

Tesis de Posgrado

Síntesis de isoxazoles e isotiazoles esteroidales

Giacopello, Sergio

1995

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:

Giacopello, Sergio. (1995). Síntesis de isoxazoles e isotiazoles esteroidales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2728_Giacopello.pdf

Cita tipo Chicago:

Giacopello, Sergio. "Síntesis de isoxazoles e isotiazoles esteroidales". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2728_Giacopello.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 DE ISOXAZOLES E ISOTIAZOLES ESTEROIDALES

Directora de Tesis
Dra. Alicia M. Seldes

Lugar de trabajo
Departamento de Química Orgánica

Sergio Giacopello

Tesis presentada para optar al título de
Doctor de la Universidad de Buenos Aires

- 1995 -

A mis padres,
por el esfuerzo invertido en mi formación
y por su continuo aliento a seguir;
a Marcela, mi esposa,
por su inagotable comprensión y cariño.

A la Dra. Alicia M. Seldes,
no sólo por su apoyo y guía permanentes
sino también por el afecto que me ha brindado
aún en los momentos más difíciles.

Agradezco a la Universidad de Buenos Aires y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por las becas que me han otorgado.

A UMYMFOR (CONICET-FCEN) por las determinaciones instrumentales realizadas:

Dr. Jorge A. Palermo y Dra. Laura J. Schor por los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C, Sr. Jorge A. Aznárez y Dr. Gerardo M. Caballero por los espectros de masa y CG-EM, Sr. Carlos G. Arabehty por los espectros de masa de alta resolución, Lic. Marta Marcote por la realización de los microanálisis.

A los Dres. Eduardo G. Gros, Alicia M. Seldes y Gerardo Burton por su esfuerzo para mejorar día a día las condiciones de trabajo.

Al Dr. Gerardo Burton y al Sr. Carlos G. Arabehty por el entrenamiento en el manejo del espectrómetro de RMN.

Al Dr. Hugo Garrafo y Dr. H. Yen (National Institutes of Health, E.E.U.U.) por los espectros de RMN-1D y RMN-2D del Danazol registrados a 500 MHz.

A Sterling Products Argentina por facilitarnos una muestra de Danazol.

A la Dra. Cristina Matulewicz por la utilización de su equipo de ultrasonido.

A la Dra. Mónica E. Deluca por su guía e invaluable ayuda durante las primeras etapas de este trabajo.

Al Dr. Gerardo Burton por sus continuas enseñanzas sobre distintos programas de computación.

A los Dres. Gerardo Burton y Jorge Palermo por sus invaluable consejos sobre técnicas de RMN-2D.

A la Sra. Ana Burton por su ayuda incondicional.

A Jorge Aznárez y Gerardo Caballero por el ambiente de trabajo durante las últimas etapas de escritura.

A mis compañeros de laboratorio: Dra. Mónica E. Deluca, Dra. Marta S. Maier, Dra. Laura J. Schor, Dra. Gabriela M. Cabrera, Dr. Jorge A. Palermo, Lic. Enrique A. Hughes,

Lic. Alejandro J. Rocatagliatta, Cecilia L. D'Alessandro, Florencia Rodriguez Brasco y Mariana Gallo por los gratos momentos compartidos a lo largo de estos años y hacer que todo sea más llevadero.

A Jorge Palermo, Laura Schor, Violeta Benedetti, Fabio Doctorovich, Javier Covián, Eli Lewcowicz y Guillermo Amorín compañeros de tantas traspasadas.

A Gabriela Cabrera, Jorge Palermo, Gustavo Revelli y Alejandro Nin por su amistad.

A Javier Monserrat, Oscar Moradei, Silvana Leit, Cristina Tetamanzi, Andrés Ferrara, Daniel Nicoletti, Eduardo Sproviero, Miriana Biondic, María Inés Errea y Guadalupe García Liñares por su colaboración y cordialidad.

INDICE

	pag.
Introducción.....	1
Objetivos.....	12
Capítulo 1: Isoxazoles Esteroidales.....	14
Capítulo 2: Aproximaciones Sintéticas a Isotiazoles Esteroidales	66
Capítulo 3: 17 β -hidroxi [2,3-d] isotiazoles.....	119
Apéndice.....	154
Experimental	160
Resumen	202
Bibliografía.....	207

Abreviaturas utilizadas

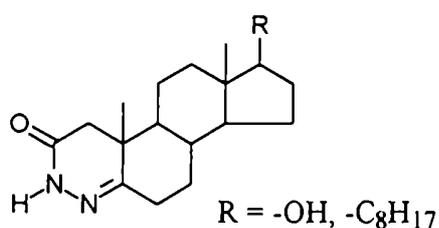
$[\alpha]_D$	rotación óptica específica ($\lambda=589$ nanómetros)
Å	angstrom
Bz	benceno
c	concentración (en gramos por cada 100 mililitros de solución)
c.c.d.	cromatografía en capa delgada
DIBAL	hidruro de diisobutilaluminio
dm	decímetro
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
ϵ	coeficiente de extinción molar
EM	espectrometría de masa
EMAR	espectrometría de masa de alta resolución
eq.	equivalentes
Et	etilo
eV	electrón volts
g	gramo
HAcO	ácido acético
HMPA	hexametilfosforamida, $(\text{Me}_2\text{N})_3\text{PO}$
hs.	horas
Hz	hertz
λ_{max}	lambda máximo
LDA	diisopropil amiduro de litio
LHDS	litio hexametildisilazano $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NLi}$
LICA	isopropilciclohexil amiduro de litio

lit.	literatura
M	concentración molar
M ⁺	M ⁺ = ión molecular
Me	metilo
MeLi	metillitio
MEM	metoxietoximetil
MEMCl	cloruro de metoxietoximetilo
MeO	metoxilo
MHz	megahertz
ml	mililitro
mm	milimetro
mmol	milimol
m/z	relación masa/carga
N	concentracion normal
n-BuLi	n-butillitio
nm	nanometro
NOE	efecto nuclear Overhauser
PCC	clorocromato de piridonio
PDC	dicromato de piridonio
p.f.	punto de fusión
ppm	partes por millón
ref.	referencia bibliográfica
refl.	reflujo
RMN- ¹³ C	resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN- ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
sol.sat.	solución saturada

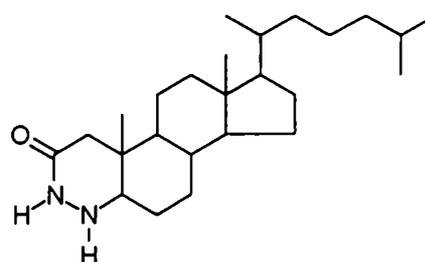
sv	solvente
T	temperatura
$t_{amb.}$	temperatura ambiente
TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
TBDMSCl	cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
tBu	<i>tert</i> -butilo
TEA	trietilamina
THF	tetrahidrofurano
tpo.	tiempo
UV	ultravioleta

Introducción

En 1954 Weisenborn y colaboradores [Weisenborn, 1954], como parte de un programa destinado a encontrar nuevos compuestos con actividad biológica interesante, sintetizaron los primeros análogos esteroidales en los que un anillo del sistema ciclopentanoperhidrofenantreno fue reemplazado por un heterociclo. Dichos autores prepararon análogos de colesterol y testosterona conteniendo en su estructura un núcleo de piridazinona (1) o tetrahidropiridazona (2).

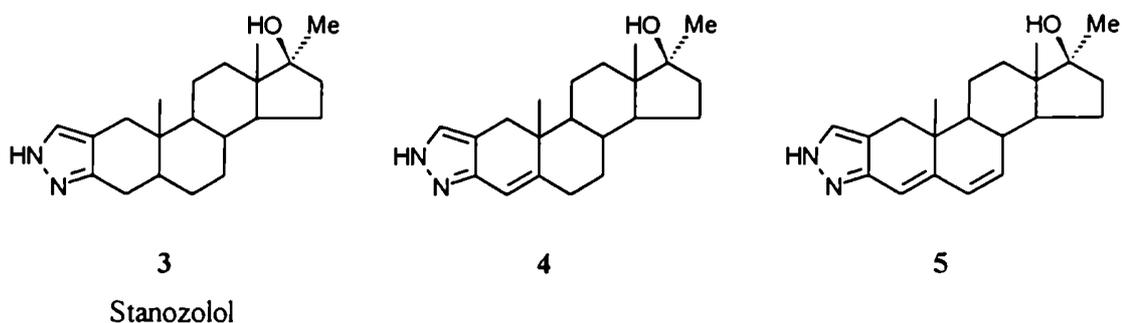


1



2

Cinco años más tarde, se comenzó a estudiar el efecto sobre la actividad endocrinológica (propiedades estrogénicas, androgénicas y anabólicas) que producía la fusión de un anillo pirazolinico al núcleo esteroidal. Con este fin se prepararon los primeros [3,2-c] pirazoles esteroidales 3 - 5, que resultaron potentes agentes anabólicos débilmente androgénicos [Clinton, 1959]. El más interesante de esta serie resultó el 17 α -metil-5 α -androstan [3,2-c] pirazol-17 β -ol (3) conocido actualmente como **Stanozolol** (Sterling Drug Inc.) que es utilizado como anabólico en humanos.



Para nombrar este tipo de compuestos se siguen una serie de reglas que establecen la numeración de los mismos:

- 1) los átomos del heterociclo se numeran como se indica en la **Figura 1**.
- 2) los enlaces del heterociclo se indican con letras minúsculas a,b,c,...
- 3) se indican dos números, separados por una coma, que especifican qué átomos de carbono del esqueleto esteroidal forman parte del heteroanillo (en este caso C2 y C3).
- 4) se indica primero el número del átomo de carbono del esteroide que posee el menor valor en la numeración del heteroanillo (en este caso el C3 del esteroide ocupa la posición 3' del heteroanillo y el C2 del esteroide ocupa la posición 4').
- 5) separado de un guión, se indica la letra que corresponde al enlace del heterociclo por el cual éste último se encuentra fusionado al esqueleto esteroidal.
- 6) los números indicados en 3) y la letra indicada en 5), se encierran entre corchetes y se anteponen al nombre del heterociclo.

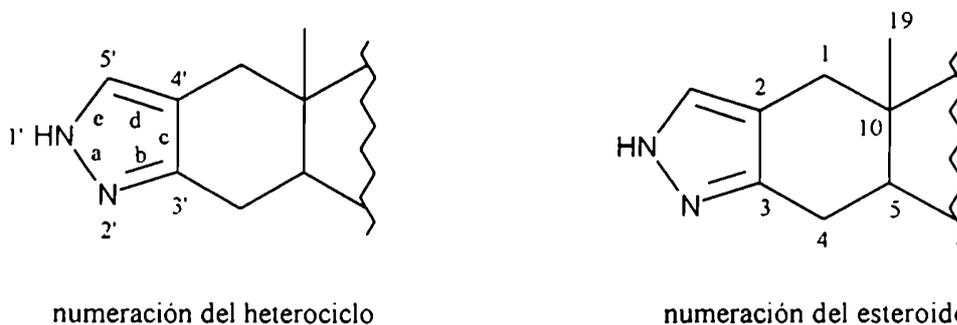


Figura 1. Nomenclatura para compuestos con heterociclos fusionados al esqueleto esteroidal.

Para fines de la década de 1950 y durante la década de 1960, hubo un continuo interés en la búsqueda de compuestos sintéticos que presentaran una elevada relación entre actividades anabólico/androgénica (se hablaba entonces de lograr la separación entre actividad anabólica y actividad androgénica). Esto dió lugar a la preparación de una gran variedad de derivados esteroidales como por ejemplo:

- esteroides sustituidos con grupos alquilo [Robinson, 1959; Zderic, 1959].
- esteroides sustituidos con grupos hidroxilo, halógeno, ciano o nitro [Nakanishi, 1959; Edwards, 1959; Nathan, 1959].
- 19-nor esteroides [Colton, 1957].
- esteroides con heterociclos fusionados al anillo A de su esqueleto.

Dentro de éste último grupo, se utilizaron distintos heterociclos tales como pirazoles, isoxazoles, pirroles y piridinas (en este caso también se sintetizaron derivados con el anillo heterocíclico fusionado al anillo D del esqueleto esteroideal). La estructura general de estos compuestos se indica en la **Figura 2**.

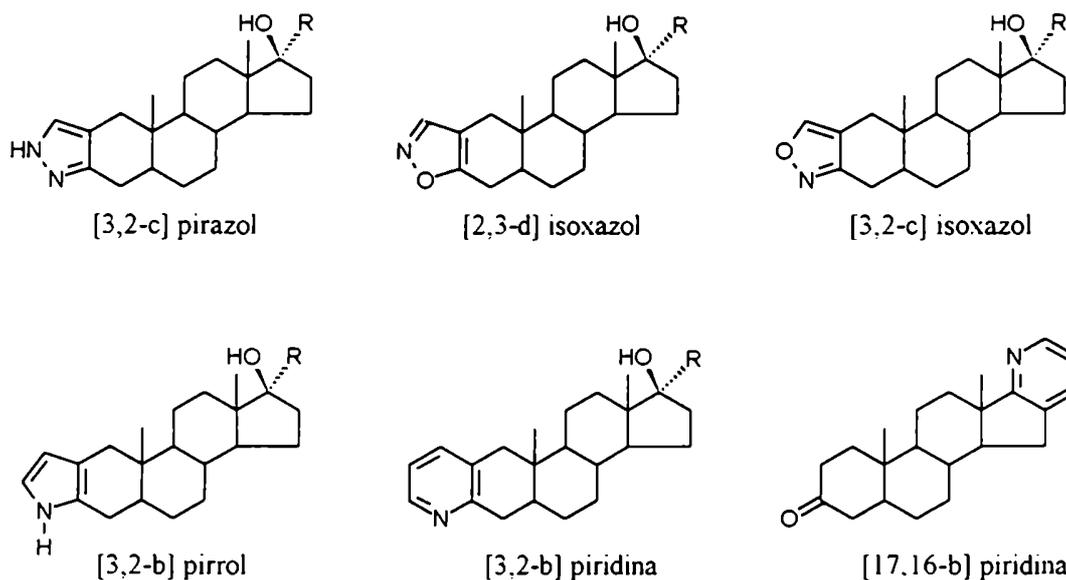


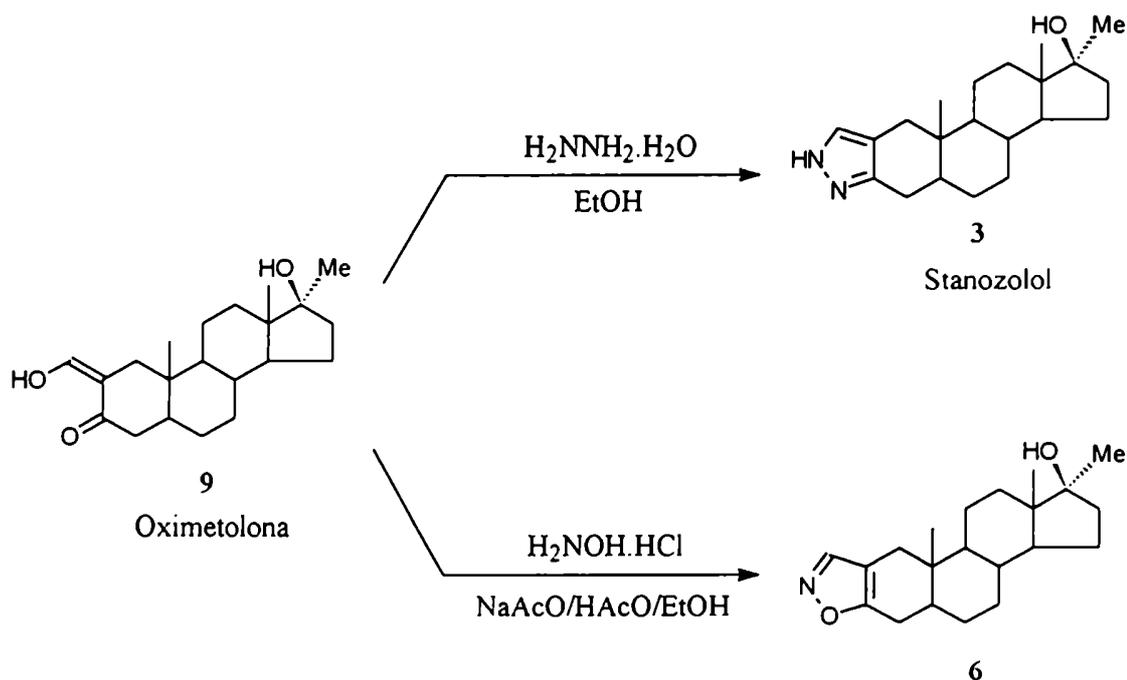
Figura 2. Compuestos con diversos heteroanillos fusionados al esqueleto esteroideal.

En el caso de los pirazoles esteroidales [Clinton, 1961a; Clinton, 1962], el grupo R se varió entre hidrógeno, metilo, etilo, vinilo, etinilo, propilo, alilo y propinilo. Se sintetizaron compuestos de las series 5α (fusión de anillos A/B trans), 5β (fusión A/B cis), Δ^4 (insaturación entre C4-C5), $\Delta^{4,6}$ (insaturaciones entre C4-C5 y C6-C7) y 19-nor (ausencia de metilo 19) tanto 5α como Δ^4 . Se observó una elevada relación de actividades anabólico/androgénica, particularmente para el caso del **Stanozolol** (**3**), aunque en las series insaturadas, éste perfil se vió acompañado de un importante caracter estrogénico.

Entre los isoxazoles [Clinton, 1961b; Manson, 1963], el grupo R se varió de igual modo preparándose derivados de las series 5α , Δ^4 y $\Delta^{4,6}$. El perfil de actividades resultó similar al de los pirazoles con excepción del caracter estrogénico que no se observó en el caso de los isoxazoles. En general los [2,3-d] isoxazoles tuvieron un perfil de actividad superior a los [3,2-c] isoxazoles correspondientes [Arnold, 1963a]. Tanto para los pirazoles como para los isoxazoles la actividad disminuía si la cadena lateral en C17 era mayor que etilo.

En cuanto a la separación de actividades anabólica y androgénica, el compuesto más interesante, dentro de la serie de isoxazoles, resultó ser el 17α -metil- 5α -androstan [2,3-d] isoxazol- 17β -ol (**6**). Otros compuestos importantes en esta serie fueron el 17α -etinil-4-androsten [2,3-d] isoxazol- 17β -ol (**7**), comercializado como **Danazol** [Sterling Drug Inc., 1962], y el 4,4, 17α -trimetil-5-androsten [2,3-d] isoxazol- 17β -ol (**8**) o **Azastene**. Si bien el **Danazol** (**7**) no mostró una elevada acción anabólica, posteriormente se encontró que tenía actividad como supresor de la pituitaria anterior (inhibiendo la liberación de gonadotrofinas) libre de actividad estrogénica y con una mínima acción androgénica [Sherins, 1971]. También se informó su actividad como anticonceptivo oral [Bell, 1979]. Actualmente se hace uso de su acción antigonaotrófica, siendo el principio activo de un fármaco utilizado para el tratamiento de una serie de disfunciones tales como: endometriosis, displasia mamaria, menorragia y ginecomastia. Sin embargo, su acción se ve acompañada de efectos

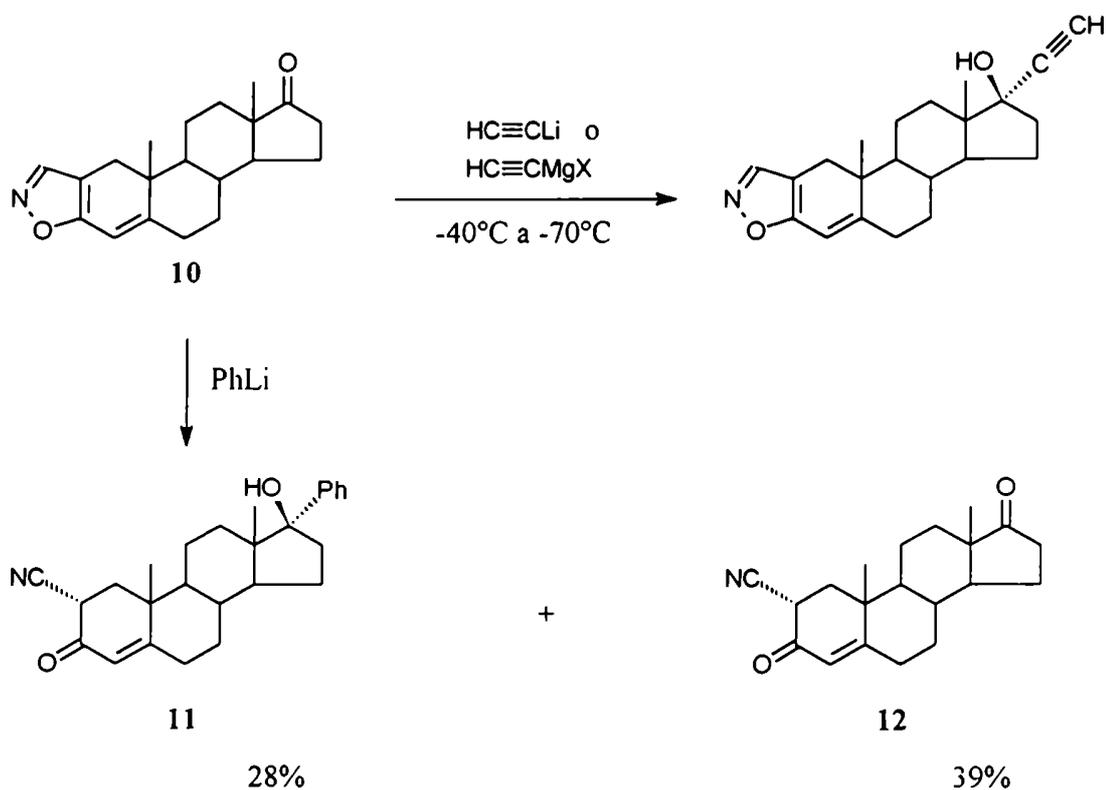
Oximetolona (9) también se comprobó en humanos [Myerson, 1961] y actualmente es un anabólico de uso clínico.



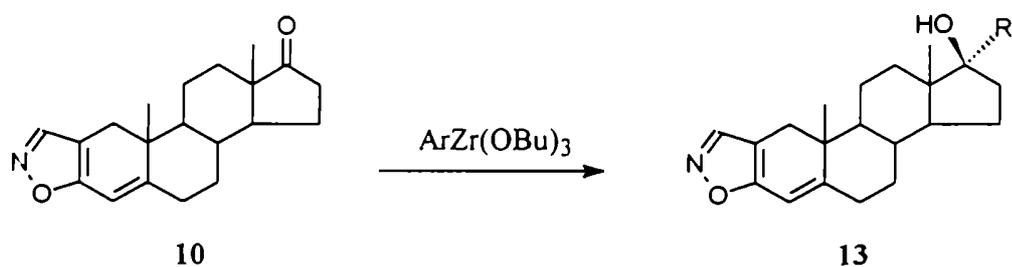
En los últimos años se sintetizaron análogos del **Danazol (7)** en los que se introdujeron modificaciones en la cadena lateral.

Se conocía la reacción de 17-ceto esteroides conteniendo un anillo isoxazolinico con reactivos de Grignard u organolíticos [Christiansen, 1978]. Al tratar el 17-ceto derivado **10** con acetiluro de litio o un halogenuro de etinilmagnesio, la temperatura debía mantenerse entre -70°C y -40°C para minimizar la ruptura del anillo isoxazolinico debido a las condiciones básicas de reacción.

Cuando se utilizaron reactivos de Grignard u organolíticos aromáticos a -70°C , no se observó reacción. Al aumentar la temperatura (-5°C a 0°C) se obtuvieron las cianocetonas **11** y **12** [Kumar, 1989].



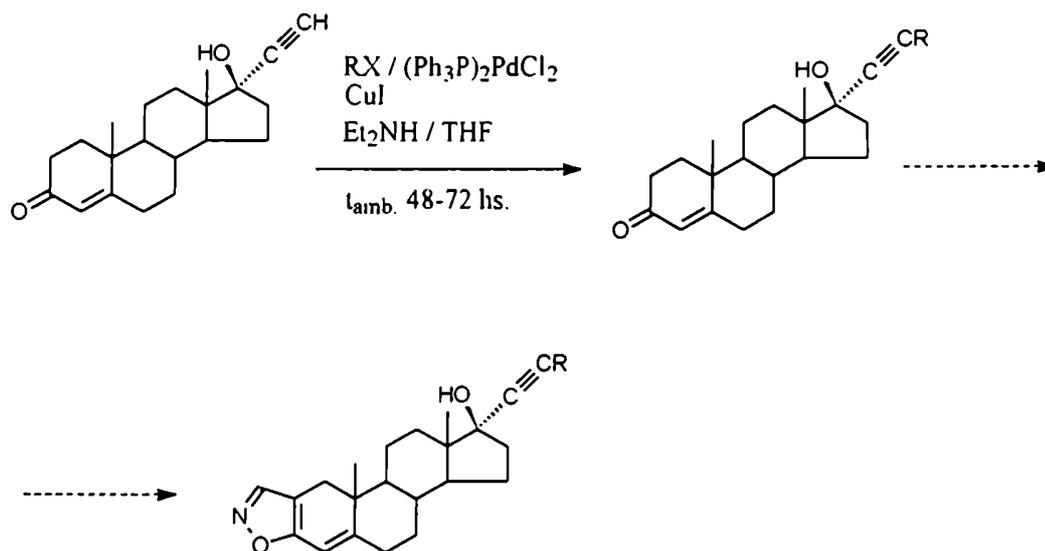
Finalmente se utilizaron reactivos de zirconio [Weidmann, 1981; Weidmann, 1983] que al ser menos básicos no produjeron la ruptura del anillo isoxazolinico. Se obtuvieron entonces derivados como *13*:



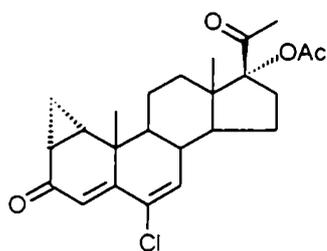
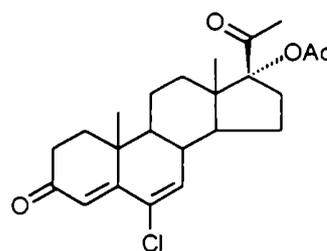
$\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5, 4\text{-FC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 4\text{-HOC}_6\text{H}_4, 2\text{-fural}, 2\text{-tienil}$

Posteriormente, con el fin de mapear los requerimientos estéricos en C17 de los receptores de progesterona, andrógenos y estrógenos, se introdujeron nuevas

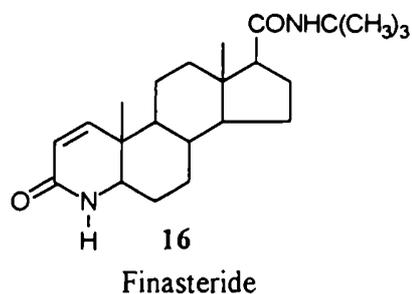
modificaciones en la cadena lateral del **Danazol** (**7**). Se utilizó una reacción de acoplamiento entre halogenuros aromáticos o heteroaromáticos y 17-etinil esteroides catalizada por Pd (0) [Kumar, 1992].



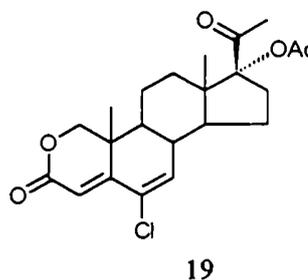
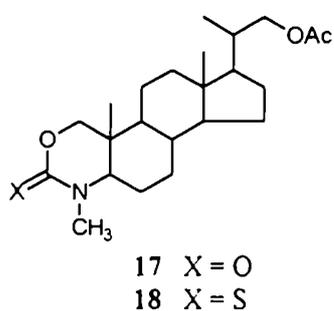
La síntesis de compuestos esteroidales conteniendo heterociclos en su estructura, no tuvo como único objetivo la obtención de potentes anabólicos libres de los efectos propios de las hormonas masculinas. Ya en la década de 1960 se sintetizaron análogos estructurales de la progesterona como el acetato de ciproterona (**14**) (Schering) o el acetato de clormadinona (**15**) que resultaron potentes antiandrógenos que actuaban por inhibición competitiva bloqueando los receptores hormonales [Alvizatos, 1993; Shibata, 1992].

**14****15**

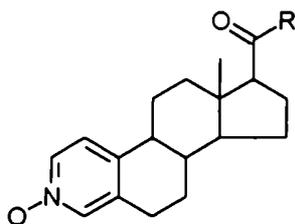
A mediados de la década de 1980, se comenzaron a sintetizar derivados esteroidales en los que el anillo A del esqueleto se reemplazó por un heterociclo. Surgieron entonces los 4-azaesteroides [Rasmusson, 1984; Rasmusson, 1986] desarrollados por Merck, Sharp & Dohme que presentaron una importante actividad como inhibidores de la 5α reductasa (enzima necesaria para la transformación de testosterona en dihidrotestosterona, sustrato que se une a los receptores de andrógenos). Uno de estos compuestos, el **Finasteride (16)**, fue aprobado por la Food & Drug Administration de los Estados Unidos en 1992 y actualmente se comercializa para el tratamiento del cáncer de próstata [Stinson, 1992].



Se sintetizaron análogos con uno o dos heteroátomos en el anillo A del esteroide como los 4-aza-2-oxa-pregnanos **17** y **18** [Weintraub, 1985] o el 2-oxapregnano **19** (Teikoku Hormone Mfg. Co.) [Shibata, 1992] cuya actividad como antiandrógeno se ha estudiado empleando ratas [Murakoshi, 1992a; Ichikawa, 1993; Murakoshi, 1993] y perros [Murakoshi, 1992b].



Recientemente, la empresa Glaxo [Haffner, 1994] logró la síntesis de nuevos inhibidores de la 5 α -reductasa reemplazando el anillo A del esqueleto esterooidal por un N-óxido de piridina (20,21).



20 R = NEt₂

21 R = NH-tBu

A fines de la década de 1980, se informó una notable actividad como antagonista de receptores de andrógenos para el sulfonilpirazol esterooidal 22 o **Zanoterona** (Sterling Inc.) [Snyder, 1989; Winneker, 1989]. Esto motivó la síntesis de nuevos compuestos en los cuales se varió la cadena lateral en C17 [Christiansen, 1990] o el heterociclo fusionado al anillo A del núcleo esterooidal. Se construyeron distintos heteroanillos unidos a las posiciones 2 y 3 del esteroide tales como: furanos (23, 25-27), tiofenos (24) [Kumar, 1991; Kumar, 1994], tiazoles (28), oxazoles (29) y pirimidinas (30) [Mallamo, 1992]. En todos los casos poseían un sustituyente en el heterociclo (Figura 3). Sobre la base de los resultados de los ensayos de actividad "in vitro" y de los cálculos semiempíricos y "ab initio" que permitieron analizar las superficies de potencial electrostático, los autores concluyeron que la presencia de un heteroátomo rico en electrones unido al C3 del esteroide era necesaria para lograr la actividad deseada.

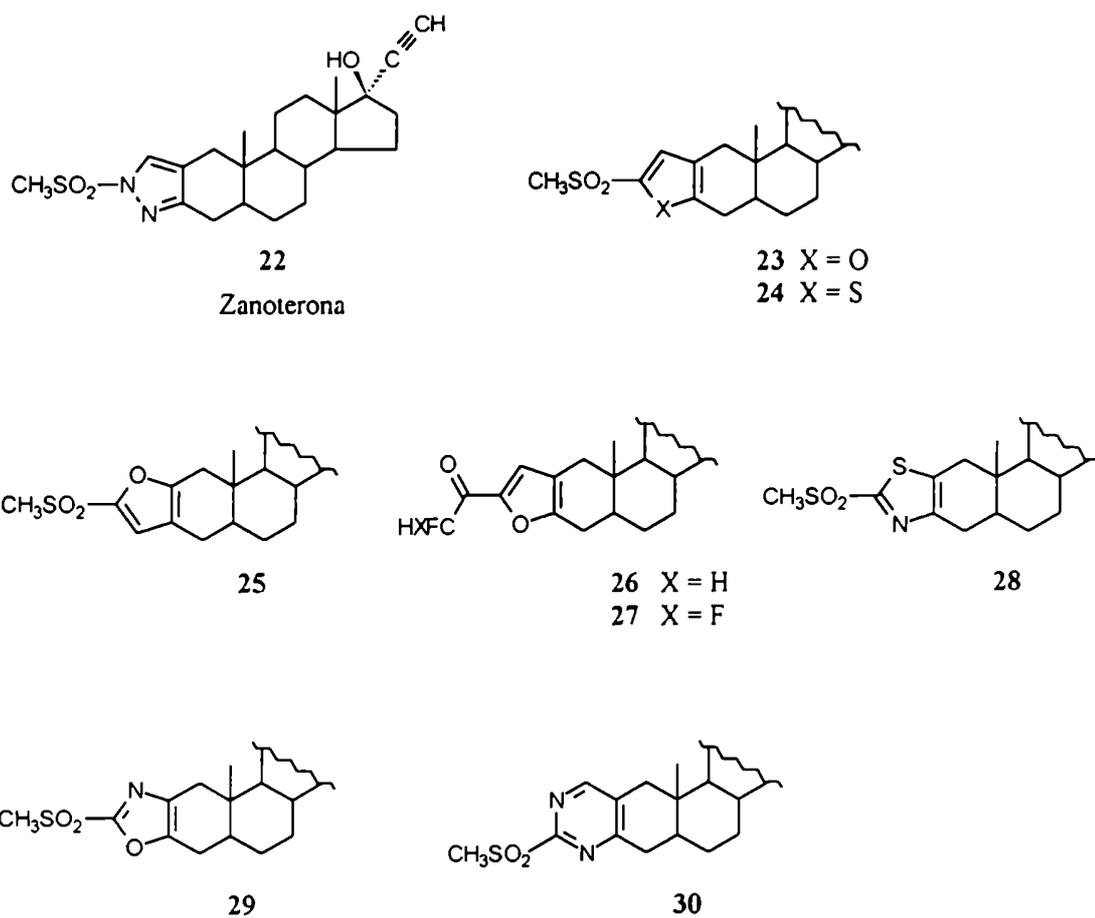


Figura 3. Antiandrógenos esteroidales que presentan distintos heterociclos fusionados al anillo A.

Objetivos

Como se ha descrito en la Introducción, los derivados esteroidales conteniendo heterociclos en su estructura, han presentado interesantes propiedades farmacológicas. Algunos, como el **Stanozolol** (3), presentaron una importante acción anabólica [Arnold, 1963a y b]; otros, como el **Danazol** (7), resultaron inhibidores de la pituitaria anterior [Sherins, 1971]. Ciertas modificaciones en la estructura del **Stanozolol** permitieron obtener el 1'-metansulfonil [3,2-c] pirazol (20) o **Zanoterona**, que no solo no presentó actividad androgénica, sino que resultó un importante antagonista de los receptores de andrógenos [Snyder, 1989; Winneker, 1989] al igual que otros derivados análogos en los que se modificó el anillo heterocíclico fusionado a anillo A del esteroide [Mallamo, 1992].

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los estudios de actividad, puede concluirse que los factores más importantes que influyen en la actividad biológica de este tipo de compuestos son:

- a) la distancia relativa entre los sustituyentes en las posiciones 3 y 17 del núcleo esteroidal
- b) la cadena lateral unida a C17 no debe ser mayor que etilo. Además, actualmente se sabe que uno de los efectos del sustituyente en esta posición es retardar la degradación de estos compuestos en el organismo
- c) la presencia de un grupo hidroxilo en posición 17 β
- d) la presencia de insaturaciones en posición 4 o 6 que puede alterar las propiedades biológicas del compuesto
- e) la nucleofilicidad de la región cercana a anillo A del esteroide
- f) el carácter electrónico (densidad de carga electrónica) del anillo heterocíclico

Considerando la importancia de este tipo de compuestos, y que pese a la gran diversidad de heterociclos ya construidos entre las posiciones 2 y 3 del esqueleto esteroidal no se habían sintetizado isotiazoles esteroidales, se decidió desarrollar un método que permitiera la preparación eficiente de esta nueva clase de compuestos. Teniendo en cuenta

los requisitos estructurales descritos anteriormente, se decidió encarar la síntesis de los [2,3-d] isotiazoles esteroidales que se indican en la **Figura 4**.



R = H, Me, Et, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$

Figura 4. Objetivos sintéticos del presente trabajo de Tesis.

En una primera etapa del presente trabajo de tesis, se decidió sintetizar algunos análogos con estructura de [2,3-d] isoxazoles esteroidales debido a que gran parte de la información sobre la síntesis de estos compuestos (que en su mayoría han sido desarrollados por empresas farmacéuticas) se encuentra descrita en patentes. Si bien estos compuestos ya eran conocidos, su preparación permitió adquirir experiencia en la síntesis de derivados esteroidales heterocíclicos muy similares a los isotiazoles que se prepararían posteriormente. Además, dado que no existían en literatura datos espectroscópicos sobre isoxazoles esteroidales (en particular RMN- ^1H y RMN- ^{13}C), se realizó la asignación completa de los espectros de los distintos productos sintetizados y de los intermediarios de síntesis. Estos datos se utilizaron posteriormente para la interpretación de los espectros obtenidos durante la síntesis de isotiazoles esteroidales.

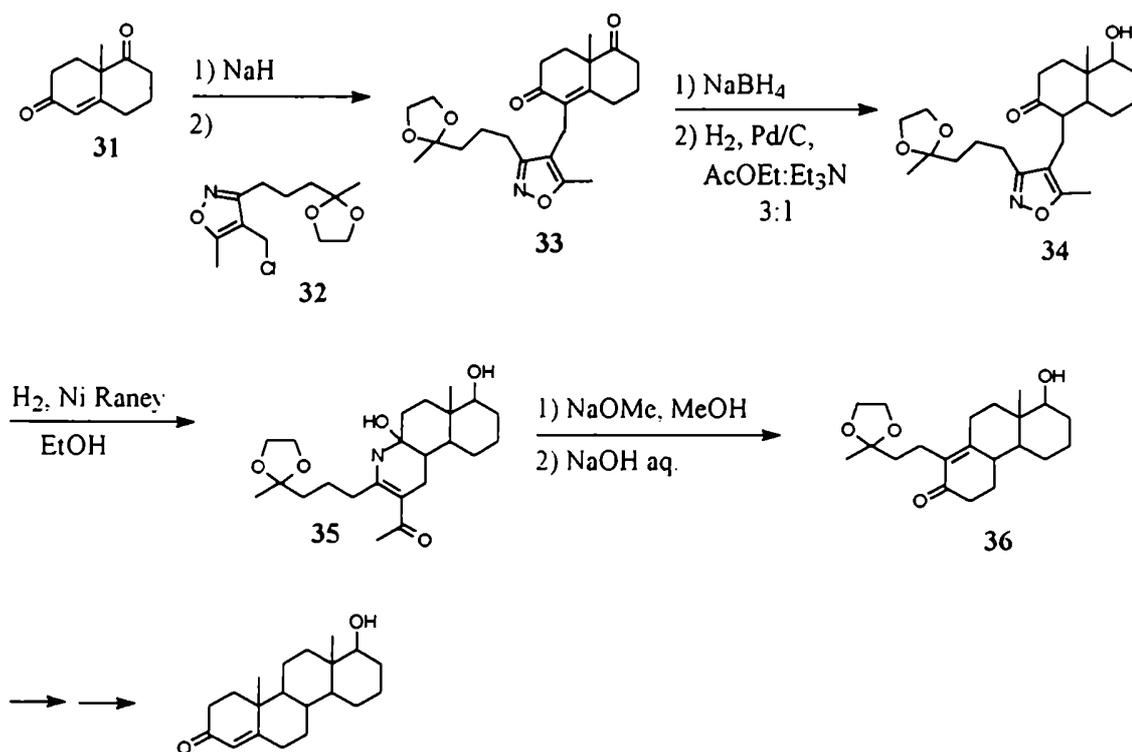
En el Apéndice se indican las estructuras de los compuestos que fueron sintetizados durante el presente trabajo de tesis. Las estructuras de los compuestos que no se encontraban descritos en literatura se destacan en color.

Capítulo 1

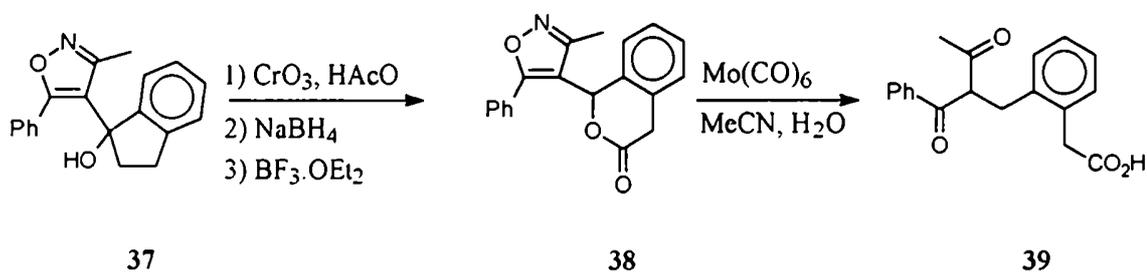
Isoxazoles Esteroidales

Introducción

Los isoxazoles son compuestos de gran interés en diversos aspectos de la química orgánica. Por ejemplo, son la base de un método de anelación desarrollado por Stork que permite la construcción de anillos de ciclohexenona en sistemas policíclicos. Este método ha sido utilizado para la síntesis total de derivados esteroidales [Stork, 1967 a,c y d]. El enolato de la dicetona **31** se trató con un equivalente de borohidruro de sodio (para reducir el grupo carbonilo saturado) y por hidrogenación posterior se obtuvo la hidroxicetona **34**. Este compuesto se transformó, por hidrogenólisis, en la carbinolamina cíclica **35** que por calentamiento en medio básico rindió la cetona tricíclica **36** con 60% de rendimiento con respecto a la enona **33**.

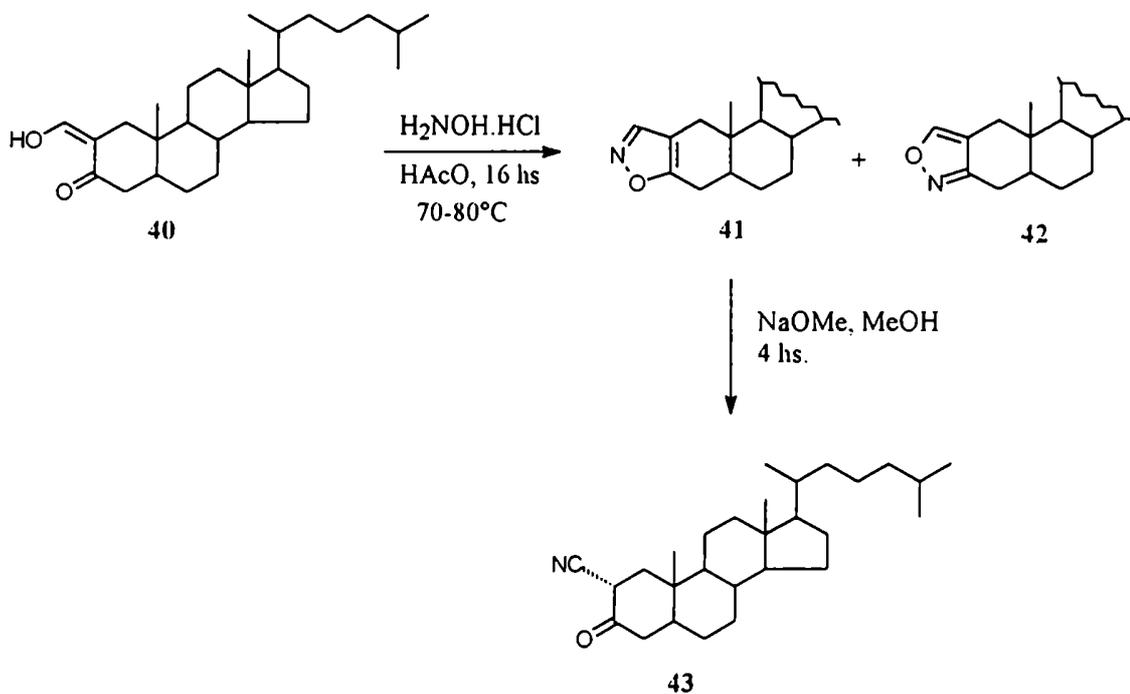


Se han utilizado isoxazoles como alternativa sintética para sistemas 1,3-dicarbonílicos enmascarados [Martin, 1993]. Por ejemplo, para la síntesis de juvenoides (compuestos que imitan los efectos de las hormonas juveniles de insectos) se aprovechó la posibilidad de realizar oxidaciones y reducciones selectivas sobre intermediarios isoxazolinicos convenientemente sustituidos. El alcohol terciario **37**, preparado por reacción del correspondiente 4-isoxazolillitio con indanona, se transformó en la lactona **38**, que posteriormente se redujo con hexacarbonilmolibdeno obteniéndose el compuesto dicarbonílico **39** con un rendimiento global del 49% respecto a la indanona de partida.



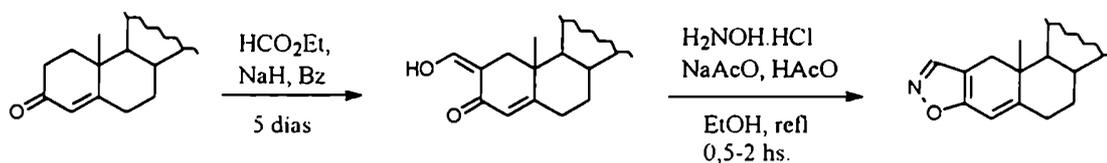
Se han desarrollado distintas metodologías que permiten la preparación de anillos isoxazolinicos. En general estos métodos se basan en la utilización de hidroxilamina o un óxido de nitrilo para la introducción del átomo de nitrógeno.

En 1960, Winternitz y colaboradores [Winternitz, 1960] sintetizaron la 2 α -ciano-5 α -coleston-3-ona (**43**) utilizando el 5 α -coleston [2,3-d] isoxazol **41** como intermediario. La mezcla obtenida por reacción de la 2-hidroximetilen-5 α -coleston-3-ona (**40**) con clorhidrato de hidroxilamina se trató con metóxido de sodio en metanol, obteniéndose la 2 α -cianocetona **43** con un 50% de rendimiento global.



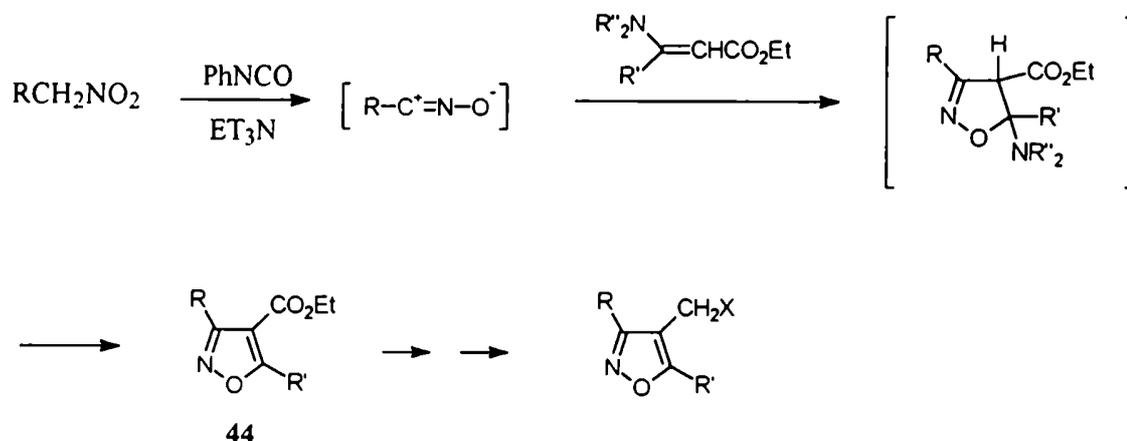
Los autores informaron que el producto de la primer reacción consistía en una mezcla de dos isoxazoles isómeros uno de los cuales resultó resistente a la metanólisis mientras que el isómero **41** dió origen al compuesto buscado. Si bien este fue el primer informe sobre la preparación de isoxazoles esteroidales, no se informó la proporción de ambos isómeros en la mezcla de reacción. Estos compuestos tampoco fueron aislados ni caracterizados [Winternitz, 1960].

Posteriormente, Manson y colaboradores [Clinton, 1961b; Manson, 1963] prepararon una serie de [2,3-d] isoxazoles esteroidales a partir de los 3-ceto derivados correspondientes utilizando una metodología muy similar a la desarrollada por Winternitz.

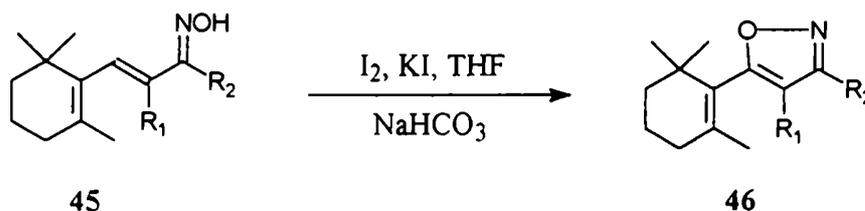


El grupo de Manson observó que por reacción de un 2-hidroximetilén-3-cetoesteroide tal como **42** con hidroxilamina, podían obtenerse dos isoxazoles isómeros (**41** y **42**) que se distinguían fácilmente, pues sólo **41** era transformado por acción de una base en un 2 α -ciano derivado. La relación entre ambos isómeros dependía del pH, solvente y temperatura de reacción. Se observó que en condiciones débilmente básicas (solución alcohólica con un exceso de acetato de sodio o utilizando piridina como solvente) se obtenían mezclas de isoxazoles isómeros. Si se efectuaba la reacción empleando clorhidrato de hidroxilamina en alcohol o ácido acético glacial, los rendimientos para la obtención de [2,3-d] isoxazoles como **41** eran óptimos. Sin embargo, estas condiciones no resultaban adecuadas si existía un hidroxilo terciario en el esteroide (por ejemplo en C17) ya que el mismo deshidratava. Para evitar esta reacción secundaria fue necesario el agregado de acetato de sodio de forma tal que la reacción transcurriera en condiciones débilmente ácidas. Esta modificación permitió la preparación de [2,3-d] isoxazoles esteroideos con rendimientos superiores al 60%.

Una estrategia totalmente diferente fue desarrollada con el objeto de lograr un método general para la preparación de 4-halometilisoxazoles [Stork, 1967b]. Por tratamiento de un nitroalcano primario con isocianato de fenilo y trietilamina en presencia de un éster α,β insaturado se obtuvo, por adición 1,3 dipolar del correspondiente óxido de nitrilo generado "*in situ*" [Mukaiyama, 1960], un 4-carboxietilisoxazol (**44**) que podía transformarse posteriormente en el 4-halometilisoxazol requerido. Los rendimientos para la obtención del isoxazol **44** fueron del 80%.

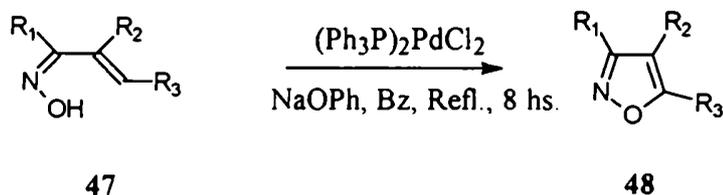


Se han descrito otros métodos basados en la ciclación oxidativa de oximas α,β insaturadas. Büchi y Vederas [Büchi, 1972] observaron que al tratar la (E) o (Z) oxima **45** con una mezcla de iodo/ioduro de potasio se producía la formación del isoxazol **46** con rendimientos que variaban entre 55% y 91%.

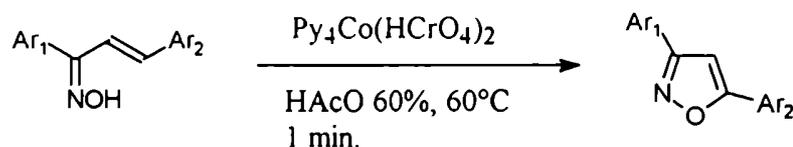


Si bien no se estudió el mecanismo de esta reacción, se observó que el pH era crítico. En medio neutro o débilmente básico el iodo se combina con el ioduro para dar triioduro pero en medio básico fuerte, el equilibrio se desplaza a la formación de I^- y IO_3^- produciendo mezclas de reacción complejas.

También se utilizaron complejos de metales de transición para efectuar este tipo de reacción. Las cetoximas α,β insaturadas **47** se convirtieron en los isoxazoles **48** utilizando diclorobis(trifenilfosfina)paladio y un exceso de fenóxido de sodio. Los rendimientos informados oscilan entre 15% y 90% [Maeda, 1973].

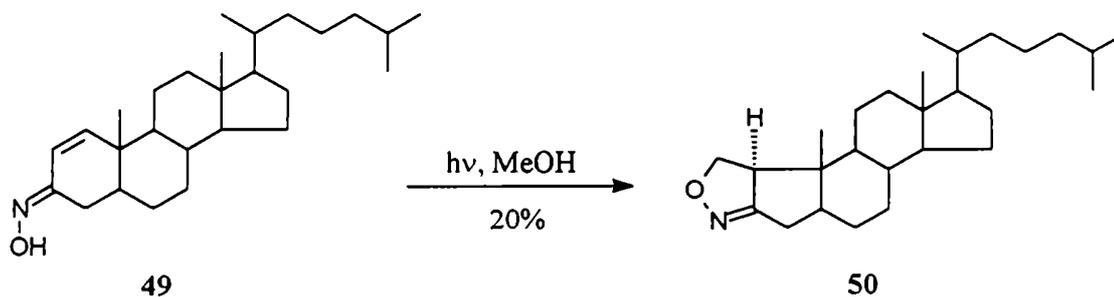


Recientemente se utilizó dicromato de tetraquis(piridina)cobalto (II) para la preparación de 3,5-diarilisoaxazoles con rendimientos entre 51% y 94% [Wei, 1992].



Si bien en estas condiciones la reacción procedía con buenos rendimientos y súmamente rápido, al intentar extender el método a la preparación de isoxazoles con sustituyentes alifáticos, no se obtuvieron buenos resultados pues las oximas revertían a las cetonas correspondientes.

Por irradiación de la oxima esteroidal **49** con una lámpara de mercurio de baja presión, se obtuvo el 4 α ',5'-dihidro-A-nor-5 α -coleston [2,1-c] isoxazol **50** [Suginome, 1987]. Sin embargo ésta reacción no tuvo interés sintético debido al bajo rendimiento logrado.



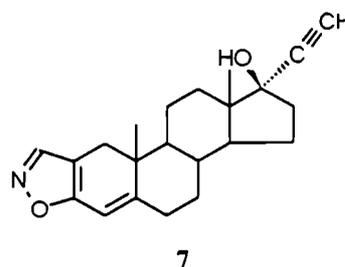
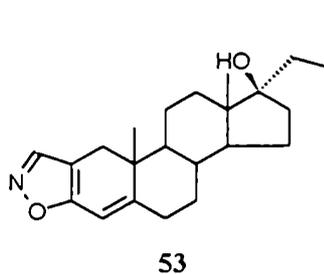
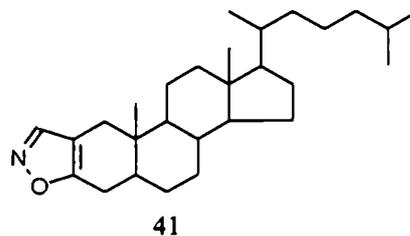
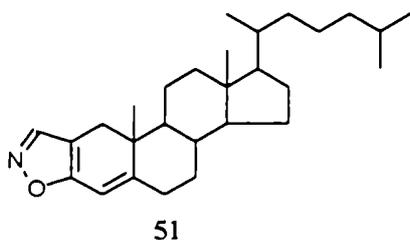
Descripción del Trabajo Realizado

Con el objeto de utilizar [2,3-d] isoxazoles esteroidales como modelo, tanto sintético como por sus datos espectroscópicos, para la síntesis posterior de [2,3-d] isotiazoles se decidió desarrollar un método eficiente para la preparación de compuestos con un anillo isoxazolinico fusionado al anillo A del esqueleto esteroideal.

Se prepararon tres compuestos de éste tipo. En primer lugar se puso a punto la técnica para la construcción del heterociclo sintetizando los compuestos **51** y **41** derivados del colesterol. Posteriormente se optimizó la introducción de una cadena lateral en C17 lo cual permitió la obtención del 17 α -etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (**53**).

Durante la preparación de estos compuestos, se obtuvieron intermediarios que presentaban grupos carbonilo en relación 1,3 lo cual daba lugar a equilibrios ceto-enólicos importantes. Se estudió la posición de dicho equilibrio empleando RMN-¹H y cálculos de energía (mecánicas moleculares).

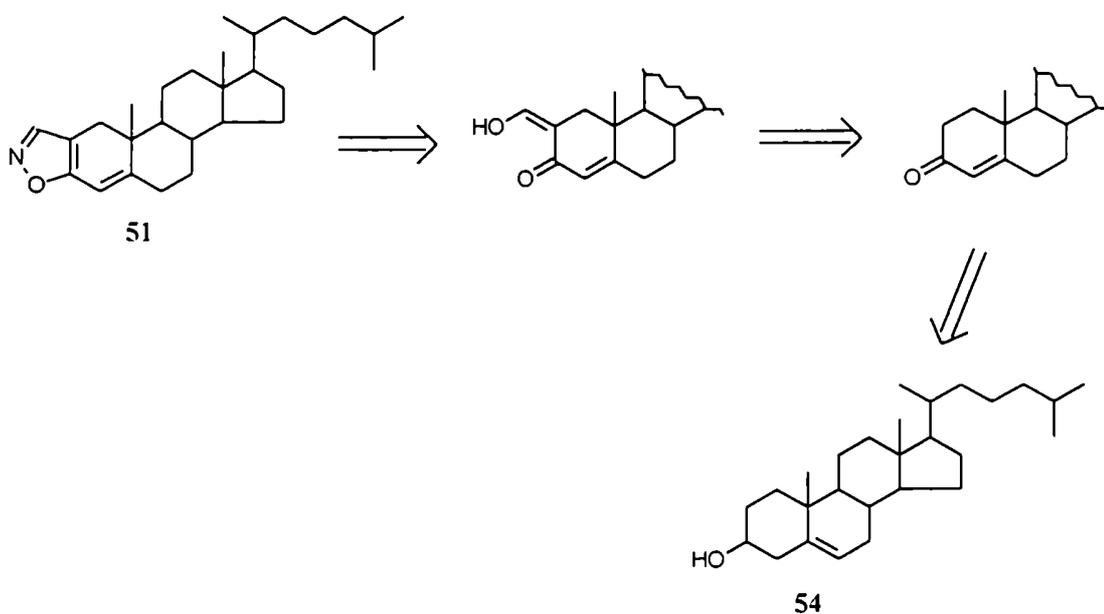
El estudio espectroscópico de esta clase de compuestos, permitió la asignación completa de los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C del **Danazol** (**7**) utilizando una muestra auténtica.



1. Síntesis de colest-2,4-dien [2,3-d] isoxazol (51) y 5 α -colestan [2,3-d] isoxazol (41).

Teniendo en cuenta los antecedentes descritos para la preparación de isoxazoles esteroidales se decidió emplear la reacción entre clorhidrato de hidroxilamina y un 2-hidroxi metilen-3-ceto esteroide. Este último podía obtenerse a partir del 3-ceto derivado correspondiente.

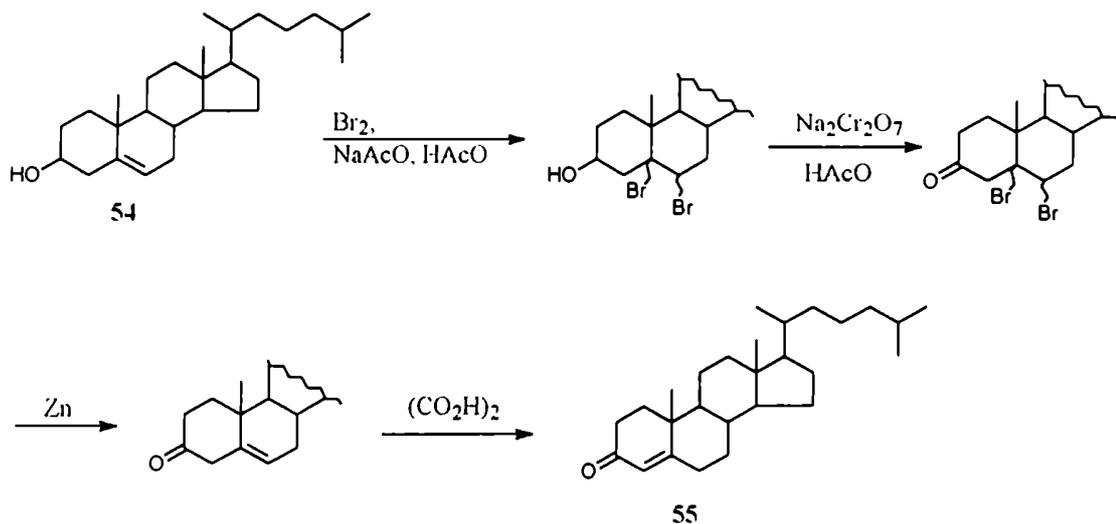
En el Esquema 1 se indica el camino retrosintético para el isoxazol 51.



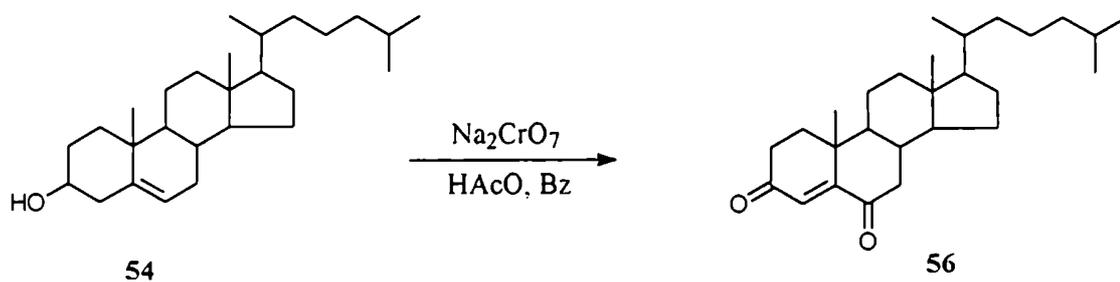
Esquema 1. Análisis retrosintético para el isoxazol 51.

Se eligió el 5-colesten-3 β -ol o colesterol (54) como material de partida ya que podía transformarse en 4-colesten-3-ona (55) por oxidación del grupo hidroxilo en C3, pudiendo esperar que la conjugación del doble enlace ocurriera simultáneamente con la oxidación.

Si bien esta transformación parecía trivial en 1955 Fieser empleó para la oxidación de **54** a **55**, una secuencia de cuatro pasos que involucraba la protección del doble enlace entre C5 y C6 como derivado dibromado [Fieser, 1955b].



El rendimiento global fue del 68% a partir de colesterol (**54**). La protección del doble enlace era necesaria ya que al efectuar la oxidación directa de **54** con dicromato de sodio en medio de ácido acético se obtenía una mezcla de reacción compleja, aislándose como producto principal la 4-colesten-3,6-diona **56** con un 39% de rendimiento [Fieser, 1955a].



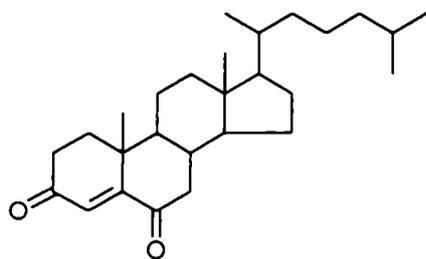
Sobre la base de estos resultados, se decidió emplear oxidantes más suaves para lograr la transformación de **54** en **55**. En primer lugar se intentó la oxidación utilizando dimetilsulfóxido con distintos activantes.

Se utilizó anhídrido metansulfónico como activante según el método descrito por Albright [Albright, 1974]. La oxidación se llevó a cabo a -20°C durante 3,5 hs. empleando HMPA como solvente. Se utilizaron 10 equivalentes de DMSO y 2 equivalentes de anhídrido metansulfónico por equivalente de colesterol (**54**). Si bien se informaban rendimientos muy buenos para ésta metodología, en este caso no se obtuvieron resultados positivos.

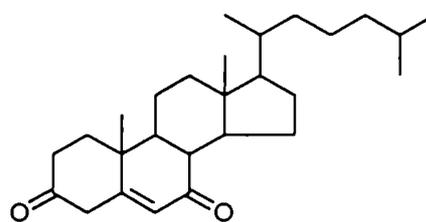
Posteriormente se utilizaron las condiciones descritas por Swern y colaboradores [Mancuso, 1978] empleando cloruro de oxalilo como activante y diclorometano como solvente. La reacción se efectuó a -18°C durante 15 minutos utilizando 2,5 equivalentes de DMSO y 1,2 equivalentes de activante. Considerando que la especie intermediaria formada por reacción del DMSO con el cloruro de oxalilo podía descomponerse a la temperatura empleada, se duplicó la cantidad de reactivo utilizada. Aún con esta modificación en ambos casos se obtuvieron resultados negativos, recuperándose inalterado el alcohol de partida.

Finalmente se ensayó la oxidación empleando pentóxido de fósforo (2 equivalentes) y DMSO (2 equivalentes) [Taber, 1987]. La reacción se realizó a temperatura ambiente durante 30 minutos en diclorometano como solvente y tampoco se obtuvieron buenos resultados en estas condiciones.

En vista de los resultados obtenidos, se decidió utilizar clorocromato de piridonio (PCC) como oxidante [Corey, 1975]. Al efectuar la oxidación utilizando 3 equivalentes de PCC durante 24 hs. a temperatura ambiente, se obtuvo un único producto con 80% de rendimiento. En el espectro de RMN- ^{13}C de dicho compuesto se observaron dos señales a 199,1 y 210,9 ppm que indicaban la presencia de un producto de sobreoxidación que podía corresponder a una estructura Δ^4 -3,6-diona (**56**) o Δ^5 -3,7-diona (**57**).

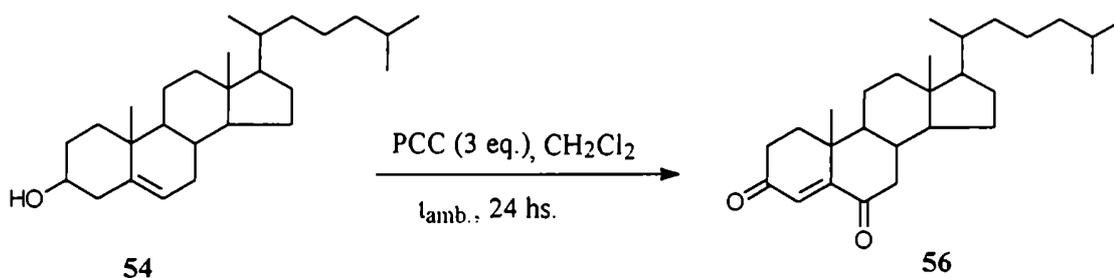


56



57

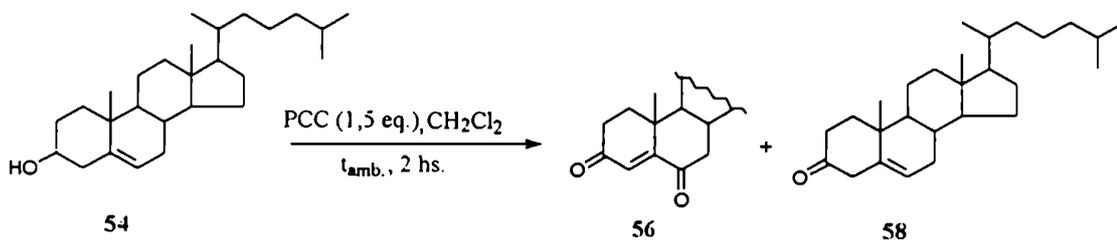
En el espectro de RMN- ^{13}C del producto la señal de C8 aparecía a 34,1 ppm. Dado que de acuerdo a datos de literatura [Blunt, 1977] éste valor era bajo para un metino en posición alfa a un grupo carbonilo y considerando que en el espectro de RMN- ^1H se observaba la señal correspondiente al hidrógeno vinílico en 6,18 ppm (un valor de desplazamiento químico muy elevado para la enona 57) se asignó la estructura 56 para el compuesto obtenido en la oxidación con PCC.



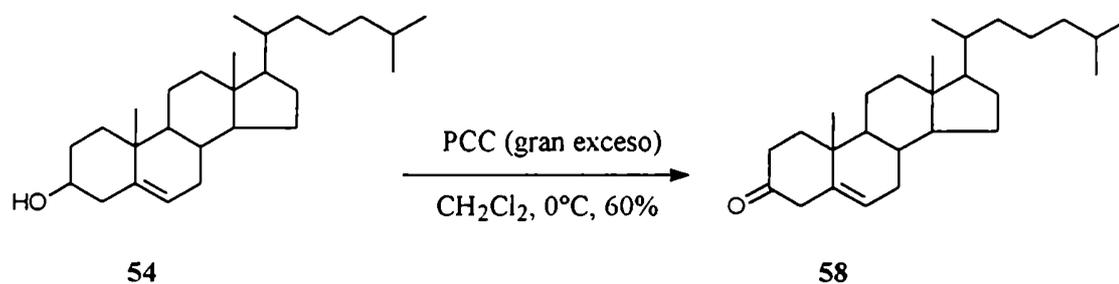
54

56

Se repitió la oxidación disminuyendo la cantidad de PCC (1,5 equivalentes) y acortando el tiempo de reacción a dos horas. Se obtuvo una mezcla del alcohol de partida, el diceto derivado 56 y la 5-colesten-3-ona (58).



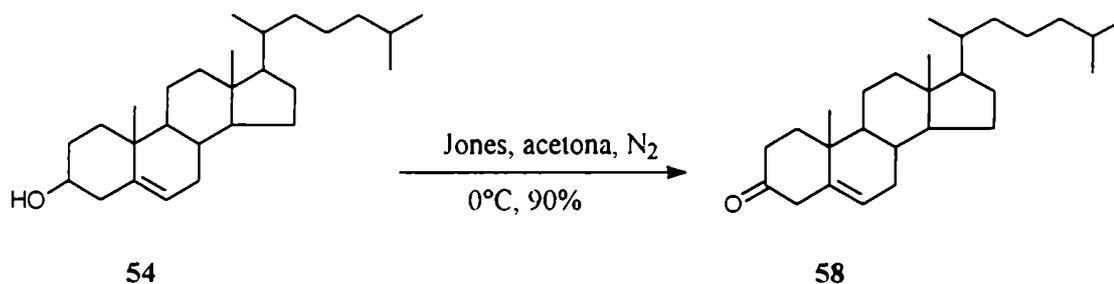
Al efectuar la reacción a una temperatura entre -18°C y 0°C , no se observó la formación de 56, obteniéndose como único producto la cetona 58. En éste caso se hacía necesario agregar a intervalos regulares de tiempo, mayor cantidad de reactivo para desplazar la reacción hacia la formación del producto deseado. Pese a utilizar un gran exceso de oxidante (hasta 18 equivalentes) y prolongados tiempos de reacción, los rendimientos no superaron el 60%.



Posteriormente se encontró un método más eficiente, mayor velocidad de reacción y rendimiento, para llevar a cabo la oxidación en C3 [Le, 1986]. La nueva metodología utilizaba el reactivo de Jones con las siguientes precauciones:

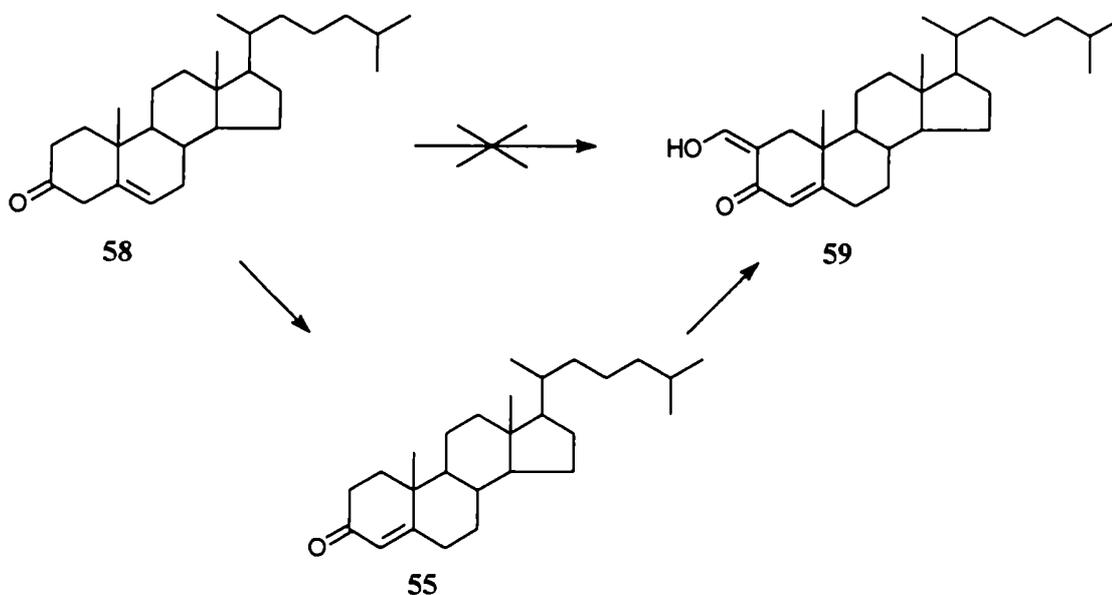
- 1) burbujeo de nitrógeno a través de la solución del alcohol en acetona antes y durante el transcurso de la reacción a fin de trabajar en ausencia de oxígeno.
- 2) temperatura constante a 0°C .
- 3) control de la cantidad de oxidante a fin de evitar un gran exceso del mismo.

Estas condiciones posibilitaron la obtención de la cetona **58**, evitando la formación del diceto derivado **56** que se aislaba en cantidades importantes en las condiciones usuales de la reacción de Jones. Además, dado que la reacción era completa, no fue necesario reciclar el alcohol de partida, como en el caso de la oxidación empleando PCC a 0°C.



Dado que no se produjo la conjugación del doble enlace entre C5-C6 durante la reacción de oxidación se intentó la preparación del 2-hidroximetilen-3-ceto esteroide **59** a partir de una estructura Δ^5 -3-ceto en lugar de la cetona α,β insaturada **55**. Se pensó que, dadas las condiciones básicas de reacción, la isomerización del doble enlace podía ocurrir simultáneamente con la formación del nuevo enlace carbono-carbono. Se intentó la reacción por agregado de hidruro de sodio a una solución del esteroide y formiato de etilo en benceno anhidro. También se utilizaron bases fuertes y voluminosas como LDA, LICA o LHDS [bis(trimetilsilil) amiduro de litio] generadas "in situ" por reacción de las correspondientes aminas secundarias con BuLi. Pese a las distintas condiciones de reacción utilizadas, en todos los casos se observaron múltiples productos de reacción posiblemente debido a la competencia en la etapa de deprotonación, por los hidrógenos de las posiciones α y α' al carbonilo.

Se decidió entonces isomerizar previamente el doble enlace y utilizar la cetona α,β insaturada **55** para la preparación del derivado **59**.



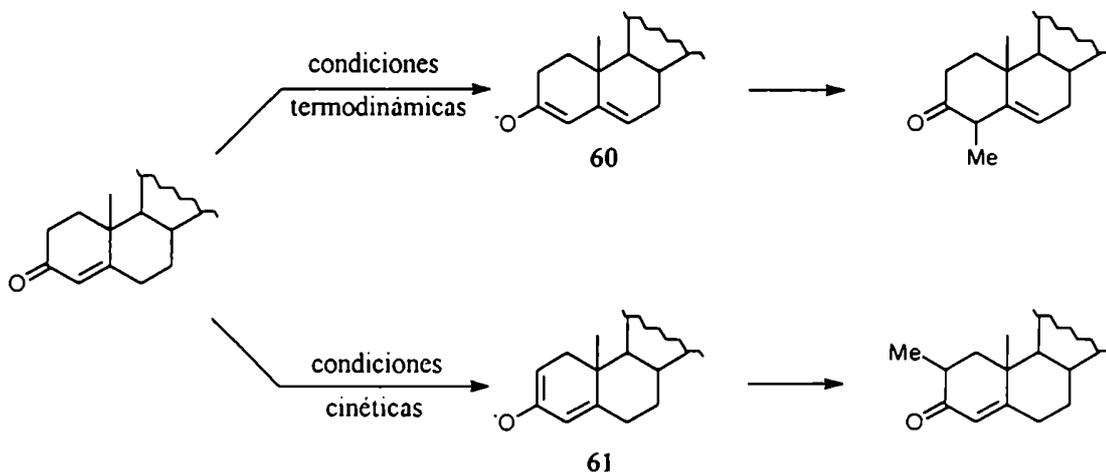
La transformación de 58 en 55 se realizó utilizando catálisis básica (se agitó una solución de la cetona 58 en hexano:benceno 7:3 en presencia de alúmina básica durante una hora a temperatura ambiente) o catálisis ácida (por acción de vapores de ácido clorhídrico sobre una solución de 58 en acetona). En ambos casos la reacción fue cuantitativa si bien, utilizando catálisis ácida, la isomerización resultó mucho más rápida, completándose en pocos minutos.

El método clásico para la preparación de 2-hidroximetilen-3-ceto esteroides consistía en el tratamiento de una solución bencénica del 3-ceto derivado correspondiente con hidruro o metóxido de sodio empleando formiato de etilo como agente acilante [Burr, 1950; Weisenborn, 1954; Weisenborn, 1959; Ringold, 1959 y Clinton, 1961a]. Esta metodología se aplicó no solo con cetonas α,β insaturadas como 55, sino también en el caso de cetonas saturadas con fusión de anillos A/B trans o A/B cis (5β -H) [Clinton, 1962; Shimizu, 1966]. La reacción se realizaba a temperatura ambiente durante 1 a 7 días obteniéndose los compuestos deseados con rendimientos que variaban entre el 35% y 100%. Algunos datos resultaban confusos ya que distintos autores informaban para los mismos sustratos, tiempos de reacción que oscilaban entre 1 y 5 días. En otros casos, los rendimientos informados para

los mismos compuestos y en condiciones de reacción similares variaban del 70% al 92%. En muchos casos solo se informaban rendimientos para los productos "crudos"

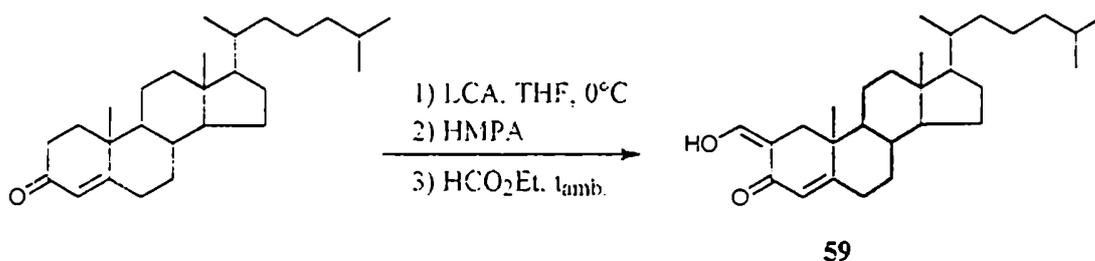
Teniendo en cuenta los antecedentes sobre preparación regioespecífica de enolatos a partir de cetonas α,β insaturadas utilizando amiduros de litio como base y su utilización en diversas reacciones de formación de enlaces carbono-carbono [d'Angelo, 1976], se decidió intentar otras condiciones de reacción.

En estudios sobre metilación de cetonas esteroidales α,β insaturadas se observó que, si bien en condiciones termodinámicas (reacción prolongada con *t*-butóxido de potasio en *t*-butanol) se obtenía el enolato **60**, en condiciones cinéticas (empleando amiduros de litio voluminosos como base y trabajando a baja temperatura) el enolato formado era **61** [Tanabe, 1973]. La formación preferencial de **61** se debe a la mayor velocidad de abstracción del protón en posición α' con respecto al protón en posición γ [Lee, 1973]. Debido al comportamiento nucleofílico (formación de derivados de adición de Michael) reportado en algunos casos en que se utilizó LDA para generar enolatos cinéticos [Herrmann, 1973] en muchos casos se utilizaban bases algo más voluminosas como LHDS [Schultz, 1973] o LICA [Patel, 1975].

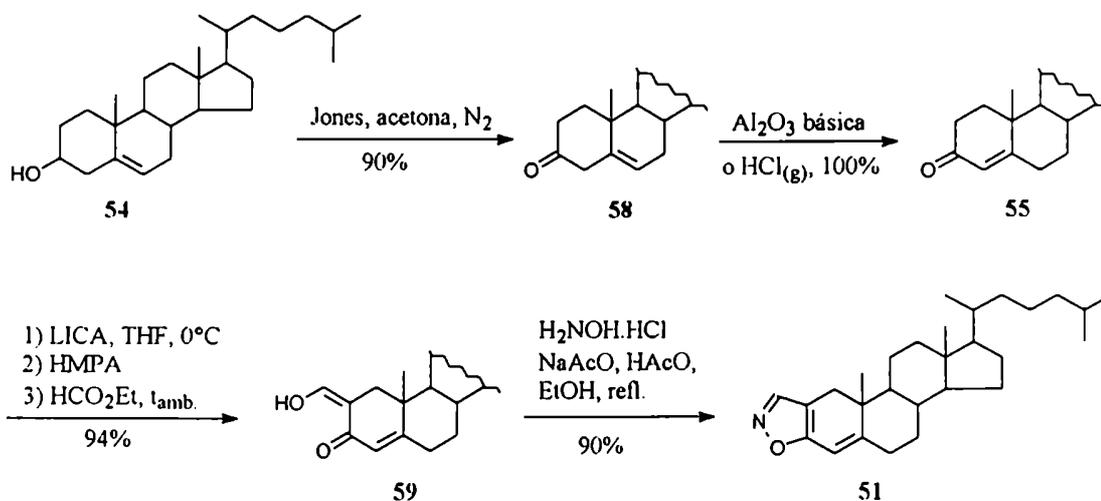


La transformación de **55** en **59** se llevó a cabo utilizando **LICA** como base y agregando HMPA previamente a la adición de formiato de etilo en **exceso**. La HMPA tiene una gran capacidad de coordinación con cationes, provocando la **disociación** del par iónico enolato-metal generando de esta manera un enolato más reactivo [Carey, 1990]. El agregado de HMPA se realizó posteriormente a la formación del enolato de la enona **55** puesto que, en algunos casos, se observó que la regioselectividad para la formación del enolato cinético respecto del enolato termodinámico variaba de 300:1 (adición de HMPA posterior a la cetona) a 6:1 (agregado previo al compuesto carbonílico) [Schultz, 1973].

El rendimiento obtenido, luego de pocas horas de reacción, para la 2-hidroximetilen-4-colesten-3-ona (**59**) fue del 94%. Esto implica una mejora importante si se compara con los resultados obtenidos en las condiciones utilizadas por otros autores para la preparación de este compuesto (hidruro de sodio, formiato de etilo durante 2 días, 74% de rendimiento) [Weisenborn, 1954].



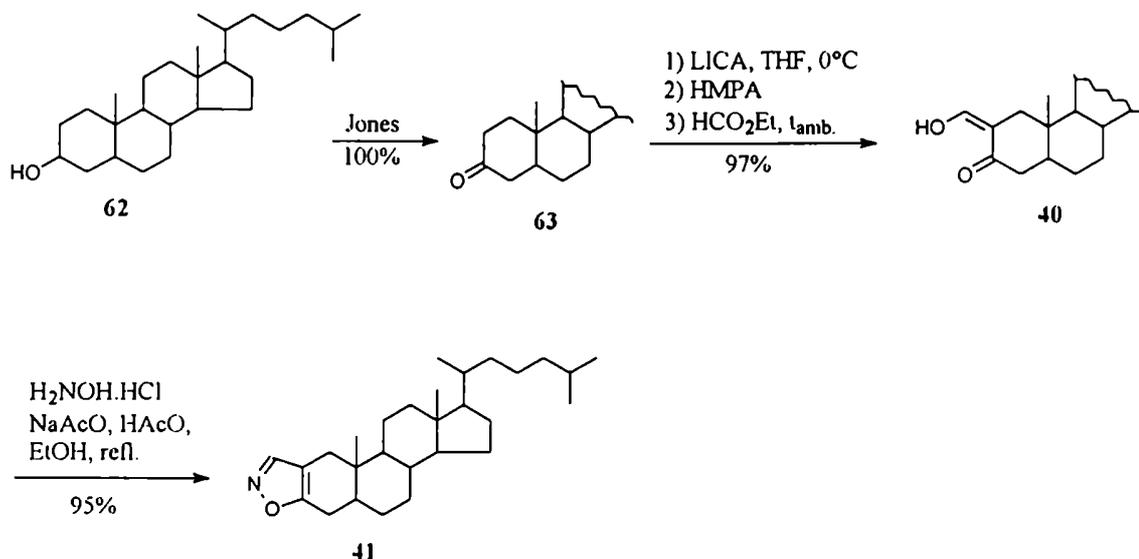
Por último, el compuesto **59** se transformó en el colest-2,4-dien [2,3-d] isoxazol **57** por reacción con clorhidrato de hidroxilamina en presencia de acetato de sodio y ácido acético. La síntesis de **57** a partir de colesterol (**54**) se resume en el **Esquema 2**.



Esquema 2. Síntesis de colest-2,4-dien [2,3-d] isoxazol (51).

La preparación del 5 α -colestán [2,3-d] isoxazol (41) se llevó a cabo en forma análoga utilizando 5 α -colestanol (62) como material de partida. En este caso debido a la ausencia del doble enlace en el alcohol de partida el hidroxilo de C3 pudo oxidarse cuantitativamente por agregado de reactivo de Jones a una solución de 62 en acetona sin necesidad de eliminar el oxígeno del medio de reacción. Por tratamiento de la cetona 63 con LICA a 0 $^\circ\text{C}$ y posterior agregado de HMPA y formiato de etilo a temperatura ambiente, se obtuvo el 2-hidroximetileno derivado 40 con 97% de rendimiento. Esto indica que la etapa de abstracción de protón en este tipo de cetonas saturadas (5 α -H) ocurre exclusivamente en C2 de la misma manera que en los sistemas Δ^4 -3-ceto.

Finalmente, por reacción con clorhidrato de hidroxilamina en condiciones análogas a las empleadas anteriormente, se obtuvo el isoxazol esteroide 41 con 95% de rendimiento. La ruta sintética para 41 se indica en el Esquema 3.



Esquema 3. Síntesis de 5 α -colestan [2,3-d] isoxazol (**41**).

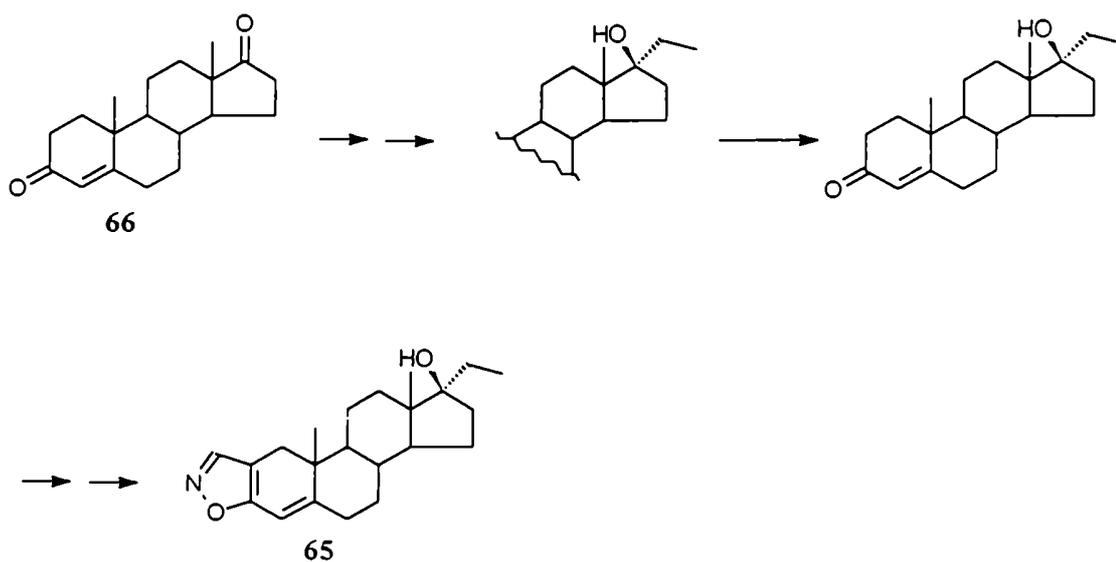
2. Síntesis de 17 α -etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (**65**).

Logradas las condiciones deseadas para la construcción del anillo isoxazolinico a partir de un 3-ceto esteroide, se decidió llevar a cabo la síntesis del compuesto **65**. Para ello fue necesario optimizar las condiciones para la introducción del grupo etilo en C17.

La introducción de la cadena lateral en C17, podía realizarse por reacción de un reactivo organometálico adecuado sobre un grupo carbonilo en dicha posición. Considerando que para la construcción del heteroanillo era necesario un sistema Δ^4 -3-ceto, se eligió como material de partida 4-androsten-3,17-diona (**66**).

Teniendo en cuenta la inestabilidad de anillos isoxazolinicos con la posición 3' libre frente a ciertos reactivos organometálicos [Kumar, 1989 y 1992] la construcción del anillo heterocíclico debía ser posterior a la introducción de la cadena lateral.

La estrategia sintética a partir de **66** involucra la protección selectiva de la cetona α,β -insaturada, introducción del grupo alquilo en C17, desprotección del grupo carbonilo y construcción del anillo isoxazolinico (ver Esquema 4).



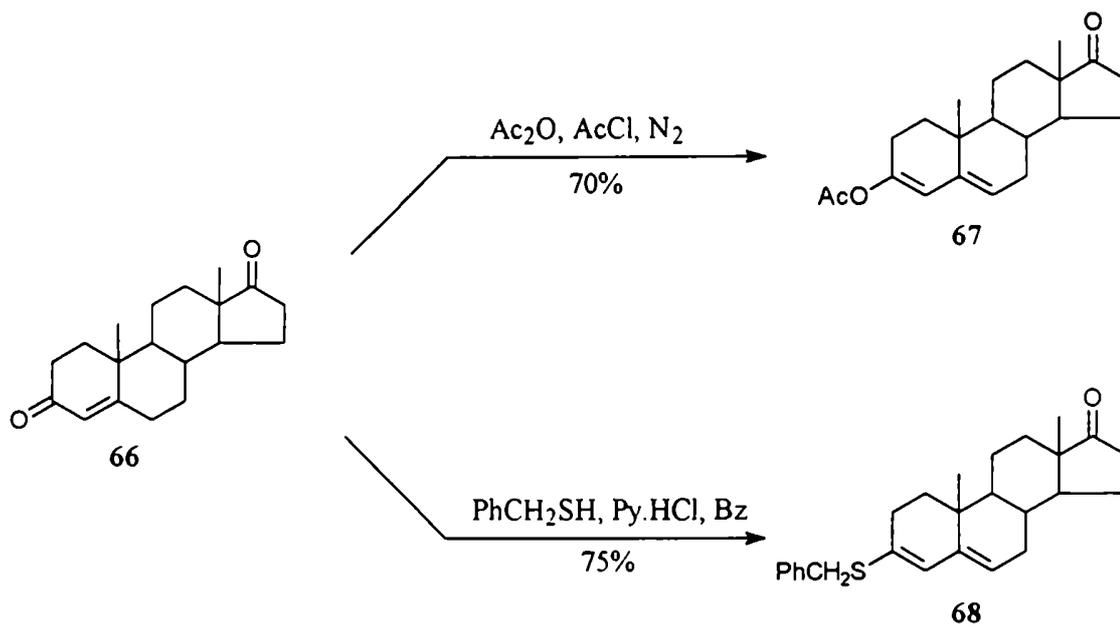
Esquema 4. Estrategia sintética para el 17 α -etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (**65**) a partir de la dicetona **66**.

La formación de un cetal en C3 por tratamiento de **66** con etilenglicol se descartó debido a que el rendimiento informado para la formación de este compuesto en particular era menor del 50% aún trabajando con un equivalente de etilenglicol [Herzog, 1953].

Si bien se informó que la protección selectiva del carbonilo en C3 empleando etanoditiol en ácido acético ocurre con buen rendimiento (77%) [Ralls, 1954] la remoción posterior del grupo protector por distintas metodologías no resultaba satisfactoria (rendimientos entre 40% y 50%) [Daum, 1967; Heaton, 1971].

Se decidió entonces proteger el sistema Δ^4 -3-ceto en **66** por formación del correspondiente enolacetato **67** [Lorenc, 1983] o el benciltioenoléter **68** [Romero, 1951].

En ambos casos las reacciones fueron selectivas, obteniéndose los compuestos deseados con buen rendimiento.

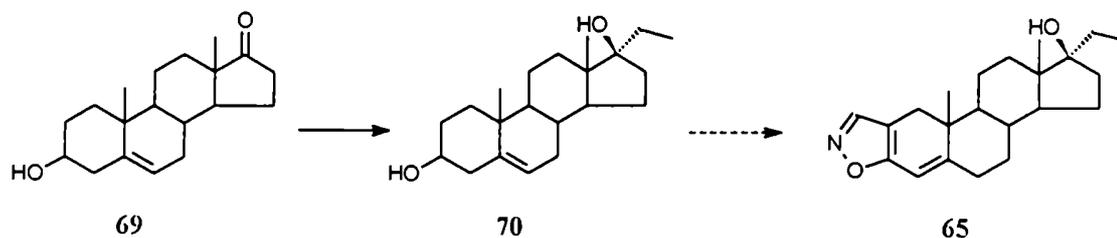


Ringold y colaboradores [Ringold, 1959] informaron la obtención de un 17-etil esteroide por tratamiento del 17-ceto derivado correspondiente con acetiluro de potasio (25% de rendimiento) y posterior hidrogenación del grupo etinilo en presencia de un doble enlace entre C4-C5 (60% de rendimiento). Sin embargo, se consideró conveniente utilizar como reactivo bromuro de etilmagnesio preparado "*in situ*" a partir de bromuro de etilo y magnesio metálico en tetrahidrofurano anhidro empleando un único paso de síntesis.

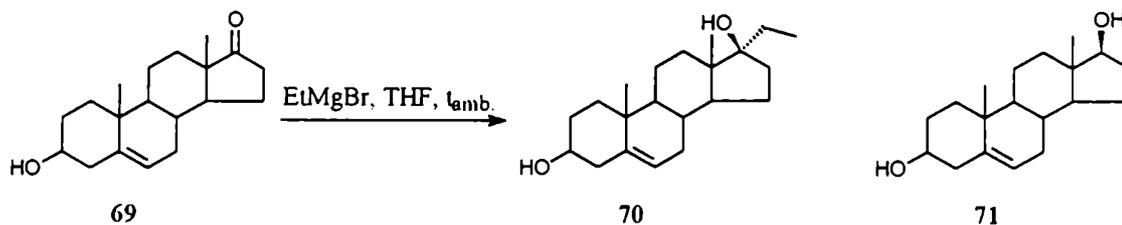
Al intentar la reacción de 67 o 68 con bromuro de etilmagnesio en distintas condiciones (solvente, temperatura, relación Grignard:esteroide) se obtuvieron varios productos de reacción posiblemente debido al ataque del reactivo organometálico sobre el grupo acetato (compuesto 67), la posición bencílica (compuesto 68) o el sistema 3,5 dieno.

En vista de ello se descartó este camino sintético y se decidió utilizar un sustrato diferente. Se eligió la 5-androsten-3 β -ol-17-ona (69) como material de partida. Este sustrato

poseía dos funciones oxigenadas en posiciones adecuadas (C3 y C17) en distinto estado de oxidación. Se evitaba entonces la necesidad de proteger selectivamente una de ellas. Además, la presencia de un doble enlace entre C5-C6 posibilitaría la posterior introducción de la insaturación en la posición requerida (C4-C5). El grupo 17-ceto permitiría la introducción de la cadena lateral y posteriormente podría construirse el heterociclo en forma análoga a la empleada para la síntesis del colest-2,4-dien [2,3-d] isoxazol (*51*) a partir de colesterol (*54*) como se describió anteriormente en este capítulo.



La reacción de Grignard sobre el compuesto **69** utilizando 2,5 equivalentes de reactivo dió una conversión del 60%, obteniéndose una mezcla 1:1 de productos que resultaron, de acuerdo al análisis de sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C , el 17α -etil-5-androsten- 3β , 17β -diol (**70**) y el 5-androsten- 3β , 17β -diol (**71**).



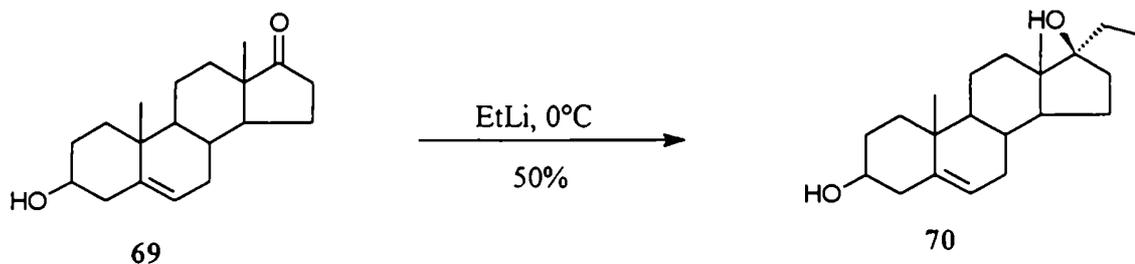
Durante el transcurso de la reacción se observó la formación de un precipitado blanco que se atribuyó a la formación de sales por la presencia del grupo hidroxilo en C3. Esto podría hacer más lenta la reacción de adición al carbonilo y por lo tanto la competencia con

la enolización de la cetona (que tiene como consecuencia la recuperación del material de partida) y la reducción (que origina el diol *71*) se hace importante [March, 1992; Buhler, 1973].

Se intentó favorecer la reacción de adición utilizando un exceso del reactivo de Grignard, mayor temperatura o empleando HMPA como cosolvente para evitar la precipitación de sales. Sin embargo, los resultados obtenidos no variaron en forma significativa.

Se decidió entonces emplear un reactivo más energético como el etillitio. Dado que el mismo no era comercialmente accesible se intentó su preparación de acuerdo al método de Smith y Turner [Smith, 1953] por reacción entre bromuro de etilo y litio metálico en hexano no observándose reacción alguna. Se utilizó entonces cloruro de etilo como sustrato aunque su manipulación resultó más dificultosa debido a su gran volatilidad. El etillitio formado resultó insoluble en hexano pero dado que el mismo era estable en dicho solvente, se decidió emplear el reactivo en suspensión.

Al realizar la reacción sobre el 17-ceto esteroide *69* empleando el reactivo preparado en la forma descrita, se obtuvo una mezcla 1:1 de la cetona de partida y el producto de adición buscado (*70*). En este caso también se observó la formación de un precipitado, probablemente debido a la formación de sales por la presencia del grupo hidroxilo, sin embargo, no se detectó la formación del compuesto derivado de la reducción del grupo carbonilo (*71*). El rendimiento había aumentado del 30% (reacción con EtMgBr) al 50% (reacción con EtLi).

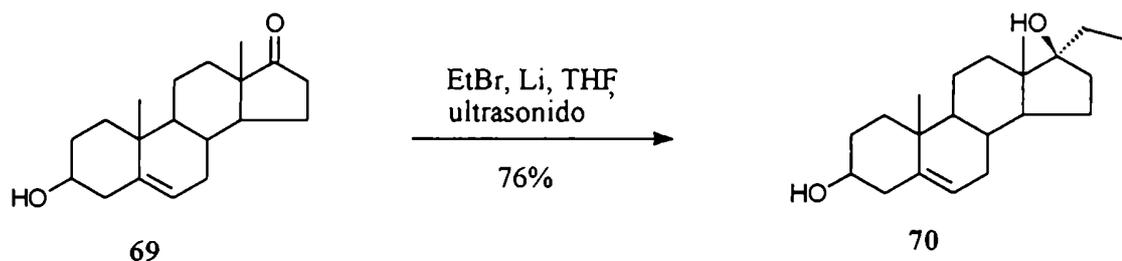


El inconveniente que presentaba esta reacción era la necesidad de preparación previa del etililitio. Debía utilizarse cloruro de etilo (p. eb. 12°C) en hexano a 55°C durante 3-4 hs. El control de la temperatura y tiempo de reacción eran fundamentales. La preparación del reactivo resultaba compleja, los rendimientos eran bajos debido a la pérdida de cloruro de etilo por su bajo punto de ebullición y los resultados obtenidos eran muy sensibles a pequeños cambios en las condiciones de reacción. Se obtenían resultados muy variables.

Considerando la creciente aplicación del ultrasonido en síntesis orgánica en los últimos años [Lindley, 1987] particularmente en el caso de reacciones heterogéneas como la preparación de compuestos organometálicos [Luche, 1980], se decidió utilizar una metodología diferente para la introducción del grupo etilo en C17 del esteroide.

Una solución de la cetona **69** y bromuro de etilo en THF anhidro en presencia de alambre de litio se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido a 10°C-15°C durante una hora obteniéndose el compuesto **70** con 76% de rendimiento. En estas condiciones fue posible emplear bromuro de etilo para generar el compuesto organolítico correspondiente pese a que con la técnica de Smith y Turner utilizada anteriormente era necesario utilizar el cloruro de alquilo. Esto puede deberse a que la reacción de acoplamiento de Wurtz, más favorable al emplear bromuros de alquilo no transcurre al utilizar ultrasonido como fuente de energía.

La reacción resultó muy simple ya que en un solo paso se generaba el etilitio y se producía la adición al grupo carbonilo.



Se protegió el hidroxilo de C3 como *tert*-butildimetilsililéter para intentar optimizar el rendimiento de la reacción de alquilación pero dado que resultó similar al obtenido anteriormente no se justificaba agregar un paso de protección y posterior desprotección en dicha posición.

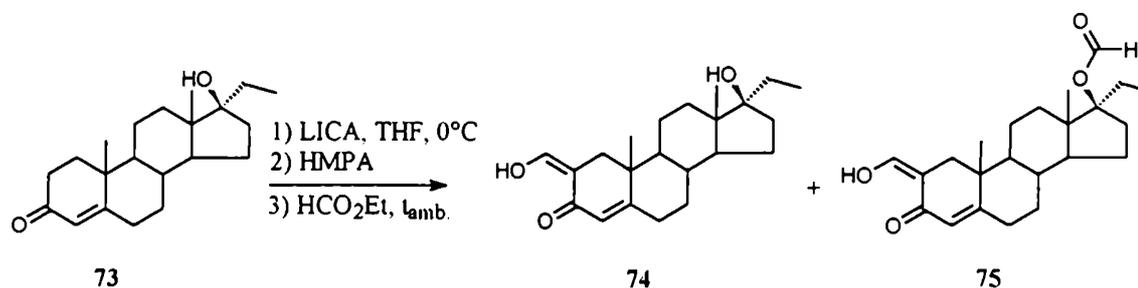
Una vez lograda la introducción de la cadena lateral en C17, la construcción del heterociclo fusionado al anillo A del esteroide se realizó en forma similar a la descrita anteriormente.

El hidroxilo en C3 se oxidó empleando el reactivo de Jones a 0°C previa remoción del oxígeno disuelto por pasaje de nitrógeno a través de la solución de **70** en acetona. Si bien durante la oxidación de colesterol (**54**) no se produjo la isomerización del doble enlace, en este caso como productos de reacción se obtuvieron las enonas **72** (70% de rendimiento) y **73** (20% de rendimiento). A pesar de la acidez del medio, las condiciones de reacción resultaron suficientemente suaves como para evitar la deshidratación del hidroxilo terciario en C17 como reacción secundaria.

La isomerización completa del doble enlace entre C5-C6 se realizó por tratamiento de **72**, o de la mezcla de **72** y **73**, con alúmina básica o vapores de ácido clorhídrico concentrado. De la misma manera que con los análogos derivados del colesterol (**54**).

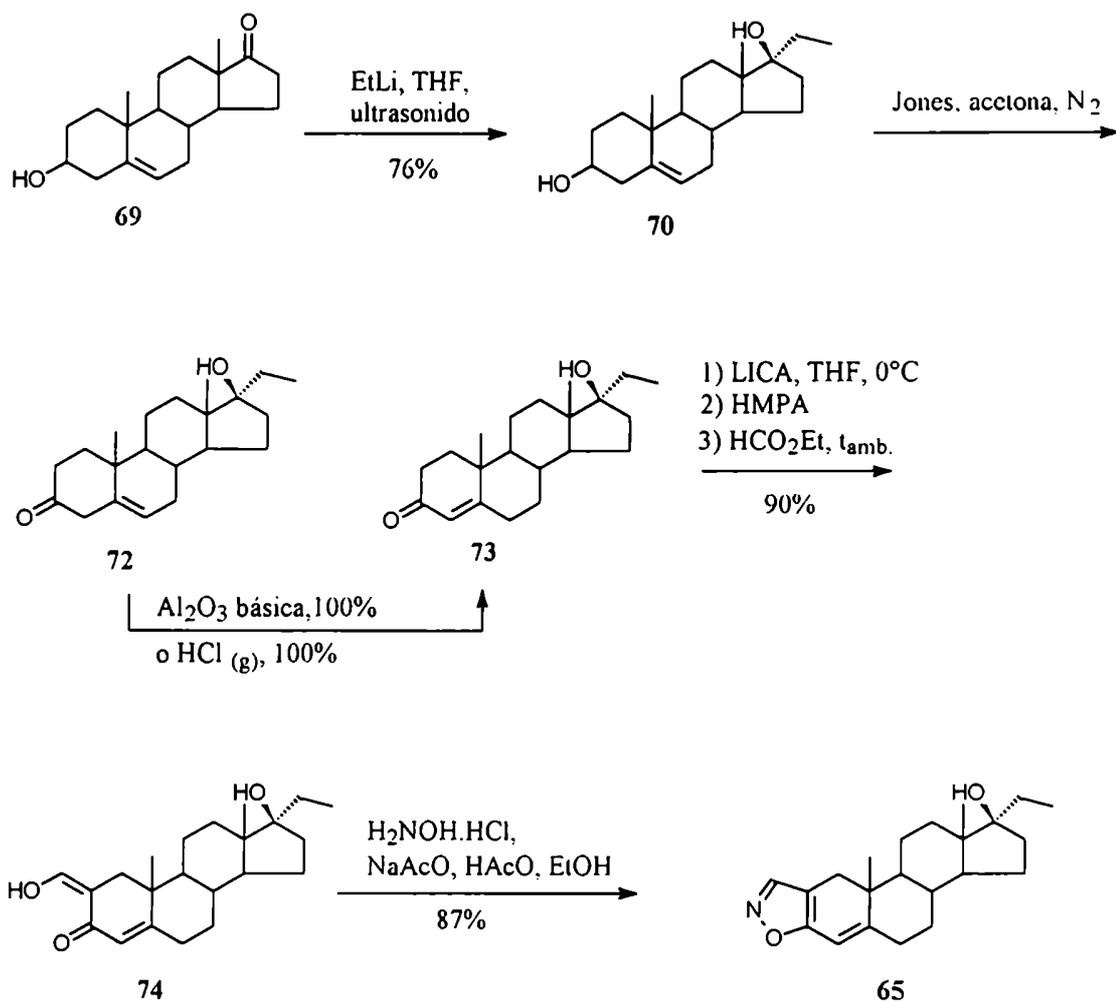
empleando catálisis ácida la reacción se completó en menor tiempo. En ambos casos la isomerización resultó cuantitativa.

Para la formación del enolato cinético de la enona **73** se utilizaron 2,5 equivalentes de LICA a 0°C debido a la presencia del grupo hidroxilo en C17. Pese a generar un dianión, no hubo problemas de solubilidad del mismo que pudieran afectar la velocidad de reacción. Como productos se obtuvieron el 2-hidroximetilén esteroide **74** (90%) junto con el compuesto **75** (7%) formado por reacción del formiato de etilo sobre el alcóxido generado en C17.



La identidad del compuesto **75** se estableció sobre la base de su espectro de RMN-¹H. Los singletes a 7,40 ppm; 5,80 ppm y 1,05 ppm correspondían a los hidrógenos 2', 4 y Me-19 de una estructura de tipo 2-hidroximetilén-4-en-3-ona. El triplete a 0,87 ppm (J=7,5Hz) indicaba la presencia del grupo etilo en C17 mientras que el singlete a 8,07 ppm revelaba la presencia del formiato esterificando el hidroxilo en 17β. La señal para Me-18 (0,90 ppm) no se vió afectada por la presencia del grupo formilo en posición 17β.

Finalmente, por tratamiento de **74** con clorhidrato de hidroxilamina se obtuvo, con 87% de rendimiento el 17α-etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol 17β-ol (**65**). La ruta sintética a partir de 5-androsten-3β-ol-17-ona (**69**) se indica en el **Esquema 5**.



Esquema 5. Síntesis de 17 α -etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (65).

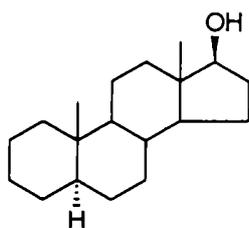
La estereoquímica en C17 podía establecerse por RMN- ^1H midiendo el desplazamiento de la señal de Me-18 al cambiar el solvente de cloroformo- d_1 a piridina- d_5 o por comparación con valores de δ informados para distintos 17 α -metil-17 β -hidroxiesteroides.

Dado que el diol 70 resultó poco soluble en cloroformo, la estereoquímica en dicho carbono se confirmó luego de la oxidación del grupo hidroxilo en C3.

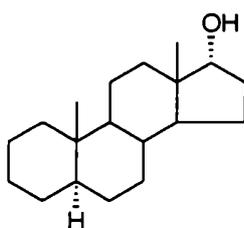
Demarco y colaboradores [Demarco, 1968] midieron los desplazamientos químicos protónicos en cloroformo- d_1 y en piridina- d_5 para una gran variedad de compuestos estructuralmente diferentes conteniendo el grupo hidroxilo. Los desplazamientos observados debido al cambio de solvente ($\Delta = \delta_{\text{CDC}_3} - \delta_{\text{C}_5\text{D}_5\text{N}}$) fueron racionalizados en términos de complejos específicos soluto-solvente entre moléculas de piridina y el grupo hidroxilo de las moléculas de soluto.

Los autores encontraron que los grupos metilo vecinales a un hidroxilo se desprotegen en una magnitud que depende del ángulo diedro entre el hidroxilo y el metilo. A medida que dicho ángulo es menor, mayor es la desprotección. Así, para $\phi = 160 - 180^\circ$, Δ oscila entre -0,03 y -0,05 ppm; para $\phi = 85^\circ$, $\Delta = -0,13$ ppm y para $\phi = 60^\circ$, Δ varía de -0,20 a -0,27 ppm.

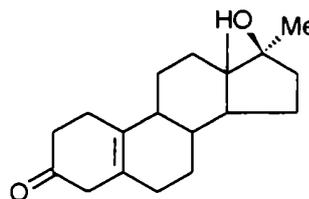
Entre los compuestos estudiados por Demarco se encuentran el 5α -androstan- 17β -ol (76), 5α -androstan- 17α -ol (77) y la 17α -metil-5(10)-androsteno-19-nor- 17β -ol-3-ona (78) que se tomaron como compuestos modelo.



76



77



78

En la **Tabla 1** se presentan los desplazamientos inducidos por piridina para los compuestos analizados por Demarco y los obtenidos para los compuestos 72, 65 y el Danazol (7).

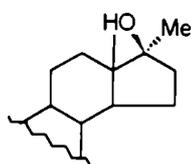
Tabla 1. Desplazamientos inducidos por piridina ($\Delta = \delta_{\text{CDC}_3} - \delta_{\text{C}_5\text{D}_5\text{N}}$)

Compuesto	H-19	H-18	H-20	H-21	H-2'
76	0,00	-0,24			
77	0,00	-0,05			
78		-0.19	-0.20		
72	0,05	-0,22		-0,21	
65	0,10	-0,20		-0,20	-0,33
7	0,10	-0,21		-0,85	-0,33

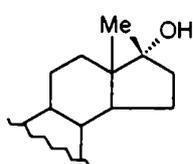
Estos resultados indicaron claramente que el ataque al grupo carbonilo en **69** se había producido por la cara α menos impedida y por lo tanto la estereoquímica propuesta para C17 era correcta.

En trabajos más recientes [Schänzer, 1992] se informaron los valores de desplazamiento químico empleando cloroformo- d_1 como solvente para Me-18 en ambos epímeros de esteroides con un grupo hidroxilo y un grupo metilo unido a C17. Los valores para los 17β -hidroxi compuestos concuerdan con los obtenidos para los compuestos **72**, **73**, **74**, **65** y **7**.

Desplazamientos químicos (ppm) para Me-18



0,91-0,94



0,73-0,76

72

73

74

65

7

0,92

0,92

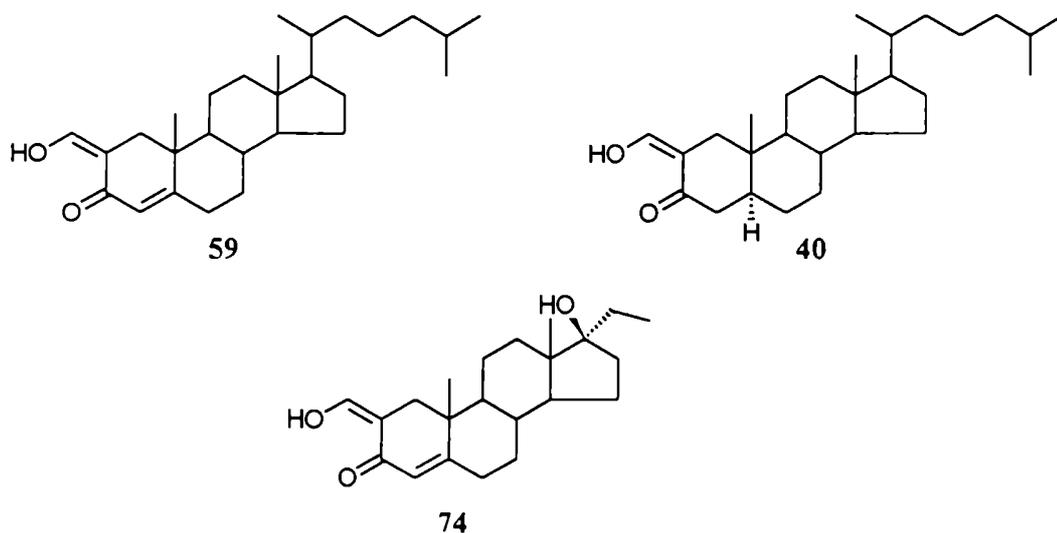
0,91

0,93

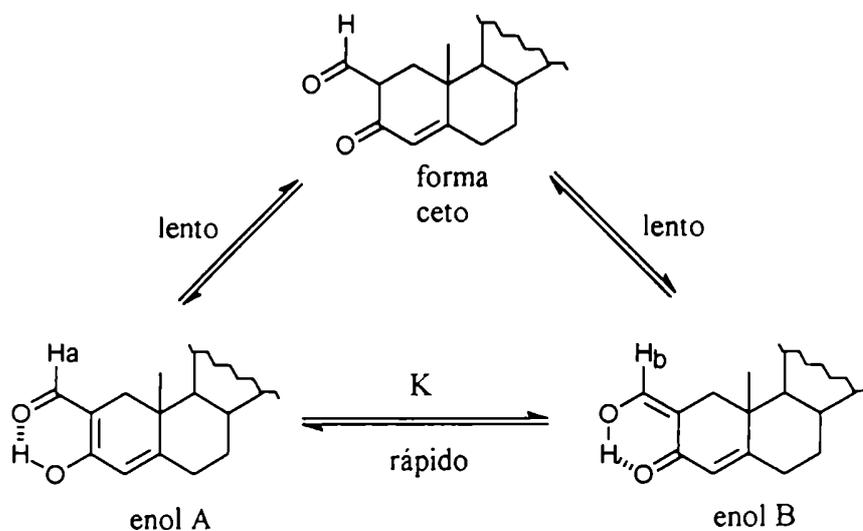
0,90

3. Estudios sobre el equilibrio ceto-enólico en 2-formil-3-ceto esteroides.

En el transcurso de la síntesis de los isoxazoles esteroidales *51*, *41* y *65*, se obtuvieron como intermediarios los 2-hidroximetilén esteroides *59*, *40* y *74* respectivamente.

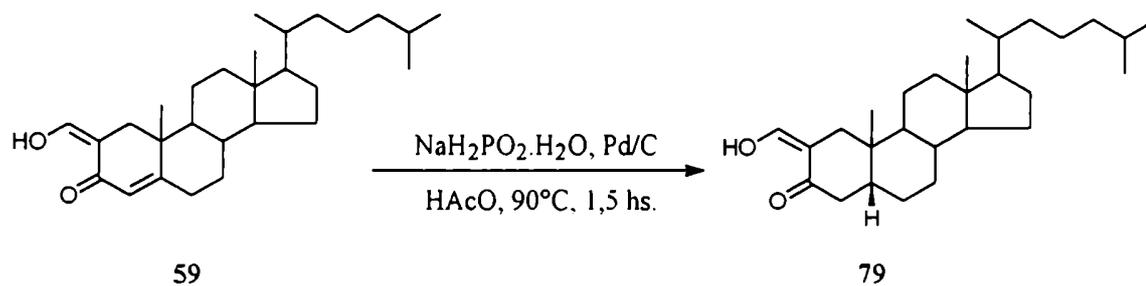


Estas estructuras corresponden a una de las formas enólicas de un 2-formil-3-ceto derivado. Debido a la estructura de β -ceto aldehído, estos compuestos presentan una gran tendencia a enolizar, pudiendo originar dos posibles formas enólicas. El equilibrio de enolización se indica en el **Esquema 6** para el caso de los compuestos *59* o *74*.



Esquema 6. Equilibrio de enolización para los compuestos **59** y **74**.

Se decidió estudiar la dirección de enolización por RMN- ^1H así como el efecto producido debido a la presencia del doble enlace entre C4 y C5. Se utilizaron los compuestos **59** y **74** sintetizados previamente. Para estudiar el efecto de la insaturación en posición 4 se utilizó el compuesto **40** y el análogo 5β -saturado **79**. El compuesto **79** fue preparado según el método descrito por Spyriounis y colaboradores [Spyriounis, 1989].



La señal correspondiente al hidrógeno 2' era fácilmente identificable en el espectro de RMN- ^1H del crudo de reacción. Se observó un singulete a 8,25 ppm que correspondía al

compuesto **79** junto con una señal a 8,62 ppm correspondiente al análogo 5 α -saturado que se formaba como producto secundario en la reacción (relación 5 β :5 α 5:1).

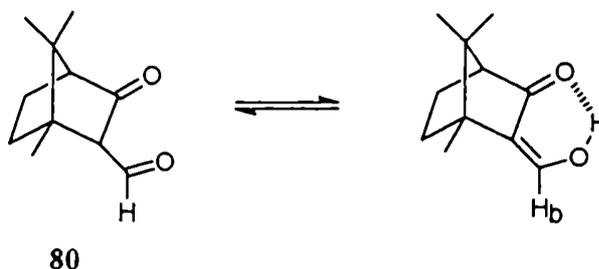
La velocidad de interconversión entre la forma ceto y cada una de las estructuras enólicas A y B es suficientemente lenta para permitir la detección del hidrógeno aldehídico de la forma dicarbonílica [Bhacca, 1964a]. Sin embargo, en los casos estudiados (compuestos **59**, **40**, **74** y **79**) los resultados espectroscópicos indicaron que la concentración del cetoaldehído era muy baja y por lo tanto este hidrógeno no fue observado. Ello se debe a la gran estabilización de las formas enólicas por la formación de enlaces puente hidrógeno intramoleculares dando lugar a anillos de seis miembros. Además, debido a que la velocidad del equilibrio entre las formas A y B es muy elevada para la escala de tiempo del experimento de RMN, la señal observada en los espectros es un promedio pesado entre las contribuciones de las señales de H_a y H_b de ambas especies enólicas.

A partir del desplazamiento químico promedio de H_a y H_b (δ_o), puede calcularse el porcentaje de la forma enólica B en el equilibrio según

$$\% B = \frac{\delta_o - \delta_a}{\delta_b - \delta_a}$$

donde δ_a y δ_b son los desplazamientos químicos de H_a y H_b respectivamente.

Considerando el 3-formilcamfor (**80**) como modelo para la forma enólica B, se puede asignar un valor de 6,71 ppm a δ_b [Garbisch, 1963]. En este compuesto puede suponerse que solo el carbonilo aldehídico se encuentra enolizado, pues la enolización del carbonilo cetónico introduciría una gran tensión en el sistema bicíclico.



Teniendo en cuenta la señal del protón aldehídico del salicilaldehído (**81**, 9,80 ppm), la anisotropía del anillo bencénico y el efecto del doble enlace (conjugado con el carbonilo aldehídico) se obtuvo un valor de 9,12 ppm para δ_a . El efecto anisotrópico del anillo bencénico (0,31 ppm) se estimó por comparación del desplazamiento químico del hidrógeno aldehídico en el benzaldehído (**82**, 10,09 ppm) y en el ciclohexancarboxaldehído (**83**, 9,78 ppm). El efecto del doble enlace (0,37 ppm) se estimó comparando la señal del mismo hidrógeno en el compuesto **83** y el 1-ciclohexencarboxaldehído (**84**, 9,41 ppm). Los valores se indican en la **Tabla 2**.

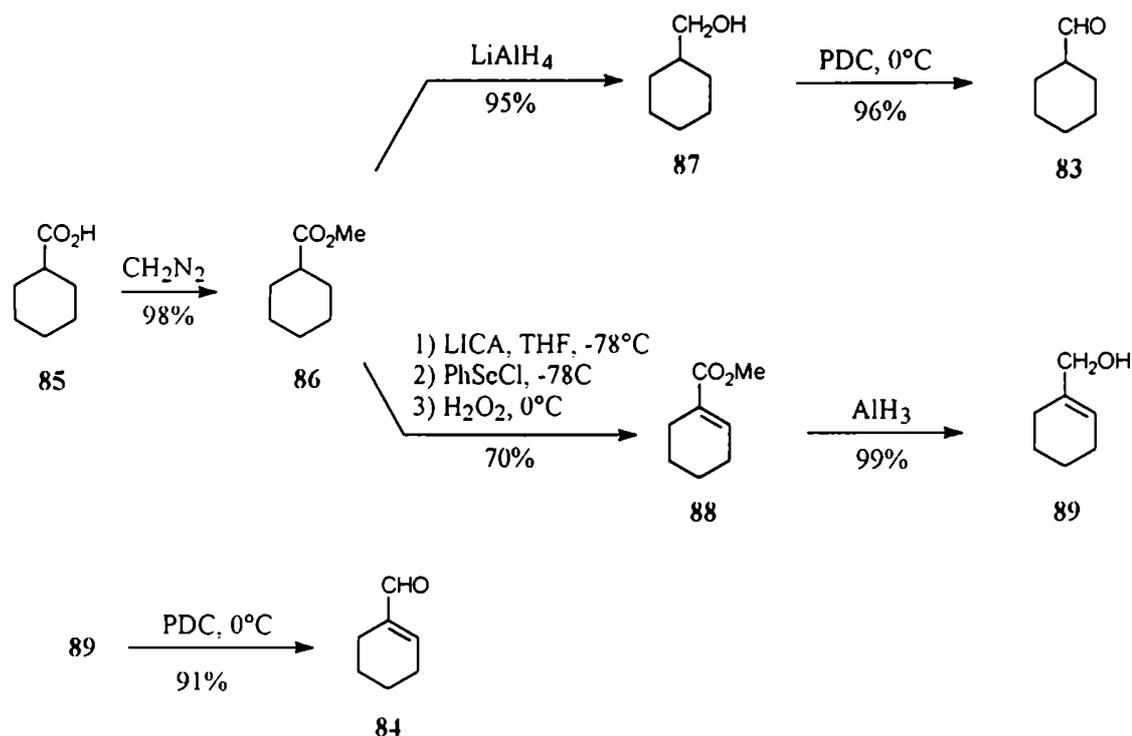
Tabla 2. Desplazamientos químicos para el hidrógeno aldehídico de compuestos modelo^a.

Compuesto	81	82	83	84
δ H aldehídico (ppm)	9,80	10,09	9,78	9,41

^a Los espectros de RMN-¹H se realizaron en CDCl₃.

$$\delta_a = (9,80 - 0,31 - 0,37) = 9,12 \text{ ppm}$$

Debido a no disponer de datos de RMN- ^1H para los compuestos **83** y **84**, los mismos se prepararon de acuerdo al siguiente esquema sintético:



La insaturación en posición α al grupo carbonílico en **86** se introdujo por eliminación del correspondiente fenilselenóxido [Reich, 1975]. La reducción directa del éster metílico **88** al aldehído **84** utilizando DIBAL a -78°C [de Laszlo, 1985; Garner, 1987] no fue posible. Se optó por llevar a cabo la reducción al alcohol alílico (**89**) y posterior oxidación para obtener el aldehído α,β insaturado. El alcohol alílico **89** se obtuvo por reducción con AlH_3 obtenido "in situ" a partir de LiAlH_4 y AlCl_3 [Duraisamy, 1983]. Por oxidación de este compuesto empleando PDC [Corey, 1979] pudo obtenerse el aldehído α,β insaturado **84**.

Sobre la base de los valores así obtenidos para δ_a y δ_b junto con el valor de desplazamiento químico promedio observado (δ_o) pudo calcularse el porcentaje de la forma

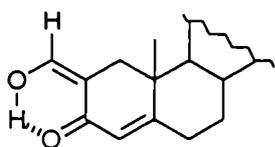
enólica B y el valor de la constante de equilibrio (K) para la interconversión entre ambas formas enólicas (Tabla 3).

Tabla 3. Dirección de enolización^a y constante de equilibrio (K) para 59, 40, 74 y 79.

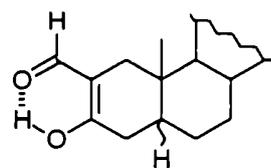
Compuesto	δ_o (ppm)	% B	$K = [B] / [A]$
74	7,38	72,2	2,60
59	7,37	72,6	2,65
40	8,62	20,7	0,26
79	8,25	36,1	0,56

^a Los espectros se realizaron en $CDCl_3$.

En el caso de existir un doble enlace en posición 4 predomina la enolización del carbonilo aldehídico (forma B). En el caso de los sistemas saturados (40 y 79) predomina la enolización del carbonilo cetónico (forma A).



forma enólica principal
para 74 y 59



forma enólica principal
para 40 y 79

Estos resultados son consistentes con los datos de RMN- ^{13}C para este tipo de compuestos. Dado que el C2' es un carbono aldehídico y por lo tanto portador de un átomo de hidrógeno su asignación es muy simple empleando técnicas como la de ecos de spin con desacople alternado (APT: test de protones vecinales) [Shoolery, 1984] o la técnica de

desacople retrasado (SPDD: Single Pulse Delayed Decoupling) [Bigler, 1983]. Para el compuesto **40** (C2' con mayor carácter aldehídico) la señal correspondiente aparece a 187,6 ppm mientras que para los compuestos **59** y **74**, la misma se encuentra en 164,9 ppm y 165,0 ppm respectivamente.

Los resultados obtenidos con los compuestos saturados están de acuerdo con lo informado por otros autores sobre el estudio del equilibrio ceto-enólico en 2-acilciclohexanonas empleando RMN-¹⁷O [Gorodetsky, 1967; Leffler, 1991]. Se observó que para este tipo de compuestos se favorecía el enol con el doble enlace endocíclico.

Para estudiar cuáles eran los factores estructurales que determinaban la preponderancia de una de las formas enólicas frente a la otra, se decidió realizar cálculos de mecánica molecular de las distintas estructuras enólicas posibles. Se utilizaron los programas PCMODEL (versión 2.0) y MMX (que incluye cálculos pi VESCF). Ambos utilizan el campo de fuerza MMX que es una extensión del MM2 de Allinger que incorpora el concepto de parámetros generalizados, permitiendo el cálculo de una gran variedad de estructuras.

De los resultados obtenidos con estos cálculos, se puede deducir que el factor que determina la mayor estabilidad de una de las estructuras enólicas es la energía de conjugación pi que produce una mayor estabilización en la molécula cuanto mayor es la coplanaridad de los dobles enlaces conjugados.

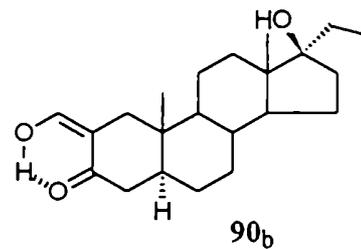
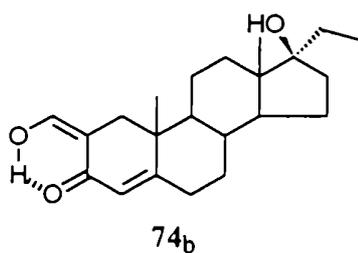
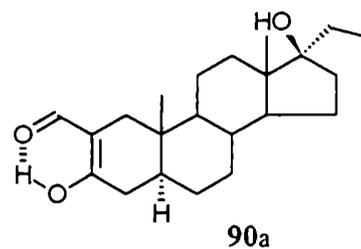
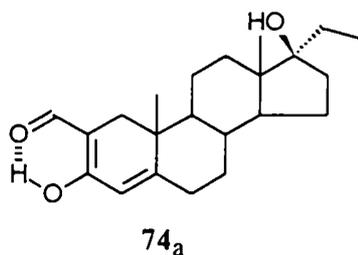
Se realizaron los cálculos sobre el compuesto **74** y el análogo 5 α saturado **90** ya que al utilizar una cadena lateral de menor número de átomos (en lugar de cadena de colesterol) se disminuye el tiempo empleado para el cálculo.

En las Figuras 5, 6, 7 y 8 se muestran las conformaciones más estables para las distintas estructuras junto con los ángulos diedros representativos que evidencian el grado de coplanaridad de los dobles enlaces conjugados.

En la **Tabla 4** se indican los valores obtenidos para las energías de conjugación π (los valores son negativos pues representan energías de estabilización).

Tabla 4. Energías de conjugación π de las formas enólicas de **74** y **90**.

Estructura	Energía π (Kcal)
74_a	-247,643
74_b	-248,931
90_a	-158,061
90_b	-151,283



En el caso del compuesto **74**, la mayor estabilidad de la forma **b** se debe a que en ésta, el sistema Δ^4 -3-ceto se encuentra totalmente plano (ángulo diedro O-C3-C4-C5 de $179,43^\circ$); sin embargo la conjugación entre el doble enlace exocíclico y el carbonilo es pobre (ángulo diedro C2'-C2-C3-O de $28,69^\circ$) (**Figura 5**) y por esto la diferencia de energía entre **74_a** y **74_b** es pequeña. En la forma **74_a** (**Figura 6**) no hay buena coplanaridad entre ninguno

de los dobles enlaces conjugados (ángulo diedro O-C2'-C2-C3 13,34° y C2-C3-C4-C5 13,88°).

En el caso del compuesto **90**, para la forma *a* (**Figura 7**) la coplanaridad de los dobles enlaces es mucho mayor (ángulo O-C2'-C2-C3 5,67°) que en el caso de **90_b** (**Figura 8**) (ángulo C2'-C2-C3-O 28,98°).

La importancia del análisis de este tipo de equilibrios se debe no sólo a la interpretación de los datos espectroscópicos sino a que en muchos casos la capacidad de enolización de compuestos 1,3 dicarbonílicos puede ser determinante de su actividad biológica. Recientemente se ha informado que la forma enólica de ciertos 3-ceto-4,5-epoxi esteroides es responsable de su actividad como inhibidores del HIV-1 [Michne, 1993].

PCMODEL(88;0) SERENA SOFTWARE
 hidroximetilen PI ter. MMX 46.4

DISPLAY MODE

Point to 1, 2, 3, or 4 atoms then to blank area

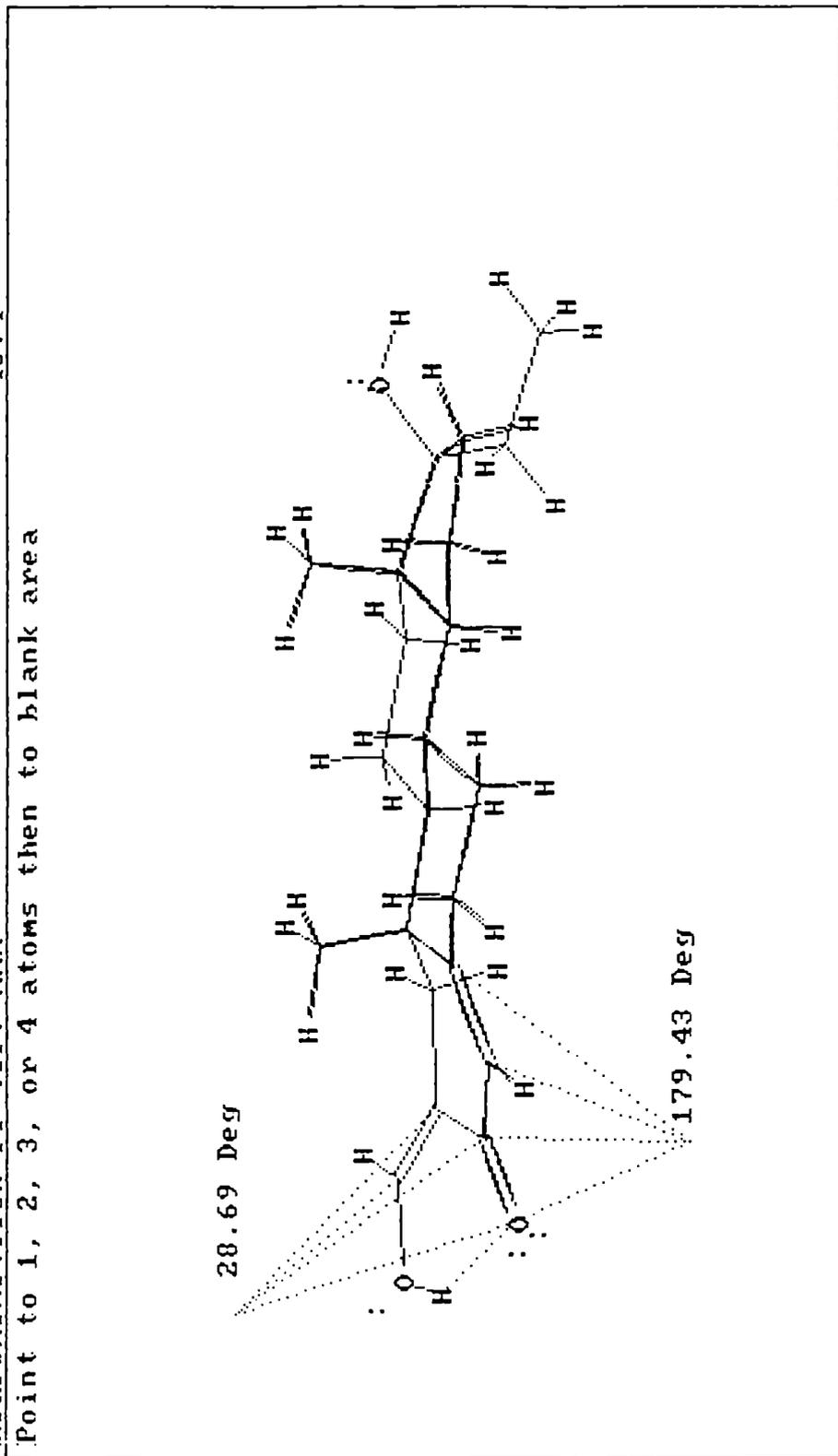


Figura 5. Conformación de mínima energía para la forma enólica 74b.

PCMODEL(88:0) SERENA SOFTWARE

DISPLAY MODE

aldehido minimizado PI MMX

Point to 1, 2, 3, or 4 atoms then to blank area

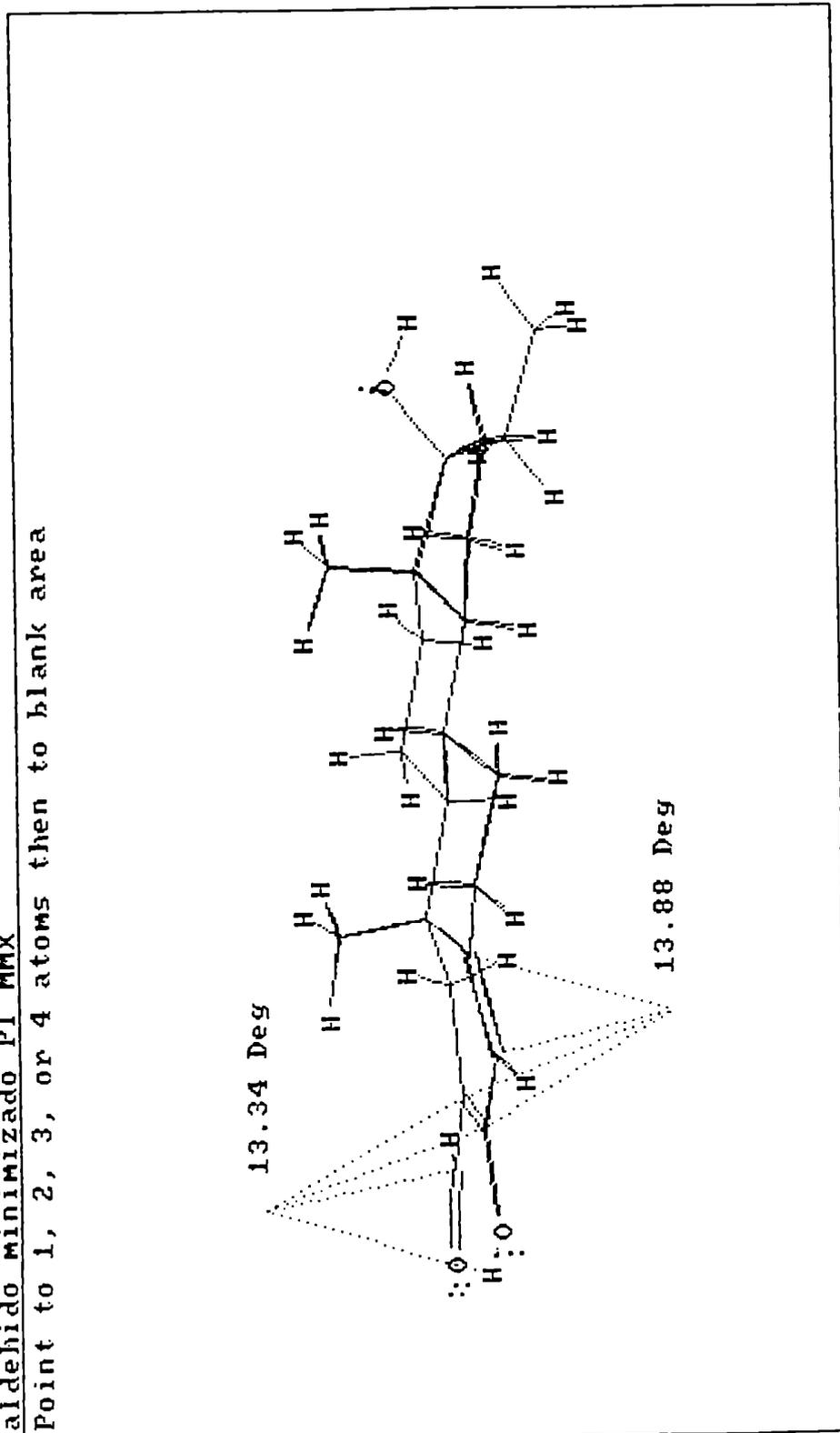
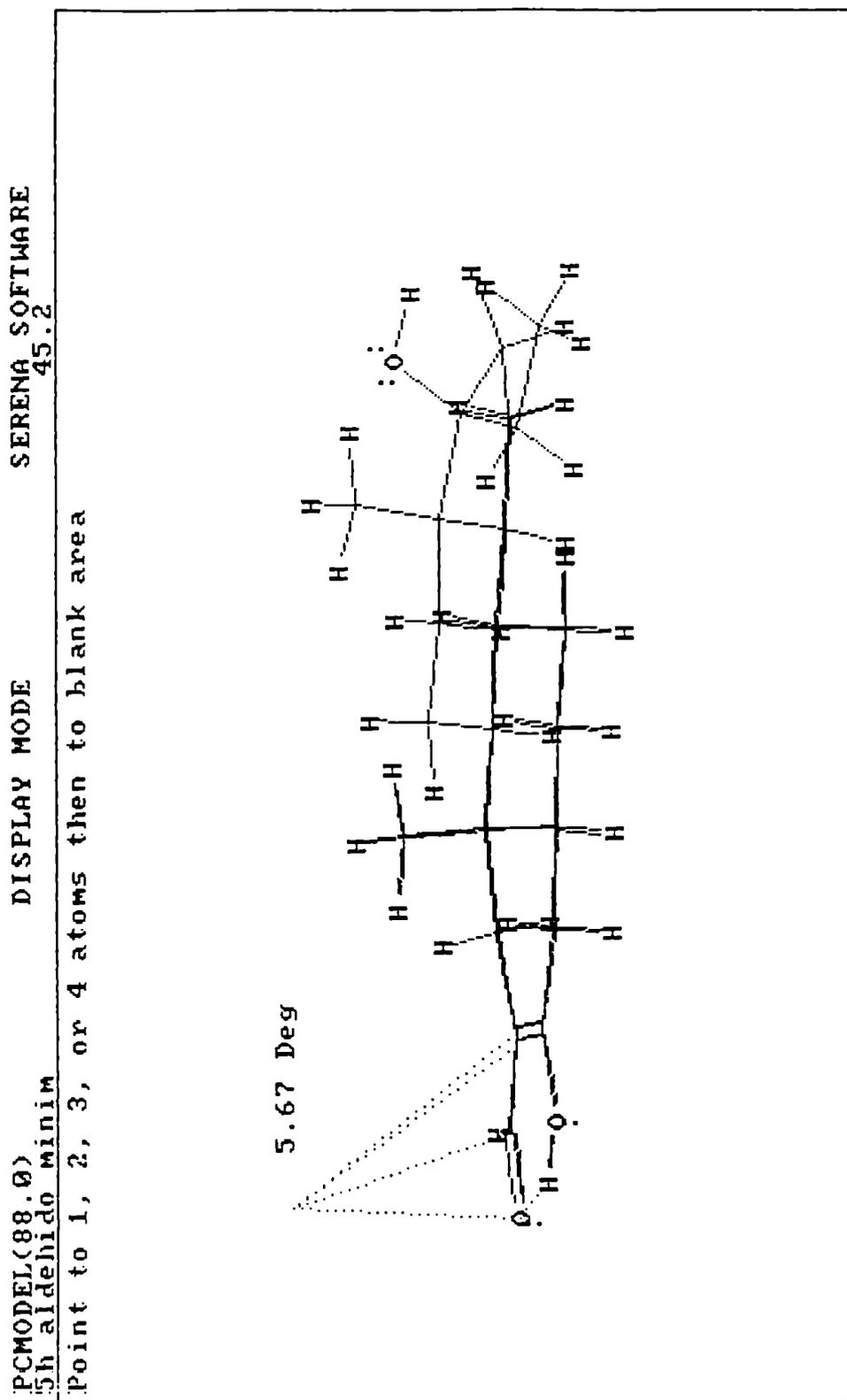
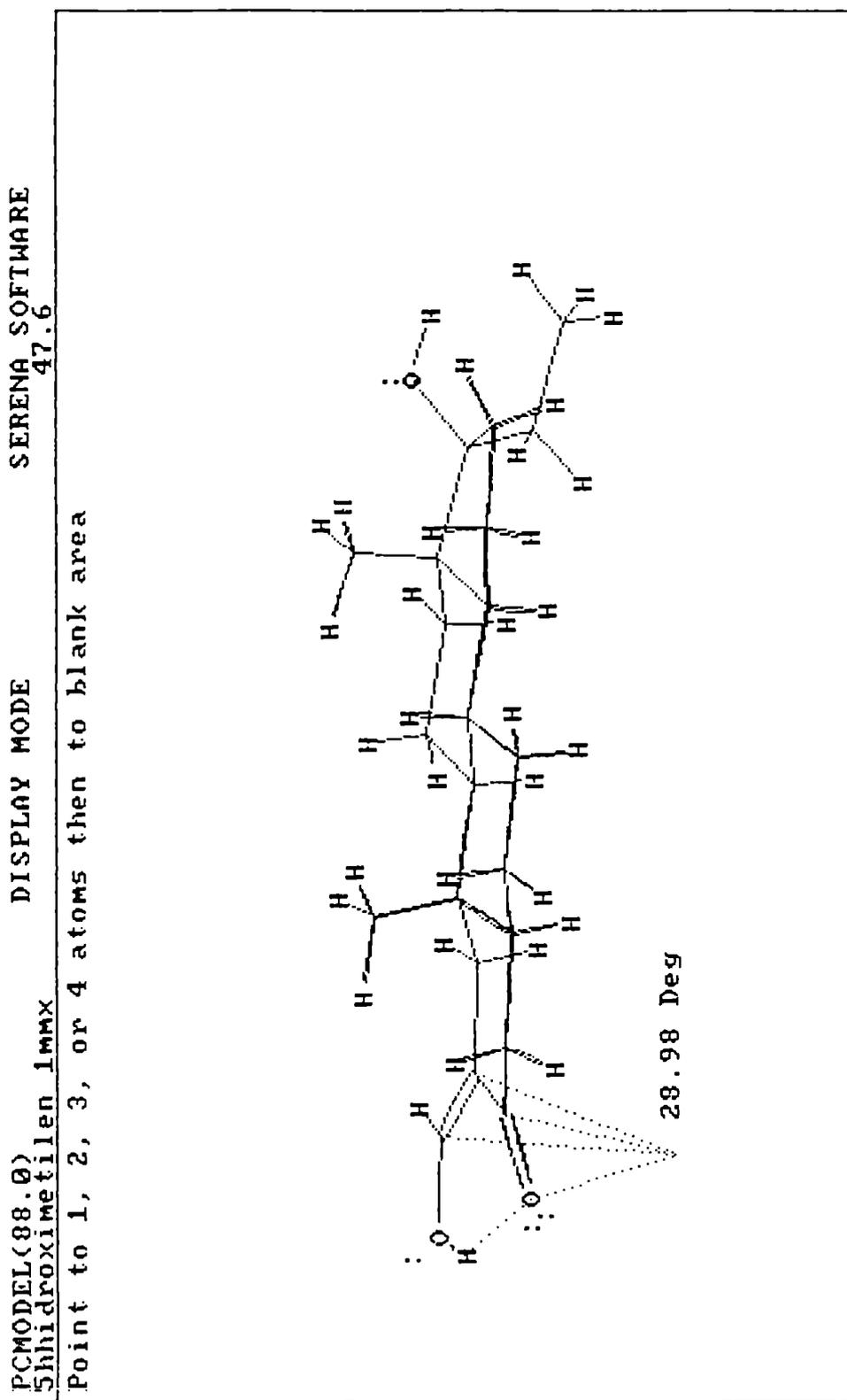


Figura 6. Conformación de mínima energía para la forma enólica 74_a.

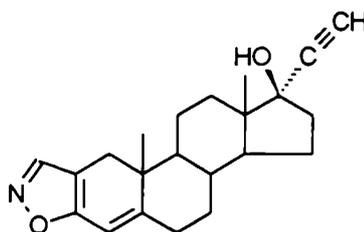
Figura 7. Conformación de mínima energía para la forma enólica 90_a .

Figura 8. Conformación de mínima energía para la forma enólica 90_b.

4. Asignación de los espectros de RMN-¹³C de Isoxazoles Esteroidales y sus intermediarios de síntesis.

Debido a la falta de datos espectroscópicos sobre este tipo de compuestos y para asignar completamente los espectros de los compuestos *51*, *41*, *65* y de los distintos intermediarios sintéticos obtenidos, se decidió realizar la asignación completa e inequívoca de los espectros del Danazol (*7*) que se tomó como compuesto modelo.

Todos los espectros para el compuesto *7* se efectuaron a una frecuencia de 500 MHz para protón y 125 MHz para carbono-13.



7

Danazol

Se realizaron experiencias de doble irradiación selectiva y una serie de espectros de RMN bidimensionales como ser: HETCOR (conectividad C-H a un enlace) [Bax, 1981], RELAY homonuclear (conectividad H-H a tres enlaces) [Bax, 1983], DEPT (para clasificar las señales en el espectro de RMN-¹³C como: metilo, metileno, metino y carbonos cuaternarios) [Zilm, 1982], HMBC (conectividad C-H a dos y tres enlaces) [Bax, 1986], NOESY (correlación entre hidrógenos que presentan NOE entre sí) [Jeener, 1979].

Algunas señales en el espectro de RMN-¹H (Figura 9) pudieron asignarse directamente sobre la base a su desplazamiento químico e integración:

δ (ppm)	Integración	multiplicidad	H
0,90	3	s	Me-18
1,02	3	s	Me-19
1,98	1	s	17-OH ^a
2,50	1	d (J=15,7 Hz)	H-1
2,57		s	H-21
2,72	1	d (J=15,7 Hz)	H-1
6,17	1	d (J=2,6 Hz)	H-4
8,00	1	s	H-2'

^a La señal desaparece por intercambio con metanol-*d*₄

Considerando la conformación de la molécula el H-4 deberá acoplarse con H-6 β pues el orbital de la unión C6-H6 β presenta máximo solapamiento con el orbital del doble enlace entre C4-C5 [Bhacca, 1964b]. La señal a 2,44 ppm cambió al irradiar el hidrógeno de 6,17 ppm (H-4) y por lo tanto debía corresponder al H-6 β .

Las señales en el espectro de RMN-¹³C se clasificaron según el número de hidrógenos directamente unidos utilizando los espectros DEPT. Los valores de desplazamiento químico en ppm se indican a continuación:

$\underline{\text{CH}_3}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{C}}$
12,6	21,2	37,0	41,0
18,7	23,2	49,9	46,7
	30,7	53,9	79,7
	32,2	74,1	87,4
	32,6	108,8	107,6
	33,4	148,6	154,4
	38,9		164,9

Por desacople heteronuclear irradiando la señal correspondiente a H-2' (8,00 ppm) pudo asignarse la señal del metino de 148,6 ppm a C2' y por lo tanto la señal de 108,8 ppm correspondía a C4, ya que era el único metino restante en la zona de carbonos vinílicos.

A partir del espectro HETCOR (**Figura 10**) se identificaron los pares de hidrógenos acoplados a carbonos iguales que correspondían a los siete metilenos de la molécula. Los valores de δ (ppm) de dichos pares de hidrógenos son:

2,30	2,72	1,76	2,44	1,78	1,74	1,62
2,00	2,50	1,67	2,37	1,05	1,36	1,47

Sobre la base de lo expuesto y teniendo en cuenta las correlaciones observadas, se asignaron las señales de los hidrógenos de los metilenos de C1 (2,50 ppm y 2,72 ppm) y C6 (2,37 ppm y 2,44 ppm) y también las señales correspondientes a C18, C19 y C21, sobre la base de la correlación con los hidrógenos respectivos.

Teniendo en cuenta el espectro RELAY homonuclear (**Figura 11**) y a partir de las señales de los hidrógenos de C6, se ubicaron los hidrógenos de C7, y con estos el H-8. Los valores de δ (ppm) son:

CH_2 -7	H -8
1,78	1,50
1,05	

Analizando nuevamente el espectro de correlación heteronuclear a un enlace (**Figura 10**) pudieron establecerse las señales de C7 y C8

C7: 30,7 ppm

C8: 37,0 ppm

Las señales de los carbonos aún no asignados se dividieron en los siguientes grupos:

- a) señales correspondientes a metinos: 49,9 ppm y 53,9 ppm (deben corresponder a C9 y C14)
- b) señales de carbonos cuaternarios sp^2 : 107,6 ppm; 154,4 ppm y 164,9 ppm (C2, C3 y C5)
- c) señales de carbonos cuaternarios sp o unidos a oxígeno: 79,7 ppm y 87,4 ppm (C17 y C20)
- d) señales de carbonos cuaternarios sp^3 : 41,0 ppm y 46,7 ppm (C10 y C13)
- e) señales de carbonos metilénicos: 21,2 ppm; 23,2 ppm; 32,6 ppm; 33,4 ppm y 38,9 ppm (C1, C11, C12, C15 y C16)

Se recurrió a un espectro de correlación heteronuclear a larga distancia (dos y tres enlaces). Se realizó un espectro HMBC (**Figura 12**) optimizando el experimento para una constante de acoplamiento de 9Hz. Se observaron las correlaciones con los hidrógenos de Me-18 y Me-19 ya que al emplear esta técnica se utilizan tres hidrógenos para detectar la

señal de un mismo núcleo de ^{13}C . Las correlaciones observadas y las asignaciones respectivas fueron:

con Me-18: 32,6 ppm (C12); 46,7 ppm (C13); 49,9 ppm (C14) y 79,7 ppm (C17)

con Me-19: 33,4 ppm (C1); 41,0 ppm (C10); 53,9 ppm (C9) y 154,4 ppm (C5)

Sobre la base de estas asignaciones pudieron establecerse:

C2: 107,6 ppm

C20: 8,4 ppm

C3: 164,9 ppm

(considerando los valores de δ)

Asignadas las señales de C9 y C14 pudieron conocerse, sobre la base del espectro HETCOR (**Figura 10**), los valores de desplazamiento químico de H-9 y H-14. A partir de estos, por medio del RELAY homonuclear (**Figura 11**) se identificaron los hidrógenos de CH_2 -11 (por correlación con H-9), CH_2 -15 (correlación con H-14) y CH_2 -16 (por correlación con CH_2 -15). Por último, se asignaron las señales de C11, C15 y C16 sobre la base del espectro de correlación heteronuclear (**Figura 10**).

Para determinar la ubicación espacial (α o β) de los hidrógenos metilénicos, se utilizaron los datos de constantes de acoplamiento obtenidos del espectro de RMN- ^1H considerando que los hidrógenos axiales (6β , 7α , 11β , 12α y 15β) debían presentar acoplamientos geminales y acoplamientos diaxiales con valores de J alrededor de 12 Hz. Para los hidrógenos de CH_2 -1 se consideró que el hidrógeno pseudoecuatorial debía estar desplazado a campos más bajos. En el caso de CH_2 -16 se tuvo en cuenta la correlación observada entre Me-18 e H-16 β en un espectro NOESY.

La asignación completa de los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C del Danazol (**7**) se presenta en la **Tabla 5**. Estos valores se utilizaron como base para la asignación de los espectros de los isoxazoles **51**, **41** y **65** y de los distintos intermediarios involucrados en la síntesis de los mismos. Los espectros de dichos compuestos se detallan en la parte Experimental del presente trabajo de Tesis.

Tabla 5. Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C del Danazol (7)^{a,b}.

Posición	C(ppm)	H(ppm)	multiplicidad	J _{HH} / Hz
1 α	33.4	2.50	d	15.7
1 β		2.72	d	15.7
2	107.6			
3	164.9			
4	108.8	6.17	d	2.6
5	154.4			
6 α	32.2	2.37	ddd	15.4, 4.6, 2.6
6 β		2.44	dddd	15.4, 13.9, 4.9, 2.5
7 α	30.7	1.05	tdd	13.4, 11.1, 4.6 ^c
7 β		1.78	ddt	12.7, 4.9, 12.9 ^c
8	37.0	1.50	cd	11.0, 3.2 ^c
9	53.9	1.18	ddd	12.5, 10.2, 4.1
10	41.0			
11 α	21.2	1.62	dtd	13.5, 4.1, 2.8 ^c
11 β		1.47	cd	13.3, 4.3 ^c
12 α	32.6	1.76	ddd	13.3, 12.6, 4.1 ^c
12 β		1.67	ddd	12.6, 4.3, 2.8 ^c
13	46.7			
14	49.9	1.54	td	11.0, 7.3 ^c
15 α	23.2	1.74	dddd	12.1, 9.7, 7.3, 4.1 ^c
15 β		1.36	cd	12.1, 5.6
16 α	38.9	2.30	ddd	13.9, 9.7, 5.6
16 β		2.00	ddd	13.9, 12.1, 4.1
17	79.7			
18	12.6	0.90	s	
19	18.7	1.02	s	
20	87.4			
21	74.1	2.57	s	
2'	148.6	8.00	s	
<u>OH</u>		1.98	s	

^a Los espectros fueron realizados en CDCl₃.

^b Espectro de RMN-¹H a 500 MHz, espectro de RMN-¹³C a 125 MHz.

^c Los valores de J se obtuvieron de un espectro en cloroformo-*d*₁ : benceno-*d*₆ 95:5.

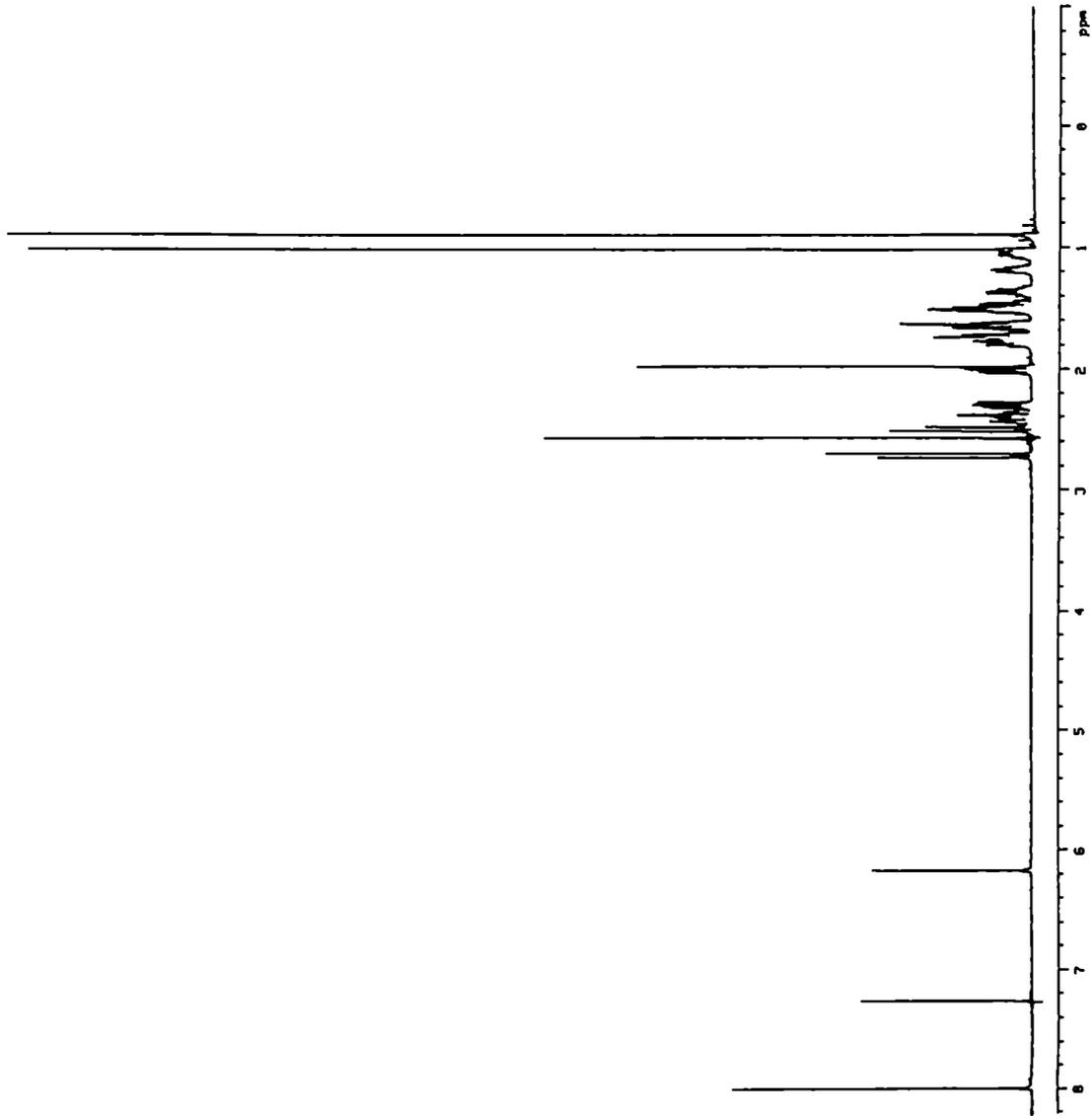


Figura 9. Espectro de RMN-1H del Danazol (7) registrado a 500 MHz.

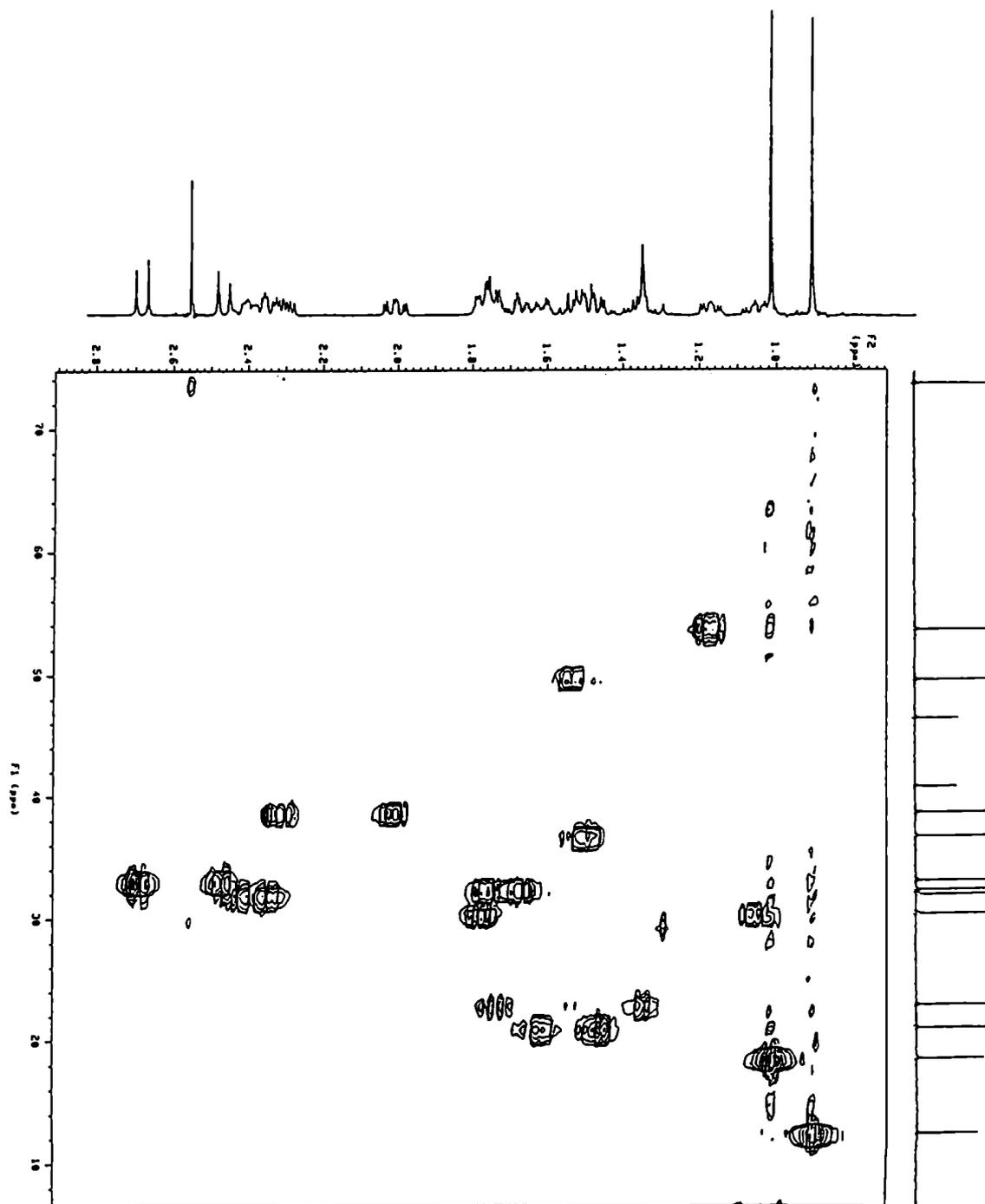


Figura 10. Espectro HETCOR del Danazol (7).

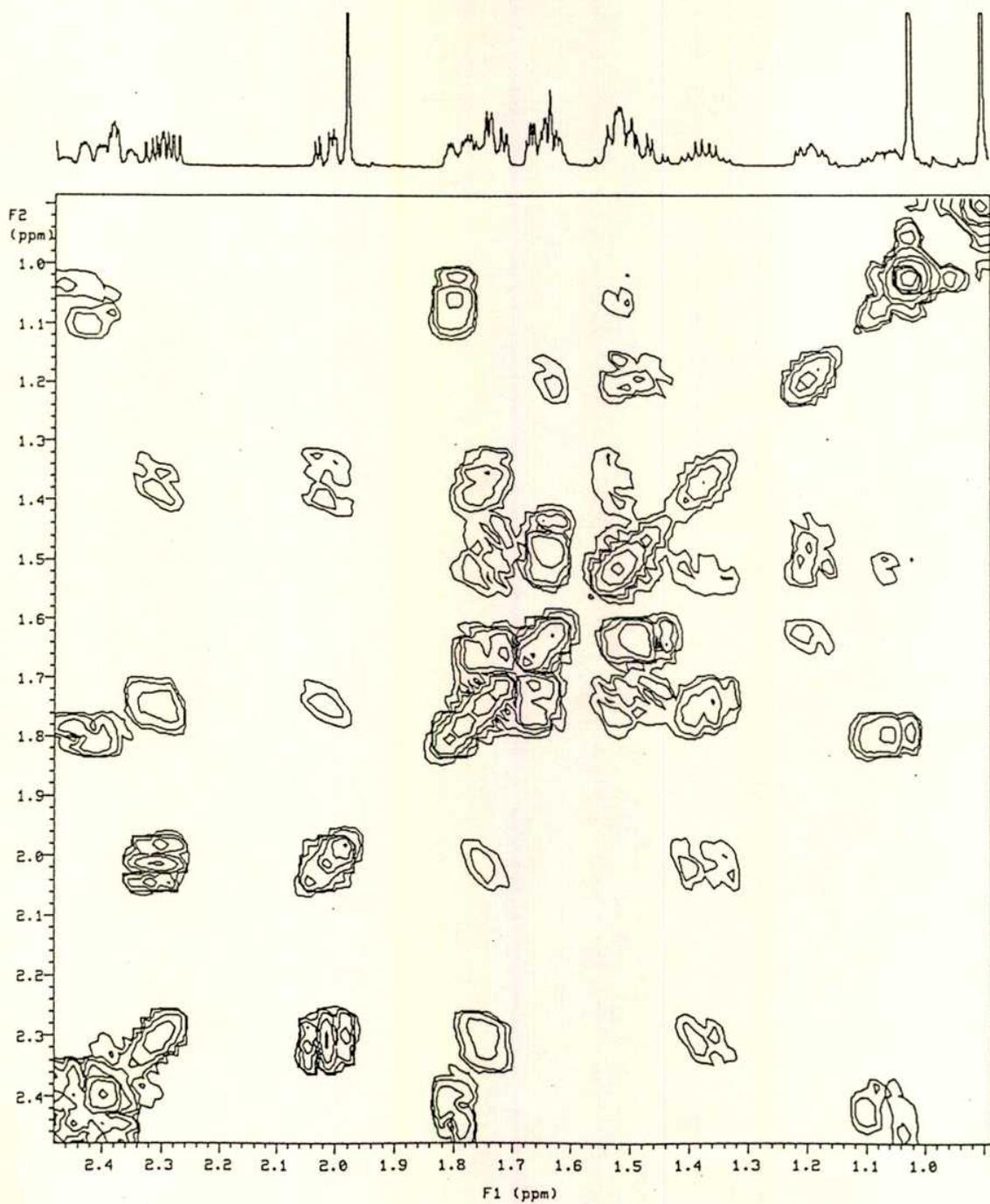


Figura 11. Espectro RELAY homonuclear del Danazol (7).

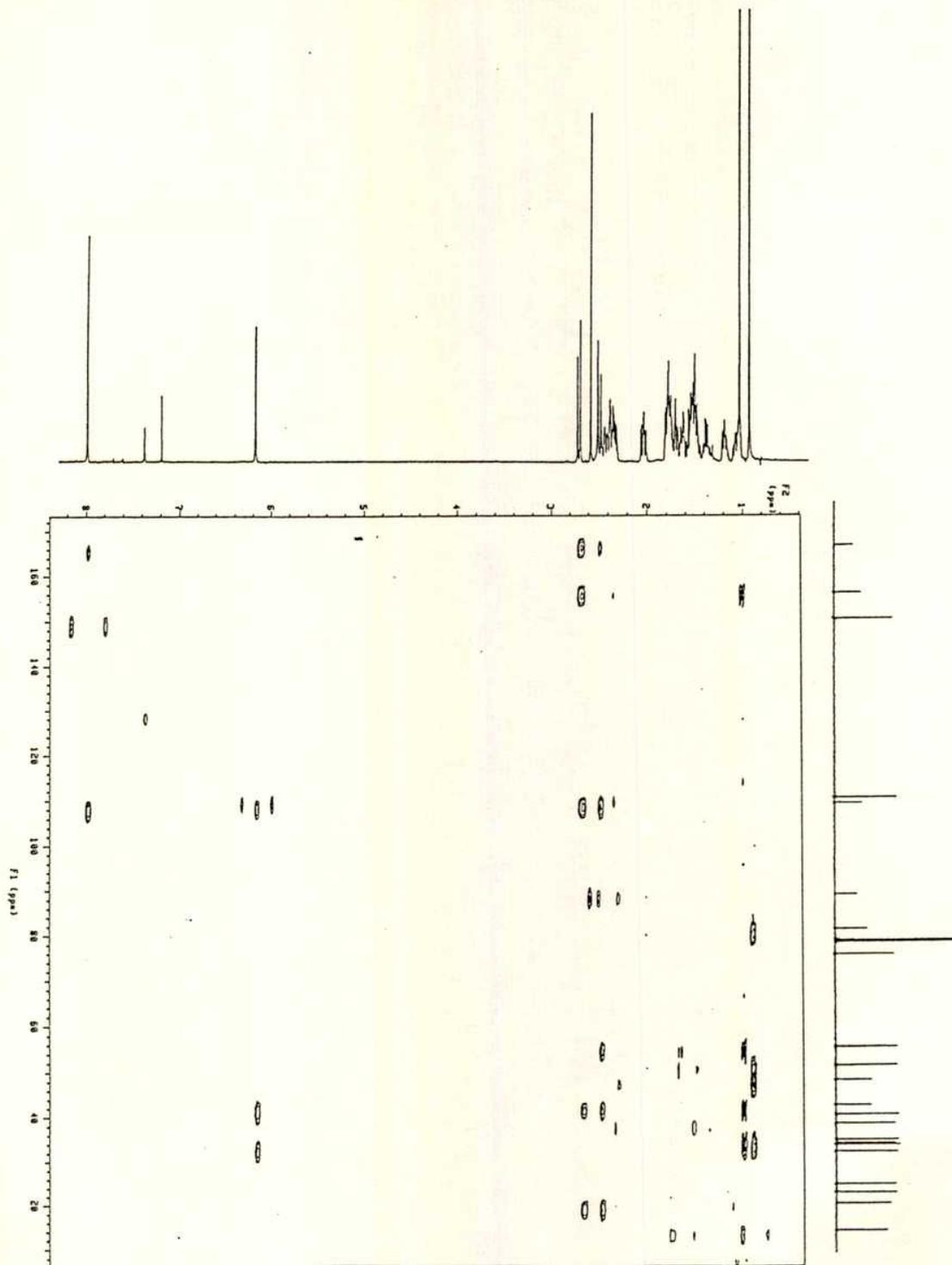


Figura 12. Espectro HMBC del Danazol (7).

Capítulo 2

Aproximaciones Sintéticas a Isotiazoles Esteroidales

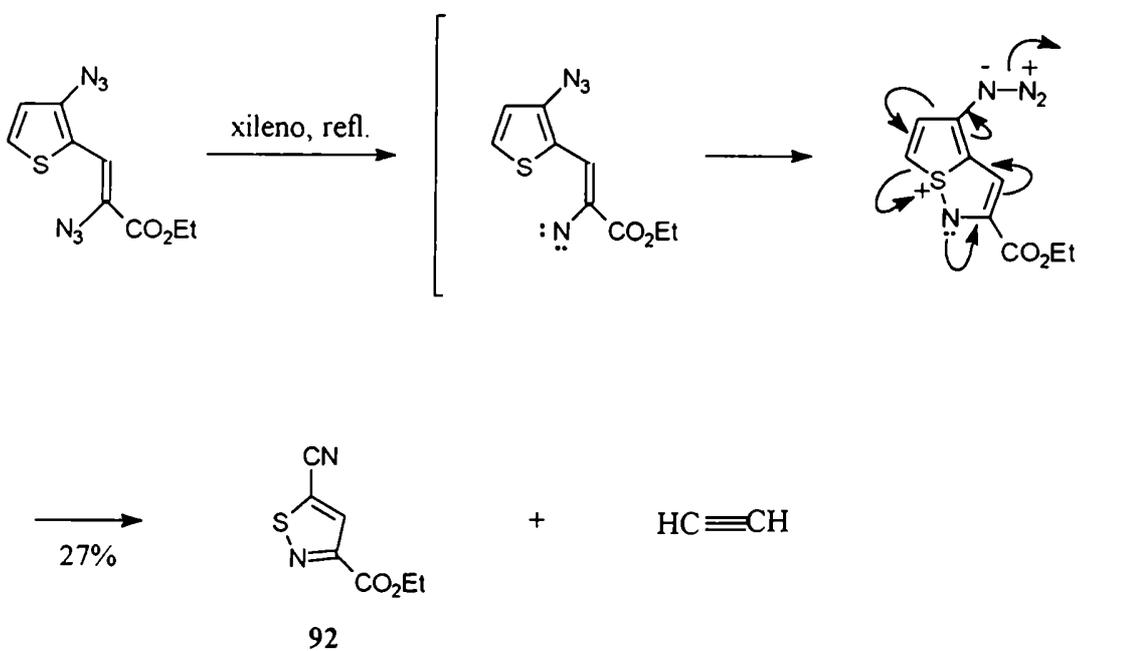
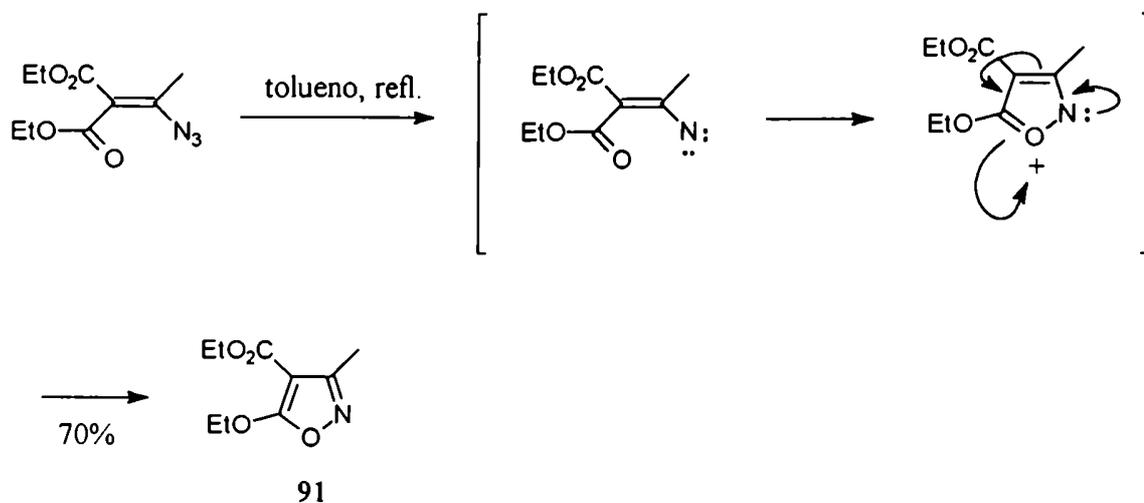
Introducción

El objetivo principal del presente trabajo de Tesis fue la preparación de derivados esteroidales con un anillo isotiazolinico fusionado al anillo A del esqueleto esteroideal.

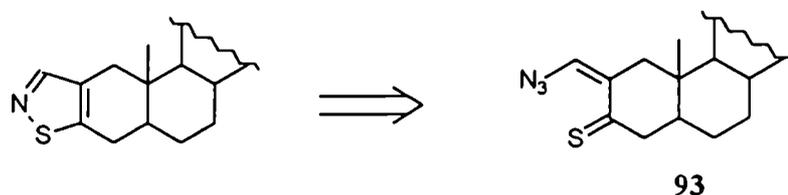


Teniendo en cuenta la estrategia sintética empleada para la síntesis de isoxazoles esteroidales, se revisaron las metodologías descritas por distintos autores para la preparación de anillos isotiazolínicos. Debido a que no se conocían compuestos esteroidales que presentaran este tipo de heterociclo en su estructura y dado que la mayoría de los casos informados se limitaban a la síntesis del heteroanillo aromático con distintos sustituyentes; no todos los métodos de síntesis eran aplicables a la preparación de isotiazoles fusionados a un ciclo de seis miembros como el anillo A del esqueleto esteroideal.

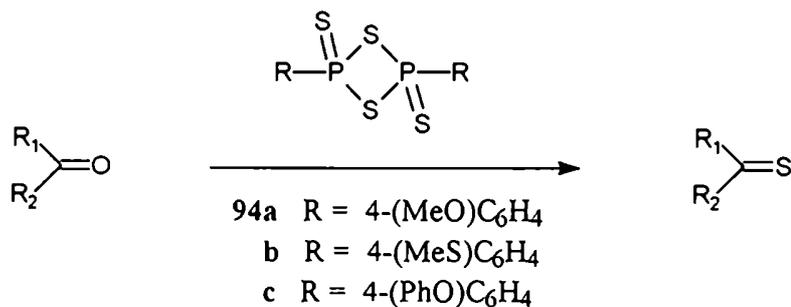
La descomposición térmica o fotolítica de azidas vinílicas es un método eficiente para generar nitrenos por eliminación de nitrógeno. Estas especies poseen un sexteto de electrones y por lo tanto reaccionan fácilmente con especies débilmente nucleofílicas [Korte, 1975]. Este tipo de reacción se ha utilizado para la preparación de algunos heterociclos como el isoxazol *91* o el isotiazol *92* [Moody, 1984]



En nuestro caso, la aplicación de esta metodología implicaba la preparación del intermediario **93** para intentar el ataque nucleofílico del átomo de azufre del grupo tiocarbonilo en C3 sobre el nitreno generado a partir de la azida vinílica correspondiente en C2'.

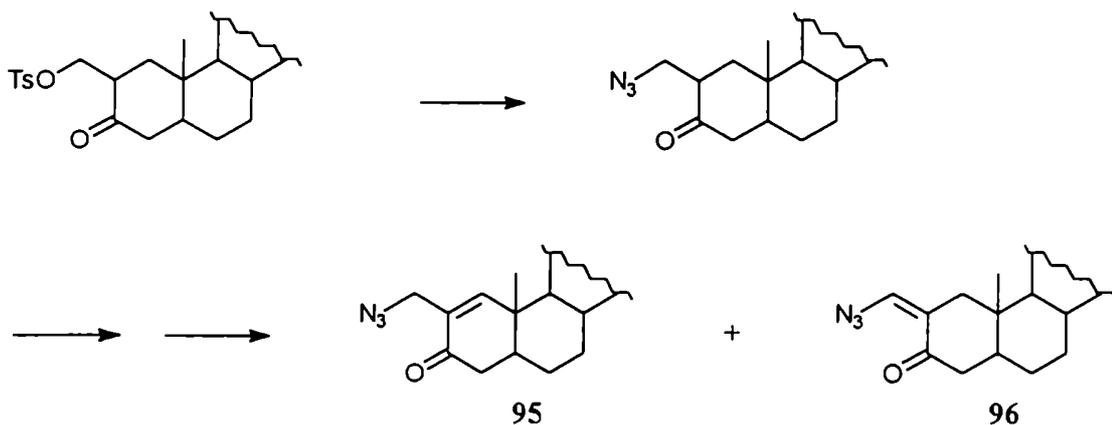


Tomando como base la síntesis de isoxazoles esteroidales descrita en el capítulo anterior, la introducción del C2' podía efectuarse por reacción del enolato correspondiente a un 3-cetoesteroide con un electrófilo adecuado. El grupo carbonilo en C3 podría luego transformarse en tiocarbonilo empleando reactivos como el 2,4-bis(*p*-metoxifenil)-1,3-ditiadifosfetano-2,4-disulfuro (reactivo de Lawesson) (**94a**) [Sakamoto, 1988; Edwards, 1988] o sus análogos **94b** o **94c**. [Khan, 1988; Metzner, 1992]. Estos reactivos resultaban más ventajosos que la alternativa clásica que utilizaba pentasulfuro de fósforo para este tipo de transformación ya que se utilizan en proporción equimolecular obteniéndose rendimientos muy superiores [Cava, 1985].

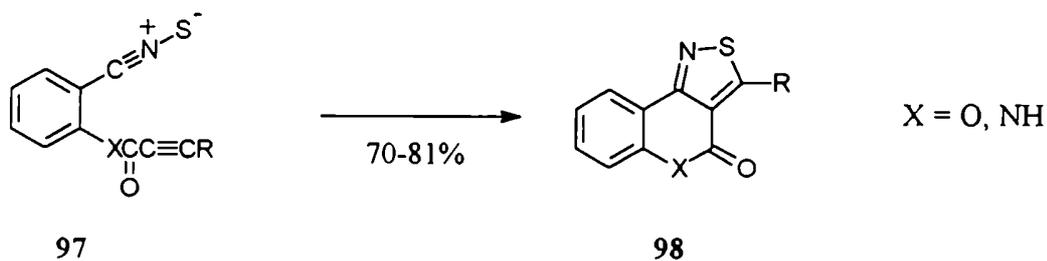


La introducción del grupo azida resultaba dificultosa ya que los métodos descritos para la preparación de azidas vinílicas por adición de ácido hidrazoico, azida mercúrica o halógeno azidas [Korte, 1975; Hassner, 1968] sobre compuestos insaturados no daban resultados satisfactorios. La introducción del grupo azida ocurriría en el carbono más sustituido (en este caso C2). Otra alternativa era el desplazamiento de un grupo sulfonato en C2' empleando azida de sodio. En este caso la insaturación entre C2-C2' debería introducirse

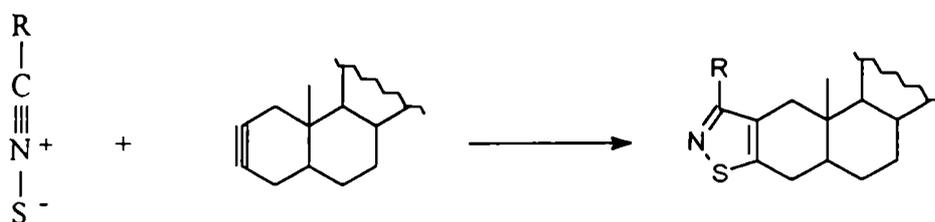
luego de la reacción de sustitución (podría utilizarse la eliminación de un selenóxido en posición α a un carbonilo en C3). Sin embargo, la competencia entre la formación de un doble enlace endocíclico (compuesto **95**) y un doble enlace exocíclico (compuesto **96**) sería importante.



Brownsort y colaboradores [Brownsort, 1989] desarrollaron una metodología completamente diferente para la preparación de heterociclos de cinco miembros que incorporaban la unidad $\text{C}=\text{N}-\text{S}$. Los autores utilizaron la cicloadición 1,3-dipolar entre un sulfuro de nitrilo y un triple enlace.

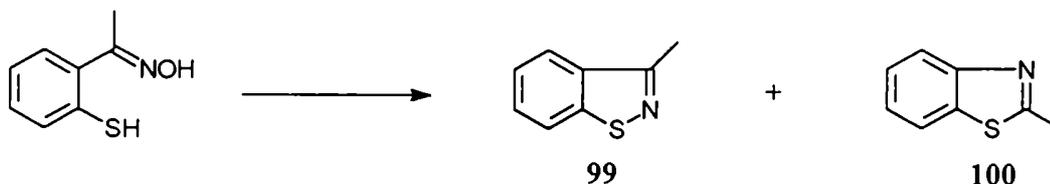


Esta estrategia no era aplicable para la preparación de isotiazoles fusionados a anillos de seis miembros pues sería necesaria la presencia de un triple enlace entre $\text{C}2$ y $\text{C}3$ del esteroide.



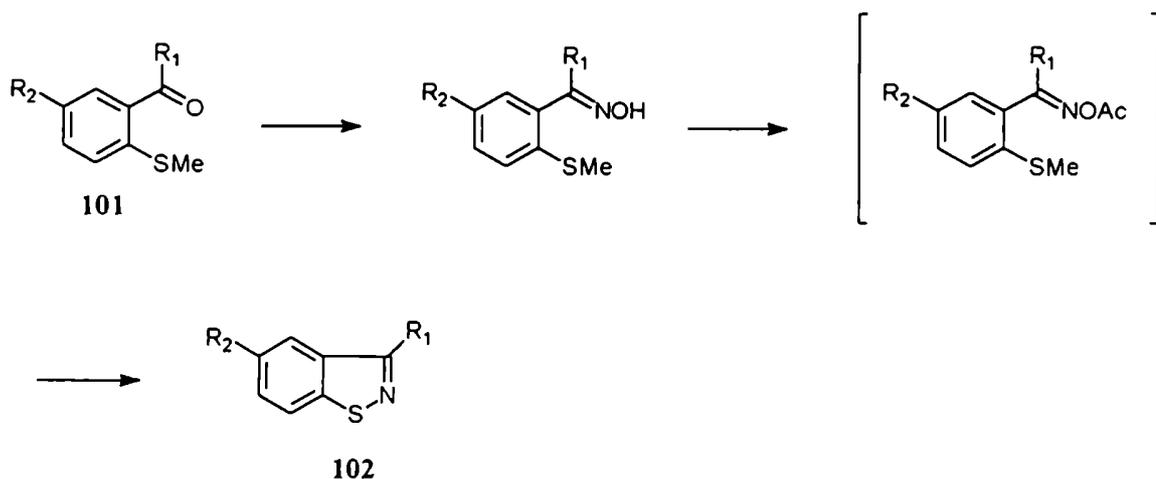
Teniendo en cuenta que al utilizar olefinas análogas a **97** como dipolarófilos los rendimientos informados por los mismos autores se redujeron drásticamente (24-28%), se descartó esta metodología.

En 1973 Clarke y colaboradores estudiaron la ciclación de la oxima **98** por calentamiento con ácido polifosfórico. Como productos se obtuvieron el isotiazol **99** y el tiazol **100** formado, presumiblemente, por reordenamiento de Beckmann de la oxima **98** previo a la ciclación [Clarke, 1973]. El tiazol **100** era el compuesto mayoritario aunque la proporción del mismo disminuía al aumentar la temperatura (relación **100/99**; 3,9:1 a 80°C; 1,75:1 a 120°C y 1,3:1 a 200°C).

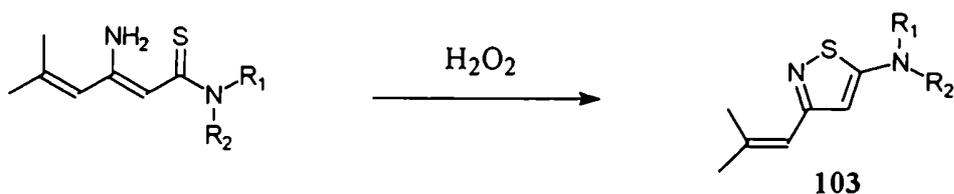


Una metodología similar fue utilizada por McKinnon y Lee [McKinnon, 1988] para la preparación de isotiazoles fusionados a anillos aromáticos. Las oximas derivadas de las 2-(metiltiofenil)cetonas **101** se trataron con anhídrido acético/piridina a reflujo obteniéndose los isotiazoles **102** con rendimientos que variaban entre el 76% y 95%. El requisito era convertir el grupo hidroxilo de la oxima en un grupo saliente adecuado por ejemplo, por esterificación del mismo (se aislaron los acetatos de las oximas como intermediarios de la

reacción). El ester eliminado en la ciclación, en este caso acetato de metilo, debía ser volátil y no reactivo.

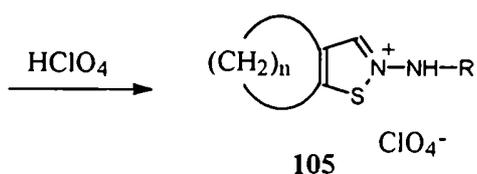


Durante el transcurso del presente trabajo de tesis, se informaron otras metodologías para la preparación de derivados isotiazolínicos. Una de ellas fue la ciclación oxidativa de compuestos tiocarbonílicos sustituidos con grupos amino para la preparación de los isotiazoles *103* [Suschitzky, 1993].

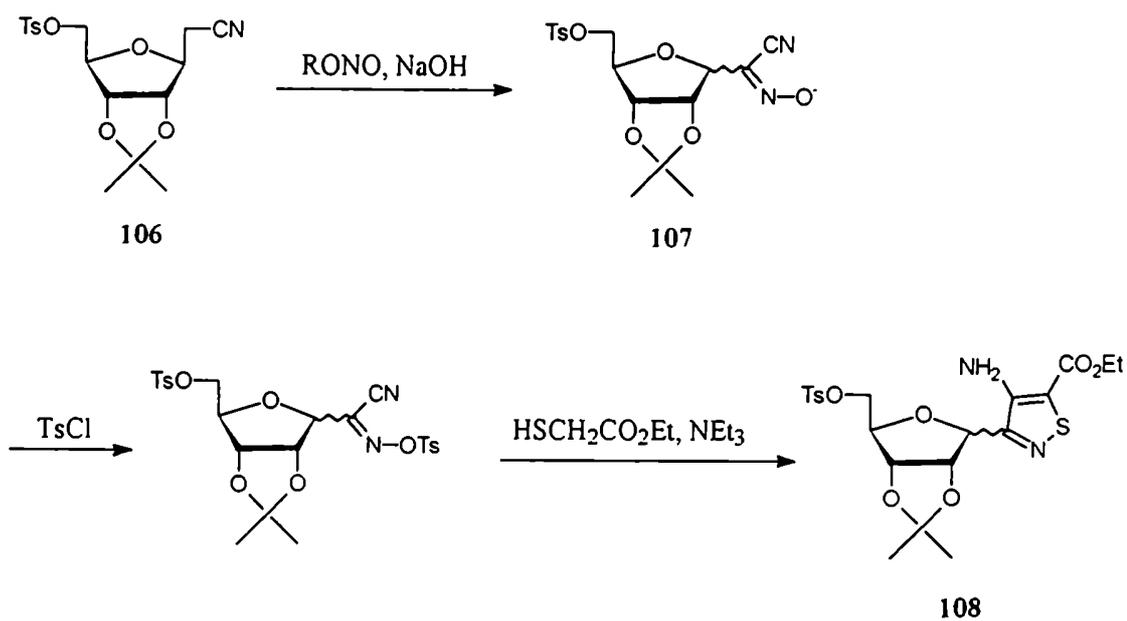


Por reacción de los tiocianatoaldehidos *104* con hidrazinas y posterior tratamiento con ácido perclórico, se prepararon los derivados isotiazolínicos N-sustituídos *105* [Schulze, 1993].

104

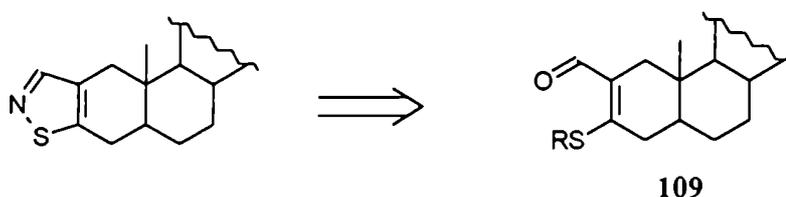


La secuencia que se describe a continuación se utilizó para llevar a cabo la síntesis de C-nucleósidos que presentaran un anillo isotiazolinico en su estructura. El nitrilo **106** se trató con un nitrito de alquilo en presencia de una base fuerte para obtener la sal **107**. Por tosilación de **107** y posterior tratamiento con 2-mercaptoacetato de etilo se obtuvieron los derivados isotiazolinicos **108** [Wamhoff, 1993].



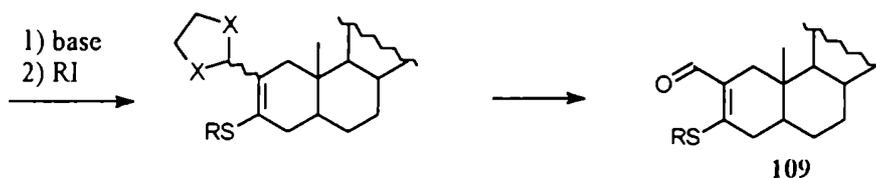
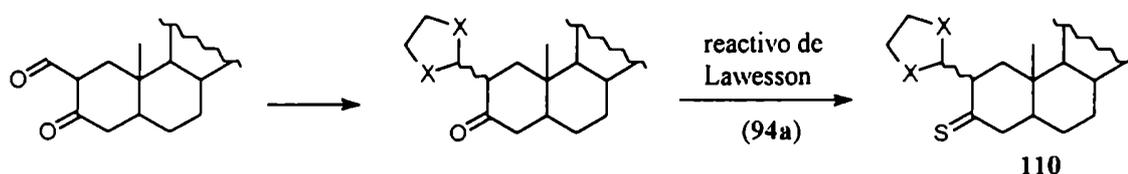
Estos últimos métodos de síntesis no se consideraron adecuados para la preparación de los isotiazoles esteroidales deseados porque no permitían la construcción del heteroanillo fusionado al esqueleto esteroideal o porque involucraban una compleja preparación de los intermediarios necesarios.

Teniendo en cuenta los antecedentes descriptos, se consideró que la estrategia más apropiada sería la ciclación de un β tioalquil aldehído α,β -insaturado como *109*.

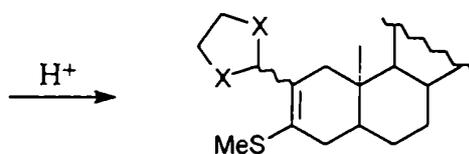
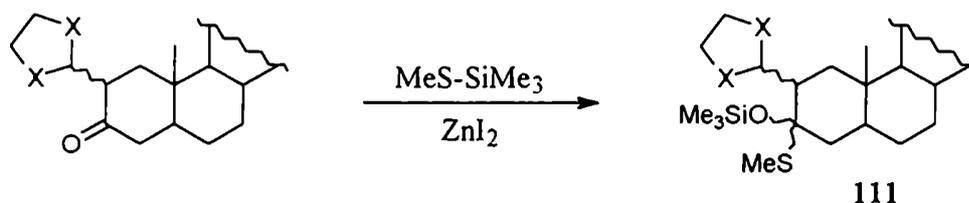


El carbonilo aldehídico unido a C2 podría introducirse en forma análoga a la empleada durante la síntesis de isoxazoles esteroidales (ver Capítulo 1). Para la preparación del sulfuro vinílico en C3 se consideraron distintas estrategias:

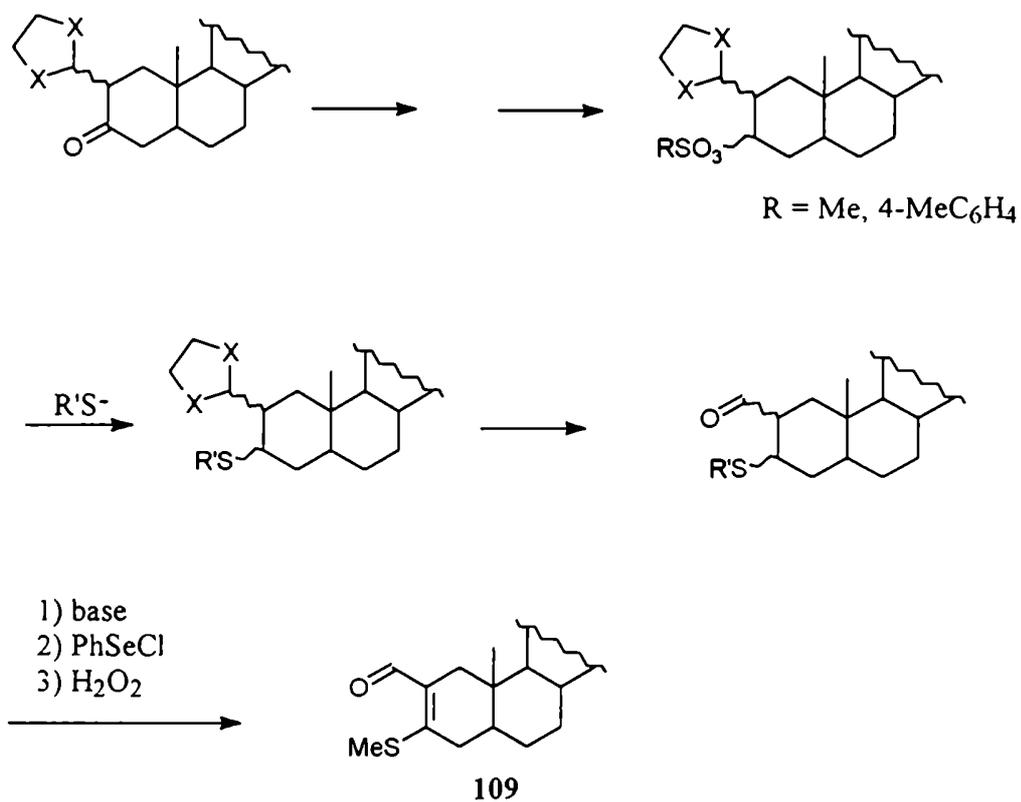
- 1) Luego de la introducción del nuevo átomo de carbono (C2') el carbonilo aldehídico podría protegerse selectivamente y empleando el reactivo de Lawesson (*94a*), se prepararía la tiona *110*. Utilizando una base se generaría el tienolato correspondiente para intentar posteriormente la S-alkilación del mismo ya que existen antecedentes de una reacción similar a partir de una tioamida [Closs, 1988]. Luego de desproteger el grupo aldehído, se obtendría el intermediario *109*.



- 2) Otra posibilidad consistía en la preparación del sulfuro vinílico en C3 por reacción de un 3-cetoderivado con metiltiotrimetilsilano para obtener el monotiocetal *111* que, en medio ácido, eliminaría para dar el sulfuro vinílico correspondiente [Evans, 1977].



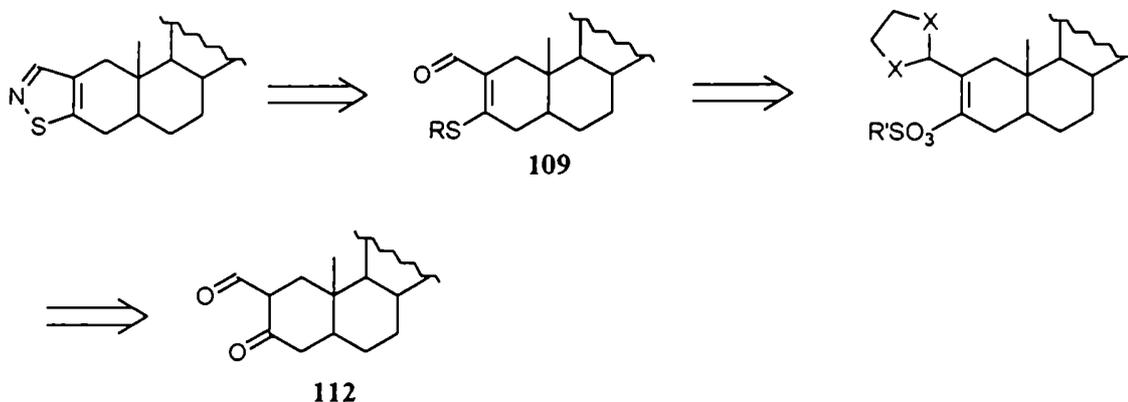
- 3) Por último se consideró la posibilidad de introducir el grupo tioalquilo por desplazamiento de un buen grupo saliente en C3. En este caso, el doble enlace entre C2-C3 sería introducido luego de la desprotección del grupo aldehído en C2' por eliminación del selenóxido correspondiente.



Esta última estrategia involucraba un mayor número de pasos pero teniendo en cuenta la disponibilidad de reactivos y la menor complejidad de las reacciones involucradas, se decidió intentar este camino para la síntesis de los isotiazoles esteroidales buscados.

Descripción del Trabajo Realizado

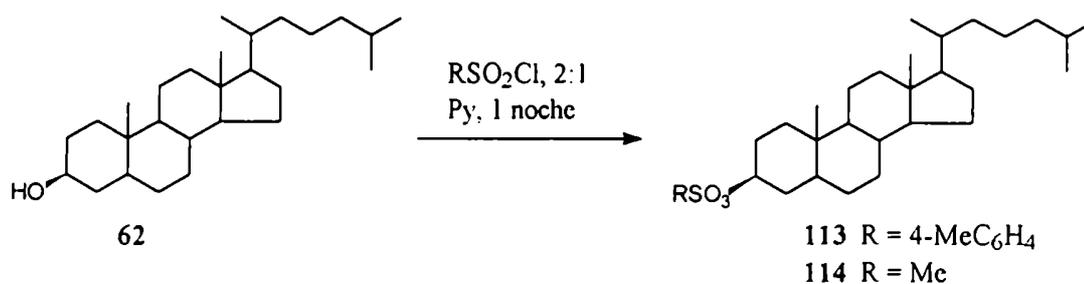
Luego de analizar los antecedentes descriptos para la preparación de isotiazoles, se decidió intentar la formación del enlace N-S por tratamiento de la oxima correspondiente al aldehído **109** con anhídrido acético en piridina. La introducción del grupo tioalquilo en C3 se realizaría por desplazamiento de un sulfonato en dicha posición. El análisis retrosintético (**Esquema 7**) indicó la posibilidad de utilizar un compuesto 1,3-dicarbonílico como **112** como intermediario. Este tipo de compuestos habían sido utilizados durante la síntesis de isoxazoles esteroidales descrita en el capítulo anterior.



Esquema 7. Análisis retrosintético de [2,3-d] isotiazoles esteroidales.

Se encaró en primer término la síntesis de 5α -derivados debido a que durante la preparación de isoxazoles esteroidales, descrita en el capítulo anterior, se comprobó la mayor simplicidad para la preparación de derivados como **112**. Para la preparación de su análogo Δ^4 -insaturado era necesaria una etapa de oxidación en C3 y la isomerización de un doble enlace entre C5-C6 hacia C4-C5.

Se estudió la factibilidad de una reacción de sustitución nucleofílica sobre un sulfonato en C3. Se prepararon los sulfonatos *113* y *114* derivados del 5 α -colestanol (*62*).



La reacción de sustitución sobre los compuestos *113* y *114* se estudió empleando distintas condiciones. Los resultados obtenidos se indican en la **Tabla 6**.

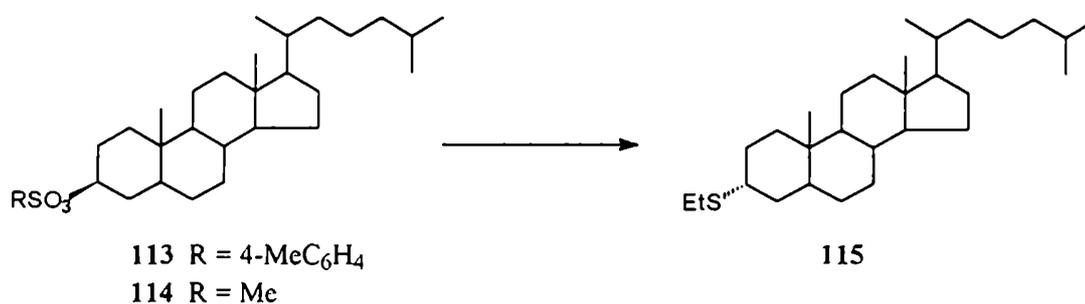


Tabla 6. Condiciones ensayadas para la reacción de sustitución en C3.

	nucleófilo	sv	T	tpo.	%
1	EtSH	EtSH	refl.	1 noche	no reacciona
2	EtSLi ^a	THF	0°C	5 hs.	no reacciona
3	EtSLi ^a	THF	60°C	1 noche	no reacciona
4	EtSNa ^b	metanol	refl.	1 noche	90%

^a preparado a partir de EtSH y *n*-BuLi

^b preparado a partir de EtSH y Na.

En las condiciones detalladas en 1, el nucleófilo (etanotiol) resultó muy débil y no se observó producto de reacción. Empleando EtSLi (entradas 2 y 3), el nucleófilo resultó insoluble en THF aun a 60°C. Debido a las condiciones heterogéneas de reacción, no se observó la formación del producto deseado. Se decidió entonces, intentar la reacción en fase homogénea (entrada 4). La especie nucleofílica se generó por agregado de sodio metálico sobre una solución de etanotiol en metanol [van Es, 1969]. En estas condiciones se obtuvo el producto de sustitución *115* con 90% de rendimiento. No se observó diferencia de reactividad entre el tosilato *113* y el mesilato *114*. Pese a que en las condiciones empleadas podía generarse metóxido de sodio, no se observó la formación del 3-metoxiderivado correspondiente como producto secundario. Este hecho puede atribuirse a dos factores. Por un lado, la mayor acidez de los tioles con respecto a sus análogos oxigenados desplazaría el equilibrio ácido-base entre el tioetóxido de sodio y metanol hacia la formación del anión tioetóxido. Por otro lado, debido a la mayor polarizabilidad del S, el tioetóxido sería un nucleófilo más fuerte que el anión metóxido.



La estereoquímica en C3 para el compuesto *115* se corroboró sobre la base de su espectro de RMN-¹H. Este tipo de espectroscopía es de gran utilidad para establecer la configuración de grupos metino del núcleo esteroide que se encuentren unidos a heteroátomos [Bhacca, 1964a]. Un factor muy importante para determinar la disposición axial o ecuatorial de un hidrógeno adyacente a un heteroátomo es el semiancho de banda de la señal correspondiente observada en el RMN-¹H. Un hidrógeno axial en C3 presenta dos acoplamientos diaxiales (con constantes de acoplamiento relativamente grandes) y dos acoplamientos axial-ecuatorial más pequeños. Esta combinación de acoplamientos da como resultado una señal muy ancha (semiancho de banda de aproximadamente 15 Hz). Un

hidrógeno ecuatorial, presenta solamente acoplamientos pequeños axial-ecuatorial o diecuatoriales dando como resultado semianchos de banda de aproximadamente 4-5 Hz.

En la **Figura 13** se presenta el espectro de RMN- ^1H del tosilato **113**. La señal correspondiente al hidrógeno axial en C3 (4,42 ppm) presenta un semiancho de banda de 18 Hz. En el espectro de RMN- ^1H del producto **115** obtenido en la reacción de sustitución (**Figura 14**) la señal correspondiente al hidrógeno en C3 presenta un semiancho de banda de 7 Hz y por lo tanto corresponde a un hidrógeno ecuatorial. De esta forma pudo corroborarse la inversión de configuración en C3.

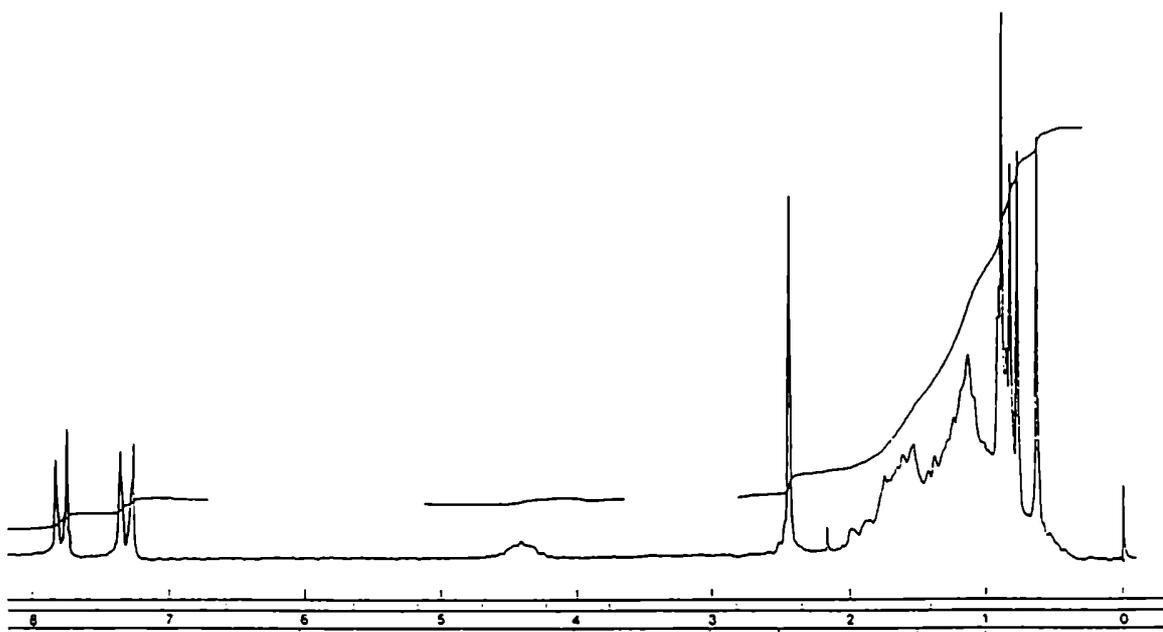


Figura 13. Espectro de RMN- ^1H del tosilato **113** (100 MHz).

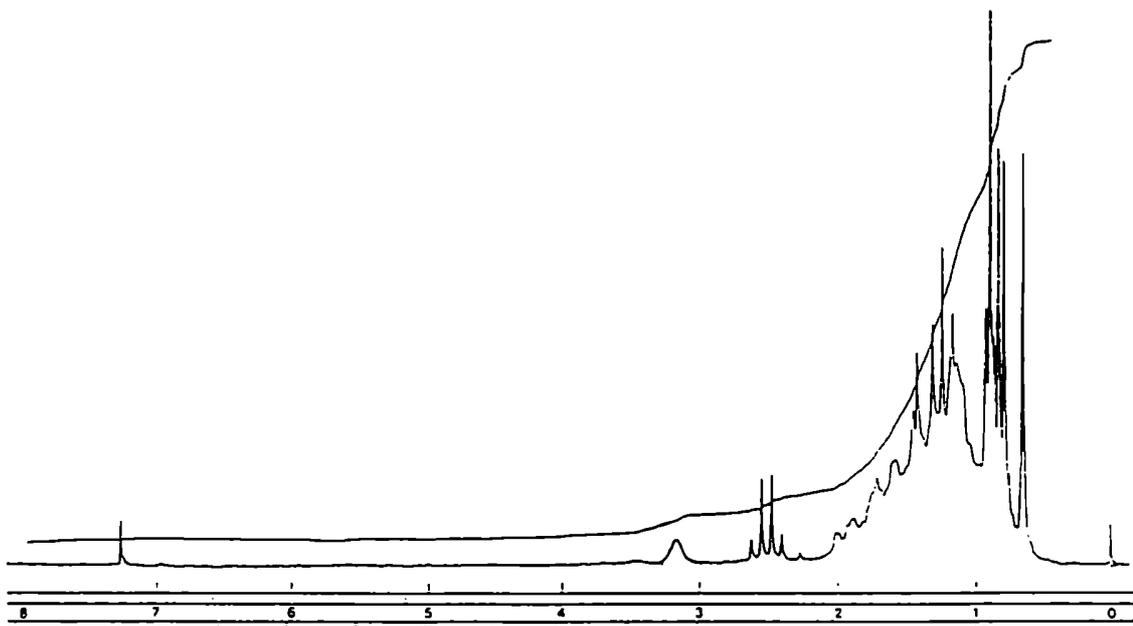
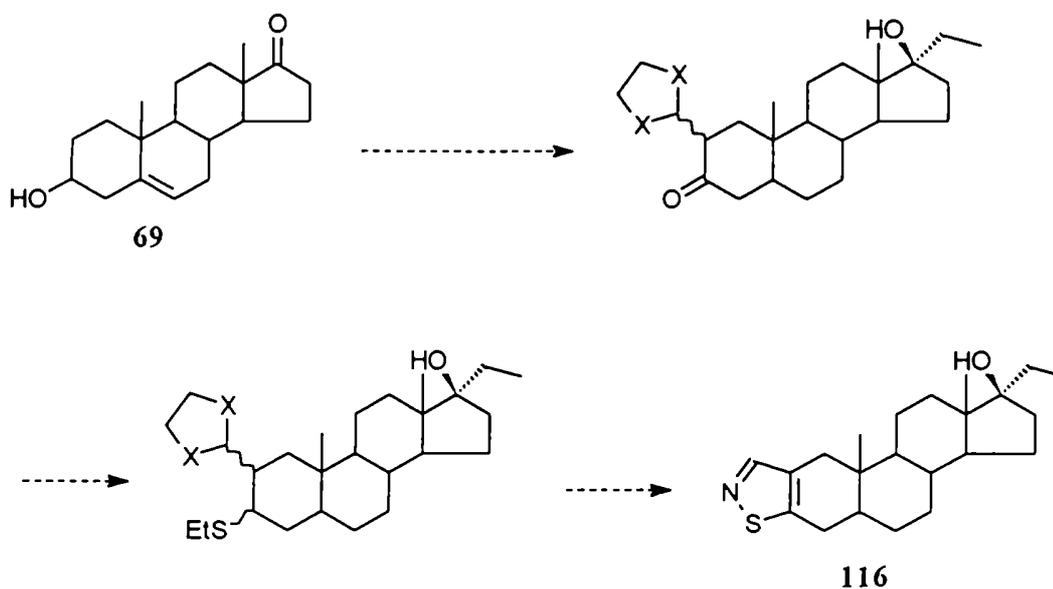


Figura 14. Espectro de RMN-¹H del tioéter *115* (100 MHz).

Teniendo en cuenta la factibilidad de introducir el grupo tioalquilo en C3 por una reacción de sustitución nucleofílica, se decidió encarar la síntesis del isotiazol *116*. Como material de partida se eligió el compuesto *69* que se había utilizado para la síntesis del 17 α -etil-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (*65*). La estrategia sintética se indica en el **Esquema 8**.



Esquema 8. Estrategia para la síntesis del [2,3-d] isotiazol **116** utilizando una reacción de sustitución en C3 para la introducción del átomo de azufre.

Por hidrogenación de **69** utilizando una presión de hidrógeno de una atmósfera se obtuvo el compuesto **117**. La introducción de la cadena lateral en C17 y del carbonilo aldehídico unido a C2 se realizó en forma análoga a la descrita para la síntesis de isoxazoles esteroidales. La estereoquímica en C17 se confirmó sobre la base de la señal observada en los espectros de RMN-¹H para los hidrógenos de Me-18 de los compuestos **119** y **120** (0,91 ppm). El desplazamiento químico coincidía con el observado para los análogos Δ^4 -insaturados **73** (0,92 ppm) y **74** (0,91 ppm) preparados previamente.

La etapa siguiente requería la protección selectiva del grupo aldehído en **120** en presencia del carbonilo cetónico. Kamitori y colaboradores [Kamitori, 1986] describieron la tioacetalización quimioselectiva de aldehídos en presencia de grupos ceto utilizando como catalizador sílica gel previamente tratada con cloruro de tionilo. En estas condiciones, los grupos hidroxilo de la sílica son intercambiados por cloro. Los enlaces silicio-cloro son suficientemente reactivos para reaccionar con los compuestos carbonílicos generándose un

centro carbocatiónico que sufre el ataque del ditiol. El mecanismo propuesto se indica en la **Figura 15**.

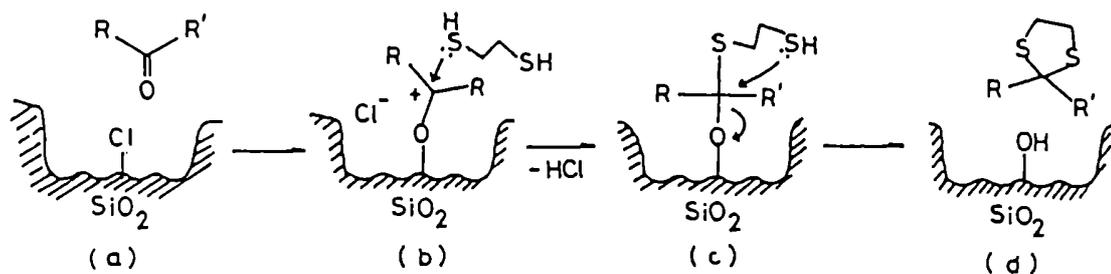
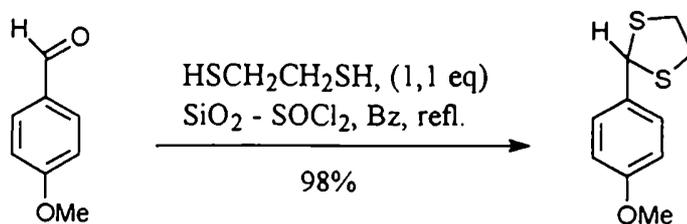


Figura 15. Mecanismo propuesto para la reacción entre un grupo carbonilo y etanoditiol catalizada por $\text{SiO}_2\text{-SOCl}_2$.

La selectividad de la protección se atribuyó al menor impedimento estérico que presenta un carbonilo aldehídico puesto que la reacción transcurre en los poros de la superficie de la sílica gel.

Si bien los autores describen la protección empleando un ligero exceso (1,1-1,2 equivalentes) de etanoditiol durante 5 hs. a temperatura ambiente; en el caso del *p*-metoxibenzaldehído fue necesario realizar la reacción a reflujo empleando benceno como solvente.



Al efectuar la reacción sobre el cetoaldehído *120* se obtuvo un compuesto que presentó las siguientes características:

- a) el análisis por c.c.d. reveló que se trataba de un compuesto de muy baja polaridad,
- b) en su espectro de RMN-¹H se observó que el metilo de la cadena lateral se había desplazado a campos altos (de 1,00 ppm en el compuesto *120* a 0,76 ppm en el producto de la reacción). También se observó un doblete que integraba para un hidrógeno a 4,82 ppm (que correspondía al H-2') y un singulete, que integraba para cuatro hidrógenos, a 3,16 ppm (asignado a los hidrógenos del grupo protector -SCH₂CH₂S-). No se observaron señales de hidrógenos vinílicos.
- c) en el espectro de RMN-¹³C se observó una señal de un carbono cuaternario a 210,4 ppm (grupo carbonilo en C3) indicando que se había logrado la protección selectiva. Sin embargo, la señal correspondiente a C17 (83,4 ppm en el compuesto *120*) había desaparecido. Se observaron en cambio, dos señales de carbonos cuaternarios a 139,6 ppm y 136,6 ppm.

El análisis de los datos espectroscópicos indicaba que, simultáneamente a la protección selectiva del aldehído, se produjo la deshidratación del hidroxilo terciario en C17 originando un doble enlace tetrasustituído.

Las posibles estructuras para el producto obtenido en la reacción eran *121*, *122* y *123*.

Para distinguir entre estas posibilidades se recurrió a la espectrometría de masa. Teniendo en cuenta las rupturas alílicas preferenciales, puede diferenciarse entre compuestos esteroidales que presentan insaturaciones entre C13-C14 o entre C8-C14 [Zaretskii, 1976]. Las rupturas utilizadas para la identificación se indican en la **Figura 16**. Si bien estas fragmentaciones no se han demostrado empleando técnicas de espectrometría de masa-espectrometría de masa, la formación de los iones característicos utilizados como

diagnóstico se ha informado en compuestos de estructuras similares [Laurent, 1966; Clark-Lewis, 1967].

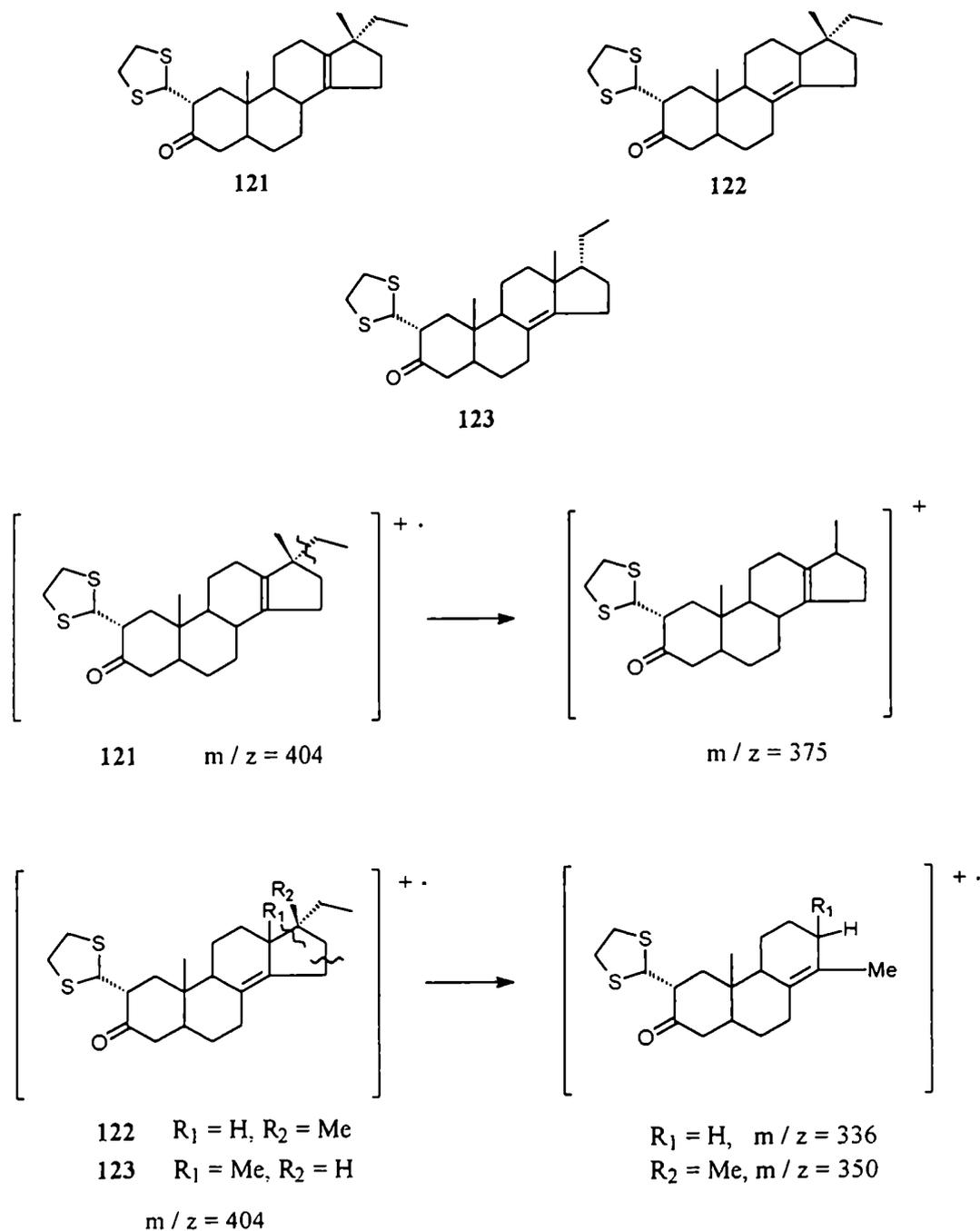
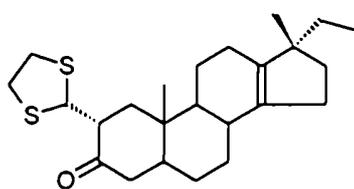
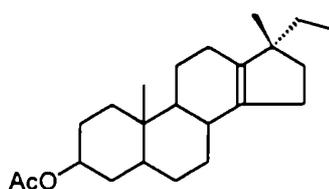
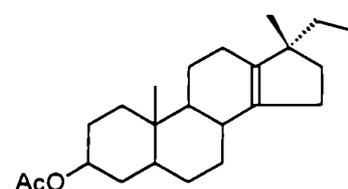


Figura 16. Fragmentaciones características de esteroides $\Delta^{13(14)}$ y $\Delta^{8(14)}$ insaturados.

Teniendo en cuenta que en el espectro de masa del producto de reacción se observaron señales con relación m/z 404 (24,9%) y 375 (72,1%) pero no se detectaron iones con relación m/z 336 ni 350, la estructura del producto obtenido se asignó como **121**.

La estereoquímica en C17 se estableció sobre la base de la señal observada en el espectro de RMN- ^1H para el metilo unido a dicho carbono en el compuesto **121** y los análogos **124a** obtenido por Aoyama y colaboradores [Aoyama, 1971] y **124b** obtenido por Laurent [Laurent, 1966].

**121**Me-17 β : 0,95 ppm**124a**Me-17 β : 0,93 ppm**124b**Me-17 β : 0,97 ppm
CH₂CH₃: 0,75 ppm (J=7,0 Hz)

La señal correspondiente al H-2 en el espectro de RMN- ^1H de **121** se observaba como un multiplete centrado a 2,80 ppm debido a los acoplamientos con ambos hidrógenos de C1 y el hidrógeno de C2' (4,82 ppm). Luego de irradiar selectivamente el doblete a 4,82 ppm (H-2'), la señal de H-2 se observó como un doblete con constantes de acoplamiento de 5,8 Hz y 13,4 Hz. Este último valor indicaba un acoplamiento diaxial con uno de los hidrógenos de C1 y por lo tanto el sustituyente en C2 debía encontrarse en posición ecuatorial. En la **Figura 17** se presenta el espectro de RMN- ^1H de **121** junto con el cambio observado en la señal de H-2 como resultado del desacople homonuclear.

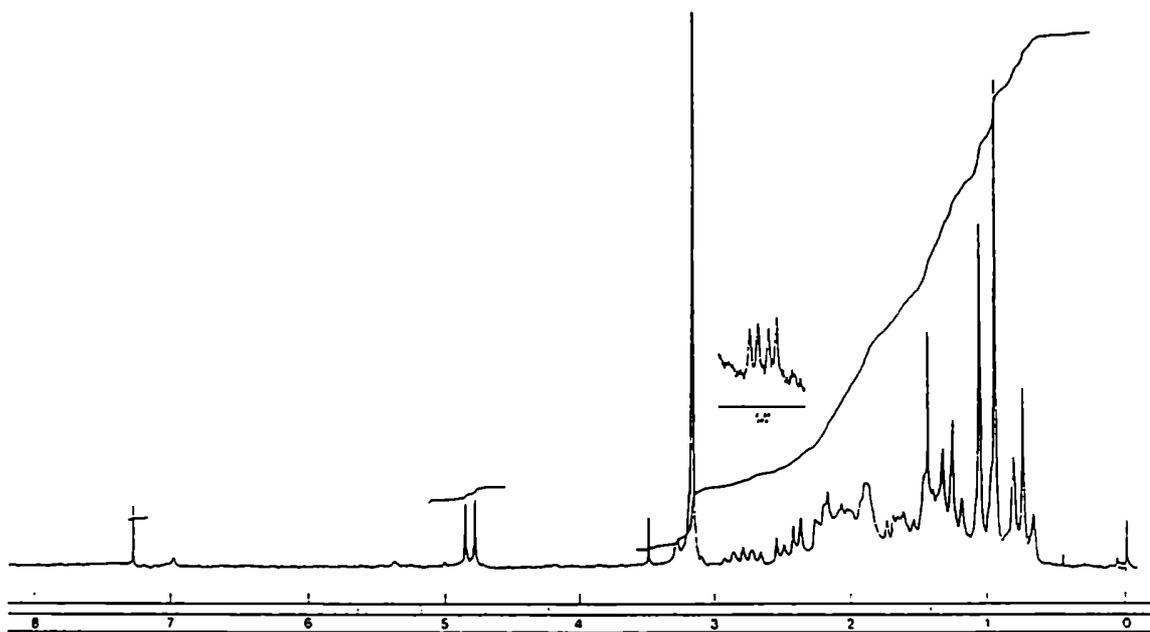


Figura 17. Espectro de RMN-¹H del compuesto *121* (100 MHz).

Se realizaron una serie de ensayos para determinar el reactivo responsable de la deshidratación y reordenamiento observados. Las pruebas se realizaron utilizando *70* como compuesto modelo. Los resultados se detallan en la **Tabla 7**.

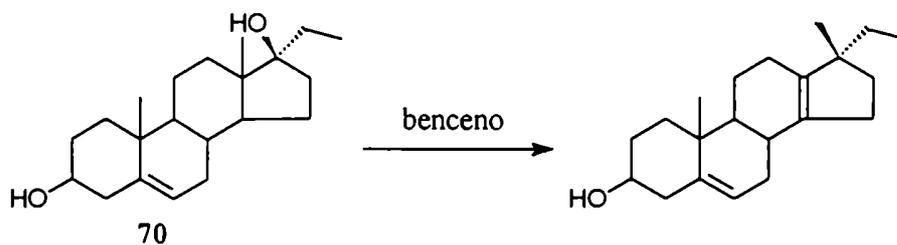


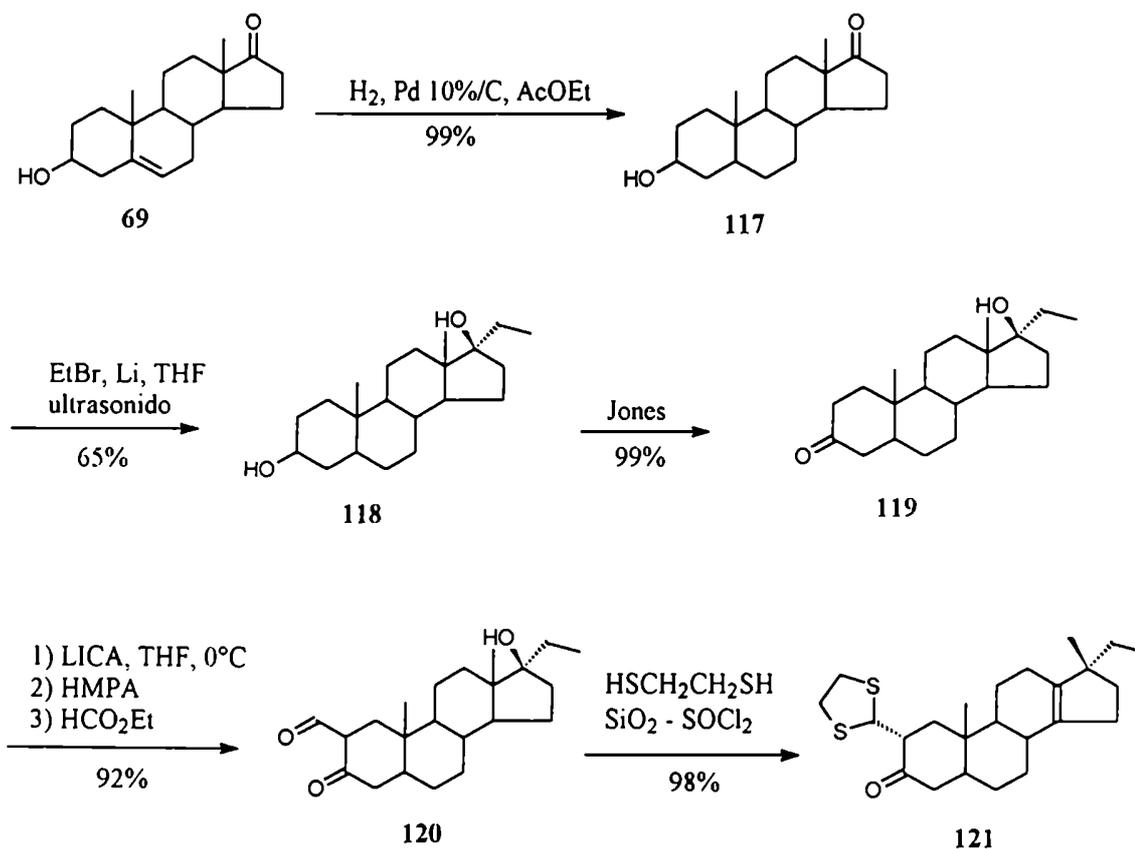
Tabla 7. Estudio sobre la deshidratación y reordenamiento de hidroxilos terciarios en C17.

	reactivo	T	tpo.	% producto
1	SiO ₂ -SOCl ₂	ambiente	1h 45'	75
			3h 20'	75
2	SiO ₂ -SOCl ₂	reflujo	1h 20'	100
3	SiO ₂	reflujo	1h 45'	0
			3h 20'	0
4	HCl _(c) 0,1 eq.	reflujo	1h 30'	10
			3h	50

Los ensayos realizados revelaron que la reacción no podía atribuirse sólo a la posible acidez del medio (entrada 4), sino que la presencia del catalizador de SiO₂-SOCl₂ era determinante de la deshidratación y reordenamiento. Además, dado que en presencia del catalizador, el reordenamiento se producía a temperatura ambiente y teniendo en cuenta que al utilizar *p*-metoxibenzaldehído como sustrato fue necesario llevar a cabo la reacción a reflujo, se concluyó que en el caso del compuesto **120** no podría evitarse la deshidratación del hidroxilo terciario en C17 como reacción lateral.

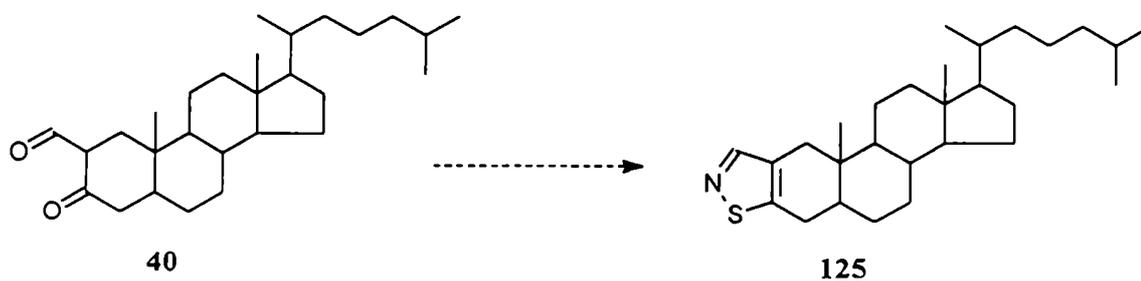
Considerando estos resultados, la introducción de la cadena lateral en C17 debería realizarse en una etapa posterior de la secuencia sintética.

La secuencia que condujo a la obtención del compuesto **121** a partir de la hidroxiketona **69** se indica en el **Esquema 9**.

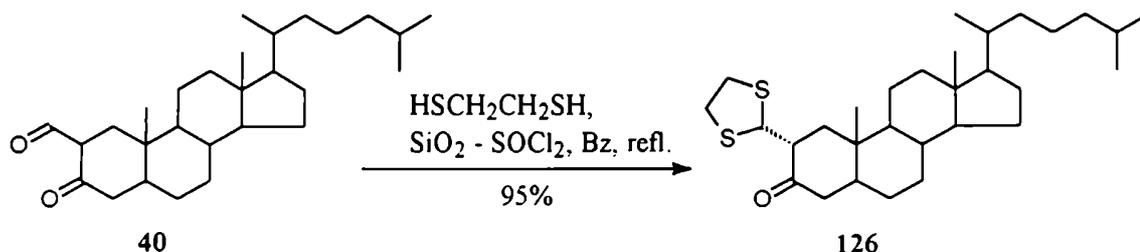


Esquema 9. Síntesis de la cetona 121 a partir de 69.

A fin de evaluar la utilidad de esta metodología para lograr la construcción del heteroanillo isotiazolinico, se decidió utilizar el compuesto **40**, preparado previamente, para intentar la síntesis del isotiazol correspondiente (**125**).

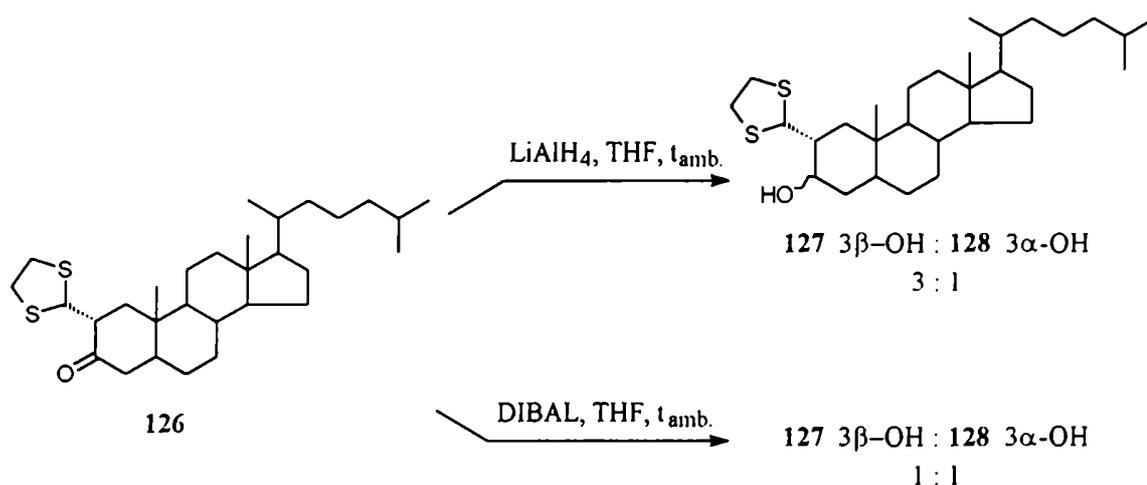


El compuesto **40** se protegió selectivamente por tratamiento con etanoditiol en presencia de $\text{SiO}_2\text{-SOCl}_2$ como catalizador. Se obtuvo el tioacetal **126** con 95% de rendimiento.



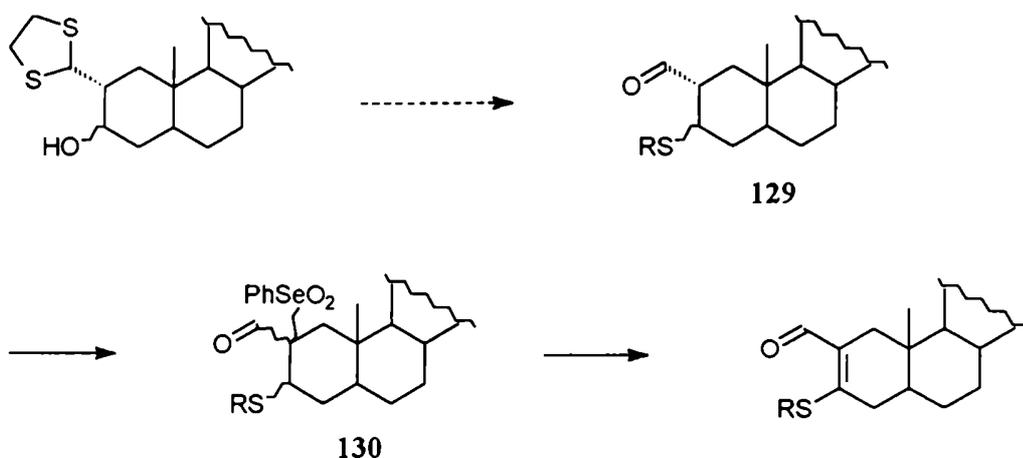
La reducción del grupo carbonilo en **126** se llevó a cabo utilizando hidruro de litio y aluminio como agente reductor. Si bien al efectuar la reducción de la 5α -colestán-3-ona (**63**) en estas condiciones, se obtuvo estereoespecíficamente el 3β -hidroxiderivado correspondiente, en este caso se obtuvieron los dos alcoholes epímeros **127** y **128** en relación 3:1. La obtención de una mezcla de epímeros se atribuyó al impedimento estérico ejercido por el sustituyente ecuatorial en C2 que dificulta el ataque del reactivo por la cara α del esteroide. Este hecho concuerda con lo informado sobre la reducción de 2α -metil-3-cetoesteroides con hidruro de litio y aluminio [Schänzer, 1993].

Al emplear un reductor más voluminoso como el DIBAL, la proporción de epímeros en C3 fue de 1:1.



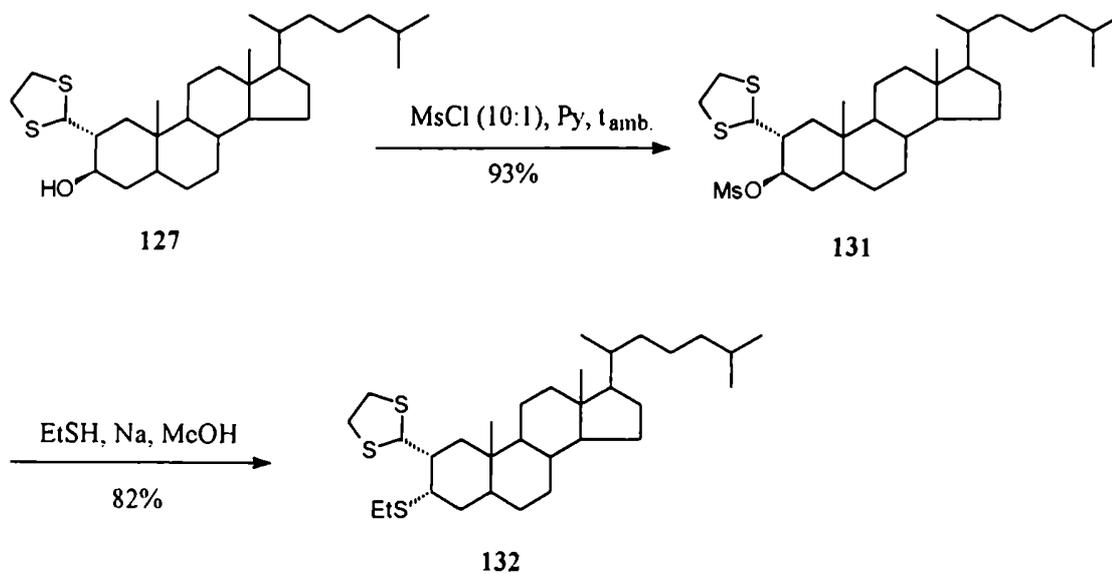
La estereoquímica en C3 se estableció sobre la base de los espectros de RMN-¹H teniendo en cuenta el semiancho de banda para la señal del H-3: de 13 Hz para el compuesto *127* y de 6 Hz para el compuesto *128* y por comparación del valor de desplazamiento químico observado para C3 en los espectros de RMN-¹³C (73,6 ppm para *127* y 68,5 ppm para *128*) con datos espectroscópicos de literatura para 3β y 3α hidroxisteroides [Blunt, 1977].

La falta de control para la formación de uno u otro epímero en C3 podría originar inconvenientes en etapas posteriores del camino sintético. La introducción de la insaturación entre C2-C3 se efectuaría por eliminación del fenilselenóxido *130* obtenido a partir del aldehído *129*. Dada la necesidad de contar con un hidrógeno en relación *cis* con el grupo fenilselenóxido en el compuesto *130*, sólo en el caso de uno de ambos epímeros en C3 estaría favorecida la eliminación hacia dicho carbono.



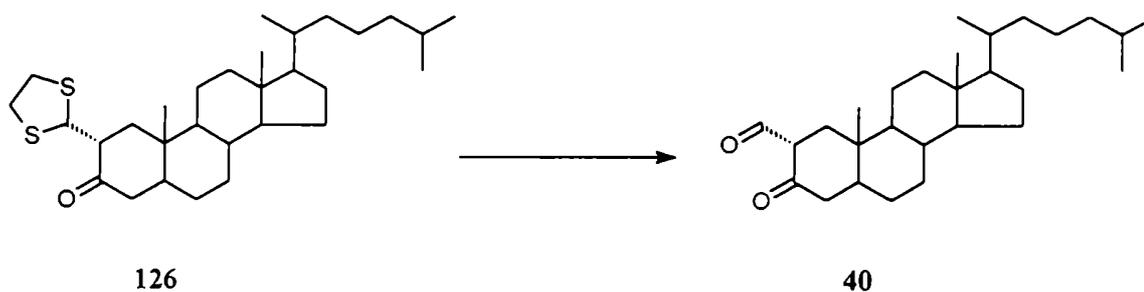
Considerando que en la reducción del compuesto *126* empleando hidruro de litio y aluminio se obtenía mayoritariamente el epímero *127*, se ensayó la secuencia sintética sobre este epímero.

Se intentó la formación del tosilderivado del alcohol *127*. Sin embargo, la reacción transcurrió muy lentamente y con un rendimiento del 50%. La escasa reactividad se atribuyó al impedimento estérico en torno al grupo hidroxilo. Se decidió entonces emplear cloruro de mesilo, obteniéndose el mesilato *131* con 93% de rendimiento. Por tratamiento del compuesto *131* con tioetóxido de sodio en metanol se obtuvo el 3 α -tioetilderivado *132* con 82% de rendimiento. La estereoquímica en C3 se asignó considerando la inversión de configuración observada durante la reacción realizada sobre los sulfonatos *113* y *114* ya que la señal correspondiente al H-3 en el espectro de RMN-¹H de *132* se superponía con los hidrógenos del grupo protector.



La etapa siguiente requería la desprotección del carbonilo aldehídico que posibilitaría posteriormente, la introducción del doble enlace entre C2-C3.

Para llevar a cabo la remoción del 1,3-ditioano, se ensayaron distintos reactivos empleando como modelo el compuesto *126* preparado previamente.



Las condiciones ensayadas y los resultados obtenidos se indican en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Reactivos ensayados para la remoción del grupo 1,3-ditiolano en el compuesto *126*

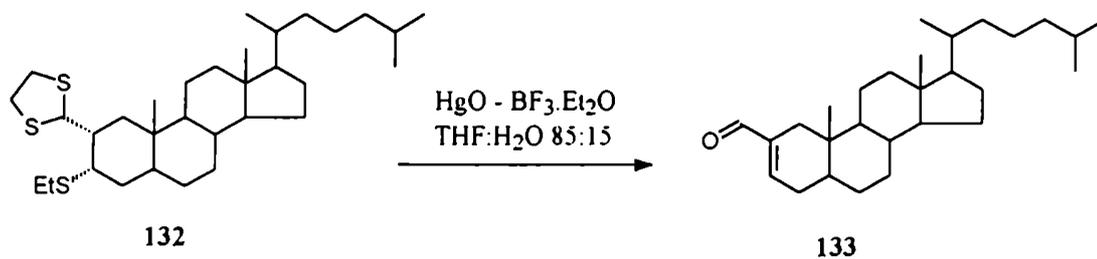
	Reactivos	Resultados	Ref.
1	SiO ₂ -H ₂ O-SO ₂ Cl ₂ / CH ₂ Cl ₂ , t _{amb.}	múltiples productos	Kamitori, 1986
2	(AcO) ₂ IPh / CH ₃ CN:H ₂ O 9:1, t _{amb.}	no hay reacción	Stork, 1989
3	CuSO ₄ -SiO ₂ / CHCl ₃ , refl.	no hay reacción	Caballero, 1989
4	Tl(NO ₃) ₃ .3H ₂ O / MeOH:THF, t _{amb.}	no hay reacción	Johnson, 1981
5	HgO-HgCl ₂ / MeOH:H ₂ O 9:1, refl.	no hay reacción	Corey, 1967
6	HgO-BF ₃ .Et ₂ O / THF:H ₂ O 85:15, t _{amb.}	producto deseado	Vedejs, 1971

Utilizando óxido mercúrico en presencia de trifluoruro de boro eterato pudo lograrse la transformación de *126* en *40* con rendimientos satisfactorios.

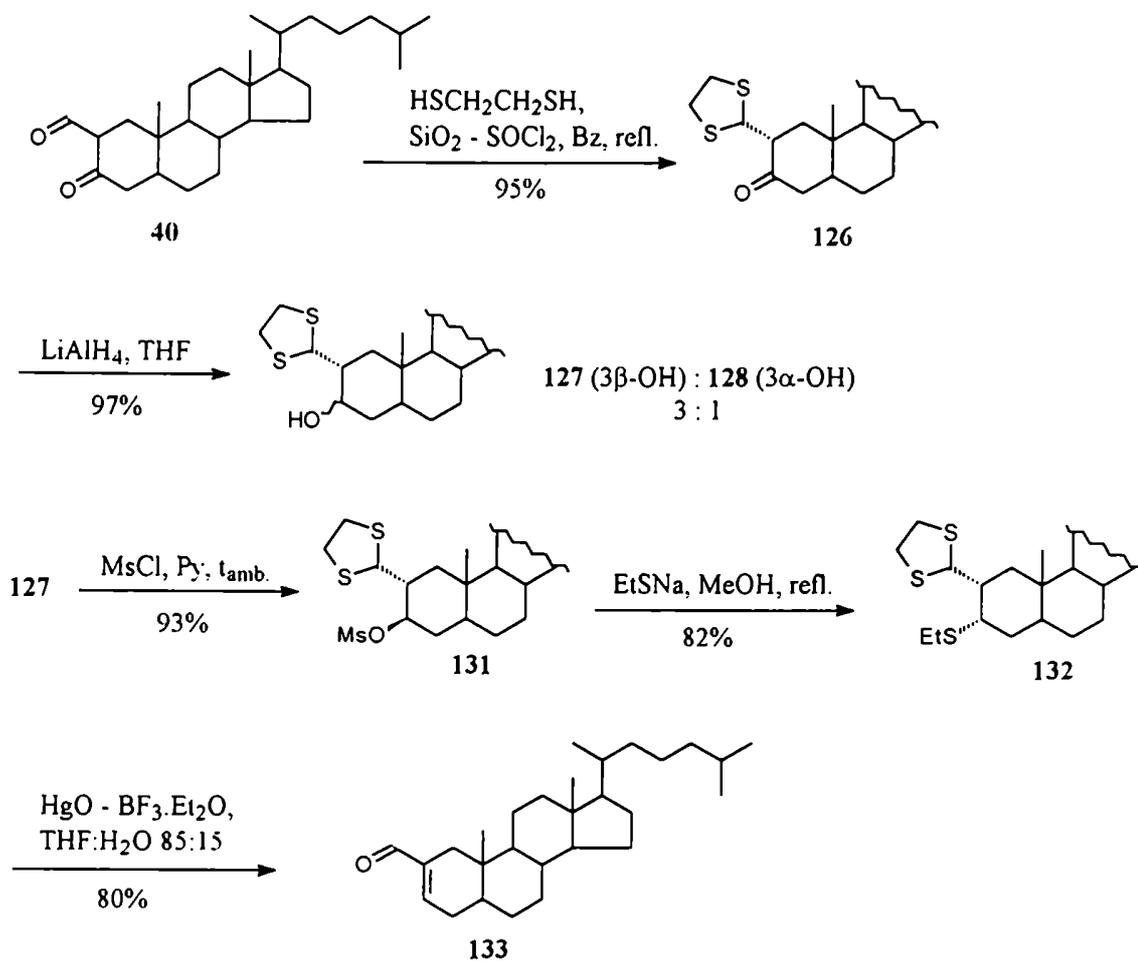
El tratamiento del intermediario sintético *132* en las mismas condiciones originó un producto que presentó las siguientes características espectroscópicas:

- a) En su espectro de RMN-¹H se observó un singulete a 9,44 ppm que correspondía al hidrógeno aldehídico en C2'. Debido a la multiplicidad de la señal, el C2 del esteroide debía ser un carbono cuaternario. Las señales correspondientes al grupo tioetilo habían desaparecido.
- b) En el espectro de RMN-¹³C se observó la señal del carbonilo aldehídico a 194,5 ppm y dos señales en la zona de carbonos olefinicos a 140,8 ppm (carbono cuaternario) y a 150,0 ppm (metino). El valor de desplazamiento químico para el grupo carbonilo indicaba que el mismo se hallaba conjugado con el doble enlace.

La estructura del producto obtenido en la reacción de desprotección correspondía al aldehído α,β insaturado *133* producido por remoción del grupo protector junto con el grupo tioetilo en C3.



La secuencia sintética a partir del compuesto **40** se resume en el **Esquema 10**.



Esquema 10. Síntesis del aldehído α,β insaturado **133** a partir del β -cetoaldehído **40**.

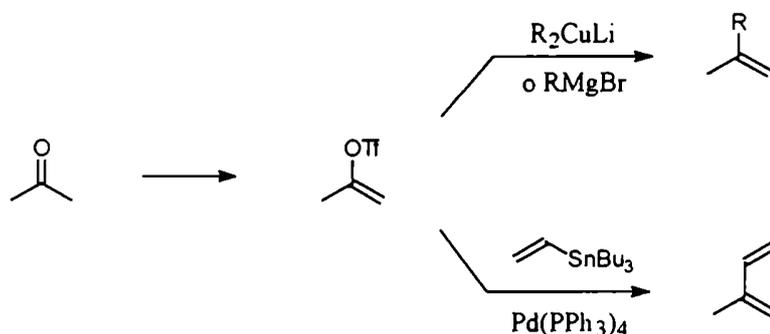
La estrategia sintética desarrollada hasta el momento presentó los siguientes inconvenientes:

- Al realizar la protección selectiva del carbonilo aldehídico en *120* se produjo la deshidratación del hidroxilo terciario en *C17*.
- Durante la reducción del grupo 3-ceto en *126* se obtuvo una mezcla de ambos alcoholes epímeros aun utilizando distintos agentes reductores.
- Al efectuar la desprotección del carbonilo aldehídico en *C2'* en el compuesto *132* se observó, simultáneamente, la remoción del grupo tioetilo en *C3*.

Considerando estos resultados, se decidió cambiar la estrategia a emplear para la preparación del intermediario *109*.

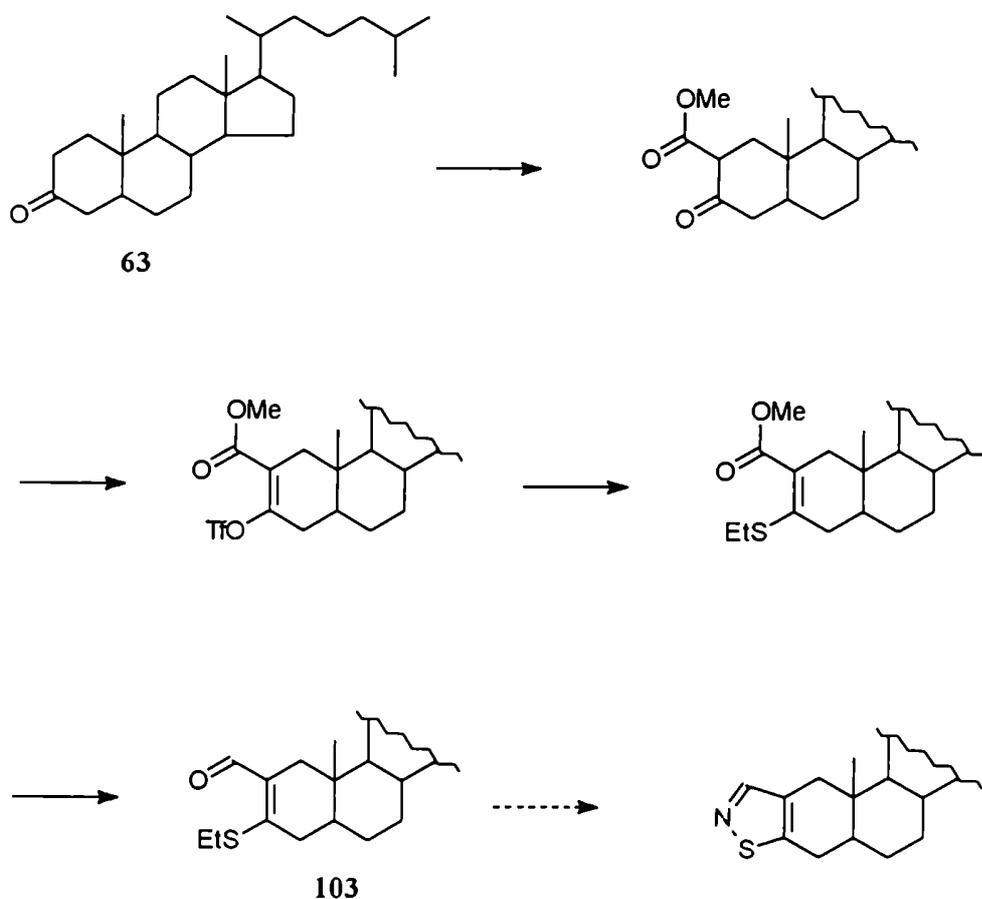
En primer lugar, se optó por introducir la función oxigenada en *C2'* en un estado de oxidación diferente al grupo funcional en *C3*. Introduciendo un grupo éster en *C2'* se evitaría la necesidad de proteger selectivamente uno de los grupos carbonilo presentes en la molécula.

El análisis de los antecedentes de reacciones de acoplamiento entre triflatos vinílicos y compuestos organometálicos para lograr el reemplazo del átomo de oxígeno de un enolato por un grupo alquilo [McMurry, 1980] o vinilo [Lee, 1990], indicó la posibilidad de utilizar una metodología diferente para la introducción del grupo tioalquilo en *C3*.



Si bien este tipo de reacciones solo se habían estudiado utilizando reactivos organometálicos, se intentó efectuarla empleando un anión tioalcóxido como especie nucleofílica.

La nueva ruta sintética se ensayó utilizando la 5α -colestan-3-ona (**63**) como sustrato. Las etapas involucradas se presentan en el **Esquema 11**.

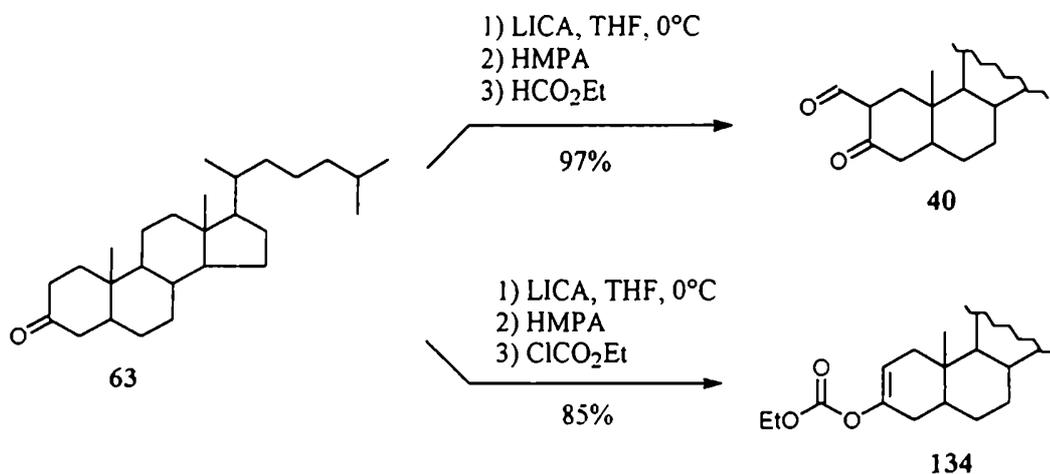


Esquema 11. Síntesis de [2,3-d] isotiazoles esteroidales utilizando el desplazamiento de un triflato vinílico para la introducción del átomo de azufre en C3.

Esta estrategia presentaba las siguientes ventajas:

- El número de pasos es menor que en el caso anterior ya que se evitan las etapas de protección y desprotección en C2' y además, la transformación del grupo ceto en C3 en un buen grupo saliente se realiza en forma directa. La introducción del doble enlace entre C2-C3 se efectúa simultáneamente con la introducción del triflato vinílico.
- la insaturación se introduce regioespecíficamente entre C2-C3 dado que este proceso está controlado por la enolización del carbonilo cetónico que se produce exclusivamente hacia C2.
- Se elimina la posibilidad de formación de epímeros en C3.

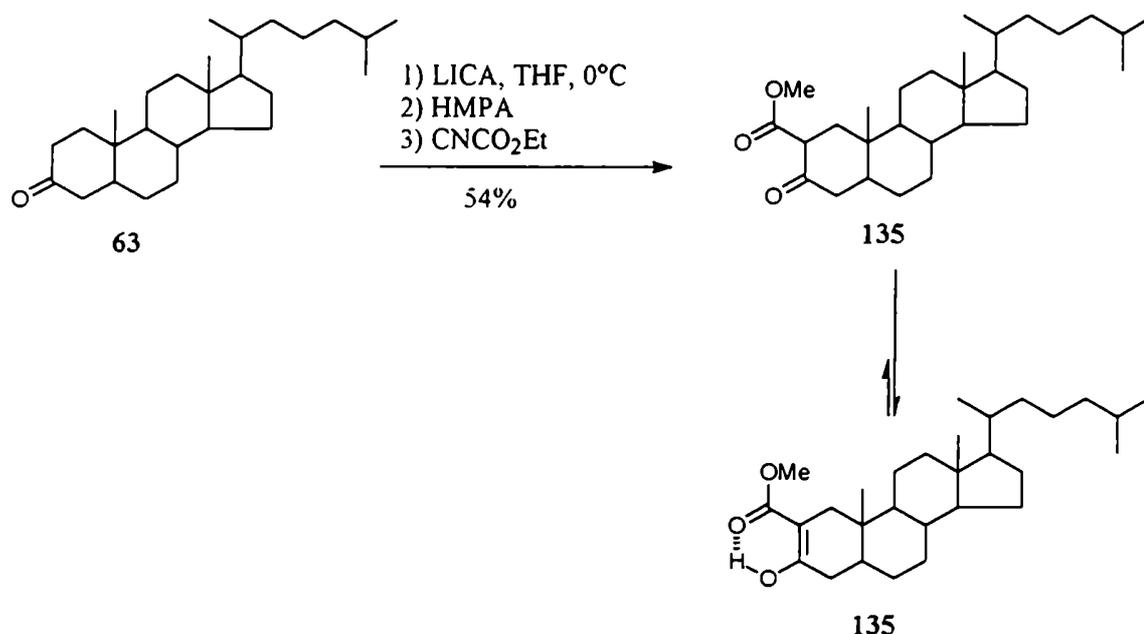
La primer etapa en el nuevo camino sintético consistía en la introducción del grupo carboxilato de alquilo en C2 del esqueleto esteroideal. Teniendo en cuenta la metodología empleada para la introducción de un carbonilo aldehídico durante la síntesis de isotiazoles esteroidales, se decidió efectuar una reacción análoga empleando como electrófilo cloroformiato de etilo en lugar del éster correspondiente. Por reacción del enolato derivado de **63** con formiato de etilo se obtenía, con 97% de rendimiento, el compuesto **40**. Sin embargo, al utilizar cloroformiato de etilo se obtuvo el producto de O-acilación **134**.



Considerando los antecedentes informados sobre competencia entre C-acilación y O-acilación [Howard, 1979; Melching, 1986], se decidió utilizar cianoformiato de metilo como agente acilante [Mander, 1983].

El reactivo se preparó según la técnica descrita por Childs y Weber [Childs, 1976] por tratamiento de cloroformiato de metilo con cianuro de potasio en presencia de éter 18-corona-6 durante 12 hs.

El tratamiento del enolato de la cetona **63** con cianoformiato de metilo (1,2 eq.) a -78°C durante 10 minutos rindió, con 54% de rendimiento, el producto de C-acilación **135**. Los intentos para mejorar el rendimiento empleando exceso del agente acilante o aumentando la temperatura o tiempo de reacción resultaron infructuosos. En ningún caso se detectó la formación del derivado de O-acilación.



El espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ del compuesto **135** presentó un singulete a 12,08 ppm que integraba para un hidrógeno. Esto indicaba que el β -cetoester se encontraba totalmente

enolizado. En el espectro de RMN-¹³C de 135 se observó una señal a 96,3 ppm que correspondía a C2 lo cual ratificaba la afirmación anterior.

Realizando un espectro COLOC (correlación C-H a larga distancia) optimizado para una constante de acoplamiento de 11,4 Hz, pudo establecerse que la señal a 173,3 ppm correspondía a C2' (correlaciona con los hidrógenos del metoxilo a tres enlaces) mientras que la señal a 170,9 ppm debía corresponder a C3. Considerando los valores de desplazamiento químico para los carbonos carbonílicos, el equilibrio de enolización se encontraría desplazado hacia el tautómero que presenta C2' como ester y C3 como enol. En adelante se utilizará este tautómero al hacer referencia al compuesto 135. En la **Figura 18** se presenta el espectro COLOC para dicho compuesto.

La asignación completa del espectro de RMN-¹³C de 135 se realizó sobre la base de datos de literatura [Blunt, 1977] y empleando un espectro HETCOR (correlación C-H a un enlace).

Se tuvieron en cuenta los valores de desplazamiento químico observados en el RMN-¹H del compuesto 135 para Me-18, Me-19 e H-1 β y datos de literatura para los hidrógenos de CH₂-12, CH₂-16 CH₂-22 y CH₂-24 en colestanos con distintos sustituyentes en anillos A y B del esqueleto esteroideal [Kirk, 1990].

H	Me-18	Me-19	H-1 β	CH ₂ -12	CH ₂ -16	CH ₂ -22	CH ₂ -24
δ	0,67	0,74	2,31	1,10-1,16	1,18-1,27	0,98	1,10
(ppm)				1,98-2,02	1,81-1,83	1,32	1,10

Considerando el desplazamiento químico para los hidrógenos mencionados, pudieron asignarse las señales de : C-12 (39,9 ppm) y C-24 (39,5 ppm); C-6 (28,1 ppm) y C-16 (28,2 ppm); C-1 (36,8 ppm) y C-22 (36,2 ppm). La asignación de C-18 (12,0 ppm) y C-19 (11,6

ppm) era directa. Por último, el metileno a 33,3 ppm que correlacionó con hidrógenos a $\delta = 1,90-2,10$ ppm se asignó a C-4.

El espectro HETCOR para el compuesto *135* se presenta en la **Figura 19**.

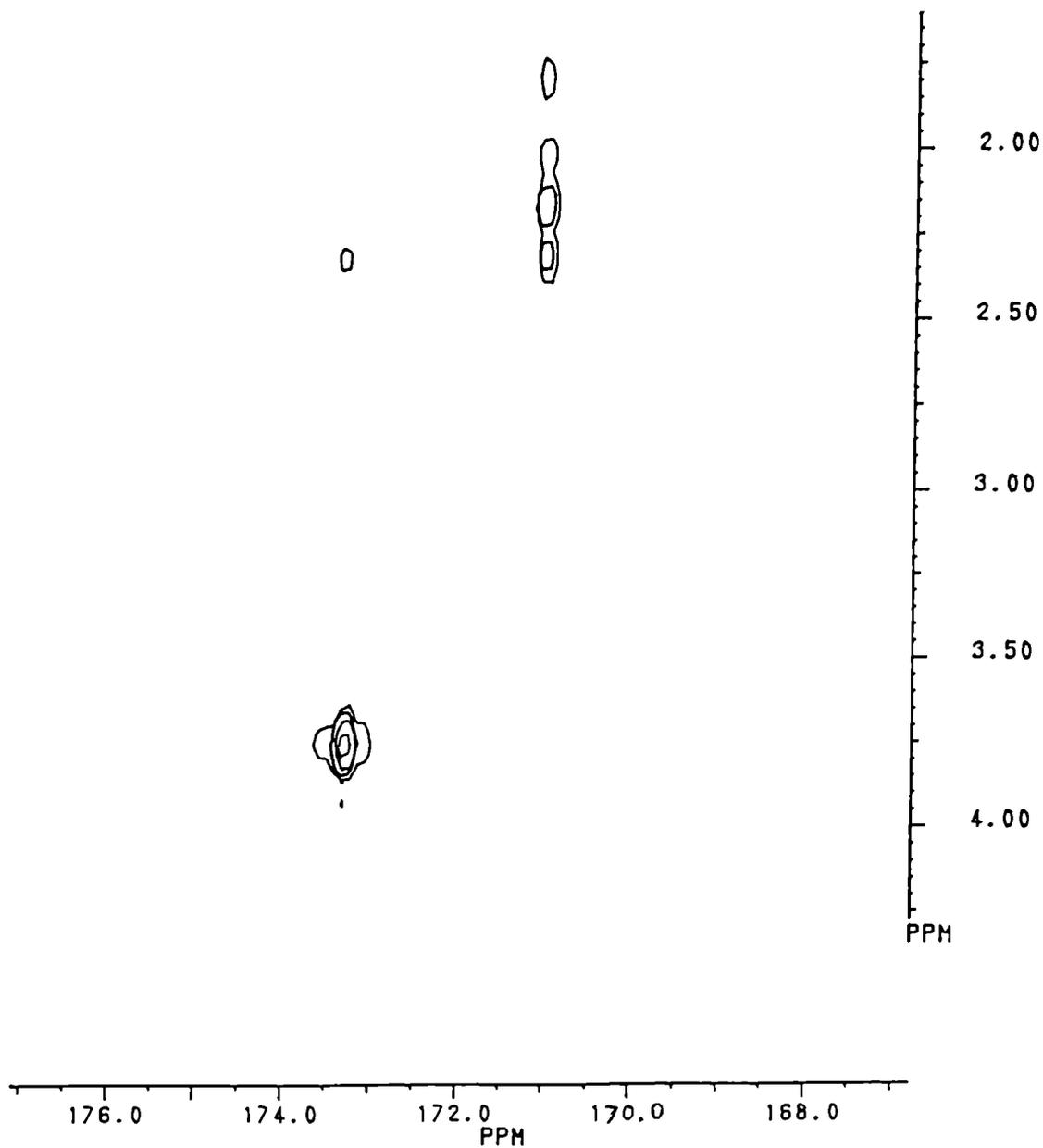


Figura 18. Ampliación del espectro COLOC del cetoéster *135*.

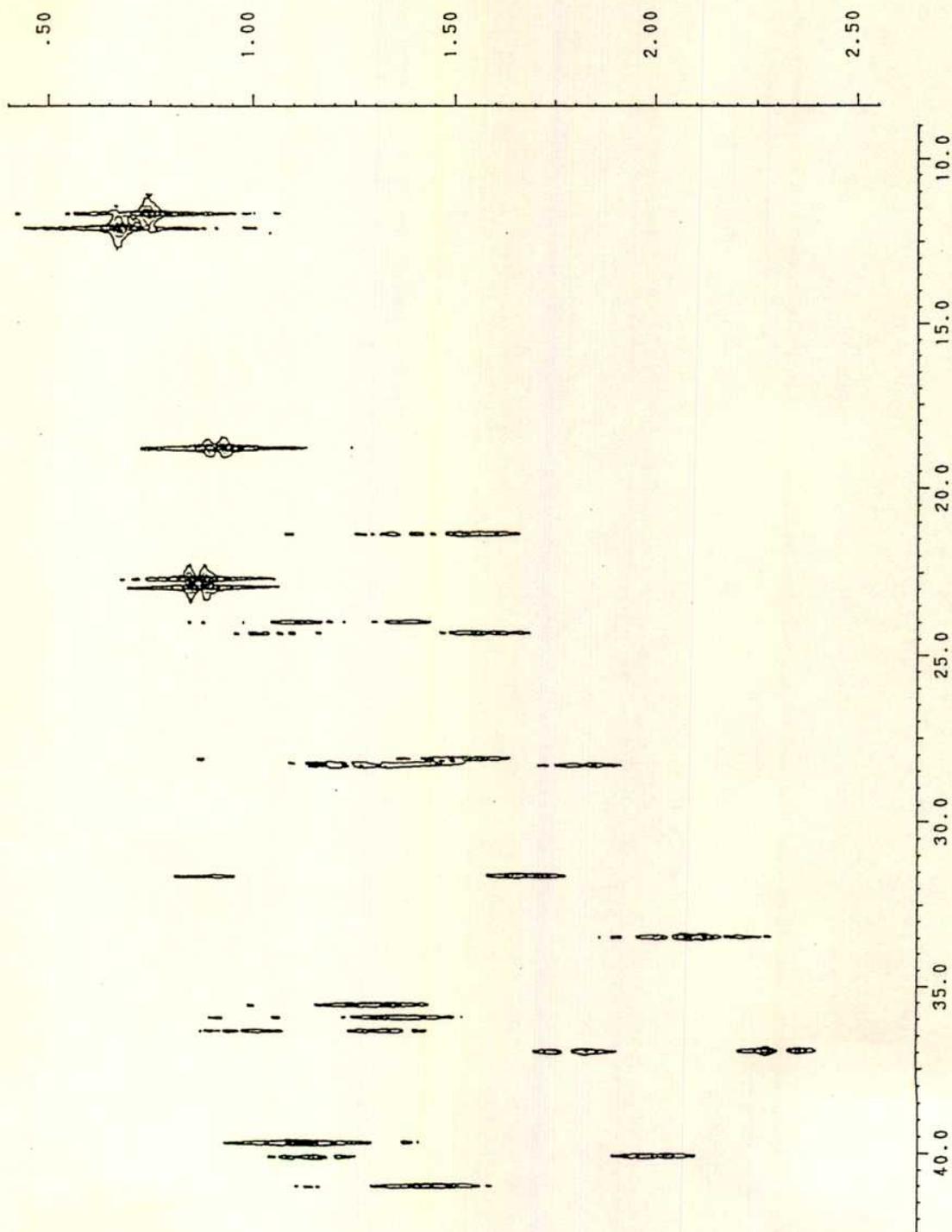
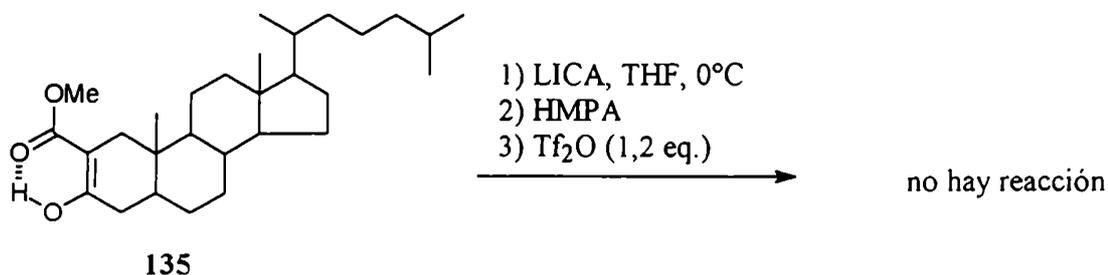


Figura 19. Espectro HETCOR del cetoéster 135.

Un método muy utilizado para la preparación de triflatos vinílicos consiste en la utilización de bases como LDA en THF a -78°C para generar regioespecíficamente un enolato metálico que luego es capturado por reacción con N-feniltriflimida [Lee, 1990; Brückner, 1991]. Las desventajas de este método son la baja reactividad de la N-feniltriflimida y la formación de subproductos de difícil separación [Comins, 1992].

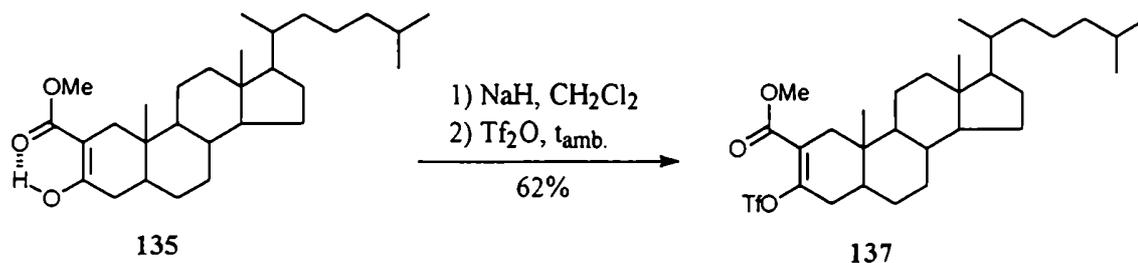
Se prefirió entonces, utilizar anhídrido triflico para capturar el enolato formado [Garcia Martinez, 1992]. Se empleó LICA para generar el enolato del compuesto *135*. Sin embargo, pese a variar la temperatura de reacción con el anhídrido triflico desde -50°C a temperatura ambiente, no se observó la formación del producto deseado.



Dado que una causa para la falta de reactividad observada podría ser que la amina liberada luego de la formación del enolato consumiera el anhídrido triflico, se emplearon hasta 5 equivalentes de reactivo pero, aun así, no se obtuvo producto alguno. Estos resultados se atribuyeron a la posible reacción entre el anhídrido triflico y el THF utilizado como solvente para dar compuestos como el ditriflato *136* o productos de polimerización [Stang, 1982].



Finalmente, se optó por utilizar hidruro de sodio como base empleando diclorometano como solvente. En estas condiciones se obtuvo, luego de 12 hs. de reacción, el triflato vinílico *137* con 62% de rendimiento. La lentitud de la reacción se atribuyó a las condiciones heterogéneas empleadas para la formación del enolato.



La introducción del trifluorometansulfonato se comprobó por la aparición, en el espectro de RMN-¹³C, de un cuarteto a 118,3 ppm con constante de acoplamiento de 320 Hz debido al grupo CF₃. El espectro de RMN-¹³C de *137* se presenta en la **Figura 20**.

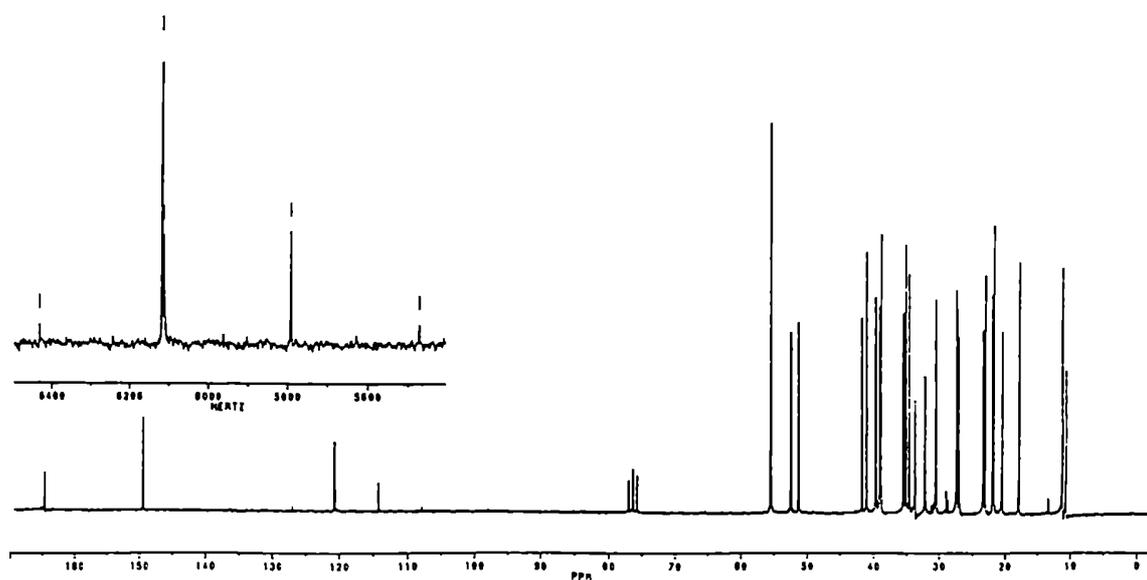
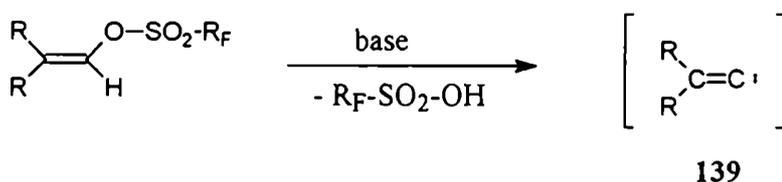
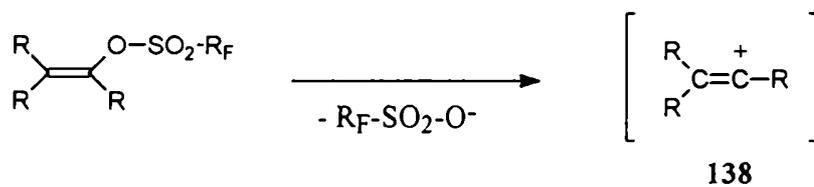


Figura 20. Espectro de RMN-¹³C del viniltriflato *137* (200 MHz).

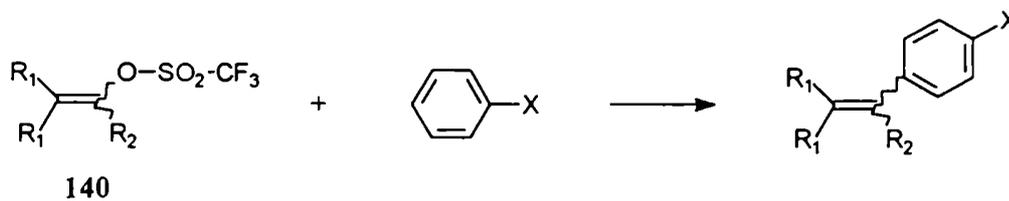
La asignación de las señales de C6, C16, C1 y C4 se realizó sobre la base del espectro HETCOR (correlación C-H a un enlace) en forma similar a la descrita para el compuesto *135*.

Los perfluoroalcanosulfonatos vinílicos han sido utilizados principalmente para generar cationes vinílicos (*138*) o vía eliminación α , carbenos como *139* [Stang, 1982].

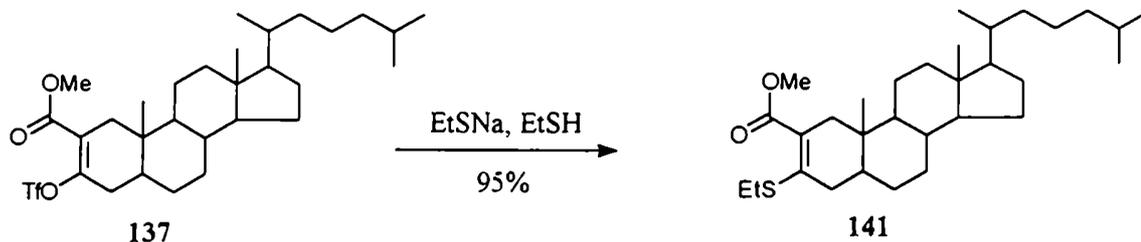


Estudios sobre solvólisis de triflatos vinílicos en solventes de diferente nucleofilidad [Imhoff M.A., 1970; Summerville, 1974] revelaron que estas reacciones no ocurren por un mecanismo S_N2 sino vía pares iónicos con cationes vinílicos.

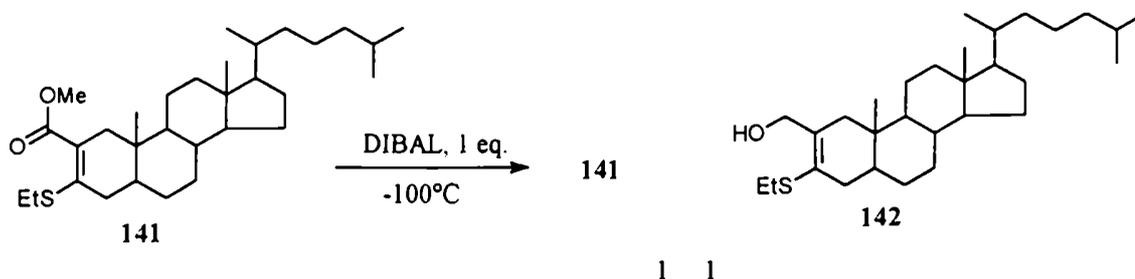
Triflatos vinílicos como *140*, que no pueden sufrir eliminación α , fueron utilizados en reacciones de alquilación de compuestos aromáticos vía cationes vinílicos como intermediarios electrofílicos [Stang, 1978].



Teniendo en cuenta los antecedentes descritos y el empleo mencionado anteriormente, de reactivos organometálicos para lograr la síntesis de olefinas sustituidas a partir de triflatos vinílicos se supuso que, si bien el etanotiol o el anión tioetóxido no son nucleófilos comparables a un compuesto organometálico, en el caso de generar un catión vinílico a partir de **137**, éste podría ser atrapado por una especie como el anión tioetóxido. La reacción entre **137** y tioetóxido de sodio se efectuó utilizando etanotiol como solvente de reacción para evitar cualquier otra especie nucleofílica en el medio de reacción que pudiera reaccionar con un catión vinílico en C3. El anión tioetóxido se generó por reacción entre etanotiol y sodio metálico. En estas condiciones, se obtuvo el compuesto **141** con 95% de rendimiento. No se detectó la formación de productos por reacción sobre el grupo éster



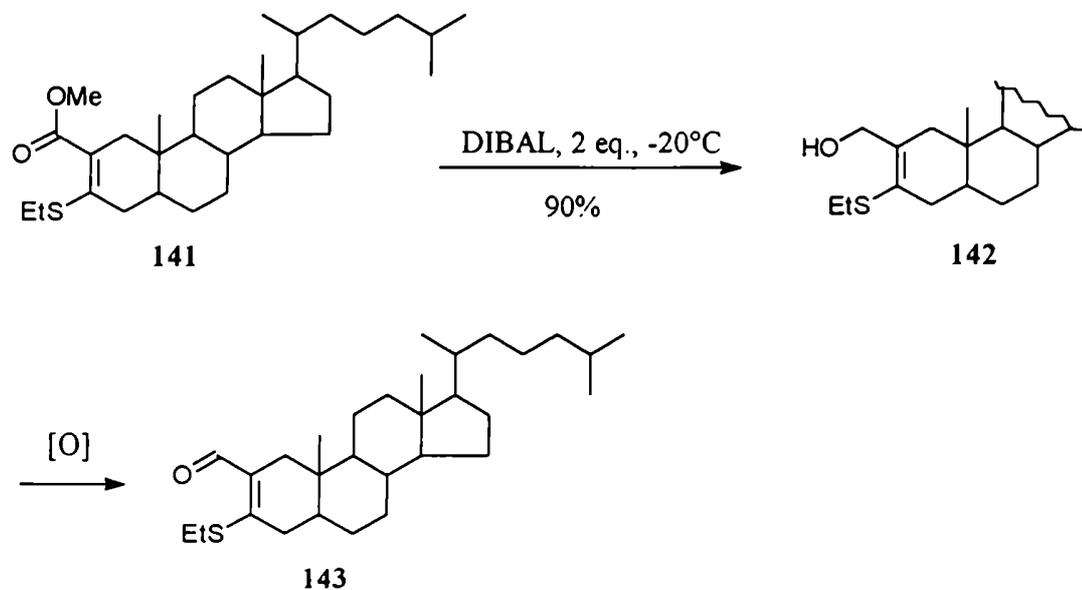
La etapa siguiente en la ruta sintética consistía en la reducción del éster metílico **141** al aldehído **143**. En primer lugar se ensayaron las condiciones clásicas para este tipo de transformación, utilizando una solución recientemente preparada de DIBAL en tolueno [Stevens, 1975; de Lazslo, 1985; Garner, 1987]. La utilización de un equivalente de reactivo a -78°C , en 30 minutos de reacción dio como resultado una mezcla del producto de partida y del correspondiente alcohol alílico **142** en relación 1:1. Los resultados no variaron aun realizando la reacción a -100°C .



Se decidió utilizar otro agente reductor. Luego de evaluar distintos reactivos usualmente empleados para efectuar esta transformación [Larock, 1989] se optó por emplear hidruro de litio y aluminio/dietilamina en pentano como solvente [Cha, 1987]. La metodología desarrollada por Cha y colaboradores se basa en que si bien el hidruro de aluminio y litio posee cuatro equivalentes de hidruro suficientemente fuertes para reducir un grupo ester al alcohol correspondiente en presencia de exceso de dietilamina, solo un equivalente de hidruro queda disponible para la reducción mientras que los otros tres (AlH_3) se mantienen formando un complejo estable alano-amina que precipita de la solución de pentano en que se realiza la reacción.

Al reproducir las condiciones de literatura se observó que la reacción no progresaba debido probablemente, a la baja solubilidad del ester metílico **141** en pentano. Se utilizó una solución diluida del esteroide y se realizó la reacción a 35°C en tubo cerrado a fin de mantener disuelto el compuesto de partida. Sin embargo, los resultados no variaron.

Fue necesario entonces, emplear dos equivalentes de DIBAL para obtener el alcohol alílico **142** que luego sería oxidado al aldehído **143**.



En el espectro de RMN-¹H del compuesto **142** (Figura 21) se observó la señal correspondiente al metileno de C2' como dos dobletes centrados a 4,24 ppm y 4,31 ppm con una constante de acoplamiento de 12,3 Hz (sistema AB fuertemente acoplado). Además, las señales correspondientes al grupo CH₃CH₂S, se habían desplazado a campos altos al pasar del ester **141** (CH₃ a 1,26 ppm y CH₂S a 2,80 ppm) al alcohol **142** (CH₃ a 1,20 ppm y CH₂S a 2,66 ppm) debido a la anisotropía del grupo carbonilo en **141**.

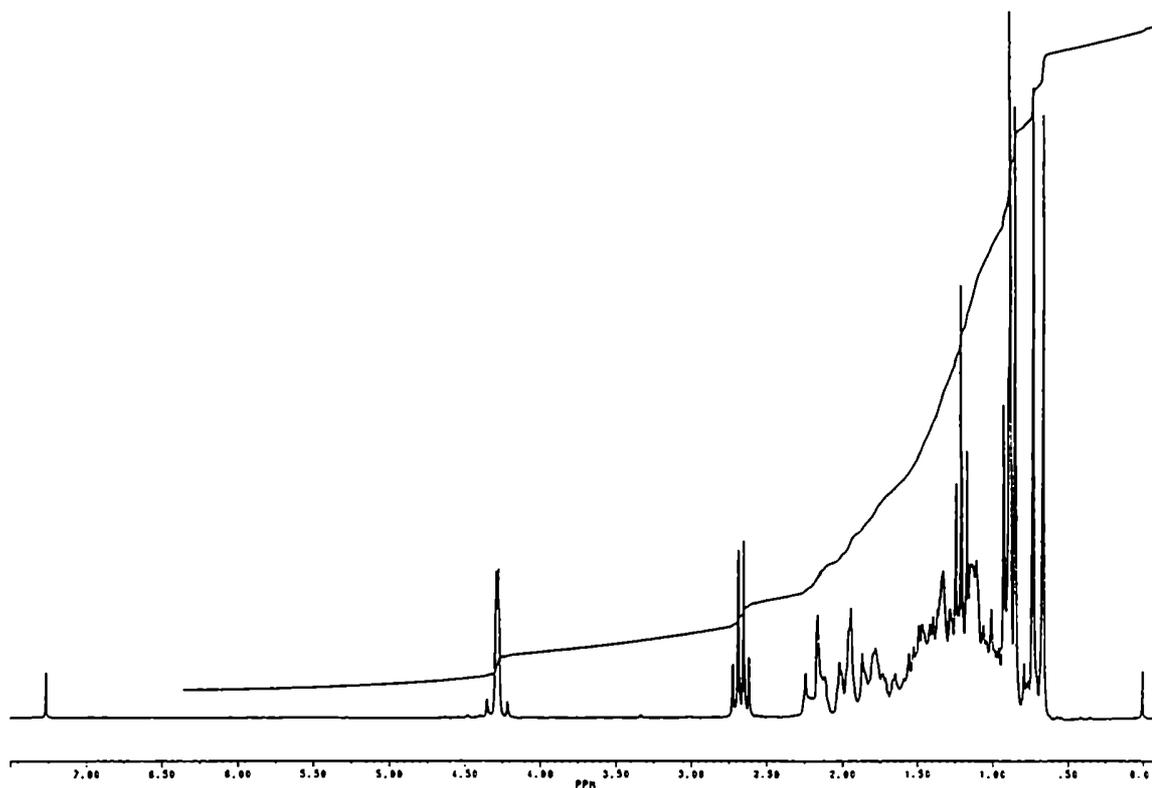
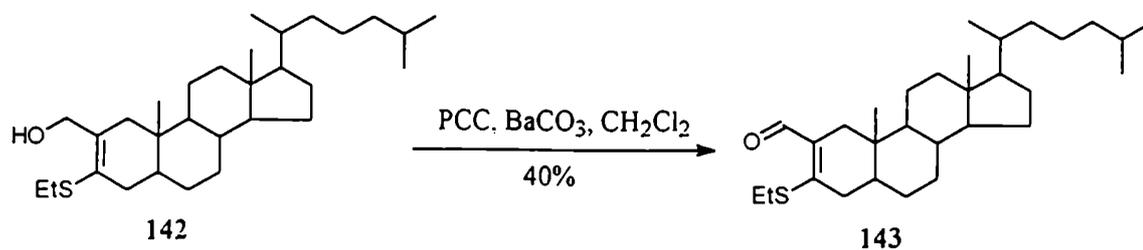


Figura 21. Espectro de RMN-¹H del alcohol alílico **142** (200 MHz).

La oxidación al aldehído α,β insaturado **143** se realizó utilizando PCC en presencia de carbonato de bario para modificar el carácter levemente ácido del reactivo [Corey, 1975]. En estas condiciones se obtuvo el aldehído **143** con 40% de rendimiento debido a la formación de distintos subproductos. Al efectuar la reacción a temperaturas entre -78°C y 0°C no se lograron mejoras importantes (solo disminuía la velocidad de reacción).



Con el objeto de mejorar el rendimiento obtenido, se intentaron distintas modificaciones descritas en literatura. En primer lugar se ensayó el agregado de tamices moleculares de 3Å al medio de reacción [Herscovici, 1980] sin obtenerse mejoras apreciables.

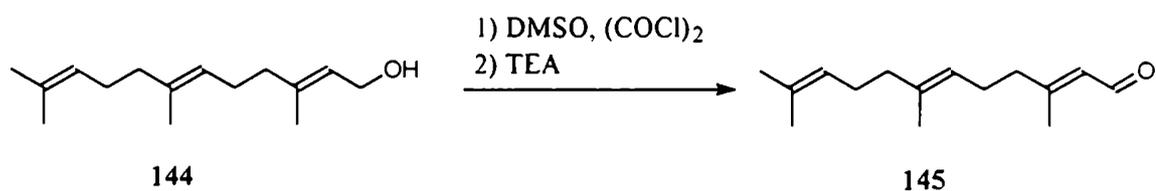
Parish y colaboradores informaron la oxidación selectiva de alcoholes alílicos esteroideos secundarios con rendimientos que variaban entre 82% y 92% empleando PCC en diclorometano conteniendo 2% de piridina u otras aminas aromáticas. Las reacciones se efectuaban a 2-3°C durante 30 minutos [Parish, 1980 y 1984].

Al ensayar estas condiciones sobre el alcohol alílico primario **142**, el rendimiento no mejoró aun utilizando PCC recientemente preparado según la técnica descrita por Agarwal y colaboradores [Agarwal, 1990].

Se pensó que los bajos rendimientos obtenidos podrían deberse a la formación de productos de sobreoxidación en el grupo tioalquilo. Se intentó entonces, la utilización de PDC como agente oxidante ya que había resultado más efectivo que el PCC en la oxidación de alcoholes con grupos funcionales azufrados en su estructura [Corey, 1979]. Sin embargo, los resultados obtenidos con el compuesto **142** fueron similares con ambos oxidantes.

Considerando estos resultados, se decidió emplear una oxidación en fase homogénea, utilizando como oxidante DMSO y un activante adecuado. Analizando los resultados descritos con el empleo de distintos activantes [Omura, 1978], se optó por dos de ellos: anhídrido trifluoroacético [Omura, 1976] y cloruro de oxalilo [Mancuso, 1978].

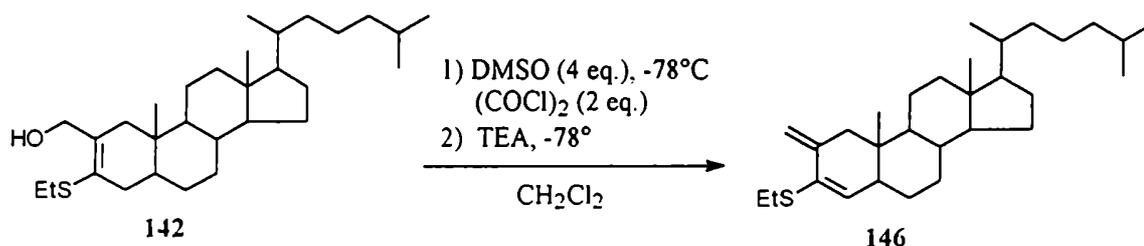
Las condiciones de reacción se optimizaron utilizando el alcohol alílico primario **144** como compuesto modelo. La reacción se monitoreó por espectroscopía de RMN-¹H.



Se optimizaron las siguientes variables:

- La relación oxidante:alcohol alílico. Esta dependía de la temperatura a la cual se efectuaba la reacción (-78°C o -10°C). A -10°C la especie DMSO-activante se destruye parcialmente y por lo tanto se recomienda emplear exceso de reactivo (2 equivalentes) si se trabaja a esta temperatura [Mancuso, 1978]. Los mejores resultados sobre el compuesto modelo **144** se obtuvieron realizando la reacción a -78°C empleando 2 equivalentes de cloruro de oxalilo y 4 equivalentes de DMSO (relación **145:144** 20:1).
- El solvente de reacción. Se utilizó diclorometano puro o diclorometano:DMSO 1:1. Los mejores resultados se obtuvieron empleando el primer solvente.
- La temperatura de agregado de la trietilamina. Se ensayó a -78°C y -10°C sin observar variaciones importantes.

Al aplicar estas condiciones para la oxidación del alcohol alílico esteroidal **142** no se obtuvo el aldehído deseado sino un producto derivado de la deshidratación del mismo.



La estructura del compuesto **146** se estableció sobre la base de sus datos espectroscópicos.

En su espectro de masa, la señal a mayor valor de m/z se encontraba a 442 unidades, indicando la pérdida de agua. En el espectro de RMN-¹H se observaron tres singuletes anchos en la zona de hidrógenos vinílicos, que integraban para un hidrógeno cada uno. Si

bien se observó un triplete a 1,24 ppm que correspondía al grupo tioetilo ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$), los hidrógenos metilénicos de dicho grupo se observaron como un multiplete complejo a 2,67 ppm. Esta señal se mantenía aún luego de purificar el compuesto por cromatografía en capa preparativa. Se realizó un espectro HETCOR (correlación a un enlace H-C) con desacople en la dimensión F_1 (^1H) (**Figura 22**) [Bax, 1983]. Esta técnica tiene la ventaja que permite eliminar en la dimensión F_1 todos aquellos acoplamientos H-H que no sean geminales y por lo tanto las señales se observan como singuletes o, en el caso de existir acoplamientos geminales, como dobletes. Este hecho hace que la técnica sea mucho más sensible permitiendo obtener espectros con menor cantidad de muestra o en menor tiempo. Al registrar dicho espectro se observó que los hidrógenos a 2,67 ppm correlacionaban únicamente con el carbono a 26,7 ppm y por lo tanto correspondían efectivamente al grupo $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ y no a una impureza. La multiplicidad, a primera vista inesperada, para esta señal se debía a la no equivalencia de dichos hidrógenos por efecto del entorno quiral del esqueleto esteroideal. Se decidió realizar una simulación para el sistema ABX_3 del grupo tioetilo conociendo el desplazamiento químico para la señal del metilo (1,24 ppm) y el valor de la constante de acoplamiento entre los hidrógenos metilénicos y los hidrógenos del grupo metilo (7,4 Hz). Utilizando, para los hidrógenos del grupo CH_2S , valores de desplazamiento químico de 2,66 ppm y 2,69 ppm y una constante de acoplamiento geminal de 13 Hz, se obtuvo un patrón de señales que concordaba muy bien con la señal observada en el espectro. Para la simulación del espectro se utilizó el programa "PMR Spectrum Simulator" (puede utilizarse para un máximo de 8 spins) desarrollado por M. Saunders de Yale University (E.E.U.U) y K.E. Gilbert y J.J. Gajewski de Indiana University (E.E.U.U.). El espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ del compuesto **146** se presenta en la **Figura 23**, La señal obtenida por simulación se presenta en la **Figura 24**. El listado de frecuencias observadas para cada línea, junto con las obtenidas por simulación del espectro se indican en la **Tabla 9** (las diferencias entre ambos valores son menores de 1 Hz).



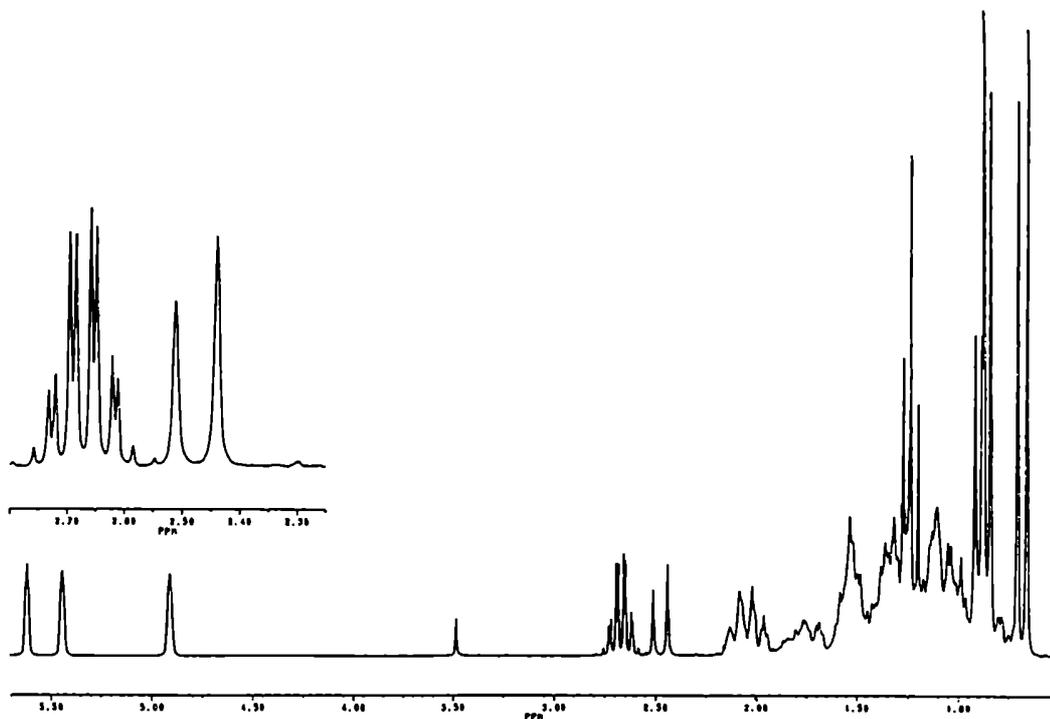


Figura 23. Espectro de RMN-¹H del dieno 146 (200 MHz).

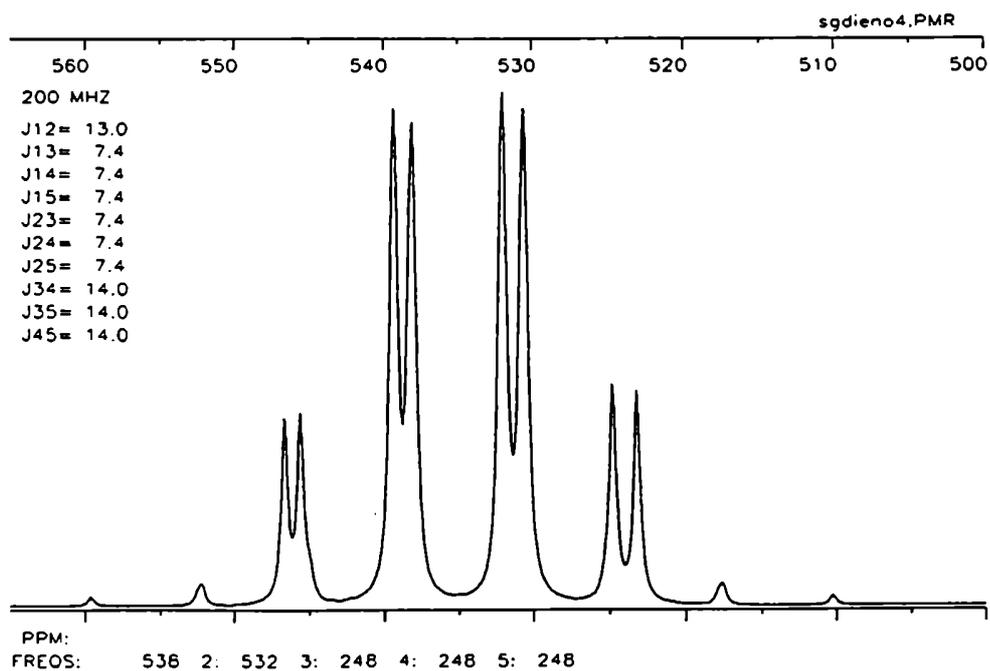


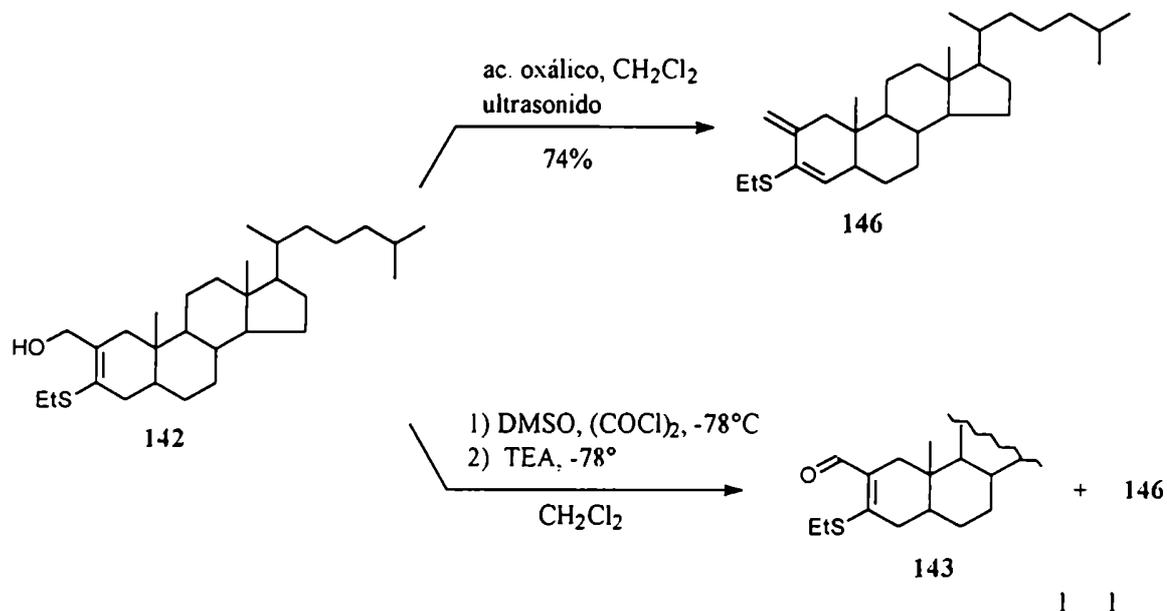
Figura 24. Señal obtenida por simulación para el grupo $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ en el dieno 146.

Tabla 9. Comparación entre los valores de frecuencias observados en el espectro RMN-¹H del dieno **146** y los obtenidos por simulación.

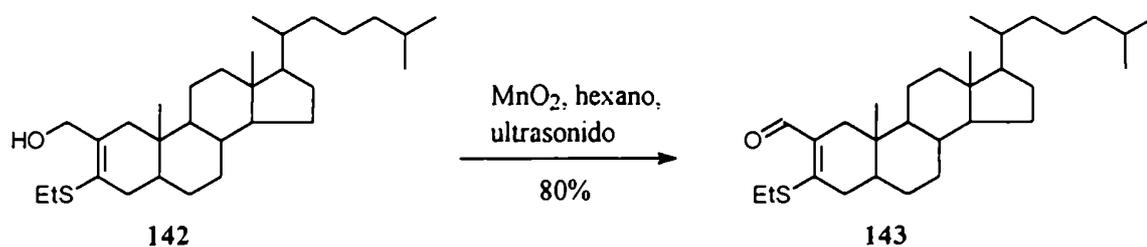
Frecuencias observadas	Frecuencias obtenidas por simulación
510,0	510,3
517,3	517,6
522,5	523,3
524,5	524,8
529,8	530,6
531,9	532,0
537,1	538,1
539,3	539,4
544,4	545,7
546,8	546,8
551,8	552,4
559,3	559,8

El espectro HETCOR con desacople en la dimensión F_1 de **146** permitió la asignación de las señales de los hidrógenos vinílicos en el espectro de RMN-¹H y la asignación de los carbonos de CH₃CH₂S, C6 y C1 en el espectro de RMN-¹³C

Teniendo en cuenta que por irradiación con ultrasonido de una solución del alcohol alílico **142** en presencia de ácido oxálico se obtuvo el compuesto **146** con 74% de rendimiento, se pensó que el cloruro de oxalilo utilizado para la reacción de oxidación podría haberse hidrolizado parcialmente. Sin embargo, al utilizar cloruro de oxalilo recientemente destilado, se obtuvieron los compuestos **143** y **146** en relación 1:1.



Por último, se ensayó la utilización de dióxido de manganeso como agente oxidante. El reactivo se preparó por reacción entre permanganato de potasio y sulfato de manganeso (II) según la técnica descrita por Mancera y colaboradores [Mancera, 1953]. Al realizar la reacción en las condiciones usuales utilizando hexano [Hoeger, 1987] o cloroformo [Walborsky, 1987] como solventes, se recuperó el alcohol alílico de partida. Los resultados variaron drásticamente al someter la mezcla de reacción a la acción de ultrasonido [Kimura, 1988]. En estas condiciones se obtuvo el compuesto **143** con 80% de rendimiento.

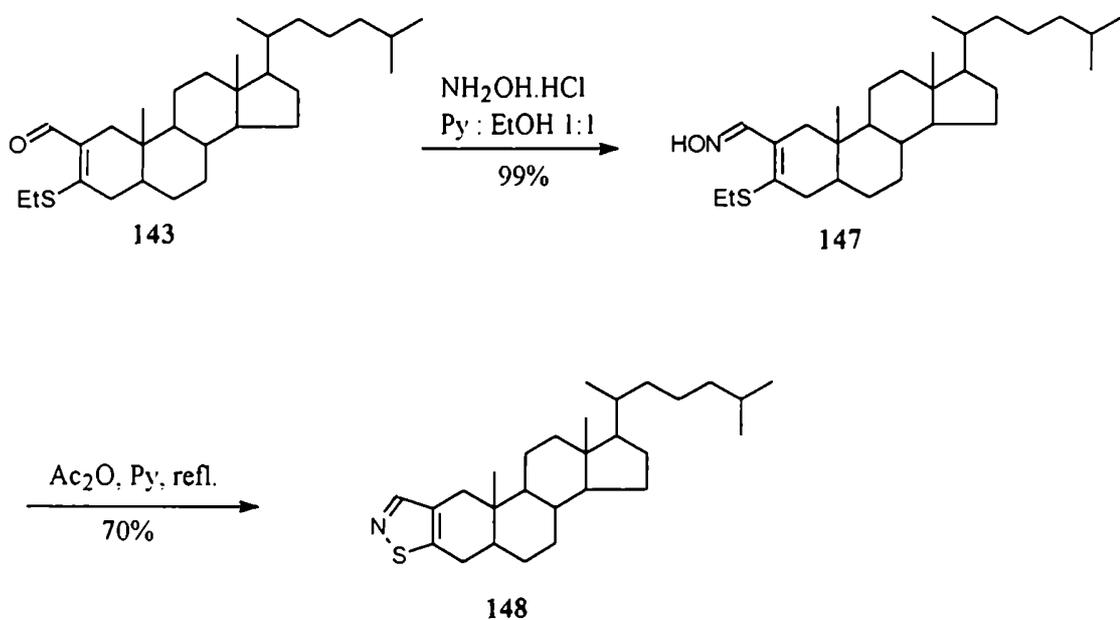


En el espectro de RMN-¹H del compuesto **143** se observaron las señales correspondientes al grupo CH₃CH₂S como un triplete a 1,27 ppm y un cuarteto a 2,84 ppm.

Se observó un desplazamiento de estas señales a campos bajos debido al efecto anisotrópico del grupo carbonilo. Los hidrógenos metilénicos a 2,84 ppm resultaron equivalentes entre sí.

La preparación de la oxima derivada de **143** se llevó a cabo utilizando clorhidrato de hidroxilamina en etanol:piridina 1:1 como solvente [McKinnon, 1988]. La reacción se completó luego de 20 minutos a temperatura ambiente.

Por tratamiento de la oxima **147** con anhídrido acético en piridina a reflujo se obtuvo el 5 α -colestano [2,3-d] isotiazol (**148**) con 70% de rendimiento.



En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **148** (Figura 25) se observó la desaparición de las señales del grupo tioetilo y la aparición de un singulete a 8,16 ppm que correspondía al hidrógeno 2' del heteroanillo aromático (en el caso del isoxazol **52**, análogo de **148** esta señal aparecía a 8,08 ppm) y la señal correspondiente a Me-19 a 0,74 ppm (igual valor de desplazamiento químico que en el análogo oxigenado **52**).

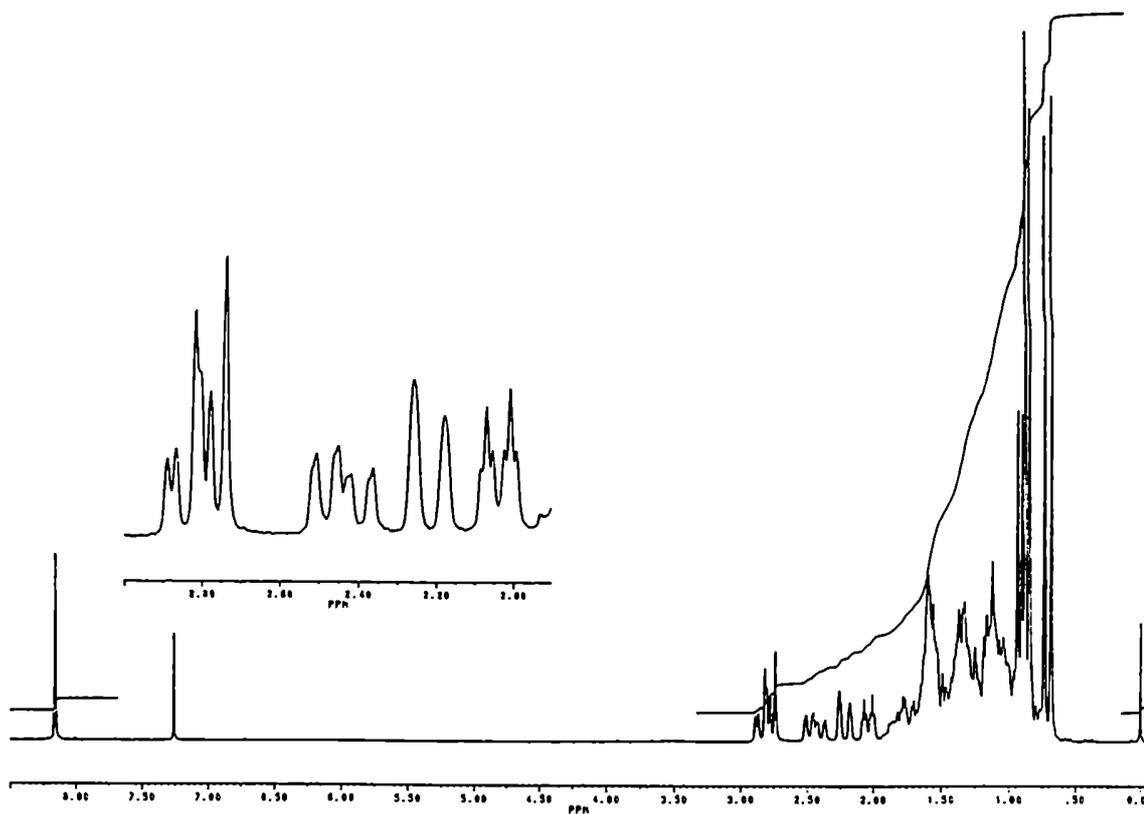
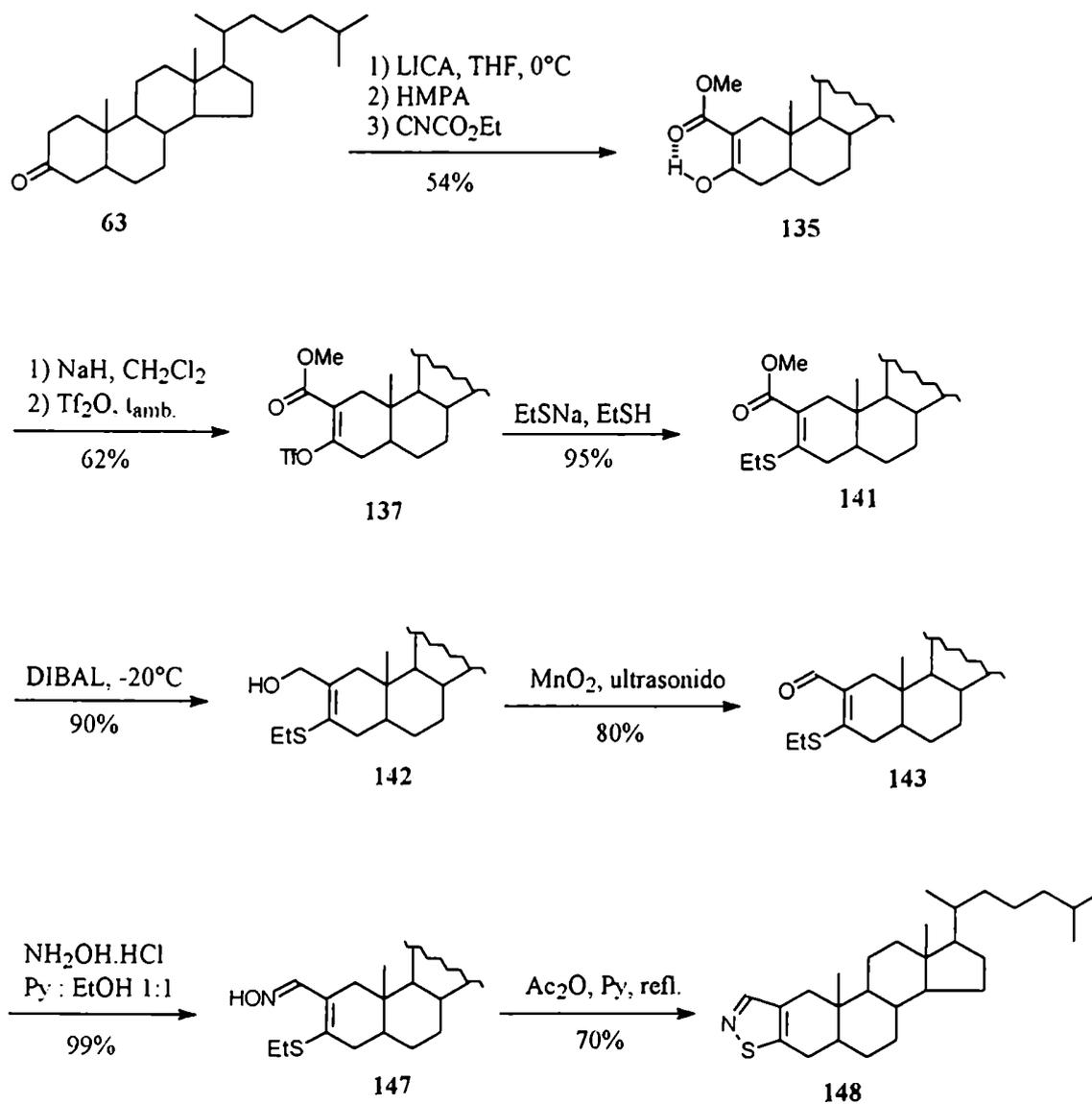


Figura 25. Espectro de RMN-¹H (200 MHz) del 5 α -colestan [2,3-d] isotiazol (*148*).

La finalización exitosa de este camino sintético permitió la preparación del primer compuesto esteroidal con un anillo isotiazolínico fusionado a anillo A.

La ruta sintética para *148* a partir de *63* se indica en el Esquema 12.

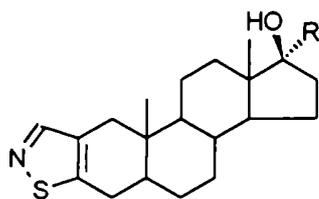
Esquema 12. Síntesis del 5 α -colestan [2,3-d] isotiazol (**148**).

Capítulo 3

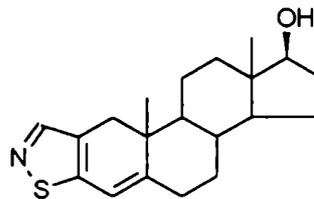
17 β -hidroxi [2,3-d] isotiazoles

Introducción:

En el presente capítulo se detallan los aspectos salientes al encarar la síntesis de los 17β-hidroxi [2,3-d] isotiazoles esteroidales **149** y **150** y se discuten las variantes realizadas sobre la metodología descrita en el capítulo anterior.



- 149**
- a R = H
 - b R = Me
 - c R = C≡CH
 - d R = CH=CH₂
 - e R = CH₂CH₃



150

En los casos de interés, se analizarán las características espectroscópicas (RMN) de los compuestos sintetizados.

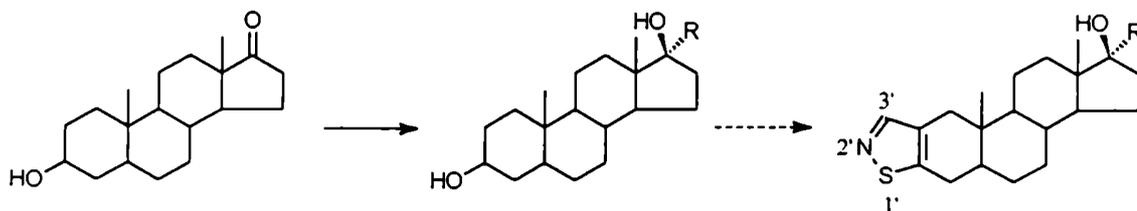
Descripción del Trabajo Realizado:

La síntesis de isotiazoles con un sustituyente en posición 17α (**149b-e**) podía efectuarse de acuerdo a dos alternativas. Teniendo en cuenta la inestabilidad de los anillos isoxazolinicos con la posición 3' libre frente a ciertos reactivos organometálicos [Kumar, 1989 y 1992] y, dado que no existen datos sobre la estabilidad de anillos isotiazolinicos frente a este tipo de reactivos, podría ser conveniente introducir la cadena lateral en C17 previo a la construcción del heteroanillo (ruta A, **Esquema 13**). El inconveniente de esta

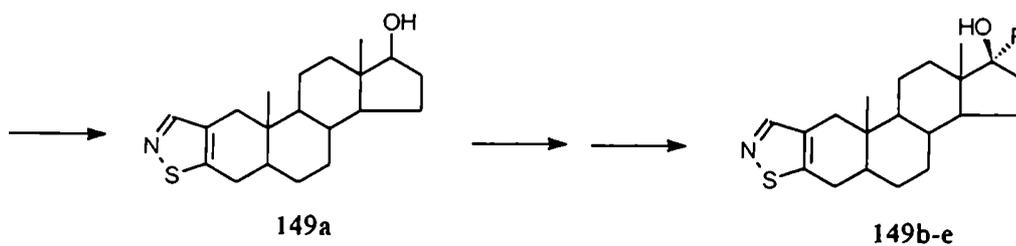
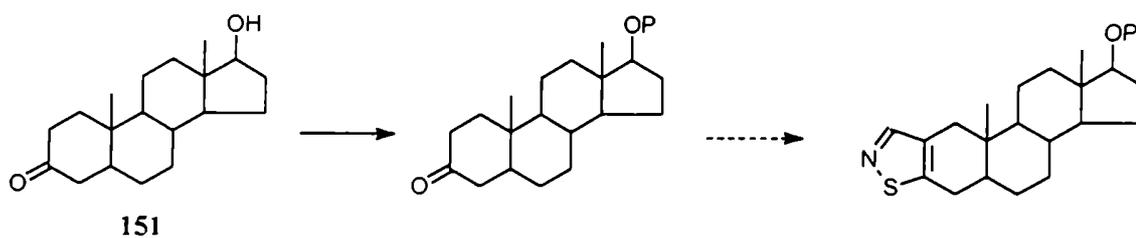
estrategia era la necesidad de realizar una síntesis independiente para el caso de cada sustituyente en C17. Con esta estrategia se introducía un grupo hidroxilo terciario en las primeras etapas del camino sintético que podría dar lugar a reacciones laterales.

La segunda alternativa consistía en utilizar la hidroxicetona *151* como material de partida, proteger la función oxigenada en C17 y posteriormente construir el anillo isotiazolinico fusionado al esqueleto esteroideal. De este modo se lograría sintetizar el compuesto *149a*. Por oxidación del grupo hidroxilo en C17 se obtendría un sustrato adecuado para intentar la introducción de la cadena lateral por reacción con un reactivo organometálico adecuado (ruta B, **Esquema 13**). La ventaja de esta estrategia era que permitía sintetizar uno de los isotiazoles deseados (*149a*) sin presentar, en un primer análisis, inconvenientes importantes.

Ruta A:



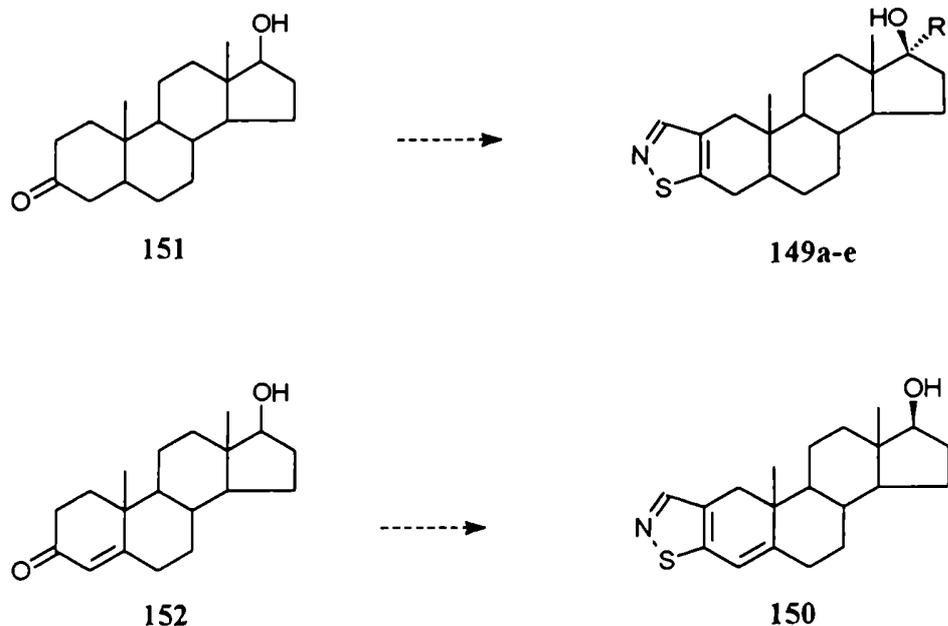
Ruta B:



P = grupo protector

Esquema 13. Diferentes estrategias para la síntesis de [2,3-d] isotiazoles 17α sustituidos.

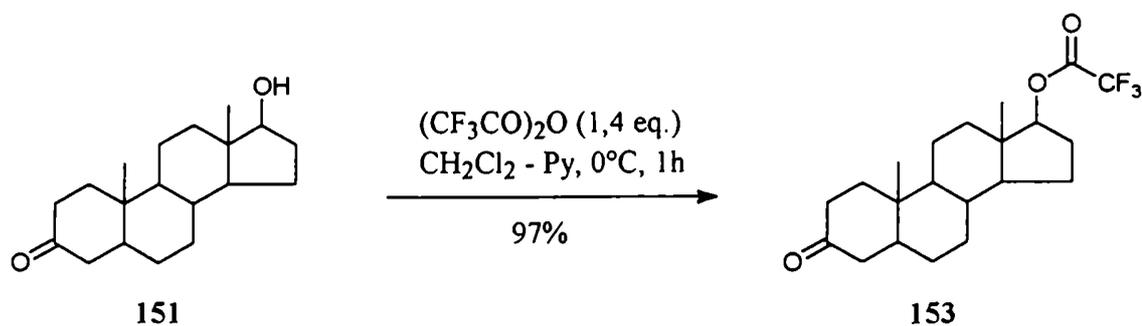
Se decidió emplear la segunda estrategia sintética descrita (ruta B, **Esquema 13**) utilizando como sustratos la 5α-androstan-17β-ol-3-ona (151) y la 4-androsten-17β-ol-3-ona o testosterona (152).



En primer lugar, era necesario encontrar un grupo protector adecuado para la función 17 β -hidroxi resistente a los distintos pasos de síntesis necesarios para la construcción del heterociclo.

Se decidió ensayar un trifluoroacetato como grupo protector. A semejanza de un acetato, la introducción y posterior remoción de este grupo eran muy simples y procedían con elevados rendimientos. Además, debido a la ausencia de hidrógenos en posición alfa al carbonilo del éster, no habría inconvenientes para la utilización de bases fuertes en etapas posteriores de la síntesis, para generar el enolato derivado de la cetona en C3.

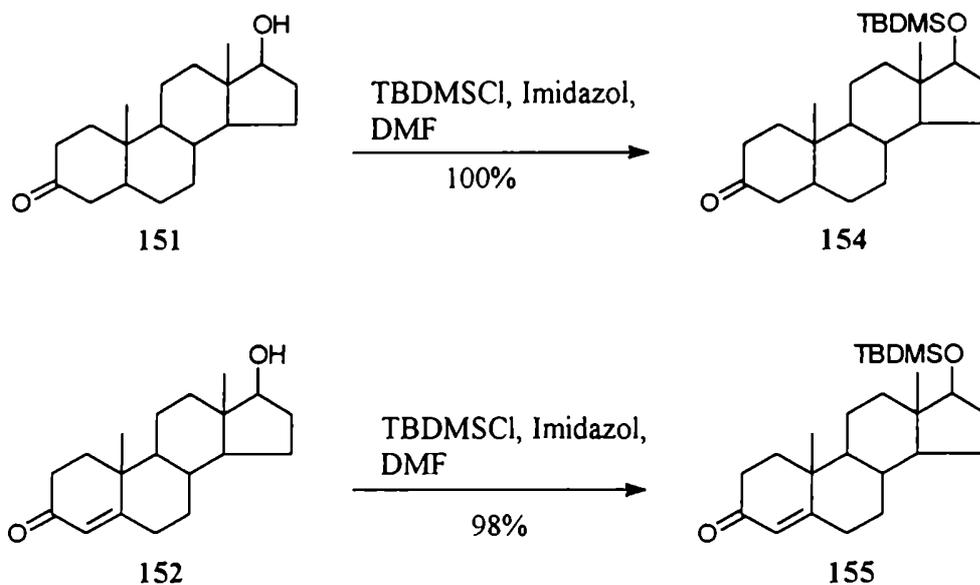
La protección del grupo hidroxilo en **151** se llevó a cabo con excelente rendimiento utilizando anhídrido trifluoroacético en diclorometano:piridina 3:1 [Christiansen, 1990].



Sin embargo, al intentar la introducción del grupo carboxilato de metilo unido a C2, los resultados fueron adversos. Durante la formación del enolato derivado de *153*, empleando LICA a 0°C como base, se producía un precipitado en el medio de reacción. Esto podía deberse a la desprotección del grupo hidroxilo y formación de un dianión insoluble. Al cortar la reacción, luego del agregado de cianoformiato de metilo, se observó la formación de múltiples productos. Se intentó la formación del enolato a -78°C pero los resultados fueron similares.

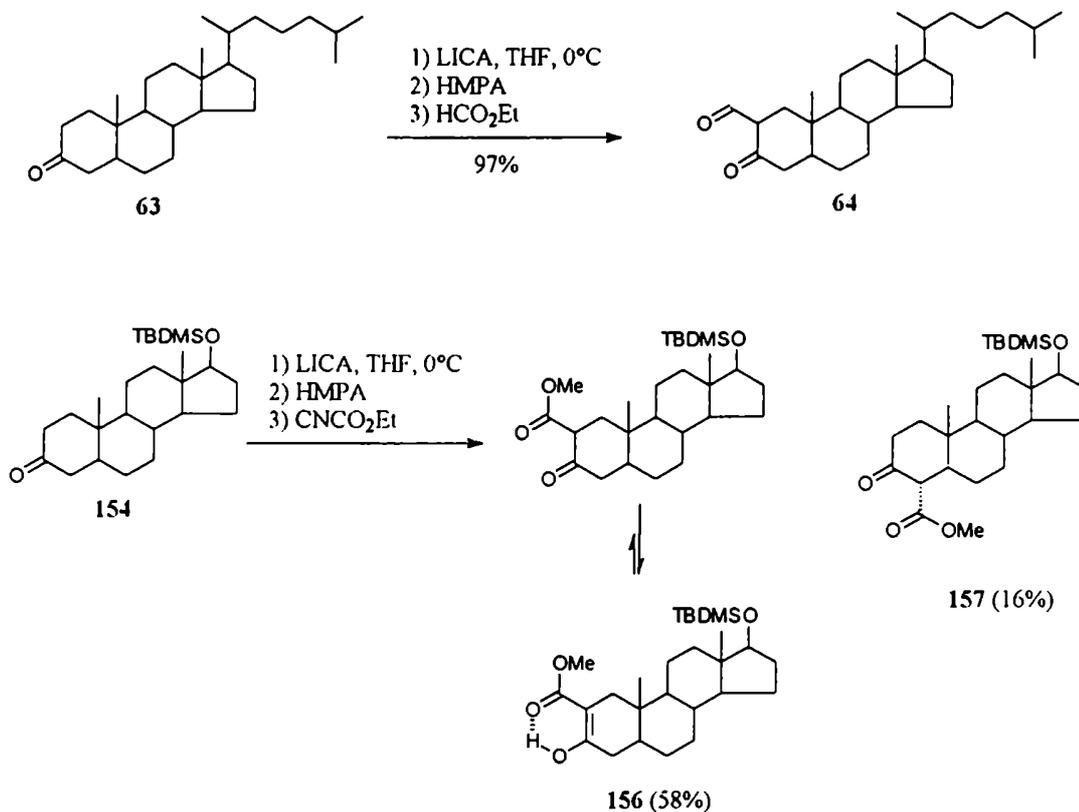
Se intentó la formación de un MEM éter en C17. Se utilizaron condiciones básicas (hidruro de sodio para generar el alcóxido correspondiente que es atrapado por reacción con MEMCl) o neutras (tratamiento con $\text{Et}_3\text{N}^+\text{MEMCl}^-$ en acetonitrilo) [Corey, 1976] sin embargo no se obtuvieron resultados satisfactorios para la reacción de protección.

Finalmente se logró la protección eficiente del grupo hidroxilo transformándolo en el *t*-butildimetilsililéter correspondiente [Hosoda, 1973]. Este grupo protector sería estable frente a los distintos reactivos necesarios para la construcción del heterociclo [Greene, 1991] y posteriormente podría ser removido en condiciones suaves ya sea ácidas ($\text{HAcO}:\text{H}_2\text{O}:\text{THF}$) [Hosoda, 1973], básicas (fluoruro de tetrabutilamonio en THF) [Corey, 1974] o neutras (alúmina neutra, alúmina neutra con irradiación de microondas) [Feixas, 1992; Varma, 1993]. La reacción se realizó sobre los compuestos *151* y *152* con excelentes rendimientos.

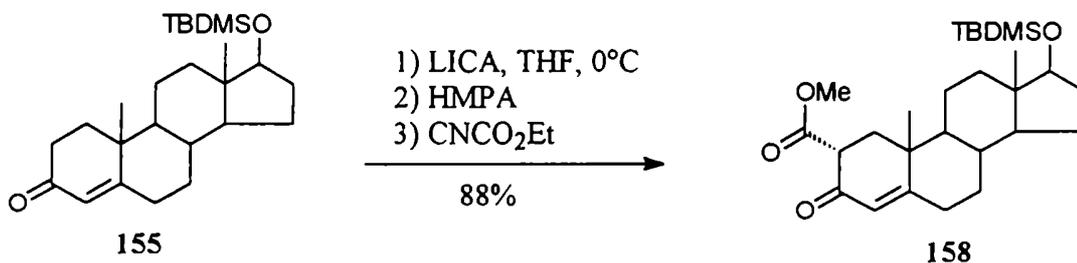


La primera etapa para la construcción del heteroanillo involucra la introducción del grupo carboxilato de metilo unido a C2 por reacción del enolato correspondiente con cianoformiato de metilo para lograr la C-acilación del mismo.

Al efectuar la reacción sobre la cetona saturada **154** se obtuvo el ceto éster **156** con 58% de rendimiento. Como producto secundario de la reacción, pudo aislarse el regioisómero **157** con 16% de rendimiento. Para minimizar la formación de **157**, se repitió la reacción generando el enolato derivado de la cetona **154** a -78°C . Sin embargo, no se obtuvieron mejoras importantes. Este hecho contrastaba con la buena regioselectividad observada en la reacción del enolato de la 5 α -colestano (63) con formiato de etilo como electrófilo (ver Capítulo 1).



Las mismas condiciones de reacción se aplicaron sobre la enona **155**. Al analizar por c.c.d. el crudo de reacción se observó un único compuesto con igual valor de R_f que el material de partida. Sin embargo, al analizar los espectros de RMN-¹H y ¹³C se comprobó que se trataba del cetoéster **158**.



Los compuestos **156**, **157** y **158** son estructuras de tipo 1,3-dicarbonílico y por lo tanto pueden existir como formas ceto o como enoles.

Analizando los datos espectroscópicos del compuesto *156* se comprobó que, al igual que en el colestano *135* sintetizado previamente, el grupo ceto en C3 se encontraba enolizado hacia C2. En su espectro de RMN-¹H se observó el hidrógeno enólico a 12,07 ppm y en el espectro de RMN-¹³C se observaron señales a 173,3 ppm; 170,9 ppm y 96,3 ppm que, sobre la base de la asignación de los espectros del compuesto *135*, correspondían a C2', C3 y C2 respectivamente. De aquí en adelante, al hacer referencia al compuesto *156* se indicará la estructura del enol correspondiente.

En el caso del compuesto *157*, no se observó ningún hidrógeno por encima de 4 ppm en el espectro de RMN-¹H. En cambio, se observó un doblete a 3,26 ppm con una constante de acoplamiento de 12,9 Hz. Esta señal correspondía al H-4 que presentaba un acoplamiento diaxial con el H-5α y por lo tanto el β-cetoéster se encontraba en su forma dicarbonílica y el sustituyente en C4 debía ser ecuatorial. Los datos del espectro de RMN-¹³C confirmaban esta afirmación pues se observaron un carbonilo de cetona a 205,4 ppm (C3), un carbonilo de éster a 170,1 ppm y un metino a 59,6 ppm que correspondía a C4 sobre la base de la correlación observada en el espectro HETCOR (C-H), con desacople en la dimensión F₁ (¹H), con el hidrógeno a 3,26 ppm (H-4).

Para la asignación del espectro de RMN-¹³C de *157* se utilizó el espectro HETCOR mencionado anteriormente. De acuerdo al mismo, pudieron identificarse fácilmente las siguientes señales: C2 a 37,3 ppm (correlaciona con los hidrógenos de 2-CH₂ a 2,42 ppm), MeO a 51,5 ppm (correlaciona con los hidrógenos de OCH₃ a 3,74 ppm) y C4 a 59,6 ppm (correlaciona con H-4 a 3,26 ppm). Restaba asignar las señales a 30,7 ppm y 30,8 ppm (C16 y C7) y a 36,8 ppm y 37,7 ppm (C12 y C1).

Sobre la base de los datos espectroscópicos del Danazol (*7*) (Tabla 5, Capítulo 1) y teniendo en cuenta el valor de desplazamiento químico observado para los hidrógenos de CH₂-7 en el espectro HETCOR del compuesto *135* (Figura 19, Capítulo 2), se asignó la señal a 30,8 ppm a C7. Las señales de C12 y C1 se asignaron tentativamente a 36,8 ppm y

37,7 ppm respectivamente. Esta asignación se confirmó, posteriormente, teniendo en cuenta el valor de desplazamiento químico de los hidrógenos de CH_2 -12 obtenidos a partir del espectro HETCOR del compuesto **164** sintetizado posteriormente. Los valores de δ (ppm) de los carbonos e hidrógenos que posibilitaron esta asignación se indican en la **Tabla 10**.

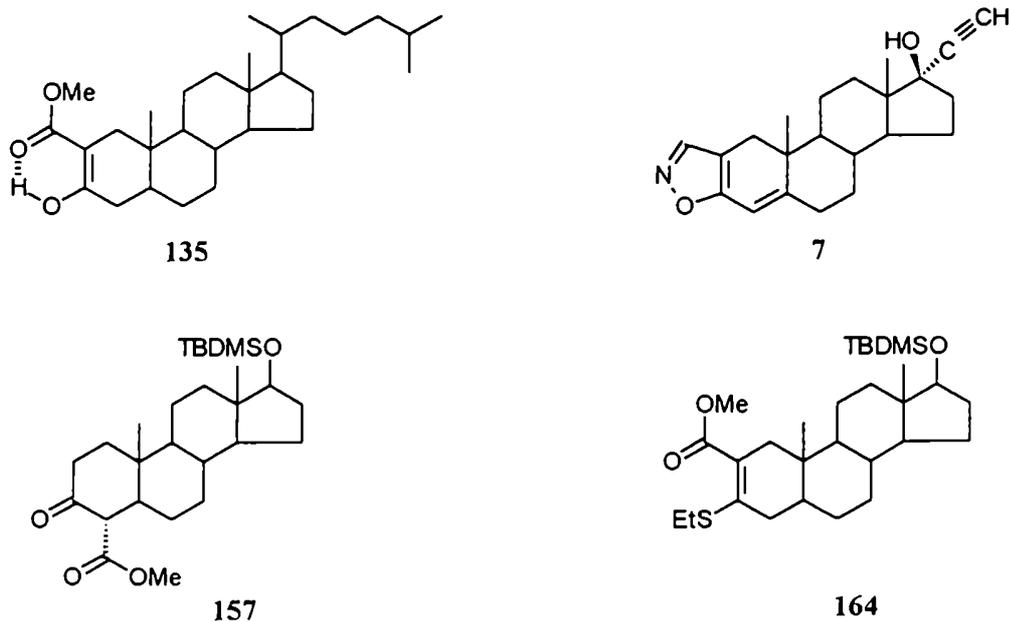


Tabla 10. Valores de desplazamiento químico para C e H que posibilitaron la asignación de los espectros del cetoéster **157**.

Comp.	135		7		157		164	
	C	H	C	H	C	H	C	H
1					37,7	1,40 1,97		
7	31,5	0,90 1,68	30,7	1,05 1,78	30,8	0,90 1,70		
12					36,8	1,00 1,70	37,1	1,00 1,77
16					30,7	1,45 1,90	30,8	1,45 1,90

Los espectros de RMN- ^1H y HETCOR con desacople en la dimensión F_1 del compuesto *157* se presentan en las Figuras 26 y 27 respectivamente.

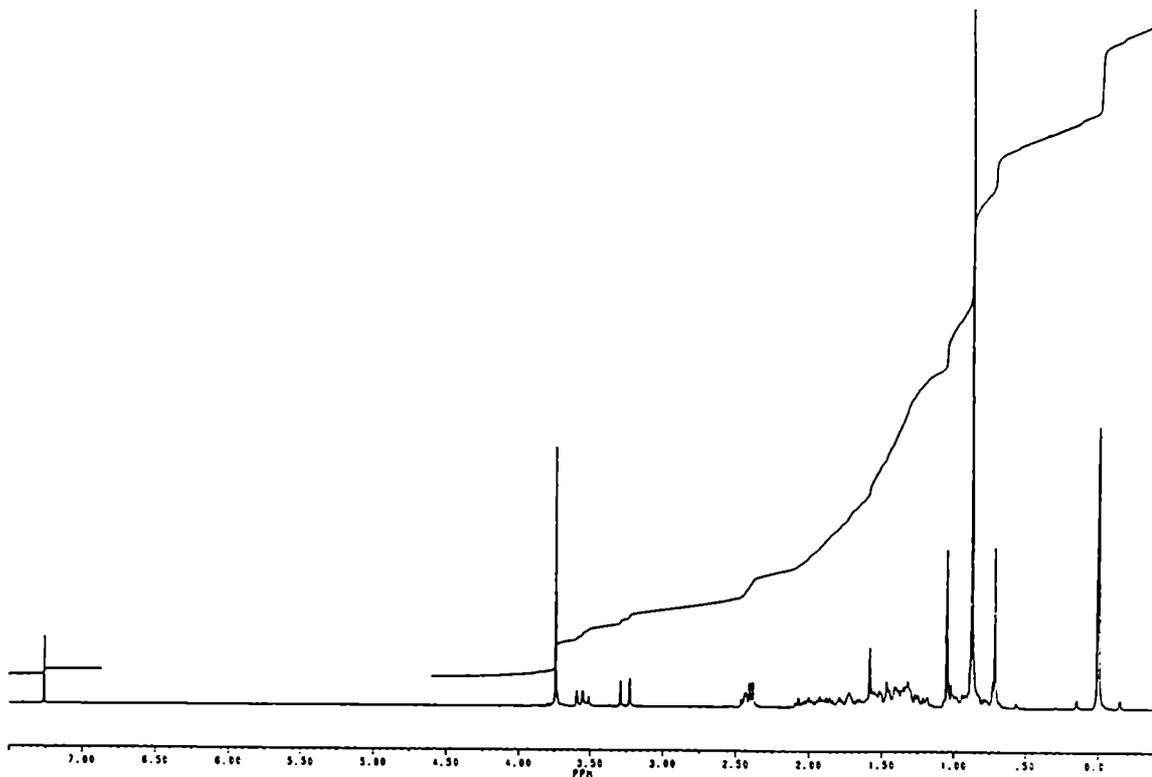


Figura 26. Espectro de RMN- ^1H del cetoéster *157* (200 MHz).

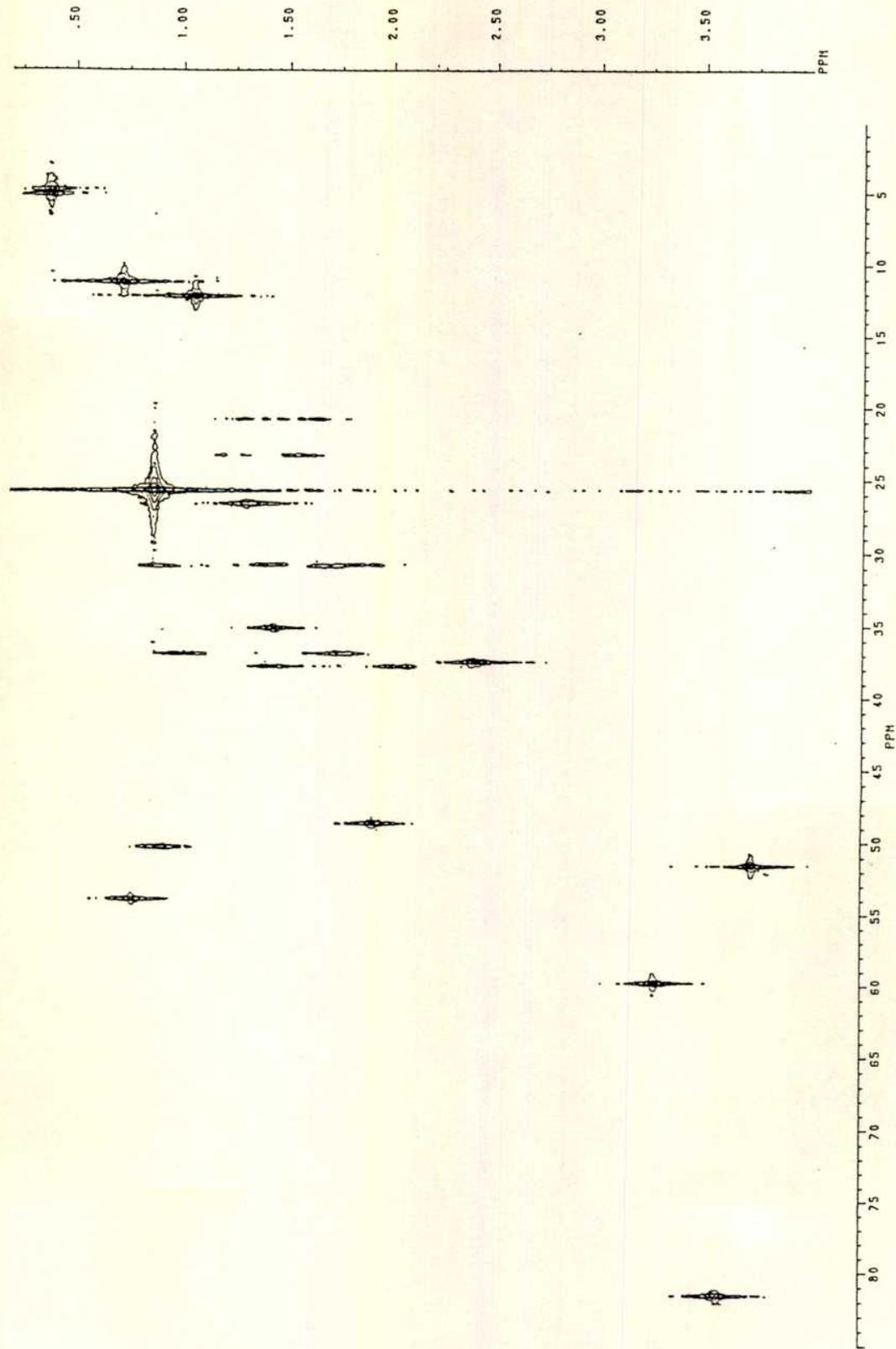


Figura 27. Espectro HETCOR con desacople en la dimensión F_1 (^1H) del cetoéster 157.

Sobre la base de un análisis similar de los datos espectroscópicos del compuesto *158* se concluyó que el mismo no se encontraba enolizado, y que el sustituyente en C2 ocupaba la posición ecuatorial. En el espectro de RMN-¹³C se observaron un carbonilo de cetona α , β insaturada (193,3 ppm), un carbonilo de éster (171,1 ppm) y un metino a 50,1 ppm que correspondía a C2. En el espectro de RMN-¹H no se observaron señales por encima de 6 ppm. El H-2 aparecía como un doble doblete a 3,47 ppm parcialmente superpuesto con la señal del H-17 α (3,56 ppm). El doble doblete presentaba constantes de acoplamiento de 5,2 Hz y 14,1 Hz. Esta última correspondía a un acoplamiento diaxial con el H-1 α e indicaba la orientación ecuatorial del grupo carboxilato de metilo unido a C2. Estos valores de desplazamiento químico y constantes de acoplamiento estaban de acuerdo con datos de literatura para un compuesto similar [Mander, 1983]. El espectro de RMN-¹H de *158* se presenta en la **Figura 28**.

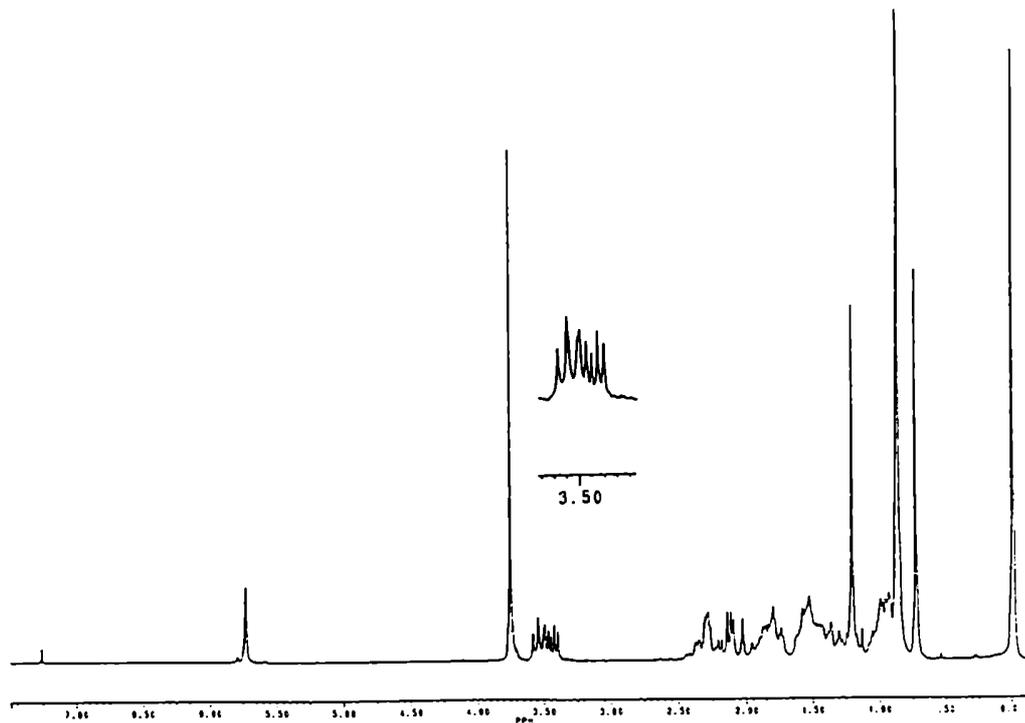
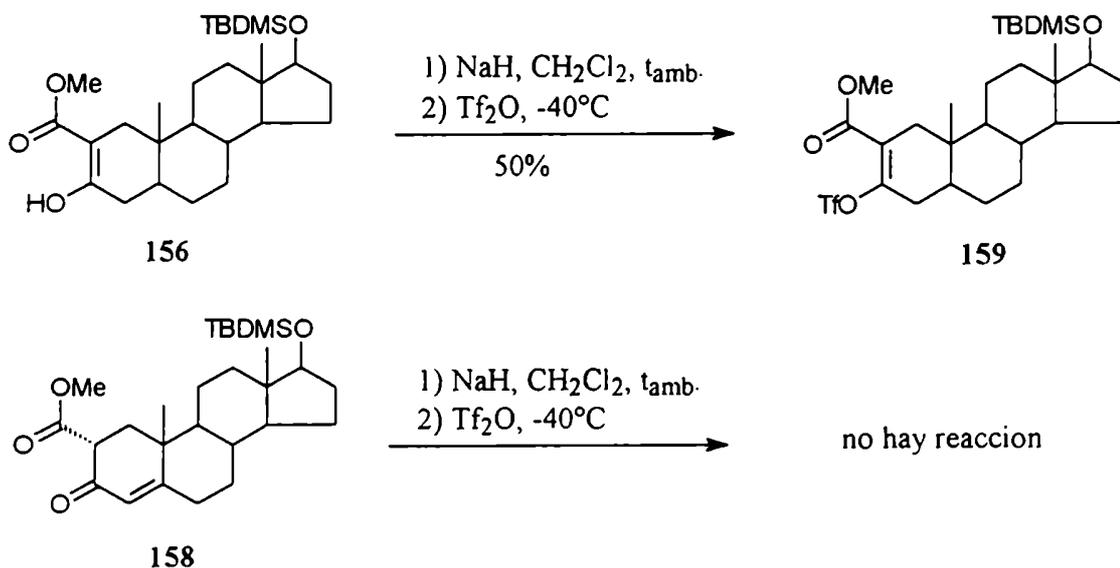


Figura 28. Espectro de RMN-¹H del cetoéster *158* (200 MHz).

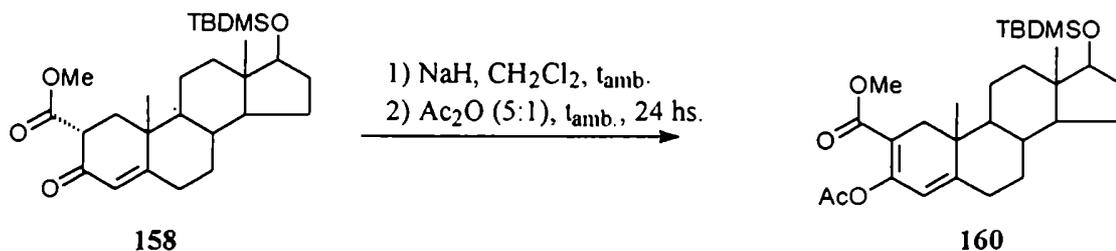
Para la formación del triflato vinílico en C3 se utilizaron las condiciones descritas en el capítulo anterior (NaH para generar el enolato correspondiente que se atrapa por reacción con anhídrido triflico a temperatura ambiente durante 12 hs.). La reacción se ensayó en estas condiciones, sobre el compuesto **156**. Al analizar el crudo de reacción por c.c.d. se observó la formación de múltiples productos. Al realizar un espectro de RMN-¹H de la mezcla de reacción se observó la desaparición de las señales características del grupo *tert*-butildimetilsililoxi en C17.

Pudo comprobarse que luego de tratar el cetoéster **156** con hidruro de sodio durante 2 hs, podía recuperarse el material de partida inalterado. Por lo tanto la etapa clave era la reacción con anhídrido trifluorometansulfónico. Se varió la temperatura de reacción desde -78°C (no se observó formación de productos) hasta -40°C. En este caso, luego de 3 hs. de reacción, se obtuvo el producto deseado. Sin embargo, la reacción no era completa y por RMN-¹H se observó que el grupo protector era removido parcialmente.

Al intentar la reacción sobre el β-cetoéster insaturado **158**, aun luego de varias horas de reacción, no se observó la formación del producto deseado.



Se decidió estudiar la reactividad del compuesto **158** utilizando anhídrido acético como electrófilo ya que en este caso, el grupo protector en C17 no era removido aún a temperatura ambiente. Luego de 24 hs. de reacción con exceso de anhídrido acético se obtuvo una mezcla del enolacetato **160** y material de partida sin reaccionar en relación 1:1.



Del análisis de estos resultados se concluyó que:

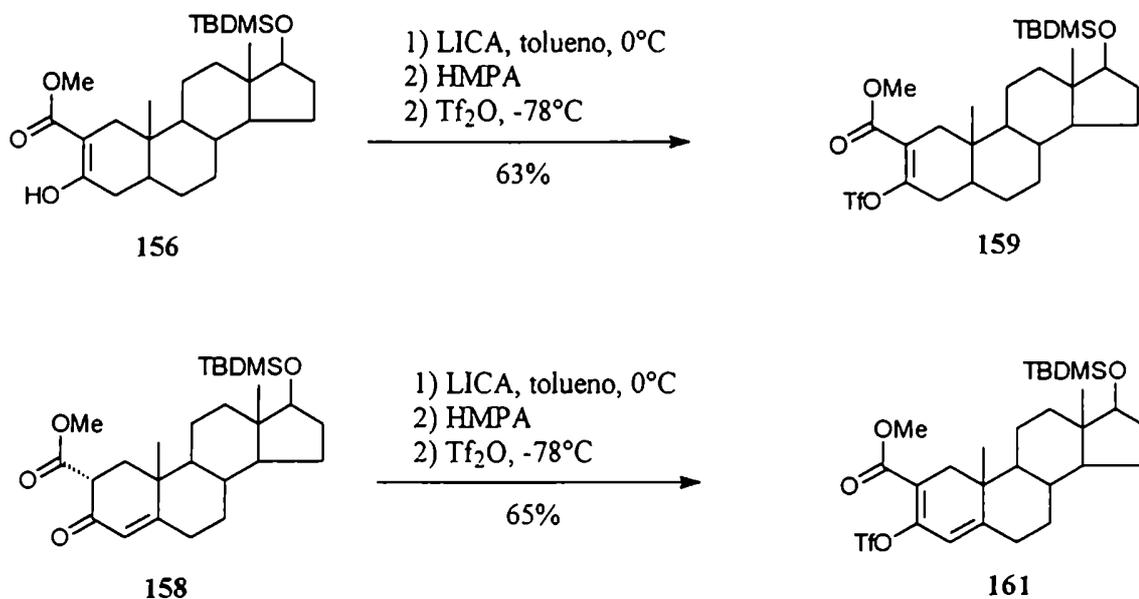
- a) la formación del enolato a partir del compuesto **158** era mucho mas lenta que en el caso del análogo 5α-saturado **156**.
- b) sobre la base de los espectros de RMN-¹H y ¹³C se estableció que el producto obtenido correspondía a una estructura de tipo Δ^{2,4} dieno como **160** y no a un compuesto Δ^{3,5}-diénico derivado de la abstracción del H-6. Es decir, no se observaron problemas de regioquímica al generar el enolato.

La diferente reactividad de los compuestos **156** y **158** se atribuyó a las diferencias observadas en el equilibrio de enolización de dichos compuestos. Como se discutió anteriormente en el compuesto **156** el carbonilo cetónico en C3 se encuentra como enol y por lo tanto empleando una base como hidruro de sodio (condiciones de reacción heterogénea) puede formarse el enolato correspondiente que luego reacciona con anhídrido trifílico. El compuesto **158** se encuentra en su forma dicarbonilica y por lo tanto la abstracción del H-2 en condiciones heterogéneas se ve dificultada.

Se decidió entonces, utilizar una base fuerte y condiciones de reacción homogéneas para generar los enolatos correspondientes.

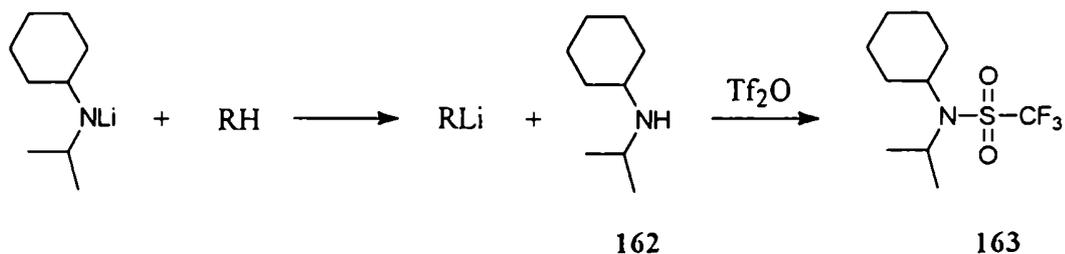
Teniendo en cuenta los resultados descritos en el capítulo anterior al intentar la utilización de LICA en THF para la formación del triflato vinílico **137** a partir del compuesto **135** (posibilidad de reacción del anhídrido triflico y el THF utilizado como solvente) se decidió emplear tolueno como solvente de reacción.

Finalmente, al aplicar estas condiciones sobre ambos sustratos, se obtuvieron los triflatos vinílicos **159** y **161**.



Luego de purificar los compuestos por cromatografía flash en columna seca empleando sílica como adsorbente, se observó, en los espectros de RMN-¹H de ambos compuestos, un doblete intenso a 1,35 ppm y dos multipletes a 3,40 ppm y 3,90 ppm. En los espectros de RMN-¹³C se observó un pequeño cuarteto a 119,5 ppm con constante de acoplamiento de 324 Hz. Esto indicaba la presencia de una impureza con un grupo trifluorometilo en su estructura. Dicha impureza pudo separarse por cromatografía en fase

reversa pudiendo entonces establecer que se trataba de la triflamida **163** formada por reacción entre la isopropilciclohexilamina (**162**) (liberada luego de la formación del enolato correspondiente) y el anhídrido triflico empleado posteriormente.



La asignación de los espectros de RMN-¹³C de **159** y **161** se realizó sobre la base de los datos espectroscópicos correspondientes a los precursores sintéticos **156** y **158** y al triflato vinílico **137** sintetizado previamente.

En el caso del compuesto **161** se realizó un espectro de correlación heteronuclear (C-H) a larga distancia (COLOC) que se optimizó para una constante de acoplamiento de 12,5 Hz. Sobre la base de este espectro (**Figura 29**) pudieron asignarse las señales de C2' (165,0 ppm; por correlación con los hidrógenos del grupo metoxilo a 3,81 ppm), C5 (160,9 ppm; por correlación con los hidrógenos de Me-19 a 0,99 ppm) y C3 (147,7 ppm).

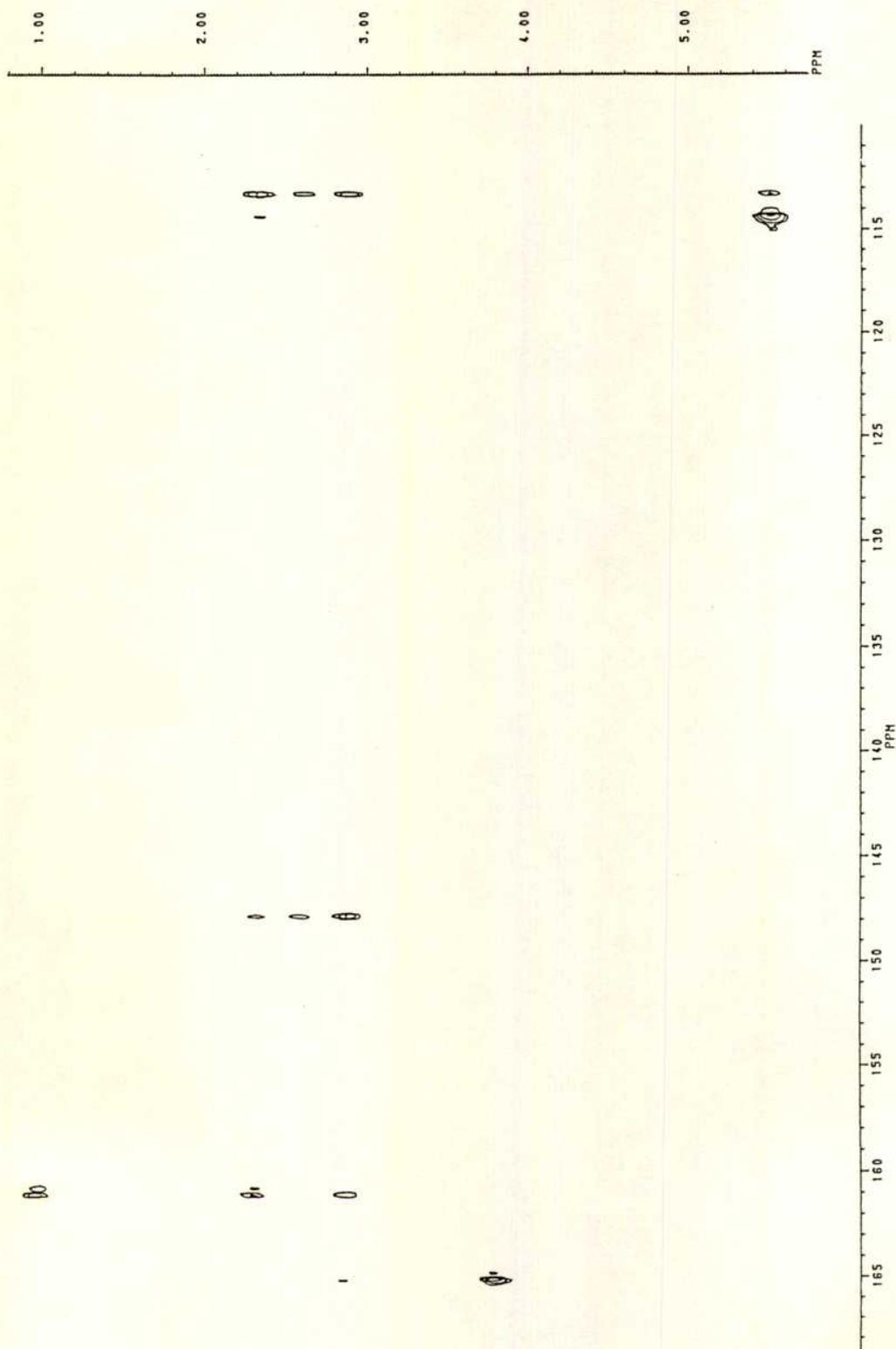
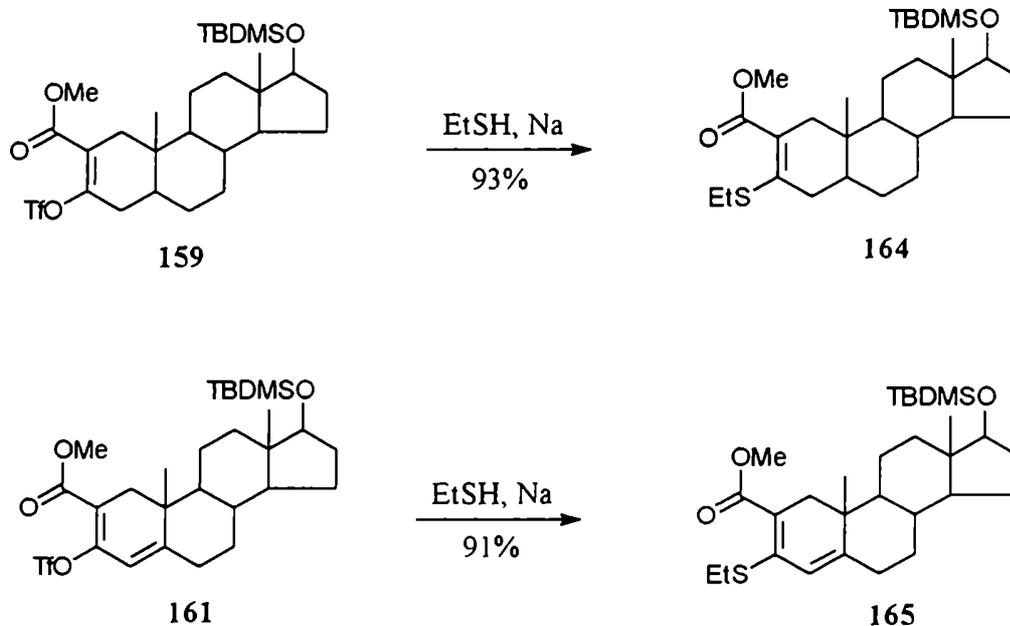


Figura 29. Ampliación del espectro COLOC del vinilfrilato 161 optimizado para una constante de acoplamiento de 12,5 Hz.

La etapa siguiente, para la construcción del anillo isotiazolínico, requería la introducción del grupo tioalquilo en C3. Se realizó una pequeña modificación a la técnica desarrollada anteriormente. En lugar de agregar una solución del esteroide en tioetanol sobre una suspensión de tioetóxido de sodio en tioetanol, se agregó sodio metálico sobre la solución del viniltriflato. En estas condiciones la reacción se completó luego de una hora a temperatura ambiente (en lugar de 12-15 hs.) con rendimientos aislados similares al obtenido anteriormente.



La asignación del espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **164** se realizó sobre la base de los datos espectroscópicos de su predecesor sintético **159** y del tienoleter **141** sintetizado previamente (capítulo 2). Se realizó también un espectro HETCOR (C-H) con desacople en la dimensión F_1 (^1H) para confirmar algunas asignaciones. Sobre la base de dicho espectro, pudieron identificarse fácilmente las señales de: C18 (11,3 ppm; correlaciona con los hidrógenos de Me-18 a 0,70 ppm), C19 (11,6 ppm; correlaciona con los hidrógenos de Me-19 a 0,73 ppm), $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ (14,1 ppm; correlaciona con los hidrógenos a 1,26 ppm),

CH₃CH₂S (24,4 ppm; correlaciona con los hidrógenos a 2,80 ppm), C4 (34,7 ppm; correlaciona con el H-4 α a 2,40 ppm), C1 (41,5 ppm; correlaciona con el H-1 β a 2,48 ppm) y MeO (51,1 ppm; correlaciona con los hidrógenos a 3,73 ppm). También pudieron asignarse, sobre la base de su desplazamiento químico, los hidrógenos de CH₂-7 (ver **Tabla 10**), las señales de C16 (30,8 ppm; correlaciona con los hidrógenos a 1,45 ppm y 1,90 ppm) y C7 (31,1 ppm; correlaciona con los hidrógenos a 0,95 ppm y 1,70 ppm). Por último, pudo establecerse el valor de desplazamiento químico para los hidrógenos de CH₂-12 (1,00 ppm y 1,77 ppm) que se utilizaron para confirmar la correcta asignación de dicho carbono en los espectros del compuesto **157** obtenido anteriormente (ver **Tabla 10**).

El espectro HETCOR con desacople en la dimensión F₁ de **164** se presenta en la **Figura 30**.

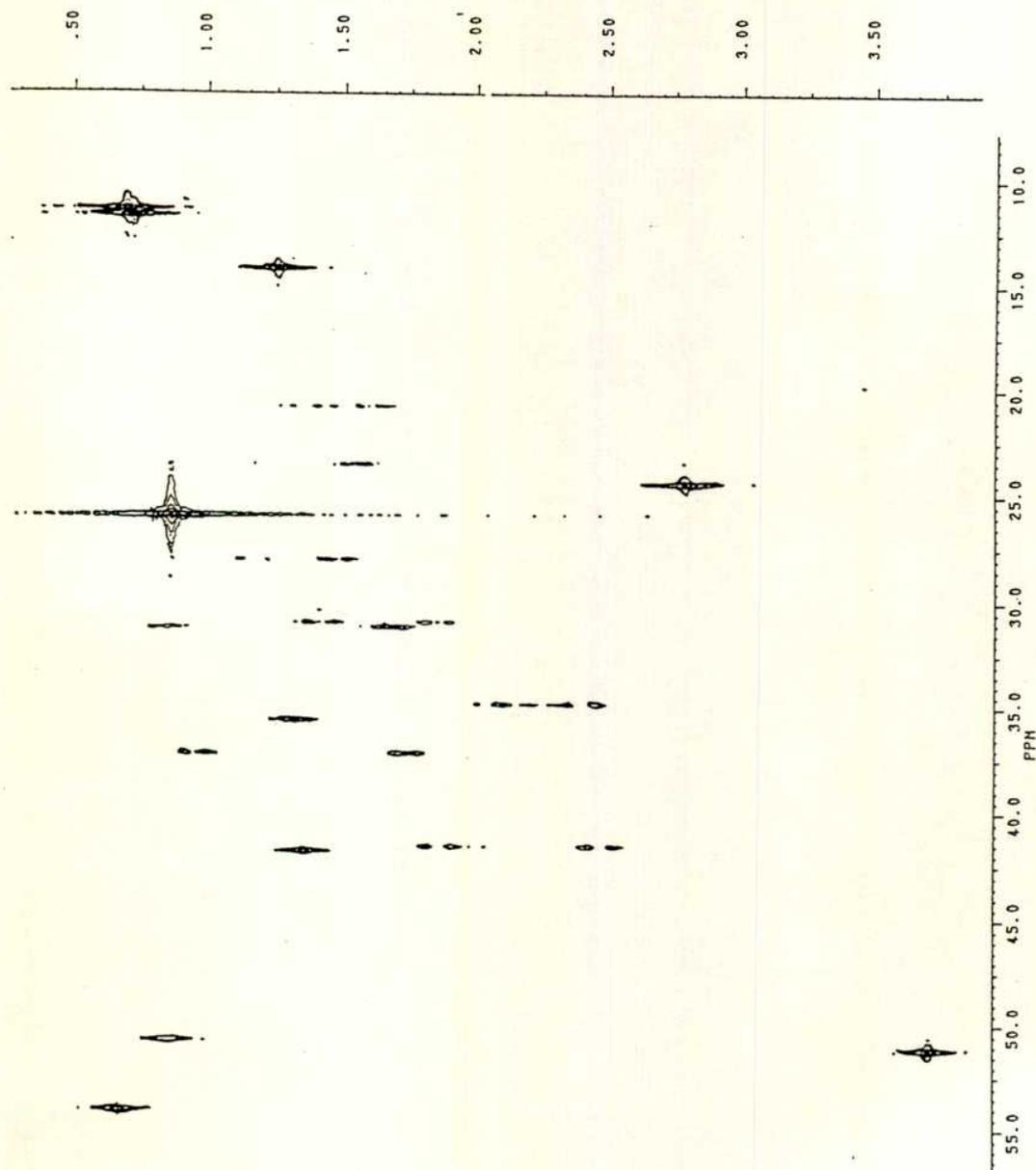
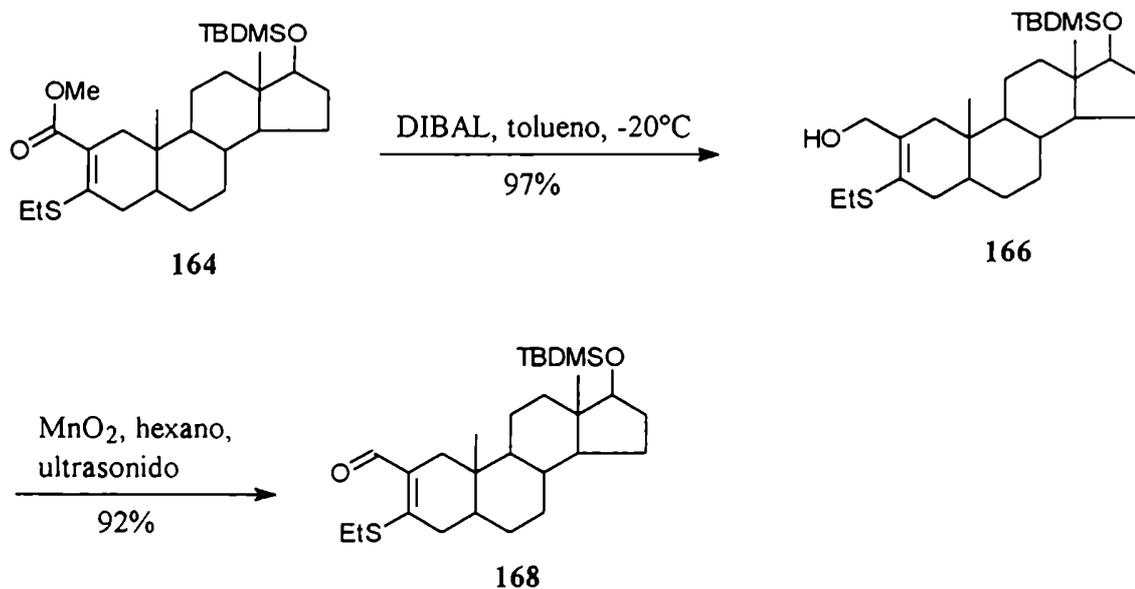
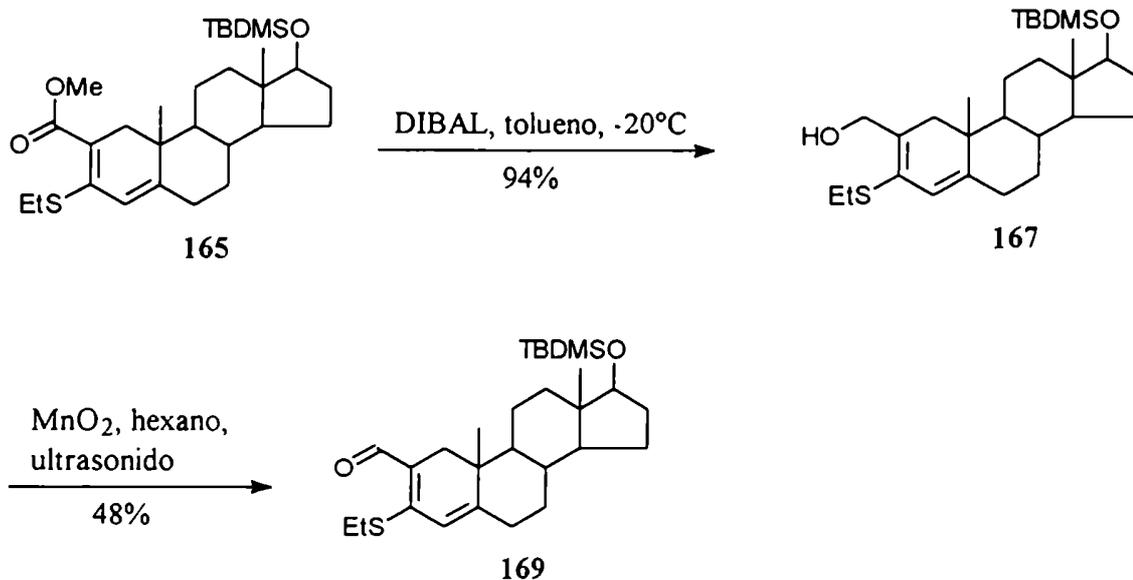


Figura 30. Espectro HETCOR con desacople en la dimensión F₁ (¹H) del tienoléter 164.

Los espectros del tienoleter **165** se asignaron sobre la base de datos correspondientes al compuesto **164**. En forma similar a la utilizada para la asignación del RMN-¹³C del compuesto **161**, para distinguir entre las señales de C3 (144,9 ppm) y C5 (154,9 ppm) se realizó un espectro de correlación heteronuclear (C-H) a larga distancia (COLOC) optimizado para una constante de acoplamiento de 12,5 Hz. Se observó que la señal a 154,9 ppm correlacionaba con los hidrógenos de Me-19 y por lo tanto, debía corresponder a C5.

La reducción de los ésteres metílicos **164** y **165** se llevó a cabo utilizando una solución de DIBAL en tolueno. De la misma manera que en el caso del compuesto **141** preparado anteriormente (capítulo 2), los ésteres debieron reducirse a los alcoholes alílicos correspondientes que luego se oxidaron para obtener los aldehidos α,β insaturados **168** y **169**.





El alcohol diinsaturado *167* resultó sumamente inestable. En los espectros de RMN de dicho compuesto se observó que, luego de una hora en contacto con cloroformo-*d*, aparecían señales en la zona vinílica indicando la descomposición parcial del alcohol alílico. Los espectros debieron realizarse en atmósfera de nitrógeno utilizando cloroformo-*d* previamente filtrado a través de alúmina neutra.

Si se mantenía el alcohol *167* durante una semana a -18°C se observaba, por c.c.d., la formación de un compuesto de menor polaridad en una proporción aproximada del 50%. El intento de purificación de dicha mezcla por cromatografía en sílica gel resultó en la descomposición total del sustrato.

La gran inestabilidad del compuesto *167* ocasionó pérdidas por descomposición del mismo y también dió lugar a un rendimiento pobre en la oxidación subsiguiente del grupo hidroxilo.

El análisis del espectro de RMN- ^1H de *167* indicó que la señal correspondiente a los hidrógenos del grupo $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ era un multiplete complejo centrado a 2,65 ppm debido a la no equivalencia de ambos hidrógenos. Se efectuó la simulación del espectro para el sistema

ABX₃ del grupo tioetilo teniendo en cuenta el desplazamiento químico observado para el grupo metilo (1,19 ppm) y el valor de la constante de acoplamiento entre estos hidrógenos y los hidrógenos metilénicos (7,3 Hz). Se utilizó para los hidrógenos no equivalentes valores de desplazamiento químico de 2,62 ppm y 2,68 ppm y una constante de acoplamiento geminal de 13 Hz obteniéndose un patrón de señales que concordaba muy bien con la señal observada en el espectro.

En las Figuras 31 y 32 se presentan los espectros de RMN-¹H de los alcoholes alílicos 166 y 167. La señal obtenida por simulación para el grupo CH₂S, se muestra en la Figura 33. El listado de frecuencias observadas para cada línea junto con las obtenidas por simulación del espectro, se indican en la Tabla 11 (las diferencias entre ambos valores son menores de 0,5 Hz).

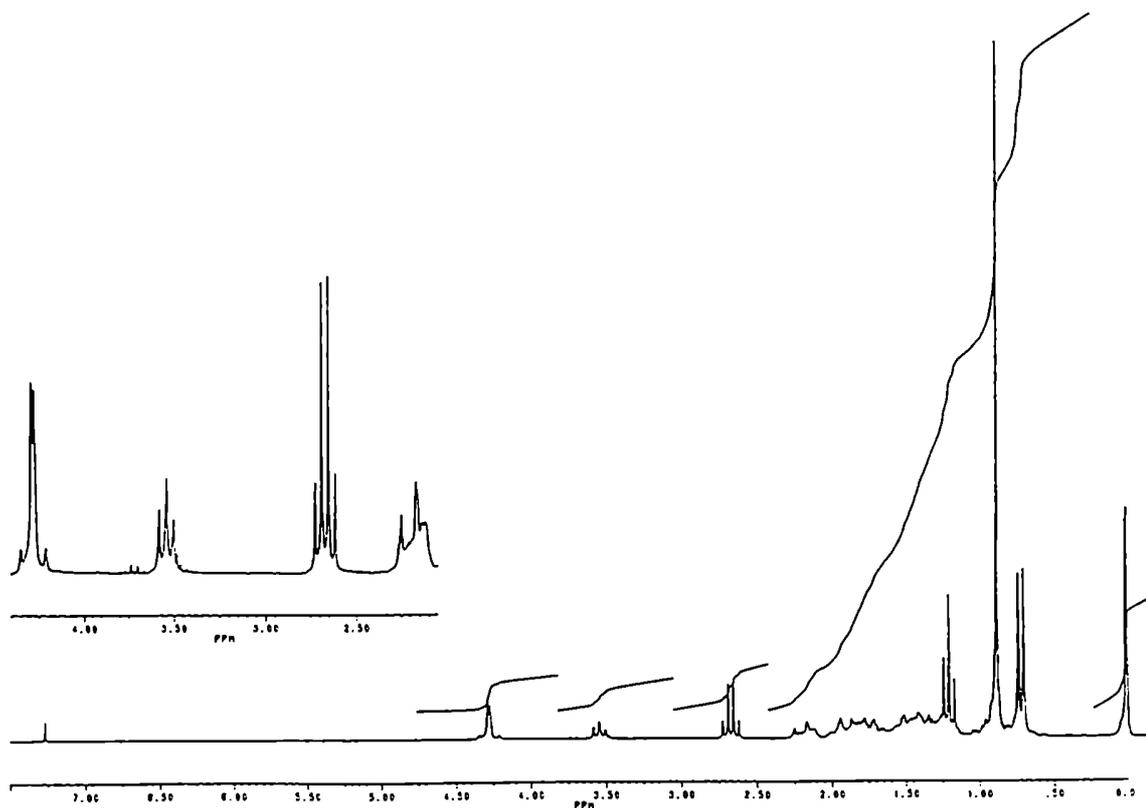


Figura 31. Espectro de RMN-¹H del alcohol alílico 166 (200 MHz).

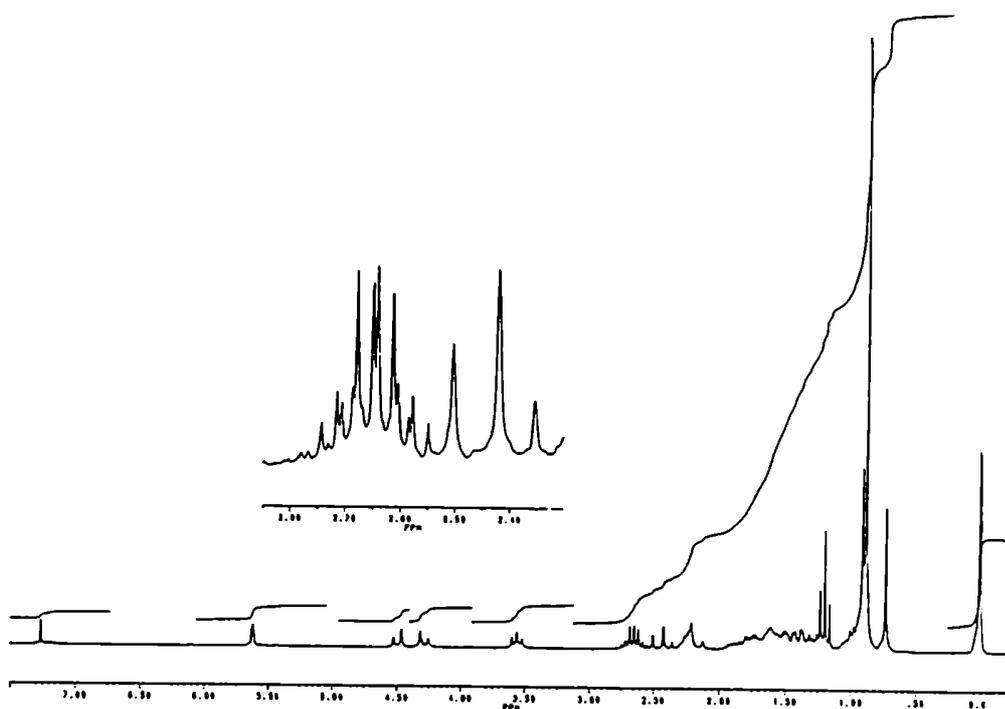


Figura 32. Espectro de RMN-¹H del alcohol alílico 167 (200 MHz).

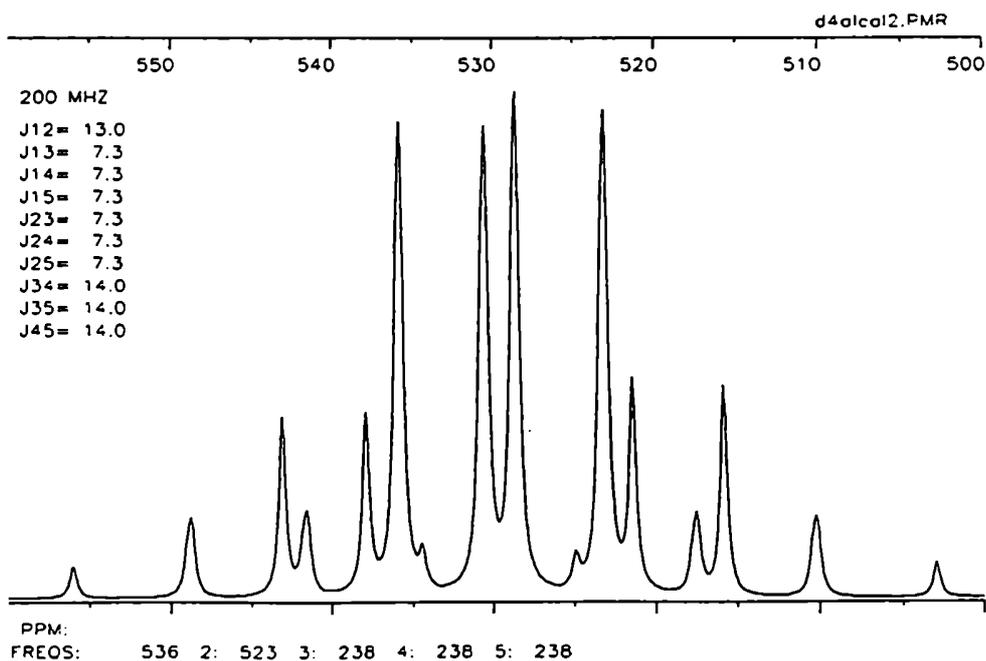


Figura 33. Señal obtenida por simulación para el grupo $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ en el compuesto 167.

Tabla 11. Comparación entre los valores de frecuencias observados en el espectro RMN-¹H del dieno *146* y los obtenidos por simulación.

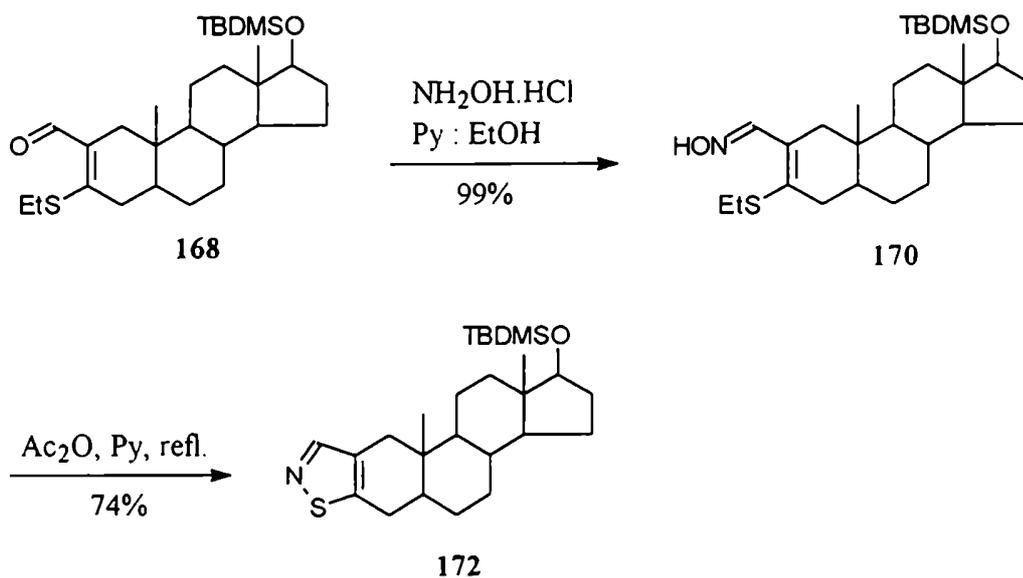
Frecuencias observadas (Hz)	Frecuencias obtenidas por simulación (Hz)
510,0	510,2
515,8	515,9
517,3	517,5
521,3	521,5
523,0	523,2
528,6	528,6
530,3	530,5
536,0	535,9
537,5	538,0
541,5	541,6
543,3	543,2
548,9	548,9

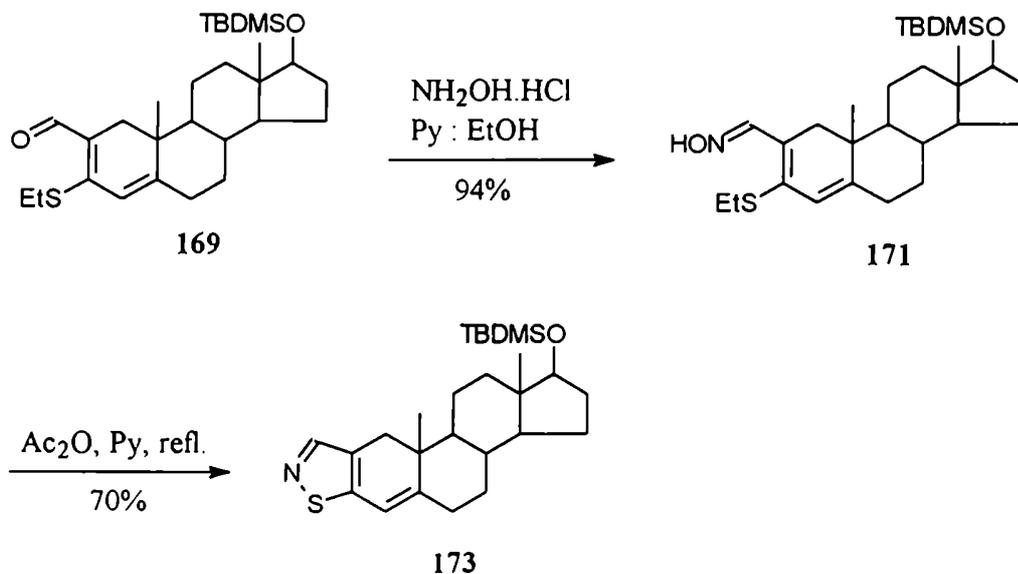
Con el fin de mejorar el rendimiento obtenido para la oxidación del alcohol diinsaturado *167* con dióxido de manganeso, se intentó la utilización de PCC como oxidante. Se supuso que dado que la oxidación de sustratos similares se lograba en 30-60 minutos con este reactivomientras que al utilizar dióxido de manganeso se requerían varias horas de reacción, la descomposición del sustrato sería menos importante. Sin embargo, no se obtuvieron buenos resultados. Analizando el crudo de reacción por c.c.d., se observó la formación de múltiples productos. Heste hecho se atribuyó a la posible descomposición del sustrato en contacto con diclorometano empleado como solvente. Además existían

antecedentes de remoción de grupos *tert*-butilidimetilsililo durante ciertas oxidaciones empleando PCC como reactivo [Willis, 1981].

La interpretación de los espectros de los aldehidos **168** y **169**, resultó directa. En el espectro de RMN-¹H del compuesto **169** los hidrógenos del grupo CH₃CH₂S se observaron como no equivalentes. Nuevamente, por simulación del sistema ABX₃ se obtuvo un patrón de señales que concordaba perfectamente con la señal observada en el espectro. En cuanto al espectro de RMN-¹³C de **169**, para poder distinguir entre las señales de C3 (148,4 ppm) y C5 (158,9 ppm) se recurrió nuevamente a un espectro COLOC utilizando la correlación entre C5 y los hidrógenos de Me-19 (correlación C-H a tres enlaces).

Las etapas finales para la construcción del anillo isotiazolinico se llevaron a cabo por tratamiento de los aldehidos **167** y **169** con clorhidrato de hidroxilamina en piridina:etanol para obtener las oximas **170** y **171** con muy buen rendimiento. Dichas oximas se transformaron en los isotiazoles esteroidales **172** y **173** por tratamiento con anhídrido acético en piridina a reflujo.

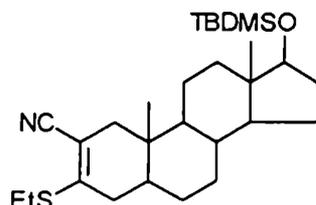




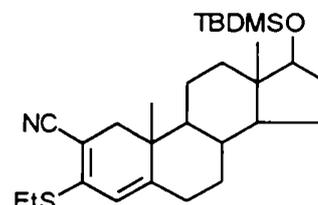
El espectro de RMN-¹H de la oxima *171* indicó que los hidrógenos del grupo CH₃CH₂S resultaron no equivalentes. De la misma manera que en el caso de los compuestos *167* y *169*, este resultado se comprobó por simulación del espectro para el sistema fuertemente acoplado. Para la asignación de las señales de C3 y C5 en el espectro de RMN-¹³C del compuesto *171*, se utilizó nuevamente un espectro COLOC y la correlación observada entre la señal de C5 y los hidrógenos de Me-19 (tres enlaces).

En las reacciones de ciclación se aislaron, junto con los isotiazoles esperados, los nitrilos α,β insaturados *174* y *175* con rendimientos del 15-20%. Las estructuras de estos compuestos se establecieron sobre la base de sus espectros de RMN-¹H (presencia del grupo protector y del grupo tioetilo), RMN-¹³C (presencia de los dobles enlaces y del grupo ciano) y EM (se observó el ión M⁺-tBu que representaba la fragmentación más importante en esta serie de compuestos, en este caso particular no pudo detectarse el ión molecular).

La presencia del grupo tioetilo indicó que estos compuestos se formaban por deshidratación de la oxima de partida y no por descomposición del anillo isotiazolínico en el medio básico de reacción (exceso de piridina).



174

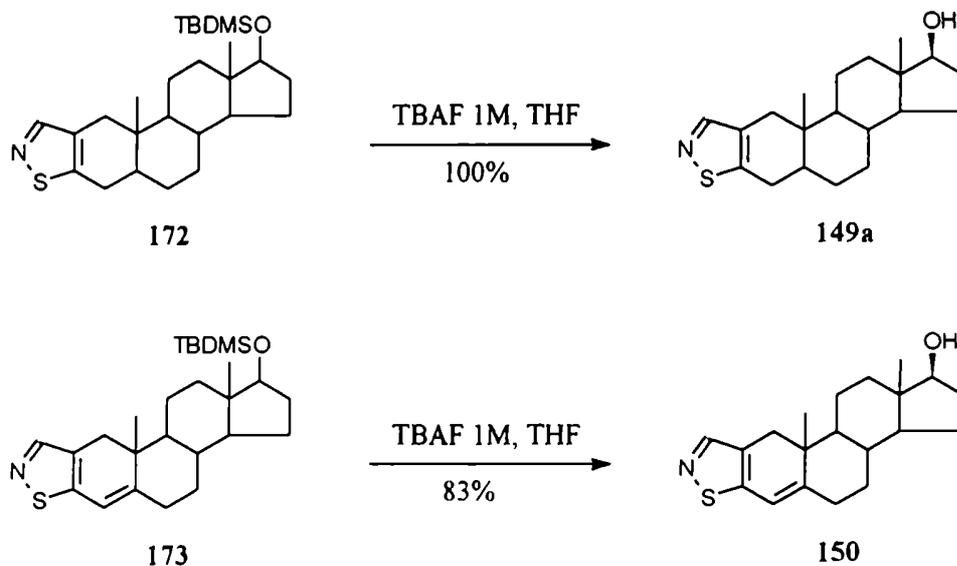


175

Finalmente, se llevó a cabo la etapa de remoción del grupo protector obteniéndose dos de los compuestos "blanco" del presente trabajo de Tesis.

La desprotección se realizó empleando fluoruro de tetra *n*-butilamonio (TBAF) en tetrahidrofurano. Si bien el ión fluoruro en solventes apróticos puede actuar como una base fuerte [Mascaretti, 1993] y, como se discutió al principio de este capítulo, no se tenían datos sobre la estabilidad de los anillos isotiazolinicos con la posición 3' libre en medio básico en nuestro caso, las reacciones de desprotección transcurrieron con muy buenos rendimientos.

La desprotección efectuada utilizando una solución comercial de TBAF 1M en tetrahidrofurano resultó muy lenta, completándose luego de 48 hs. de reacción. Teniendo en cuenta los efectos del contenido de agua en soluciones comerciales de este reactivo en la desilación de oligoribonucleótidos [Hogrefe, 1993] se decidió tratar la solución de TBAF con tamices moleculares de 3Å durante una semana. El uso del reactivo luego de este tratamiento aumentó considerablemente la velocidad de reacción, lográndose la remoción del grupo protector en solo cuatro horas a temperatura ambiente.



La preparación de los isotiazoles *149a* y *150* en este trabajo representa la primer síntesis de este tipo de compuestos. Se comprobó además que la estrategia sintética desarrollada puede adaptarse, con pequeñas modificaciones, a la construcción de anillos isotiazolínicos en compuestos funcionalizados en otras posiciones del esqueleto esteroideal.

La secuencia sintética requirió nueve pasos con un rendimiento global del 22% para el compuesto 5α-saturado (*149a*) y del 12,6% para el análogo Δ⁴-insaturado (*150*). El rendimiento sustancialmente más bajo alcanzado durante la síntesis del compuesto *150* se debe principalmente, a la gran inestabilidad del alcohol alílico *167* obtenido como intermediario sintético. La necesidad de este compuesto como intermediario se debió a la imposibilidad de efectuar la reducción directa del grupo éster en el compuesto *165* al aldehído correspondiente.

Las secuencias sintéticas completas para los compuestos *149a* y *150* se presentan en los Esquemas 14 y 15 al final del capítulo.

En las Figuras 34 y 35 se presentan los espectros de RMN-¹H de los productos obtenidos en las síntesis descriptas.

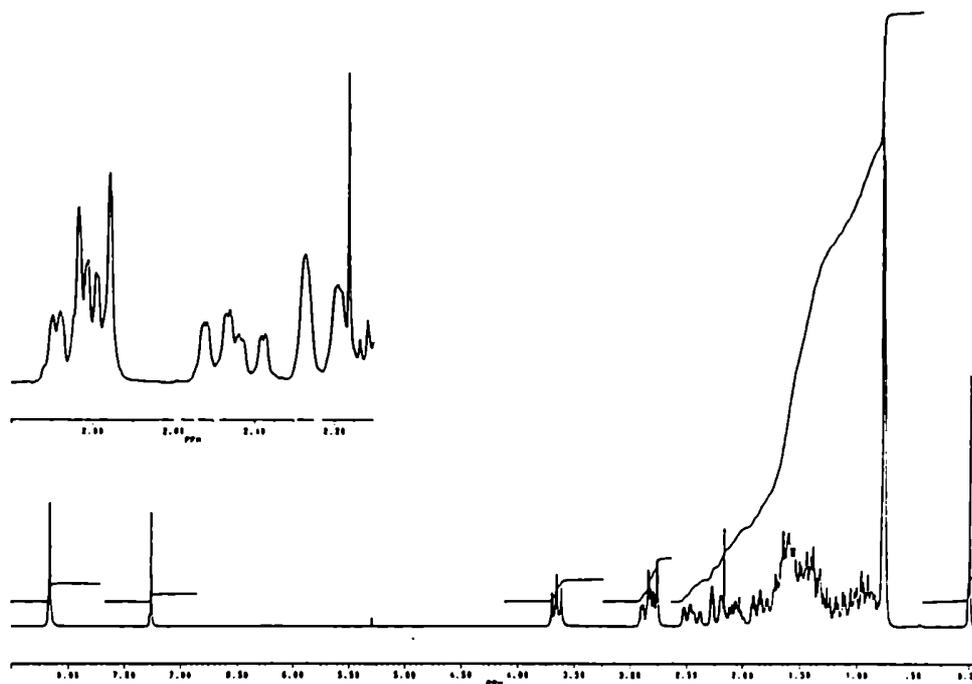


Figura 34. Espectro de RMN- ^1H del 5 α -androstan [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (149a) (200 MHz).

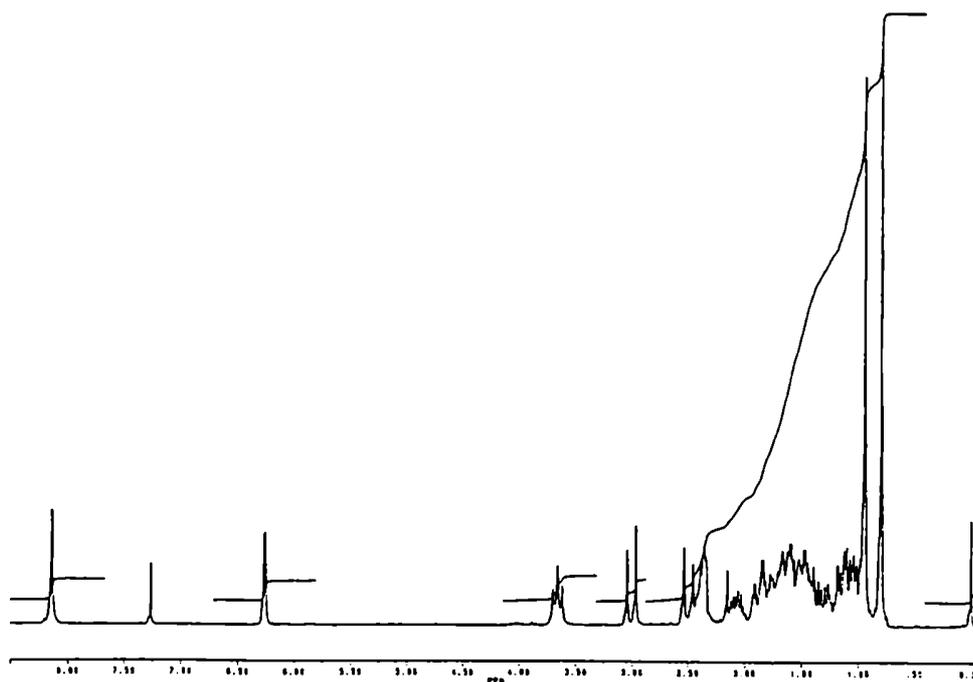
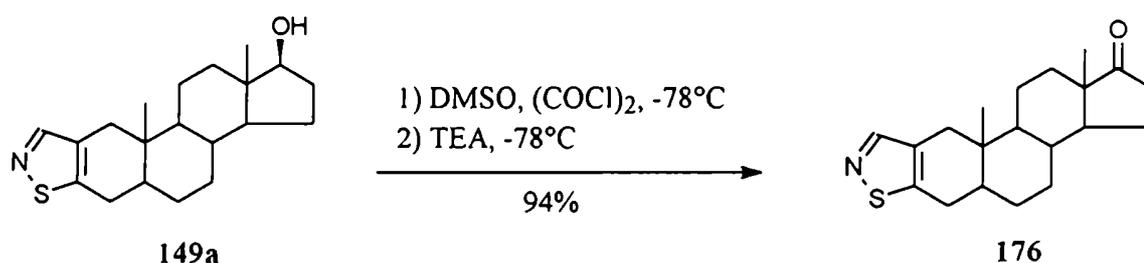


Figura 35. Espectro de RMN- ^1H del androsta-2,4-dien [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (150) (200 MHz).

Debido al mayor rendimiento logrado durante la síntesis del compuesto **149a**, se se lo utilizó como sustrato para realizar la introducción de cadenas laterales en C17.

El grupo hidroxilo se oxidó empleando DMSO y cloruro de oxalilo como activante a -78°C. Si bien al intentar la oxidación del alcohol alílico primario **142** descrita en el capítulo anterior no se lograron resultados satisfactorios; la oxidación del grupo hidroxilo en posición 17β se logró con muy buen rendimiento.



A partir de la cetona **176**, por reacción con reactivos organometálicos adecuados, se prepararon [2,3-d] isotiazoles con distintos sustituyentes en posición 17α tales como metilo, etinilo y etilo.

Por reacción de la cetona **176** con una solución comercial de metillitio 1,0 M en éter etílico se obtuvo el 17α-metil-5α-androstan [2,3-d] isotiazol-17β-ol (**149b**) con 60% de rendimiento. Se intentó la reacción empleando condiciones similares a las utilizadas durante la síntesis de isoxazoles esteroidales para la introducción de un grupo etilo en C17 (Capítulo 1). Sin embargo, al someter una solución de **176** en THF anhidro en presencia de litio e ioduro de metilo a la acción del ultrasonido el rendimiento no varió en forma apreciable.

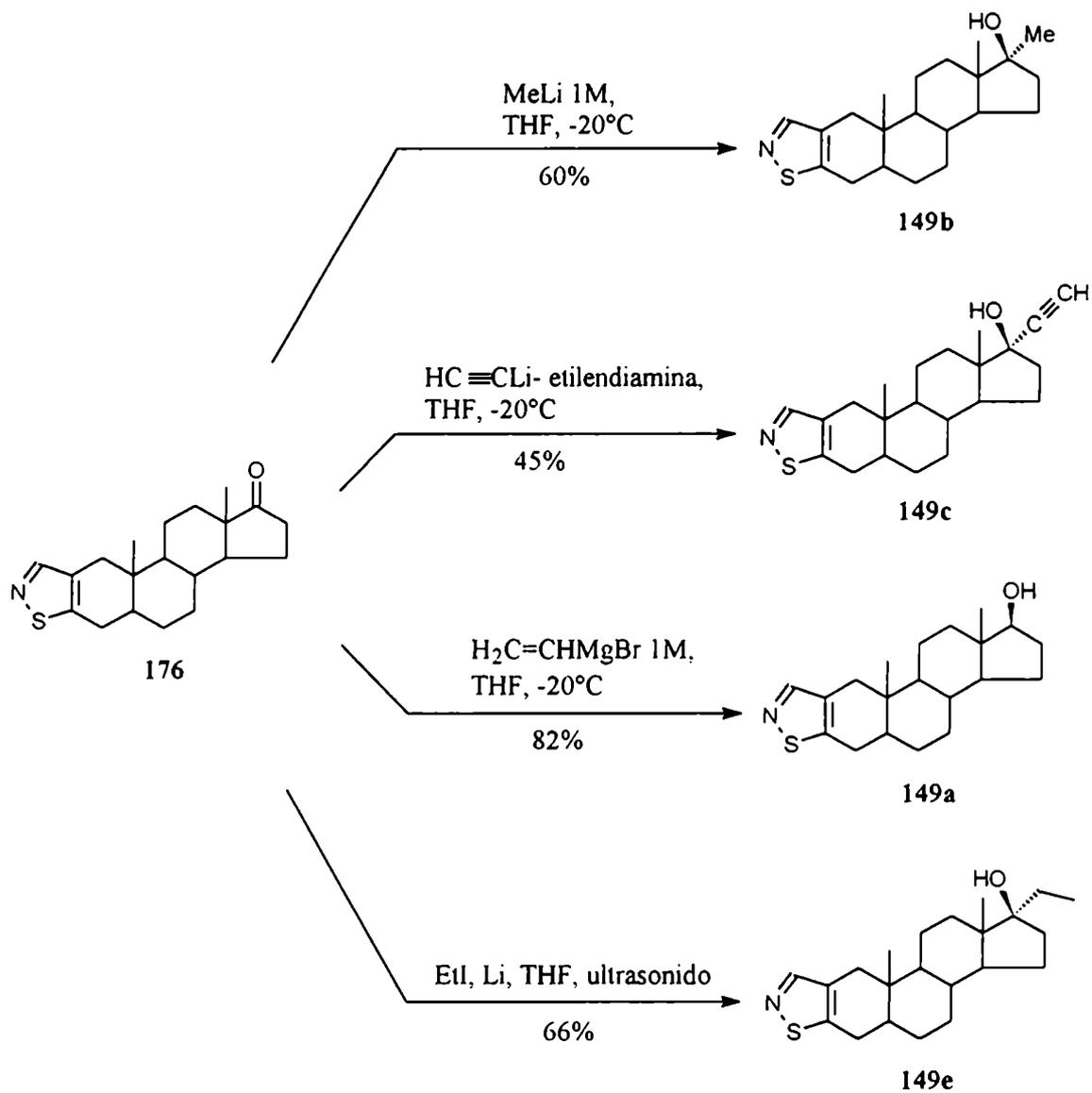
Por tratamiento de **176** con el complejo acetiluro de litio - etilendiamina se obtuvo el 17α-etinil-5α-androstan [2,3-d] isotiazol-17β-ol (**149c**) con 45% de rendimiento. El menor rendimiento, con respecto a la reacción con metillitio, se atribuyó a que la formación de un complejo entre monoacetiluro de litio y etilendiamina si bien evita la desproporción del reactivo, disminuye seriamente la reactividad del mismo [Midland, 1975].

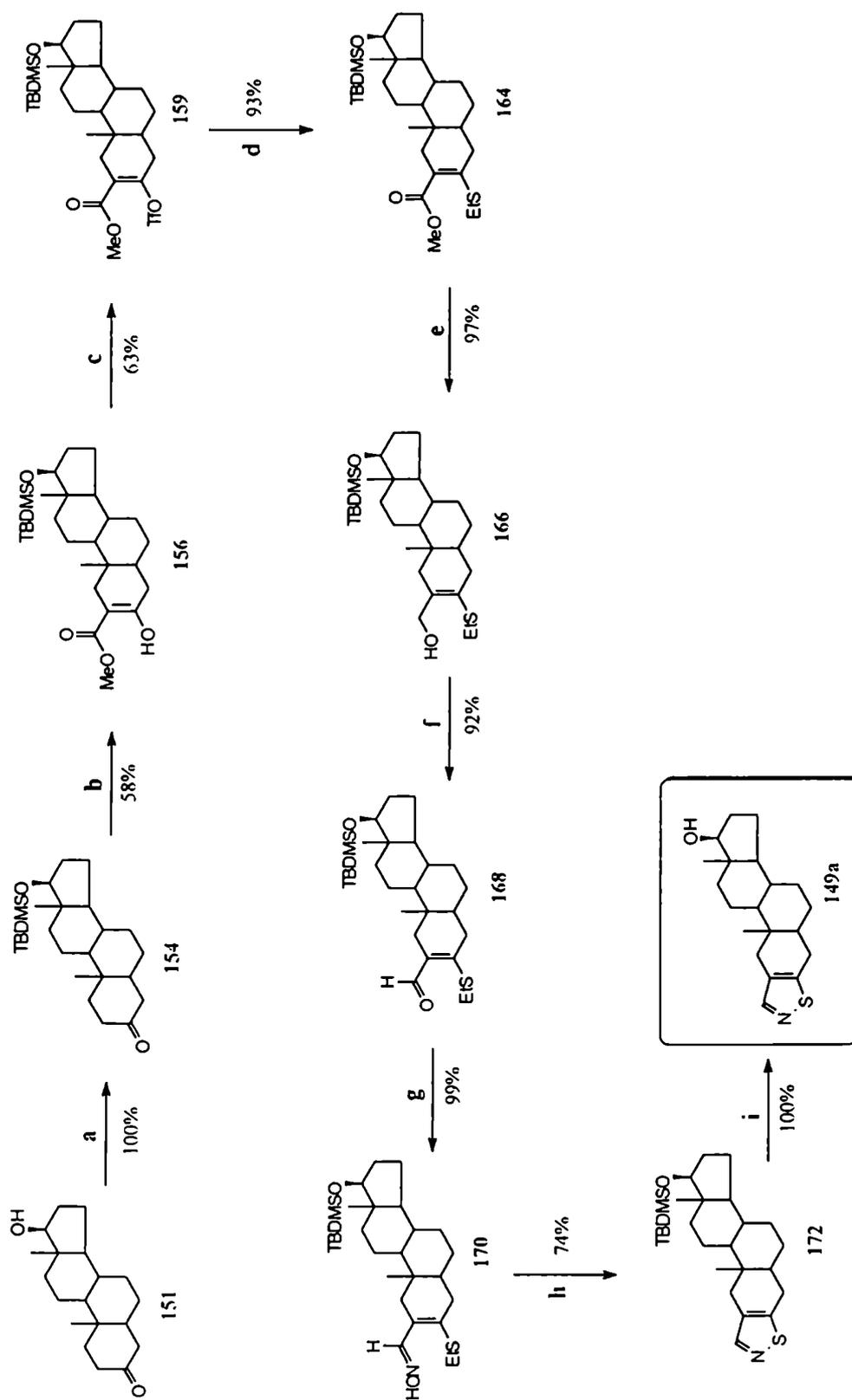
Para la introducción del grupo vinilo se empleó una solución comercial de $\text{CH}_2=\text{CHMgBr}$ 1,0 M en THF obteniéndose como único producto de reacción el 17β-hidroxiisotiazol **149a**. Un resultado similar se había observado durante la síntesis de isoxazoles esteroidales al tratar 5-androsten-3β-ol-17-ona (**69**) con EtMgBr (Capítulo 1). Existen en bibliografía numerosos antecedentes sobre reacciones entre cetonas estericamente impedidas y reactivos de Grignard con hidrógenos en posición β que rinden principalmente los productos de reducción correspondientes [Morrison, 1972; Imamoto, 1984; Imamoto, 1989].

Por último, la introducción del grupo etilo se realizó por tratamiento de una solución de la cetona **176** en THF anhidro con litio e ioduro de etilo bajo irradiación de ultrasonido. de esta manera se obtuvo el 17α-etil-5α-androstan [2,3-d] isotiazol-17β-ol (**149e**) con 66% de rendimiento.

Recordando la inestabilidad de los anillos isoxazolinicos frente a reactivos de Grignard u organolíticos, es importante remarcar que en el caso de los análogos azufrados no se observó la ruptura del heteroanillo aun empleando temperaturas de -20°C.

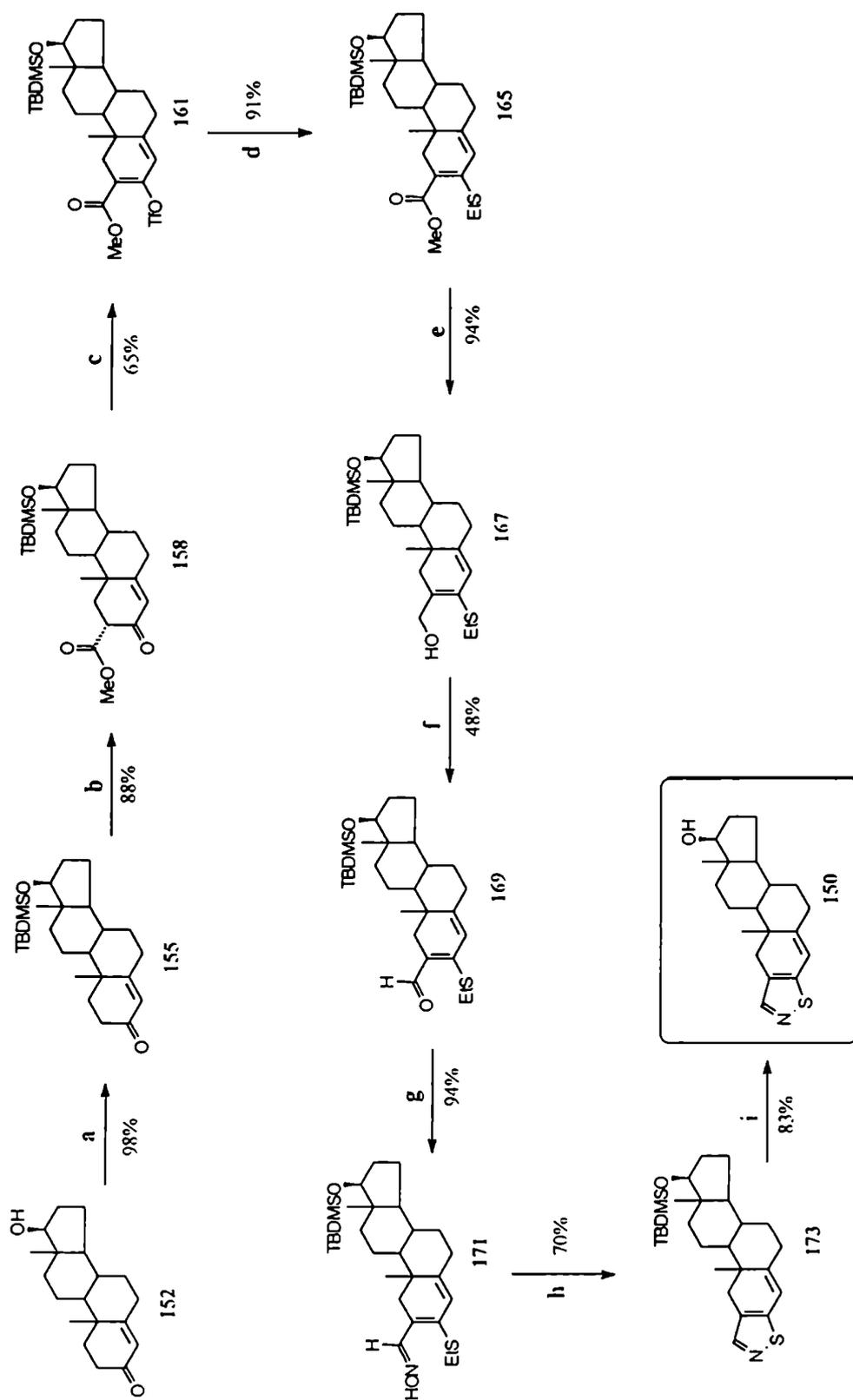
La asignación de los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C de los isotiazoles **149b**, **149c** y **149e** se realizó sobre la base de los datos espectroscópicos de los isoxazoles 17α-sustituidos descritos en el Capítulo 1.





a: TBDMSO, Imidazol, DMF; b: i) LICA, THF, 0°C, ii) HMPA, iii) CNCO₂Me; c: i) LICA, Tolueno, 0°C, ii) HMPA, iii) Tf₂O, -78°C; d: EtSH, Na; e: DIBAL, Tolueno, -20°C; f: MnO₂, hexano, ultrasonido; g: NH₂OH.HCl, EtOH:Py 1:1; h: Ac₂O, Py, refl.; i: TBAF IM, THF.

Esquema 14. Síntesis del 5α-androstan [2,3-d] isotiazol (149a).

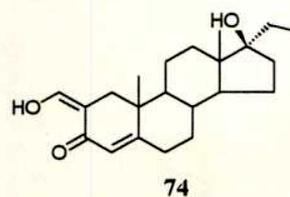
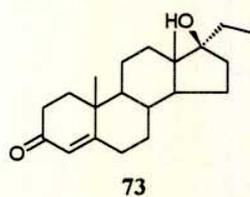
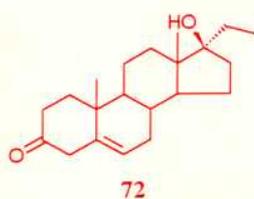
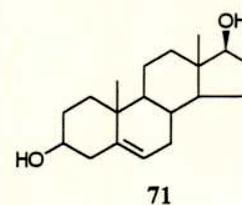
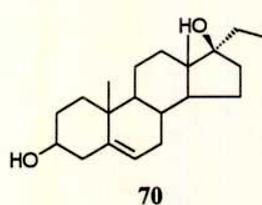
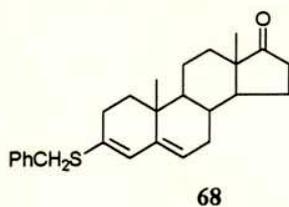
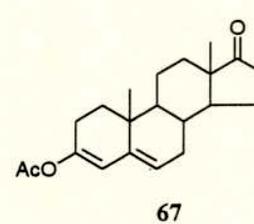
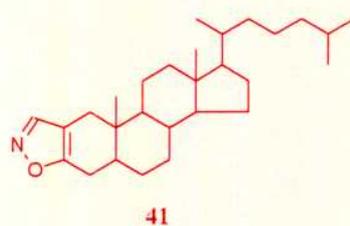
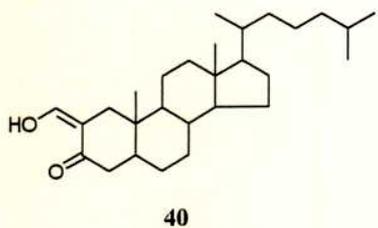
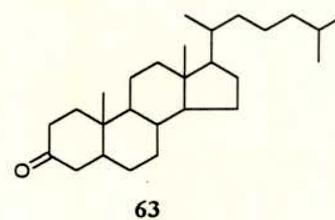
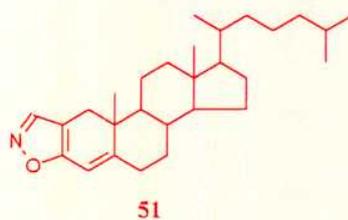
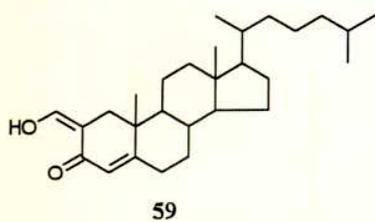
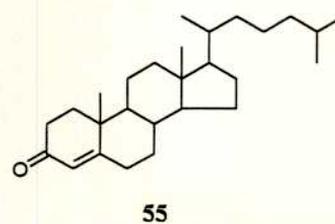
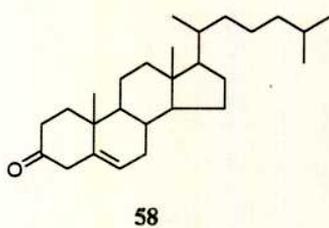
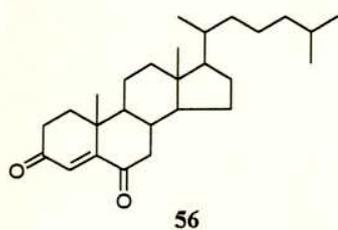


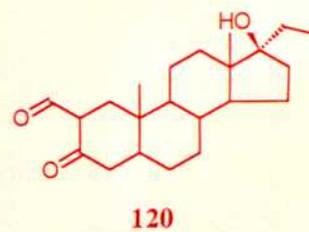
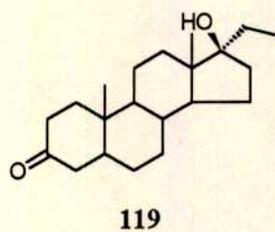
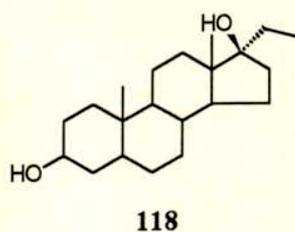
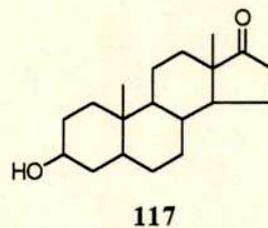
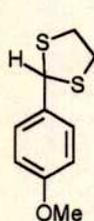
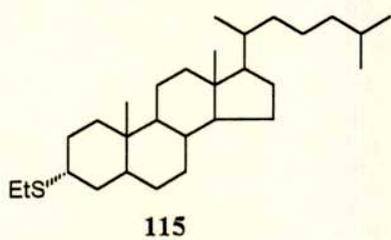
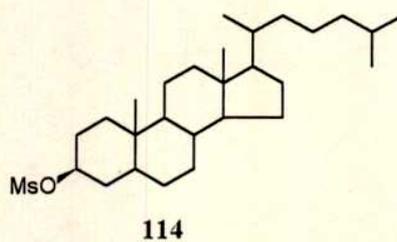
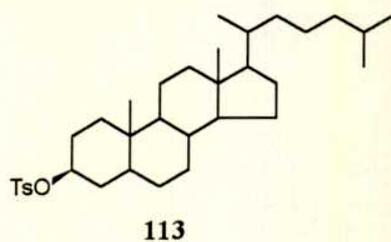
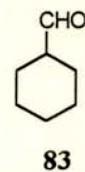
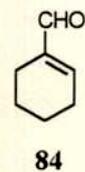
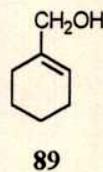
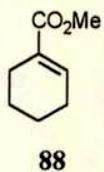
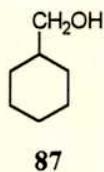
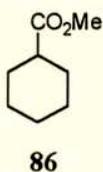
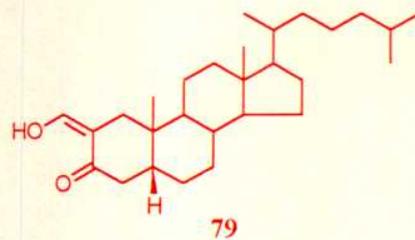
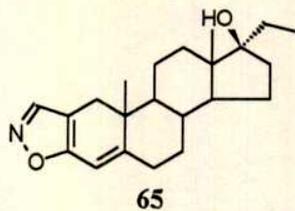
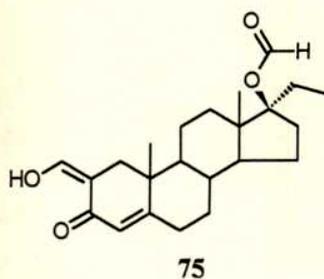
a: TBDMSCl, Imidazol, DMF; **b:** i) LiCA, THF, 0°C, ii) JIMPA, iii) CNCO₂Me; **c:** i) LiCA, Tolueno, 0°C, ii) HMPA, iii) Tf₂O, -78°C; **d:** EtSH, Na; **e:** DIBAL, Tolueno, -20°C; **f:** MnO₂, hexano, ultrasonido; **g:** NH₂OH.HCl, EtOH:Py 1:1; **h:** Ac₂O, Py, refl.; **i:** TBAF 1M, THF.

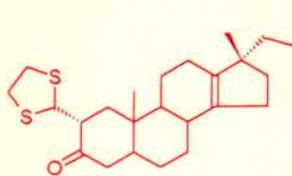
Esquema 15. Síntesis del androsta-2,4-dien [2,3-d] isotiazol (150).

Apéndice

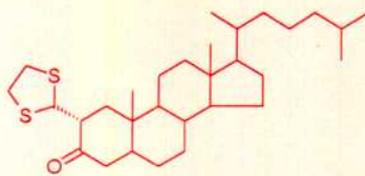
A continuación se indican las estructuras de los compuestos sintetizados durante el presente trabajo de tesis. Las estructuras destacadas en color corresponden a compuestos no descritos en literatura.



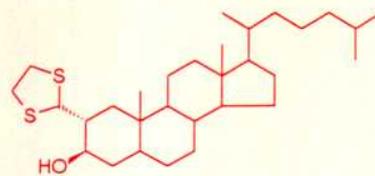




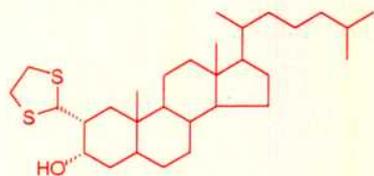
121



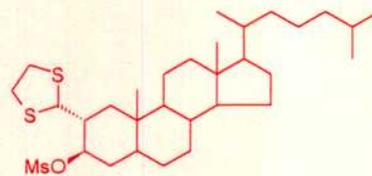
126



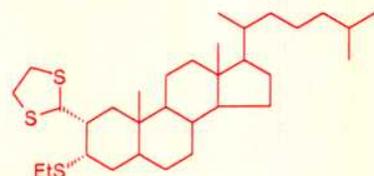
127



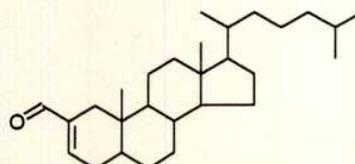
128



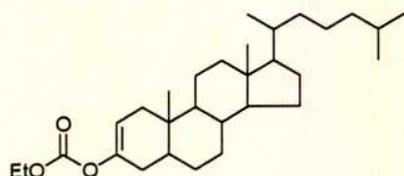
131



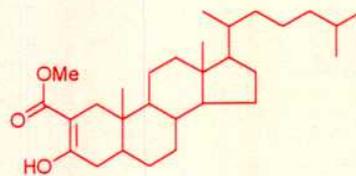
132



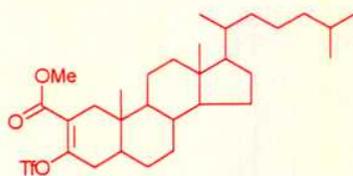
133



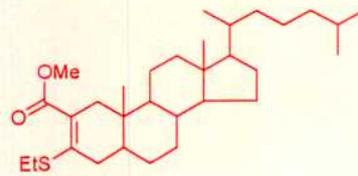
134



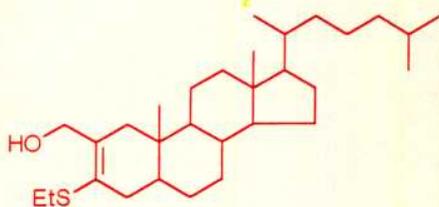
135



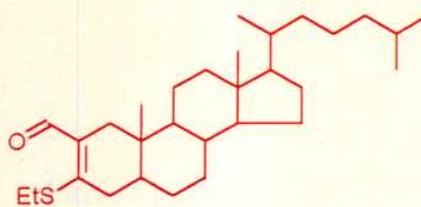
137



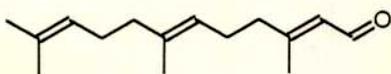
141



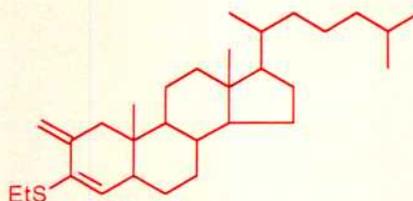
142



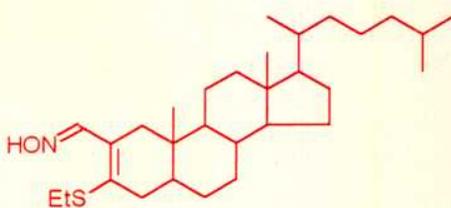
143



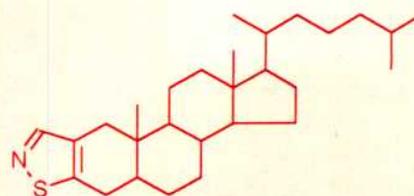
145



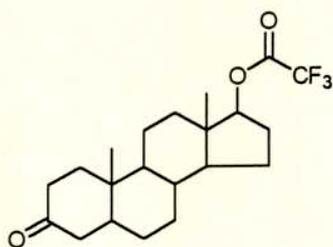
146



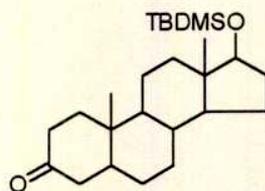
147



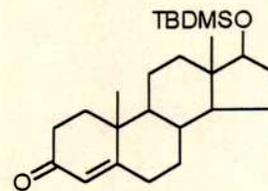
148



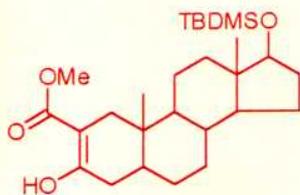
153



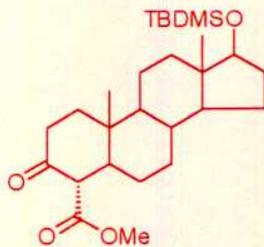
154



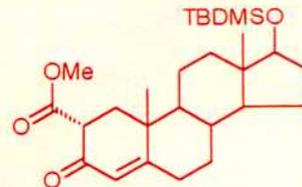
155



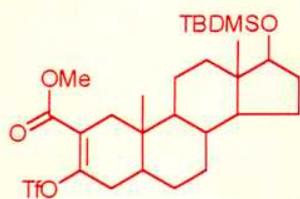
156



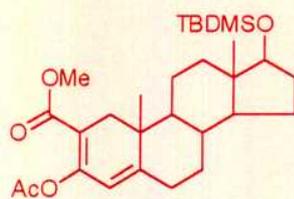
157



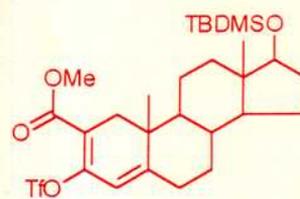
158



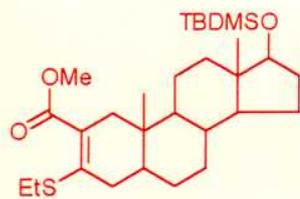
159



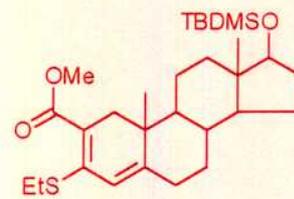
160



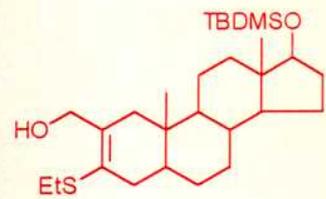
161



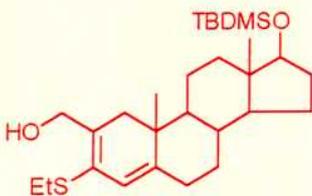
164



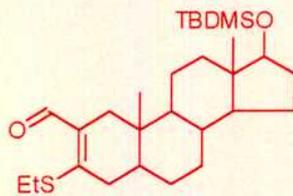
165



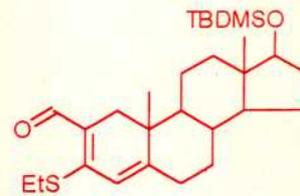
166



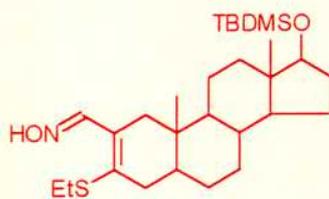
167



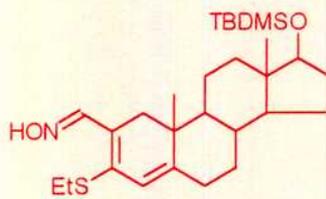
168



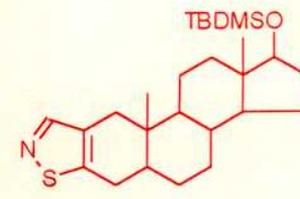
169



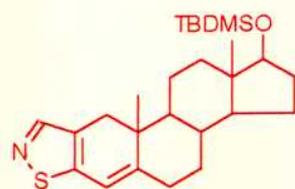
170



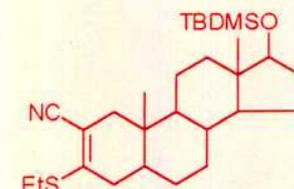
171



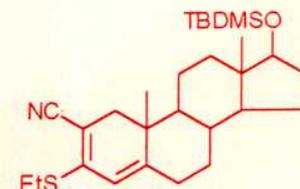
172



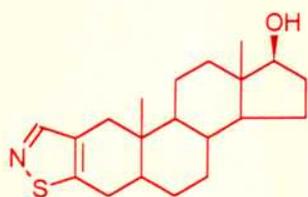
173



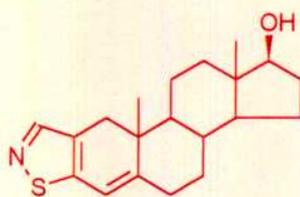
174



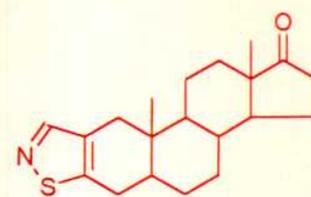
175



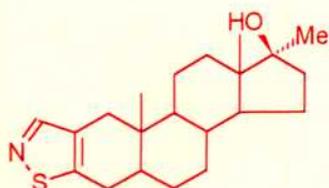
149a



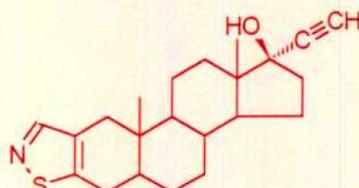
150



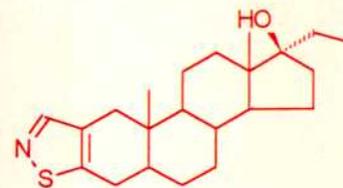
176



149b



149c



149e

Experimental

Generalidades

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 141 empleando una lámpara de sodio ($\lambda=589$ nm), en microceldas de 1 dm de longitud a temperatura ambiente, utilizando el solvente y la concentración que se indica en cada caso.

Los espectros UV se determinaron utilizando un espectrofotómetro Hewlett Packard 8451A con arreglo de diodos, en los solventes que se indican en cada caso.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN- ^1H) se realizaron a 100,1 MHz en un espectrómetro Varian XL-100-15 y a 200,1 MHz en un espectrómetro Bruker AC-200. Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN- ^{13}C) se realizaron a 25,2 MHz en un Varian XL-100-15 y a 50,3 MHz en un Bruker AC-200.

En todos los casos se utilizó cloroformo- d_1 como solvente, a menos que se indique otro solvente o mezcla de solventes, en tubos de 5 mm de diámetro.

Los desplazamientos químicos para RMN- ^1H se expresan en todos los casos en la escala δ , en ppm respecto de la resonancia del tetrametilsilano utilizado como referencia interna (0,00 ppm). Las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. Las señales se indican en cada caso como singulete (s), doblete (d), triplete (t), cuarteto (c), doble doblete (dd), multiplete (m) o singulete ancho (s_a). Los desplazamientos químicos para RMN- ^{13}C se expresan en ppm utilizando como referencia el pico central de la señal correspondiente al cloroformo- d_1 (77,0 ppm). Las señales acompañadas por los símbolos *, # y @ pueden ser intercambiadas. Las multiplicidades de las señales fueron determinadas por las técnicas de ecos de spin con desacople alternado (APT: test de protones vecinales) [Shoolery, 1984], desacople retrasado por pulso simple (SPDD: Single Pulse Delayed Decoupling)

[Bigler,1983] o incremento libre de distorsión por transferencia de polarización (DEPT) [Zilm, 1982].

Los espectros de masa por introducción directa se realizaron en los espectrómetros de masa Varian-MAT CH7-A y Trio-2 VG Masslab, ionizando por impacto electrónico a 70 eV. Los espectros de masa de alta resolución se realizaron en un espectrómetro ZAB-SEQ (BEqQ) (VG Analytical) utilizando el detector de tercera región libre de campo (LANAIS-EMAR, CONICET-FCEN, UBA).

Las cromatografías analíticas en capa delgada se realizaron sobre sílica gel como fase fija (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck). La detección se llevó a cabo pulverizando las placas con una solución de ácido sulfúrico 50% en agua y posterior calentamiento a 120°C.

Las cromatografías preparativas en capa delgada se efectuaron utilizando sílica gel como fase fija (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck).

Las cromatografías flash en columna se realizaron según la referencia [Clark Still, 1978] utilizando sílica gel (Silicagel 60, malla 230-400, Merck) y aplicando presión de aire para acelerar el paso del solvente.

Las cromatografías flash en columna seca se realizaron según la referencia [Harwood, 1985] empleando embudos con placa filtrante de vidrio sinterizado y haciendo vacío para acelerar el paso del solvente.

Los microanálisis fueron realizados por la Lic. Marta Marcote (UMYMFOR, CONICET-FCEN). Las muestras para microanálisis se secaron previamente a presión reducida en presencia de pentóxido de fósforo como desecante.

Los solventes para cromatografía en columna o en capa delgada fueron purificados por destilación fraccionada.

Los solventes anhidros se prepararon según las siguientes técnicas:

Benceno: se reflujo sobre cinta de sodio - benzofenona hasta coloración azul. Se destiló antes de usar.

Diclorometano: se reflujo sobre pentóxido de fósforo, destiló y guardó sobre tamices moleculares de 4Å.

Dimetilformamida: se secó previamente sobre hidruro de calcio, se destiló a presión reducida y se guardó sobre tamices moleculares de 4Å.

Piridina: se secó sobre hidróxido de potasio, se destiló y se guardó sobre hidruro de calcio.

Tetrahidrofurano: se secó previamente sobre hidruro de calcio, se destiló y se reflujo sobre cinta de sodio - benzofenona hasta coloración azul. Se destiló antes de usar.

Tolueno: se reflujo sobre cinta de sodio - benzofenona hasta coloración azul. Se destiló antes de usar.

Purificación de reactivos:

Acetato de sodio anhidro: se calentó acetato de sodio lentamente en una cápsula de porcelana hasta fusión de la sal. Luego de unos minutos se dejó enfriar en desecador, se molió y se guardó en un recipiente adecuado.

Dimetilsulfóxido: se secó sobre hidruro de calcio, se destiló a presión reducida y se guardó sobre hidruro de calcio fresco.

Etanotiol: se secó sobre cloruro de calcio anhidro.

Formiato de etilo: se trató con hidruro de calcio, se destiló y se guardó sobre hidruro de calcio fresco.

Hexametilfosforamida: se trató con hidruro de calcio y se destiló a presión reducida. La fracción principal se guardó sobre tamices moleculares de 4Å.

Isopropilciclohexilamina: se aplicó la misma técnica que para la hexametilfosforamida.

Trietilamina: se secó sobre hidróxido de potasio, destiló, reflujo sobre fenilisocianato (2%) y se destiló nuevamente. Se guardó sobre hidruro de calcio.

Preparación de reactivos:

4-colesten-3-ona (55): Se preparó una solución de colesterol (1 g) en acetona (400 ml). Se mantuvo a 0°C y se burbujeó nitrógeno a través de ella para remover el oxígeno disuelto. Se agregó gota a gota reactivo de Jones (0,65 ml) y luego de 5 minutos se agregó bisulfito de sodio (sol.sat.) y se extrajo con éter etílico. Las fases etéreas reunidas se lavaron con bicarbonato de sodio (sol.sat.) y agua, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se disolvió en acetona (150 ml) y se trató la solución con vapores de ácido clorhídrico concentrado durante 10 minutos. Se evaporó el solvente a sequedad obteniéndose la 4-colesten-3-ona con un rendimiento global del 90%.

5 α -colestan-3-ona (63): se obtuvo por tratamiento de 5 α -colestan-3 β -ol con el reactivo de Jones en acetona (10 minutos, temperatura ambiente).

Reactivo de Jones: se preparó de acuerdo a la referencia [Le, 1986]. Se disolvió CrO₃ (26,93 g) en agua destilada (50 ml) y se agregó cuidadosamente ácido sulfúrico concentrado (23 ml). La solución resultante se diluyó con agua hasta un volumen final de 100 ml.

Silica gel-Cloruro de tionilo: A una suspensión de silica gel (10 g) en diclorometano (20 ml) mantenida con agitación a temperatura ambiente, se agregó lentamente cloruro de tionilo (1,25 ml). Una vez finalizado el agregado, se continuó la agitación por una hora más y luego se evaporó el solvente a presión reducida (1 mm Hg).

Dióxido de manganeso activado: se preparó según el método de Mancera [Mancera, 1953]. Sobre una solución de MnSO₄ · 4 H₂O (76 g en 100 ml de agua) mantenida con agitación a 90°C, se agregó una solución concentrada de KMnO₄ (60 g en 300 ml de agua a 65°C) hasta persistencia de color violáceo en el sobrenadante. Se continuó agitando a 90°C por otros 15 minutos. El óxido se filtró, se lavó con agua caliente, metanol y éter etílico. El sólido obtenido se secó a 120-130°C durante una noche y se guardó en un frasco hermético de vidrio oscuro.

2-Hidroximetilen-4-colesten-3-ona (59):

A una solución de isopropilciclohexilamina (0,167 ml; 1,02 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (0,40 ml) mantenida a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno; se agregó una solución de n-BuLi 2,2 M en hexano (0,450 ml; 0,99 mmol). Luego de 15 minutos de reacción a 0°C se agregó 4-colesten-3-ona (0,3000 g; 0,78 mmol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (4,0 ml). La solución se mantuvo a 0°C durante 1,5 hs. Se agregó HMPA (0,150 ml; 0,86 mmol) y luego de 10 minutos se adicionó rápidamente formiato de etilo (0,63 ml; 77,98 mmol). La mezcla de reacción se dejó llegar a temperatura ambiente y se mantuvo a dicha temperatura por 3 hs. Se agregó ácido clorhídrico 2N (5 ml) y se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna flash (silica gel, diclorometano:éter de petróleo 8:2) se obtuvieron 0,3030 g (94%) del compuesto 59.

p.f.: 108,5-109,5°C (acetona-éter de petróleo) (lit. 109,5-111,5°C (pentano) [Weisenborn, 1954]).

RMN-¹H (ppm): 0,70 (3H, s, Me-18); 0,86 (6H, d, J=6,0, Me-26 y Me-27); 0,92 (3H, d, J=5,0, Me-21); 1,03 (3H, s, Me-19); 5,78 (1H, s_a, H-4); 7,38 (1H, s_a, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,9 (C-18); 18,0 (C-19); 18,6 (C-21); 21,4 (C-11); 22,5 (C-26); 22,8 (C-27); 23,8 (C-23); 24,2 (C-15); 28,0 (C-25); 28,1 (C-16); 31,4 (C-7); 32,5 (C-6); 35,7 (C-8 y C-20); 36,1 (C-22); 37,5 (C-1); 39,4 (C-12); 39,6 (C-24); 39,8 (C-10); 42,3 (C-13); 53,1 (C-9); 55,8 (C-14); 56,1 (C-17); 106,4 (C-2); 122,7 (C-4); 164,9 (C-2'); 170,2 (C-5); 188,9 (C-3).

EM (m/z,%): 412 (M+, 100); 397 (8); 384 (16); 369 (2); 299 (7).

Colesta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol (51):

A una solución del compuesto **59** (0,1500 g; 0,36 mmol) en etanol 95% (1,75 ml), se agregó una solución de acetato de sodio anhidro (0,0300 g; 0,36 mmol) y clorhidrato de hidroxilamina (0,0271 g; 0,39 mmol) en ácido acético (0,6 ml). La mezcla de reacción se mantuvo 1,5 hs. a reflujo bajo atmósfera de nitrógeno. Se diluyó con agua y se extrajo con éter etílico. Las fases orgánicas reunidas se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevaron a sequedad a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna flash (sílica gel, diclorometano:éter de petróleo 7:3) obteniéndose 0,1340 g (90%) del compuesto **51**.

p.f.: 112,5-113°C (metanol).

RMN-¹H (ppm): 0,71 (3H, s, Me-18); 0,86 (6H, d, J=6,0, Me-26 y Me-27); 0,92 (3H, d, J=5,0, Me-21); 1,00 (3H, s, Me-19); 2,47 (1H, d, J=16,0, H-1 α); 2,69 (1H, d, J=16,0, H-1 β); 6,15 (1H, s₂, H-4); 7,98 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,8 (C-18); 18,6 (C-19 y C-21); 21,5 (C-11); 22,4 (C-26); 22,7 (C-27); 23,7 (C-23); 24,2 (C-15); 27,9 (C-25); 28,1 (C-16); 31,1 (C-7); 32,3 (C-6); 33,2 (C-1); 35,6 (C-20); 36,0 (C-22); 36,2 (C-8); 39,3 (C-12); 39,7 (C-24); 40,9 (C-10); 42,3 (C-13); 54,1 (C-9); 55,7 (C-14); 56,0 (C-17); 107,3 (C-2); 108,3 (C-4); 148,3 (C-2''); 154,5 (C-5); 164,6 (C-3).

EM (m/z, %): 409 (M⁺, 100); 394 (4); 296 (10).

análisis elemental: calculado para C₂₈H₄₃NO, C: 82,10%, H: 10,58%, N: 3,42%; obtenido, C: 82,30%, H: 10,64%, N: 3,32%.

2-Hidroximetilen-5 α -colestán-3-ona (40):

Se empleó 5 α -colestán-3-ona (0,2600 g; 0,67 mmol) como sustrato y se utilizó la técnica descrita para el compuesto **59**. Luego de purificar el producto por cromatografía en

columna flash (silica gel, diclorometano:éter de petróleo 9:1) se obtuvieron 0,2700 g (97%) de 2-hidroximetilen-5 α -colestan-3-ona (**40**).

p.f.: 178-179°C (acetona-metanol) (lit. 179-180°C [Ruzicka, 1948]).

RMN-¹H (ppm): 0,68 (3H, s, Me-18); 0,76 (3H, s, Me-19); 0,87 (6H, d, J=6,0, Me-26 y Me-27); 0,92 (3H, d, J=5,0, Me-21); 2,33 (1H, d, J=14,0, H-1 β); 8,62 (1H, s_a, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,3 (C-19); 12,0 (C-18); 18,7 (C-21); 21,2 (C-11); 22,5 (C-26); 22,7 (C-27); 23,8 (C-23); 24,2 (C-15); 28,0 (C-25); 28,1 (C-6 y C-16); 31,4 (C-7); 35,1 (C-4); 35,5 (C-8 y C-10); 35,7 (C-20); 36,1 (C-22); 37,4 (C-1); 39,5 (C-24); 39,8 (C-12); 40,4 (C-5); 42,4 (C-13); 53,3 (C-9); 56,2 (C-14 y C-17); 107,7 (C-2); 183,6 (C-3); 187,6 (C-2').

EM (m/z, %): 414 (M⁺, 100); 399 (7); 386 (4); 316 (47); 314 (31); 301 (9); 274 (26); 259 (33).

5 α -Colestan [2,3-d] isoxazol (**41**):

Se aplicó la misma técnica que para el compuesto **51**. Se utilizó el 2-hidroximetilen derivado **40** (0,1000 g; 0,24 mmol) como material de partida. El producto de la reacción se purificó por cromatografía en columna flash (silica gel, diclorometano:éter de petróleo 8:2) recuperándose 0,0940 g (95%) del isoxazol **41**

p.f.: 117-118°C (metanol).

RMN-¹H (ppm): 0,68 (3H, s, Me-18); 0,74 (3H, s, Me-19); 0,87 (6H, d, J=6,0, Me-26 y Me-27); 0,93 (3H, d, J=5,0, Me-21); 2,02 (1H, d, J=15,0, H-1 α); 2,70 (1H, d, J=15,0, H-1 β); 8,08 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,4 (C-19); 11,9 (C-18); 18,7 (C-21); 21,2 (C-11); 22,5 (C-26); 22,7 (C-27); 23,8 (C-23); 24,2 (C-15); 25,1 (C-4); 28,0 (C-25); 28,1 (C-16); 29,2 (C-6); 31,6 (C-7); 32,5 (C-1); 35,7 (C-8 y C-20); 35,9 (C-10); 36,1 (C-22); 39,5 (C-24); 39,9 (C-12); 41,8 (C-5); 42,4 (C-13); 53,6 (C-9); 56,2 (C-14 y C-17); 114,3 (C-2); 153,4 (C-2'); 159,1 (C-3).

EM (m/z, %): 411 (M⁺, 22); 396 (10); 383 (100); 368 (17); 298 (7); 256 (65).

análisis elemental: calculado para $C_{28}H_{45}NO$, C: 81,69%, H: 11,02%, N: 3,40%; obtenido, C: 81,63%, H: 10,81%, N: 3,60%.

17 α -Etil-5-androsten-3 β ,17 β -diol (70):

A una solución de 5-androsten-3 β -ol-17-ona (1,0100 g; 3,51 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (140 ml), se agregó bromuro de etilo (1,05 ml; 14,07 mmol) y litio en alambre (0,3930 g; 56,14 mmol). La mezcla de reacción se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido (Testlab TB 32) durante una hora. La temperatura del baño se mantuvo entre 10 y 15°C por agregado de hielo. El litio en exceso se separó por filtración, se agregó cloruro de amonio (sol.sat.) y se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo obtenido se fraccionó por cromatografía en columna flash (sílica gel, diclorometano:metanol 95,5:0,5). La fracción eluida en primer término permitió obtener 0,8480 g (76%) del diol 70.

p.f.: 194,5-195,5°C (metanol) (lit. 199-200°C [Ruzicka, 1936]).

RMN-¹H (ppm):(CDCl₃:CD₃OD 9:1) 0,88 (3H, s, Me-18); 0,96 (3H, t, J=6,0, Me-21); 1,03 (3H, s, Me-19); 3,46 (1H, m, H-3); 5,43 (1H, m, H-6).

RMN-¹³C (ppm): (CDCl₃:CD₃OD 2:1) 8,0 (C-21); 14,9 (C-18); 19,7 (C-19); 21,4 (C-11); 24,3 (C-15); 29,2 (C-20); 31,7 (C-2); 32,0 (C-7); 32,4 (C-12); 33,1 (C-16); 33,5 (C-8); 37,2 (C-10); 38,0 (C-1); 42,4 (C-4); 47,3 (C-13); 50,9 (C-9); 51,7 (C-14); 71,7 (C-3); 83,9 (C-17); 121,7 (C-6); 141,4 (C-5).

EM (m/z,%): 318 (M⁺, 38); 300 (25); 289 (100); 285 (12); 271 (59); 267 (86); 253 (21).

De la fracción más polar se recuperaron 0,2120 g (21%) de la cetona de partida sin reaccionar.

17 α -Etil-5-androsten-17 β -ol-3-ona (72):

A una solución del diol **70** (0,5000 g; 1,57 mmol) en acetona (200 ml), se le burbujeó nitrógeno durante 20 minutos para remover el oxígeno disuelto. La solución se enfrió a 0°C y se agregó gota a gota reactivo de Jones (0,44 ml; 1,18 mmol). Una vez finalizado el agregado, se mantuvo la agitación durante 5 minutos. El burbujeo de nitrógeno a través de la solución se mantuvo durante toda la reacción. El exceso de reactivo se redujo por agregado de bisulfito de sodio (sol.sat.) y se extrajo con éter etílico. Las fases etéreas se reunieron y se lavaron con bicarbonato de sodio (sol.sat.) y agua; se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna flash (sílica gel, diclorometano). Se obtuvo una primer fracción que contenía la enona **72** (0,3470 g; 70%).

p.f.: 121-122°C (metanol).

RMN-¹H (ppm): 0,92 (3H, s, Me-18); 0,98 (3H, t, J=6,0, Me-21); 1,21 (3H, s, Me-19); 5,34 (1H, m, H-6).

RMN-¹³C (ppm): 7,8 (C-21); 14,5 (C-18); 19,1 (C-19); 21,0 (C-11); 23,7 (C-15); 28,8 (C-20); 31,3 (C-12); 31,6 (C-7); 32,8 (C-8); 33,5 (C-16); 36,9 (C-1 y C-10); 37,5 (C-2); 46,2 (C-13); 48,2 (C-4); 49,2 (C-9); 50,7 (C-14); 83,3 (C-17); 122,4 (C-6); 138,5 (C-5); 209,9 (C-3).

EM (m/z,%): 316 (M⁺, 100); 301 (5); 298 (8); 287 (15); 283 (5); 269 (6); 245 (22).

análisis elemental: calculado para C₂₁H₃₂O₂, C: 79,70%, H: 10,19%; obtenido, C: 79,92%, H: 10,04%.

La segunda fracción contenía 0,0990 g (20%) de la 17 α -etil-4-androsten-17 β -ol-3-ona **73**.

p.f.: 142°C (metanol) (lit. 143°C [Ruzicka, 1936]).

RMN-¹H (ppm): 0,92 (3H, s, Me-18); 0,98 (3H, t, J=7,0, Me-21); 1,20 (3H, s, Me-19); 5,74 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): 7,8 (C-21); 14,5 (C-18); 17,4 (C-19); 20,7 (C-11); 23,6 (C-15); 28,8 (C-20); 31,3 (C-12); 31,8 (C-7); 32,8 (C-6); 33,4 (C-16); 33,9 (C-2); 35,7 (C-1); 36,5 (C-8); 38,6 (C-10); 46,2 (C-13); 49,9 (C-14); 53,8 (C-9); 83,2 (C-17); 123,6 (C-4); 171,2 (C-5); 199,3 (C-3).

EM (m/z, %): 316 (M⁺, 100); 301 (5); 298 (10); 287 (16); 283 (3); 269 (5); 245 (31).

17 α -Etil-4-androsten-17 β -ol-3-ona (73):

Método A: utilizando vapores de ácido clorhídrico.

La enona 72 (0,3000 g; 0,95 mmol) se disolvió en acetona (50 ml). A través de esta solución se burbujearon vapores de ácido clorhídrico concentrado hasta que por análisis por c.c.d. se comprobó la desaparición del material de partida. El solvente se evaporó a presión reducida obteniéndose 0,3000 g (100%) del compuesto 73. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y se completó en, aproximadamente, 10 minutos.

Método B: utilizando alúmina básica.

A una solución de la enona 72 (0,3000 g; 0,95 mmol) en hexano:benceno 7:3 (150 ml) se agregó alúmina básica (15 g). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una hora, se filtró la alúmina y se lavó con acetona (3 x 50 ml). El extracto orgánico se llevó a sequedad obteniéndose 0,3000 g (100%) de la cetona α,β insaturada 73.

17 α -Etil-2-hidroximetilen-4-androsten-17 β -ol-3-ona (74):

A una solución de isopropilciclohexilamina (0,260 ml; 1,56 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (0,60 ml) mantenida a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno; se agregó una solución de n-BuLi 2,2 M en hexano (0,68 ml; 1,50 mmol). Luego de 15 minutos de reacción a 0°C se agregó la enona 73 (0,1900 g; 0,60 mmol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (3,0 ml). La solución se mantuvo a 0°C durante 1,5 hs. Se agregó HMPA (0,210 ml; 1,20 mmol) y luego de 10 minutos se adicionó rápidamente formiato de etilo (0,48 ml; 6,00 mmol). La mezcla de

reacción se llevó a temperatura ambiente y se mantuvo a dicha temperatura por 3 hs. Se agregó ácido clorhídrico 2N (5 ml) y se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna flash (sílica gel, diclorometano:éter de petróleo 9:1) obteniéndose 0,1860 g (90%) del 2-hidroximetileno esteroide **74** como un aceite homogéneo por c.c.d. que no pudo ser cristalizado.

RMN-¹H (ppm): 0,91 (3H, s, Me-18); 0,97 (3H, t, J=7,0, Me-21); 1,05 (3H, s, Me-19); 5,78 (1H, s_a, H-4); 7,38 (1H, s_a, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 7,7 (C-21); 14,4 (C-18); 18,0 (C-19); 21,1 (C-11); 23,6 (C-15); 28,7 (C-20); 31,1 (C-7); 31,3 (C-12); 32,4 (C-6); 33,4 (C-16); 36,5 (C-8); 37,5 (C-1); 39,9 (C-10); 46,2 (C-13); 49,9 (C-14); 53,1 (C-9); 83,2 (C-17); 106,3 (C-2); 122,7 (C-4); 165,0 (C-2'); 169,9 (C-5); 188,8 (C-3).

17 α -Etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol-17 β -ol (65):

Se aplicó la técnica descrita para el compuesto **51** utilizando como material de partida 17 α -etil-2-hidroximetileno-4-androsten-17 β -ol-3-ona (**74**) (0,2500 g; 0,73 mmol). Se obtuvieron 0,2160 g (87%) del isoxazol **65**.

p.f.: 147-148°C (acetona-éter de petróleo) (lit. 145-148,2°C (acetato de etilo) [Manson, 1963]).

RMN-¹H (ppm): 0,93 (3H, s, Me-18); 0,98 (3H, t, J=7,0, Me-21); 1,03 (3H, s, Me-19); 2,49 (1H, d, J=16,0, H-1 α); 2,71 (1H, d, J=16,0, H-1 β); 6,18 (1H, s_a, H-4); 8,00 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 7,7 (C-21); 14,4 (C-18); 18,6 (C-19); 21,2 (C-11); 23,6 (C-15); 28,6 (C-20); 30,8 (C-7); 31,4 (C-12); 32,2 (C-6); 33,2 (C-1 y C-16); 37,1 (C-8); 40,9 (C-10); 46,2 (C-13); 49,8 (C-14); 54,1 (C-9); 83,4 (C-17); 107,4 (C-2); 108,4 (C-4); 148,3 (C-2'); 154,5 (C-5); 164,6 (C-3).

EM (m/z, %): 341 (M⁺, 80); 326 (4); 323 (3); 312 (7); 308 (3); 294 (5); 256 (9); 149 (100).

5 α -Androstan-3 β -ol-17-ona (117):

A una suspensión de paladio 10% sobre carbón (0,5100 g) en acetato de etilo (80 ml) previamente saturada con hidrógeno durante una hora, se agregó la 5-androsten-3 β -ol-17-ona (5,0710 g; 17,61 mmol) y se mantuvo la mezcla con agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. Durante la reacción se mantuvo una presión de hidrógeno de 1,2 atmósferas. La suspensión se filtró por una columna corta de celite eluyendo la misma con acetato de etilo. Luego de evaporar el solvente a presión reducida se obtuvieron 5,0552 g (99%) de la hidroxiketona *117*.

p.f.: 170-172°C (metanol) (lit. 171-172°C [Cardwell, 1953]).

RMN-¹H (ppm): 0,85 (3H, s, Me-19); 0,88 (3H, s, Me-18); 3,61 (1H, m, H-3 α).

RMN-¹³C (ppm): 12,4 (C-19); 13,9 (C-18); 20,5 (C-11); 21,8 (C-15); 28,5 (C-6); 30,9 (C-7); 31,3 (C-2); 31,6 (C-12); 35,0 (C-8); 35,6 (C-10); 35,9 (C-16); 37,0 (C-1); 38,0 (C-4); 44,9 (C-5); 47,8 (C-13); 51,4 (C-14); 54,5 (C-9); 70,7 (C-3); 221,2 (C-17).

EM (m/z,%): 290 (M⁺, 100), 275 (12), 257 (15), 246 (30), 239 (14), 201 (14), 165 (16), 149 (30), 107 (76).

17 α -Etil-5 α -androstan-3 β ,17 β -diol (118):

El tratamiento de la cetona *117* (2,2164 g; 7,39 mmol) en las condiciones descriptas para la preparación del compuesto *70*, permitió obtener una mezcla del diol *118* y la hidroxiketona de partida. El crudo de reacción se recrystalizó de metanol obteniéndose 1,5847 g (65%) del 17 α -etil-5 α -androstan-3 β ,17 β -diol (*118*).

p.f.: 218-220°C (metanol) (lit. 221-222°C [Ruzicka, 1947]).

RMN-¹H (ppm): (CDCl₃:CD₃OD 9:1) 0,83 (3H, s, Me-19); 0,87 (3H, s, Me-18); 0,98 (3H, t, J=7,0, Me-21); 3,54 (1H, m, H-3 α).

RMN-¹³C (ppm): (CDCl₃:CD₃OD 8:2) 7,7 (C-21); 12,2 (C-19); 14,5 (C-18); 20,9 (C-11); 23,6 (C-15); 28,7 (C-6 y C-20); 31,2 (C-7); 31,5 (C-12); 31,9 (C-2); 33,0 (C-16); 35,5 (C-

10); 36,4 (C-8); 37,1 (C-1); 37,9 (C-4); 44,9 (C-5); 46,4 (C-13); 50,6 (C-14); 54,4 (C-9); 70,6 (C-3); 83,0 (C-17).

EM (m/z,%): 320 (M⁺, 19), 291 (100), 273 (15), 255 (15), 246 (19), 231 (33), 215 (26), 165 (38), 107 (73).

17 α -Etil-5 α -androstan-17 β -ol-3-ona (119):

A una solución del diol *118* (2,2000 g; 6,67 mmol) en acetona (350 ml), se agregó gota a gota reactivo de Jones hasta persistencia del color naranja del reactivo. Luego de 5 minutos a temperatura ambiente, se agregó bisulfito de sodio (sol.sat.) y se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se lavó con bicarbonato de sodio (sol.sat) y agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. se obtuvieron 2,1645 g (99%) del 3-cetoesteroide *119*.

p.f.: 145-146°C (metanol) (lit. 149.8-151.6°C [Clinton, 1961a]).

RMN-¹H (ppm): 0,91 (3H, s, Me-18); 0,98 (3H, t, J=7,0, Me-21); 1,04 (3H, s, Me-19).

RMN-¹³C (ppm): 8,0 (C-21); 11,6 (C-19); 14,7 (C-18); 21,3 (C-11); 23,8 (C-15); 29,0 (C-6 y C-20); 31,6 (C-7 y C-12); 33,6 (C-16); 35,8 (C-10); 36,3 (C-8); 38,2 (C-2); 38,7 (C-1); 44,7 (C-4); 46,5 (C-13); 46,8 (C-5); 50,4 (C-14); 53,9 (C-9); 83,5 (C-17); 211,9 (C-3).

EM (m/z,%): 318 (M⁺, 12), 300 (13), 289 (88), 271 (28), 247 (50), 231 (33), 123 (65), 85 (100), 81 (98).

17 α -Etil-2-hidroximetilen-5 α -androstan-17 β -ol-3-ona (120):

El 3-cetoesteroide *119* (1,8005 g; 5,49 mmol), se trató en las condiciones descriptas para la preparación del compuesto *74*. El crudo de reacción se fraccionó por cromatografía en columna flash (silicagel, hexano:acetato de etilo 7:3) obteniéndose 1,7980 g (92%) del 2-hidroximetilen derivado *120*.

p.f.: 115-117°C (metanol).

RMN-¹H (ppm): 0,80 (3H, s, Me-19); 0,91 (3H, s, Me-18); 0,99 (3H, t, J=7,0, Me-21); 2,36 (1H, d, J=14,0, H-1β); 8,63 (1H, s_a, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 8,0 (C-21); 11,5 (C-19); 14,6 (C-18); 21,1 (C-11); 23,7 (C-15); 28,2 (C-6); 28,9 (C-20); 31,4 (C-12[#]); 31,6 (C-7[#]); 33,6 (C-16); 35,4 (C-4*); 35,5 (C-10*); 36,4 (C-8); 37,5 (C-1); 40,5 (C-5); 46,4 (C-13); 50,4 (C-14); 53,5 (C-9); 83,4 (C-17); 107,8 (C-2); 183,5 (C-3); 188,0 (C-2').

EM (m/z,%): 346 (M⁺, 20), 317 (31), 275 (46), 176 (27), 174 (36), 123 (46), 107 (45), 85 (100).

17α-Etil-17β-metil-18-nor-5α-androst-13(14)-en-3-ona-2α-carboxaldehido ditiolano (121):

A una solución del cetoaldehido *120* (0,9401 g; 2,64 mmol) en benceno anhidro (27,5 ml), se agregó el catalizador de sílica gel-cloruro de tionilo (1,1163 g) y 1,2-etanoditiol (0,260 ml; 3,11 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas, luego de lo cual se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1N y agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. Se obtuvieron 1,0714 g (98%) del compuesto *121* como un aceite homogéneo por c.c.d. que no pudo ser cristalizado.

RMN-¹H (ppm): 0,76 (3H, t, J=7,0, Me-21); 0,95 (3H, s, Me-17β); 1,06 (3H, s, Me-19); 1,29 (2H, c, J=7,0, CH₂-20); 2,80 (1H, m, H-2); 3,16 (4H, s, SCH₂CH₂S); 4,82 (1H, d, J=8,0, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 9,2 (CH₂CH₃); 12,4 (C-19); 22,7 (C-11); 23,3 (C-15); 25,5 (C-20); 29,1 (C-6); 30,6 (CH₂CH₃); 31,3 (C-7); 32,1 (C-12*); 35,5 (C-16*); 36,6 (C-8); 36,7 (C-10); 38,6 (CH₂S); 38,9 (CH₂S); 43,5 (C-1[#]); 44,9 (C-4[#]); 48,2 (C-5); 49,3 (C-17); 51,6 (C-9); 52,5 (C-2'); 54,6 (C-2); 136,6 (C-13@); 139,6 (C-14@); 210,4 (C-3).

EM (m/z,%): 404 (M⁺, 25), 375 (72), 317 (11), 299 (75), 184 (22), 105 (100), 84 (43).

2-Carboximetil-5 α -colest-2-en-3-ol (135):

A una solución de isopropilciclohexilamina (0,560 ml; 3,41 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (7,0 ml) mantenida con agitación a -10°C bajo atmósfera de nitrógeno se agregó lentamente una solución de n-BuLi 2,35 M en hexano (1,33 ml; 3,13 mmol). Luego de 30 minutos de reacción a -10°C, se enfrió a -78°C y se agregó 5 α -colest-3-ona (1,0068 g; 2,61 mmol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (2,60 ml). Se dejó reaccionar 1,5 hs. a 0°C. La temperatura se llevó nuevamente a -78°C y se adicionó HMPA (0,46 ml; 2,64 mmol) y luego cianoformiato de metilo (0,25 ml; 3,15 mmol). Luego de agitar 10 minutos a -78°C se cortó la reacción agregando ácido clorhídrico 5% (26 ml) y se extrajo con éter etílico; la fase etérea se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo de reacción se fraccionó por cromatografía en columna flash (silica gel, hexano:acetato de etilo 94:4), obteniéndose 0,6241 g (54%) de compuesto puro.

p.f.: 129°C (acetona).

$[\alpha]_D$: +57,6° (c=1,3, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 256 nm, log ϵ = 3,98.

RMN-¹H (ppm): 0,67 (3H, s, Me-18); 0,74 (3H, s, Me-19); 0,87 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,91 (3H, d, J=6,5, Me-21); 1,78 (1H, d, J=16,0, H-1 α); 2,31 (1H, d, J=16,0, H-1 β); 3,74 (3H, s, MeO); 12,08 (1H, s, H-enólico).

RMN-¹³C (ppm): 11,6 (C-19); 12,0 (C-18); 18,7 (C-21); 21,2 (C-11); 22,6 (C-26); 22,8 (C-27); 23,9 (C-23); 24,2 (C-15); 28,0 (C-25); 28,1 (C-6); 28,2 (C-16); 31,5 (C-7); 33,3 (C-4); 34,7 (C-10); 35,4 (C-8); 35,8 (C-20); 36,2 (C-22); 36,8 (C-1); 39,5 (C-24); 39,9 (C-12); 40,8 (C-5); 42,4 (C-13); 51,3 (MeO); 53,6 (C-9); 56,3 (C-14*); 56,4 (C-17*); 96,3 (C-2); 170,9 (C-3); 173,3 (C-2').

EM (m/z,%): 444 (M⁺, 1); 386 (2); 368 (1); 213 (2); 95 (19); 81 (40); 69 (100).

EMAR: calculado para C₂₉H₄₈O₃, 444,3603; encontrado, 444,3593.

análisis elemental: calculado para C₂₉H₄₈O₃, C: 78,33%, H: 10,88%; obtenido, C: 78,83%, H: 10,22%.

2-Carboximetil-3-trifluorometansulfoniloxi-5 α -colest-2-eno (137):

En un balón de 100 ml, se pesó una dispersión de hidruro de sodio al 80% en aceite mineral (1,6632 g; 55,44 mmol). La suspensión se lavó con diclorometano anhidro (3x5 ml) y luego se agregó lentamente una solución del cetoéster *135* (2,1000 g; 4,73 mmol) en diclorometano anhidro (24 ml). La mezcla de reacción se mantuvo con agitación 2,5 hs. a temperatura ambiente luego se enfrió a -10°C y se adicionó lentamente anhídrido triflico (3,2 ml; 19,02 mmol). Finalizado el agregado se mantuvo a temperatura ambiente con agitación durante 12 hs. El exceso de hidruro de sodio se destruyó por agregado a 0°C, de éter etílico saturado con agua y posteriormente cloruro de amonio (sol.sat.). Se extrajo con éter etílico, se lavó la fase orgánica con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna seca (sílica gel, hexano:acetato de etilo 98:2) recuperándose 1,6890 g (62%) del viniltriflato *137*.
p.f.: 90-91°C (acetato de etilo).

$[\alpha]_D$: +51,5° (c=0,5, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 212 nm, log ϵ = 3,99; λ_{max} = 304 nm, log ϵ = 2,53.

RMN-¹H (ppm): 0,67 (3H, s, Me-18); 0,79 (3H, s, Me-19); 0,87 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,90 (3H, d, J=7,0, Me-21); 2,53 (1H, d, J=18,6, H-1 β); 3,80 (3H, s, MeO).

RMN-¹³C (ppm): 11,4 (C-19); 11,9 (C-18); 18,6 (C-21); 21,2 (C-11); 22,5 (C-26); 22,7 (C-27); 23,8 (C-23); 24,1 (C-15); 27,7 (C-6); 28,0 (C-25); 28,1 (C-16); 31,2 (C-7); 32,8 (C-4); 34,3 (C-10); 35,2 (C-8); 35,7 (C-20); 36,1 (C-22); 39,5 (C-24); 39,7 (C-12); 40,3 (C-1); 41,7 (C-5); 42,4 (C-13); 52,0 (MeO); 53,2 (C-9); 56,2 (C-14 y C-17); 118,3 (c,J=320,CF₃); 121,6 (C-2); 150,1 (C-3); 165,2 (C-2').

EM (m/z,%): 576 (M⁺, 1); 421 (7); 372 (3); 288 (2); 271 (4); 256 (5); 185 (7); 152 (9); 69 (88); 57 (100).

EMAR: calculado para C₃₀H₄₇F₃SO₅, 576,3096; encontrado, 576,3091.

análisis elemental: calculado para C₃₀H₄₇F₃SO₅, C: 62,48%, H: 8,21%, F: 9,88%; obtenido, C: 62,00%, H: 8,61%, F: 9,86%.

2-Carboximetil-3-tioetil-5 α -colest-2-eno (141):

En un balón conteniendo etanotiol (35 ml) a 0°C, se agregó sodio metálico (2,6748 g; 116,30 mmol) en pequeñas porciones. Luego que el sodio se consumió totalmente (30 minutos a 0°C), se agregó una solución del viniltriflato *137* (1,4454 g; 2,51 mmol) en etanotiol (40 ml). La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se mantuvo con agitación durante 15 hs. Se diluyó con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1N y agua; se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía flash en columna seca (sílica gel, hexano:acetato de etilo 98:2) obteniéndose 1,1633 g (95%) del tienoleter *141*.

p.f.: 116-117°C (metanol).

$[\alpha]_D^{25}$: +79,7° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 290 nm, log ϵ = 3,91.

RMN-¹H (ppm): 0,66 (3H, s, Me-18); 0,72 (3H, s, Me-19); 0,86 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,91 (3H, d, J=6,5, Me-21); 1,26 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,40 (1H, dd, J=18,2; 3,0, H-4 α); 2,47 (1H, d, J=17,0, H-1 β); 2,80 (2H, c, J=7,4, CH₃CH₂S); 3,73 (3H, s, MeO).

RMN-¹³C (ppm): 11,5 (C-19); 11,9 (C-18); 14,1 (CH₃CH₂S); 18,6 (C-21); 21,0 (C-11); 22,5 (C-26); 22,7 (C-27); 23,8 (C-23); 24,1 (C-15); 24,4 (CH₃CH₂S); 27,9 (C-25); 28,0 (C-6); 28,1 (C-16); 31,4 (C-7); 33,8 (C-10); 34,7 (C-4); 35,4 (C-8); 35,7 (C-20); 36,1 (C-

22); 39,5 (C-24); 39,8 (C-12); 41,4 (C-1); 41,6 (C-5); 42,4 (C-13); 51,1 (MeO); 53,5 (C-9); 56,2 (C-14*); 56,3 (C-17*); 120,3 (C-2); 148,2 (C-3); 168,1 (C-2').

EM (m/z,%): 488 (M⁺, 41); 459 (34); 457 (29); 429 (3); 427 (15); 301 (13); 161 (19); 157 (18); 95 (53); 81 (48); 69 (74); 57 (100).

EMAR: calculado para C₃₁H₅₂SO₂, 488,3688; encontrado, 488,3689.

análisis elemental: calculado para C₃₁H₅₂SO₂, C: 76,17%, H: 10,72%, S: 6,56%; obtenido, C: 76,51%, H: 10,65%, S: 6,83%.

2-Hidroximetil-3-tioetil-5 α -colest-2-eno (142):

A una solución del éster metílico **141** (0,8671 g; 1,78 mmol) en tolueno anhidro (15 ml) mantenida a -20°C bajo atmósfera de nitrógeno se agregó una solución de DIBAL 1,1 M en tolueno (4,0 ml; 4,40 mmol). Luego de 30 minutos de reacción a -20°C se agregó lentamente metanol (1 ml) seguido de ácido clorhídrico 1N (30 ml). Se extrajo con acetato de etilo, se lavó con cloruro de sodio (sol.sat.), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía flash en columna seca (sílica gel, hexano:acetato de etilo 96:4) obteniéndose 0,7356 g (90%) del alcohol alílico **142**.

p.f.: 78,5-79,5°C (acetona).

[α]_D: +79,9° (c=1,4, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 248 nm, log ϵ = 3,64.

RMN-¹H (ppm): 0,66 (3H, s, Me-18); 0,72 (3H, s, Me-19); 0,86 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,90 (3H, d, J=7,0, Me-21); 1,20 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,20 (1H, d, J=14,9, H-1 β); 2,66 (2H, c, J=7,3, CH₃CH₂S); 4,24 (1H, d, J=12,3, H-2'); 4,31 (1H, d, J=12,3, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,7 (C-19); 11,9 (C-18); 15,1 (CH₃CH₂S); 18,6 (C-21); 21,0 (C-11); 22,4 (C-26); 22,7 (C-27); 23,7 (C-23); 24,1 (C-15); 25,3 (CH₃CH₂S); 27,8 (C-25); 28,1

(C-6 y C-16); 31,5 (C-7); 34,4 (C-10); 35,3 (C-4 y C-8); 35,7 (C-20); 36,0 (C-22); 39,4 (C-24); 39,8 (C-12); 42,1 (C-5); 42,3 (C-13); 43,4 (C-1); 53,6 (C-9); 56,1 (C-14*); 56,3 (C-17*); 63,9 (C-2'); 125,8 (C-2); 138,5 (C-3).

EM (m/z,%): 460 (M⁺, 10); 442 (11); 431 (29); 413 (3); 399 (2); 381 (5); 314 (14); 236 (9); 153 (22); 109 (30); 95 (47); 81 (45); 69 (63); 57 (100).

EMAR: calculado para C₃₀H₅₂SO, 460,3739; encontrado, 460,3730.

análisis elemental: calculado para C₃₀H₅₂SO, C: 78,20%, H: 11,37%, S: 6,96%; obtenido, C: 77,60%, H: 11,14%, S: 7,12%.

3-Tioetil-5 α -colest-2(2'),3-dieno (146):

Una solución del alcohol alílico *142* (0,0887 g; 0,19 mmol) en diclorometano anhidro (5 ml) a la cual se agregó ácido oxálico (200 mg), se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido (Cole-Parmer 8850) durante 8 hs. La mezcla de reacción se diluyó con hexano, se lavó con bicarbonato de sodio (sol.sat.) y agua; se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró a través de sílica en un embudo de vidrio sinterizado y se evaporó el solvente a presión reducida. Se obtuvieron 0,0630g (74%) de un aceite homogéneo por c.c.d. que no pudo ser cristalizado.

$[\alpha]_D^{25}$: +28,6° (c=1,1, CHCl₃).

UV (2,2,4-trimetilpentano): λ_{max} = 236 nm, log ϵ = 3,69.

RMN-¹H (ppm): 0,66 (3H, s, Me-18); 0,71 (3H, s, Me-19); 0,86 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,91 (3H, d, J=6,6, Me-21); 1,24 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,48 (1H, d, J=14,2, H-1 β); 2,67 (2H, m, CH₃CH₂S) [por simulación, para el sistema ABX₃, se obtuvo: δ_A = 2,66 (1H, J_{AB}=13,0; J_{AX}=7,4) y δ_B = 2,69 (1H, J_{BA}=13,0; J_{BX}=7,4)]; 4,91 (1H, s_a, H-2'); 5,44 (1H, s_a, H-2'); 5,61 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): 12,1 (C-18); 12,4 (C-19); 14,3 (CH₃CH₂S); 18,7 (C-21); 21,3 (C-11); 22,6 (C-26); 22,8 (C-27); 23,9 (C-23); 24,2 (C-15); 26,7 (CH₃CH₂S); 27,2 (C-6); 28,0 (C-

25); 28,2 (C-16); 32,0 (C-7); 35,4 (C-8); 35,8 (C-20); 36,2 (C-22); 37,0 (C-10); 39,5 (C-24); 39,9 (C-12); 42,7 (C-13); 45,7 (C-1); 48,7 (C-5); 53,0 (C-9); 56,3 (C-14*); 56,4 (C-17*); 112,5 (C-2'); 130,7 (C-2); 136,3 (C-4); 141,7 (C-3).

EM (m/z,%): 442 (M⁺, 2); 386 (3); 301 (2); 275 (3); 255 (3); 236 (4); 213 (4); 137 (13); 95 (27); 81 (52); 69 (100).

3-Tioetil-5 α -colest-2-en-2-carboxaldehido (143):

A una solución del alcohol alílico **142** (0,4798 g; 1,04 mmol) en hexano (21 ml), se agregó dióxido de manganeso activado (3,1761 g; 36,51 mmol). La mezcla de reacción se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido (Cole-Parmer 8850) durante 5 hs. Se diluyó con acetato de etilo y se filtró a través de un embudo de vidrio sinterizado conteniendo, en la parte inferior una capa de silica gel y en la parte superior, una capa de sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía flash en columna seca (silica gel, hexano:acetato de etilo 99:1) recuperándose 0,3822 g (80%) del aldehido α,β insaturado **143**.

p.f.: 125-126°C (acetona).

$[\alpha]_D$: +106,7° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 304 nm, log ϵ = 3,87.

RMN-¹H (ppm): 0,66 (3H, s, Me-18); 0,68 (3H, s, Me-19); 0,86 (6H, d, J=6,5, Me-26 y Me-27); 0,91 (3H, d, J=6,5, Me-21); 1,27 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,45 (1H, dd, J=19,0; 3,3, H-4 α); 2,55 (1H, d, J=17,2, H-1 β); 2,84 (2H, c, J=7,3, CH₃CH₂S); 10,32 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,6 (C-19); 12,0 (C-18); 15,0 (CH₃CH₂S); 18,7 (C-21); 21,0 (C-11); 22,5 (C-26); 22,8 (C-27); 23,8 (C-23); 24,2 (C-15); 25,1 (CH₃CH₂S); 28,0 (C-25); 28,1 (C-6); 28,2 (C-16); 31,5 (C-7); 33,9 (C-10); 35,4 (C-8); 35,8 (C-20); 36,0 (C-4); 36,1 (C-22); 38,3 (C-1); 39,5 (C-24); 39,8 (C-12); 41,9 (C-5); 42,4 (C-13); 53,6 (C-9); 56,2 (C-14*); 56,3 (C-17*); 135,8 (C-2); 154,6 (C-3); 190,6 (C-2').

EM (m/z,%): 458 (M⁺, 1); 430 (2); 429 (5); 386 (1); 368 (1); 341 (1); 236 (2); 159 (2); 95 (18); 81 (42); 69 (100).

EMAR: calculado para C₃₀H₅₀SO, 458,3582; encontrado, 458,3580.

análisis elemental: calculado para C₃₀H₅₀SO, C: 78,54%, H: 10,98%, S: 6,99%; obtenido, C: 78,82%, H: 10,80%, S: 7,14%.

3-Tioetil-5 α -colest-2-en-2-carboxaldehido oxima (147):

A una solución del aldehido *143* (0,1586 g; 0,35 mmol) en piridina:etanol 1:1 (15 ml), se agregó clorhidrato de hidroxilamina (0,2406 g; 3,46 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con ácido clorhídrico 1N, bicarbonato de sodio (sol.sat.) y agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. Se obtuvieron 0,1617 g (99%) de la oxima *147*.

p.f.: 172°C (acetona).

[α]_D: +99,0° (c=1,3, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 236 nm, log ϵ = 4,06; λ_{\max} = 240 nm, log ϵ = 4,06; λ_{\max} = 288 nm, log ϵ = 4,00.

RMN-¹H (ppm): 0,66 (3H, s, Me-18); 0,73 (3H, s, Me-19); 0,86 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,90 (3H, d, J=8,0, Me-21); 1,21 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,30 (1H, dd, J=18,6; 4,0, H-4 α); 2,50 (1H, d, J=17,0, H-1 β); 2,71 (2H, c, J=7,3, CH₃CH₂S); 7,90 (1H, s_a, NOH); 8,66 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,8 (C-19); 12,0 (C-18); 15,2 (CH₃CH₂S); 18,7 (C-21); 21,0 (C-11); 22,6 (C-26); 22,8 (C-27); 23,9 (C-23); 24,2 (C-15); 25,8 (CH₃CH₂S); 28,0 (C-25); 28,2 (C-6 y C-16); 31,6 (C-7); 34,1 (C-10); 35,5 (C-8); 35,8 (C-20); 36,2 (C-4 y C-22); 39,5 (C-24); 39,9 (C-12); 40,2 (C-1); 42,1 (C-5); 42,5 (C-13); 53,7 (C-9); 56,3 (C-14*); 56,4 (C-17*); 131,1 (C-2); 137,6 (C-3); 150,6 (C-2').

EM (m/z,%): 455 ($M^+ - H_2O$, 11); 426 (4); 340 (1); 316 (5); 301 (5); 286 (2); 272 (7); 257 (4); 236 (11); 203 (7); 176 (6); 161 (14); 111 (29); 97 (55); 85 (36); 81 (48); 69 (80); 57 (100).

EMAR: calculado para $C_{30}H_{51}NSO$, 473,3691; encontrado, 473,3688.

análisis elemental: calculado para $C_{30}H_{51}NSO$, C: 76,05%, H: 10,85%, N: 2,96%, obtenido, C: 75,59%, H: 11,27%, N: 3,18%.

5 α -Colest [2,3-d] isotiazol (148):

A una solución de la oxima **147** (0,1312 g; 0,28 mmol) en piridina anhidra (4 ml) se agregó anhídrido acético (0,125 ml; 1,32 mmol). Se calentó a reflujo durante 5,5 hs. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se volcó sobre ácido clorhídrico 50% (25 ml) a 0°C y se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico combinado se lavó con agua, bicarbonato de sodio y agua; se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo de reacción se fraccionó por cromatografía en capa preparativa (sílica gel, diclorometano:hexano 75:25) obteniéndose 0,0830 g (70%) del isotiazol **148**.

p.f.: 109,5-110°C (metanol).

$[\alpha]_D$: +61,0° (c=1,3, $CHCl_3$).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 220 nm, log ϵ = 3,68; λ_{max} = 252 nm, log ϵ = 3,72.

RMN- 1H (ppm): 0,69 (3H, s, Me-18); 0,74 (3H, s, Me-19); 0,87 (6H, d, J=6,6, Me-26 y Me-27); 0,92 (3H, d, J=6,4, Me-21); 2,22 (1H, d, J=15,8, H-1 α); 2,44 (1H, ddd, J=17,6; 11,1; 2,0, H-4 β); 2,78 (1H, d, J=15,7, H-1 β); 2,83 (1H, dd, J=17,7; 4,5, H-4 α); 8,16 (1H, s, H-2').

RMN- ^{13}C (ppm): 11,6 (C-19); 12,0 (C-18); 18,7 (C-21); 21,1 (C-11); 22,5 (C-26); 22,8 (C-27); 23,8 (C-23); 24,2 (C-15); 27,8 (C-4); 28,0 (C-25); 28,2 (C-16); 28,8 (C-6); 31,6 (C-7);

35,6 (C-8); 35,8 (C-10 y C-20); 36,2 (C-22); 37,1 (C-1); 39,5 (C-24); 39,9 (C-12); 42,4 (C-13); 42,5 (C-5); 53,7 (C-9); 56,3 (C-14 y C-17); 133,2 (C-2); 157,3 (C-3); 157,8 (C-2').

EM (m/z,%): 427 (M⁺, 51); 412 (15); 314 (14); 287 (15); 272 (80); 258 (14); 204 (18); 176 (22); 162 (42); 152 (21); 148 (34); 123 (24); 113 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₅NS, 427,3273; encontrado, 427,3274.

análisis elemental: calculado para C₂₈H₄₅NS, C: 78,63%, H: 10,60%, N: 3,27%, S: 7,50%; obtenido, C: 78,86%, H: 10,39%, N: 3,17%, S: 7,16%.

17β-tert-Butildimetilsililoxi-5α-androstan-3-ona (154):

A una solución de 5α-androstan-17β-ol-3-ona (11,9794 g; 41,31 mmol) y *tert*-butildimetilclorosilano (22,7886 g; 151,22 mmol) en dimetilformamida anhidra (150 ml) a 0°C, se agregó imidazol (28,1755 g; 413,86 mmol) disuelto en dimetilformamida anhidra (100 ml). La mezcla de reacción se mantuvo con agitación 5 minutos a 0°C y se dejó llegar a temperatura ambiente manteniendo la agitación durante 2 hs. Se diluyó con hexano y la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida obteniéndose 16,6880 g (100%) del *tert*-butildimetilsililéter 154.

p.f.: 135-135,5 °C (acetona-agua).

[α]_D: +29,8° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 236 nm, log ε = 2,13.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,72 (3H, s, Me-18); 0,86 (9H, s, Me₃C-Si); 1,01 (3H, s, Me-19); 3,55 (1H, t, J=8,1, H-17α).

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,4 (C-19); 18,0 (Me₃C-Si); 21,1 (C-11); 23,5 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 28,8 (C-6); 30,9 (C-16); 31,3 (C-7); 35,5 (C-8); 35,7 (C-10); 37,1 (C-12); 38,1 (C-2); 38,6 (C-1); 43,3 (C-13); 44,7 (C-4); 46,8 (C-5); 50,5 (C-14); 54,1 (C-9); 81,7 (C-17); 211,7 (C-3).

EM (m/z,%): 347 (M⁺ -tBu, 78); 271 (62); 255 (6); 253 (5); 213 (4); 173 (6); 161 (43); 95 (19); 81 (23); 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₁H₃₅SiO₂ (M⁺ -tBu), 347,2406; encontrado, 347,2416.

17β-tert-Butildimetilsiloxi-4-androsten-3-ona (155):

Se aplicó la técnica descrita para la obtención del compuesto anterior utilizando como material de partida 4-androsten-17β-ol-3-ona (10,7657 g; 37,38 mmol). Se obtuvieron 14,7858 g (98%) del *tert*-butildimetilsililéter *155*.

p.f.: 142-142,5°C (metanol).

[α]_D: +89,7° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 238 nm, log ε = 4,29.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,74 (3H, s, Me-18); 0,87 (9H, s, Me₃C-Si); 1,18 (3H, s, Me-19); 3,55 (1H, t, J=8,1, H-17α); 5,72 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,6 (Me-Si); 11,2 (C-18); 17,3 (C-19); 17,9 (Me₃C-Si); 20,6 (C-11); 23,4 (C-15); 25,7 (Me₃C-Si); 30,8 (C-16); 31,5 (C-7); 32,7 (C-6); 33,9 (C-2); 35,6 (C-1 y C-8); 36,7 (C-12); 38,6 (C-10); 43,0 (C-13); 50,0 (C-14); 54,0 (C-9); 81,4 (C-17); 123,7 (C-4); 171,1 (C-5); 199,2 (C-3).

EM (m/z,%): 402 (M⁺, 0,4); 387 (1); 359 (1); 345 (100); 269 (10); 227 (3); 197 (4); 183 (7); 171 (12); 145 (10).

EMAR: calculado para C₂₅H₄₂SiO₂, 402,2954; encontrado, 402,2947; calculado para C₂₁H₃₃SiO₂, (M⁺ -tBu), 345,2250; encontrado, 345,2239.

17β-tert-Butildimetilsiloxi-2-carboximetil-5α-androst-2-en-3-ol (156):

Se empleó el 3-ceto esteroide *154* (7,4436 g; 18,42 mmol) como sustrato y se utilizó la técnica descrita para la preparación del compuesto *135*. El crudo de reacción se purificó por cromatografía flash en columna seca (silica gel). Por elución con hexano:acetato de etilo

98:2 se obtuvieron 4,9122 g (58%) de 17 β -*tert*-butildimetilsililoxi-2-carboximetil-5 α -androst-2-en-3-ol (**156**).

p.f.: 125,5-126°C (metanol).

$[\alpha]_D$: +50,0° (c=1,4, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 256 nm, log ϵ = 4,00.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,71 (3H, s, Me-18); 0,75 (3H, s, Me-19); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 2,32 (1H, d, J=15,5, H-1 β); 3,55 (1H, t, J=8,1, H-17 α); 3,74 (3H, s, MeO); 12,07 (1H, s, H-enólico).

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,6 (C-19); 18,1 (Me₃C-Si); 20,9 (C-11); 23,5 (C-15); 25,9 (Me₃C-Si); 28,0 (C-6); 30,9 (C-16); 31,1 (C-7); 33,3 (C-4); 34,8 (C-10); 35,5 (C-8); 36,9 (C-1); 37,2 (C-12); 41,0 (C-5); 43,2 (C-13); 50,6 (C-14); 51,3 (MeO); 54,0 (C-9); 81,8 (C-17); 96,3 (C-2); 170,9 (C-3); 173,3 (C-2').

EM (m/z,%): 462 (M⁺, 1); 405 (29); 387 (12); 373 (8); 329 (27); 297 (22); 201 (9); 161 (13); 147 (10); 95 (16); 93 (16); 81 (20); 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₇H₄₆SiO₄, 462,3165; encontrado, 462,3159.

análisis elemental: calculado para C₂₇H₄₆SiO₄, C: 70,08%, H: 10,02%; obtenido, C: 69,73%, H: 9,62%.

Un aumento de la polaridad del solvente de elución (hexano:acetato de etilo 9:1), permitió obtener 1,3356 g (16%) del 17 β -*tert*-butildimetilsililoxi-4 α -carboximetil-5 α -androstan-3-ona (**157**).

p.f.: 180-181°C (acetona).

$[\alpha]_D$: +12,9° (c=1,4, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 362 nm, log ϵ = 1,12.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (6H, s, Me₂-Si); 0,71 (3H, s, Me-18); 0,87 (9H, s, Me₃C-Si); 1,05 (3H, s, Me-19); 2,42 (2H, m, 2-CH₂); 3,26 (1H, d, J=12,9, H-4 β); 3,55 (1H, t, J=8,2, H-17 α); 3,74 (3H, s, MeO).

RMN-¹³C (ppm): -5,1 (Me-Si); -4,8 (Me-Si); 11,2 (C-18); 12,2 (C-19); 17,8 (Me₃C-Si); 20,7 (C-11); 23,2 (C-15); 25,6 (Me₃C-Si); 26,5 (C-6); 30,7 (C-16); 30,8 (C-7); 35,0 (C-8); 35,3 (C-10); 36,8 (C-12); 37,3 (C-2); 37,7 (C-1); 43,0 (C-13); 48,5 (C-5); 50,2 (C-14); 51,5 (MeO); 53,8 (C-9); 59,6 (C-4); 81,4 (C-17); 170,1 (C-4'); 205,4 (C-3).

EM (m/z,%): 405 (M⁺-tBu, 27); 345 (5); 329 (18); 269 (9); 201 (7); 161 (15); 147 (10); 115 (10); 81 (19); 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₇H₄₆SiO₄, 462,3165; encontrado, 462,3162.

17β-tert-Butildimetilsililoxi-2α-carboximetil-4-androsten-3-ona (158):

La enona *155* (7,5920 g; 18,89 mmol) se trató en las mismas condiciones descritas para la obtención del compuesto *135*. El producto de la reacción se purificó por cromatografía flash en columna seca (silica gel, hexano:acetato de etilo 9:1) obteniéndose 7,6144 g (88%) del cetoéster *158*.

p.f.: 157,5-158,5°C (metanol).

[α]_D: +104,4° (c=1,4, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 242 nm, log ε = 4,27; λ_{max} = 322 nm, log ε = 2,63.

RMN-¹H (ppm): 0,01 (6H, s, Me₂-Si); 0,74 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 1,22 (3H, s, Me-19); 3,47 (1H, dd, J=14,1; 5,2, H-2β); 3,56 (1H, t, J=8,0, H-17α); 3,77 (3H, s, MeO); 5,76 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,6 (Me-Si); 11,2 (C-18); 17,6 (C-19); 18,0 (Me₃C-Si); 20,5 (C-11); 23,4 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 30,8 (C-16); 31,4 (C-7); 32,6 (C-6); 35,6 (C-8); 36,7 (C-12); 38,7 (C-10); 38,8 (C-1); 43,0 (C-13); 50,0 (C-14); 50,1 (C-2); 52,0 (MeO); 54,2 (C-9); 81,4 (C-17); 122,7 (C-4); 171,1 (C-2*); 171,4 (C-5*); 193,3 (C-3).

EM (m/z,%): 460 (M⁺, 9); 403 (71); 371 (11); 345 (10); 327 (10); 295 (8); 251 (4); 236 (10); 179 (10); 173 (8); 159 (16); 147 (23); 121 (26); 95 (28); 83 (39); 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₇H₄₄SiO₄, 460,3009; encontrado, 460,2999.

17β-tert-Butildimetilsililoxi-2-carboximetil-3-trifluorometansulfoniloxi-5α-androst-2-eno (159):

A una solución de isopropilciclohexilamina (2,50 ml; 15,20 mmol) en tolueno anhidro (6,0 ml) mantenida con agitación a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno se agregó lentamente una solución de n-BuLi 2,2 M en hexano (6,60 ml; 14,52 mmol). Luego de 15 minutos de reacción a 0°C se agregó el compuesto **156** (5,3682 g; 11,62 mmol) disuelto en tolueno anhidro (58 ml). Al cabo de 1,5 hs. a 0°C, se enfrió a -78°C y se agregó sucesivamente HMPA (2,10 ml; 12,10 mmol) y anhídrido triflico (7,80 ml; 46,36 mmol). La mezcla se mantuvo con agitación durante una hora a -78°C, se agregó agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. El crudo de reacción se purificó por cromatografía flash en columna seca (sílica gel, hexano:acetonitrilo 98:2) y posteriormente por igual tratamiento en sílica de fase reversa (RP-18) utilizando acetonitrilo como solvente de elución. Se obtuvieron 4,3430 g (63%) del vinil triflato **159**.

p.f.: 167-168°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D^{25}$: +32,7° (c=1,0, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 214 nm, log ϵ = 3,98.

RMN-¹H (ppm): 0,01 (6H, s, Me₂-Si); 0,71 (3H, s, Me-18); 0,80 (3H, s, Me-19); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 2,54 (1H, d, J=16,8, H-1β); 3,55 (1H, t, J=7,9, H-17α); 3,79 (3H, s, MeO).

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,4 (C-19); 18,1 (Me₃C-Si); 20,9 (C-11); 23,5 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 27,6 (C-6); 30,9 (C-7 y C-16); 32,9 (C-4); 34,5 (C-10); 35,4 (C-8); 37,0 (C-12); 40,4 (C-1); 41,8 (C-5); 43,2 (C-13); 50,5 (C-14); 52,1 (MeO); 53,5 (C-9); 81,7 (C-17); 118,4 (c, J=325, CF₃); 121,6 (C-2); 150,1 (C-3); 165,2 (C-2').

EM (m/z, %): 537 (M⁺-tBu, 19), 461 (40), 431 (8), 253 (7), 201 (5), 161 (9), 147 (9), 105 (12), 75 (100).

EMAR: calculado para $C_{24}H_{36}F_3SSiO_6$ (M^+ -tBu), 537,1954; encontrado, 537,1953.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-2-carboximetil-3-trifluorometansulfoniloxiandrosta-2,4-dieno (161):

Por tratamiento del cetoéster **158** (5,9908 g; 13,02 mmol) en las condiciones descritas para la obtención del compuesto **159** se obtuvo un aceite que se fraccionó por cromatografía flash en columna seca (silica gel, hexano:acetato de etilo 97:3) y posteriormente por igual tratamiento en silica de fase reversa (RP-18) eluyendo con acetonitrilo. Se obtuvieron 5,0114 g (65%) del compuesto **161**.

p.f.: 134-135°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D$: +108,2° (c=1,0, $CHCl_3$).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 302 nm, $\log \epsilon$ = 4,01.

RMN- 1H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me_3C -Si); 0,99 (3H, s, Me-19); 2,89 (1H, d, J=16,9, H-1 β); 3,56 (1H, t, J=8,0, H-17 α); 3,81 (3H, s, MeO); 5,50 (1H, s_a, H-4).

RMN- ^{13}C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 17,0 (C-19); 18,1 (Me_3C -Si); 21,3 (C-11); 23,6 (C-15); 25,8 (Me_3C -Si); 30,4 (C-6); 30,9 (C-16); 31,3 (C-7); 36,0 (C-8); 36,9 (C-12); 38,0 (C-1); 38,6 (C-10); 43,2 (C-13); 50,1 (C-14); 51,9 (MeO); 54,4 (C-9); 81,6 (C-17); 113,2 (C-2); 114,4 (C-4); 118,4 (c, J=321, CF_3); 147,7 (C-3); 160,9 (C-5); 165,0 (C-2').

EM (m/z,%): 592 (M^+ , 1), 535 (32), 459 (30), 429 (9), 268 (8), 179 (7), 163 (7), 147 (22), 119 (13), 105 (13), 75 (100).

EMAR: calculado para $C_{28}H_{43}F_3SSiO_6$, 592,2502; encontrado, 592,2503.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-2-carboximetil-3-tioetil-5 α -androst-2-eno (164):

A una solución del viniltriflato **159** (3,8093 g; 6,41 mmol) en etanotiol (60 ml) mantenida con agitación a 0°C se agregó sodio metálico (0,729 g; 31,70 mmol). Finalizado el agregado, se llevó a temperatura ambiente y se mantuvo la agitación por una hora. Se agregó hidróxido de sodio 1N (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía flash en columna seca (silica gel, hexano:acetato de etilo 98:2) obteniéndose 3,0180 g (93%) del tioenoléter **164**.

p.f.: 157°C (metanol).

$[\alpha]_D^{25}$: +66,4° (c=1,1, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 290 nm, log ϵ = 3,97.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,70 (3H, s, Me-18); 0,73 (3H, s, Me-19); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 1,26 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,40 (1H, dd, J=18,1; 2,7, H-4 α); 2,48 (1H, d, J=17,0, H-1 β); 2,80 (2H, c, J=7,4, CH₃CH₂S); 3,55 (1H, t, J=8,1, H-17 α); 3,73 (3H, s, MeO).

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,6 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,6 (C-19); 14,1 (CH₃CH₂S); 18,0 (Me₃C-Si); 20,7 (C-11); 23,4 (C-15); 24,4 (CH₃CH₂S); 25,8 (Me₃C-Si); 27,9 (C-6); 30,8 (C-16); 31,1 (C-7); 33,9 (C-10); 34,7 (C-4); 35,4 (C-8); 37,1 (C-12); 41,5 (C-1); 41,7 (C-5); 43,1 (C-13); 50,5 (C-14); 51,1 (MeO); 53,9 (C-9); 81,7 (C-17); 120,6 (C-2); 147,7 (C-3); 168,1 (C-2').

EM (m/z,%): 506 (M⁺, 61), 477 (5), 475 (14), 449 (77), 417 (16), 373 (53), 359 (20), 343 (94), 341 (90), 201 (9), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₉H₅₀SSiO₃, 506,3250; encontrado, 506,3249.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-2-carboximetil-3-tioetilandrosta-2,4-dieno (165):

Se utilizó la técnica descrita para la obtención del compuesto **164** empleando como sustrato el triflato vinílico **161** (1,9029 g; 3,21 mmol). Se obtuvieron 1,4742 g (91%) del tioenoletar **165**.

p.f.: 142,5-143,5°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D$: +41,6° (c=1,1, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 248 nm, log ϵ = 3,88; λ_{\max} = 272 nm, log ϵ = 4,10; λ_{\max} = 342 nm, log ϵ = 3,87.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 0,90 (3H, s, Me-19); 1,28 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,84 (2H, c, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,87 (1H, d, J=16,4, H-1 β); 3,56 (1H, t, J=8,0, H-17 α); 3,74 (3H, s, MeO); 5,89 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,6 (Me-Si); 11,2 (C-18); 14,4 (CH₃CH₂S); 16,6 (C-19); 18,0 (Me₃C-Si); 21,4 (C-11); 23,6 (C-15); 25,0 (CH₃CH₂S); 25,8 (Me₃C-Si); 30,8 (C-6 y C-16); 31,6 (C-7); 36,1 (C-8); 37,0 (C-12); 37,8 (C-10); 38,6 (C-1); 43,1 (C-13); 50,2 (C-14); 51,1 (MeO); 54,5 (C-9); 81,6 (C-17); 114,6 (C-2); 116,5 (C-4); 144,9 (C-3); 154,9 (C-5); 167,8 (C-2').

EM (m/z,%): 504 (M⁺, 100), 475 (34), 473 (21), 447 (42), 443 (8), 415 (29), 371 (9), 357 (70), 341 (46), 339 (45), 195 (42), 165 (24).

EMAR: calculado para C₂₉H₄₈SSiO₃, 504,3093; encontrado, 504,3095.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-2-hidroxi-3-tioetil-5 α -androst-2-eno (166):

El éster metílico **164** (2,0943 g; 4,14 mmol) se redujo en las condiciones descritas para la obtención del compuesto **142**. Se obtuvieron 1,9191 g (97%) de un sólido homogéneo por c.c.d. que se utilizó, sin purificación previa, para la siguiente reacción.

p.f.: 118,5-119,5°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D$: +67,9° (c=1,0, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 250 nm, log ϵ = 3,61.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,70 (3H, s, Me-18); 0,74 (3H, s, Me-19); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 1,20 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,20 (1H, d, J=16,0, H-1 β); 2,67 (2H, c, J=7,3, CH₃CH₂S); 3,54 (1H, t, J=8,0, H-17 α); 4,24 (1H, d, J=12,0, H-2'); 4,32 (1H, d, J=12,0, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -5,0 (Me-Si); -4,7 (Me-Si); 11,2 (C-18); 11,6 (C-19); 15,1 (CH₃CH₂S); 17,8 (Me₃C-Si); 20,6 (C-11); 23,3 (C-15); 25,2 (CH₃CH₂S); 25,6 (Me₃C-Si); 27,9 (C-6); 30,7 (C-16); 31,1 (C-7); 34,4 (C-10); 35,4 (C-4 y C-8); 36,9 (C-12); 42,2 (C-5); 43,0 (C-13); 43,3 (C-1); 50,4 (C-14); 53,9 (C-9); 63,7 (C-2'); 81,6 (C-17); 125,7 (C-2); 138,4 (C-3).

EM (m/z,%): 478 (M⁺, 59), 460 (5), 449 (57), 421 (21), 345 (87), 327 (35), 317 (19), 265 (17), 196 (24), 161 (17), 119 (30), 105 (40), 93 (41), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₈SSiO (M⁺ -H₂O), 460,3195; encontrado, 460,3186.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-2-hidroxi-3-tioetilandrosta-2,4-dieno (167):

Se empleó la técnica descrita para la preparación del alcohol alílico *142* utilizando el éster metílico *165* (0,7693 g; 1,53 mmol) como material de partida. Se obtuvieron 0,6830 g (94%) del compuesto *167* como un aceite que no pudo ser cristalizado.

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 250 nm, log ϵ = 3,82.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 0,91 (3H, s, Me-19); 1,19 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,46 (1H, d, J=16,5, H-1 β); 2,65 (2H, m, CH₃CH₂S) [por simulación para el sistema ABX₃, se obtuvo: δ_A = 2,62 (1H, J_{AB}=13,0; J_{AX}=7,3) y δ_B = 2,68 (1H, J_{BA}=13,0; J_{BX}=7,3)]; 3,56 (1H, t, J=8,1, H-17 α); 4,28 (1H, d, J=12,4, H-2'); 4,49 (1H, d, J=12,4, H-2'); 5,62 (1H, s_a, H-4).

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 15,2 (CH₃CH₂S); 17,0 (C-19); 18,1 (Me₃C-Si); 21,4 (C-11); 23,6 (C-15); 25,9 (Me₃C-Si); 27,0 (CH₃CH₂S); 30,9 (C-6 y

C-16); 31,0 (C-7); 36,3 (C-8); 37,1 (C-12); 37,9 (C-10); 41,9 (C-1); 43,2 (C-13); 50,3 (C-14); 54,9 (C-9); 63,8 (C-2'); 81,7 (C-17); 120,3 (C-4); 123,9 (C-2); 136,2 (C-3); 147,6 (C-5).

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-3-tioetil-5 α -androst-2-en-2-carboxaldehido (168):

A una solución del alcohol alílico *166* (1,7200 g; 3,60 mmol) en hexano (250 ml), se agregó dióxido de manganeso (3,1 g; 35,63 mmol). La mezcla de reacción se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido (Cole-Parmer 8850). Se repitió la adición de igual cantidad de dióxido de manganeso a intervalos de una hora hasta comprobar por c.c.d. la desaparición del material de partida. La temperatura del baño se mantuvo por agregado de hielo por debajo de 40°C. Luego de seis horas la mezcla se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se filtró a través de un embudo de vidrio sinterizado conteniendo una capa de silica gel. Se evaporó el solvente a presión reducida obteniéndose 1,5758 g (92%) del aldehido α,β insaturado *168*.

p.f.: 157-158°C (acetona).

$[\alpha]_D^{25}$: +94,5° (c=0,9, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 304 nm, log ϵ = 3,98.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,69 (3H, s, Me-19); 0,70 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 1,28 (3H, t, J=7,4, CH₃CH₂S); 2,46 (1H, dd, J=19,0; 3,1, H-4 α); 2,57 (1H, d, J=17,2, H-1 β); 2,85 (2H, c, J=7,4, CH₃CH₂S); 3,55 (1H, t, J=8,0, H-17 α); 10,32 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,9 (Me-Si); -4,6 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,6 (C-19); 15,0 (CH₃CH₂S); 18,0 (Me₃C-Si); 20,7 (C-11); 23,4 (C-15); 25,0 (CH₃CH₂S); 25,8 (Me₃C-Si); 27,9 (C-6); 30,8 (C-16); 31,1 (C-7); 34,0 (C-10); 35,5 (C-8); 36,0 (C-4); 36,9 (C-12); 38,3 (C-1); 42,0 (C-5); 43,1 (C-13); 50,5 (C-14); 53,8 (C-9); 81,7 (C-17); 135,6 (C-2); 154,4 (C-3); 190,5 (C-2').

EM (m/z,%): 476 (M⁺, 5), 475 (1), 447 (8), 419 (57), 343 (44), 315 (10), 201 (13), 195 (16), 161 (14), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₈SSiO₂, 476,3144; encontrado, 476,3145.

17β-tert-Butildimetilsililoxi-3-tioetilandrosta-2,4-dien-2-carboxaldehido (169):

El compuesto *167* (1,2200 g; 2,56 mmol) se oxidó en las condiciones descritas para la obtención del compuesto anterior. Se obtuvieron 0,5831 g (48%) del aldehido diinsaturado *169*.

p.f.: 137,5-139°C (acetona).

[α]_D: +117,5° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 294 nm, log ε = 4,02; λ_{max} = 340 nm, log ε = 3,94.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,88 (12H, s, Me₃C-Si y Me-19); 1,26 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,85 (2H, m, CH₃CH₂S) [por simulación para el sistema ABX₃, se obtuvo: δ_A = 2,81 (1H, J_{AB}=13,0; J_{AX}=7,3) y δ_B = 2,89 (1H, J_{BA}=13,0; J_{BX}=7,3)]; 2,94 (1H, d, J=16,4, H-1β); 3,56 (1H, t, J=8,1, H-17α); 5,90 (1H, s_a, H-4); 10,26 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,2 (C-18); 15,1 (CH₃CH₂S); 17,0 (C-19); 18,0 (Me₃C-Si); 21,2 (C-11); 23,6 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 26,2 (CH₃CH₂S); 30,9 (C-6 y C-16); 31,8 (C-7); 35,4 (C-1); 36,1 (C-8); 36,9 (C-12); 38,3 (C-10); 43,2 (C-13); 50,1 (C-14); 54,7 (C-9); 81,6 (C-17); 119,3 (C-4); 130,7 (C-2); 148,4 (C-3); 158,9 (C-5); 189,5 (C-2').

EM (m/z,%): 474 (M⁺, 39), 445 (56), 417 (53), 341 (6), 313 (7), 194 (20), 165 (21), 147 (20), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₆SSiO₂, 474,2988; encontrado, 474,2988.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-3-tioetil-5 α -androst-2-en-2-carboxaldehido oxima
(170):

El aldehido α,β insaturado 168 (0,5498 g; 1,16 mmol) se disolvió en piridina:etanol 1:1 (33 ml). Se adicionó clorhidrato de hidroxilamina (0,9200 g; 13,24 mmol) y la solución se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con ácido clorhídrico 1N, bicarbonato de sodio (sol. sat.) y agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. Se obtuvieron 0,5628 g (99%) de la oxima 170.

p.f.: 159-160,5°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D^{25}$: +82,5° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 236 nm, log ϵ = 4,04; λ_{\max} = 290 nm, log ϵ = 3,96.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,70 (3H, s, Me-18); 0,74 (3H, s, Me-19); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 1,21 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,31 (1H, dd, J=18,6; 3,5, H-4 α); 2,52 (1H, d, J=17,2, H-1 β); 2,71 (2H, c, J=7,4, CH₃CH₂S); 3,55 (1H, t, J=8,1, H-17 α); 7,78 (1H, s_a, NOH); 8,66 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,9 (C-19); 15,2 (CH₃CH₂S); 18,1 (Me₃C-Si); 20,7 (C-11); 23,5 (C-15); 25,7 (CH₃CH₂S); 25,9 (Me₃C-Si); 28,1 (C-6); 30,9 (C-16); 31,2 (C-7); 34,2 (C-10); 35,5 (C-8); 36,1 (C-4); 37,1 (C-12); 40,2 (C-1); 42,2 (C-5); 43,2 (C-13); 50,6 (C-14); 54,0 (C-9); 81,8 (C-17); 130,9 (C-2); 137,6 (C-3); 150,4 (C-2').

EM (m/z,%): 491 (M⁺, 10), 474 (24), 462 (47), 434 (3), 416 (18), 388 (15), 358 (42), 342 (18), 312 (13), 201 (11), 95 (25), 81 (28), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₉NSiO₂, 491,3253; encontrado, 491,3260.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-3-tioetilandrosta-2,4-dien-2-carboxaldehido oxima (171):

Se utilizó la técnica descrita para la preparación de la oxima *170* empleando como sustrato el aldehido diinsaturado *169* (0,3637 g; 0,77 mmol). Se obtuvieron 0,3527 g (94%) del compuesto *171*.

p.f.: 85,5-86,5°C (acetonitrilo).

$[\alpha]_D$: +9,6° (c=0,8, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 216 nm, log ϵ = 4,09; λ_{\max} = 328 nm, log ϵ = 4,07.

RMN-¹H (ppm): 0,00 (3H, s, Me-Si); 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,88 (9H, s, Me₃C-Si); 0,90 (3H, s, Me-19); 1,20 (3H, t, J=7,3, CH₃CH₂S); 2,08 (1H, d, J=16,6, H-1 α); 2,70 (2H, m, CH₃CH₂S) [por simulación para el sistema ABX₃, se obtuvo: δ_A = 2,66 (1H, J_{AB}=12,0; J_{AX}=7,3) y δ_B = 2,74 (1H, J_{BA}=12,0; J_{BX}=7,3)]; 2,87 (1H, d, J=16,4, H-1 β); 3,56 (1H, t, J=8,0, H-17 α); 5,77 (1H, s_a, H-4); 8,64 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 15,2 (CH₃CH₂S); 17,4 (C-19); 18,1 (Me₃C-Si); 21,3 (C-11); 23,6 (C-15); 25,9 (Me₃C-Si); 27,2 (CH₃CH₂S); 30,9 (C-6*); 31,0 (C-16*); 31,3 (C-7); 36,2 (C-8); 37,1 (C-12); 37,8 (C-10); 38,0 (C-1); 43,2 (C-13); 50,2 (C-14); 54,7 (C-9); 81,7 (C-17); 120,7 (C-4); 128,1 (C-2); 133,1 (C-3); 150,5 (C-2'); 152,2 (C-5).

EM (m/z,%): 489 (M⁺, 48), 472 (38), 460 (18), 444 (5), 414 (5), 386 (7), 356 (5), 340 (5), 183 (12), 162 (23), 75 (100).

EMAR: calculado para C₂₈H₄₇SNSiO₂, 489,3097; encontrado, 489,3092.

17 β -tert-Butildimetilsililoxi-5 α -androst [2,3-d] isotiazol (172):

La oxima *170* (0,4102 g; 0,84 mmol) se sometió a las condiciones de reacción empleadas para la obtención del isotiazol *148*. El crudo de reacción se purificó por

cromatografía en capa preparativa (silica gel, diclorometano:hexano 60:40) obteniéndose 0,2751 g (74%) del isotiazol *172*.

p.f.: 131,5-133°C (metanol).

$[\alpha]_D$: +52,3° (c=1,0, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 220 nm, log ϵ = 3,59; λ_{\max} = 252 nm, log ϵ = 3,63.

RMN-¹H (ppm): 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,02 (3H, s, Me-Si); 0,73 (3H, s, Me-18); 0,75 (3H, s, Me-19); 0,89 (9H, s, Me₃C-Si); 2,21 (1H, d, J=15,8, H-1 α); 2,45 (1H, ddd, J=17,6; 11,6; 1,9, H-4 β); 2,79 (1H, d, J=15,6, H-1 β); 2,84 (1H, dd, J=17,4; 5,0, H-4 α); 3,57 (1H, t, J=8,1, H-17 α); 8,17 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 11,6 (C-19); 18,0 (Me₃C-Si); 20,7 (C-11); 23,5 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 27,8 (C-4); 28,7 (C-6); 30,9 (C-16); 31,2 (C-7); 35,7 (C-8 y C-10); 37,0 (C-1*); 37,1 (C-12*); 42,5 (C-5); 43,1 (C-13); 50,5 (C-14); 53,9 (C-9); 81,7 (C-17); 133,1 (C-2); 157,2 (C-3); 157,8 (C-2').

EM (m/z, %): 388 (M⁺-tBu, 100), 312 (62), 201 (7), 162 (11), 111 (20), 75 (97).

EMAR: calculado para C₂₂H₃₄SNSiO (M⁺-tBu), 388,2130; encontrado, 388,2140.

17 β -tert-Butildimetilsililoxiandrosta-2,4-dien [2,3-d] isotiazol (173):

Se empleó la técnica descrita para la preparación del isotiazol *148* utilizando como material de partida la oxima *171* (0,2100 g; 0,43 mmol). El crudo de reacción se fraccionó por cromatografía en capa preparativa (silica gel, diclorometano:hexano 60:40) obteniéndose 0,1332 g (70%) del isotiazol *173* como un aceite homogéneo por c.c.d. que no pudo ser cristalizado.

$[\alpha]_D$: +64,8° (c=1,1, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 260 nm, log ϵ = 4,02; λ_{\max} = 298 nm, log ϵ = 3,92.

RMN-¹H (ppm): 0,01 (3H, s, Me-Si); 0,02 (3H, s, Me-Si); 0,76 (3H, s, Me-18); 0,89 (9H, s, Me₃C-Si); 0,94 (3H, s, Me-19); 2,49 (1H, d, J=15,6, H-1α); 3,00 (1H, d, J=15,6, H-1β); 3,58 (1H, t, J=8,1, H-17α); 6,26 (1H, s_a, H-4); 8,14 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): -4,8 (Me-Si); -4,5 (Me-Si); 11,3 (C-18); 17,7 (C-19); 18,1 (Me₃C-Si); 21,3 (C-11); 23,6 (C-15); 25,8 (Me₃C-Si); 30,9 (C-6 y C-16); 32,0 (C-7); 35,8 (C-1); 36,4 (C-8); 37,0 (C-12); 40,1 (C-10); 43,2 (C-13); 50,1 (C-14); 54,5 (C-9); 81,6 (C-17); 111,2 (C-4); 129,8 (C-2); 150,6 (C-5); 155,7 (C-3); 156,0 (C-2').

5α-Androstan [2,3-d] isotiazol-17β-ol (149a):

El *tert*-butildimetilsililéter **172** (0,2445 g; 0,55 mmol) se trató con una solución de fluoruro de tetra *n*-butilamonio 1M en tetrahidrofurano anhidro (5,5 ml; 5,5 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, luego de lo cual se diluyó con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. Se obtuvieron 0,1820 g (100%) del 17β-hidroxiisotiazol **149a**.

p.f.: 220-221°C (acetona).

[α]_D: +65,5° (c=1,1, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 220 nm, log ε = 3,59; λ_{max} = 252 nm, log ε = 3,64.

RMN-¹H (ppm): 0,76 (3H, s, Me-18*); 0,77 (3H, s, Me-19*); 2,23 (1H, d, J=16,1, H-1α); 2,45 (1H, ddd, J=17,2; 11,0; 1,5, H-4β); 2,80 (1H, d, J=15,6, H-1β); 2,85 (1H, dd, J=17,4; 3,8, H-4α); 3,65 (1H, t, J=8,3, H-17α); 8,16 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,0 (C-18); 11,5 (C-19); 20,6 (C-11); 23,3 (C-15); 27,6 (C-4); 28,5 (C-6); 30,3 (C-16); 31,0 (C-7); 35,5 (C-8); 35,6 (C-10); 36,5 (C-12); 37,0 (C-1); 42,4 (C-5); 42,7 (C-13); 50,7 (C-14); 53,6 (C-9); 81,5 (C-17); 133,0 (C-2); 157,1 (C-3); 157,7 (C-2').

EM (m/z,%): 331 (M⁺, 100), 316 (17), 313 (13), 298 (14), 288 (13), 287 (13), 272 (33), 201 (34), 150 (35), 113 (64), 111 (73).

EMAR: calculado para C₂₀H₂₉SNO, 331,1970; encontrado, 331,1967.

análisis elemental: calculado para C₂₀H₂₉SNO, C: 72,46%, H: 8,82%, N: 4,23%, S: 9,67%;
obtenido, C: 72,30%, H: 9,01%, N: 4,51%, S: 9,92%..

Androsta-2,4-dien [2,3-d] isotiazol-17β-ol (150):

El *tert*-butildimetilsililéter **173** (0,1050 g; 0,24 mmol) se desprotegió en las condiciones descritas para la obtención del compuesto **149a**. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en capa preparativa (silica gel, diclorometano:metanol 96:4) obteniéndose 0,6470 g (83%) del 17β-hidroxiisotiazol **150**.

p.f.: 205-207°C (acetona).

[α]_D: +92,7° (c=1,0, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 260 nm, log ε = 4,05; λ_{max} = 298 nm, log ε = 3,96.

RMN-¹H (ppm): 0,79 (3H, s, Me-18); 0,94 (3H, s, Me-19); 2,49 (1H, d, J=15,7, H-1α); 3,00 (1H, d, J=15,6, H-1β); 3,66 (1H, t, J=8,3, H-17α); 6,26 (1H, s_d, H-4); 8,13 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,0 (C-18); 17,7 (C-19); 21,2 (C-11); 23,5 (C-15); 30,4 (C-16); 30,8 (C-6); 31,9 (C-7); 35,7 (C-1); 36,4 (C-8); 36,6 (C-12); 40,1 (C-10); 42,9 (C-13); 50,5 (C-14); 54,4 (C-9); 81,7 (C-17); 111,3 (C-4); 129,7 (C-2); 150,5 (C-5); 155,7 (C-3); 155,9 (C-2').

EM (m/z,%): 329 (M⁺, 100), 314 (42), 311 (3), 296 (10), 165 (57), 163 (97), 162 (73), 148 (69).

EMAR: calculado para C₂₀H₂₇SNO, 329,1813; encontrado, 329,1816.

análisis elemental: calculado para C₂₀H₂₇SNO, C: 72,90%, H: 8,26%, N: 4,25%, S: 9,73%;
obtenido, C: 72,98%, H: 8,47%, N: 3,99%, S: 9,40%.

5 α -Androstan [2,3-d] isotiazol-17-ona (176):

A una solución de cloruro de oxalilo (0,040 ml; 0,47 mmol) en diclorometano anhidro (1 ml) mantenida a -78°C bajo atmósfera de nitrógeno; se agregó lentamente una solución de DMSO (0,072 ml; 1,02 mmol) en diclorometano anhidro (0,20 ml). Luego de 10 minutos a -78°C se adicionó el alcohol **149a** (0,0695 g; 0,21 mmol) disuelto en diclorometano anhidro (2,0 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos a -78°C y posteriormente se agregó trietilamina (0,30 ml; 2,20 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos y luego se permitió llegar a temperatura ambiente. Se agregó una solución de ácido clorhídrico 1N (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con bicarbonato de sodio (sol.sat.) y agua; se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. Se obtuvieron 0,0650 g (94%) del 17-cetoisotiazol **176**.

p.f.: 201-202°C (acetona).

$[\alpha]_D$: +127,5° (c=1,0, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 218 nm, log ϵ = 3,70; λ_{max} = 252 nm, log ϵ = 3,72.

RMN-¹H (ppm): 0,78 (3H, s, Me-19); 0,90 (3H, s, Me-18); 2,26 (1H, d, J=15,6, H-1 α); 2,81 (1H, d, J=15,6, H-1 β); 2,88 (1H, dd, J=17,5; 3,9, H-4 α); 8,17 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,5 (C-19); 13,6 (C-18); 20,3 (C-11); 21,7 (C-15); 27,7 (C-4); 28,4 (C-6); 30,4 (C-12); 31,4 (C-7); 35,1 (C-8); 35,7 (C-16); 35,8 (C-10); 37,0 (C-1); 42,4 (C-5); 47,5 (C-13); 51,2 (C-14); 53,7 (C-9); 132,9 (C-2); 157,1 (C-3); 157,8 (C-2'); 220,6 (C-17).

EM (m/z,%): 329 (M⁺, 60), 314 (4), 285 (7), 270 (5), 217 (8), 199 (8), 162 (16), 149 (22), 111 (100), 105 (18), 91 (20), 83 (19).

EMAR: calculado para C₂₀H₂₇SNO, 329,1813; encontrado, 329,1815.

17 α -Metil-5 α -androstan [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (149b):

La cetona **176** (0,1297 g; 0,39 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (3,0 ml). La solución se enfrió a -20°C y se agregó una solución de MeLi 1,0 M en éter etílico (2,0

ml; 2,00 mmol). Luego de una hora de reacción se agregó cloruro de amonio (sol.sat.) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en capa preparativa (sílica gel, diclorometano:metanol 97:3) obteniéndose 0,0816 g (60%) del 17 α -metilisotiazol **149b**.

p.f.: 174-175°C (hexano-acetona).

$[\alpha]_D$: +50,7° (c=1,2, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 218 nm, log ϵ = 3,69; λ_{max} = 252 nm, log ϵ = 3,69.

RMN-¹H (ppm): 0,77 (3H, s, Me-19); 0,89 (3H, s, Me-18); 1,23 (3H, s, Me-20); 2,23 (1H, d, J=15,6, H-1 α); 2,45 (1H, ddd, J=17,3, 11,3, 1,8, H-4 β); 2,80 (1H, d, J=15,6, H-1 β); 2,85 (1H, dd, J=16,5; 4,0, H-4 α); 8,17 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,6 (C-19); 13,9 (C-18); 20,8 (C-11); 23,3 (C-15); 25,8 (C-20); 27,8 (C-4); 28,7 (C-6); 31,4 (C-7); 31,6 (C-12); 35,8 (C-10); 36,5 (C-8); 37,2 (C-1); 39,0 (C-16); 42,6 (C-5); 45,4 (C-13); 50,6 (C-14); 53,7 (C-9); 81,6 (C-17); 133,1 (C-2); 157,3 (C-3); 157,9 (C-2').

EM (m/z,%): 345 (M⁺, 20), 330 (8), 327 (7), 312 (8), 288 (28), 274 (10), 163 (12), 150 (14), 136 (17), 113 (28), 105 (18), 91 (21), 71 (28), 43 (100).

EMAR: calculado para C₂₁H₃₁SNO, 345,2126; encontrado, 345,2130.

17 α -Etilnil-5 α -androstan [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (149c):

Sobre el complejo acetiluro de litio - etilendiamina (0,1748 g; 1,90 mmol) se agregó una solución del 17-cetoisotiazol **176** en tetrahidrofurano anhidro (3,0 ml) previamente enfriada a -20°C. La mezcla de reacción se mantuvo a dicha temperatura durante una hora. Se agregó cloruro de amonio (sol.sat.) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se llevó a sequedad a presión

reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en capa preparativa (sílica gel, diclorometano:metanol 97:3) obteniéndose 0,0597 g (45%) del 17 α -etinilisotiazol **149c**.

p.f.: 223-224°C (acetona).

$[\alpha]_D$: +8,7° (c=0,9, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{\max} = 220 nm, log ϵ = 3,55; λ_{\max} = 252 nm, log ϵ = 3,65.

RMN-¹H (ppm): 0,76 (3H, s, Me-19); 0,88 (3H, s, Me-18); 2,00 (1H, ddd, J=13,7, 11,4, 3,8, H-16 β); 2,25 (1H, d, J=16,6, H-1 α); 2,45 (1H, ddd, J=17,1, 11,2, 1,6, H-4 β); 2,58 (1H, s, H-21); 2,81 (1H, d, J=15,7, H-1 β); 2,85 (1H, dd, J=17,3; 4,2, H-4 α); 8,17 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 11,6 (C-19); 12,7 (C-18); 20,7 (C-11); 23,1 (C-15); 27,8 (C-4); 28,6 (C-6); 31,1 (C-7); 32,6 (C-12); 35,8 (C-10); 36,3 (C-8); 37,1 (C-1); 38,9 (C-16); 42,5 (C-5); 46,7 (C-13); 50,3 (C-14); 53,3 (C-9); 73,8 (C-21); 79,8 (C-17); 87,6 (C-20); 133,1 (C-2); 157,2 (C-3); 157,8 (C-2').

EM (m/z,%): 355 (M⁺, 8), 340 (4), 329 (13), 288 (6), 272 (6), 163 (11), 162 (12), 150 (14), 136 (14), 111 (39), 83 (46), 69 (41), 57 (55), 55 (80), 43 (90), 41 (100).

EMAR: calculado para C₂₂H₂₉SNO, 355,1970; encontrado, 355,1965.

17 α -Etil-5 α -androstan [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (149e):

A una solución de la cetona **176** (0,1311 g; 0,40 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (20 ml), se agregó ioduro de etilo (0,130 ml; 1,63 mmol) y litio en alambre (0,045 g; 6,43 mmol). La mezcla de reacción se irradió en el baño de un aparato de ultrasonido (Cole-Parmer 8850) durante una hora. La temperatura del baño se mantuvo entre 10 y 15°C por agregado de hielo. El litio en exceso se separó por filtración, se agregó cloruro de amonio (sol.sat.) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo obtenido

se purificó por cromatografía en capa preparativa (silica gel, diclorometano:metanol 97:3) obteniéndose 0,0946 g (66%) del 17 α -etilisotiazol **149e**.

p.f.: 157-159°C (hexano-acetona).

$[\alpha]_D$: +56,4° (c=0,8, CHCl₃).

UV (acetonitrilo): λ_{max} = 220 nm, log ϵ = 3,62; λ_{max} = 252 nm, log ϵ = 3,66.

RMN-¹H (ppm): 0,76 (3H, s, Me-19); 0,90 (3H, s, Me-18); 0,99 (3H, t, J=7,1, CH₂CH₃); 2,22 (1H, d, J=16,2, H-1 α); 2,45 (1H, ddd, J=16,7, 11,3, 1,5, H-4 β); 2,80 (1H, d, J=15,2, H-1 β); 2,85 (1H, dd, J=17,4; 5,2, H-4 α); 8,16 (1H, s, H-2').

RMN-¹³C (ppm): 7,8 (CH₂CH₃); 11,6 (C-19); 14,5 (C-18); 20,8 (C-11); 23,7 (C-15); 27,8 (C-4); 28,7 (C-6); 28,9 (CH₂CH₃); 31,4 (C-7*); 31,5 (C-12*); 33,7 (C-16); 35,8 (C-10); 36,5 (C-8); 37,2 (C-1); 42,6 (C-5); 46,3 (C-13); 50,4 (C-14); 53,7 (C-9); 83,5 (C-17); 133,1 (C-2); 157,3 (C-3); 157,9 (C-2').

EM (m/z,%): 359 (M⁺, 14), 344 (1), 341 (5), 330 (53), 326 (5), 312 (13), 288 (51), 275 (12), 274 (14), 272 (11), 136 (19), 113 (33), 110 (27), 85 (51), 79 (37), 57 (100).

EMAR: calculado para C₂₂H₃₃SNO, 359,2283; encontrado, 359,2280.

Resumen

El objetivo del presente trabajo de tesis fue la síntesis de 17β -hidroxi [2,3-d] isotiazoles esteroidales. Se comenzó con la síntesis de compuestos estructuralmente similares como los [2,3-d] isoxazol esteroides. Los resultados obtenidos en esta etapa se utilizaron como base al llevar a cabo la síntesis de [2,3-d] isotiazoles.

En el capítulo 1 se describe la síntesis de [2,3-d] isoxazoles esteroidales. Utilizando 5-colesten- 3β -ol (colesterol) (**54**) como material de partida, se optimizaron las distintas etapas requeridas para la construcción del heteroanillo. Como resultado, se logró sintetizar colest-2,4-dien [2,3-d] isoxazol (**51**).

En la etapa de formación del enlace C2-C2' se lograron mejoras importantes, tiempo de reacción y rendimiento, con respecto a los métodos descriptos anteriormente para la preparación de este tipo de compuestos.

La misma estrategia sintética se aplicó, a partir de 5α -colestanol (**62**), para la preparación del 5α -colestan [2,3-d] isoxazol (**41**). Este compuesto había sido utilizado como intermediario sintético por otros autores pero el mismo no se había aislado ni caracterizado. La ausencia de dobles enlaces en el colestanol de partida evitó la necesidad de emplear condiciones especiales durante la oxidación del grupo hidroxilo en C3.

Finalmente, se llevó a cabo la síntesis del 17α -etilandrosta-2,4-dien [2,3-d] isoxazol- 17β -ol (**65**). En este caso debía construirse el heterociclo fusionado al anillo A del esteroide y además introducir una cadena lateral en C17.

Para la construcción del heteroanillo se requería un sistema de tipo Δ^4 -3-ceto y un grupo carbonilo en C17 que permitiera la introducción de la cadena lateral correspondiente. Se analizó la posibilidad de emplear distintos sustratos y finalmente se decidió la utilización de 5-androsten- 3β -ol-17-ona (**69**) como material de partida. Para la introducción de la cadena lateral se utilizó una reacción de Grignard obteniéndose el producto deseado con rendimiento pobre debido a la formación del 17β -hidroxi derivado por reducción directa del grupo carbonilo.

Se decidió emplear un reactivo más energético como etilitio generado "in situ" a partir de bromuro de etilo y litio metálico bajo la acción del ultrasonido. En este caso el rendimiento aumentó considerablemente y se evitó la preparación previa del reactivo organometálico.

Durante la síntesis de isoxazoles esteroidales se obtuvieron como intermediarios distintos β -cetoaldehidos. Estos compuestos presentaban una estructura de tipo 1,3 dicarbonilica y por lo tanto resultó interesante el estudio del equilibrio ceto-enólico correspondiente. La posición de dicho equilibrio se estudió por RMN- ^1H . Empleando mecánicas moleculares pudo comprobarse que la forma enólica predominante era la que presentaba mayor coplanaridad en el sistema de dobles enlaces conjugados.

Debido a la falta de datos espectroscópicos sobre este tipo de compuestos y dado que los mismos serían útiles al encarar la síntesis de isotiazoles esteroidales, se decidió realizar un estudio que permitiera la correcta asignación de los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C de los distintos [2,3-d] isoxazoles sintetizados y de los intermediarios sintéticos obtenidos. Se emplearon distintas técnicas de RMN-1D y RMN-2D utilizando el Danazol (7) como compuesto modelo.

En el capítulo 2 se analizan distintas estrategias para la construcción de un anillo isotiazolínico fusionado al anillo A del esteroide, en particular para la introducción del átomo de azufre unido a C3 y para la formación del enlace N-S.

En primer lugar se estudió la posibilidad de introducir el átomo de azufre por una reacción de sustitución nucleofílica sobre un sulfonato en C3. Si bien, sobre la base de estudios preliminares esta reacción resultó factible, su aplicación a la síntesis de un [2,3-d] isotiazol esteroide presentó una serie de inconvenientes en distintas etapas del camino sintético.

Se eligió como material de partida la 5-androsten-3 β -ol-17-ona (69) que permitía la introducción de un sustituyente en C17 por reacción con un reactivo organometálico

adecuado. De la misma forma que en el caso de los isoxazoles esteroidales, la formación del enlace C2-C2' se realizó por reacción del enolato en posición α a un carbonilo en C3 introduciendo un grupo aldehído en C2'. Al realizar la protección selectiva del carbonilo aldehídico se produjo la deshidratación del hidroxilo terciario en C17.

Se decidió estudiar la misma estrategia sintética sobre el 2-hidroximetileno esteroide **40** preparado a partir de 5 α -colestano (**63**). De esta manera se evitarían reacciones laterales debido a la presencia de otros grupos funcionales en la molécula. Si bien se logró efectivamente la introducción del átomo de azufre por desplazamiento de un sulfonato en C3, al realizar posteriormente la desprotección del grupo aldehídico se produjo simultáneamente la remoción del grupo tioalquilo que se había introducido anteriormente.

Sobre la base de estos resultados se introdujeron distintos cambios en la estrategia sintética. La función oxigenada en C2' se introdujo como éster metílico es decir en un estado de oxidación diferente al grupo ceto en C3 de la 5 α -colestano (**63**). De esta manera se evitaba la necesidad de proteger el carbonilo en C2'. La introducción del átomo de azufre se realizó por desplazamiento de un triflato vinílico en C3. En esta nueva estrategia el grupo saliente en C3 y la insaturación entre C2-C3 se introducían en forma simultánea evitándose problemas de regioquímica con respecto a la posición del doble enlace.

Un inconveniente que presentó este camino sintético fue la imposibilidad de efectuar la reducción directa del éster metílico en C2' al correspondiente aldehído. Esto obligó a utilizar una secuencia de reducción al alcohol alílico primario y posterior oxidación estudiando distintas metodologías para dicha transformación (PCC, oxidación de Swern, dióxido de manganeso, dióxido de manganeso y ultrasonido).

Finalmente se logró la síntesis del 5 α -colestano [2,3-d] isotiazol (**148**), siendo éste el primer isotiazol esteroide informado en literatura.

En el capítulo 3 se describe la preparación de 17 β -hidroxi [2,3-d] isotiazoles adaptando la metodología desarrollada a la preparación de derivados funcionalizados en distintas posiciones del esqueleto esteroidal.

Se logró la síntesis del 5 α -androstan [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (*149a*) y del androsta-2,4-dien [2,3-d] isotiazol-17 β -ol (*150*) utilizando como sustratos 5 α -androstan-17 β -ol-3-ona (*151*) y 4-androsten-17 β -ol-3-ona (testosterona) (*152*) respectivamente.

Fue necesario emplear un grupo protector adecuado para el hidroxilo en C17 resistente a las distintas etapas requeridas para la construcción del heterociclo. Luego de algunos ensayos, se decidió emplear un *tert*-butildimetilsililéter como protector.

Al introducir el éster metílico unido a C2 del esteroide, se comprobó que en el caso del compuesto 5 α -saturado *156*, de la misma manera que en el derivado *135* sintetizado anteriormente, predominaba la forma enólica del mismo mientras que el análogo Δ^4 -insaturado *158* se encontraba en su forma dicarbonílica. Estos resultados se comprobaron por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H y ^{13}C). La existencia de dichos compuestos como distintas formas tautoméricas provocó marcadas diferencias en su reactividad.

Según la metodología desarrollada en el capítulo 2, la introducción del triflato vinílico en C3 a partir del β -cetoéster *135* se efectuaba generando el enolato correspondiente por tratamiento con una suspensión de hidruro de sodio en diclorometano anhidro a temperatura ambiente y posterior reacción con anhídrido trifílico a la misma temperatura.

Al utilizar el compuesto *156*, la reacción con anhídrido trifílico debió efectuarse a -40°C para evitar la remoción del grupo protector en C17. El empleo de estas condiciones de reacción sobre el β -cetoéster Δ^4 -insaturado *158* no produjo la formación de producto. La diferente reactividad se atribuyó a la existencia de ambos compuestos como distintas formas tautoméricas. La etapa clave resultaba la reacción con la base para formar el enolato correspondiente.

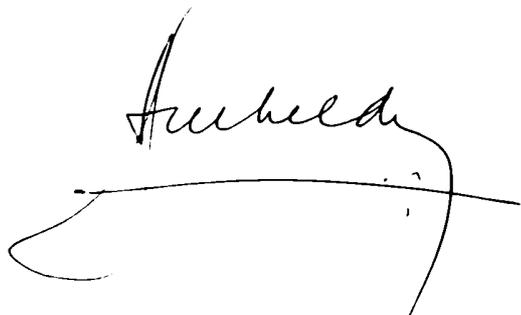
Finalmente se utilizó una solución de LICA en tolueno, condiciones de reacción homogéneas, para la preparación de ambos enolatos. Por tratamiento posterior con anhídrido trifílico a -78°C se obtuvieron los triflatos vinílicos correspondientes.

Luego de completar la construcción del anillo isotiazolínico, se desprotegió el grupo hidroxilo en C17 obteniéndose los 17β -hidroxi [2,3-d] isotiazoles *149a* y *150*.

El grupo hidroxilo en *149a* se oxidó a la cetona correspondiente que por reacción con reactivos organometálicos adecuados permitió la preparación de [2,3-d] isotiazoles con distintas cadenas laterales en C17.

Se sintetizaron 17α -metil- 5α -androstan [2,3-d] isotiazol- 17β -ol (*149b*), 17α -etil- 5α -androstan [2,3-d] isotiazol- 17β -ol (*149c*) y 17α -etil- 5α -androstan [2,3-d] isotiazol- 17β -ol (*149e*).

Dado que los distintos isotiazoles esteroidales así como los intermediarios sintéticos obtenidos resultaron compuestos no descritos en literatura, los mismos fueron caracterizados detalladamente por RMN- ^1H y RMN- ^{13}C .



Bibliografía

A

Agarwal S., Tiwari H.P. y Sharma J.P., *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 4417.

Albright J.D., *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 1977.

Alivizatos G. y ON Oosterhof G., *Anti-Cancer Drugs*, **1993**, *4*, 301.

Aoyama S., Kamata K. y Komeno T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1971**, *19*, 1329.

Arnold A., Potts G.O. y Beyler A.L., *Acta Endocrinológica*, **1963**, *44*, 490 (a).

Arnold A., Potts G.O. y Beyler A.L., *Endocrinology*, **1963**, *72*, 408 (b).

B

Bax A. y Morris G.A., *J. Magn. Reson.*, **1981**, *42*, 501.

Bax A., *J. Magn. Reson.*, **1983**, *53*, 149.

Bax A., *J. Magn. Reson.*, **1983**, *53*, 517.

Bax A. y Summers M.F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 2093.

Bell M.R., Christiansen R.G. y Schane H.P.Jr., *Ann. Rep. Med. Chem.*, **1979**, *14*, 168.

Bhacca N.S. y Williams D.H., *"Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry"*,
Capítulo 4, Holden-Day Inc., San Francisco, **1964** (a).

Bhacca N.S. y Williams D.H., "*Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*", Capítulo 5, Holden-Day Inc., San Francisco, 1964 (b).

Bigler P., *J. Magn. Reson.*, 1983, 55, 468.

Blunt J.W. y Stothers J.B., *Org. Magn. Reson.*, 1977, 9, 339.

Brownsort P.A., Paton R.M. y Sutherland A.G., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1989, 1679.

Brückner R., Scheuplein S.W. y Suffert J., *Tetrahedron Lett.*, 1991, 32, 1449.

Büchi G. y Vederas J.C., *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, 94, 9128.

Buhler J.D., *J. Org. Chem.*, 1973, 38, 904.

Burr J.G., Holton W.F. y Webb C.N., *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, 72, 4903.

C

Caballero G.M. y Gros E.G., *J. Chem. Ressearch (S)*, 1989, 320.

Cardwell H.M.E., Cornforth J.W., Duff S.R., Holtermann H. y Robinson R., *J. Chem. Soc.*, 1953, 361.

Carey F.A. y Sundberg R.J., "*Advanced Organic Chemistry*", Part B, 3ª Edición, pag. 21, Plenum Press, New York, 1990.

Cava M.P. y Levinson M. I., *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 5061.

Cha J.S. y Kwom S.S., *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 5486.

Childs M.E. y Weber W.P., *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 3486.

Christiansen R.G., *Patente americana* 4.055.562; *C. A.*, **1978**, *88*, 121545g.

Christiansen R.G., Bell M.R., D'Ambra T.E., Mallamo J.P., Herrmann J.L., Ackerman J.H., Opalka C.J., Kullnig R.K., Winneker R.C., Snyder B.W., Batzold F.H. y Schane H.P., *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 2094.

Clark-Lewis J.W. y Dainis I., *Austral. J. Chem.*, **1967**, *20*, 1961.

Clark Still W., Kahn M. y Mitra A., *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2923.

Clarke K., Hughes C.G. y Scrowston R.M., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1973**, 356.

Clinton R.O., Manson A.J., Stonner F.W., Beyler A.L., Potts G.O. y Arnold A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 1513.

Clinton R.O., Manson A.J., Stonner F.W., Neumann H.C., Christiansen R.G., Clarke R.L., Ackerman J.H., Page D.F., Dean J.W., Dickinson W.B. y Carabateas C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 1478 (a).

Clinton R.O., Manson A.J., Stonner F.W., Christiansen R.G., Beyler A.L., Potts G.O. y Arnold A., *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 279 (b).

Clinton R.O., Clarke R.L., Stonner F.W., Manson A.J., Jennings K.F. y Phillips D.K., *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 2800.

Closs F., Gompper R., Nöth H. y Wagner H., *Angew. Chem.*, **1988**, *109*, 875.

Colton F.B., Nysted L.N., Riegel B. y Raymond A.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 1123.

Comins D.L. y Dehghani A., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 6299.

Corey E.J., Seebach D. y Freedman R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 434.

Corey E.J. y Venkateswarlu A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6190.

Corey E.J. y Suggs J.W., *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 2647.

Corey E.J., Gras J.L. y Ulrich P., *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 809.

Corey E.J. y Schmidt G., *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 399.

D

d'Angelo J., *Tetrahedron*, **1976**, *32*, 2979.

Daum S.J. y Clarke L., *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 165.

de Laszlo S.E. y Williard P.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 199.

Demarco P.V., Farkas E., Doddrell D., Mylari B.L. y Wenkert E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 5480.

Duraisamy M. y Walborsky H.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 3252.

E

Edwards O.E., Greaves A.M. y Sy W., *Can. J. Chem.*, **1988**, *66*, 1163.

Edwards J. y Ringold H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 5262.

Evans D.A., Truesdale L.K., Grimm K.G. y Nesbitt S.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 5009.

F

Feixas J., Capdevila A., Camps F. y Guerrero A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 1451.

Fieser L.F., *Org. Syntheses*, **1955**, *35*, 36 (a).

Fieser L.F., *Org. Syntheses*, **1955**, *35*, 43 (b).

G

Garbisch E.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 1696.

Garcia Martinez A., Herrera Fernández A., Moreno Jiménez F., Garcia Fraile A., Subramanian L.R. y Hanack M., *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 1627.

Garner P. y Park J.M., *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 2361.

Gorodetsky M., Luz Z. y Mazur Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 1183.

Greene T.W. y Wuts P.G.M., "*Protective Groups in Organic Synthesis*", Capítulo 8, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1991**.

H

Haffner C., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 1349.

Harwood L.M., *Adrichim. Acta*, **1985**, *18*, 25.

Hassner A. y Fowler F.W., *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 2686.

Heaton P.R., Midgley J.M. y Whalley W.B., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1971**, 750.

Herrmann J.L., Kieczkowski G.R. y Schlessinger R.H., *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 2433.

Herscovici J. y Antonakis K., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1980**, 561.

Herzog, H.L., Jevnik M.A., Tully M.E. y Hershberg E.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 4425.

Hoeger C.A., Johnston A.D. y Okamura W.H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 4690.

Hogrefe R.I., McCaffrey A.P., Borozdina L.U., McCampbell E.S. y Vaghefi M.M., *Nucleic Acids Research*, **1993**, *21*, 4739.

Hosoda H., Fukushima D.K. y Fishman J., *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 4209.

Howard A.S., Meerholz C.A. y Michael J.P., *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 1339.

I

Ichikawa T., Akimoto S. y Shimazaki J., *Endocrine Journal*, **1993**, *40*, 425.

Imamoto T., Kusumoto T., Tawarayama Y., Sugiura Y., Mita T., Hatanaka Y. y Yokoyama M., *J. Org. Chem.*, **1984**, *49*, 3904.

Imamoto T., Takiyama N., Nakamura K., Hatajima T. y Kamiya Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 4392.

Imhoff M.A., Summerville R.H., Schleyer P.V.R., Martinez A.G., Hanack M., Dueber T.E. y Stang P.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 3802.

J

Jeener J., Meier B.H. y Ernst R.R., *J. Chem. Phys.*, **1979**, *71*, 4546.

Johnson W.S., Frei B. y Gopalan A.S., *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 1512.

K

Kamitori Y., Hojo M., Masuda R., Kimura T. y Yosshida T., *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 1427.

Khan A.Z. y Sandström, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1988**, 2085.

Kimura T., Fujita M. y Ando T., *Chem. Letters*, **1988**, 1387.

Kirk D.N., Toms H.C., Douglas C., White K.A., Smith K.E., Latif S. y Hubbard R.W.P., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1990**, 1567.

Korte F. (Editor), "*Methodicum Chemicum*", Volumen 6, Capítulo 9, Academic Press, New York, **1975**.

Kumar V. y Bell M.R., *Heterocycles*, **1989**, *29*, 1773.

Kumar V., Daum S.J., Bell M.R., Alexander M.A., Christiansen R.G., Ackerman J.H., Krolski M.E., Pilling G.M., Herrmann J.L., Winneker R.C. y Wagner M.M., *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 5099.

Kumar V. y Todaro A.B., *Synthesis*, **1992**, 523.

Kumar V., Mc Closkey P. y Bell M.R., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 833.

L

Larock R.C., "*Comprehensive Organic Transformations*", VCH Publishers, Inc., New York, 1989.

Laurent H., Müller H. y Wiechert R., *Chem. Ber.*, 1966, 99, 3836.

Le P.H. y Nes W.D., *Chem. Phys. Lipids*, 1986, 40, 57.

Lee R.A., McAndrews C., Patel K.M. y Reusch W., *Tetrahedron Lett.*, 1966, 965.

Lee J. y Snyder J.K., *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 4995.

Leffler A.J., Luz Z. y Zimmerman H., *J. Chem. Research (S)*, 1991, 262.

Lindley J. y Mason T.J., *Chem. Soc. Rev.*, 1987, 16, 275.

Lorenc L., Bondarenko L., Rajkovic M., Milovanovic A. y Mihailovic M.L., *Tetrahedron*, 1983, 39, 3609.

Luche J. y Damiano J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102, 7926.

M

Maeda K., Hosokawa T., Murahashi S. y Moritani I., *Tetrahedron Lett.*, 1973, 5075.

Mallamo J.P., Pilling G.M., Wetzal J.R., Kowalczyk P.J., Bell M.R., Kullnig R.K., Batzold F.H., Juniewicz P.E. y Winneker R.C., *J. Med. Chem.*, 1992, 35, 1663.

Mancera O., Rosenkranz G. y Sondheimer F., *J. Chem. Soc.*, **1953**, 2189.

Mancuso A.J., Huang S. y Swern D., *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2480.

Mander L.N. y Sethi P., *Tetrahedron Lett.*, **1983**, *24*, 5425.

Manson A.J., Stonner F.W., Neumann H.C., Christiansen R.G., Clarke R.L., Ackerman J.H., Page D.F., Dean J.W., Phillips D.K., Potts G.O., Arnold A., Beyler A.L. y Clinton R.O., *J. Med. Chem.*, **1963**, *6*, 1.

March J., "*Advanced Organic Chemistry*", 4ª Edición, pag. 926, John Wiley & Sons, New York, **1992**.

Martin L., Polo C., Ramos V., Torroba T. y Marcaccini S., *Heterocycles*, **1993**, *36*, 2259.

Mascaretti O.A., *Aldrichimica Acta*, **1993**, *26*, 47.

McKinnon D.M. y Lee K.R., *Can. J. Chem.*, **1988**, *66*, 1405.

McMurry J.E. y Scott W.J., *Tetrahedron Lett.*, **1980**, *21*, 4313.

Melching K.H., Hiemstra H., Klaver W.J. y Speckamp W.N., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 4799.

Metzner P., *Synthesis*, **1992**, 1185.

Michne W.F., Schroeder J.D., Bailey T.R., Young D.C., Hughes J.V. y Dutko F.J., *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 2701.

Midland M.M., *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 2250.

Miller T.C. y Christiansen R.G., *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 3612.

Miller T.C., *J. Heterocyclic Chem.*, **1966**, *3*, 338.

Moody C.J., Rees C.W. y Tsoi S.C., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1984**, 915.

Morrison J.D. y Lambert G., *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 1034.

Mukaiyama T. y Hoshino T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 5339.

Murakoshi M., Tagawa M., Inada R., Shoji M., Suzuki M. y Watanabe K., *Endocrinol. Japon*, **1992**, *39*, 331 (a).

Murakoshi M., Inada R., Tagawa M., Makino M., Suzuki M., Mieda M., Honma S., Takezawa Y. y Yamanaka H., *Acta Pathologica Japonica*, **1992**, *42*, 151 (b).

Myerson R.M., *Am. J. Med. Sci.*, **1961**, 78.

N

Nakanishi S, Morita K.I. y Jensen E. V., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 5259.

Nathan A.H., Babcock J.C. y Hogg J.A., *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 1395.

O

Omura K., Sharma A.K. y Swern D., *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 957.

Omura K. y Swern D., *Tetrahedron*, **1978**, *34*, 1651.

P

Parish E.J. y Schroepfer G.J., *Chem. Phys. Lipids*, **1980**, *27*, 281.

Parish E.J., Scott A.D., Dickerson J.R. y Dykes W., *Chem. Phys. Lipids*, **1984**, *35*, 315.

Patel K.M. y Reusch W., *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 1504.

R

Ralls J.W. y Riegel B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 4479.

Rasmusson G.H., Reynolds G.F., Utne T., Jobson R.B., Primka R.L., Berman C. y Brooks J.R., *J. Med. Chem.*, **1984**, *27*, 1690.

Rasmusson G.H., Reynolds G.F., Steinberg N.G., Walton E., Patel G.F., Liang T., Cascieri M.A., Brooks J.R. y Berman C., *J. Med. Chem.*, **1986**, *29*, 2298.

Reich H.J., Renga J.M. y Reich I.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 5434.

Ringold H.J., Batres E., Halpern O. y Necochea E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 427.

Roinson C.H., Gnoj O., Charney W., Gilmore M.L. y Oliveto E.P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 408.

Romero J.R., Djerassi C. y Rosenkranz G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*, 1528.

Ruzicka L. y Rosenberg H.R., *Helv. Chim. Acta*, **1936**, *19*, 357.

Ruzicka L., Meister P. y Prelog V., *Helv. Chim. Acta*, **1947**, *30*, 867.

Ruzicka L., Prelog V. y Battegay J., *Helv. Chim. Acta*, **1948**, *31*, 1296.

S

Sakamoto M., Tanaka M., Fukuda A., Aoyama H. y Omote Y., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1988**, 1353.

Schänzer W., Opfermann G. y Donike M., *Steroids*, **1992**, *57*, 537.

Schänzer W. y Donike M., *Anal. Chim. Acta*, **1993**, *275*, 23.

Schulze B., Mütze K., Selke D. y Kempe R., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 1909.

Schultz A.G. y Kashdan D.S., *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 3814.

Sherins R.J., Gandy H.M., Thorslund T.W y Paulsen C.A., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1971**, *32*, 522.

Shibata K., Takegawa S., Koizumi N., Yamakoshi N. y Shimazawa E., *Chem. Pharm. Bull.*, **1992**, *40*, 935.

Shimizu Y., Mitsuhashi H. y Caspi E., *Tetrahedron Lett.*, **1966**, *34*, 4113.

Shoolery J.N., *J. Nat. Prod.*, **1984**, *47*, 1765.

Smith D.B. y Turner E.E., *J. Chem. Soc.*, **1953**, 861.

Snyder B.W., Winneker R.C. y Batzold F.H., *J. Steroid Biochem.*, **1989**, *33*, 1127.

Spyriounis D.M., Ikonmidis G. y Demopoulos V.J., *Org. Prep. Proced. Int.*, **1989**, *21*, 515.

Stang P.J. y Anderson A.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 1520.

Stang P.J., Hanack M. y Subramanian L.R., *Synthesis*, **1982**, 85.

Sterling Drug Inc., *Patente Británica* 905.844, **1962**; *C. A.*, **1963**, *58*, 6895c.

Stevens R.V., Lesko P.M. y Lapalme R., *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 3495.

Stinson S., *Chem. Eng. News*, **1992**, *Junio 29*, 7.

Stork G., Danishefsky S. y Ohashi M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5459 (a).

Stork G. y Mc Murry J.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5461 (b).

Stork G. y Mc Murry J.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5463 (c).

Stork G. y Mc Murry J.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5464 (d).

Stork G. y Zhao K., *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 287.

Suginome H., Kaji M., Ohtsuka T., Yamada S. y Furusaki A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 283.

Summerville R.H., Senkler C.A., Schleyer P.V.R., Dueber T.E. y Stang P.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 1100.

Suschitzky H. y Scriven E.F.V. (Editores), "*Progress in Heterocyclic Chemistry*", Volumen 5, Capitulo 5, Pergamon Press, Oxford, **1993**.

T

Taber D.F., Amedio J.C.Jr. y Jung K.Y., *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 5621.

Tanabe M. y Crowe D.F., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1973**, 564.

V

van Es T., *Carbohydr. Res.*, **1969**, *11*, 282.

Varma R.S., Lamture J.B. y Varma M., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 3029.

Vedejs E. y Fuchs P.L., *J. Org. Chem.*, **1971**, *36*, 366.

W

Walborsky H.M., Gawronska K. y Gawronski J.K., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 6719.

Wamhoff H., Berressemn R. y Nieger M., *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 5181.

Wei X., Fang J., Hu Y. y Hu H., *Synthesis*, **1992**, 1205.

Weintrab P.M., Blohm T.R. y Laughlin M., *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 831.

Weidmann B., Maycock C.D. y Seebach D., *Helv. Chim. Acta*, **1981**, *64*, 1552.

Weidmann B. y Seebach D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1983**, *22*, 31.

Weisenborn F.L., Remy D.C. y Jacobb T.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 552.

Weisenborn F.L. y Applegate H.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 1960.

Willis J.P., Gogins K.A.Z. y Miller L.L., *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 3215.

Winneker R.C., Wagner M.M. y Batzold F.H., *J. Steroid Biochem.*, **1989**, *33*, 1133.

Winternitz F., Menou C. y Arnal E., *Bull. Soc. Chim. France*, **1960**, 505.

Z

Zaretskii Z.V., *"Mass Spectrometry of Steroids"*, Capitulo 4, John Wiley & Sons, New York, 1976.

Zderic J.A., Carpio H.C. y Ringold H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 432.

Zilm K.W. y Grant D.M., *J. Magn. Reson.*, **1982**, *48*, 524.