resultó ser semisilla C14-C15 en todos los conformeros (figura 66). Según se representa en el gráfico de la figura 67, los valores de los parámetros para este anillo son prácticamente coincidentes para todos los casos analizados. El elemento de simetría del eje de rotación por el enlace C14-C15 fue dominante ($\Delta C_2^{14,15}=0,7$ hasta $2,1$ según el conformero) mientras que el más distorsionado fue el plano especular que pasa por el átomo C13 ($\Delta C_s^{13}=46,1$ hasta $48,9$). La tabla 13 muestra las desviaciones de los átomos del anillo con respecto al plano de cuadrados mínimos definido por C14, C15, C16 y C17. También se pueden encontrar los valores de los promedios de los ángulos diedros en donde es destacable la similitud de los valores. De todo esto se deduce que para esta molécula la diferencia en la conformación del anillo F no modifica al anillo D.

Tabla 13- Distancias (A) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo D.

confórmers:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C13	0,46	0,49	0,44	0,51
C14	-0,12	-0,13	-0,13	-0,13
C15	0,19	0,21	0,21	0,19
C16	-0,25	-0,25	-0,23	-0,26
C17	0,18	0,17	0,15	0,19
promedios	30,2°	31,6°	30,0°	31,6°

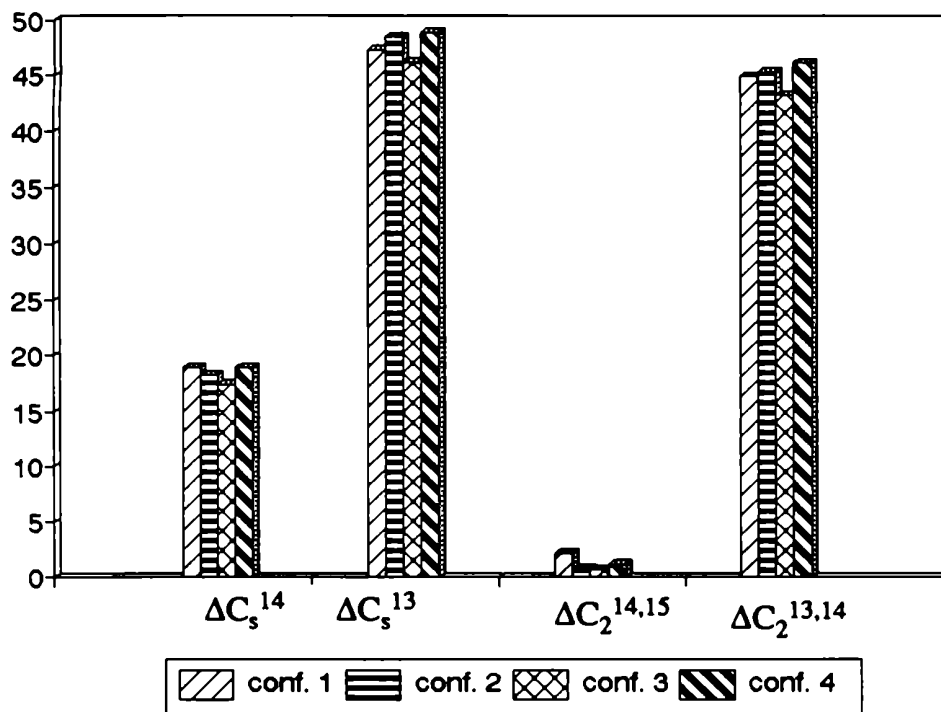


Figura 67- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo D.

Anillo E.- La formación del puente 6 β ,19-óxido crea dos anillos adicionales. Estos se encuentran representados en la figura 68. Uno de los anillos es de 5 miembros y posee una conformación de mínima energía tipo semisilla C5-C10 en todos los confórmers. El elemento

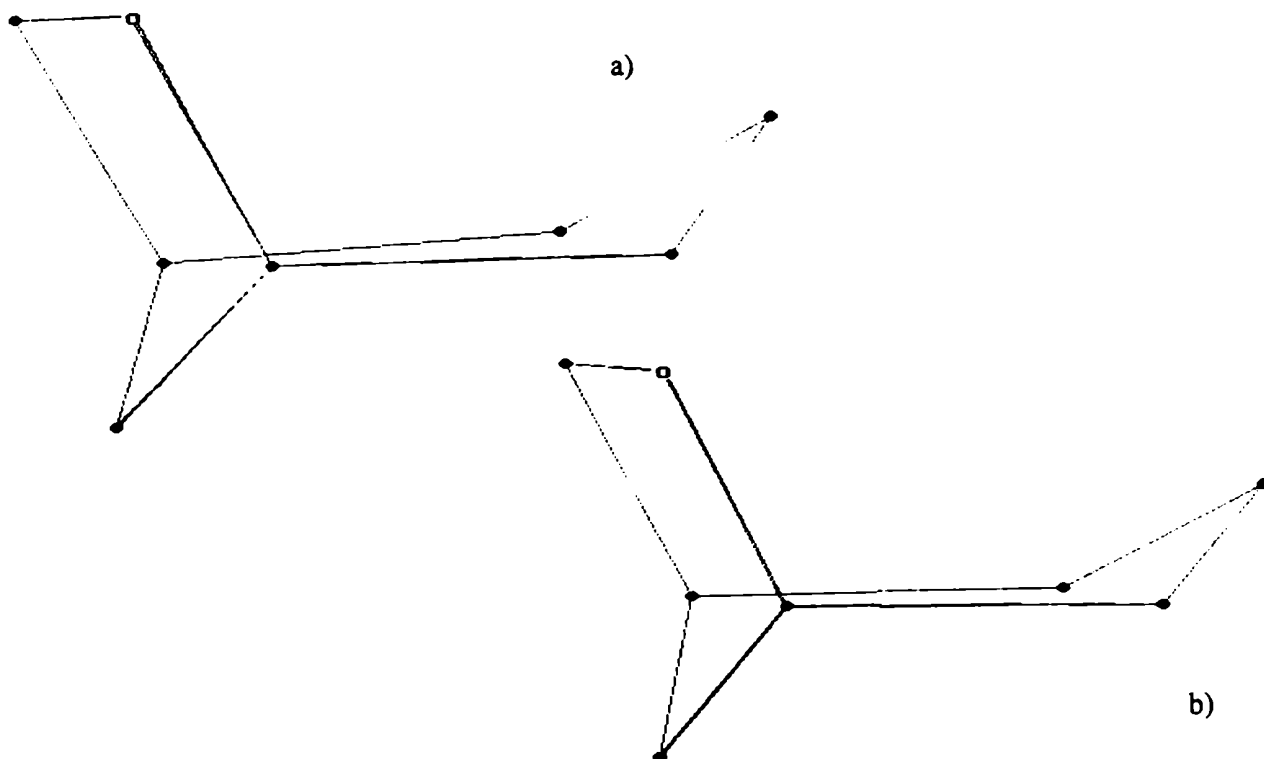


Figura 68- Anillos B y E del: a) confórmero 1, b) confórmero 3

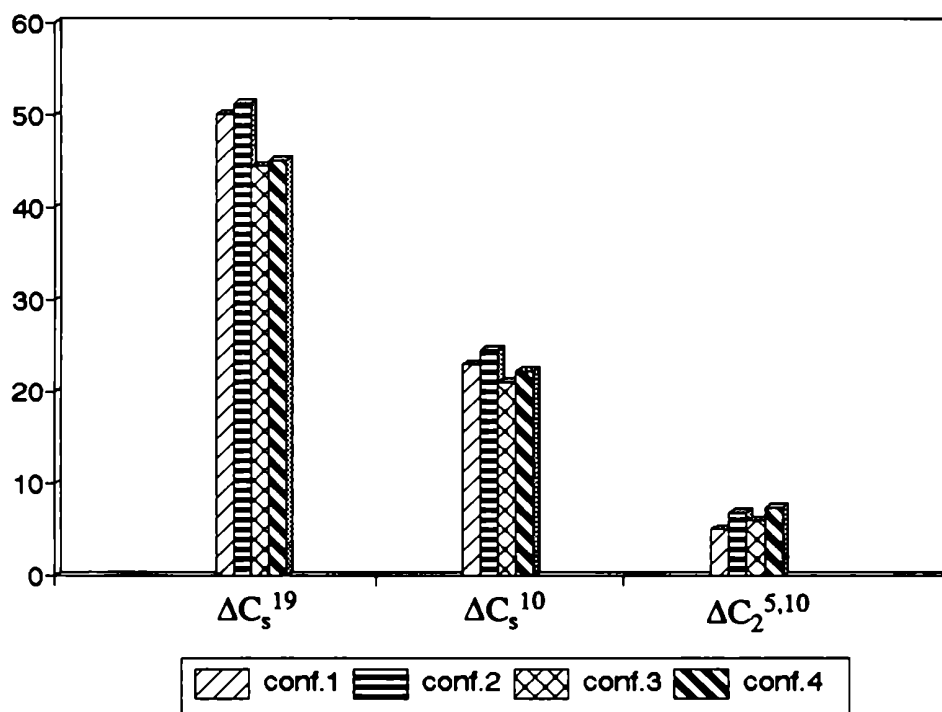


Figura 69- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo E.

de simetría dominante como se puede apreciar en el gráfico de la figura 69, fue el eje de rotación que pasa por el enlace C5-C10 ($\Delta C_2^{5,10}=5,1; 6,8; 6,0; 7,4$ para los conformeros 1, 2, 3 y 4 respectivamente). El otro anillo es de 7 miembros, y tiene conformación bote, cuya base está formada por los átomos C6, C7, C9 y C10.

Anillo F.-El hemiacetal entre O18 y C20 crea un anillo adicional de 5 miembros. Los datos de los parámetros de asimetría se representan en la figura 70. Su conformación en los conformeros 1 y 3 es semisilla en el enlace C18-O18 y tiene el elemento de simetría dominante según el eje de rotación por el mismo ($\Delta C_2^{18,0}=1,6$ para el conformero 1 y 4,1 para el conformero 3). Para los conformeros 2

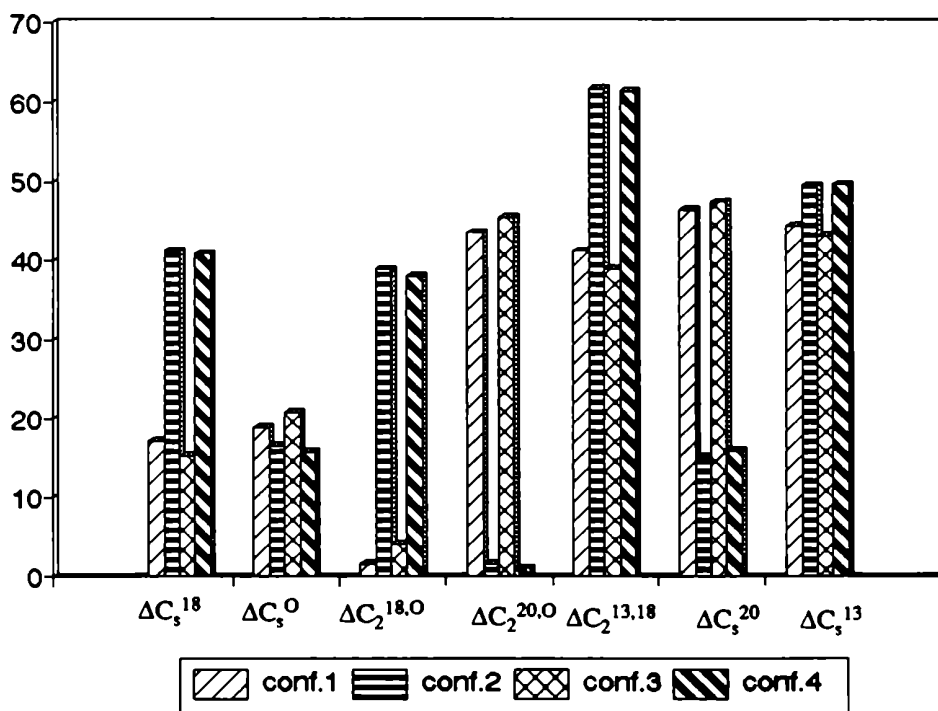


Figura 70- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo F.

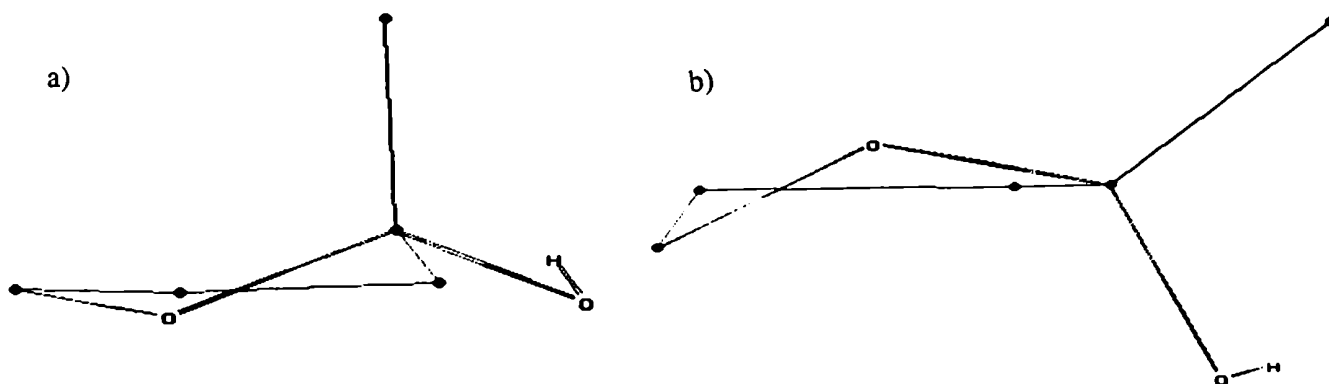


Figura 71- Anillo F de: a) conformero 1, b) conformero 3.

y 4 este anillo es una semisilla entre C20-018 y el elemento de simetría dominante es el eje de rotación a través del mismo enlace C20-018 ($\Delta C_2^{2^0,0} = 1,7$ para el conformero 2 y 1,0 para el conformero 4). Esta variación induce a que existan diferentes orientaciones del hidroxilo unido al C-20 según se aprecia en la figura 71.

ANALISIS CONFORMACIONAL DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (20).

I-Conformación general.

Para esta molécula también se observaron 4 conformeros de mínima energía, los cuales provienen de la combinación de las dos posibles conformaciones en la fusión de los anillos A y B (cuasi-cis o cuasi-trans), y del anillo F (C18 sobre y O18-C20 semisilla). En la figura 72 se muestran las proyecciones de dichos conformeros según el plano definido por los átomos C5-C17, que se realizó con el programa Proyecciones V.90.2.

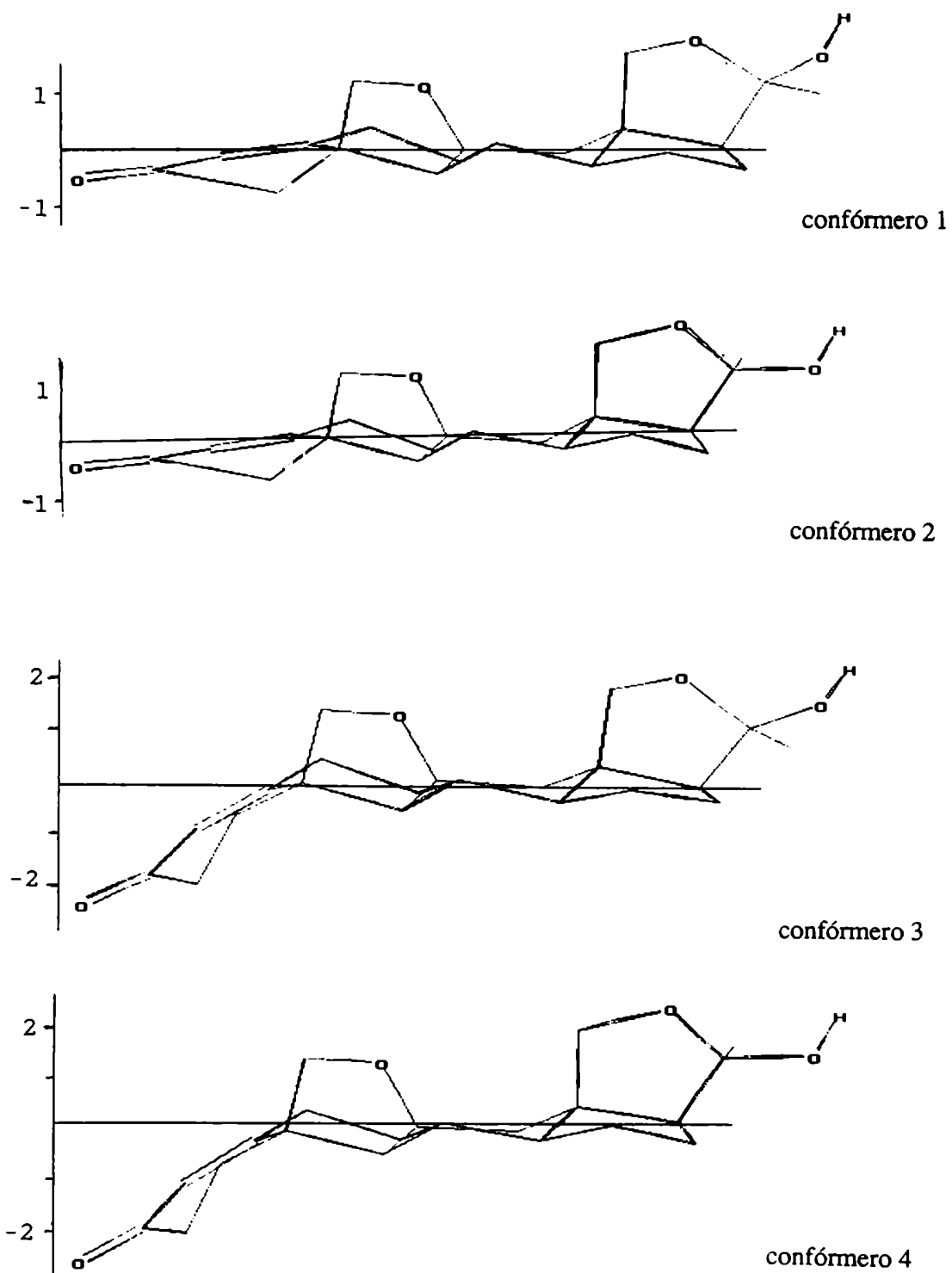


Figura 72- Proyección lateral de los conformeros de 18-hidroxi-
-11,19-óxidoprogesterona (20) obtenidos con el programa
PCModel-MMX.

Se puede observar que los conformeros 1 y 2 poseen una fusión de anillos A y B cuasi-trans. La diferencia en la orientación del hidroxilo en C20 es producida por la variación conformacional en el anillo F. El conformero 1 tiene su anillo F como C18-sobre, mientras que el conformero 2 lo tiene como O18-C20-semisilla. La misma diferencia se observa al comparar los conformeros 3 y 4. En estos últimos el anillo A se encuentra como 1 β -sobre debido a la fusión de anillos A y B cuasi-cis, que también produce la curvatura del anillo A hacia la cara α del esteroide.

En la tabla 14 se presentan las energías de los conformeros de menor energía encontrados. Se observó que la diferencia de energía entre los conformeros cuasi-trans y cuasi-cis para el 11,19-éter 20 ($|\text{conf.1-conf.3}|=4,8$; $|\text{conf.2-conf.4}|=4,7$) era mayor que la diferencia de energía entre los mismos conformeros del 6,19-éter 19 ($|\text{conf.1-conf.3}|=3,8$; $|\text{conf.2-conf.4}|=3,7$). Esto indicaba que los conformeros cuasi-cis de mayor energía, tendrían una abundancia menor que los conformeros cuasi-trans. Allinger y colaboradores [Burkert, 1982] denotaron que los cálculos realizados con mecánica molecular para moléculas no polares son insensibles a la fase en que se encuentran; en particular el campo de fuerza MM2 realiza los cálculos para fase gaseosa (molécula aislada). En el caso de moléculas polares con heteroátomos, como los esteroides analizados en la presente tesis, si se encuentran en solución se debería considerar el efecto del solvente. Este puede asociarse a la constante dieléctrica del mismo (D), y se esperaría que un aumento en la D del medio disminuya los valores numéricos de las interacciones electrostáticas [Burkert, 1982]. Se realizó el análisis de la variación de la energía según la polaridad del medio para los

confórmeros 1 y 4 de 20 que son los que tienen la mayor diferencia de energía entre sí, con el programa QUANTA (ver apéndice de métodos computacionales). Se utilizó el valor de D=1 es decir el que corresponde a la molécula aislada (como considera el programa PCModel) y el valor de D=80, equivalente a tener un solvente como agua y usado para simular el medio fisiológico [Plaskon, 1991]. Se observó que al aumentar la polaridad la diferencia de energía entre los confórmeros 1 y 4 disminuyó en 2,9 kcal/mol. Por lo tanto podría ocurrir que en solución la población de los confórmeros cuasi-cis fuera apreciable. Las poblaciones no pueden ser calculadas con exactitud ya que se estima que el error del programa PCModel-MMX para calcular la energía de moléculas de 50-60 átomos como los esteroides es de aproximadamente 2 kcal/mol, valor que modificaría enormemente la proporción de confórmeros. De todas formas se debe tener en cuenta que en el medio biológico el equilibrio se desplazaría hacia la forma plana (probablemente activa, según se discutió en el capítulo 1) debido a su incorporación al receptor.

Se compararon las estructuras de los confórmeros calculadas con ambos programas y no se observaron variaciones importantes. En la figura 73 se pueden comparar las diferencias geométricas entre el confórmero más estable 1 y el confórmero menos estable 4, los cuales se encuentran superpuestos y proyectados según vista desde la cara β y vista lateral.

En la tabla 14 se presentan los parámetros geométricos calculados con el programa PCModel-MMX y el programa Planos V.90.2. Con ellos se determinaron los planos ajustados por el método de cuadrados mínimos correspondientes a cada anillo y unión de anillos y el ángulo de torsión entre los mismos. Se puede observar que la

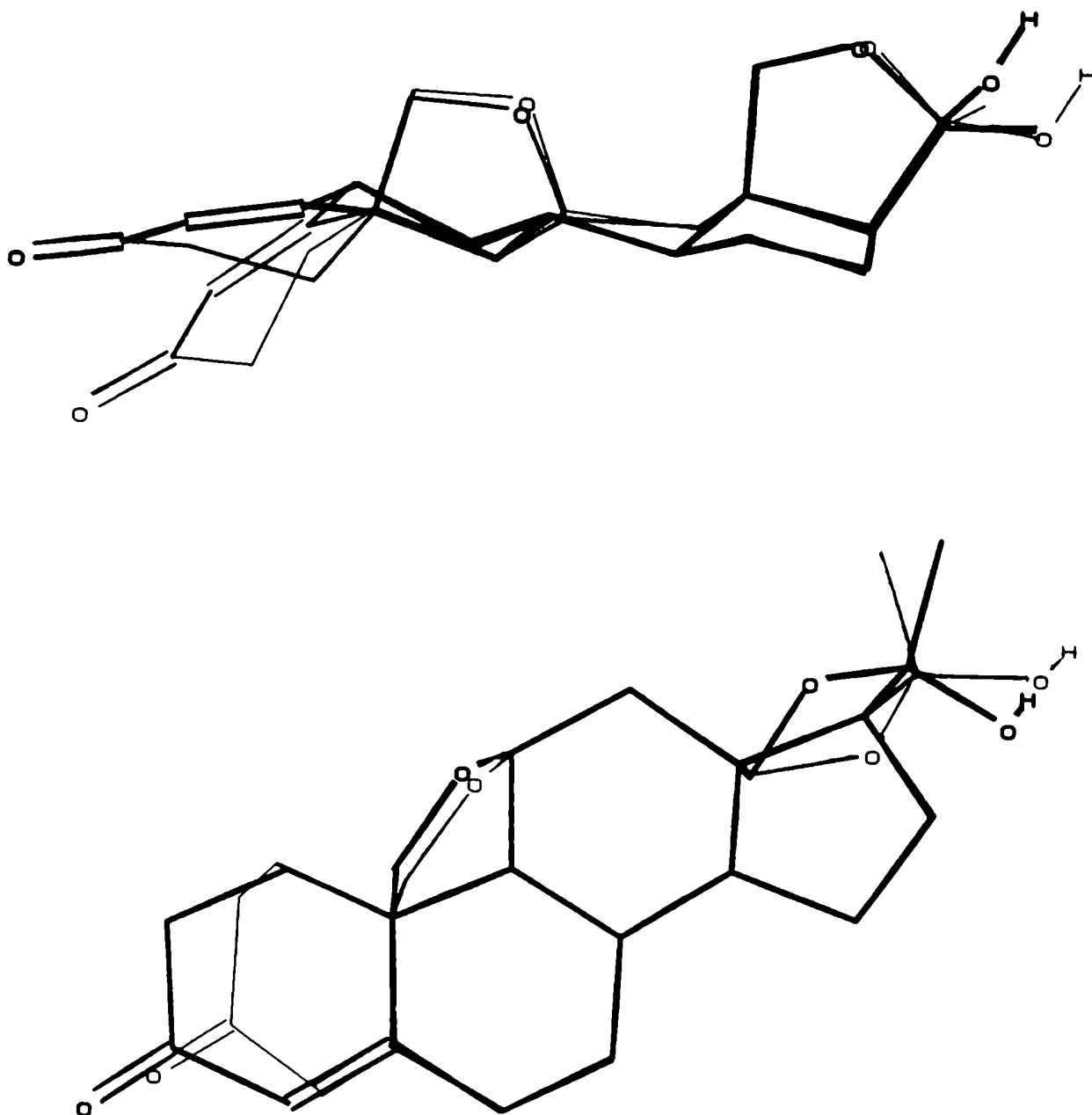


Figura 73- Proyecciones de la superposición del conformero 1 más estable (trazo grueso) y del conformero 4 menos estable (trazo fino) de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20) realizadas con el programa PCModel-MMX.

diferencia de la conformación en la fusión de anillos A y B produce una variación de 30° en el ángulo diedro del anillo A y el plano C5-C17 entre los confórmeros cuasi-trans (1 y 2) y los confórmeros cuasi-cis (3 y 4). Es notable que los valores son bastante menores que los observados para 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) en la tabla 8, lo cual denota la mayor planaridad que introduce la formación del éter entre los átomos C11 y C19. Los valores de energía según se calcularon con el programa PCModel-MMX, mostraron

Tabla 14- Parámetros geométricos de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20)

Ángulos diedros correspondientes a la unión de los anillos:

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
anillo A/plano C5-C17	-12,23	-12,46	-43,76	-44,55
plano A/ plano A-B	-34,36	-33,66	27,52	28,83
A-B/ B	53,14	52,02	52,13	51,96
B/ B-C	-59,48	-60,14	-58,93	-59,19
B-C/ C	45,49	46,14	46,64	46,91
C/ C-D	-44,64	-44,56	-44,83	-45,45
C-D/ D	48,90	50,58	47,46	51,88
Energía (kcal/mol)	59,3	62,3	64,2	67,1
Energía (D=1)*	13,4	16,3	-	21,8
Energía (D=80)*	48,1	49,1	-	53,6

*Cálculos realizados con el programa Quanta para los valores de cte. dieléctrica D indicados.

Conformación en la unión de los anillos:

confórmeros	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
A/B (J) cuasi-t	(60,5)	cuasi-t(62,1)	cuasi-c(63,7)	cuasi-c(66,9)
B/C (T) trans	(119,1)	trans (119,3)	trans (118,5)	trans (118,1)
C/D (T) trans	(104,0)	trans (104,2)	trans (105,5)	trans (104,2)

que el conformero 1 es el más estable, el cual además es el más plano en su estructura general. Además se analizaron las conformaciones de las uniones de anillos y sus respectivos valores J y T.

En la tabla 15 se detallan las distancias entre los átomos de los grupos funcionales y el plano C5-C17, y las distancias interatómicas entre los mismos. Se observa una diferencia de casi 2 Å para la distancia entre el O3 y el plano C5-C17. También existe

Tabla 15- Constantes geométricas de los conformeros más estables de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20).

Distancias de grupos funcionales al plano C5-C17 (orientaciones):

conformeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C18 (β -axial)	2,05	1,99	1,99	2,03
C19 (β -axial)	1,39	1,37	1,46	1,49
O18	2,42	2,44	2,29	2,43
O11 (β -axial)	1,42	1,30	1,44	1,46
O3 (ecuatorial)	-0,74	-0,63	-2,49	-2,57
O20	2,11	1,52	1,80	1,45

Distancias interatómicas entre grupos funcionales.

conformeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
O3-O11	6,23	6,24	6,51	6,5
O3-O18	10,12	10,20	10,14	10,2
O3-O20	11,64	12,06	11,61	11,7
O11-O18	4,18	4,52	4,16	4,5
O11-O20	6,17	6,47	6,25	6,4
O18-O20	2,32	2,34	2,33	2,3

Ángulos de pseudotorsión C19-C10...C13-C18.

conformeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
ángulos	27,6	24,9	22,9	20,5

una variación en la distancia del O20 a dicho plano, observándose que en los confórmeros 2 y 4 es menor que en los confórmeros 1 y 3. Los valores para estos dos últimos difieren en 0,3 Å entre sí, a pesar de ser similares en la conformación del anillo F.

II-Conformación por anillos.

Anillo A.-Las conformaciones observadas son, para los confórmeros 1 y 2 1 α -sobre (figura 74) cuyo elemento de simetría dominante fue el plano especular por el átomo C1 ($\Delta C_{s1} = 1,0$ en el confórmero 1 y 1,3 en el confórmero 2); para los confórmeros 3 y 4 1 β ,2 α -semisilla con elemento de simetría dominante según el eje de rotación que bisecta el enlace C1-C2 ($\Delta C_{21,2} = 2,1$ en el confórmero 3 y $\Delta C_{21,2} = 5,5$ en el confórmero 4). El elemento más alejado del ideal resultó ser en todos los casos el del eje de rotación que pasa por el enlace C2-C3 ($\Delta C_{22,3} = 51,9$; 53,7; 47,2 y 49,1 para los confórmeros 1, 2, 3 y 4 respectivamente). Estos datos pueden compararse en el gráfico de la figura 75.

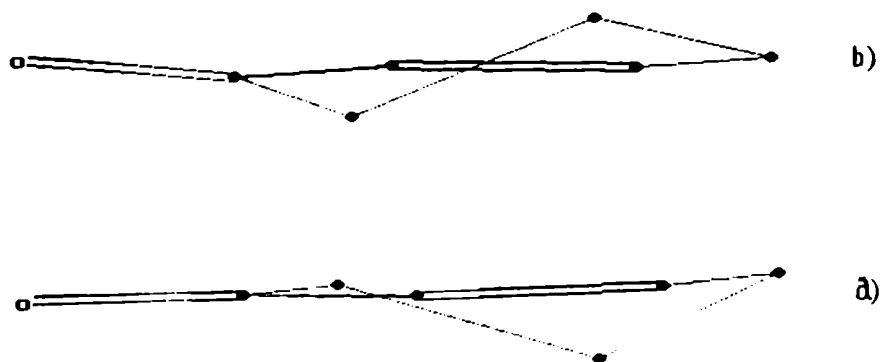


Figura 74- Anillo A de: a) confórmero 1, b) confórmero 3.

En la tabla 16, se muestran los valores para las desviaciones de los átomos respecto al plano de cuadrados mínimos que contiene a los átomos C3, C4, C5 y C10 y el promedio de los ángulos diedros del anillo.

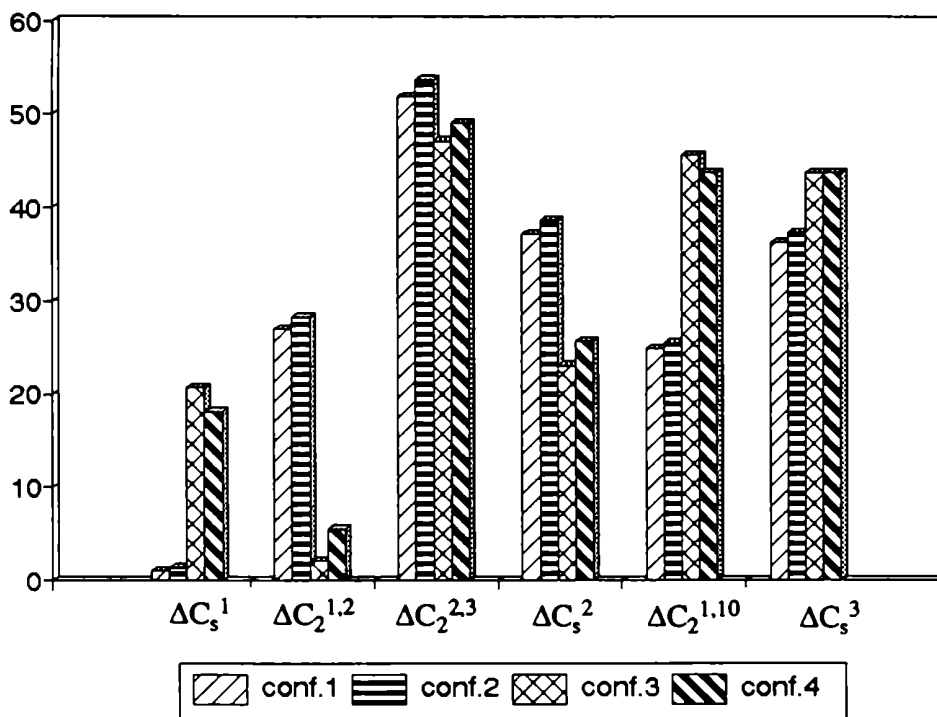


Figura 75- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo A.

Tabla 16- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo A.

Anillo B.-La conformación fue tipo silla en todos los conformeros, aunque resultó ser más distorsionada para los conformeros 1 y 2, según se puede comparar analizando los datos de los parámetros de asimetría en el gráfico de la figura 76. El elemento de simetría dominante para los conformeros 1 y 2 fue el del eje de rotación por el enlace C5-C10 ($\Delta C_2^{5,10}=2,4$ y $4,2$ respectivamente), mientras que fue según el eje por el enlace C9-C10 para los conformeros 3 y 4 ($\Delta C_2^{9,10}=2,0$ y $2,6$ respectivamente). La mayor distorsión se observó en este parámetro para el conformero 1 ($\Delta C_2^{9,10}=24,1$) y el conformero 2 ($\Delta C_2^{9,10}=24,4$). Para los conformeros 3 y 4 la mayor distorsión correspondió al elemento de simetría según el eje de rotación por el enlace C5-C6 ($\Delta C_2^{5,6}=9,3$ y $7,4$).

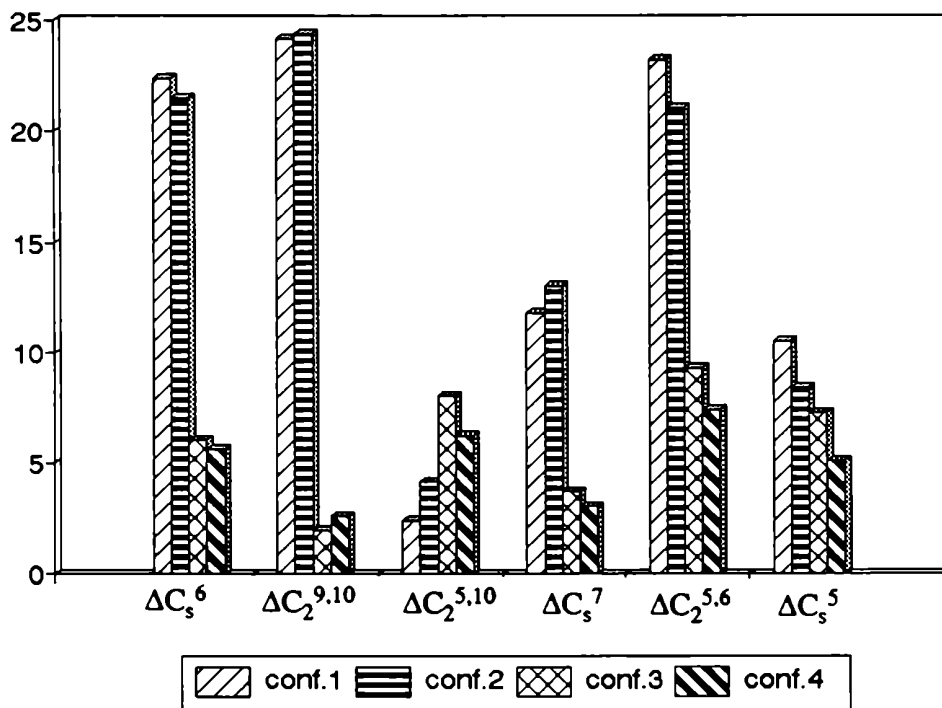


Figura 76- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo B.

En la tabla 17 se presentan los valores de las desviaciones de los átomos respecto al plano de cuadrados mínimos que contiene a los átomos C6, C7, C9 y C10 y el promedio de los ángulos diedros.

Tabla 17- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo B.

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C5	-0,44	-0,45	-0,62	-0,62
C6	0,05	0,04	0,40	0,30
C7	-0,05	-0,04	-0,04	-0,03
C8	0,75	0,76	0,69	0,70
C9	0,05	0,04	0,04	0,03
C10	-0,05	-0,04	-0,04	0,02
promedios	50,4°	51,3°	56,6°	57,4°

Anillo C.-Su conformación resultó ser tipo silla distorsionada pero en menor magnitud que en el anillo B. En la figura 77 se encuentran representados ambos anillos para los diferentes confórmeros. El elemento de simetría dominante en todos los casos fue el del eje de rotación por el enlace C8-C14 ($\Delta C_2^{8,14}=3,7$; 3,9; 1,3; 1,7 correspondientes a los confórmeros 1, 2, 3, y 4). La mayor distorsión se observó en el eje de rotación por el enlace C8-C9 ($\Delta C_2^{8,9}=22,4$; 15,7; 14,2 para los confórmeros 1, 2 y 4 respectivamente) salvo en el caso del confórmero 3, en donde en el eje por el enlace C9-C11 fue un poco mayor ($\Delta C_2^{9,11}=20,2$). En el gráfico de la figura 78 se muestran los valores de los parámetros de asimetría de los diferentes confórmeros.

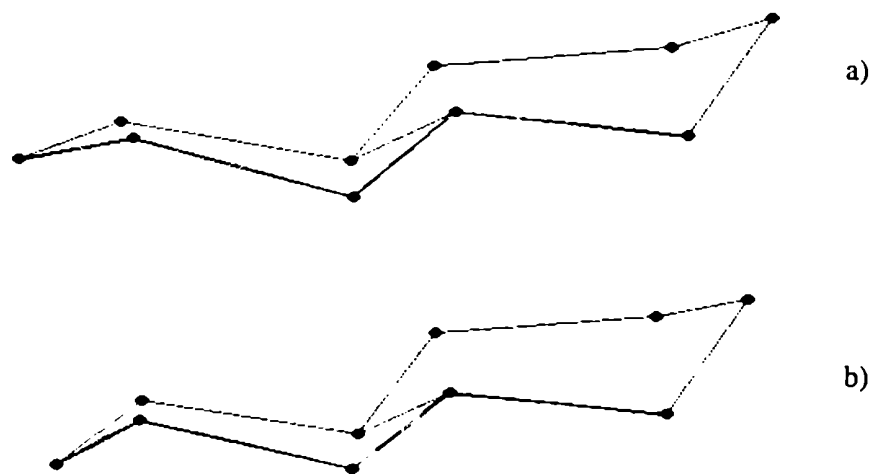


Figura 77- Anillos B y C de: a) conformero 1, b) conformero 3.

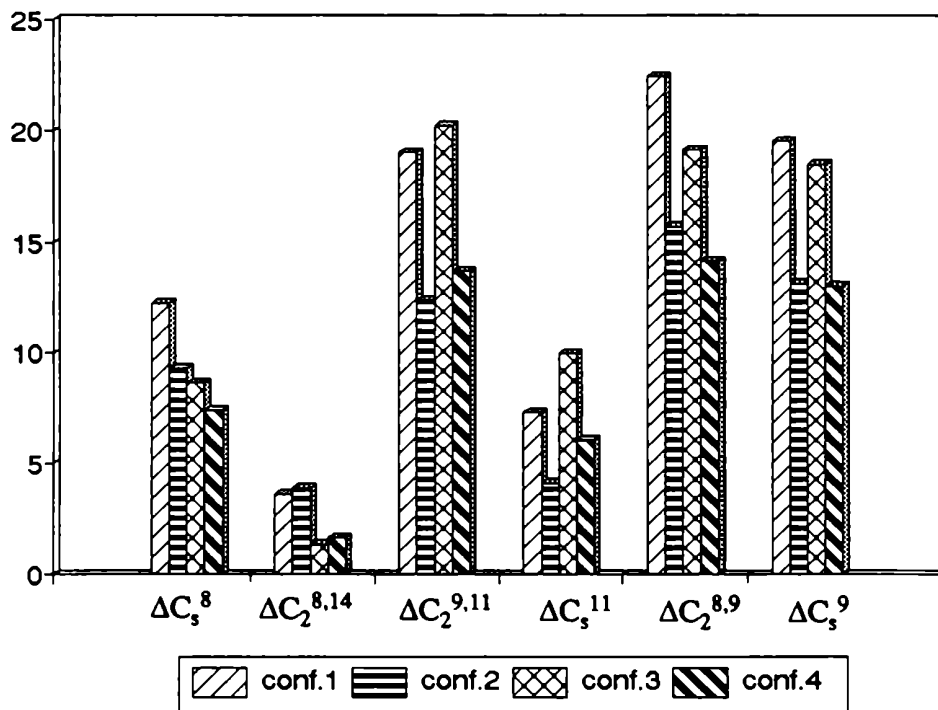


Figura 78- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo C.

Los valores de los promedios de los valores absolutos para los ángulos diedros endocíclicos y las desviaciones de los átomos respecto al plano de cuadrados mínimos que contiene a los átomos C8, C9, C12 y C13, se resumen en la tabla 18.

Tabla 18- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo C.

confórmeros:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C8	0,03	0,02	0,05	0,03
C9	-0,03	-0,02	-0,05	-0,03
C11	0,52	0,58	0,56	0,60
C12	0,03	0,02	0,05	0,03
C13	-0,03	-0,02	-0,05	-0,03
C14	-0,77	-0,74	-0,77	-0,75
promedios	54,9°	56,0°	55,7°	56,6°

Anillo D.-La conformación de este anillo para los confórmeros 1, 2 y 4 fue 14 α ,15 β -semisilla y con elemento de simetría dominante según el eje de rotación por el átomo C17 ($\Delta C_2^{14,15}=7,2; 2,7; 5,2$ respectivamente) mientras que el confórmero 3 tuvo conformación 14 α -sobre y cuyo elemento de simetría dominante fue de plano especular por el átomo C14 ($\Delta C_s^{14}=1,9$). En todos los casos la mayor desviación se encontró en el elemento de simetría plano especular por el átomo C13 ($\Delta C_s^{13}=42,0; 47,7; 31,2; 46,6$ para los confórmeros 1, 2, 3 y 4 en ese orden). Estos datos pueden compararse en el gráfico de la figura 79. Las desviaciones de los átomos del anillo con respecto al plano de cuadrados mínimos que contiene a los átomos C14, C15, C16 y C17 y los valores de los

promedios de los valores absolutos para los ángulos diedros endocíclicos, se resumen en la tabla 19. La representación de las diferentes conformaciones encontradas para este anillo se encuentran en la figura 80.

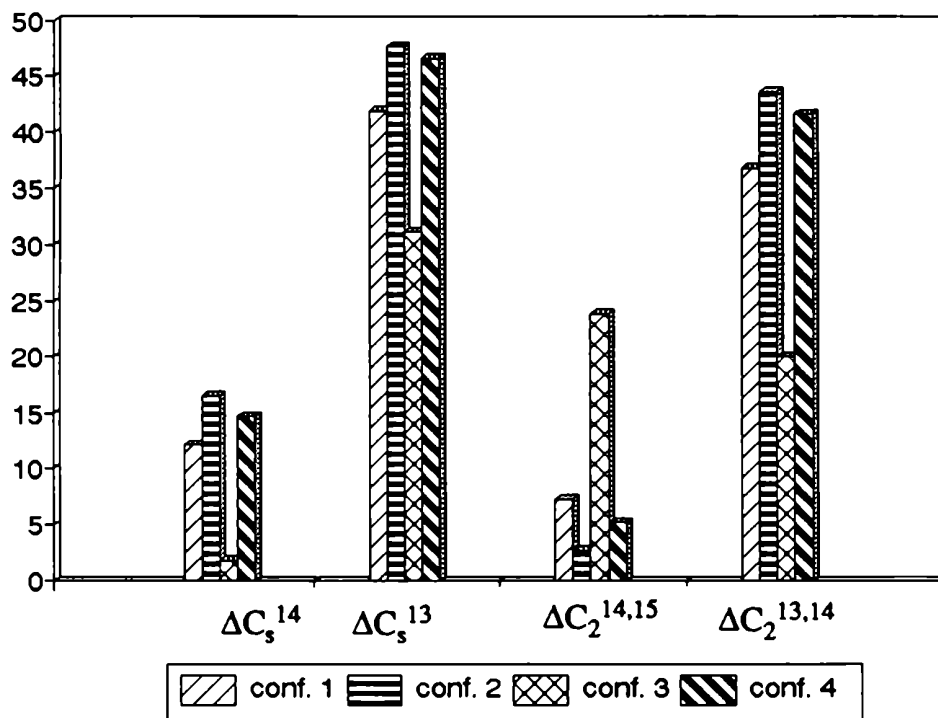


Figura 79- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo D.

Tabla 19- Distancias (Å) de los átomos al plano de cuadrados mínimos del anillo D.

confórmers:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
C13	0,44	0,44	0,58	0,54
C14	-0,12	-0,13	-0,09	-0,13
C15	0,23	0,26	0,14	0,19
C16	-0,20	-0,23	-0,15	-0,24
C17	0,08	0,10	0,11	0,17
promedios	29,7°	31,9°	27,8°	31,9°

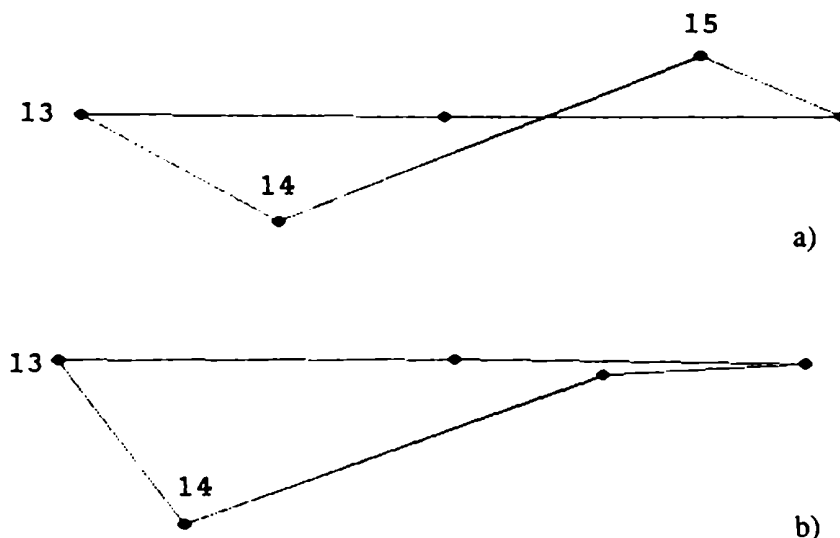


Figura 80- Anillo D de: a) confórmero 1, b) confórmero 3.

Anillo E.-La formación del éter 11,19-óxido crea un anillo adicional de 5 miembros, de 9a-sobre en todos los confórmeros (figura 81). El elemento de simetría dominante fue el plano especular por el C_9 ($\Delta C_s^9 = 3,1; 5,2; 4,0; 2,5$ en los confórmeros 1, 2, 3 y 4). El elemento de simetría más desviado resultó ser el plano por el C_{11} para los confórmeros 1, 3 y 4 ($\Delta C_s^{11} = 32,5; 35,0; 34,5$ en ese orden), mientras que para el confórmero 2 fue el plano por C_{10} ($\Delta C_s^{10} = 35,2$), como se puede comparar en el gráfico de la figura 82.

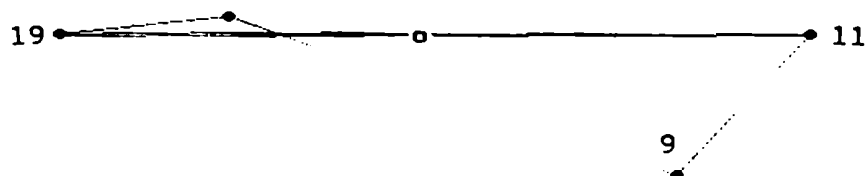


Figura 81- Anillo E de cualquier confórmero.

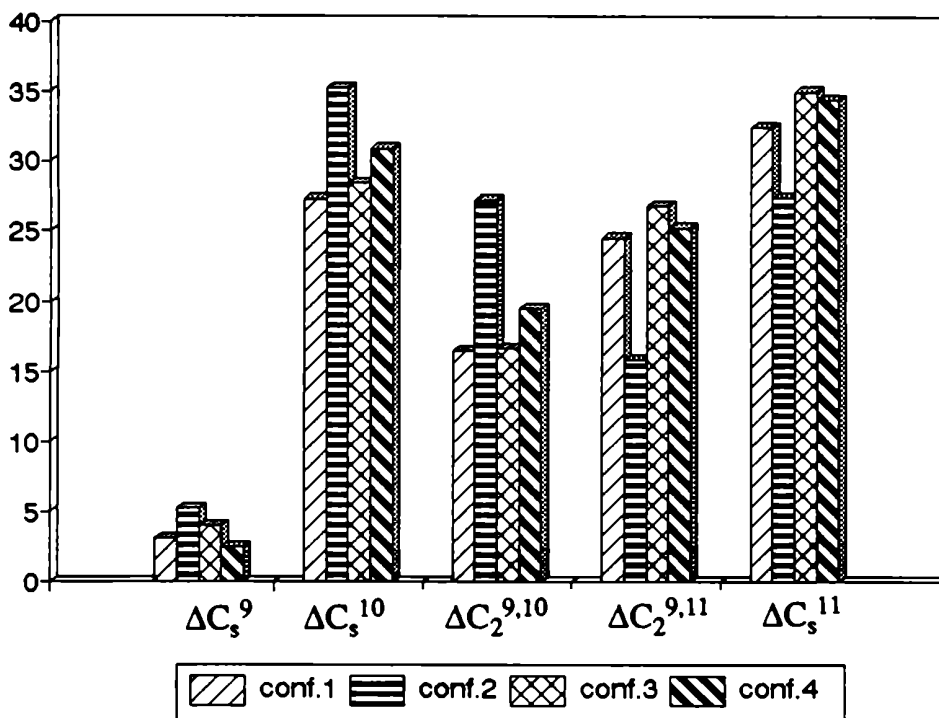


Figura 82- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo E.

Anillo F.-Proviene de la formación del 18,20-hemicetal y consiste en un anillo tetrahidrofurano de 5 miembros. La conformación resultó ser C18 sobre (figura 83) en los conformeros 1 y 3 con elemento de simetría dominante especular por el C18 ($\Delta C_s^{18}=4,9$; $5,0$ respectivamente). Para los conformeros 2 y 4 se encontró una conformación de mínima energía O18-C20-semisilla y de elemento de simetría dominante de eje de rotación por el enlace C20-O18 (valores de $\Delta C_2^{20,0}=4,0$ y $6,4$ en ese orden). Esta variación produce la existencia de diferentes orientaciones del 20-hidroxilo según se aprecia en la figura 83. Los datos de los parámetros de asimetría pueden compararse en el gráfico de la figura 84.

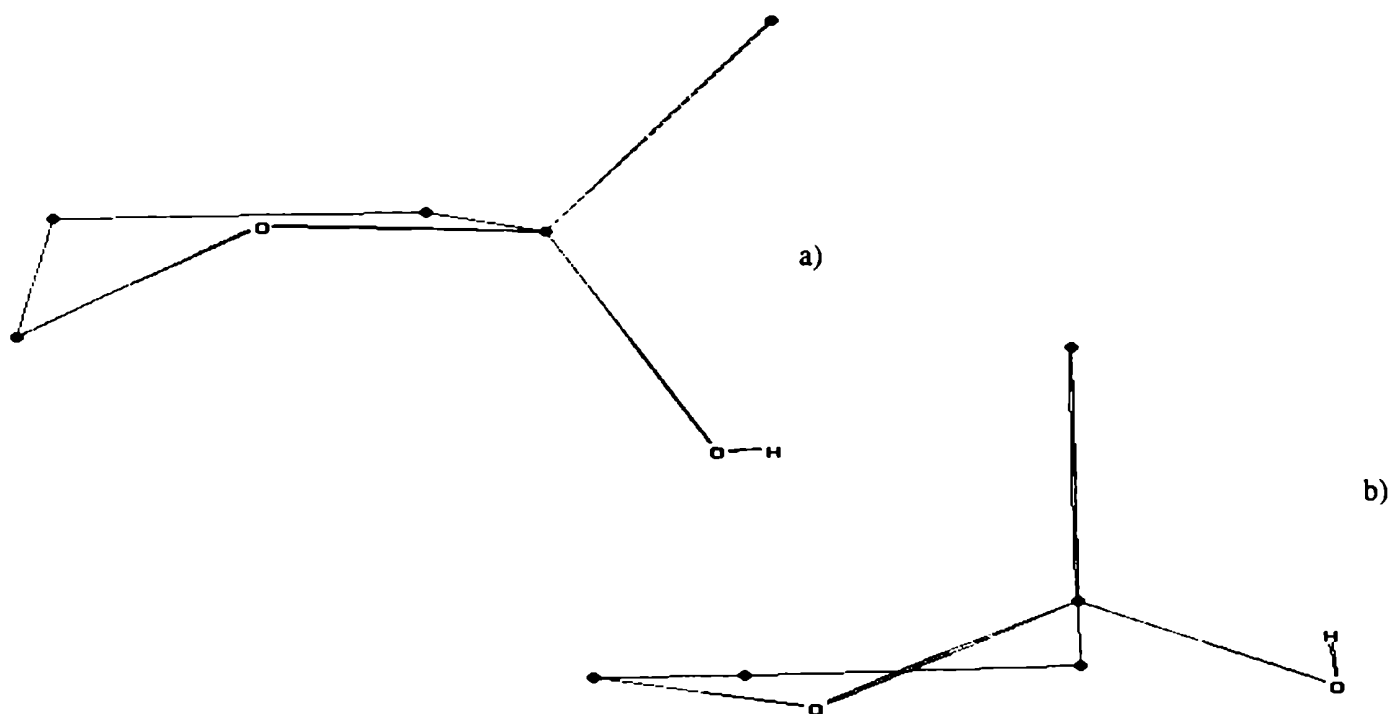


Figura 83- Anillo F de: a) conformero 1, b) conformero 2.

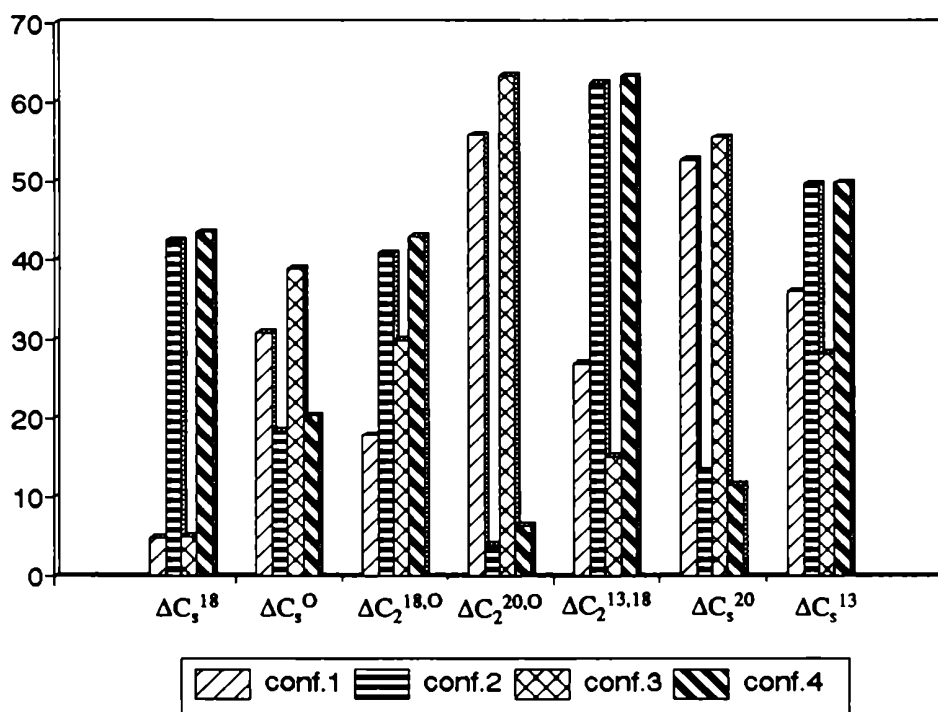


Figura 84- Representación de los parámetros de asimetría para el anillo F.

OBSERVACIONES.

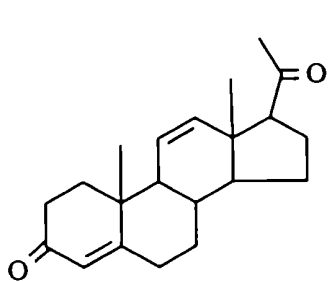
Un análisis general de los datos geométricos que se encuentran más arriba para los confórmeros más estables de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19, confórmero 3) y de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20, confórmero 1), indicarían que tienen una estructura general plana para los anillos B, C y D (valores de σ , tabla 20). La mayor diferencia está dada en el anillo A que tiene una curvatura apreciable hacia la cara α en el caso del 6,19-éter 19 y una forma plana para el 11,19-éter 20 (valores de τ y DO, tabla 20).

Como se mencionó en el capítulo 1 (pág. 6) Yamakawa y colaboradores [Yamakawa, 1986] midieron la afinidad por la unión al receptor mineralocorticoide (AUR) para 5 análogos de aldosterona, encontrando que dicha afinidad era mayor si existían menores repulsiones causadas por interacciones 1,3 diaxiales en la cara β del núcleo esteroideal. Con datos geométricos obtenidos a partir de mediciones espectroscópicas de rayos X, encontraron que existía una relación cuantitativa entre la AUR y la distancia del oxígeno de C-3 al plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C-5 a C-14 (DO):

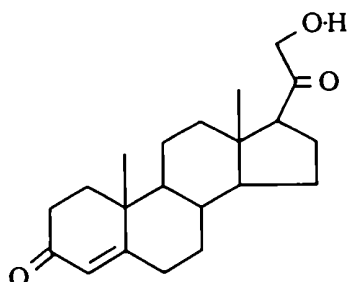
$$\log (\text{AUR}) = -0,823 (\text{DO}) + 3,13$$

En esta expresión se observa la relación inversa entre el valor de DO y de AUR. En la tabla 20 (pág. 149) se encuentran los valores de DO calculados con el programa Planos V.90.2. Se consideraron los compuestos sintetizados 19 y 20, sus análogos sin hidroxilo en C-18 15 y 17, el compuesto plano Δ^1 -progesterona (85) y el

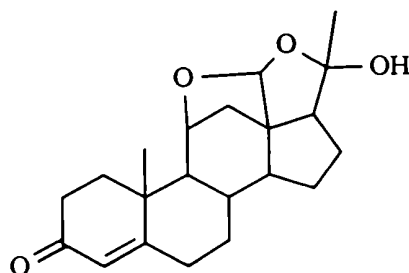
mineralocorticoide más potente aldosterona (6). Es necesario aclarar que si bien la aldosterona se observó en solución como mezcla de las formas mono y biscetalica [Genard, 1978], se postuló que ésta última es la forma activa [Yamakawa, 1986]. También se observó únicamente la forma biscetalica en estado sólido por estudios de Rx [Duax, 1972] y se propuso que si bien esta forma se encuentra más tensionada, especialmente en la zona de anillo C, esto se compensa con la formación de los puentes óxido estables.



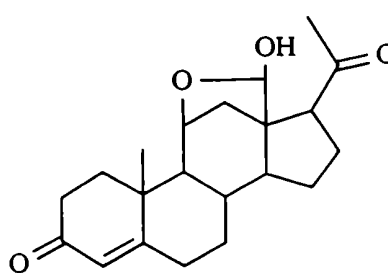
(85)



(2)



(6)-biscetal



(6)-monocetal

Los valores de DO obtenidos indicarían que las moléculas que contienen el 11,19-éter (17 y 20) tendrían mayor afinidad por el receptor que la aldosterona, y se esperaría que tuvieran una alta respuesta biológica. De hecho se observó que 17 tiene respuesta 50% mayor que el mineralocorticoide natural 11-desoxicorticosterona (DOC, 2) [Brachet-Cota, 1989].

Tabla 20- Comparación de parámetros geométricos obtenidos con el programa PCModel-MMX.

Compuesto	d (Å)	τ (°)	DO (Å)	σ
18-hidroxi- 6,19-óxidoP (<u>19</u> *)	8,7	-60,8	-3,3	0,27
18-hidroxi- 11,19-óxidoP (<u>20</u> *)	9,9	-12,2	-0,6	0,26
6,19-óxidoP (<u>15</u> #)	8,7	-57,0	-3,1	0,27
11,19-óxidoP (<u>17</u> #)	9,9	-14,6	-0,5	0,26
Δ^{11} -P (<u>85</u> #)	9,8	-19,4	-1,0	0,26
aldosterona biscetálica (<u>6</u>)	9,7	-9,9	-1,7	0,27

d= distancia entre el O-3 y el C-17.

τ = ángulo entre los planos de cuadrados mínimos del anillo A y el plano definido por C-5 a C-17.

DO= distancia entre el O-3 y el plano de cuadrados mínimos definido por los átomos C5 a C-14.

σ = desviación estandar media de los átomos C-5 a C-17.

*- se consideran los conformeros más estables.

#- se considera al conformero que tiene la cadena lateral con el O-20 eclipsando al C13.

El hemicetal que se forma entre el hidroxilo en C-18 y el carbonilo en C-20 del 11,19-éter 20 agrega un anillo que le confiere mayor rigidez en la zona del anillo D (ver figura 85 para comparar con aldosterona). Si se tiene en cuenta la rigidez en la zona de anillos A, B y C producida por el 11,19-éter se puede asegurar que 20 es una molécula globalmente rígida. En consecuencia se esperaría un aumento aún mayor de la respuesta biológica con respecto a la que se obtuvo con una molécula plana pero flexible como Δ^{11} -desoxicorticosterona (12) [Kamata, 1987].

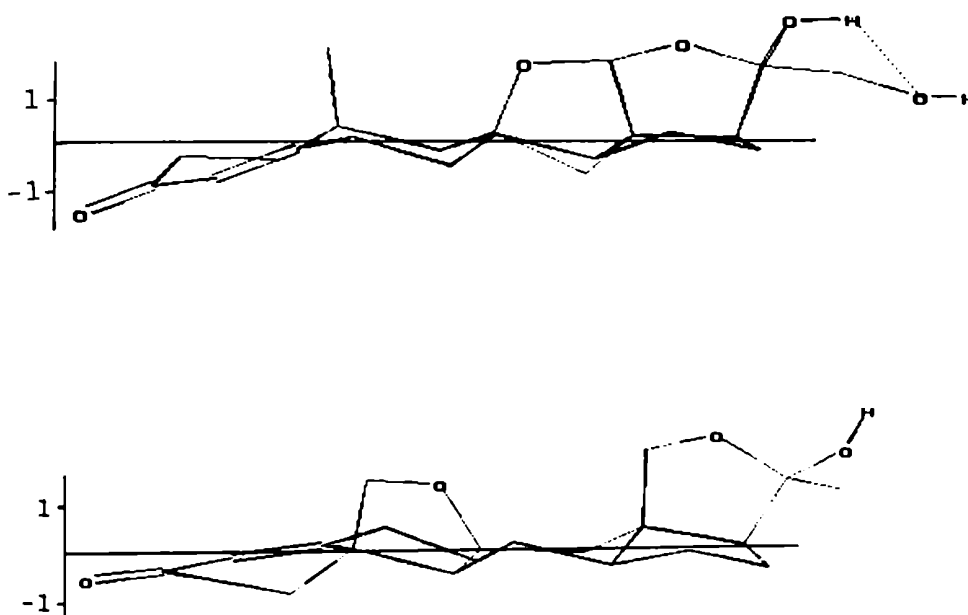


Figura 85- Proyección de aldosterona (6) y 20 según el plano C5-C14. Estructuras obtenidas con el programa PCModel-MMX (vista lateral (A)).

Con una serie de ejemplos se analizó en el capítulo 1 (pág. 7) como variaba el tipo de respuesta biológica según la ubicación espacial de grupos formadores de interacciones electrostáticas o uniones puente de hidrógeno en la zona de anillo D. El hidroxilo hemiacetalico en C-20 introduce en el 11,19-éter 20 un grupo polar ubicado espacialmente en forma similar al que se encuentra en la aldosterona (6) como se puede observar en la figura 86.

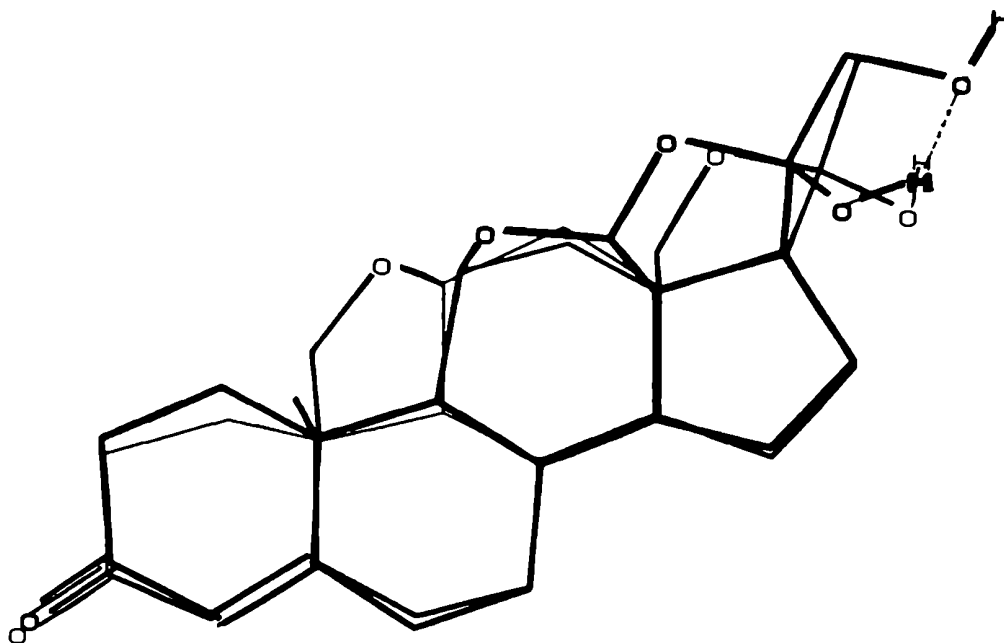


Figura 86- Superposición de 20 (trazo delgado) y aldosterona (6) (trazo grueso) según el mejor ajuste entre los átomos C5-C17 de ambas moléculas. Estructuras obtenidas con el programa PCModel-MMX (vista superior).

Se postuló que la actividad biológica de una molécula dependía principalmente de dos procesos: su pasaje a través de la membrana para alcanzar el sitio activo (receptor) y su interacción con dicho sitio [Osman, 1979]. Este último proceso depende principalmente de los factores estéricos que se discutieron más arriba. El pasaje transmembrana se asocia a una distribución entre una fase hidrofóbica y una hidrofílica, y un parámetro utilizado para evaluarlo

es el coeficiente de partición, generalmente medido entre octanol y agua [Hansch, 1971]. Este coeficiente puede ser descrito en función de propiedades geométricas de la molécula como la superficie de las esferas de Van der Waals y de hidratación [Bodor, 1989]. Utilizando el programa PCModel se pudieron obtener las áreas polares y no polares de dichas superficies (tabla 21 y figura 87). Se puede observar que los valores para el 18-hidroxi-11,19-éter (20) se asemejan más a los de la aldosterona (6) que en el caso del 11,19-éter (17). Se podría preveer entonces que el agregado del hidroxilo en C-18 produciría una mayor aproximación al comportamiento obtenido para aldosterona (6) en el medio biológico ensayado en los experimentos in vivo.

Tabla 21- Areas calculadas con PCModel.

		<u>17</u>	<u>20</u>	aldosterona (<u>6</u>)
área hidratación (Å ²)	polar	88	103	138
	no polar	395	400	360
área Van der Waals (Å ²)	polar	53	64	79
	no polar	267	270	254

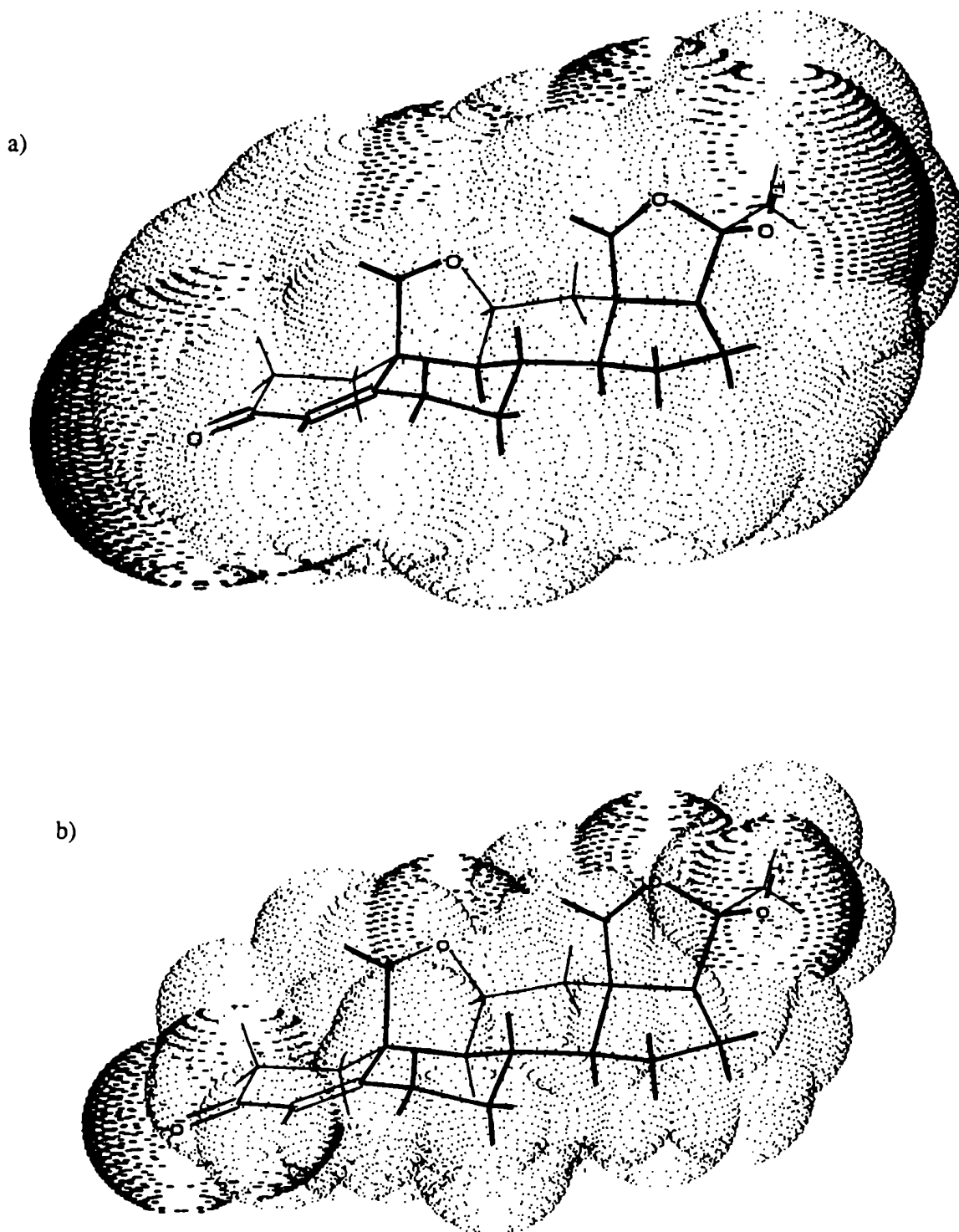


Figura 87- Esferas de hidratación a) y de Van der Waals b) de 20 según representación del programa PCModel.

CAPITULO 7
PARTE EXPERIMENTAL

GENERALIDADES.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H) y de ^{13}C (RMN ^{13}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 CDCl_3 como solvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresaron en partes por millón (ppm) respecto del TMS y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).

Los espectros de RMN ^1H se midieron en tubos de 5 mm aplicando pulsos de 90° y un tiempo de repetición de 4,7 seg sobre un ancho espectral de 1500 Hz. El tipo de señal de RMN ^1H obtenida se indica en cada caso como s (singulete), d (doblete), da (doblete ancho), ba (banda ancha).

Los espectros de RMN ^{13}C se midieron en tubos de 5 mm aplicando pulsos de 45° y un tiempo de repetición de 0,71 seg sobre un ancho espectral de 5700 Hz. Los espectros de RMN ^{13}C totalmente desacoplados de ^1H se obtuvieron por irradiación de los ^1H a una frecuencia central correspondiente a 4 ppm modulada por un barrido de onda cuadrada. Las multiplicidades de las señales fueron determinadas por la técnica de ecos de spin con desacople alternado (APT: test de protones vecinales) [Shoolery, 1984] utilizando la secuencia de pulsos $90^\circ_x - \tau - 180^\circ_y - \tau - \text{FID}$ ($\tau = 7$ mseg) y cortando el desacoplador entre los dos primeros pulsos o con la técnica de desacople retrasado (Single Pulse Delayed Decoupling) [Bigler, 1983] utilizando la secuencia $90^\circ - \tau - \text{FID}$ ($\tau = 7$ mseg) cortando el desacoplador durante el período τ y extendiendo artificialmente el

origen de la FID al instante posterior a la finalización del pulso mediante un "llenado con ceros". Este método tiene la ventaja de poder utilizar un pulso de observación de cualquier ángulo, y evita el uso de un pulso de 180° como en el método anterior (APT) que es poco selectivo en equipos de RMN sin amplificadores de pulso adicionales, como el utilizado.

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

Los espectros de RMN ^1H indicados en este capítulo para los productos sin purificar fueron realizados sobre una muestra analítica del compuesto mayoritario obtenido en cada caso. Los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos descritos en este capítulo se encuentran detallados en el apéndice correspondiente (pág. 175).

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

Los puntos de fusión (p.f.) fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no se corrigieron.

Las cromatografías líquidas de alta resolución (CLAR) preparativas se realizaron en un cromatógrafo líquido Micromeritics con inyector manual (modelo 730) y detector de índice de refracción, utilizando una columna de fase reversa Altech RSil C18 HL con tamaño de partícula 10 micrones (10x500 mm). Los sistemas utilizados para purificar las muestras se determinaron por cromatografía en capa delgada en fase reversa sobre cromatoplasmas HPTLC-RP18 (Aldrich), detectadas por exposición a vapor de yodo.

Las cromatografías en capa delgada (ccd) analíticas se realizaron sobre sílicagel en cromatoplasmas Aldrich o Merck eluidas con mezcla hexano:acetato de etilo 7:3 o 1:1 según la polaridad de la muestra. La detección se realizó por inmersión en una solución de ácido sulfúrico 10% en etanol y posterior calentamiento a 100-120°C, o por exposición a vapor de yodo.

Las cromatografías en placa preparativa (CPP) se realizaron sobre sílicagel en cromatoplasmas Aldrich o similares.

Las cromatografías en columna (CC) se realizaron utilizando como adsorbente florisil [Snyder, 1963] de malla 100-200 eluyendo bajo presión de nitrógeno. Las cromatografías Flash (CF) se realizaron utilizando sílicagel (60, malla 230-400, Merck 9385 o equivalente) y bajo presión de nitrógeno [Still, 1978].

Los solventes fueron purificados por destilación y evaporados a presión reducida a menos de 50°C en un rotavapor-R (Buchi). Los solventes utilizados en CLAR fueron bidestilados y filtrados a través de membranas de teflón o nylon 66 de 450 nm de tamaño de poro.

Las reacciones con irradiación de luz se realizaron con una lámpara de tungsteno de 300 watt y 5000 lúmenes ubicada a 20 cm del balón. Este se colocó en un dispositivo espejado que optimizó la incidencia de la luz y con un refrigerante de agua que filtró el calor generado por la lámpara.

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

El reactivo de Jones se preparó disolviendo 27 g de CrO₃ en 23 ml de ácido sulfúrico (c) y llevado cuidadosamente con agua a un volumen final de 100 ml.

El diacetoxiidobenceno (DAIB) se preparó de la siguiente forma: sobre 2,3 ml de peróxido de hidrógeno 100 vol. se agregaron lentamente 10 ml de anhídrido acético, luego se llevó la mezcla a 45°C y se agitó durante 4 hs. Posteriormente se agregaron 0,5 ml de iodobenceno y se agitó durante 17 hs a 25°C. Se evaporan los solventes a presión reducida, y el sólido obtenido se recrystalizó de tolueno, obteniéndose DAIB cristalino, p.f. 157°C (lit. 158°C [Pausacker, 1953] medido en baño de aceite y capilar cerrado.

SINTESIS DE 18-HIDROXIPROGESTERONA (18).

I- A partir de 3-acetato de pregnenolona (21).

3β-acetoxi-20-hidroxi-pregn-5-eno (31).

A 3-acetato de pregnenolona (21, 1,0 g) parcialmente disuelto en metanol (40 ml) conteniendo trazas de naranja de metilo, se agregó cianoborohidruro de sodio (500 mg) y se mantuvo el pH=3 (color naranja rosado) por agregado periódico de una solución de HCl 1N:metanol 1:1 durante 2 hs a temperatura ambiente (25°C). La mezcla de reacción se acidificó con HCl 1N, se concentró a presión reducida y 40°C a la mitad de su volumen y se diluyó con agua. Se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄. Por evaporación del solvente, se obtuvo 3β-acetoxi-20-hidroxi-pregn-5-eno (31, 1,0 g, 20β/20α 9:1). Desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20β): 0,78 (s, 3H, H-18), 1,04 (s, 3H, H-19), 1,14 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 2,04 (s, 3H, acetato), 3,72 (ba, 1H, H-20), 4,58 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

3 β -acetoxi-20-hidroxi-18-iodopregn-5-eno (32).

El producto anterior se disolvió en tetracloruro de carbono recientemente destilado (120 ml) y se agregó DAIB (1,0 g) y yodo (700 mg). Se irradió con una lámpara de tungsteno durante 90 min a 30°C bajo atmósfera de nitrógeno con agitación vigorosa. La mezcla de reacción se volcó sobre tiosulfato de sodio 5%, se extrajo con éter etílico y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄. Se evaporó el solvente y se eliminó el iodobenceno formado como subproducto, por filtración a través de un lecho de florisil (8x5 cm) eluyendo con hexano (500 ml). Por elución con diclorometano (500 ml) se obtuvo 3 β -acetoxi-20-hidroxi-18-iodopregn-5-eno (32, 1,05 g, 20 β /20 α 9:1). Desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20 β): 1,02 (s, 3H, H-19), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 2,03 (s, 3H, acetato), 3,14 (d, J=11Hz, 1H, H-18a), 3,34 (d, J=11Hz, 1H, H-18b), 4,08 (ba, 1H, H-20), 4,60 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

3 β ,20-dihidroxi-18-iodopregn-5-eno (33).

La mezcla de los iodoalcoholes 32 (215 mg) se disolvió en metanol (25 ml) y se agregó gota a gota una solución acuosa de NaOH 10% (2,7 ml) bajo atmósfera de nitrógeno en ausencia de luz. Luego de 30 min se volcó sobre agua y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄ por evaporación del solvente se obtuvo 3 β ,20-dihidroxi-18-iodopregn-5-eno (33, 195 mg, 20 β /20 α 9:1). Desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20 β): 1,02 (s, 3H, H-19), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 2,03 (s, 3H, acetato), 3,14 (d, J=11Hz, 1H, H-18a), 3,34 (d, J=11Hz, 1H, H-18b), 3,60 (ba, 1H, H-3), 4,08 (ba, 1H, H-20), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

18-iodopregn-4-eno-3,20-diona (36).

El producto anterior sin purificación previa se disolvió en acetona (75 ml) y se le burbujeó nitrógeno libre de oxígeno durante 30 min con agitación. Se enfrió la solución a 0°C y se agregó reactivo de Jones (0,4 ml) gota a gota. A los 20 min se agregó bisulfito de sodio 5% y luego bicarbonato de sodio 5% hasta neutralidad. La mezcla se volcó sobre agua y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄. Por evaporación del solvente se obtuvo 18-iodopregn-5-eno-3,20-diona (34, 175 mg). Desplazamientos de RMN ¹H: 1,02 (s, 3H, H-19), 2,29 (s, 3H, H-21), 3,21 (s, 2H, H-18), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

A una solución de 34 (175 mg) en acetona (20 ml), se agregaron cristales de ácido p-toluensulfónico monohidrato, y la mezcla se agitó en ausencia de luz a 25°C durante 2 hs. Se neutralizó con bicarbonato de sodio 5% y se extrajo con éter etílico; la fase orgánica se lavó con agua, se secó con MgSO₄ y se evaporó el solvente, obteniéndose 18-iodopregn-4-eno-3,20-diona (36, 160 mg). Una muestra analítica purificada por CPP eluida con hexano:acetato de etilo 1:1 tenía: p.f. (metanol/agua) 102-105°C con descomposición (lit. 103-104°C (hexano) [Choay, 1973]); desplazamientos de RMN ¹H: 1,20 (s, 3H, H-19), 2,29 (s, 3H, H-21), 3,21 (s, 2H, H-18), 5,85 (s, 1H, H-4). EM: m/z 312 (M-HI, 8%), 294 (312-H₂O, 8%).

18-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona (18).

Al producto crudo anterior conteniendo la iodocetona 36 (133 mg) se le agregó acetato de plata (90 mg) y ácido acético con 0,2% de agua (2,5 ml) y se llevó a 55°C agitando durante 90 min en ausencia de luz. La mezcla de reacción se filtró y se neutralizó con

bicarbonato de sodio, se extrajo con diclorometano, y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 . El residuo obtenido por evaporación del solvente se purificó por CC en florisil eluyendo con hexano y mezclas hexano/acetato de etilo de polaridad creciente, obteniéndose 18 (45 mg), p.f.(acetona) 157-159°C (lit. 159-161°C [Buzzetti, 1959]; 153-156°C [Kirk, 1975-a]); desplazamientos de RMN ^1H : 1,14 (s, 3H, H-19), 1,48 (s, 3H, H-21), 3,75 (s, 2H, H-18), 5,85 (s, 1H, H-4). EM: m/z 312 (M-H₂O, 100%), 270 (312-cetena, 18%).

II-A partir de 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (30).

3 β ,20-diformiloxipregn-5-eno (39).

Se disolvió pregnenolona (37, 620 mg) en metanol (25 ml) conteniendo trazas de naranja de metilo y se trató con cianoborohidruro de sodio (300 mg) a pH=3 como se describió antes (pág. 158). Se obtuvo 3 β ,20-dihidroxipregn-5-eno (38, 635 mg, 20 β /20 α 9:1). La mezcla se disolvió en ácido fórmico 98% y se agitó durante 2 hs a temperatura ambiente. Por evaporación a 40°C y presión reducida se obtuvo 3 β ,20-diformiloxipregn-5-eno (39, 700 mg, 20 β /20 α 9:1); desplazamientos de RMN ^1H (epímero 20 β): 0,62 (s, 3H, H-18), 0,98 (s, 3H, H-19), 1,16, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 4,7 (ba, 1H, H-3), 4,9 (ba, 1H, H-20), 5,34 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,02 (s, 2H, formiatos).

20-formiloxi-3 β -hidroxipregn-5-eno (40).

A una solución del producto diformilado anterior (39, 700 mg) en metanol (100 ml) se le agregó bicarbonato de potasio (700 mg) y se

agitó durante 50 min a 25°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se volcó sobre agua y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄. Por evaporación del solvente se obtuvo 20-formiloxi-3β-hidroxi-pregn-5-eno (40, 690 mg, 20β/20α 9:1); desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20β): 0,62 (s, 3H, H-18), 0,98 (s, 3H, H-19), 1,16, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,60 (ba, 1H, H-3), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,34 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, formiato).

20β-hidroxi-pregn-4-en-3-ona (30).

Se disolvió 40 (690 mg) en acetona (230 ml) y luego de burbujear nitrógeno libre de oxígeno durante 30 min, se llevó a 0°C y se agregó reactivo de Jones (0,56 ml) como se describió anteriormente (pág 160), obteniéndose 20-formiloxi-pregn-5-en-3-ona (41, 600 mg, 20β/20α 9:1); desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20β): 0,69 (s, 3H, H-18), 1,18 (s, 3H, H-19), 1,20, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,30 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, formiato).

Una porción del producto crudo anterior (41, 550 mg) se disolvió en diclorometano (20 ml) y metanol (70 ml) y se le agregó agua (4,5 ml) y ácido clorhídrico concentrado (9,6 ml). La mezcla se agitó 16 hs a 25°C, se diluyó con agua, se neutralizó con bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄, y se evaporó el solvente, obteniéndose un sólido que fue purificado por CF eluyendo con hexano:acetato de etilo (6:4). Se obtuvo 20β-hidroxi-pregn-4-en-3-ona (30, 290 mg). Desplazamientos de RMN ¹H: 0,78 (s, 3H, H-18), 1,14, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,20 (s, 3H, H-19), 3,72 (ba, 1H, H-20), 5,75 (s, 1H, H-4).

18-iodopregn-4-eno-3,20-diona (36).

A una solución del alcohol 30 (250 mg) en CCl₄ (70 ml) se agregó diacetoxiodobenceno (DAIB, 290 mg) y yodo (200 mg) y se irradió con una lámpara de tungsteno durante 70 min a 30°C. La solución resultante se volcó sobre tiosulfato de sodio 5% y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄; por evaporación del solvente se obtuvo 20β-hidroxi-18-iodopregn-4-en-3-ona (35, 400 mg); desplazamientos de RMN ¹H: 1,17, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,20 (s, 3H, H-19), 3,15 (d, J=11Hz, 1H, H-18a), 3,25 (d, J=11Hz, 1H, H-18b), 4,00 (ba, 1H, H-20), 5,76 (s, 1H, H-4).

El producto anterior sin purificar, se disolvió en acetona (130 ml) y se trató con reactivo de Jones (0,36 ml) en forma similar a la pág. 160. El producto resultante, conteniendo iodobenceno (subproducto de la reacción anterior) se purificó por filtración a través de un lecho de florisil (5x5 cm) eluyendo primero con hexano (100 ml) y luego con acetato de etilo (100 ml); se obtuvo 18-iodopregn-4-eno-3,20-diona (36, 250 mg) idéntico al obtenido en la pág. 160 (RMN ¹H, ccd).

18-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona (18).

La iodocetona 36 obtenida arriba, se trató con AgAcO (170 mg) y AcOH conteniendo 0,2% de agua (5 ml) como se describió en la pág. 160; el producto fue purificado por CF eluyendo con hexano:acetato de etilo 1:1. Se obtuvo 18-hidroxiprogesterona (18, 90 mg) idéntico (RMN ¹H, ccd) al obtenido en la pág. 160.

SINTESIS DE 18-HIDROXI-6,19-OXIDOPROGESTERONA (19).3 β -formiloxi-20-hidroxipregn-5-eno (63).

Se disolvió pregnenolona (37, 1,8 g) en ácido fórmico (10 ml) y la solución se agitó 90 min a 25°C. Por evaporación a presión reducida y 25°C se obtuvo 3 β -formiloxipregn-5-en-20-ona (62, 1,95 g) la cual se disolvió en metanol (80 ml) conteniendo trazas de naranja de metilo. Se agregó cianoborohidruro de sodio (0,9 g) y se agitó 100 min a 25°C manteniendo el pH=3 (color naranja) por agregado periódico de una solución de HCl 1N:metanol 1:1. La mezcla de reacción se acidificó con HCl 1N, se concentró a presión reducida y 40°C a la mitad de su volumen y se volcó sobre agua. Se extrajo con éter y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con MgSO₄. Se evaporó el solvente y el sólido obtenido fue purificado por CF eluyendo con hexano:acetato de etilo 7:3; se obtuvo 3 β -formiloxi-20-hidroxipregn-5-eno (63, 1,64 g, 20 β /20 α 9:1); p.f.(metanol) 189-191°C; desplazamientos RMN ¹H (epímero 20 β): 0,78 (s, 3H, H-18), 1,04 (s, 3H, H-19), 1,14, (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,72 (ba, 1H, H-20), 4,74 (ba, 1H, H-3), 5,40 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 1H, formiato); análisis elemental: calculado para C₂₂H₃₄O₃.CH₃OH, C: 74,6%, H: 10,0%, obtenido C: 75,1%, H: 10,5%.

3 β -formiloxi-20-hidroxi-18-iodopregn-5-eno (64).

A una suspensión de 63 (400 mg) en CCl₄ recientemente destilado (80 ml) se le agregó DAIB (410 mg) y yodo (290 mg) y se irradió con una lámpara de tungsteno durante 100 min con agitación y bajo atmósfera de nitrógeno. Se volcó sobre una solución de tiosulfato

de sodio 5%, se extrajo con éter etílico y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con $MgSO_4$. Por evaporación del solvente se obtuvo una mezcla (2,0 g) que contenía iodobenceno como subproducto, el cual se eliminó por filtración a través de un lecho de florisil (5x5 cm) eluyendo con hexano (200 ml). Por elución con diclorometano (200 ml) se obtuvo 3 β -formiloxi-20-hidroxi-18-iodopregn-5-eno (64, 400 mg, 20 β /20 α 9:1). Una muestra analítica del epímero 20 β tenía p.f.(éter/diclorometano) 128-130°C con descomposición; desplazamientos de RMN 1H (epímero 20 β): 1,04 (s, 3H, H-19), 1,14 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,15 (d, J=11Hz, 1H, H-18a), 3,35 (d, J=11Hz, 1H, H-18b), 4,00 (ba, 1H, H-20), 4,73 (ba, 1H, H-3), 5,40 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 1H, formiato); análisis elemental: calculado para $C_{22}H_{33}IO_3$, C: 55,9%, H: 7,04%, obtenido C: 55,9%, H: 7,05%.

3 β -formiloxi-18-iodopregn-5-en-20-ona (65).

A una solución de 64 (400 mg) en acetona (65 ml) se le burbujeó nitrógeno libre de oxígeno durante 30 min y luego se enfrió a 0°C. Se le agregó reactivo de Jones gota a gota hasta persistencia del tono naranja y el exceso de oxidante se destruyó con una solución saturada de bisulfito de sodio y se neutralizó con bicarbonato. Se volcó sobre agua y se extrajo con éter, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con $MgSO_4$. Por evaporación del solvente, se obtuvo como producto principal 3 β -formiloxi-18-iodopregn-5-en-20-ona (65, 400 mg); una muestra analítica tenía p.f.(metanol) 87-89°C con descomposición; desplazamientos de RMN 1H : 1,04 (s, 3H, H-19), 2,30 (s, 3H, H-21), 3,23 (s, 2H, H-18), 4,73 (ba, 1H, H-3), 5,40

(da, $J=4\text{Hz}$, 1H, H-6), 8,04 (s, 1H, formiato); análisis elemental calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{IO}_3$, C: 56,2%, H: 6,6%, obtenido C: 56,4%, H: 6,5%.

5 α -bromo-3 β -formiloxi-18-iodo-6,19- δ oxidopregnan-20-ona (66).

Se disolvió la iodocetona 65 (400 mg) en éter (3,2 ml) y THF (1,3 ml). La mezcla se llevó con agitación a 10-15°C en ausencia de luz, y se agregó agua (0,14 ml), una solución de ácido perclórico 20% (0,25 ml) y N-bromoacetamida (170 mg) en 8 porciones durante 25 min. Se continuó la agitación 30 min a 25°C y se agregó tiosulfato de sodio 1%, se neutralizó con bicarbonato de sodio y se volcó sobre agua. Se extrajo con diclorometano:metanol 10:1 y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 . Por evaporación del solvente se obtuvo un producto crudo que contenía 5 α -bromo-3 β -formiloxi-6 β -hidroxi-18-iodopregnan-20-ona (455 mg). Este se suspendió en CCl_4 recientemente destilado (45 ml) y se le agregó HgO (1,16 g), iodo (1,73 g) y se irradió con una lámpara de tungsteno durante 45 min a 30°C. La mezcla de reacción se filtró sobre una solución de tiosulfato de sodio 5% y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 . Al evaporar el solvente se obtuvo un producto crudo que contenía 5 α -bromo-3 β -formiloxi-18-iodo-6,19- δ oxidopregnan-20-ona (66, 400 mg); una muestra analítica tenía p.f.(metanol) 123-125°C; desplazamientos de RMN ^1H : 2,28 (s, 3H, H-21), 3,18 (d, $J=11\text{Hz}$, 1H, H-18a), 3,36 (d, $J=11\text{Hz}$, 1H, H-18b), 3,72 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19a), 3,98 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19b), 4,10 (da, $J=4\text{Hz}$, 1H, H-6), 5,30 (ba, 1H, H-3), 8,04 (s, 1H, formiato); análisis elemental calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{BrIO}_4$, C: 49,1%, H: 5,6%, obtenido C: 48,5%, H: 5,7%.

18-hidroxi-6,19-óxidopregn-4-eno-3,20-diona (19).

El producto anterior sin purificar que contenía al bromoéter 66 se disolvió en metanol (50 ml) y se trató con bicarbonato de potasio (400 mg) bajo atmósfera de nitrógeno durante 90 min y en ausencia de luz. Se volcó sobre agua, se extrajo con éter y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con $MgSO_4$. Por evaporación del solvente, se obtuvo el 3 β -hidroxiderivado de 66 (350 mg), el cual se disolvió en acetona (90 ml) y se trató con reactivo de Jones en forma similar a la descrita en la pág. 165, obteniéndose 5 α -bromo-18-iodo-6,19-oxidopregnano-3,20-diona (67, 335 mg).

El producto anterior sin purificar, se trató con $AgAcO$ (870 mg) y $AcOH$ conteniendo 0,2% de agua (17 ml). La mezcla se calentó a 60°C durante 5 hs en ausencia de luz, luego de lo cual se filtró y se extrajo con diclorometano, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 . El solvente se evaporó a presión reducida, obteniéndose un sólido que se purificó por CC en florisil eluyendo con mezclas de hexano:acetato de etilo de polaridad creciente; se obtuvo una fracción homogénea en CCD, conteniendo a 19, que se purificó por CLAR preparativa (solvente acetonitrilo:agua 6:4, flujo 4 ml/min) obteniéndose 19 (35 mg); p.f.(acetato de etilo) 153-155°C. Desplazamientos de RMN 1H : 1,50 (s, 3H, H-21), 3,50 (d, $J=9Hz$, 1H, H-19a), 3,78 (sa, 2H, H-18), 4,12 (d, $J=9Hz$, 1H, H-19b), 4,72 (da, $J=4Hz$, 1H, H-6), 5,84 (s, 1H, H-4). EM alta resolución para $C_{21}H_{26}O_3$ (M-H $_2O$, 100%), observado 326,188126; calculado 326,1881950

SINTESIS DE 18-HIDROXI-11,19-OXIDOPROGESTERONA (20).

3 β ,20 β -diformiloxipregn-5-en-11-ona (78).

Se disolvió pregn-4-eno-3,11,20-triona (68, 1,35g) en anhídrido acético (40 ml) y cloruro de acetilo (25 ml) y se agitó durante 4 hs a 70°C bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se evaporó a sequedad a presión reducida obteniéndose el 3-enolacetato (1,55 g) que fue suspendido en etanol absoluto (160 ml). Se agregó agua (70 ml), se enfrió a 0°C y se agregó borohidruro de sodio pulverizado (1,55 g). Se agregaron 4 porciones de solución de NaOH 10% (0,45 ml) a intervalos de 10 min y luego de 30 min se agregó HCl 1N hasta pH=5. La mezcla resultante se concentró a presión reducida hasta un cuarto del volumen y se extrajo con diclorometano, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄. Por evaporación del solvente se obtuvo 3 β ,20-dihidroxipregn-5-en-11-ona (75, 1,45g, 20 β /20 α 9:1). Desplazamientos de RMN ¹H (epímero 20 β): 0,73 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,20 (s, 3H, H-19), 3,60 (ba, 1H, H-20), 4,20 (ba, 1H, H-3), 5,30 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

El diol 75 (1,45 g) se disolvió en ácido fórmico 98% y se dejó 75 min a 25°C. El producto obtenido por evaporación a presión reducida a 25°C, fue purificado por CF eluyendo con hexano:acetato de etilo 7:3, obteniéndose 3 β ,20 β -diformiloxipregn-5-en-11-ona (78, 1,2 g); p.f.(metanol)=178-181°C. Desplazamientos de RMN ¹H: 0,64 (s, 3H, H-18), 1,21 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 1,22 (s, 3H, H-19), 4,70 (ba, 1H, H-3), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,40 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 2H, formiatos); análisis elemental calculado para C₂₃H₃₂O₅, C: 71,1%, H: 8,3%, obtenido C: 71,1, H: 8,2%.

5 α -bromo-3 β ,20 β -diformiloxi-6,19- δ oxidopregnan-11-ona (79).

A una solución del diformiato 78 (1,7 g) en éter (17 ml) y THF (7 ml) mantenida con agitación a 10-15°C en ausencia de luz, se le agregó agua (0,75 ml), una solución de ácido perclórico 20% (1,3 ml) y N-bromoacetamida (910 mg) en 8 porciones durante 25 min. La mezcla se agitó 30 min más a 25°C y se trató con solución de tiosulfato de sodio 1%, se neutralizó con bicarbonato de sodio, se volcó sobre agua y se extrajo con diclorometano:metanol 10:1. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄, obteniéndose 5 α -bromo-3 β ,20 β -diformiloxi-6 β -hidroxipregnan-11-ona (2,2 g).

La bromohidrina obtenida se disolvió en CCl₄ recientemente destilado (170 ml) se le agregó HgO (6,0 g) y iodo (9,0 g) y se irradió con una lámpara de tungsteno durante 45 min a 30°C. La mezcla de reacción se filtró sobre una solución de tiosulfato de sodio 5% y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄; por evaporación del solvente se obtuvo un sólido que contenía a 79 (2,0 g). Una muestra analítica tenía p.f.(metanol)=181-184°C; desplazamientos de RMN ¹H: 0,67 (s, 3H, H-18), 1,20 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,92 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 4,06 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 4,11 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,25 (ba, 1H, H-3), 8,04 (s, 2H, formiatos); análisis elemental calculado para C₂₃H₃₁O₆Br, C: 57,1%, H: 6,5%, obtenido C: 56,8%, H: 6,1%.

3 β ,20 β -diformiloxi-11,19- δ oxidopregn-5-eno (80).

El producto anterior (79, 2,0 g) sin purificación previa, se disolvió en ácido acético (68 ml) y agua (3 ml) y se le agregó Zn

en polvo activado (12 g) y unos cristales de iodo y se agitó vigorosamente durante 5 hs a 75-80°C. La mezcla obtenida se filtró, se extrajo con diclorometano:éter 1:4 y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄. El sólido obtenido al evaporar el solvente se disolvió en metanol (85 ml) conteniendo naranja de metilo y se agregó cianoborohidruro de sodio (940 mg) y solución de HCl 1N:metanol 1:1 en porciones manteniendo el pH=2-3 (color rosado) durante 4 hs a 25°C. La mezcla se acidificó con HCl 1N, se concentró a la mitad de su volumen por destilación a presión reducida a 40°C y se volcó sobre agua. Se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄. El producto resultante se disolvió en ácido fórmico 98% y se agitó 80 min a 25°C. Por evaporación a presión reducida y 25°C se obtuvo 3β,20β-diformiloxi-11,19-óxidopregn-5-eno (80, 1,3 g); una muestra analítica tenía p.f.(metanol) 210-212°C; desplazamientos de RMN ¹H: 0,80 (s, 3H, H-18), 1,22 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,71 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 3,94 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,24 (sa, 1H, H-11), 4,7 (ba, 1H, H-3), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,60 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 2H, formiatos); análisis elemental calculado para C₂₃H₃₂O₅, C: 71,1%, H: 8,3%, obtenido C: 70,9%, H: 8,4%.

20β-formiloxi-11,19-óxidopregn-5-en-3-ona (81).

A una solución del producto diformilado 80 (1,3 g sin purificación previa) en metanol (630 ml) se agregó bicarbonato de potasio (1,4 g) y se agitó 100 min a 25°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se neutralizó la solución con ácido acético y se concentró a presión reducida a un décimo del volumen. La mezcla de

reacción se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 . Por evaporación del solvente, se obtuvo 20 β -formiloxi-3 β -hidroxi-11,19-óxidopregn-5-eno (1,23 g), desplazamientos de RMN ^1H : 0,80 (s, 3H, H-18), 1,22 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,6 (ba, 1H, H-3), 3,71 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 3,94 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,24 (sa, 1H, H-11), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,60 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 1H, formiato).

Una porción del producto crudo anterior (530 mg) se disolvió en acetona (180 ml) y se trató con reactivo de Jones (0,47 ml) en el modo ya descrito (pág. 160). Se obtuvo un crudo conteniendo 20 β -formiloxi-11,19-óxidopregn-5-en-3-ona (81, 500 mg), desplazamientos de RMN ^1H : 0,80 (s, 3H, H-18), 1,22 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,86 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 4,12 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,24 (sa, 1H, H-11), 4,90 (ba, 1H, H-20), 5,60 (da, J=4Hz, 1H, H-6), 8,04 (s, 1H, formiato).

20 β -hidroxi-11,19-óxidopregn-4-en-3-ona (71).

A una solución del crudo anterior que contiene 81 (900 mg) en diclorometano (30 ml) y metanol (112 ml) se le agregó agua (7 ml) y HCl concentrado (16 ml) y se agitó 18 hs a 25°C. Se neutralizó con bicarbonato de sodio, se volcó sobre agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 , obteniéndose un crudo (770 mg, crudo desde 78) que fue purificado por CF corrida con acetato de etilo, rindiendo 20 β -hidroxi-11,19-óxidopregn-4-en-3-ona (71, 170 mg). Desplazamientos de RMN ^1H : 0,96 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, J=6Hz, 3H, H-21), 3,80 (ba, 1H, H-20), 3,82 (d, J=9Hz, 1H, H-19a), 4,00 (d, J=9Hz, 1H, H-19b), 4,36 (sa, 1H, H-11), 5,89 (s, 1H, H-4).

18-hidroxi-11,19-óxidopregn-4-eno-3,20-diona (20).

A una suspensión de 71 (150 mg) en CCl_4 recientemente destilado, se agregó DAIB (170 mg) y yodo (120 mg) y se irradió con una lámpara de tungsteno durante 50 min. Se volcó sobre una solución de tiosulfato de sodio 5% y se extrajo con éter. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 , obteniéndose 20 β -hidroxi-18-iodo-11,19-óxidopregn-4-en-3-ona (72, 190 mg), desplazamientos de RMN ^1H : 1,26 (d, $J=6\text{Hz}$, 3H, H-21), 3,73 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19a), 3,80 (ba, 1H, H-20), 4,08 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19b), 4,34 (sa, 1H, H-11), 5,89 (s, 1H, H-4).

El producto anterior sin purificación previa se disolvió en acetona (50 ml) y se trató con reactivo de Jones (0,11 ml) en la forma descrita en la pág. 160. El producto obtenido se filtró a través de un lecho de florisil (3x5 cm) eluyendo con hexano (100 ml) y luego con acetato de etilo (100 ml) obteniéndose la iodoacetona (160 mg) libre de iodobenceno. A ésta se le agregó AgAcO (300 mg) y ácido acético conteniendo 0,2% de agua (8 ml) y la mezcla se agitó durante 2,5 hs a 50°C luego de lo cual se filtró y extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 ; el residuo obtenido por evaporación del solvente se purificó por CF eluyendo con acetato de etilo. Se obtuvo 18-hidroxi-11,19-óxidopregn-4-eno-3,20-diona (20, 33 mg); p.f.(acetato de etilo) $140-145^\circ\text{C}$. Desplazamientos de RMN ^1H : 1,48 (s, 3H, H-21), 3,75 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19a o H-18a), 3,76 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-18a o H-19a), 3,99 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-19b), 4,07 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-18b), 4,40 (sa, 1H, H-11), 5,88 (s, 1H, H-4). EM alta resolución para $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_3$ (M- H_2O , 100%), observado 326,188141; calculado 326,1881950.

SINTESIS DE 3 β -ACETOXI-17(13 \rightarrow 18)abeo-PREGN-5-EN-20-ONA.

3 β -acetoxi-17 β ,18-ciclopregn-5-en-20-ona (82).

3 β -acetoxi-20-hidroxi-18-iodopregn-5-eno (32, 200 mg) sin purificación previa (pág. 159) se disolvió en acetona (35 ml) y se trató con reactivo de Jones (0,2 ml) como se describió en la pág. 160. El iodobenceno formado como subproducto en la síntesis de 32, se eliminó por filtración por un lecho de florisil (3x5 cm) eluyendo con hexano y luego con acetato de etilo obteniéndose 3 β -acetoxi-18-iodopregn-5-en-20-ona (47, 150 mg). Esta se disolvió en metanol (20 ml) y se agregó NaOH 10% (2,2 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se agitó 60 min a 25°C, se volcó sobre agua, se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó con agua hasta neutralidad. Se secó con Na₂SO₄ y se evaporó el solvente obteniéndose 3 β -hidroxi-17 β ,18-ciclopregn-5-en-20-ona (49, 98 mg). Desplazamientos de RMN ¹H: 1,02 (s, 3H, H-19), 2,20 (s, 3H, H-21), 3,60 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

El producto 49 fue acetilado con anhídrido acético (1,5 ml) y piridina (1,5 ml) durante 16 hs a 25°C y el producto resultante purificado por CF eluyendo con acetato de etilo:hexano 2:8. Se obtuvo 3 β -acetoxi-17 β ,18-ciclopregn-5-en-20-ona (82, 88 mg). Desplazamientos de RMN ¹H: 1,02 (s, 3H, H-19), 2,20 (s, 3H, H-21), 4,60 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6).

3 β -acetoxi-17(13 \rightarrow 18)abeo-17 α -H-pregn-5-en-20-ona (83).

La ciclopropilcetona 82 (80 mg) se trató con algunos cristales de AIBN e hidruro de tributilestaño (0,6 ml) y la mezcla se agitó

vigorosamente a 80°C durante 60 min y luego se mantuvo a 110°C durante 3 días. La mezcla de reacción se volcó sobre agua, se extrajo con diclorometano y la fase orgánica se lavó con agua y se secó con Na₂SO₄. El aceite obtenido se acetiló con anhídrido acético:piridina 1:1 (2 ml) y se purificó por CF eluyendo con acetato de etilo:hexano 2:8 obteniéndose 3β-acetoxi-17(13→18)abeo-17α-H-pregn-5-en-20-ona (83, 41 mg); desplazamientos de RMN ¹H: 0,96 (s, 3H, H-19), 2,03 (s, 3H, acetato), 2,16 (s, 3H, H-21), 2,60 (ba, 1H, H-17), 4,60 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6); EM: m/z 298 (M-AcOH, 100%), 283 (298-CH₃, 25%). De una fracción posterior se obtuvo 3β-acetoxi-17(13→18)abeo-17β-H-pregn-5-en-20-ona (84, 10 mg); desplazamientos de RMN ¹H: 0,96 (s, 3H, H-19), 2,04 (s, 3H, acetato), 2,14 (s, 3H, H-21), 4,60 (ba, 1H, H-3), 5,38 (da, J=4Hz, 1H, H-6); EM: m/z 298 (M-AcOH, 100%), 283 (298-CH₃, 30%).

APENDICE
DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS DE ^{13}C .

En este apéndice se detallan los desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de los principales compuestos esteroidales sintetizados en el presente trabajo de tesis. Las asignaciones se basaron en asignaciones previas de esteroides [Blunt, 1977], en la fase relativa de los espectros APT y SPDD, desacoplamiento selectivos de ^1H y por comparación con los precursores sintéticos previamente asignados durante el trabajo experimental.

Carbono	<u>18</u>	<u>19</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>32</u>
1	35,5	33,1	34,7	35,8	38,0
2	31,9	41,3	33,5	34,0	27,7
3	199,9	198,5	198,6	198,5	73,6
4	124,1	114,9	128,0	123,7	36,8
5	171,3	171,4	163,5	171,4	139,6
6	33,7	33,0	33,1	33,0	121,8
7	32,5	26,4	28,5	32,2	31,6
8	37,5	36,4	37,0	35,5	32,2
9	52,9	49,2	57,0	53,9	49,6
10	38,3	45,7	47,3	38,7	36,9
11	22,8	25,8*	78,5	21,0	20,4
12	37,5	37,4	40,4	39,7	39,6
13	54,0	55,1	54,2	42,4	?
14	54,8	53,6	51,4	55,4	56,0
15	26,9*	26,4*	25,5*	25,7*	25,2*
16	25,9*	27,1*	27,3*	24,5*	27,3*
17	56,1	55,9	57,3	58,4	58,5
18	72,8	73,4	74,3	12,5	10,8
19	17,2	75,3	69,8	17,5	19,3
20	107,6	107,3	107,1	70,3	68,2
21	24,5	24,5	24,6	23,8	22,3
CH ₃ CO ₂					170,2
<u>CH₃</u> CO ₂					21,4

*- Señales intercambiables.

?- Señales no observadas.

Carbono	<u>33</u>	<u>36</u>	<u>39</u>	<u>40</u>	<u>41</u>
1	36,3	35,8	37,0	37,4	36,9
2	31,6	34,0	27,8	31,5	37,6
3	71,1	198,5	73,8	71,5	209,9
4	41,8	123,7	38,1	42,2	48,3
5	140,1	171,4	140,0	140,9	138,6
6	120,6	33,0	122,6	121,2	122,5
7	31,7	32,2	31,9	32,0	31,8
8	32,2	35,5	31,7	31,8	31,8
9	49,7	53,9	50,1	50,2	49,2
10	37,0	38,7	36,7	36,6	36,9
11	20,3	20,8	20,9	21,0	21,2
12	40,1	39,6	39,1	39,2	39,1
13	43,4	46,2	42,3	42,3	42,4
14	56,0	56,7	54,8	54,8	54,7
15	24,9*	24,4*	24,3*	24,3*	24,3*
16	25,1*	22,9*	25,5*	25,6*	25,5*
17	58,3	62,2	56,1	56,2	56,1
18	10,5	9,6	12,4	12,4	12,4
19	19,2	19,3	19,4	19,5	19,3
20	68,2	208,4	72,7	73,0	72,7
21	22,1	33,6	20,1	20,1	20,1
HCO ₂			160,4	160,8	160,6

*- Señales intercambiables.

Carbono	<u>42</u> (20R)	<u>42</u> (20S)	<u>43</u>	<u>47</u>	<u>49</u>
1	38,0	38,0	38,0	38,0	36,3
2	27,7	27,7	27,6*	27,6	31,6
3	73,7	73,7	73,7	73,6	71,1
4	36,9	36,9	36,9	36,8	41,8
5	139,5	139,5	139,7	139,6	140,1
6	122,1	122,1	121,8	121,7	120,6
7	32,0	32,0	31,9	31,6	31,6
8	33,4	33,7	31,7	33,7	36,8
9	49,5	49,5	50,1	49,5	49,9
10	36,6	36,6	36,6	37,0	36,7
11	23,0	23,0	20,4	23,0	19,1
12	36,6	36,6	33,3	36,5	29,3
13	54,7	54,7	44,3	46,1	43,1
14	55,7	55,7	55,3	56,7	50,3
15	26,0*	26,0*	24,0*	24,5*	26,0
16	27,6*	27,6*	23,7*	27,6*	24,7
17	54,9	57,6	55,9	62,3	46,1
18	71,4	73,2	61,7	9,6	29,2
19	19,3	19,3	19,3	19,2	19,5
20	84,3	76,6	71,7	208,4	207,5
21	21,3	21,3	21,8	31,4	28,9
CH ₃ CO ₂	170,2	170,2	170,9	170,3	
<u>CH</u> ₃ CO ₂	21,3	21,3	20,8	21,4	

*- Señales intercambiables.

Carbono	<u>57</u> (20R)	<u>63</u>	<u>64</u>	<u>65</u>	<u>66</u>
1	32,1	36,8	36,7	36,7	32,7
2	26,9	27,7	27,6	27,6	26,8
3	69,8	73,8	73,6	73,5	69,8
4	41,3	38,0	37,9	37,9	41,2
5	74,3	139,1	139,3	139,3	74,1
6	82,0	122,6	122,1	122,0	82,0
7	23,3	31,8	31,9	31,5	23,3
8	36,0	31,6	32,2	32,1	33,9
9	48,0	49,9	49,5	49,5	48,4
10	45,9	36,5	36,4	36,5	45,9
11	21,7	20,8	20,3	20,8	22,6
12	36,4*	39,6	40,1	39,6	40,2
13	56,5	42,2	44,1	46,2	46,7
14	52,7	56,0	37,9	56,7	55,0
15	25,5	24,5*	24,3*	24,4*	23,9*
16	33,2*	25,6*	25,2*	22,9*	23,2*
17	54,7	58,2	58,4	62,2	62,3
18	72,1	12,3	10,6	9,6	9,8
19	67,3	19,2	19,2	19,2	19,2
20	84,5	70,3	68,2	208,4	208,4
21	24,6	23,5	22,3	33,7	33,7
CH ₃ CO ₂	170,0				
CH ₃ CO ₂	21,2				
HCO ₂		160,4	160,3	160,2	160,2

*- Señales intercambiables.

Carbono	<u>71</u>	<u>72</u>	<u>75</u>	<u>78</u>	<u>79</u>
1	34,6	34,6	36,7	35,7	40,9
2	33,5	33,3	36,1	27,4	26,7
3	198,7	198,5	71,3	73,3	72,2
4	127,8	128,1	32,7	37,6	33,0
5	164,0	163,0	141,7	140,2	73,7
6	32,7	32,9	119,9	121,1	81,0
7	28,2	27,6	31,3	32,6	26,1
8	34,4	34,5	33,5	33,2	34,2
9	57,4	57,6	60,5	60,3	59,6
10	47,4	46,9	36,8	36,8	44,7
11	78,5	77,6	211,9	210,3	210,0
12	42,0	41,3	57,7	57,2	57,0
13	42,8	44,8	45,7	45,3	47,4
14	51,9	52,6	54,2	53,5	53,6*
15	23,5*	23,3*	25,9	23,9*	22,6
16	25,5*	25,3*	24,3	25,7*	22,6
17	59,0	60,0	56,9	54,0	53,8*
18	14,6	11,3	13,2	13,1	13,5
19	69,4	69,9	18,6	18,4	68,2
20	70,0	68,1	69,4	72,0	72,2
21	23,6	22,4	23,6	19,7	19,8
HCO ₂			-	160,3	160,2

*- Señales intercambiables.

Carbono	<u>80</u>	<u>82</u>	<u>83</u>	<u>84</u>
1	34,5	38,1	38,0	38,0
2	40,0	27,8	27,1	27,8
3	73,1	73,8	73,9	73,9
4	29,1	37,1	36,8	36,8
5	136,5	139,5	139,1	139,1
6	124,2	121,9	122,3	122,3
7	28,0	31,6	31,3	31,4
8	31,8	36,8	36,9	37,0
9	55,8	49,9	49,5	49,4
10	47,0	36,7	36,8	36,8
11	77,3	19,1	25,3	25,5
12	41,8	29,3	34,4**	35,7**
13	42,6	43,1	49,5	48,9
14	52,2	50,3	38,0	41,5
15	25,5*	26,0*	28,1*	29,4
16	23,4*	24,7*	26,5*	28,6
17	54,0	46,1	47,4#	51,5
18	14,3	29,2	33,8**	33,6**
19	73,8	19,5	19,3	19,3
20	72,8	207,5	211,4	212,0
21	19,9	28,9	28,1	33,6
<u>HCO</u> ₂	160,2			
<u>CH</u> ₃ <u>C</u> O ₂		170,3	170,4	170,4
<u>CH</u> ₃ <u>C</u> O ₂		21,4	21,5	21,5

*- Señales intercambiables.

#- Asignado por irradiación selectiva del ¹H correspondiente.

APENDICE
METODOS COMPUTACIONALES.

Los programas que se detallan a continuación fueron ejecutados en una computadora con la siguiente configuración: IBM/AT compatible con procesador 80286/MX (12MHz), 640Kb de memoria principal expandida a 1Mb con memoria auxiliar, coprocesador matemático IIT 80287, disco rígido de 3,5" (40Mb), disqueteras de 3,5" (1,44Mb) y 5,25" (1,2Mb), monitor color de alta resolución (0,41mm tamaño de punto), tarjeta gráfica VGA 640 en modo VGA 16 colores (resolución 640x480) y un puntero tipo "ratón" trabajando en modo Microsoft. El sistema operativo utilizado fue Microsoft DOS 4.01-Shell. Los gráficos fueron impresos en una impresora Epson LQ 510 de 24 pins.

Cálculos de mecánica molecular.

La expresión "mecánica molecular" se usa para definir al método de cálculo diseñado para obtener la estructura y energía de una molécula. La idea básica es que los enlaces tienen longitudes y ángulos naturales, y las moléculas ajustan su geometría como para llegar a estos valores. En sistemas tensionados además éstas se deforman en formas predecibles con energías de tensión que pueden ser calculadas. Luego, se considera un campo de fuerza definido por la sumatoria de las energías de tensión, flexión, torsión y de interacciones de van der Waals, que se llama energía estérica de la molécula. Estos valores se calculan a partir de datos experimentales, los cuales se pueden optimizar por actualización o agregado de nuevos parámetros. Todas las ecuaciones son lo suficientemente simples de forma tal que se pueden resolver rápidamente con computadoras. Se puede trabajar en moléculas con gran cantidad de átomos en tiempos relativamente cortos, si se compara con otros métodos de cálculos utilizados como los métodos semiempíricos (MNDO), y los datos

estructurales obtenidos no son menos precisos [Burkert, 1982].

En la presente tesis se utilizó el programa PCModel (versión 2.0; adquirido a Serena Software, Bloomington, Indiana) diseñado para modelado molecular de moléculas de hasta 300 átomos. Esta es una versión para IBM PC/XT/AT/PS 2 y compatibles. Proviene del programa original MODEL (versión 1.1 para Vax) de C. Still de la Universidad de Columbia, modificado por Steliou de la Universidad de Montreal y adaptado a IBM-PC por M. Midland de la Universidad de Columbia en Riverside. Si bien se hace referencia a los programas MM2 y MMP2 de Allinger (QCPE) a lo largo de todo el programa, estos no pueden manejar detalles que el PCModel les atribuye. Trabaja en forma interactiva y de esta manera resulta sencillo de manejar, con una gran variedad de opciones para crear y editar las estructuras, así como opciones de presentación visual y de parámetros geométricos, cálculo de superficies moleculares, superposición de confórmeros, etc.. Puede manejar archivos MMX, MM2, MNDO y MOPAC con algunas mejoras gráficas.

También se utilizó el programa MMX (versión 88.9; adquirido a Serena Software, Bloomington, Indiana) que puede manejar hasta 296 átomos con 30 átomos pi. Fue diseñado por J. J. Gajewski y K. E. Gilbert por modificaciones del programa original MM2(77) de Allinger, al cual se agregaron las rutinas pi VESCF del programa MMPI (QCPE 318) y el concepto de parámetros generalizados de C. Still. Así se amplió el campo del tipo de estructuras (radicales, cationes, metales de transición, estados de transición, etc.) que se podían tratar con la versión MM2.

A continuación se detallan los archivos obtenidos con el programa PCModel-MMX para los cuatro confórmeros más estables de los compues-

Cálculo de planos y proyecciones.

El cálculo de los planos de cuadrados mínimos de las moléculas se realizó utilizando el programa Planos V.90.2. Este es un programa interactivo capaz de interpretar los datos geométricos generados por el programa PCModel-MMX, a partir de los cuales puede calcular, usando la ecuación general del plano, el plano que mejor se ajusta a los átomos requeridos.

Las proyecciones de las estructuras de las moléculas según el plano requerido, fueron realizadas con el programa Proyecciones V.90.2, el cual es una modificación del programa Planos V.90.2. Es capaz de rotar las coordenadas geométricas de los archivos generados con el programa PCModel-MMX a las posiciones definidas según la ecuación de cuadrados mínimos para los átomos escogidos. Esto lo realiza mediante la selección de los valores geométricos que tienen el mejor coeficiente de correlación para la ecuación del plano. De esta forma se obtiene un archivo que puede ser interpretado por el programa PCModel-MMX y que conserva la geometría original de la molécula pero proyectada paralelamente al plano elegido.

Ambos programas fueron escritos en QuickBasic Microsoft V4.5 y compilados como archivos ejecutables. Los códigos fuente que contienen, se indican a continuación.

```
REM ***** PLANOS V 90.2 por G. Burton (14-2-90)*****
DEFDBL A-I, L-Z: DEFINT J-k
DECLARE SUB angulo (aa1#, aa2#, bb1#, bb2#, ang1#)
DECLARE SUB desv (a1#, b1#, c1#, cord1#, cord2#, cord3#, des1#)
DECLARE SUB leer (l#)
DECLARE SUB numero (ax, bx, LI1#, num1x)
ON ERROR GOTO handler
REM $STATIC
```

```

SCREEN 0: COLOR 11, 1: CLS : arch% = 0: KILL "planos.out"
PRINT "          CALCULO DE PLANOS DE CUADRADOS MINIMOS": PRINT
start: INPUT "Nombre del archivo"; AR$: IF AR$ = "" THEN GOTO salida
arch% = 1: OPEN AR$ FOR INPUT AS #1
OPEN "planos.out" FOR APPEND AS #2
PRINT #2, "PLANOS 90.2"
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$: PRINT #2, NOMB%: PRINT #2,
lab1:
FOR j = 1 TO 2
    CALL leer(LI$)
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 "atomo para calcular plano medio (0 para terminar)"; top%
    plano%(j, pl%) = top%: j = j + 1
WEND

xm = 0: ym = 0: zm = 0: n = 0
FOR j = 1 TO natom%
    IF plano%(j, pl%) <> 0 THEN
        xm = cord(plano%(j, pl%), 1) + xm
        ym = cord(plano%(j, pl%), 2) + ym
        zm = cord(plano%(j, pl%), 3) + zm
        n = n + 1
    END IF
NEXT j

```

```

'Calcular el mejor plano tomando alternativamente X, Y y Z como variables
'dependientes, expresarlo como Y=f(X,Z) y elegir el que tenga menor desviación
xm = xm / n: ym = ym / n: zm = zm / n
u2 = 0: w2 = 0: v2 = 0: uw = 0: uv = 0: vw = 0
uy = 0: wy = 0: uz = 0: vz = 0: vx = 0: wx = 0
FOR j = 1 TO natom%
  IF plano%(j, pl%) = 0 THEN GOTO lab4
  u2 = u2 + (cord(plano%(j, pl%), 1) - xm) ^ 2
  v2 = v2 + (cord(plano%(j, pl%), 2) - ym) ^ 2
  w2 = w2 + (cord(plano%(j, pl%), 3) - zm) ^ 2
  uv = uv + (cord(plano%(j, pl%), 1) - xm) * (cord(plano%(j, pl%), 2) - ym)
  uw = uw + (cord(plano%(j, pl%), 1) - xm) * (cord(plano%(j, pl%), 3) - zm)
  vw = vw + (cord(plano%(j, pl%), 2) - ym) * (cord(plano%(j, pl%), 3) - zm)
  uy = uy + (cord(plano%(j, pl%), 1) - xm) * cord(plano%(j, pl%), 2)
  uz = uz + (cord(plano%(j, pl%), 1) - xm) * cord(plano%(j, pl%), 3)
  wx = wx + (cord(plano%(j, pl%), 3) - zm) * cord(plano%(j, pl%), 1)
  wy = wy + (cord(plano%(j, pl%), 3) - zm) * cord(plano%(j, pl%), 2)
  vx = vx + (cord(plano%(j, pl%), 2) - ym) * cord(plano%(j, pl%), 1)
  vz = vz + (cord(plano%(j, pl%), 2) - ym) * cord(plano%(j, pl%), 3)
lab4: NEXT j
d = v2 * w2 - vw ^ 2
ax = (wx * v2 - vw * vx) / d: bx = (vx * w2 - wx * vw) / d: cx = xm - ax * zm - bx * ym
aa(pl%) = 1 / bx: bb(pl%) = -ax / bx: cc(pl%) = -cx / bx
GOSUB sigm: sigmax = sigma
d = u2 * w2 - uw ^ 2
ay = (uy * w2 - uw * wy) / d: by = (wy * u2 - uw * uy) / d: cy = ym - ay * xm - by * zm
aa(pl%) = ay: cc(pl%) = cy: bb(pl%) = by
GOSUB sigm: sigmay = sigma
d = u2 * v2 - uv ^ 2
az = (uz * v2 - uv * vz) / d: bz = (vz * u2 - uv * uz) / d: cz = zm - az * xm - bz * ym
aa(pl%) = -az / bz: bb(pl%) = 1 / bz: cc(pl%) = -cz / bz
GOSUB sigm
IF sigma < sigmay AND sigma < sigmax THEN
  GOTO lab41
ELSEIF sigmay < sigmax THEN
  aa(pl%) = ay: cc(pl%) = cy: bb(pl%) = by
  sigma = sigmay
ELSE
  aa(pl%) = 1 / bx: bb(pl%) = -ax / bx: cc(pl%) = -cx / bx
  sigma = sigmax
END IF

lab41: CLS : PRINT "mejor plano para los atomos": PRINT #2, "Mejor plano para los atomos"
FOR j = 1 TO natom%
  IF plano%(j, pl%) <> 0 THEN
    PRINT plano%(j, pl%); " "; : PRINT #2, plano%(j, pl%); " ";
  END IF
NEXT j
PRINT #2,
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 "desviacion RMS "; : PRINT USING "+###.####"; SQR(sigma / n): PRINT
PRINT #2, "desviacion RMS "; : PRINT #2, USING "+###.####"; SQR(sigma / n): PRINT #2, : PRINT #2,
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%): top% = 1: j = 1
WHILE top% <> 0
    INPUT "atomo para calcular desviacion (0 para terminar)"; top%
    atomos%(j) = top%: 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, p1%) <> 0 THEN PRINT #2, plano%(j, p1%); " ";
NEXT j
PRINT #2, : PRINT #2,
FOR j = 1 TO natom%
    IF atomos%(j) = 0 THEN GOTO lab5
    CALL desv(aa(p1%), bb(p1%), cc(p1%), cord(atomos%(j), 1), cord(atomos%(j), 2), cord(atomos%(j), 3), des)
    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 p1% = 10 THEN GOTO lab7
PRINT : PRINT "Desea calcular otro plano para "; AR$; " (S/N)"; : INPUT ""; Q$
CLS : IF Q$ <> "N" AND Q$ <> "n" THEN p1% = p1% + 1: ERASE atomos%: GOTO lab3
IF p1% = 1 THEN GOTO fin
lab7: PRINT "CALCULO DE ANGULOS ENTRE PLANOS"
PRINT
PRINT "Planos disponibles:"
FOR k = 1 TO p1%
    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 p1% = 2 THEN j = 1: k = 2: GOTO lab8
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 p1% = 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 molécula (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"
        GOTO salida
    CASE "S", "s"
        SHELL "COPY planos.out prn"
    CASE ELSE
        GOTO lab9

```

```

END SELECT
salida: COLOR 2, 0: CLS : END

sigma:
sigma = 0
FOR j = 1 TO natomX
  IF planoX(j, plX) <> 0 THEN
    CALL desv(aa(plX), bb(plX), cc(plX), cord(planoX(j, plX), 1), cord(planoX(j, plX),
    2), cord(planoX(j, plX), 3), des) sigma = (des ^ 2) + sigma
  END IF
NEXT j
RETURN

handler: xxX = ERR
  IF xxX = 53 AND archX = 0 THEN
    RESUME NEXT
  ELSEIF xxX = 53 AND archX = 1 THEN
    PRINT "el archivo no existe"
    RESUME start
  ELSE
    ERROR xxX
    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#) * 160# / 3.14159265#
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 (aX, bX, LI1#, num1X)
n$ = ""
FOR iX = aX TO bX
  TEMP# = MID$(LI1#, iX, 1): IF TEMP# <> " " THEN n$ = n$ + TEMP#
NEXT iX
IF n$ <> "" THEN num1X = VAL(n$) ELSE num1X = 0
END SUB

```

```

REM *****PROYECCION V 90.2 por G. Burton (14-2-90)*****
DEFDBL A-H, L-Z
DEFINT I-K
DECLARE SUB rotar (x#, y#, z#, angz#, angx#, dy#)
DECLARE SUB angulo (aa1#, aa2#, bb1#, bb2#, angl#)
DECLARE SUB desv (a1#, b1#, c1#, cord1#, cord2#, cord3#, des1#)
DECLARE SUB leer (L$)
DECLARE SUB numero (a%, b%, LI$, num%)
ON ERROR GOTO handler
REM $STATIC
SCREEN 0: COLOR 11, 1: CLS : arch% = 0: KILL "proyec.out"
PRINT "      PROYECCION EN PLANO DE CUADRADOS MINIMOS": PRINT
start: INPUT "Nombre del archivo"; AR$: IF AR$ = "" THEN GOTO salida
arch% = 1: OPEN AR$ FOR INPUT AS #1
INPUT "Nombre del archivo orientado"; ORIENT$:
IF ORIENT$ = "" THEN
    CLOSE #1
    GOTO salida
ELSEIF ORIENT$ = AR$ THEN
    PRINT "**El archivo orientado debe tener un nombre distinto al original**"
    PRINT "  Por favor intente otra vez"
    CLOSE #1
    GOTO start
ELSE
    arch% = 0
    KILL ORIENT$
END IF

OPEN "proyec.out" FOR APPEND AS #2
OPEN ORIENT$ FOR APPEND AS #3
PRINT #2, "PROYEC 90.2"
PRINT #2, "      PROYECCION EN PLANO DE CUADRADOS MINIMOS": PRINT #2,
CALL leer(LI$): PRINT #3, LI$: : CALL numero(61, 65, LI$, natoa%): NOMB$ = LEFT$(LI$, 60)
PRINT #2, AR$: " reorientado a "; ORIENT$: PRINT #2, NOMB$: PRINT #2,
lab1:
FOR j = 1 TO 2
    CALL leer(LI$): PRINT #3, LI$:
NEXT j
IF LEFT$(LI$, 1) <> " " THEN CALL leer(LI$): PRINT #3, 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%
    CALL leer(LI$): PRINT #3, LI$:
NEXT j

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

```

```

        FOR k = 1 TO 3
            INPUT #1, cord(j + 1, k)
        NEXT k
        INPUT #1, itoa(j + 1, 1), itoa(j + 1, 2)
lab2: NEXT j

DIM plano%(natom%)
lab3: tmp% = 1: j = 1
WHILE tmp% <> 0
    INPUT "atomo para calcular plano medio (0 para terminar)"; tmp%
    plano%(j) = tmp%: j = j + 1
WEND
CLS : PRINT "Proyeccion sobre el mejor plano para los atomos": PRINT #2, "Proyeccion sobre el mejor plano para los atomos"
FOR j = 1 TO natom%
    IF plano%(j) <> 0 THEN
        PRINT plano%(j); " "; : PRINT #2, plano%(j); " ";
    END IF
NEXT j

pass1% = 1
DO
    GOSUB lsqplan
    alfa = -ATN(aa): beta = ATN(bb * COS(alfa))
    FOR j = 1 TO natom%
        CALL rotar(cord(j, 1), cord(j, 2), cord(j, 3), alfa, beta, cc)
    NEXT j
    pass1% = pass1% + 1
LOOP UNTIL (ABS(alfa) < .001# AND ABS(beta) < .001#) OR pass1% = 11

PRINT : PRINT pass1% - 1; "iteraciones"
PRINT "ultima rotacion alrededor de eje z"; alfa * 180 / 3.141592; ""
PRINT "ultima rotacion alrededor de eje x"; beta * 180 / 3.141592; ""
PRINT "desviacion RMS"; : PRINT USING "+###.#####"; SQR(sigaa / n)
PRINT #2, : PRINT #2, pass1% - 1; "iteraciones"
PRINT #2, "ultima rotacion alrededor de eje z"; alfa * 180 / 3.141592; ""
PRINT #2, "ultima rotacion alrededor de eje x"; beta * 180 / 3.141592; ""
PRINT #2, "desviacion RMS"; : PRINT #2, USING "+###.#####"; SQR(sigaa / n)

INPUT "Desea calcular desviaciones al plano (S/N)"; Q%
IF Q% = "N" OR Q% = "n" THEN GOTO fin
PRINT "CALCULO DE DESVIACIONES DE ATOMOS RESPECTO DEL PLANO"
PRINT
lab31: DIM atomos%(natom%): tmp% = 1: j = 1
WHILE tmp% <> 0
    INPUT "atomo para calcular desviacion (0 para terminar)"; tmp%
    atomos%(j) = tmp%: 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) <> 0 THEN PRINT #2, plano%(j); " ";
NEXT j
PRINT #2, : PRINT #2,

```

```

FOR j = 1 TO natom%
  IF atomos%(j) = 0 THEN GOTO lab5
  CALL desv(aa, bb, cc, cord(atomos%(j), 1), cord(atomos%(j), 2), cord(atomos%(j), 3), des)
  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

fin:
PRINT #2, : PRINT #2, "fin de "; NOMB%
PRINT #2, "*****"
PRINT #2,

FOR j = 1 TO natom% STEP 2
  FOR k = 1 TO 3
    PRINT #3, USING "###.#####"; cord(j, k);
  NEXT k
  PRINT #3, USING "#####"; itma(j, 1); itma(j, 2);
  IF j + 1 > natom% THEN GOTO lab6
  FOR k = 1 TO 3
    PRINT #3, USING "###.#####"; cord(j + 1, k);
  NEXT k
  PRINT #3, USING "#####"; itma(j + 1, 1); itma(j + 1, 2);
lab6: LI% = "": GOSUB copiar
NEXT j

WHILE NOT EOF(1)
  CALL leer(LI%): PRINT #3, LI%;
WEND

CLOSE #1: CLOSE #2: CLOSE #3

PRINT : PRINT : INPUT "desea rotar otra molécula (S/N)"; Q%
IF Q% <> "N" AND Q% <> "n" THEN ERASE cord, plano%, atomos%, itma: CLS : GOTO start
lab9: PRINT : INPUT "Imprimir los datos antes de salir (S/N)"; Q%
SELECT CASE Q%
  CASE "N", "n"
    GOTO salida
  CASE "S", "s"
    SHELL "COPY proyec.out prn"
  CASE ELSE
    GOTO lab9
END SELECT
salida: COLOR 2, 0: CLS : END

sig%:
sigma = 0
FOR j = 1 TO natom%
  IF plano%(j) <> 0 THEN
    CALL desv(aa, bb, cc, cord(plano%(j), 1), cord(plano%(j), 2), cord(plano%(j), 3), des)
    sigma = (des ^ 2) + sigma
  END IF
NEXT j
RETURN

```

```

lsqplan:
xm = 0: ym = 0: zm = 0: n = 0
FOR j = 1 TO natomX
  IF planoX(j) <> 0 THEN
    xm = cord(planoX(j), 1) + xm
    ym = cord(planoX(j), 2) + ym
    zm = cord(planoX(j), 3) + zm
    n = n + 1
  END IF
NEXT j

'Calcular el mejor plano tomando alternativamente X, Y y Z como variables
'dependientes, expresarlo como Y=f(X,Z) y elegir el que tenga menor desviación
xm = xm / n: ym = ym / n: zm = zm / n
u2 = 0: w2 = 0: v2 = 0: um = 0: uv = 0: vm = 0
uy = 0: wy = 0: uz = 0: vz = 0: vx = 0: wx = 0
FOR j = 1 TO natomX
  IF planoX(j) = 0 THEN GOTO lab4
  u2 = u2 + (cord(planoX(j), 1) - xm) ^ 2
  v2 = v2 + (cord(planoX(j), 2) - ym) ^ 2
  w2 = w2 + (cord(planoX(j), 3) - zm) ^ 2
  uv = uv + (cord(planoX(j), 1) - xm) * (cord(planoX(j), 2) - ym)
  um = um + (cord(planoX(j), 1) - xm) * (cord(planoX(j), 3) - zm)
  vm = vm + (cord(planoX(j), 2) - ym) * (cord(planoX(j), 3) - zm)
  uy = uy + (cord(planoX(j), 1) - xm) * cord(planoX(j), 2)
  uz = uz + (cord(planoX(j), 1) - xm) * cord(planoX(j), 3)
  wx = wx + (cord(planoX(j), 3) - zm) * cord(planoX(j), 1)
  wy = wy + (cord(planoX(j), 3) - zm) * cord(planoX(j), 2)
  vx = vx + (cord(planoX(j), 2) - ym) * cord(planoX(j), 1)
  vz = vz + (cord(planoX(j), 2) - ym) * cord(planoX(j), 3)
lab4: NEXT j
d = v2 * w2 - vm ^ 2
ax = (wx * v2 - vm * vx) / d: bx = (vx * w2 - wx * vm) / d: cx = xm - ax * zm - bx * ym
aa = 1 / bx: bb = -ax / bx: cc = -cx / bx
GOSUB sigm: sigmax = sigma
d = u2 * w2 - um ^ 2
ay = (uy * w2 - um * wy) / d: by = (wy * u2 - um * uy) / d: cy = ym - ay * xm - by * zm
aa = ay: cc = cy: bb = by
GOSUB sigm: sigmay = sigma
d = u2 * v2 - uv ^ 2
az = (uz * v2 - uv * vz) / d: bz = (vz * u2 - uv * uz) / d: cz = zm - az * xm - bz * ym
aa = -az / bz: bb = 1 / bz: cc = -cz / bz
GOSUB sigm
IF sigma < sigmay AND sigma < sigmax THEN
  GOTO lab41
ELSEIF sigmay < sigmax THEN
  aa = ay: cc = cy: bb = by
  sigma = sigmay
ELSE
  aa = 1 / bx: bb = -ax / bx: cc = -cx / bx
  sigma = sigmax
END IF
lab41: IF pass1% > 1 THEN GOTO lab42
PRINT : PRINT : PRINT "Ecuación del plano A * x - y + B * z + C = 0"
PRINT "A="; aa: PRINT "B="; bb: PRINT "C="; cc
PRINT #2, : PRINT #2, : PRINT #2, "Ecuación del plano A * x - y + B * z + C = 0"
PRINT #2, "A="; aa: PRINT #2, "B="; bb: PRINT #2, "C="; cc
PRINT "desviacion RMS "; : PRINT USING "###.####"; SQR(sigma / n): PRINT
PRINT #2, "desviacion RMS "; : PRINT #2, USING "###.####"; SQR(sigma / n): PRINT #2, : PRINT #2,
lab42: RETURN

```

copiar:

```
LI$ = LI$ + CHR$(13) + CHR$(10)
PRINT #3, LI$;
RETURN
```

handler: xx% = ERR

```
IF xx% = 53 AND arch% = 0 THEN
    RESUME NEXT
ELSEIF xx% = 53 AND arch% = 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# / 3.14159265#

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

SUB rotar (x#, y#, z#, angz#, angx#, dy#)

rutina de rotacion

tx# = x# * COS(angz#) - y# * SIN(angz#) + dy# * SIN(angz#)

ty# = x# * SIN(angz#) + COS(angz#) * y# * COS(angx#) - z# * SIN(angx#) - dy# * COS(angz#) * COS(angx#)

z# = x# * SIN(angz#) * SIN(angx#) + y# * COS(angz#) * SIN(angx#) + z# * COS(angx#) - dy# * COS(angz#) * SIN(angx#)

x# = tx#: y# = ty#

END SUB

Cálculo de energía dependiente de la cte. dieléctrica del medio.

Este se realizó con el programa QUANTA, instalado en una computadora tipo workstation Iris 4D/70 GT que trabaja bajo el sistema Unix, con salida gráfica a monitor color de alta resolución Silicon Graphics. Los gráficos fueron impresos en un ploter Hewlett Packard.

El programa QUANTA versión 2.1A [Polygen Corp., York University, Inglaterra] es un programa de modelado molecular interactivo diseñado para trabajar en computadoras con alta velocidad y gran capacidad de memoria como son las del tipo workstation. Para realizar las minimizaciones de energía se utilizó el campo de fuerza CHARMM [Brooks, 1983] el cual puede considerar al término electrostático como un potencial de Coulomb. La técnica que se utilizó para localizar el mínimo de energía fue el método de Base-Adaptada de Newton Raphson (ABNR).

RESUMEN .

El presente trabajo de tesis estuvo orientado hacia la síntesis de esteroides con posible actividad mineralocorticoide, prevista a partir de la estructura tridimensional de compuestos análogos con alta respuesta biológica. Del estudio de dichos compuestos se destacó la necesidad de sintetizar estructuras rígidas, cuyas conformaciones estuvieran fijadas en la zona de anillo D y cadena lateral por la formación del puente 18,20-hemicetálico y en la zona de anillos A, B y C por puentes 6,19-óxido o 11,19-óxido, que disminuyen las interacciones sobre la cara β , aumentando la planaridad de las mismas y agregando heteroátomos que mejoran la capacidad de formación de uniones tipo puente de hidrógeno. Los esteroides que se sintetizaron son 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) y 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20). El análisis conformacional se realizó a partir de datos obtenidos por cálculos de mecánica molecular.

Durante el transcurso del mismo se desarrollaron los siguientes temas:

En el capítulo 1 se analizaron los requerimientos conformacionales para que se produzca un buen acercamiento entre el esteroide y el receptor mineralocorticoide. Se ha propuesto a partir de estudios realizados sobre un gran número de esteroides que es necesario el sistema 3-ceto- Δ^4 en el anillo A para que la hormona sea reconocida por el sitio activo. El compuesto natural aldosterona (6) es el de mayor actividad que se conoce y se caracteriza por poseer los puentes 11,18-óxido y 18,20-hemicetal que le confieren rigidez conformacional manteniendo además al núcleo esteroidal en forma plana. También se encontró que el tipo

de respuesta (agonista o antagonista) depende principalmente de la disponibilidad espacial de grupos que puedan generar interacciones electrostáticas y/o de puente de hidrógeno en la zona del anillo D. Esto no pudo ser caracterizado ya que compuestos muy modificados en esa zona con respecto a la aldosterona (6), como por ejemplo la espirolactona (14) tiene actividad antagonista.

En el capítulo 2 se presenta el análisis realizado sobre los métodos disponibles para la funcionalización del metilo angular C-18 en esteroides. Esta reacción resultó ser clave para la síntesis de los compuestos 18-hidroxisilados pues si bien existen varios sistemas oxidantes disponibles, en general se producen reacciones laterales que disminuyen el rendimiento.

En el capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos para la síntesis de 18-hidroxiprogesterona (18). Esta molécula resultó de interés como modelo para la puesta a punto de la funcionalización del metilo angular C-18 y la obtención del sistema 3-ceto- Δ^4 .

Los métodos descritos en la literatura tenían bajos rendimientos y/o utilizaban reactivos poco selectivos para ser aplicados a otras moléculas polifuncionales como las que se proponían sintetizar en esta tesis. Se ensayó la funcionalización del metilo C-18 de 3 β -acetoxi-20-hidroxipregn-5-eno (31) con el sistema HgO/iodo que había dado buenos resultados para la funcionalización del metilo C-19 desde 6 β -hidroxioesteroides. Sin embargo en este caso se necesitaron condiciones más enérgicas para que el metilo C-18 reaccionara, y así se obtuvo mayor proporción de productos de descomposición. Una posible causa de esta diferencia es la mayor distancia entre los centros reaccionantes C-18/O-20 en los

20 β -hidroxiesteroides con respecto a los casos en que la reacción transcurre con buen rendimiento, según se calculó por métodos computacionales.

Al utilizar el sistema diacetoxiodobenceno/iodo sobre el 20-hidroxipregnano 31, se observó que la reacción fue más suave y selectiva obteniéndose con buen rendimiento el producto 3 β -acetoxi-20-hidroxi-18-iodo-pregn-5-eno (32). La desacetilación de 3 β -acetoxi-18-iodo-pregn-5-en-20-ona (47) en medio básico produjo además la enolización del carbonilo en C-20 y la eliminación del iodo formando un ciclopropano con los átomos C-13/C-18/C-17 (49). Este tipo de compuesto resultó ser un precursor de D-homo-18-nor-esteroides según se indica más abajo. El inconveniente fue resuelto por desacetilación del 20-hidroxipregnano 32, produciéndose así el 3,20-dihidroxi-18-iodopregn-5-eno (33). Por oxidación de los alcoholes, conjugación del doble enlace e hidrólisis del iodo en C-18 se obtuvo 18-hidroxiprogesterona (18) con buen rendimiento (29%). Se realizó además la síntesis de 18 a partir del compuesto comercial 20 β -hidroxipregn-4-en-3-ona (30) en tres pasos con buen rendimiento (35%). Este precursor 30 fue sintetizado a partir de pregnenolona (37) mediante la secuencia de oxidación y reducción utilizando protectores selectivos de las funciones oxigenadas.

En el capítulo 4 se describen las síntesis de 18-hidroxipregnanos polifuncionalizados. Para la síntesis de 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (19) se partió de pregnenolona (37) y se analizaron las 3 posibles secuencias de funcionalización de los metilos angulares del núcleo esteroideal: primero C-18 y luego C-19, la secuencia inversa y ambos metilos simultáneamente. Se observó que la

presencia del sistema 18-iodo-20-hidroxi y el grupo 6,19-óxido del compuesto 54 eran incompatibles dado los bajos rendimientos obtenidos en la síntesis de este producto. La mejor secuencia resultó ser la funcionalización del C-18 con posterior oxidación del hidroxilo en C-20 y luego la funcionalización del C-19. Esta permitió obtener el producto 5 α -bromo-3 β -formiato-18-iodo-6,19-óxidopregnan-20-ona (66) funcionalizado en ambos metilos angulares, el cual pudo ser transformado en el compuesto buscado 19; se necesitaron 9 pasos de síntesis desde pregnenolona (37) con un rendimiento global de 7%.

La síntesis de 18-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (20) se realizó a partir del compuesto comercial 11-cetoprogesterona (68). De las secuencias posibles planteadas, se prefirió introducir primero el 11,19-óxido y luego realizar la funcionalización del metilo-18 ya que la experiencia obtenida con las anteriores síntesis indicaba que ésta sería la más fácil de concretar. Se sintetizó 20-hidroxi-11,19-óxidoprogesterona (71) por hidrólisis y reducción del puente 6,19-óxido de 5 α -bromo-3 β ,20 β -diformiloxi-6,19-óxidopregnan-11-ona (79) seguido de protecciones y desprotecciones selectivas de los formiatos en C-3 y C-20. Este producto 71 fue transformado en 3 pasos en el compuesto buscado 20, requiriéndose un total de 14 pasos de síntesis a partir de 11-cetoprogesterona y con un 3% de rendimiento global.

En el capítulo 5 se describen los resultados obtenidos para la inclusión del metilo-18 en el anillo D de las ciclopropilcetonas 49 y 82, habiéndose logrado su conversión en D-homo-18-nor-estroides.

En el capítulo 6 se detallan los resultados del análisis conformacional realizado sobre datos obtenidos por cálculos de mecánica molecular (PCModel-MMX) para los 18-hidroxi-esteroides con puente 6,19-óxido (19) y 11,19-óxido (20). En cada caso se encontraron 4 posibles confórmeros de los cuales el de menor energía resultó tener una estructura plana en la zona de anillos B, C y D. La mayor diferencia entre los compuestos se encontró en el anillo A que es curvado hacia la cara α en 18-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (19) y está en el mismo plano que los demás anillos en 18-hidroxi-11,19-óxido-progesterona (20).

En el capítulo 7 se describe el detalle del trabajo experimental realizado, con datos sobre la preparación y caracterización de los compuestos sintetizados.

En los apéndices se describen los métodos computacionales utilizados y los desplazamientos de ^{13}C obtenidos para los compuestos preparados.

Parte de los resultados obtenidos en esta tesis dieron origen a la siguiente publicación:

Improved procedure for the cleavage of alkyl and benzyl ethers with zinc iodide.

Benedetti, M. O. Violeta; Monteagudo, Edith. S.; Burton, Gerardo
J. Chem. Res. (S) 248 (1990).

BIBLIOGRAFIA.

- Abraham, R.J.; Lucas, M.S.; J. Chem. Soc. Perkin II, 669 (1988).
- Akhtar, M.; Barton, D.H.R.; J. Am. Chem. Soc., 83, 2213 (1961)
- Akhtar, M.; Pechet, M.M.; J. Am. Chem. Soc., 86, 265 (1964-a)
- Akhtar, M.; Barton, D.H.R.; Sammes P.G.; J. Am. Chem. Soc., 86, 3394 (1964-b)
- Akhtar, M.; Barton, D.H.R.; Sammes P.G.; J. Am. Chem. Soc., 87, 4601 (1965)
- Allinger, N.L.; Allinger, J.; DaRooge, M.A.; J. Am. Chem. Soc., 86, 4061 (1964).
- Allinger, N.L.; Yuh, Y.H.; Li, J.; J. Am. Chem. Soc., 111, 8551 (1989)
- Altona, C.; Geise, H.J.; Romers, C.; Tetrahedron 24, 13 (1968).
- Armas, P. de; Carrau, R.; Concepción, J.I.; Francisco, C.; Hernández, R.; Suárez, E.; Tetrahedron Letters, 26, 2493 (1985).
- Armas, P. de; Concepción, J.I.; Francisco, C.; Hernández, R.; Salazar, J.; Suárez, E.; J. Chem. Soc. Perkin I, 405 (1989).
- Banks, D.F.; Chem. Rev., 66, 243 (1966)
- Barton, D.H.F.; Experientia, 6, 316 (1950).
- Barton, D.H.R.; Head, A.J.; May, P.J.; J. Chem. Soc., 935 (1957).
- Barton, D.H.R.; J. Am. Chem. Soc., 83, 4083 (1961).
- Barton, D.H.R.; Day, M.J.; Hesse, H.R.; Pechet, M.M.; J. Chem. Soc. Perkin I, 2252 (1975).
- Bates, R.B.; Eckert, D.J.; J. Am. Chem. Soc., 94, 8258 (1972).
- Benedetti, M.O.V.; Monteagudo, E.S.; Burton, G.; J. Chem. Res. (S), 248 (1990).
- Bigler, P.; J. Magn. Reson., 55, 468, (1983).
- Blumbach, J.; Hammond, D.A.; Whiting, D.; J. Chem. Soc. Perkin I, 261 (1986).
- Blunt, J.W.; Stothers, J.B.; Org. Magn. Reson., 9, 439 (1977).
- Bodor, N.; Gabanyi, Z.; Wong, C.K.; J. Am. Chem. Soc., 111, 3783 (1989).
- Brachet-Cota, A.L.; Burton G.; Z. Naturforsch., 43B, 491 (1987).
- Brachet-Cota, A.L.; Tesis Doctoral, FCEN, UBA (1989).

- Brachet-Cota, A.L.; Burton G.; Z. Naturforsch., 45B, 711 (1990)
- Brauer, G.; "Handbook of preparative inorganic chemistry" vol.2, pág. 1073, Academic Press, Nueva York (1963).
- Brooks, B.R.; Bruccoleri, R.E.; Olafson, B.D.; States, D.J.; Swaminathan, S.; Karplus, M.; J. Comp. Chem., 4, 187 (1983).
- Bucourt, R.; "Topics in Stereochemistry" vol. 8, 158; Wiley, Nueva York (1975).
- Burke, S.; Silks, L.A.; Strickland, S.M.; Tetrahedron Letters, 29, 2761 (1988)
- Burkert, U.; Allinger, N.L.; "Molecular Mechanics" A.C.S Monograph 177; Washington (1982).
- Burn, D.; Petrow, V.; Weston, G.O.; Tetrahedron Letters, 9, 14 (1960).
- Buys, H.R.; Geise, H.J.; Tetrahedron Letters, 5619 (1968).
- Buzzetti, F.; Wicki, W.; Kalvoda, J.; Jeger, O.; Helv. Chim. Acta, 42, 388 (1959).
- Cainelli, G.; Mihailovic, M.L.; Arigoni, D.; Jeger, O.; Helv. Chim. Acta, 42, 1124 (1959)
- Concepción, J.I.; Francisco, C.G.; Hernández, R.; Salazar, J.A.; Suárez, E.; Tetrahedron Letters, 25, 1953 (1984)
- Corey, E.J.; Schmidt, G.; Tetrahedron Letters, 43, 399 (1979).
- Chinn, L.J.; Desai, B.N.; Lenz, G.R.; J. Chem. Res. (S), 284 (1978).
- Choay, P.; Monneret, C.; Khuong-Hun, Q.; Bull. Soc., Chim. France, 4, 1456 (1973).
- Choay, P.; Monneret, C.; Narcisse, G.; Bakri-Logais, F.; Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther., 15 419 (1980).
- Dekker, J.; Martins, F.J.; Kruger, J.A.; Tetrahedron Letters, 2489 (1975).
- Delettré, J.; Mornon, J.P.; Lepicard, G.; Ojasoo, T.; Raynaud, J.P.; J. Steroid Biochem., 13, 45 (1980).
- Djerassi, C.; Engle, R.R.; Bowers, A.; J. Org. Chem., 21, 1547 (1956).
- Duax, W.L.; Hauptman, H.; J. Am. Chem. Soc., 94, 5467 (1972).
- Duax, W.L.; Norton, D.A.; "Atlas of steroid structure" vol. 1, Academic, Nueva York, (1975).

- Duax, W.L.; Weeks, C.M.; Rohrer, D.C.; "Topics in Stereochemistry" vol. 9, 271; Wiley, Nueva York, (1976).
- Duax, W.L.; Griffin, J.F.; Strong, P.D.; Funder, J.W.; Ulick, S.; J. Am. Chem. Soc., 104, 7291 (1982).
- Duax, W.L.; Griffin, J.F.; Weeks, C.M.; Wawrazak, Z.; J. Steroid Biochem., 31, 481 (1988).
- Eliel, E.L.; Allinger, N.L.; Angyal, S.J.; Morrison, G.A.; "Conformational Analysis", Wiley, Nueva York (1965).
- Fieser, L.; Fieser, M.; "Reagents for Organic Synthesis" vol. 1, Wiley and Sons, Nueva York (1967).
- Freeman, P.K.; J. Am. Chem. Soc., 111, 1942 (1989).
- Fried, J.; Edwards, J.; "Organic reactions in steroid chemistry", V.N.R., Nueva York, vol.1, 228 (1975-a).
- Fried, J.; Edwards, J.; "Organic reactions in steroid chemistry", V.N.R., Nueva York, vol.2, 237 (1975-b).
- Fujii, S.; Momoi, K.; Okamoto, M.; Yamano, T.; Okada, T.; Terasawa, T.; Biochemistry, 23, 2558 (1984).
- Fukushima, D.K.; Dobriner, S.; Heffler, M.S.; Kritchevsky, T.H.; Herling, F.; Roberts, G.; J. Am. Chem. Soc., 77, 6585 (1955).
- Genard, P.; Org. Magn. Reson., 11, 478 (1978).
- Georgiev, G.; Kamenska, E.; Karayannidis, G.; Sideridou-Karayannidou, I.; Varvoglis, A.; Polymer Bull., 17, 169 (1987).
- Gill, H.K.; Smith, R.W.; Whiting, D.A.; J. Chem. Soc. Chem. Commun., 18, 1457 (1986-a).
- Gill, H.K.; Smith, R.W.; Whiting, D.A.; J. Chem. Soc. Chem. Commun., 18, 1459 (1986-b).
- Griffin, J.F.; Duax, W.L.; Weeks, C.M.; "Atlas of steroid structure" vol. 2, Academic, Nueva York, (1984).
- Hanach, M.; "Conformational Theory", Academic, Nueva York, (1965).
- Hansch, C.; Med. Chem., Ser. Monogr. 11, 271 (1971).
- Harnik, M.; Kashman, Y.; Aharonowitz, Y.; Morris, D.; J. Steroid Biochem., 23, 207 (1985).
- Harnik, M.; Kashman, Y.; Cojocar, M.; Rosenthal, T.; Morris, D.; J. Steroid Biochem., 24, 1163 (1986).
- Hernández, R.; Medina, M.C.; Salazar, J.A.; Suarez, E.; Tetrahedron Letters, 28, 2533 (1987).

- Heusler, K.; Kalvoda, J.; Meystre, C.; Wieland, P.; Anner, G.; Wettstein, A.; Cainelli, G.; Arigoni, D.; Jeger, O.; *Helv. Chim. Acta*, 44, 502 (1961).
- Heusler, K.; Kalvoda, J.; Wieland, P.; Anner, G.; Wettstein, A.; *Helv. Chim. Acta*, 45, 2575 (1962).
- Heusler, K.; Kalvoda, J.; Anner, G.; Wettstein, A.; *Helv. Chim. Acta*, 46, 352 (1963).
- Heusler, K.; Kalvoda, J.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 3, 523 (1964).
- Heuvel, M.J. van den; Bokhoven, C.; Jongh, H.; Zeek, F.; *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 107, 331 (1988).
- Hofle, G.; Steglich, W.; Vorbruggen, H.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 17, 569 (1978).
- Holder, N.L.; Fraser-Reid, B.; *Can. J. Chem.*, 3357 (1973).
- Jefford, C.W.; Kirkpatrick, D.; Delay, F.; *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 8905 (1972).
- Jones, R.E.; Kocher, F.W.; *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 3683 (1954).
- Kamata, S.; Matsui, T.; Haga, N.; Nakamura, M.; Odaguchi, K.; Itoh, T.; Shimizu, T.; Suzuki, T.; Ishibashi, M.; Yamada, F.; Katoh, G.; *J. Med. Chem.*, 30, 1647 (1987).
- Kametani, T.; Tsubuki, M.; Nemoto, H.; *J. Org. Chem.*, 45, 4391 (1980).
- Kirk, D.N.; "Reaction mechanisms in Organic Chemistry" vol. 7; Elsevier, Holanda (1968).
- Kirk, D.N.; Rajagopalan, M.S.; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1860 (1975-a).
- Kirk, D.N.; Mudd, A.; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1450 (1975-b).
- Kirk, D.N.; Rajagopalan, M.S.; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1064 (1976).
- Kirk, D.N.; Slade, C.; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 703 (1981).
- Koshida, H.; Miyamori, I.; Soma, R.; Matsubara, T.; Ikeda, M.; Takeda, R.; Nakamura, S.; Kiuchi, F.; Tsuda, Y.; *Endocrinology*, 126, 1410 (1990).
- Kuivila, H.G.; *Synthesis*, 499 (1970).
- Labler, L.; Sorm, F.; *Chem. Ind. (Londres)*, 935 (1960).
- Lane, C.F.; *Synthesis*, 135 (1975).

- Lantos, C.P.; Burton, G.; Roldán, A.; Damasco, M.C.; Aragonés, A.; "Structure-Activity relationship in certain glucocorticoids and mineralocorticoids". pág 477 Alan Liss, Nueva York (1981).
- Le, P.H.; Nes, D.; Chem. and Phy. Lipids, 40, 57 (1986).
- Lehoux, J.G.; "Factors controlling the biosynthesis of aldosterone" de "Steroid Biochemistry" CRC Press, EEUU (1979).
- McKillop, A.; Kemp, D.; Tetrahedron, 45, 3299 (1989).
- Meystre, C.; Heusler, K.; Kalvoda, J.; Wieland, P.; Anner, G.; Wettstein, A.; Experientia, 17, 475 (1961).
- Meystre, C.; Wettstein, A.; Jeger, O.; Anner, G.; Heusler, K.; Wieland, P.; Chem. Abstr., 66, 65745d (1967); Patente Suiza 410, 936; oct. 31 (1966).
- Moriarty, R.M.; Prakash, O.; Acc. Chem. Res., 19, 244 (1986).
- Murphy, W.S.; Wattanasin, S.; Tetrahedron Letters, 695 (1981).
- Nonhebel, D.C.; Walton, J.C.; "Free radical chemistry" Cambridge Univ. P., Gran Bretaña (1974).
- Norymberski, J.K.; Woods, G.F.; J. Chem. Soc., 3426 (1955).
- Nussbaum, A.; Robinson, C.; Tetrahedron, 17, 35 (1962).
- Oliveto, E.P.; Gerold, C.; Rausser, R.; Hershberg, C.; J. Am. Chem. Soc., 77, 3564 (1955).
- Osman, R.; Weinstein, H.; Green, J.P.; "Computer-Assisted Drug Design", pág. 21, A.C.S. Symp. Ser., 112 (1979).
- Parvez, S.; Ventura, M.A.; Parvez H.; "Antihormones" pág. 111, Elsevier, Holanda (1979).
- Pausacker, K.H.; J. Chem. Soc., 107 (1953).
- Pereyre, M.; Godet, J.; Tetrahedron Letters, 3653 (1970).
- Plaskon, R.R.; comunicación personal (1991).
- Ram, M.; Godse, D.D.; Bhattachryya, P.K.; Tetrahedron, 18, 1457 (1962).
- Roller, P.; Djerassi, C.; J. Chem. Soc. (C), 1089 (1970).
- Romo, J; Romero, M.; Djerassi, C.; Rosenkranz, G.; J. Am. Chem. Soc., 73, 1528, (1951).
- Schor, L.; Seldes, A.M.; Gros, E.G.; J. Chem. Soc. Perkin I, 163 (1990).

- Shoolery, J.N.; J. Nat. Prod., 47, 1765 (1984).
- Slaunwhite, W.D.; Solo, A.J.; J. Pharm. Sci., 64, 168 (1975).
- Snyder, L.R.; J. Chromatog., 12, 488 (1963).
- Still, W.C.; Kahn, M.; Mitra, A.; J. Org. Chem., 43, 2923 (1978).
- Ueberwasser, H.; Heusler, K.; Kalvoda, J.; Meystre, Ch.; Wieland, P.; Anner, G.; Wettstein, A.; Helv. Chim. Acta, 46, 344 (1963).
- Veleiro, A.S.; Oberti, J.C.; Burton, G.; Phytochemistry, en prensa (1991).
- Viger, A.; Coustal, S.; Perard, S.; Piffeteau, A.; Marquet, A.; J. Steroid Biochem., 33, 119 (1989).
- Vogel, E.; "Textbook of practical Organic Chemistry" 4a. edición, pág. 639, Longman, Londres (1978).
- Weet, J.F.; Lenz, G.R.; J. Med. Chem., 28, 233 (1985).
- Weisenborn, F.L.; Applegate, H.E.; J. Am. Chem. Soc., 81, 1960 (1959).
- Weinstein, S.; Buckles, R.E.; J. Am. Chem. Soc., 64, 2787, (1942).
- Witzmann, R.F.; "Steroids, Keys to life" pág. 231 van Nostrand Reinhold, Nueva York (1981).
- Wolf, M.E.; Chem. Rev., 63, 55 (1963).
- Woodward, R.B.; Brucher, F.V.; J. Am. Chem. Soc., 80, 209 (1958).
- Wynne, K.N.; Rae, I.; O'Keefe, D.; Adams, W.; Pearce, P.; Stockigt, J.; Funder, J.; J. Steroid Biochem., 14, 1041 (1980).
- Yamakawa, M.; Ezumi, K.; Shiro, M.; Nakai, H.; Kamata, S.; Matsui, T.; Haga, N.; Molecular Pharmacology, 30, 585 (1986).

