



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SÍNTESIS DE ANÁLOGOS RÍGIDOS DE HORMONAS
ESTEROIDALES

Tesis presentada para optar por el título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires

María Joselevich

Director de Tesis: Dr. Alberto A. Ghini

Lugar de Trabajo: Departamento de Química Orgánica

Buenos Aires, 2005

SÍNTESIS DE ANÁLOGOS RÍGIDOS DE ESTRUCTURAS ESTEROIDALES

En esta tesis se describe la síntesis de análogos de hormonas esteroidales con estructuras conformacionalmente rígidas, debido a la presencia de un anillo adicional que incluye al carbono neopentílico de la posición 19 (metilo angular). Los esteroides sintetizados fueron 6,19-metanoprogesterona y 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona. Las etapas clave para ambas síntesis fueron: i) funcionalización remota del metilo-19 realizada por medio de una reacción radicalaria desde un grupo hidroxilo ubicado en la posición 6 β ; ii) homologación de la posición neopentílica para generar un carbono adicional adecuadamente funcionalizado (C-19a); iii) formación del ciclo propiamente dicho. Para la etapa de homologación (reacción de Wittig) en la síntesis de 6,19-metanoprogesterona se desarrollaron condiciones libres de sales que permitieron la obtención de rendimientos excelentes, notablemente superiores a los descriptos para esa reacción en sustratos similares. Para la formación del puente 6,19-metano se utilizó una reacción de adición del doble enlace 5,6 sobre el carbono carbonílico incorporado en la etapa anterior (C-19a) catalizada por ácido de Lewis (reacción de Prins) la cual permitió realizar una ciclación 5-*endo* trig, no favorecida de acuerdo con las reglas de Baldwin. Se realizaron dos aproximaciones a la formación de puentes carbonados entre las posiciones 11 y 19. En la primera (vía iónica) se siguió la estrategia anterior utilizando como precursor para la ciclación 3 β -acetiloxi-19-metilidén-5-pregnen-11,20-diona. Se obtuvo finalmente 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona. En la segunda aproximación (vía radicalaria) se sintetizó el precursor 19-metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-11 α -metiltiotiocarboniloxi-5-pregnen-20-ona y se intentó la ciclación por ataque del carbono radicalico generado en C-11 sobre el carbono vinílico (C-19a) en diferentes condiciones experimentales (solvente, temperatura, concentración, transportados de radicales). Finalmente, se describen los ensayos biológicos realizados con 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (actividad mineralocorticoidea) y otros esteroides sintetizados durante este trabajo de tesis (actividad antiherpética).

Palabras clave: hormonas esteroidales; rigidez conformacional; puentes carbonados; homologación; ciclación.

SYNTHESIS OF RIGID ANALOGUES OF STEROIDAL HORMONES

Abstract: This thesis describes the synthesis of two analogues of steroidal hormones with conformationally rigid structures, owing to the presence of an additional ring that includes the neopentyl carbon at C-19 (angular methyl). The steroids synthesized were 6,19-methanoprogesterone and 19(S)-methyl-11,19-oxidoprogesterone. The key synthetic steps in both cases were: i. remote functionalization of the C-19 methyl from the 6 β -hydroxyl group by means of a radical reaction; ii. homologation at the neopentyl position to generate an additional carbon adequately functionalized (C-19a); iii. Formation of the additional ring. The salt-free conditions developed for the homologation step (Wittig reaction) in the synthesis of 6,19-methanoprogesterone gave excellent yields, superior to those described in the literature with similar substrates. For the formation of the 6,19-methano bridge, the addition (catalyzed by a Lewis acid) of the 5,6-double bond onto the carbonylic carbon incorporated in the previous step (C-19a) was used. This reaction allowed a 5-*endo* trig ring closure, that is disfavored according to the Baldwin rules. Two approximations to the synthesis of 11,19-carbon bridged steroids were done. In the first one (ionic pathway) the same strategy described above was followed; 3 β -acetyloxy-19-methylidene-5-pregnen-11,20-dione was used as starting material for the ring closure step. In this route, 19(S)-methyl-11,19-oxidoprogesterone was obtained. In the second approximation (radical pathway), 19-methylidene-3 β -terbutyldimethylsilyloxy-11 α -methyltiocarboxyloxy-5-pregnene-20-one was synthesized and the ring closure was attempted by attack of the radical carbon generated at C-11 onto the C-19a (vinyl) carbon in different conditions (solvent, temperature, concentration, and radical carrier). Finally, the biological test for 19(S)-methyl-11,19-oxidoprogesterone (mineralocorticoid activity) and other steroids synthesized in this thesis (antiherpetic activity) is described.

Keywords: steroidal hormones; conformational rigidity; carbon bridges; homologation; ring closure.

Agradezco al Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires y al Dr. Gerardo Burton por haberme brindado la oportunidad y el lugar de trabajo para realizar el presente trabajo de Tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Técnica por la beca de iniciación otorgada.

Al Dr. Gerardo Burton por su participación en mi formación científica, su invaluable ayuda y su permanente disposición a compartir su experiencia.

Al personal de UMYMFOR (CONICET-FCEN) Susana Lager, Marta Marcote, María de las Mercedes Rivero, Jorge Aznares, Gonzalo Abad, Gabriel Cases, Carlos Arabéhèty, José Gallardo y Gernot Eskuche por las determinaciones físicas realizadas para este trabajo de Tesis y por estar siempre dispuestos a dar una mano en forma generosa y desinteresada. A la señora Ana Burton por su amable colaboración.

A la Dra. Celia E. Coto y a la Lic. Erina Petrer (Laboratorio de Virología, Dto. Química Biológica, FCEyN, UBA) y a la Dra. Nora Ceballos (Laboratorio de Endorinología Comparada, Dto. Química Biológica, FCEyN, UBA) por las pruebas biológicas realizadas.

A mis amigos Fabiana, Osvaldo, Mara, Fernando, Javier, Silvina, Nacho, Romina, Claudia, Oscar y Coqui por acompañarme en la vida.

A Merlina y Nicolás porque hacer al mundo más hermoso. A Pablo, Federico, Camila, Amalia, Karina, Pablo R y Coca por su inmenso cariño.

A Adriana Veleiro por su amistad, sus afectuosos consejos y por mostrarme que todo tiene otro punto de vista.

A mis compañeros de laboratorio Pablo, Rosana, Susana, Fernando, Adriana C, Cristina T, Constanza, Andrés, Violeta, Daniel, Cristina M y Eduardo por hacer más llevadero el trabajo cotidiano. A los “chicos” Silvina, Gisela, Florencia, Flavia, Juan, Paula, Lautaro, Juan Manuel, Yosy, Valeria y Évelyn por el entusiasmo, la alegría y el “aire fresco” que traen al laboratorio. A mis compañeros del Departamento de Química Orgánica Julieta, Javier y Lorena por su amistad y los almuerzos compartidos.

A María del Carmen Ares, Olga Fernandez, Rosa Ricarte, Mabel Delgado, Virginio Pereyra y Sergio E. Jacobo por su diaria y desinteresada colaboración.

A los integrantes del Departamento de Química Orgánica, docentes y no docentes que contribuyeron a que esta Tesis fuera posible.

Para Esteban, mi gran amor.

Para Marcos y Tomás, lo mejor que me ha dado la vida.

Para mi madre y Jorge, mi padre y Sofía por su amor incondicional y su apoyo permanente y por contagiarme el entusiasmo por aprender.

Agradezco al Dr. Alberto Ghini por haberme brindado la oportunidad de realizar esta Tesis, por los conocimientos que compartió conmigo a lo largo de estos años y principalmente por su amistad, paciencia, respeto y afecto.

INDICE

	Página
CAPÍTULO 1: Introducción	1
Modo de acción hormonal.....	5
Deficiencias hormonales y farmacología clínica.....	5
Relación entre función biológica y estructura esteroidal.....	10
Diseño racional del primer esteroide con actividad antigluocorticoide pura	17
Objetivo	17
CAPÍTULO 2: Antecedentes en la Síntesis de Puentes en Esteroides	21
Formación de ciclos: aspectos generales.....	23
Puentes en esteroides.....	24
2.1. Puentes 11,13.....	25
2.2. Puente 7,9.....	30
2.3. Puentes 2,19.....	31
2.4. Puentes 11,19.....	38
2.5. Puentes 6,19.....	44
CAPÍTULO 3: Síntesis de 6,19-metanoprogesterona (18)	49
Parte A: Funcionalización y homologación de C-19	55
3.A.1 Funcionalización de C-19.....	58
Síntesis del precursor 3 β ,20 β -diacetiloxi-5-pregnen-19-al (115)	61
3.A.2 Homologación en C-19.....	65
Síntesis del precursor 3 β , 20 β -diacetiloxi-19-metoximetilidén-5-pregneno (116).....	65
Asignación de las estructuras de 116-E y Z	69
Estereoquímica de la homologación.....	71
Síntesis de 3 β ,20 β -diacetiloxi-5-pregnen-19-carboxaldehído (117)	77
Parte B: Ciclación	79
3.B.1 Reacción de Prins.....	81
Síntesis de 3 β ,20 β -diacetiloxi-5 α -cloro-19a-hidroxi-6,19-metanopregnano (118)...	82
Asignación de las estructuras de 121 y 118	89

Formación de 121	94
3.B.2 Desoxigenación de C-19a.....	96
3.B.2.1 Reacción de desoxigenación de Barton-McCombie.....	96
3.B.2.2 Síntesis de 3 β , 20 β -diacetiloxi-5 α -cloro -6,19-metanopregnano (128).....	97
3.B.3 Síntesis de 6,19-metanoprogesterona (18)	100
CAPÍTULO 4: Estudios sobre la formación de ciclos 11,19-carbonados	105
Parte A: Aproximación iónica	107
4.A.1 Funcionalización de C-19	
Síntesis del precursor 3 β ,11 α ,20 β -triacetiloxi -5-pregnen-19-al (136).....	111
4.A.2 Homologación de C-19. Reacción de Wittig	
Síntesis del precursor 3 β ,11 α ,20 β -triacetiloxi-19-metilidén-5-pregnen-19-al (137).....	115
4.A.3 Reacción de Prins.....	118
Asignación de las estructuras de 147 y 148	126
Parte B: Aproximación radicalaria	131
Ciclaciones radicalarias. Generalidades.....	133
Síntesis del precursor 11 β -acetiloxi-20 β -hidroxi-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-19-al (151).....	139
Síntesis del precursor 19-metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-11 α -metiltiotiocarboniloxi-5-pregnen-20-ona (166)	144
Parte C: Síntesis de 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (20)	151
Asignación de la estructura de 20	155
CAPÍTULO 5: Actividad Biológica	161
5.1 Afinidad de 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (20) al receptor de mineralocorticoides.....	163
5.2 Actividad antihipéptica de pregnanos 19-sustituidos.....	165
CAPÍTULO 6: Detalles Experimentales	169

APÉNDICE A: Diferenciación de las posiciones oxigenadas 11 y 20.....	211
APÉNDICE B: Espectros de ¹³C.....	217
APÉNDICE C: Espectros de ¹H.....	225
APÉNDICE D: Resumen de estructuras.....	235
Resumen.....	241
Citas bibliográficas.....	247

ABREVIATURAS

11 α -hidroxiprogesterona	11 α -hidroxipregn-4-en-3,20-diona
11,19-metanoprogesterona	11, 19-metanopregn-4-en-3,20-diona
11,19-óxidoprogesterona	11,19-óxidopregn-4-en-3,20-diona
6,19-metanoprogesterona	6, 19-metanopregn-4-en-3,20-diona
6,19-óxidoprogesterona	6, 19-óxidopregn-4-en-3,20-diona
Å	angstrom
Ac ₂ O	anhídrido acético
AcCl	cloruro de acetilo
Acetato de pregnenolona	17 β -acetoxiandrost-4-en-3-ona
AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
AIBN	2,2'-diisobutironitrilo
aq	acuoso
c	concentrado
CCD	cromatografía en capa delgada
CCP	cromatografía en capa preparativa
CF	cromatografía flash
CFCS	cromatografía flash en columna seca
CFR	cromatografía en fase reversa
<i>col</i>	colaboradores
COSY	espectro de correlación homonuclear H-H
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DEPT	incremento libre de torsión por transferencia de polarización
DIB	diacetoxiidobenceno
DMAP	dimetilaminopiridina
DMF	N,N'-dimetilformamida
EM	espectro de masa
EMAR	espectro de masa de alta resolución
eq.	equivalente
g	gramo

GC	glucocorticoide
h	hora
HETCOSY	espectro de correlación heteronuclear
HSQC	espectro de correlación heteronuclear
IE	impacto electrónico
Im	imidazol
IR	infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento spin-spin
lit.	literatura
M	concentración molar
m/z	relación masa/carga
M ⁺	ion molecular
MC	mineralocorticoide
MeOH	metanol
MHz	megahertz
min.	minutos
ml	mililitro
N	concentración normal
NBA	N-bromoacetamida
nm	nanómetro
NOESY	espectro de correlación homonuclear por efecto nuclear Overhauser
pag.	página
PCC	clorocromato de piridonio
ppm	partes por millón
progesterona	pregn-4-eno-3,20-diona
Py	piridina
RMN ¹³ C	resonancia magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
sa	singlete ancho
ss	solución saturada
t.a.	temperatura ambiente
TBDMS	terbutildimetilsililo

TEA	triethylamina
THF	tetrahydrofurano
TOCSY	espectro de correlación homonuclear H-H
UV	ultravioleta
$W^{1/2}$	ancho de la señal a media altura

Capítulo 1

Introducción

Para su clasificación en mamíferos, las hormonas esteroidales se han dividido históricamente en dos grupos, nombrándolas según el órgano que las produce naturalmente: adrenocorticoidales y gonadales.

Las hormonas gonadales se clasifican a su vez en progestágenos, estrógenos y andrógenos (**Figura 1.1**).

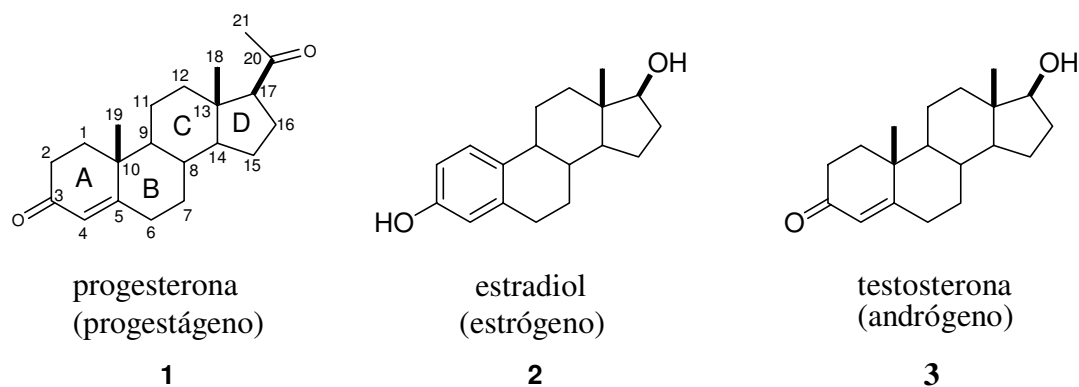


Figura 1.1: Hormonas esteroidales gonadales naturales más potentes en humanos

Los progestágenos (P) [Calandra *et al*, 1985], entre los que se encuentra la progesterona, se producen principalmente en los ovarios, pero también en la corteza suprarrenal, en los testículos y durante el embarazo en la placenta. Su función principal es preparar el útero para la implantación de un blastocito, dificultar el paso de espermatozoides por el conducto vaginal (que es facilitado por estrógenos) y facilitar el paso del óvulo hacia el útero. Una vez producida la fecundación, ayudan a desarrollar la placenta materna, inhiben la ovulación y preparan las glándulas mamarias para la lactancia.

Los ovarios son la principal fuente de estrógenos en mujeres premenopáusicas. Durante el embarazo se produce principalmente en la placenta y en hombres y mujeres postmenopáusicas se biosintetiza a partir de andrógenos almacenados en el tejido adiposo. Estas hormonas regulan el desarrollo de los órganos genitales y de las características sexuales femeninas. Su producción cíclica es la responsable del ciclo menstrual. Favorecen el anabolismo proteico y tienen cierta actividad mineralocorticoide, favoreciendo la retención de agua y sodio.

Los andrógenos regulan el fenotipo masculino. Se sintetizan principalmente en los testículos y en menor medida en los ovarios y la corteza suprarrenal. Las concentraciones plasmáticas de testosterona, el principal andrógeno en el hombre, tienen máximos en tres períodos de la vida: en la etapa embrionaria, donde su función es virilizar el tracto urogenital llevando al desarrollo del fenotipo masculino; durante el período neonatal, donde su función no es clara aunque podría estar relacionada con el desarrollo del sistema nervioso central; finalmente, durante la pubertad, en donde lleva al desarrollo de los órganos sexuales y a la aparición de los caracteres sexuales secundarios; al mismo tiempo, estas hormonas estimulan el aumento de estatura, el desarrollo muscular, el aumento de secreción de las glándulas sebáceas y el cierre de las epífisis de los huesos largos.

Los estrógenos y los andrógenos tienen estructuras químicas similares. Ambos presentan funciones oxigenadas en las posiciones 3 y 17. La principal diferencia entre ellos es que los estrógenos tienen el anillo A aromatizado y consecuentemente carecen de metilo angular en la posición 10. Ejemplos de estas hormonas son el estradiol y la testosterona respectivamente.

Las hormonas adrenocorticales se biosintetizan en la corteza suprarrenal a partir de colesterol; poseen un esqueleto de 21 átomos de carbono y un grupo hidroxilo sobre el C-21; pueden tener además funciones oxigenadas en las posiciones 11, 17 y/o 18. Según su función, se dividen en mineralocorticoides (MC) y glucocorticoides (GC). La aldosterona y el cortisol respectivamente son ejemplos típicos de estos tipos de hormonas (**Figura 1.2**).

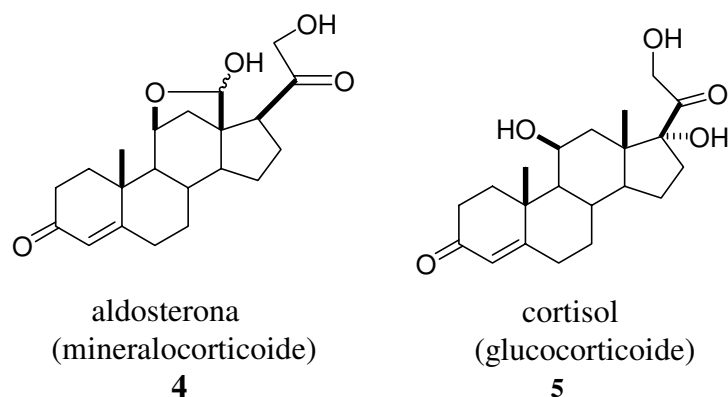


Figura 1.2: Hormonas esteroidales adrenocorticales naturales más potentes en humanos

La principal función de los MC es la regulación del balance electrolítico del organismo [Calandra *et al*, 1985]. Para ello promueven la reabsorción renal de sodio y excreción de potasio y como consecuencia la reabsorción de agua.

Los GC intervienen en el metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos, actúan como antiinflamatorios, inmunosupresores y anticicatrizantes y protegen al organismo de los efectos del estrés.

Si bien la clasificación anterior es útil con fines introductorios, debemos tener en cuenta que es una simplificación. Las hormonas esteroidales tienen muchas más funciones que las mencionadas anteriormente y existe solapamiento funcional e incluso variedad de acción en muchos casos. Como se discutirá más adelante, este hecho es crucial a la hora de diseñar nuevas moléculas con probable acción farmacológica.

Modo de acción hormonal

El modo de acción hormonal sigue un mecanismo muy complejo el cual no ha sido totalmente dilucidado hasta el momento. A grandes rasgos, se puede decir que las hormonas esteroidales ingresan a las células por difusión simple, y allí forman un complejo con receptores intracelulares. Este complejo interacciona con el genoma celular activando la respuesta fisiológica.

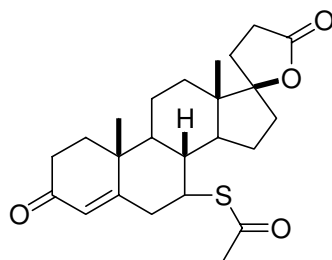
Los receptores de GC (GR), MC (MR) y P (PR) forman parte de una súper familia de receptores intracelulares proteicos que funcionan como factores de transcripción activados por ligandos. Estas proteínas poseen dominios estructurales y funcionales bien diferenciados: el de unión al ligando, el de unión al ADN y los de transactivación. El dominio de unión al ADN de los tres receptores hormonales reconoce la misma secuencia; además, las tres proteínas presentan muy alta homología. No es de extrañar, entonces, que se produzcan reacciones cruzadas de esteroides tanto naturales como sintéticos.

Deficiencias hormonales y farmacología clínica

Las hormonas esteroidales son activas a concentraciones fisiológicas muy bajas. Por ejemplo, el nivel plasmático normal de cortisol es 0,1 mg/l [Calandra *et al*, 1985]. Debido

al solapamiento funcional que se mencionó antes, se debe mantener un delicado equilibrio, pues el desbalanceo hormonal trae serias consecuencias. Los siguientes ejemplos son ilustrativos:

El hiperaldosteronismo primario o Síndrome de Conn [Foo *et al*, 2001] es una enfermedad asociada con el aumento de secreción de aldosterona por la glándula adrenal, debido a un tumor benigno en una adrenal (adenoma) o el crecimiento excesivo de ambas glándulas (hiperplasia). El síntoma más importante de esta enfermedad es la hipertensión arterial y se cree que es causa de alrededor del 10% de los casos de hipertensión. El adenoma tiene tratamiento quirúrgico. Los pacientes con hiperplasia, en cambio, pueden ser tratados con spironolactona, la cual bloquea los efectos de la aldosterona. La spironolactona es un ejemplo de la falta de especificidad funcional que tienen en general los esteroides, pues también tiene actividad antiandrogénica. Por este último efecto, se la utiliza en soluciones tópicas en el tratamiento de la alopecia androgénica (caída del cabello).



spironolactona

Los GC pueden considerarse como protectores de los tejidos dependientes de glucosa (cerebro y corazón) contra la inanición: estimulan al hígado para que sintetice glucosa y la deposite como glucógeno, disminuyen la utilización lateral de la glucosa y estimulan la gluconeogénesis, proporcionando los aminoácidos y glicerol necesarios al activar la lipólisis y aumentar la degradación de proteínas. Su efecto metabólico total es el aumento del glucógeno almacenado y la hiperglucemia; por esa razón, su uso clínico puede ser contraproducente en pacientes diabéticos y precipitar el inicio de hiperglucemia en sujetos predispuestos. Otra función de los GC es movilizar los depósitos de grasa del tejido subcutáneo. Además, reducen la absorción intestinal del calcio, su transformación ósea y su excreción renal, e interfieren en la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, por lo que son antiinflamatorios y antirreumáticos. Se utilizan sintomáticamente en pacientes con leucemias agudas y linfosarcoma y en algunas enfermedades alérgicas como el asma

bronquial y diversas dermatitis. Los GC poseen también cierta actividad MC y producen retención de agua.

El Síndrome de Cushing o hipercortisolismo [University of Utah Health Sciences Center, 2004] es una enfermedad causada por el exceso en la producción o uso clínico de cortisol u otros GC sintéticos (prednisona, metilprednisolona, dexametasona, **figura 1.3**). Suele ser un efecto secundario cuando deben administrarse grandes dosis de estos compuestos para tratar ciertas afecciones que comprometen la vida (asma, artritis reumatoidea, lupus sistémico, algunas alergias, etc), en la forma iatrogénica de la enfermedad. El exceso de cortisol produce serios cambios en la apariencia y salud de los sujetos involucrados. Los pacientes tienden a ganar peso especialmente en el abdomen, la cara (“cara de luna llena”), el cuello y la nuca (“joroba de búfalo”), sufren de adelgazamiento y debilidad muscular, dolor de espalda y de cabeza, acné, incremento de la micción y sed, cambios mentales, crecimiento de vello facial, impotencia o cese de menstruación. El tratamiento de esta enfermedad depende de su origen. Si es iatrogénico, el cese, disminución o sustitución en la administración de los GC producirá un rápido alivio en los síntomas de la enfermedad. De no ser posible, será necesario un tratamiento sintomático con dieta y medicación. La causa orgánica más común del hipercortisolismo es la excesiva producción de HACT (hormona adrenocorticotrópica) por parte de la glándula pituitaria, hormona que estimula la producción de cortisol en las glándulas suprarrenales. En este caso, la glándula pituitaria debe ser removida quirúrgicamente dejando a la persona con una deficiencia hormonal que debe suplirse de por vida.

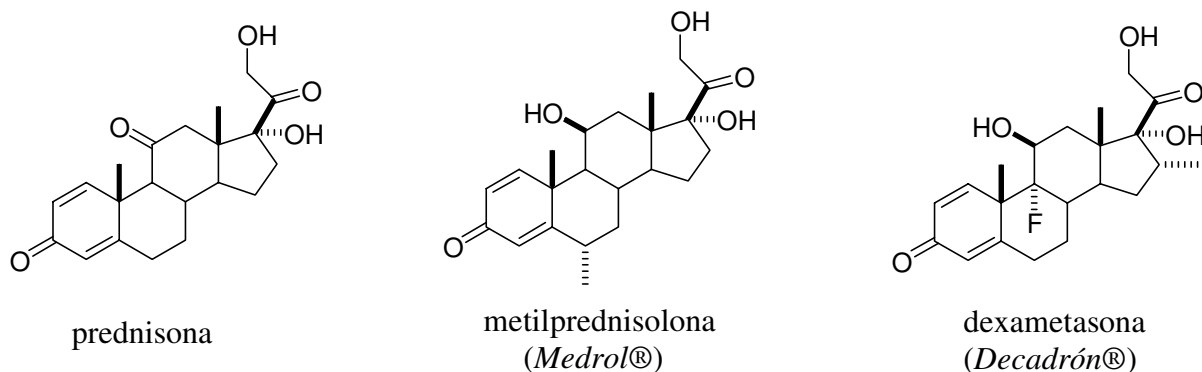
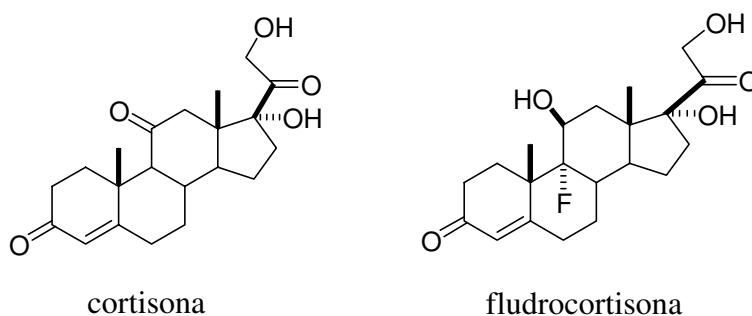


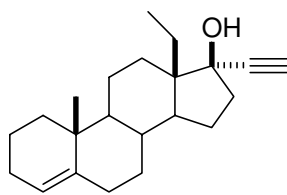
Figura 1.3

La enfermedad de Addison o hipofunción adrenocortical es la deficiencia severa o total de adrenocorticoides, causada por la destrucción de la corteza adrenal. Puede ser causada por una enfermedad autoinmune, infecciones como la tuberculosis, VIH o infecciones micóticas, hemorragias, tumores o uso de medicamentos anticoagulantes. La ausencia de secreción tanto de aldosterona como de cortisol, produce debilidad extrema, fatiga crónica y creciente, pérdida del apetito y de peso, náuseas, vómitos, diarrea crónica, oscurecimiento de la piel, cambios en la presión sanguínea y en la frecuencia cardíaca y un deseo vehemente por el consumo de sal. El tratamiento de esta enfermedad consiste en la administración de una combinación de GC (cortisona o cortisol) y MC (fludrocortisona).

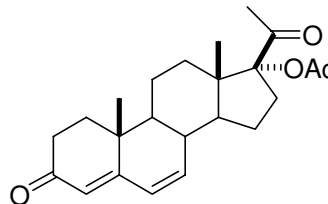


A pesar de la importancia de las enfermedades descritas más arriba, el mayor uso clínico que se hace de los GC es en el tratamiento de enfermedades no endócrinas. Sus actividades antiinflamatoria e inmunosupresora hacen que sean muy útiles en la terapia de enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoidea y el lupus eritematoso, y en enfermedades hematológicas, entre las que cabe destacar las remisiones que se han observado en casos de leucemia linfocítica crónica.

El principal uso farmacológico de los progestágenos es como anticonceptivo administrado en combinación con estrógenos. La actividad progestágena tolera considerables cambios moleculares lo que permite mejorar su farmacología. Incluso un cambio del acetilo en C-17 de la configuración β a la α deja inalterada la actividad progestágena. El alargamiento del sustituyente axial en C-13 (metilo a etilo, como en el norgestrel) aumenta sorprendentemente esa actividad. Se han hecho numerosas modificaciones sobre la estructura base de la progesterona tendientes sobre todo a aumentar su viabilidad oral, la cual se ve reducida generalmente por un rápido metabolismo hepático: por ejemplo, la adición de un OH en la posición 17α , usualmente esterificado y de un doble enlace Δ^6 . Ambas modificaciones fueron incorporadas con éxito en el megestrol.



norgestrel



acetato de megestrol
(Megace®)

Los estrógenos tienen efectos sistémicos sobre el metabolismo de minerales que contribuyen a la conservación de un balance positivo de calcio, favoreciendo el crecimiento óseo, induciendo el cierre rápido de las epífisis y conservando la masa ósea en mujeres postmenopáusicas con lo cual previenen la osteoporosis. Actúan además sobre el metabolismo de lípidos. En general, aumentan un poco las concentraciones séricas de triglicéridos y reducen escasamente las del colesterol total. No obstante, se cree que las acciones de mayor importancia son el incremento de los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL) y la disminución de los de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Este balance beneficioso entre lipoproteínas de alta y de baja densidad es un efecto secundario atractivo del tratamiento con estrógenos en mujeres postmenopáusicas y es un motivo más para que se los utilice en las terapias de reemplazo hormonal. Los estrógenos se usan también como anovulatorios, en el tratamiento de la dismenorrea y como anticonceptivos. La presencia de alteraciones en la función ovárica da lugar a diversos trastornos o síndromes. Si la producción hormonal es escasa, se desencadenan cuadros de infantilismo en el sistema genital como ocurre en el conocido Síndrome de Turner. Si los ovarios producen exceso de estrógenos, se produce hipergonadismo femenino el cual se caracteriza por un adelanto de la pubertad.

Los andrógenos se utilizan con gran eficacia en la terapéutica del hipogonadismo masculino. Esta enfermedad se manifiesta en la pubertad al retrasarse la aparición de los caracteres sexuales secundarios. Sus causas pueden ser insuficiencia testicular o déficit de gonadotrofinas por hipopituitarismo. Uno de los efectos de la terapia con andrógenos, es un gran desarrollo muscular y aumento de peso; esto ha llevado a la búsqueda de derivados con actividad anabólica pero no androgénica. Aunque hasta la actualidad no se han logrado compuestos con actividad anabólica específica (“pura”), algunos de los derivados

sintéticos, aplicados en dosis moderadas, muestran una masculinización reducida en mujeres y niños.

Relación entre función biológica y estructura esteroidal

Como se deduce de lo dicho hasta ahora, el estudio de las hormonas esteroideas y sus modos de acción es de enorme importancia clínica. Por eso este tema ha llamado históricamente la atención de numerosos grupos de investigación en distintas disciplinas. El objetivo final es encontrar compuestos que tengan actividades hormonales de un solo tipo o que actúen como antihormonas, es decir, bloqueando la actividad de determinada hormona sin producir ningún efecto.

Los primeros estudios de relación estructura-actividad de las principales hormonas esteroideas, tuvieron en cuenta sólo la presencia de grupos funcionales, sin realizar consideraciones conformacionales.

Por ejemplo, se ha sugerido [Gringauz, 1997] que la actividad antiinflamatoria reside en la actividad GC y/o es paralela a ella. Sin embargo, cuando se utilizan clínicamente análogos sintéticos del cortisol (un GC, **figura 1.1**), se observan entre los efectos secundarios retención de sodio y edema (típica actividad MC). Así, resultó interesante modificar estructuralmente esos esteroides para mejorar la relación MC/ GC (**figura 1.4**). El éxito de este objetivo se logró cuando se incrementó la insaturación en el anillo A del cortisol con un segundo doble enlace (Δ^1) (prednisolona). Se puede observar que, mientras el efecto MC se redujo modestamente (20%), la insaturación adicional en el anillo A aumentó la actividad antiinflamatoria en un 400%. Por introducción de un átomo de F en posición 9α de la prednisolona y un grupo metilo en posición 16, se obtuvo un compuesto 30 veces más potente que el cortisol (dexametasona) [Litter, 1973]. La triamcinolona, que posee en cambio un hidroxilo en C-16, tiene una potencia 35 veces mayor y no se observa la formación de edemas durante su administración. Al introducir átomos de Cl y F adicionales, la potencia del compuesto **6** (con $6,9\alpha$ -di F, 16α -Cl) aumenta hasta 1000 veces respecto al cortisol (**figura 1.4**).

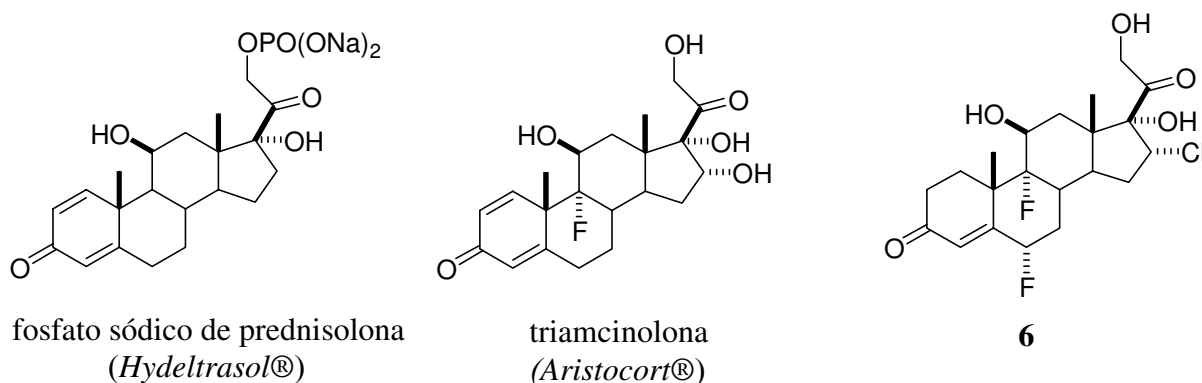


Figura 1.4: Derivados de cortisol

El grupo de W. Duax, realizó estudios estructurales de P, estrógenos y MC [Duax *et al*, 1978 y 1982]. Como conclusión de los mismos, postularon que el extremo del anillo A de estas hormonas tiene como función principal iniciar y mantener el enlace con el receptor, mientras que el anillo D es el responsable de la actividad característica de cada esteroide. Según estos autores, el anillo D estabilizaría algún cambio conformacional del receptor o bien participaría de la interacción con alguna macromolécula subsecuente al enlace con el mismo.

Duax y *col* efectuaron el primer intento sistemático de correlacionar las disposiciones espaciales que adoptan las moléculas esteroidales con la acción GC [Weeks *et al* 1973], utilizando estructuras obtenidas por Rayos X y midiendo la acción antiinflamatoria. Observaron para un grupo de esteroides seleccionados, que la actividad GC aumentaba a medida que crecía el ángulo de torsión entre los anillos A y B. En la **figura 1.5** se pueden observar las proyecciones conformacionales de los esteroides estudiados, ordenadas en orden creciente de actividad. Se ve cómo los cambios estructurales modifican las conformaciones de las moléculas llevando el anillo A hacia la cara α y que esta torsión creciente va en coincidencia con el aumento en la actividad GC.

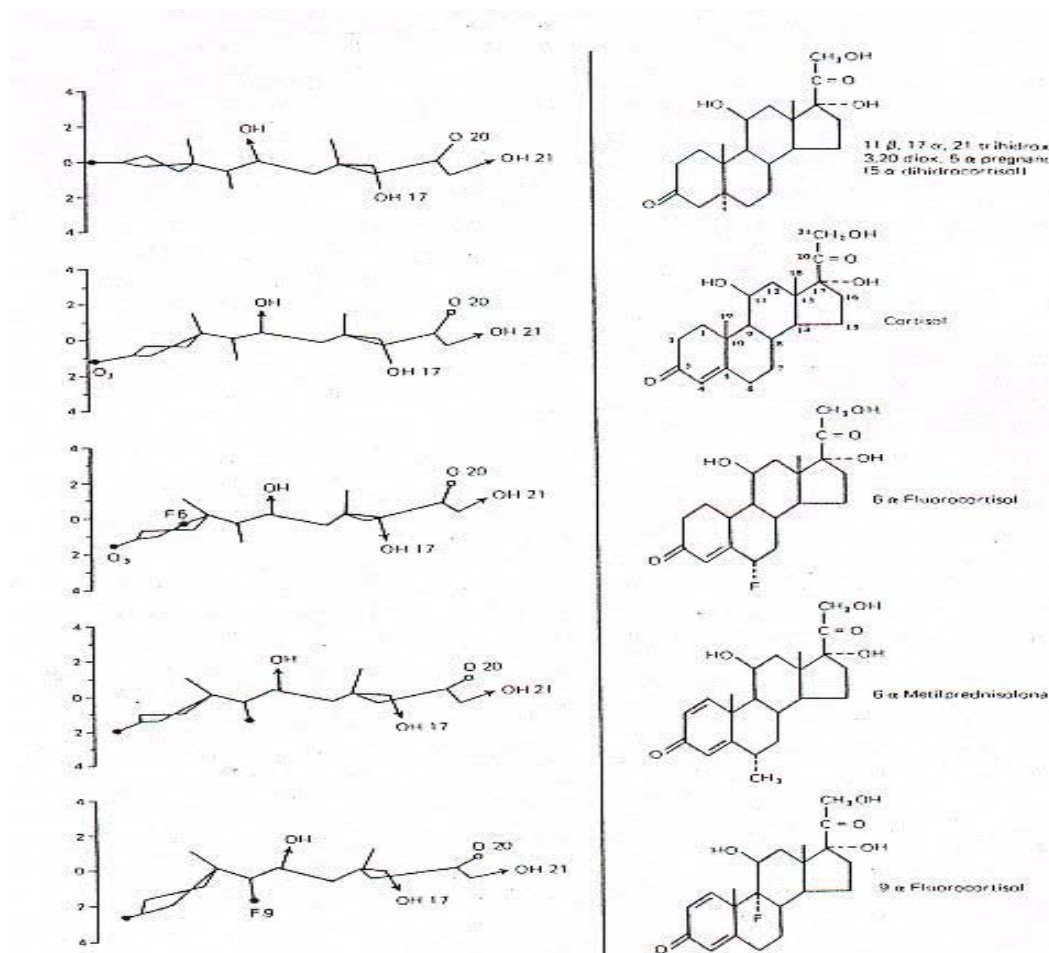
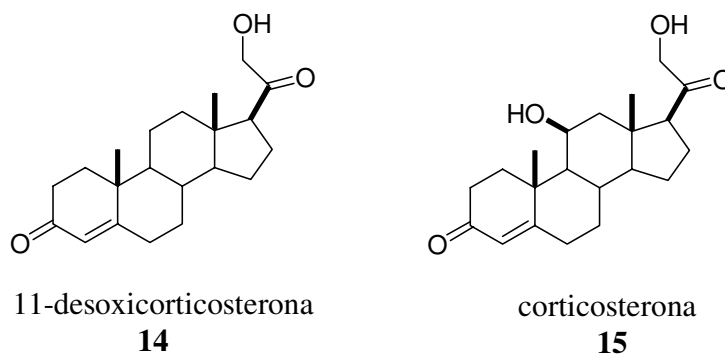


Figura 1.5: Proyecciones conformacionales de cinco esteroides con actividad antiinflamatoria creciente

Con el fin de estudiar la relación estructura/ actividad MC, Burton y *col* sintetizaron una serie de esteroides estructuralmente similares a los corticosteroides naturales [Burton *et al*, 1995]. Estos compuestos se diferenciaban entre sí por cambios graduales en su geometría, que consistían en el aumento progresivo de la curvatura del anillo A hacia la cara α de la molécula (**figura 1.6**). Su objetivo era averiguar si la conformación plana era necesaria y/o suficiente para que un esteroide adquiriera capacidad retentora de sodio, o si bastaba con la presencia de los grupos funcionales que se señalan como característicos de la acción MC (hidroxilo en el C-21 y carbonilo en el C-18). Tomaron como modelo la molécula de progesterona, que es la hormona más simple con esqueleto pregnano que carece de las funciones oxigenadas en C-21 y C-18 características de los MC. Con estas

pautas, y basándose en cálculos semiempíricos (AM1)[§], sintetizaron varios compuestos que presentaban una variedad de grados de “torsión” en la unión de los anillos A/B con una mínima variación de grupos funcionales. Utilizaron puentes oxigenados tanto para obtener la estructura más plana (11,19-óxidoprogesterona (11,19-OP), **7**) como la más plegada (6,19-óxidoprogesterona (6,19-OP), **8**), estudiaron los derivados reducidos 5 α H y 5 β H de progesterona (**10** y **11**) y finalmente introdujeron un aumento en la flexibilidad molecular usando 11-ceto derivados.

Una vez realizados los primeros ensayos, los autores observaron que en la mayoría de los casos se podía relacionar el “requerimiento de planaridad” con la actividad MC. Por ejemplo, el compuesto plano 11,19-OP (con planaridad similar a la aldosterona y mucho más plano que la 11-desoxicorticosterona (DOC, **14**, ambos MC naturales) presenta una gran actividad MC, y fue agrupado junto con estos dos compuestos entre los más activos. El más activo fue la aldosterona (de conformación plana por la formación de acetales cíclicos entre sus posiciones oxigenadas) que presenta, además de una gran planaridad como 11,19-OP, un grupo hidroxilo en C-21 como DOC.



Sin embargo, encontraron algunas excepciones. Por ejemplo, los isómeros 5 α y 5 β de la 3,20-pregnanodiona, exhiben una potencia sodiorretentora muy similar, a pesar de que el isómero β (fusión de anillos A/B *cis*) es un compuesto extremadamente plegado y el α (fusión de anillos A/B *trans*) es prácticamente plano. Esto llevó a los autores a buscar un parámetro conformacional alternativo que estuviera relacionado con la planaridad, pero que

[§] Las estructuras predichas por los métodos computacionales utilizados en este trabajo son muy similares a las obtenidas por difracción de Rayos X. Esto hace que estas estructuras sean confiables para la comparación. Existen además estudios previos de espectroscopía de RMN [Desai *et al*, 1991], en los que se ve que, al menos en el caso de un 6, 19-óxido- Δ^4 -3-cetoesteroide, la conformación predicha por estos métodos computacionales es muy similar a la que adopta el esteroide en solución.

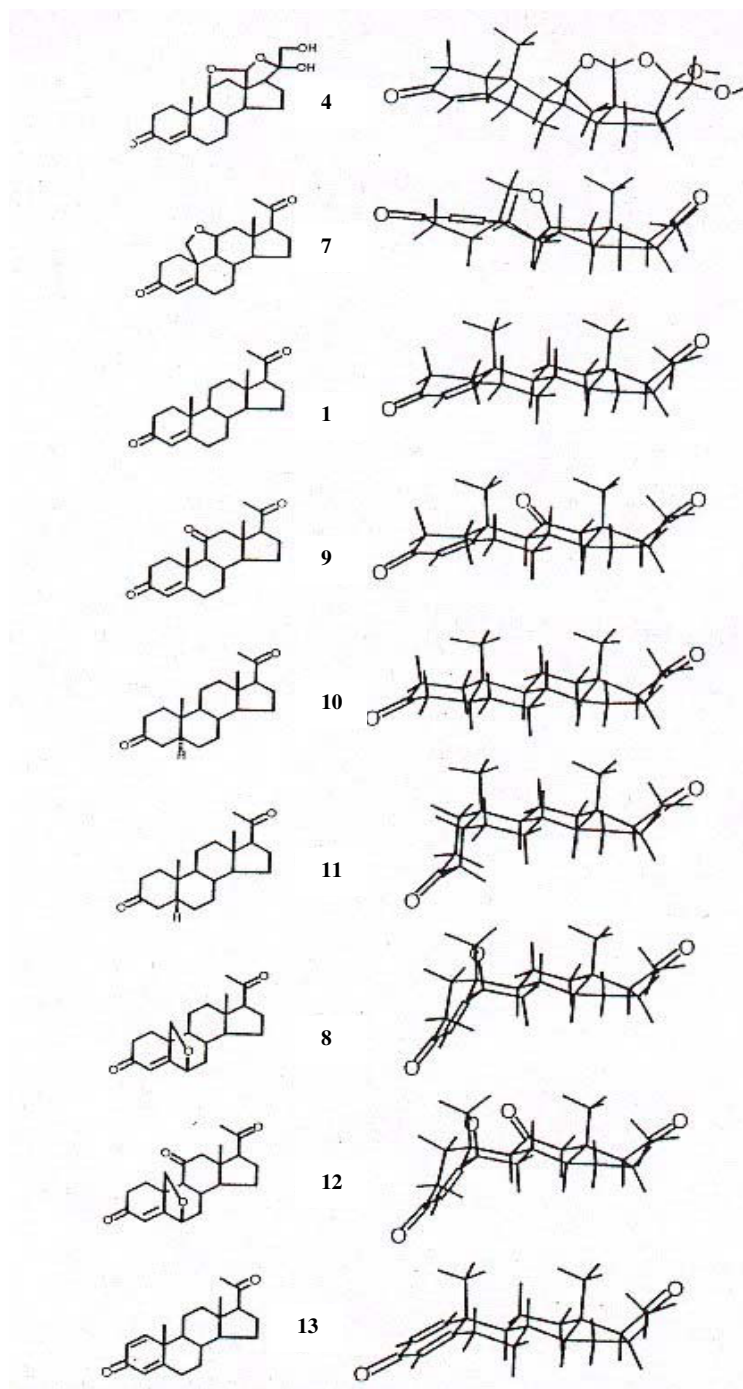


Figura 1.6: Estructuras (izquierda) y conformeros más estables (derecha) de la forma bicetálica de la aldosterona (**4**), 11,19-OP (**7**), progesterona (**1**), 11-cetoprogesterona (**9**), 5 α H-pregnano-3,20-diona (**10**), 5 β H-pregnano-3,20-diona (**11**), 6,19-OP (**8**), 11-ceto-6,19-OP (**12**) y Δ^1 -progesterona (**13**), a partir de cálculos AM1.

no fuera absolutamente coincidente con ella. A este respecto, Yamakawa y *col* [Yamakawa *et al*, 1986] habían hallado previamente una relación inversa entre la distancia del oxígeno en C-3 al plano C-5/C-14 y la afinidad a MR para los 3-ceto esteroides. Burton y *col* eligieron entonces la orientación del grupo carbonilo de C-3 respecto al plano del anillo D[§] (C3=O/D) cuya relevancia para la actividad biológica había sido demostrada previamente (ver más arriba). Con estos nuevos parámetros geométricos, obtuvieron mucho mejores correlaciones con la actividad, lo que los llevó a sintetizar, ensayar e incluir exitosamente en las correlaciones al derivado de progesterona con Δ^1 , el cual difiere de la progesterona bastante en la planaridad pero muy poco en la orientación del carbonilo de C-3.

Si bien se hallaron muy buenas correlaciones cuando se hicieron mediciones de actividad MC, al intentar correlacionar el parámetro geométrico C3=O/D con las afinidades de los compuestos por los MR, se encontraron datos discordantes. Todos los compuestos (excepto 11,19-OP) mantuvieron la correlación al utilizar extractos celulares crudos. Pero al estudiar los receptores purificados, la correlación disminuyó notablemente, presentando algunos de ellos (DOC **14**, 11,19-OP, corticosterona **15**) una afinidad mucho menor. Los autores explican estos resultados postulando que la actividad sodiorretentora no depende de un único factor sino de mecanismos competitivos complejos en los que intervienen múltiples elementos; entre ellos podrían contarse, además de los receptores y su complicado mecanismo de acción, enzimas metabolizantes, proteínas transportadoras, la vida media de los compuestos, etc. Por esto, ningún factor (en este caso la afinidad al receptor) podría señalarse como único responsable de la correlación observada entre la geometría y la actividad sodiorretentora[†].

En conclusión, si bien el mecanismo por el cual se produce la respuesta biológica es sumamente complejo, se pudo observar una fuerte correlación entre la actividad sodiorretentora (MC) y el parámetro geométrico C3=O/D.

[§] El anillo D adopta en solución una conformación de sobre en la cual los carbonos 14 a 17 están en el mismo plano y el 13 fuera de él.

[†] En estudios posteriores [Galigniana *et al*, 2000; Piwien-Pilipuk *et al*, 2002], los mismos autores observaron que 11,19-OP presentaba alta afinidad por un segundo sitio de unión al MR, el cual era diferente al de los MC naturales.

Cabe aclarar que los resultados de esta investigación no tuvieron en cuenta la flexibilidad de las moléculas, un factor cuya importancia había sido señalada previamente por Delettré y *col* [Delettré *et al*, 1980]. Cualitativamente, los isómeros reducidos de la progesterona son bastante flexibles, mientras que los análogos puenteados 6,19 y 11,19-OP son moléculas sumamente rígidas. Más aun, mientras DOC puede adoptar una conformación plana, corticosterona puede “doblar” fácilmente, pero no “aplanarse”, debido a la presencia del grupo hidroxilo sobre el C-11; este grupo produce un fuerte congestionamiento estérico sobre la cara β de la molécula al interactuar con los dos metilos angulares de posiciones 18 y 19.

La serie de experiencias relatadas más arriba permite realizar una generalización acerca de los requerimientos estructurales de las hormonas esteroideas. Se puede concluir que, así como los GC muestran una gran torsión en la unión de los anillos A/B, los MC parecen requerir una conformación globalmente plana para su actividad óptima. Como regla general, se observa que existe mayor afinidad por los MR cuando se eliminan sustituyentes que tuercen el anillo A hacia la cara α del esteroide; el mismo efecto se obtiene introduciendo puentes cetálicos, los cuales aplanan la estructura. Duax y *col* han resumido los requerimientos conformacionales del anillo A de hormonas esteroideas para conseguir uniones óptimas a los diferentes receptores; éstos se indican en la **tabla 1.1**:

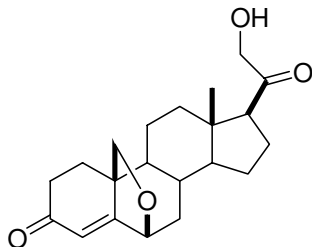
Receptor	Grupos funcionales	Características conformacionales
estrógenos	anillo aromático	plano
progestágenos	Δ^4 -3-ceto	semisilla invertida 1β , 2α
mineralocorticoides	Δ^4 -3-ceto	de 1α -sobre a 1α -semisilla
glucocorticoides	Δ^4 -3-ceto	curvado sobre la cara α

Tabla 1.1: Características estructurales del anillo A de las hormonas esteroideas

No obstante, como se indica más arriba, los trabajos de Burton y *col* indican que, para el caso de la acción MC, la actividad se correlaciona mejor con el ángulo formado entre el carbonilo de posición 3 y el plano definido por el anillo D.

Diseño racional del primer esteroide con actividad antigluco corticoide pura

El haber hallado diferencias conformacionales tan importantes entre GC y MC, permitió el diseño de moléculas nuevas, con ángulos de torsión A/B que se alejen tanto de la afinidad por PR como por MR. Así, Burton y *col* [Veleiro *et al*, 1995; Vicent *et al*, 1997] sintetizaron el primer compuesto con actividad antigluco corticoide pura: 21-hidroxi-6,19-óxidoprogestero na (21-OH-6,19-OP, **16**).

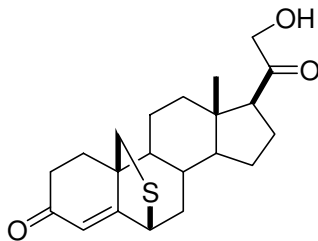


21-hidroxi-6,19-óxidoprogestero na

16

Este compuesto fue diseñado a partir de 6,19-OP, el cual formó parte del estudio sistemático de la potencia MC que se describió anteriormente. Además de exhibir una actividad retentora de sodio nula, la 6,19-OP mostró una muy baja actividad GC. Se pensó entonces en introducir un grupo hidroxilo en la posición 21 de la estructura (característico de la acción GC) y se observó que el nuevo compuesto no interactuaba con los MR ni PR, pero sí era capaz de bloquear los GR sin producir ningún efecto.

Tomando en cuenta los resultados anteriores, Burton y *col* [Veleiro *et al*, 2004] diseñaron y sintetizaron los análogos con puentes sulfuro, sulfona y sulfóxido. El compuesto 21-hidroxi-6,19-sulfanilprogestero na (21-OH-6,19-SP, **17**) resultó un antigluco corticoide superior a 21-OH-6,19-OP.



17

Objetivo

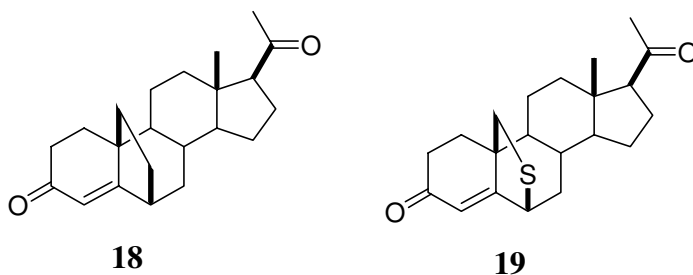
En la búsqueda de compuestos con conformaciones predeterminadas, Burton y *col* introdujeron puentes oxigenados y azufrados en posiciones claves del esqueleto esteroidal.

Así, el puente 6,19-éter llevó a una molécula extremadamente curvada en la unión de los anillos A y B, y el puente 11,19-éter resultó en una conformación prácticamente plana. En estos compuestos, la presencia de heteroátomos confiere polaridad a la cara β (**figura 1.6**).

Si bien se considera que la geometría de estas moléculas (parámetro C3=O/D) sería responsable de la respuesta biológica, resultó de mucho interés intentar distinguir entre los efectos electrónicos y los estéricos de manera de poder estudiar el efecto debido sólo a la “forma” de la molécula.

Para este fin, una modificación sintética adecuada sería reemplazar el oxígeno del puente éter por un grupo metileno. Como se indica en el **Capítulo 2**, la formación de ciclos carbonados es una estrategia utilizada en la búsqueda de análogos esteroidales con mejores propiedades bio-farmacológicas. Sin embargo, al momento de la escritura de esta tesis, no se hallaba descrita en literatura la formación de puentes carbonados 6,19. En vista de la importancia de estos derivados (de cuya relevancia informa la obtención de tres patentes internacionales por este laboratorio) se propuso como objetivo principal de este trabajo de tesis la obtención de 6,19-metanoprogesterona (**18**).

La superposición de los modelos (AM1) de 6,19-metanoprogesterona (**18**) con 6,19-OP (**8**) por un lado (**figura 1.7**) y 6,19-sulfanilprogesterona (6,19-SP, **19**) por otro (**figura 1.8**) muestra que el análogo carbonado tiene una estructura ligeramente más parecida al análogo azufrado que al oxigenado. Los ángulos entre el plano del anillo A (definido por los átomos C-3, C-4, C-5 y C-10) y el plano B-C-D (definido por los átomos C-5 a C-17) son 55° para 6,19-metano, 58° para 6,19-OP y 54° para 6,19-SP. Considerando que los análogos azufrados presentan mayor actividad biológica que los oxigenados, y que la mayor estabilidad química de los análogos carbonados debería mejorar la vida media y por lo tanto su biodisponibilidad, su síntesis y el estudio de sus propiedades biológicas resultaron de gran interés.



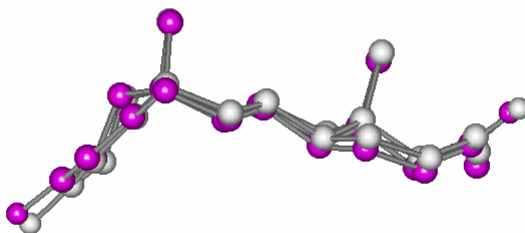


Figura 1.7: Superposición del modelo (AM1) de 6,19-metanoprogesterona (blanco) y 6,19-OP (violeta). El error de cuadrados mínimos por la superposición de los átomos C-7-C-9 y C-11-C-18 es 0.0329 Å; la distancia entre los oxígenos de los carbonilos O-3 (**18**)/O-3 (**8**) es 0,11 Å.

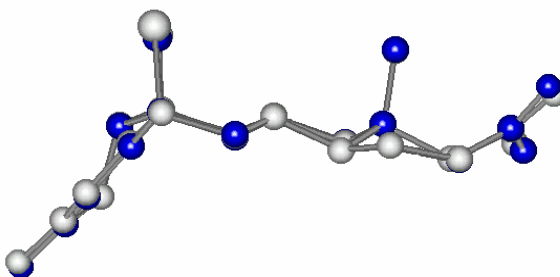
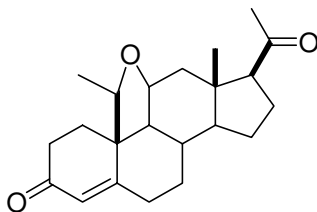


Figura 1.8: Superposición del modelo (AM1) de 6,19-metanoprogesterona (blanco) con 6,19-sulfanilprogesterona (azul). El error de cuadrados mínimos por la superposición de los átomos C-7-C-9 y C-11-C-18 es 0.0229 Å; la distancia entre los oxígenos de los carbonilos O-3 (**18**)/O-3 (**19**) es 0,06 Å.

Utilizando las metodologías desarrolladas en este trabajo y teniendo en cuenta su importancia se realizó además una aproximación a la síntesis de análogos con puentes carbonados 11,19. Esta búsqueda permitió obtener 19(R)-metil-11,19-óxidoprogesterona (**20**), primer análogo sustituido en C-19 del mineralocorticoide sintético 11,19-OP.



20

Capítulo 2

Antecedentes en la Síntesis de Puentes en Esteroides

Formación de ciclos: aspectos generales

Las reacciones de ciclación juegan un rol fundamental tanto en la síntesis de sistemas heterocíclicos como de ciclos carbonados. Entre los métodos más utilizados están las reacciones basadas en sustituciones nucleofílicas o adiciones a enlaces múltiples. Para que los procedimientos sean suaves y den resultados útiles con fines preparativos, estas reacciones requieren que se den ciertas condiciones estérico electrónicas en el estado de transición, como por ejemplo la colinealidad entre los grupos atacante y saliente en sustituciones S_N2 o el ángulo de acercamiento en la adición a enlaces múltiples (**figura 2.1**).

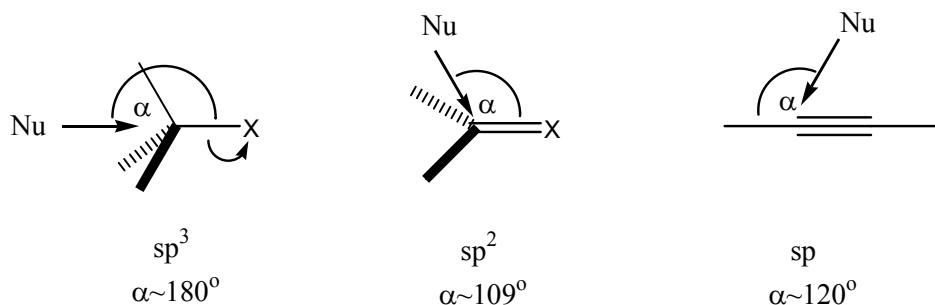


Figura 2.1

En una reacción intramolecular no siempre es posible alcanzar la geometría óptima debido a restricciones impuestas por las cadenas que conectan los centros reactivos. Tomando en cuenta los efectos estéricos y estereoelectrónicos que afectan el curso de una ciclación, Baldwin elaboró un grupo de reglas que clasifican las reacciones como “favorecidas” o “desfavorecidas”, en función del tamaño del anillo que debe formarse y la hibridación del átomo sobre el que ocurre la ciclación (**figura 2.2** y **tabla 2.1**).

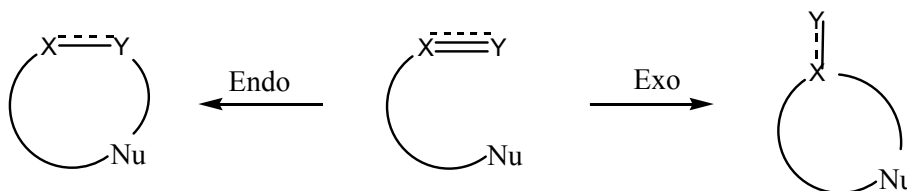


Figura 2.2

Tabla 2.1: Reglas de Baldwin para la formación de ciclos

Hibridización	Enlace que se rompe	Tamaño del anillo				
		3	4	5	6	7
Tet (sp ³)	<i>exo</i>	F	F	F	F	F
	<i>endo</i>	D	D	D	D	D
Trig (sp ²)	<i>exo</i>	F	F	F	F	F
	<i>endo</i>	D	D	D	F	F
Dig (sp)	<i>exo</i>	D	D	F	F	F
	<i>endo</i>		F	F	F	F

F= favorecido, D= desfavorecido

Los prefijos *endo* y *exo* de la tabla denotan cuándo el enlace que se rompe es *endo* o *exocíclico* respecto al menor anillo que se forma (**figura 2.2**). La hibridación del centro que será atacado por el nucleófilo se denota como Tet (sp³), Trig (sp²) o Dig (sp). Hay que tener en cuenta que las reacciones clasificadas como “desfavorecidas” no deben ser excluidas *a priori*, aunque el éxito aquí podría indicar un mecanismo de ciclación distinto al planteado originalmente. En todo caso, las reglas predicen que se pueden hallar dificultades en algunos pasos de ciclación y deben ser tenidas en cuenta para localizar posibles cuellos de botella en la estrategia sintética. Es importante notar que estas reglas pueden ser aplicadas a procesos tanto iónicos como radicalarios.

Puentes en esteroides

La incorporación de pequeños puentes que unen distintas partes del esqueleto esteroideal ha sido una estrategia ampliamente utilizada en la búsqueda de nuevos análogos de hormonas esteroideas con actividad biológica. Se utiliza habitualmente con el objetivo de fijar conformaciones en los anillos del esqueleto esteroideal; en particular, se han sintetizado numerosos compuestos con puentes que involucran los metilos angulares.

A continuación se mencionarán algunos ejemplos de la construcción de puentes en esteroides. Como el objetivo de esta tesis implica la construcción de puentes carbonados que contienen el C-19, se han elegido ejemplos que involucran esta posición.

También se mencionarán casos en los cuales la reacción de ciclación (como en los puentes 11,13 y 7,9) resulta relevante como antecedente. Finalmente, se describirán con mayor profundidad los antecedentes de construcción de ciclos 6,19.

2.1. Puentes 11,13

El primer esteroide sintético con actividad progestacional (*etisterona*, **21**) fue identificado en la década de 1930 (**figura 2.3**). El descubrimiento en la década de 1950 de que su 19-nor-análogo (*noretisterona*, **22**) tiene mayor actividad cuando se lo administra por vía oral llevó al desarrollo de los anticonceptivos orales. Estudios posteriores demostraron que la introducción de grupos alquilo sobre la cara β de los anillos C y D de *noretisterona* (por ejemplo por metilación de C-11 ó C-18) lleva a un aumento en la actividad progestacional, que puede atribuirse a un aumento de la estabilidad metabólica de los compuestos o de su afinidad por el receptor proteico. Esta mayor estabilidad podría, a su vez, ser consecuencia de interacciones hidrofóbicas favorables del sustrato alquílico en la cavidad del receptor o bien de cambios en las conformaciones de los anillos, debido a la presencia de sustituyentes voluminosos. Así, un sustituyente en la posición 11 β tuerce al anillo A hacia la cara α de la molécula debido a la repulsión estérica con el metilo de C-13 y deja al grupo 3-ceto en una posición probablemente más favorable para interactuar con el receptor. Por el contrario, si los sustituyentes de C-11 y C-13 están unidos entre sí mediante un enlace covalente formando un puente, el grupo 3-ceto se desvía hacia la cara β .

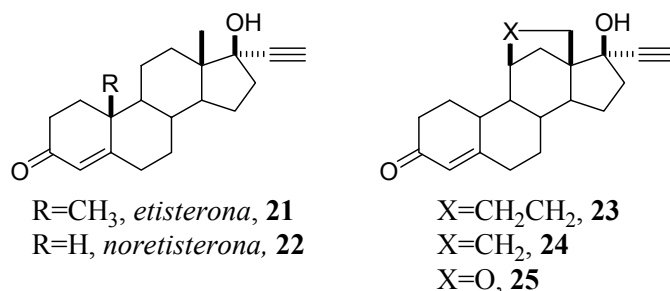


Figura 2.3: *Etisterona* y análogos.

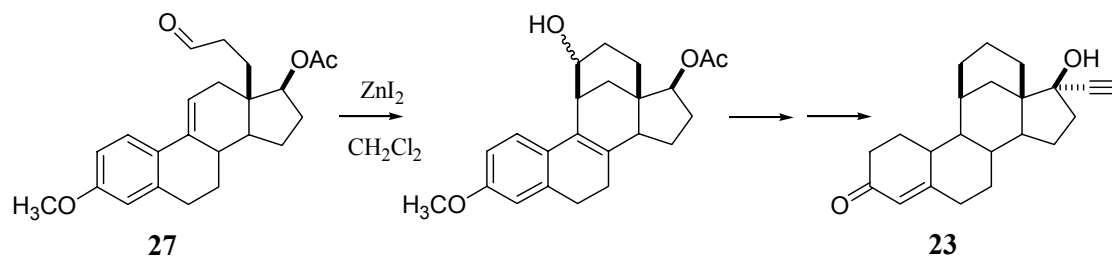
Con el objetivo de investigar la influencia de grupos alquilo voluminosos sobre el anillo C, Pitt y col [Pitt *et al*, 1979] sintetizaron el análogo con puente 11,13-propano

(**23**) de *noretisterona* (**figura 2.3**), en el cual la presencia del ciclo adicional de seis miembros evita la interacción repulsiva entre los sustituyentes de C-11 y C-13 pero no influye en las conformaciones de la molécula.

Posteriormente, Hamersma y *col* [Hamersma *et al*, 1997] sintetizaron los análogos con puentes 11,13-etano (**24**) y 11,13-eteno (**26**) y compararon su actividad con la del 11,13-epoxi (**25**) sintetizado previamente.

Puente propano [Pitt *et al*, 1979]

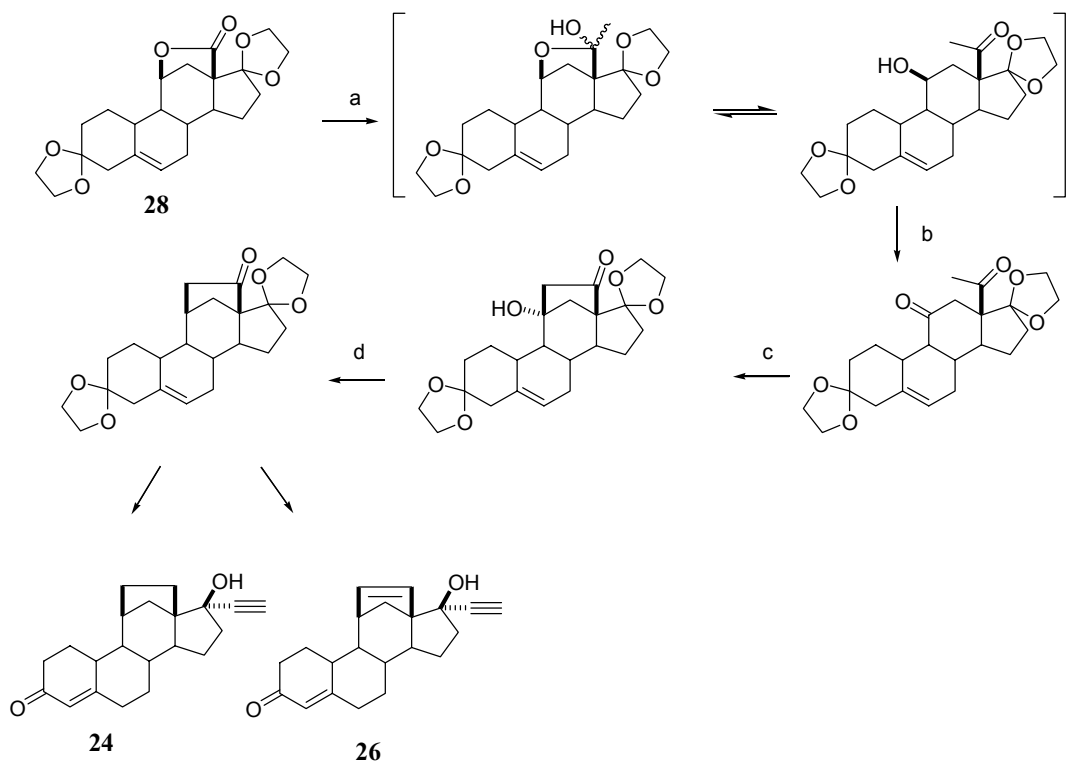
Pitt y *col* sintetizaron el análogo con puente 11,13-propano (**23**) de *noretisterona* (**22**). La ciclación (del tipo 6-*exo*-trig) se realizó utilizando la reacción de Prins de adición de carbonilos a dobles enlaces (ver página 81), por tratamiento del aldehído **27** con ZnI_2 en CH_2Cl_2 . La desoxigenación radicalaria del alcohol y posteriores transformaciones sintéticas llevaron al compuesto buscado (**esquema 2.1**).



Esquema 2.1

Puentes etano y eteno [Hamersma *et al*, 1997]

Hamersma y *col* utilizaron un precursor común para la síntesis de los compuestos con puentes etano y eteno. La ciclación que llevó al puente 11,13-carbonado se llevó a cabo mediante una condensación aldólica entre un carbonilo en C-11 y una metilcetona sobre C-13. La desoxigenación radicalaria de la posición 11α llevó a la obtención del precursor **28** a partir del cual se siguieron dos rutas distintas para llegar a los compuestos buscados (**esquema 2.2**).

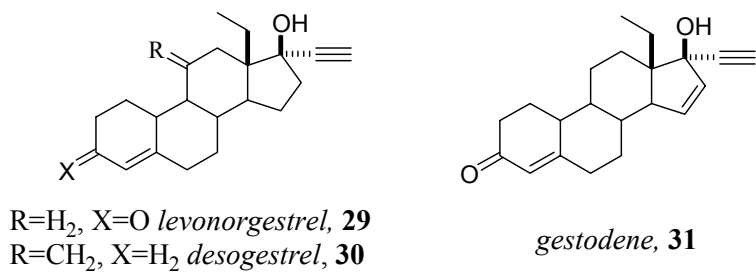


Reactivos: a) CH_3MgBr ó CH_3MgCl ; b) PCC, c) condensación aldólica; d) 1) $\text{CH}_3\text{OCOCO}_2\text{Cl}$, 2) HBu_3Sn , AIBN

Esquema 2.2

Puentes etano sustituidos [Broess *et al*, 1997]

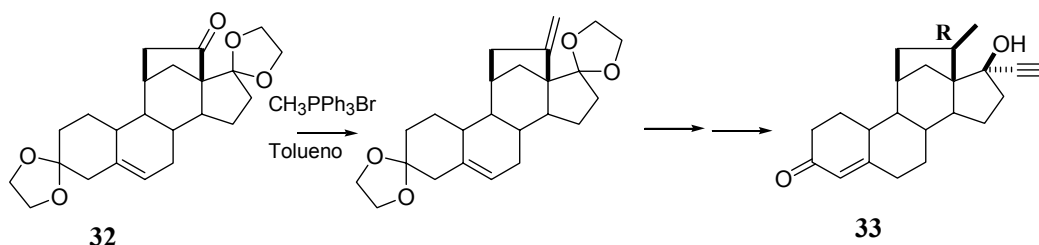
Como se indicó más arriba, la actividad como anticonceptivos orales de análogos de *noretisterona* aumenta cuando se coloca un sustituyente voluminoso sobre C-13. Esto se verifica en particular cuando se cambia el grupo metilo por un etilo como en los compuestos *levonorgestrel* (**29**), *desogestrel* (**30**) y especialmente en *gestodene* (**31**).



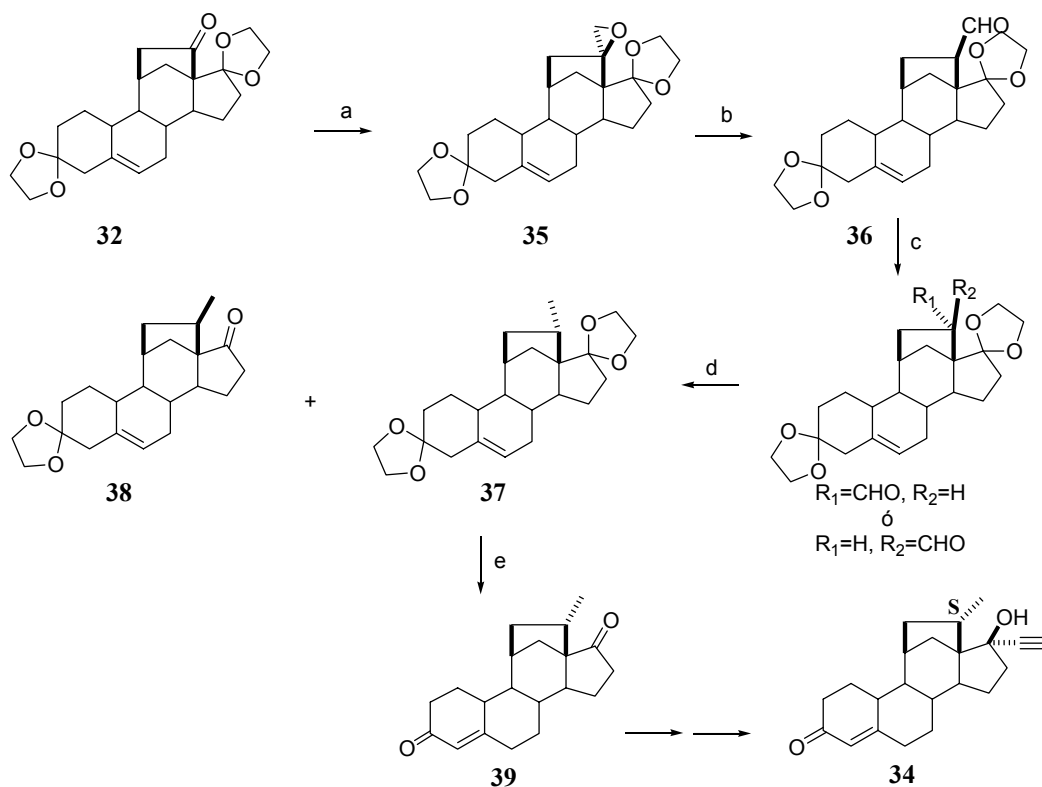
Estudios de Rayos X demostraron que estos tres últimos compuestos difieren en la conformación del grupo 13-etilo. Por un lado, tanto en **29** como en *3-cetodesogestrel* (metabolito activo de **30**) este grupo etilo adopta una conformación *anti* en la cual se ubica alejándose del resto de la molécula para evitar la interacción entre el metilo de C-18 y el H-15 β . Por otro lado, la ausencia de esta interacción en **31**, el más activo de los tres, hace que sus moléculas tomen conformaciones *anti* y *gauche*, las cuales se observan en los cristales en igual proporción.

Para estudiar la influencia de la conformación *gauche* con la actividad biológica, Hamersma y *col* sintetizaron dos análogos de **31** en los cuales las posiciones 11 y 13 están unidas por un puente (18-metil)-etano. En estos compuestos, la configuración de C-18 (18R o 18S) fija la posición del metilo en C-18, mientras que el ciclo adicional fija las conformaciones de los anillos del esteroide.

Estos investigadores utilizaron el compuesto **32** como precursor de ambos análogos. En el caso del isómero R (**33**, **esquema 2.3**), en cuya conformación más estable el metilo de C-18 está en la misma posición que en el conformero *gauche* de **29**, se utilizó la reacción de Wittig como paso clave. Para la síntesis del isómero S (**34**, con el metilo en la misma orientación que en *3-cetodesogestrel*) se realizó la conversión de la cetona de C-18 (**32**) en un epóxido (**35**) y su posterior isomerización a un aldehído (**36**, **esquema 2.4**). Cuando **36** se redujo con la reacción de Wolff-Kishner, se obtuvo una mezcla 2:1 α/β de los metilos sobre C-18 la cual, al no poder ser separada, se resolvió hidrolizando selectivamente el 20-etilén del isómero β (**38**) frente al α (**37**) con ácido oxálico y sílica gel. **37** pudo ahora separarse y su desprotección requirió el uso de ácido sulfúrico 2N.



Esquema 2.3

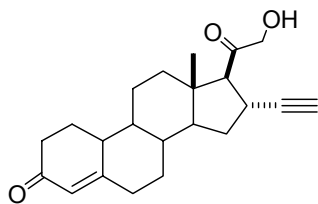


Reactivos: a) metiléndimetilsulfoxonio / DMSO; b) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$; c) Wolff-Kishner, d) 1) ácido oxálico, sílica gel, 2) separación cromatográfica; d) H_2SO_4 2N

Esquema 2.3

Actividad biológica

Se determinó la actividad progestacional *in vivo* de los compuestos y su unión al receptor de progesterona comparándolos con la progestina sintética ORG 2058 (16 α -etil-21-hidroxi-19-norpregn-4-eno-3,20-diona).



ORG 2058

Los compuestos 11,13-metilenoxi y 11,13-eteno presentaron similitudes entre sí, con poca actividad y baja afinidad por el receptor; por ello, los autores coligieron que la densidad electrónica que provocan un doble enlace o un heteroátomo sobre el anillo C es desfavorable para la acción biológica y la unión al receptor. Por otro lado, se observaron valores muy similares para los compuestos 11 β -metilado, su análogo con puente 11,13-etano y ORG 2058. Dado que la presencia de los puentes 11,13 de dos miembros

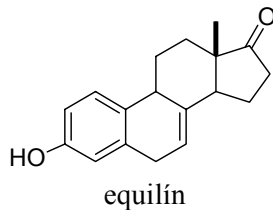
cambiaría la posición del carbonilo sobre C-3, los autores concluyeron que esta posición no es crucial en la interacción con los receptores.

Respecto a los puentes etano sustituidos, el compuesto con configuración C-18R (que reproduce la conformación *gauche* de *gestodene*) tiene mucha menor afinidad por el receptor de progesterona y también menor actividad que su isómero con configuración C-18S, lo cual indicaría que estas conformaciones no son relevantes para la actividad y que la favorecida sería la “conformación *desogestrel*” para el grupo etilo. Así, el efecto del doble enlace Δ^{15} en *gestodene* no llevaría al etilo a adoptar una conformación más favorable para la actividad biológica, sino que ejercería su propia contribución a la actividad del compuesto.

Respecto al compuesto con puente 11,13-propano, la presencia de este ciclo mantiene la distancia entre los sustituyentes en C-11 y C-13; por otro lado, el puente está relativamente poco tensionado (forma un anillo de seis miembros), por lo que, según los autores, ejercería poca influencia sobre las conformaciones de los anillos de la molécula. Este compuesto presenta una afinidad menor por el receptor de progesterona que el compuesto 11 β -metilado, lo cual, para el caso de los progestágenos, pareciera contradecir las conclusiones previas respecto a la orientación del carbonilo del anillo A del esteroide y la unión al receptor.

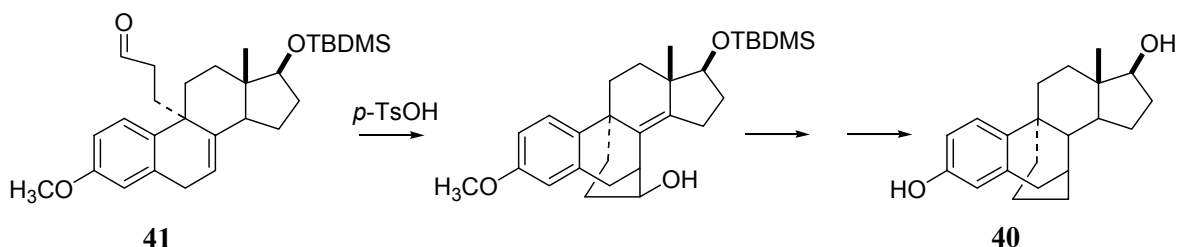
2.2. Puente 7,9

En la búsqueda de análogos del equilín, un estrógeno equino muy utilizado en terapias de reemplazo hormonal, Künzer y *col* [Bojack *et al*, 1996] sintetizaron el compuesto con puente 7,9-propano (**40**).



Estos autores también eligieron para la ciclación la reacción de Prins, (ver síntesis del puente 11,13-propano **23** [Pitt *et al*, 1979], pag 25). En el caso del puente 7,9, el tratamiento del aldehído **41** con ácido *p*-toluensulfónico produjo una ciclación. Es

destacable que esta reacción transcurrió con completa regioselectividad 6-*endo* trig en lugar de la esperada 5-*exo* trig (favorecida de acuerdo con las reglas de Baldwin).

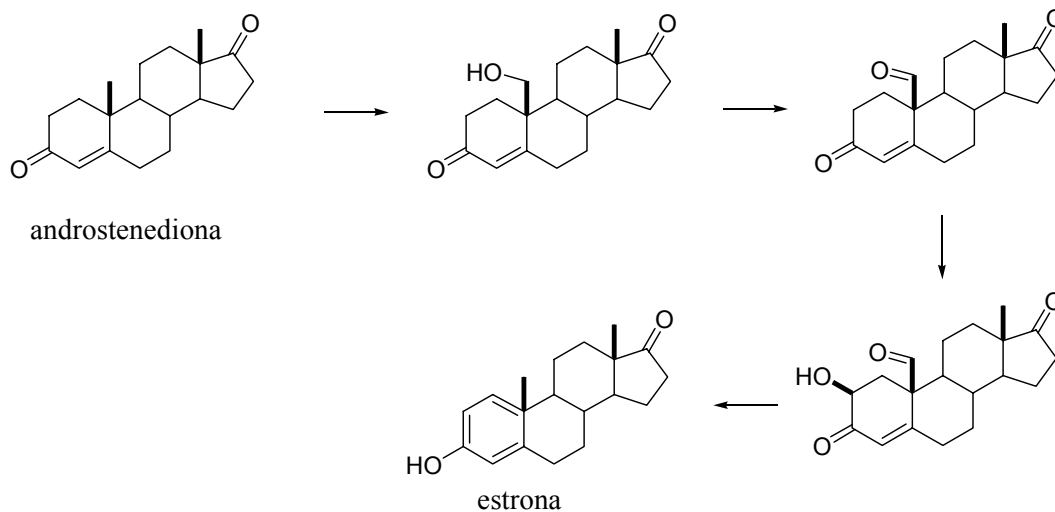


Esquema 2.4

La afinidad de **40** por los receptores de estrógeno resultó ser muy baja.

2.3. Puentes 2,19

La inhibición de la enzima humana aromatasasa ha sido objeto de numerosos estudios relacionados con la síntesis de compuestos activos. Al conformar el paso limitante en la conversión endógena de andrógenos en estrógenos, su inhibición resulta de gran utilidad terapéutica, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer de mama dependiente de estrógeno. El mecanismo de acción de esta enzima involucra la eliminación del metilo de C-19 y la aromatización del anillo A característica de los andrógenos (**esquema 2.5**).

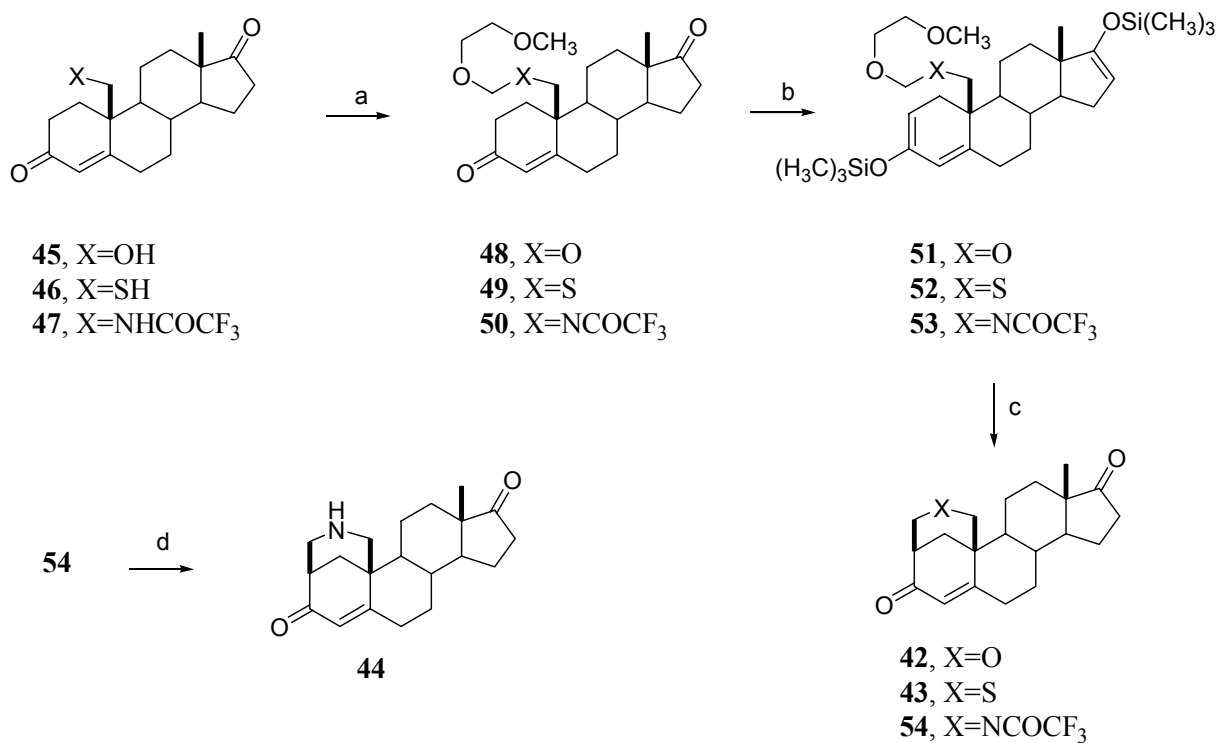


Esquema 2.5

Peet y *col* [O'Neal *et al*, 1993] consideraron que la introducción de puentes que unieran las posiciones 2 y 19 en androstenodiona podría llevar a la inhibición del camino enzimático indicado más arriba. Para ello, sintetizaron varios análogos de este tipo y midieron sus afinidades por el receptor de aromatasa.

a) Puentes con heteroátomos (esquema 2.6)

Estos autores utilizaron la misma estrategia sintética para obtener los compuestos con puentes oxigenado (**42**), azufrado (**43**) y nitrogenado (**44**). Partiendo de los precursores 19-hidroxi (**45**), 19-mercapto (**46**) y 19-[(trifluoroacetil)amino]androstenodiona (**47**), sintetizaron los MEM derivados **48**, **49** y **50** y los trataron con LDA y TMSCl. De esta manera, lograron atrapar de manera eficiente los enolatos cinéticos formados en los anillo A para obtener los bis-TMS éteres **51**, **52** y **53** cuyo tratamiento con TiCl₄ en CH₂Cl₂ a -20°C dio las 2,19-androstenodionas **42**, **43** y **54** respectivamente. Para la obtención del análogo nitrogenado fue necesaria una etapa extra para hidrolizar el trifluoroacetato de **44**.



Reactivos: a) MEMCl, (i-Pr₂)NEt/CH₂Cl₂ para **48** y **49** y KH, 18-crown-6 para **50**,
 b) LDA, TMSCl/THF; c) TiCl₄/CH₂Cl₂; d) K₂CO₃/ MeOH, H₂O.

Esquema 2.6

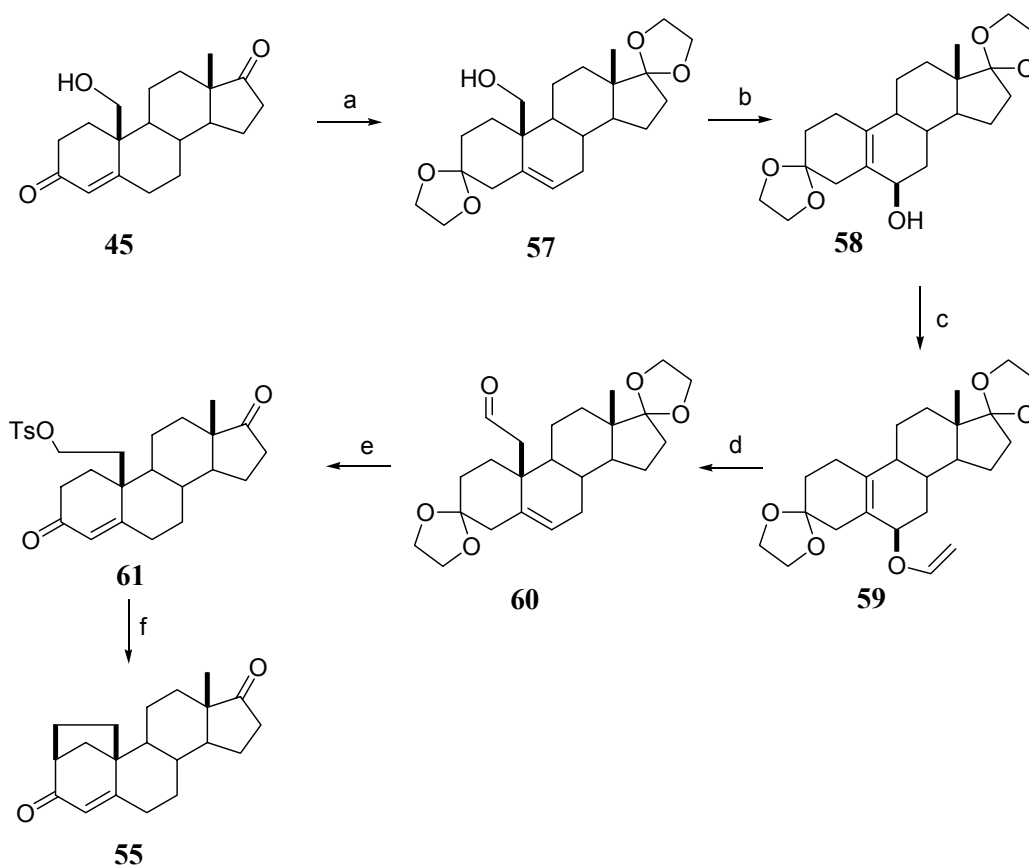
b) Puentes carbonados

Los puentes carbonados de 5 miembros [Lan-Hargest *et al*, 1987] y 6 miembros [Burkhart *et al*, 1992] (2,19-metano **55** y 2,19-etanoandrostenediona **56** respectivamente), se construyeron a partir de los correspondientes tosilatos *vía* alquilación intramolecular. Los autores utilizaron en todos los casos hexametildisilazida de litio (LHMDS) para formar los enolatos cinéticos que dieron lugar a los ciclos buscados.

Puente metano (esquema 2.7)

Partiendo del esteroide comercial 19-hidroxiandrostenediona **45**, Lan-Hargest y *col* sintetizaron el aldehído precursor **60** por un método descrito previamente [Hauser *et al.*, 1964].

Este compuesto fue reducido y transformado en el 19-tosilato **61** el cual por reacción con LHMDS dio lugar a 2,19-metanoandrostenediona **55**.

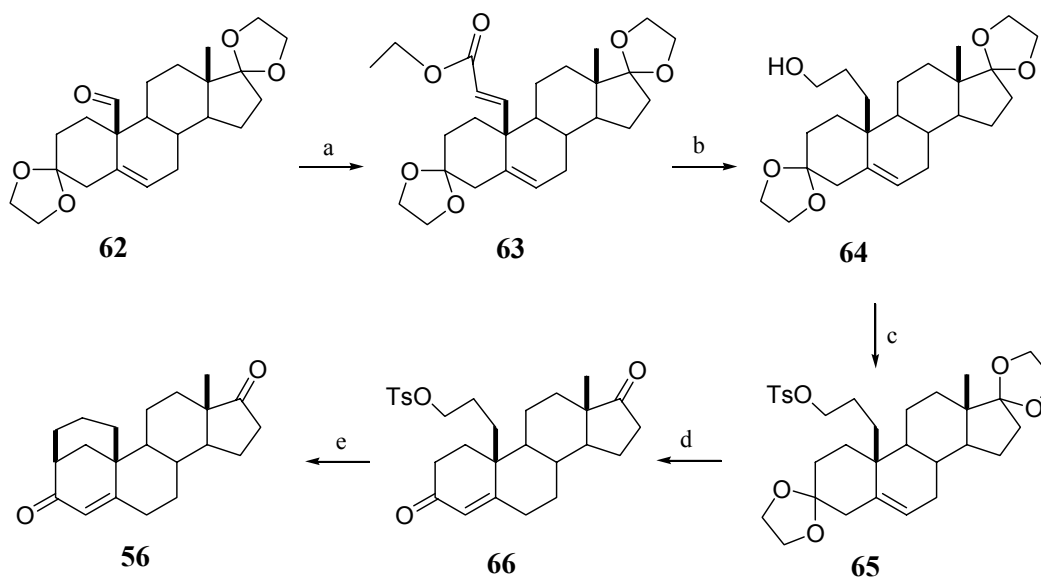


Reactivos: a) etilénigcol; b) $Pb(AcO)_4$; c) vinilización; d) trasposición de Claisen; e) 1) $NaBH_4/EtOH$, 2) $p-TsCl/Py$, 3) $p-TSOH/acetona$; f) LDA/THF , hexano

Esquema 2.7

Puente etano (esquema 2.8)

Para la síntesis de los compuestos con puentes etano, los autores [Burkhat *et al*, 1992] partieron del aldehído **62**. La homologación de C-19 con el anión de trietilfosfonoacetato permitió obtener el ester α,β -insaturado **63**, el cual se redujo con litio en amoníaco. La ciclación se produjo también por tratamiento con LHMDS del tosilato **66**.

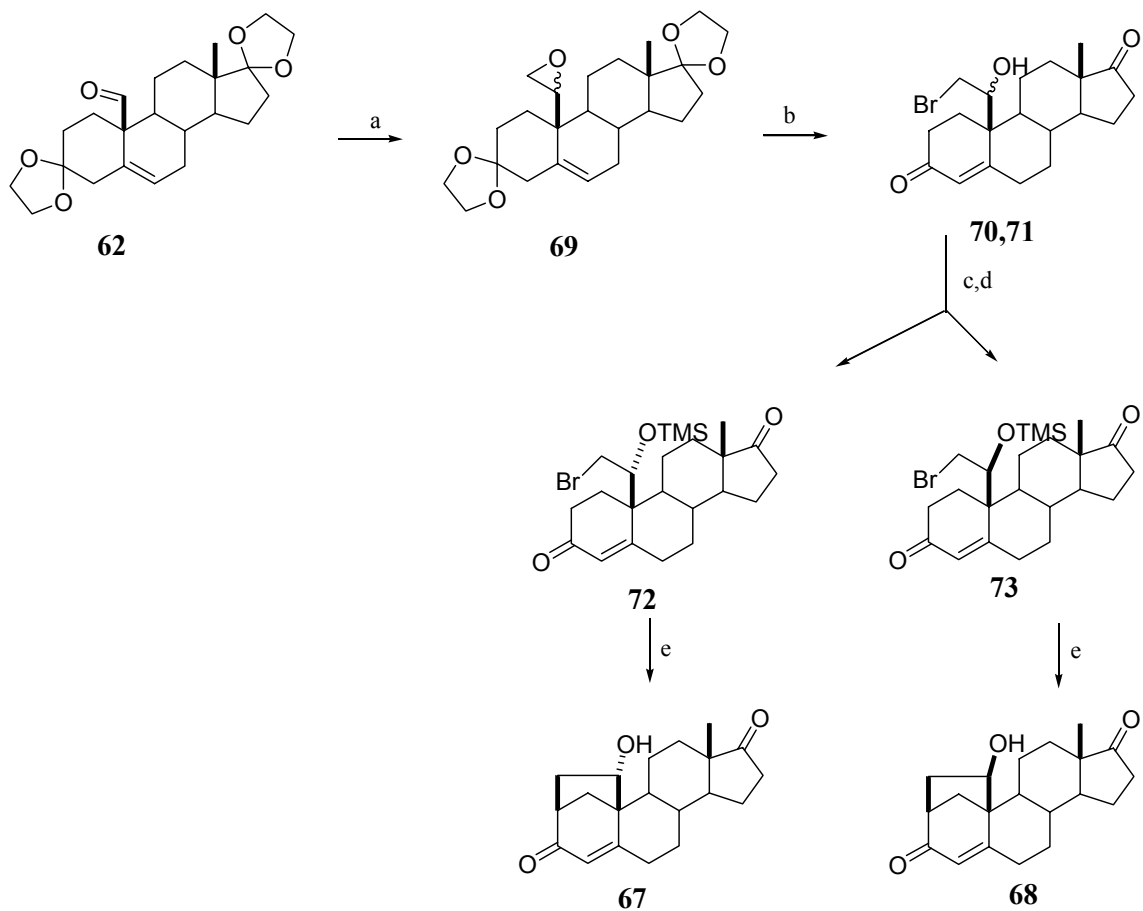


Reactivos: a) $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, $n\text{-BuLi/THF}$; b) Li , NH_3/EtOH , Et_2O ; c) TsCl , piridina/ CHCl_3 ; d) $p\text{-TsOH/ H}_2\text{O}$, acetona; e) LHMDS/THF .

Esquema 2.8

Puentes hidroxietano (esquema 2.9)

Los mismos autores [Peet *et al*, 1993] sintetizaron también los compuestos con puente 2,19(S)- y 2,19(R)-hidroxietano (**67** y **68** respectivamente) utilizando como precursores las bromohidrinias homologadas correspondientes (**70** y **71**). El aldehído precursor **60** se trató con el anión de DMSO dando el epóxido **69** el cual posteriormente se trató con HBr y agua dando una mezcla de **70** y **71**. Estos compuestos se protegieron como trimetilsililos. La separación cromatográfica y el posterior tratamiento por separado de **72** y **73** con LHMD y su posterior desprotección llevó a la obtención de los alcoholes **67** y **68**.



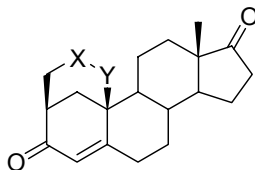
Reactivos: a) TMS, $\text{NaCH}_2\text{SOCH}_3$, DMSO/THF; b) HBr, H_2O / acetona; c) bis(trimetilsilil)acetamida/ DMF; d) separación cromatográfica; e) 1) LHMDS, THF, 2) HCl/THF

Esquema 2.9

Actividad biológica

En la **tabla 2.2** se presenta la afinidad de los compuestos sintetizados por el receptor de aromatasa.

Tabla 2.2: Afinidad de derivados con puentes 2,19 por el receptor de aromatasa



Compuesto	X	Y	Afinidad (relativa a 55)	Tipo de inhibición
42	O	CH ₂	5	C, DT, BM
43	S	CH ₂	1	C, DT
44	NH	CH ₂	-	NC, DT
56	CH ₂	CH ₂	10	C, DT
55	-	CH ₂	1	C, no DT
67	-	CHOH (OH α)	1/10	C
68	-	CHOH (OH β)	1/10	C

C= competitiva, NC= no competitiva, DT= dependiente del tiempo, BM= basada en el mecanismo

Estos resultados confirmaron los obtenidos en estudios previos que indicaban que el análogo 2,19-metileno **55** producía una inhibición competitiva y reversible de la aromatasa. Además, mostraron que el compuesto se asociaba reversiblemente al sitio activo de la enzima y que esta asociación era independiente del tiempo. La hidroxilación del C-19 de este análogo puentado (**67** y **68**) redujo 10 veces la afinidad por la aromatasa, pero la expansión del puente de metileno a etileno (**56**) aumentó esa afinidad en un factor de 10. La sustitución de un metileno del puente etileno por oxígeno (**42**) aumenta 5 veces la afinidad, mientras que la sustitución por azufre (**43**) no produjo cambios y la sustitución por NH (**44**) hizo que la unión al receptor pasara de ser competitiva a no competitiva.

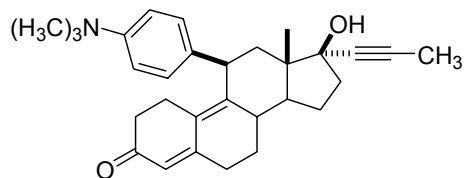
Aunque los autores no realizaron una búsqueda racionalizada, sí encontraron dos inhibidores “puros” de la aromatasa. Tanto el compuesto con puente metileno (**42**)

como el que tiene etileno (**56**) presentaron una ausencia total de actividades androgénica, anabólica o estrogénica y no producen efectos secundarios al ser administrados a ratonas en dosis muy altas (100 mg/kg/día durante diez días).

Los compuestos con puentes 2,19-metilenoxi (**42**) y 2,19-metilendio (**43**) fueron patentados [Peet *et al*, 2001] como drogas potenciales para el tratamiento del cáncer de mama y varias enfermedades inducidas por estrógeno.

2.4. Puentes 11,19

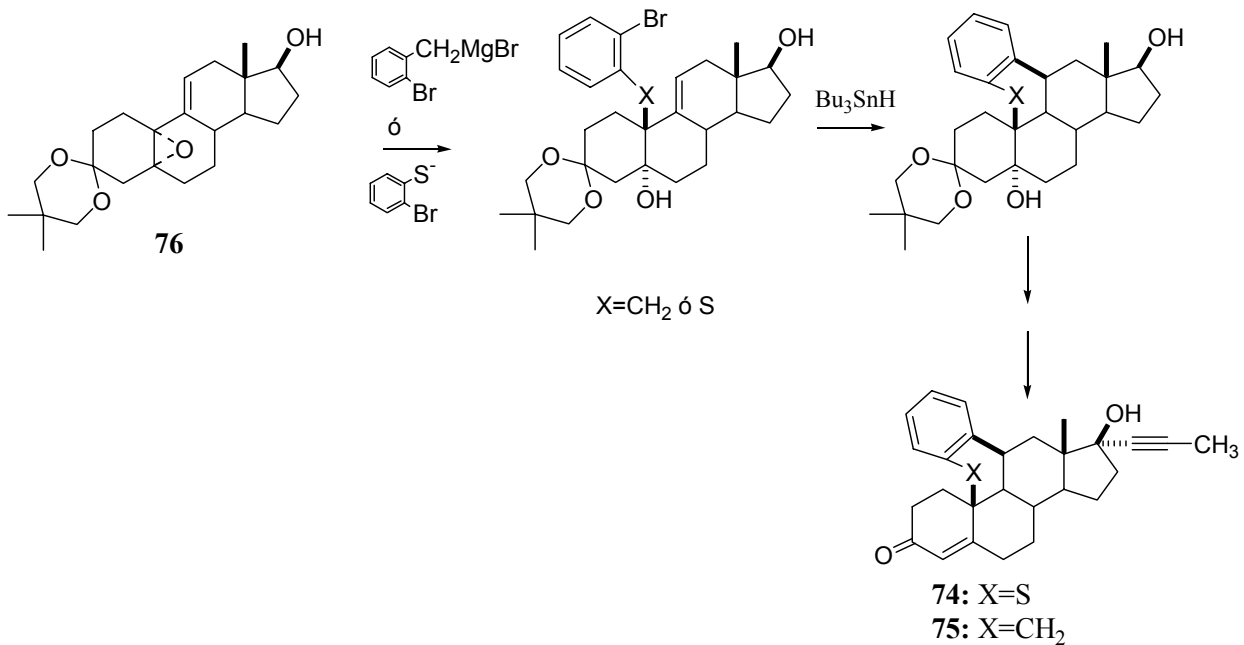
Durante el desarrollo de una búsqueda de compuestos con actividad antigluco corticoide, la compañía farmacéutica Roussel Uclaf sintetizó en 1981 el compuesto mifepristone (RU-486) [Hazra *et al*, 2001]. Esta droga resultó tener, además de la actividad antigluco corticoidea buscada, una potente actividad antiprogéstágena, por lo que ha sido utilizada como abortivo. Este efecto, así como su uso potencial como anticancerígeno, llevó a intentar sintetizar compuestos análogos con mayor potencia antiprogéstacional pero sin actividad antigluco corticoidea.



mifepristone (RU-486)

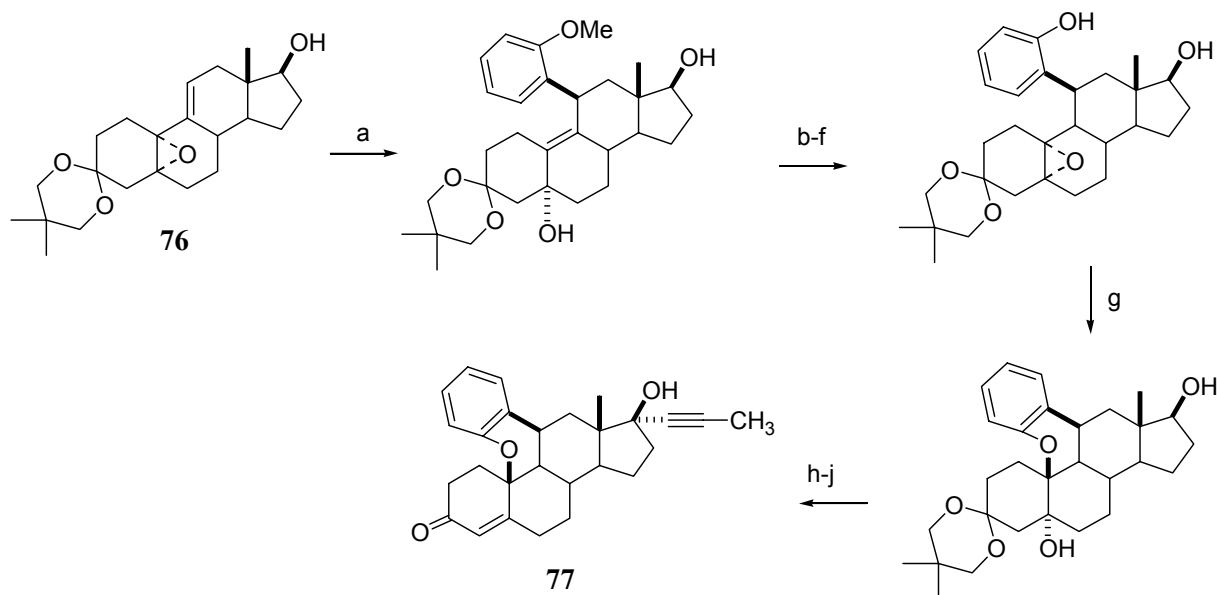
a) Puentes con grupos arilo

Ottow y *col* [Ottow *et al*, 1993, Scheidges *et al*, 1990] sintetizaron dos análogos de mifepristone que contienen un puente azufrado (**74**) o carbonado (**75**) entre el grupo arilo de la posición 11 β y el C-10. Para ello partieron de un precursor 19-nor (**esquema 2.10**). Las síntesis de estos compuestos involucran la apertura de un epóxido 5 α ,9 α (**76**) mediante un reactivo de Grignard o un tiofenolato seguida por una ciclación radicalaria intramolecular estereoespecífica 6-*endo*-trig (regioselectividad no favorecida según las reglas de Baldwin).



Esquema 2.10

Cleve y *col* [Cleve *et al*, 1993] sintetizaron un análogo oxigenado de estos compuestos (**77**, **esquema 2.11**). Partieron del mismo precursor que Ottow y *col* (**76**) pero debido a la baja nucleofilicidad del fenol la apertura del epóxido debió realizarse en forma intramolecular.



Reactivos: a) bromuro de 2-metoxifenilmagnesio; b) decetalización; c) deshidratación; d) Li/NH₃; e) recetalización; f) desprotección; g) AcOH (ac); h) PCC; i) LiCCCH₃; j) AcOH

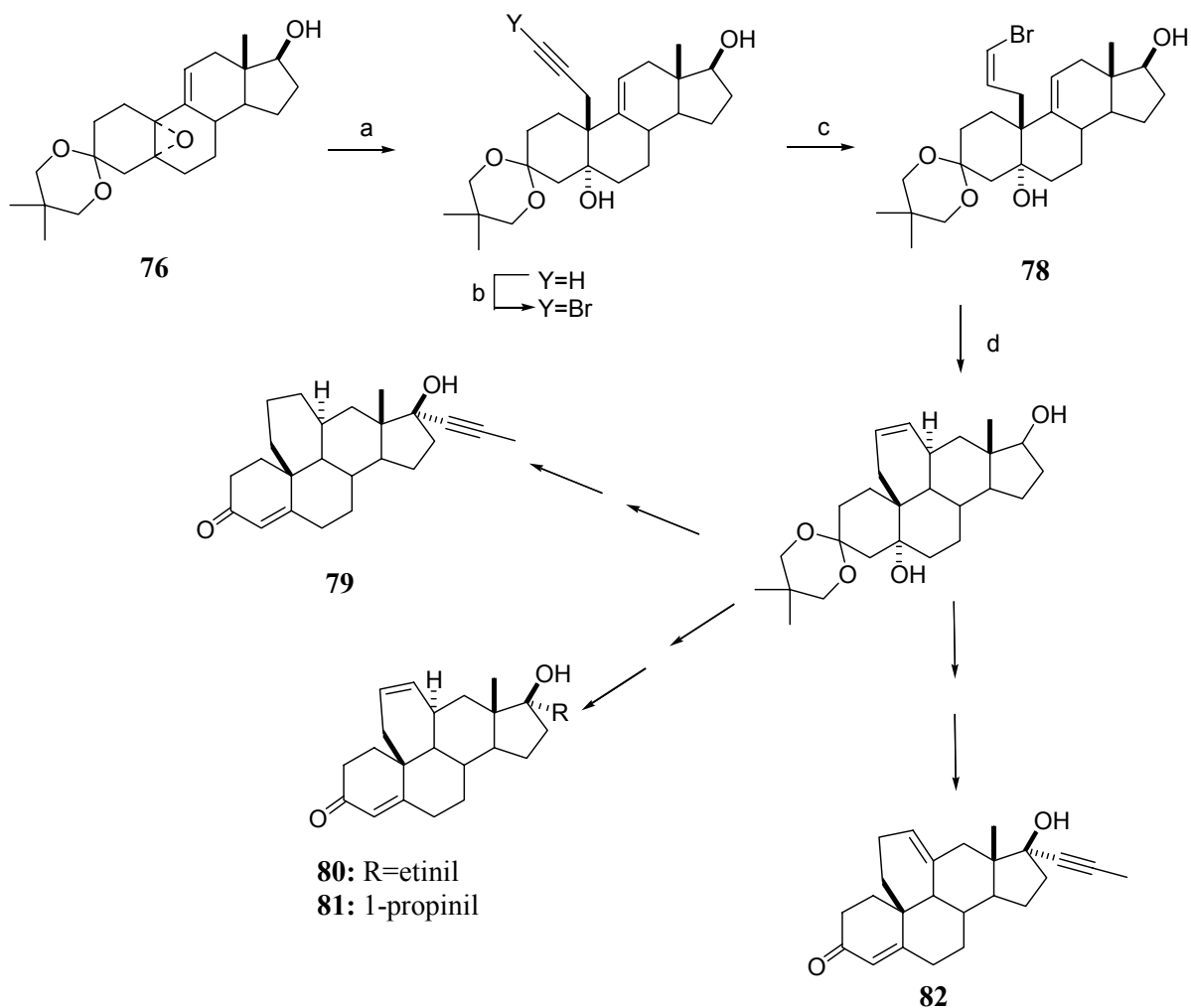
Esquema 2.11

Es importante remarcar que los tres compuestos con puentes 11,19 indicados más arriba presentaron alta actividad antiprogestágena.

b) Puentes etano y eteno

Continuando en la búsqueda de antiprogestinas, Schöllkopf y *col* [Schwede *et al*, 1998] sintetizaron numerosos análogos a los compuestos anteriores con puentes etano (79) y eteno (80, 81 y 82, esquema 2.12).

Partieron nuevamente del epóxido 19-nor 76 y realizaron la homologación en C-10 con bromuro de propargil magnesio. La ciclación se realizó por vía radicalaria sobre el compuesto 78 utilizando hidruro de tributilestaño con irradiación simultánea de luz UV. En este caso la ciclación otra vez resulta 6-*endo* trig (igual que en el puente 7,9-propano, pag 30), desfavorable de acuerdo a las reglas de Baldwin, no obteniéndose el producto de la ciclación 5-*exo* trig.



Reactivos: a) Mg, HgCl₂, BrCH₂CCH/éter; b) NBS, acetona; c) p-TsOH, hidrazida, AcONa, THF/H₂O, d) Bu₃SnH, AIBN, tolueno, hv

Esquema 2.12

Ensayos biológicos

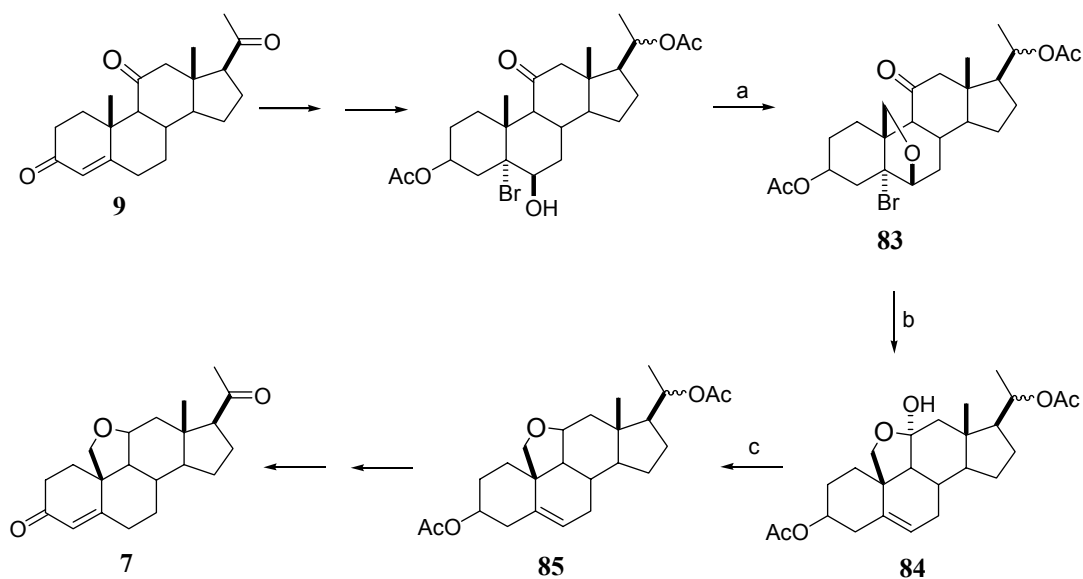
Se estudiaron las actividades progestágena y androgénica de los compuestos sintetizados, observándose que no presentan un aumento de la selectividad (diferencia entre la actividad progestágena y los efectos laterales androgénicos no deseados) respecto a mifepristone. Por otro lado, se observó que la introducción del puente 11,19 lleva a un aumento de la actividad glucocorticoidea.

Análogos de progesterona

En el **Capítulo 1** se menciona el trabajo realizado por Burton y *col* [Burton *et al*, 1995] en el cual se estudiaron las relaciones estructura actividad de numerosos análogos de progesterona. Estos compuestos habían sido diseñados de manera que tuvieran conformaciones rígidas que fijaran la orientación del grupo 3-ceto. Entre otros, se sintetizaron los compuestos 11,19- y 6,19-óxidoprogesterona (**7** y **8**).

Síntesis de 11,19-óxidoprogesterona

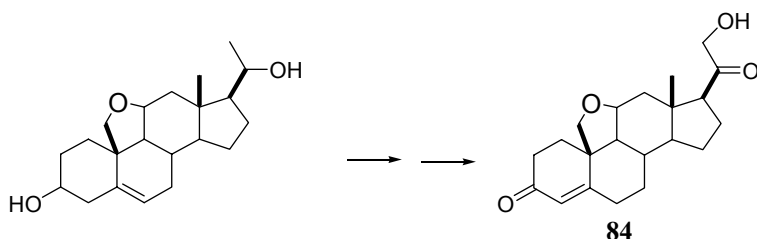
Burton y *col* [Brachet-Cota *et al*, 1990] utilizaron como material de partida el compuesto comercial 11-cetoprogesterona (**9**, **esquema 2.13**). Para la funcionalización del metilo de C-19, sintetizaron el compuesto 5 α -bromo-6 β -hidroxipregnano, que por tratamiento con óxido de mercurio y yodo en CCl₄ bajo irradiación lumínica dio lugar al 6,19-óxido derivado **83**. La apertura del puente oxigenado con Zn activado en AcOH acuoso catalizado con yodo llevó al compuesto **84** el cual se redujo al éter cíclico **85** con cianoborohidruro de sodio en metanol.



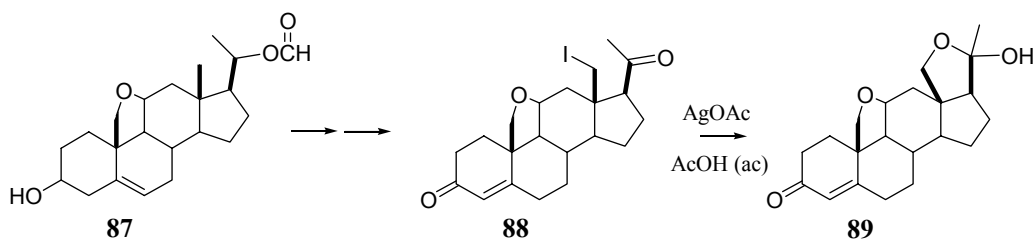
Reactivos: a) HgO, I₂/ CCl₄, hn; b) Zn, AcOH(aq), I₂/i-PrOH; c) NaBH₃CN/MeOH

Esquema 2.13

Los resultados obtenidos en las pruebas biológicas realizadas a 11,19-OP (**7**) mostraron que este compuesto es un poderoso mineralocorticoide, a pesar de carecer del grupo hidroxilo en la posición 21, el cual se consideraba previamente como requisito para esta acción. Los autores [Veleiro *et al*, 1995] sintetizaron entonces el compuesto 21-hidroxi-11,19-OP para estudiar la influencia del 21-hidroxilo en la actividad. Este compuesto resultó un MC muy débil.



Se sintetizó también 18-hidroxi-11,19-OP (**89**) [Benedetti-Doctorovich *et al*, 1996]; al igual que aldosterona (el mineralocorticoide natural más potente), este compuesto existe exclusivamente como un hemicetal 18→20, el cual fija la posición de la cadena lateral del pregnano. Se siguió un camino que utilizaba como precursor el compuesto **87** (derivado de **85**) y se formó su 18-I derivado **88**. El tratamiento de **88** con acetato de plata en AcOH (aq) llevó a la formación del compuesto **89**.



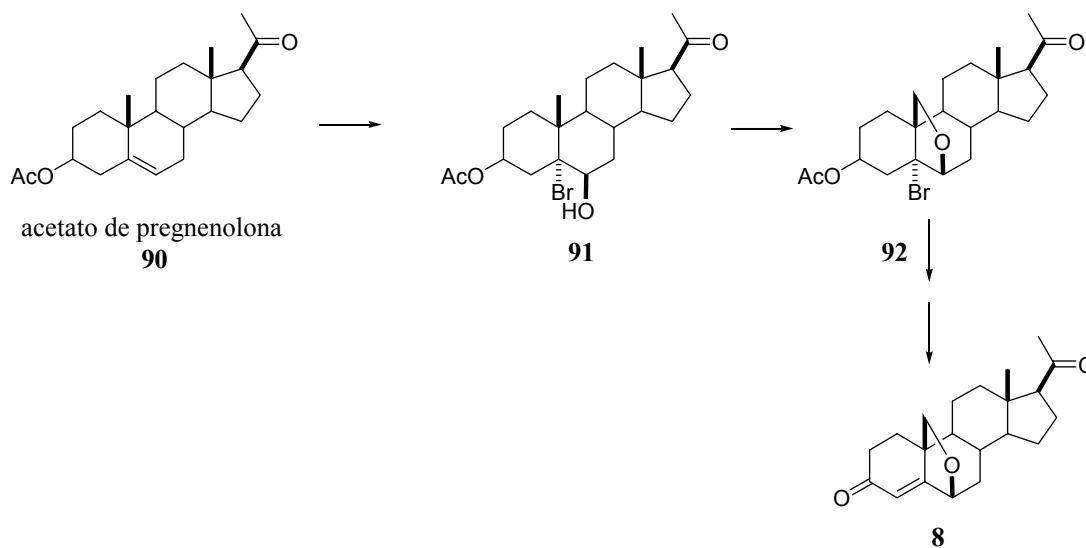
Esquema 2.14

2.5. Puentes 6,19

a) Puentes oxigenados

6,19-óxidoprogesterona

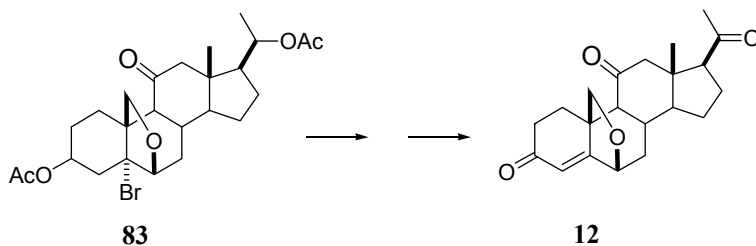
Gaudry y *col* [Bagli *et al*, 1963] sintetizaron 6,19-OP (**8**) partiendo de acetato de pregnenolona (**90**) por reacción de la bromohidrina **91** con $Pb(AcO)_4$ o $Pb(AcO)_4/I_2$. Burton y *col* [Brachet-Cota, 1989] mejoraron esta ruta de reacción utilizando para la ciclación HgO/I_2 bajo irradiación lumínica (**esquema 2.15**).



Esquema 2.15

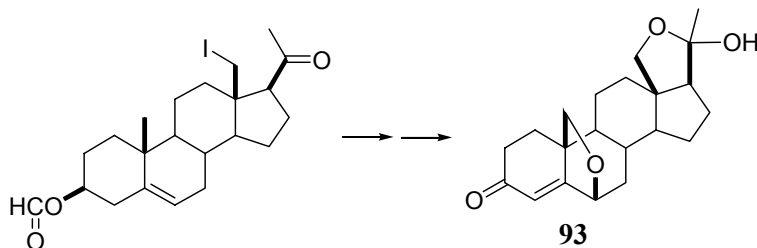
11-ceto-6,19-óxidoprogesterona (**12**) y 18-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (**93**)

Burton y *col* sintetizaron **12** utilizando el intermediario **83** obtenido en la ruta sintética para la obtención de 11,19-OP.



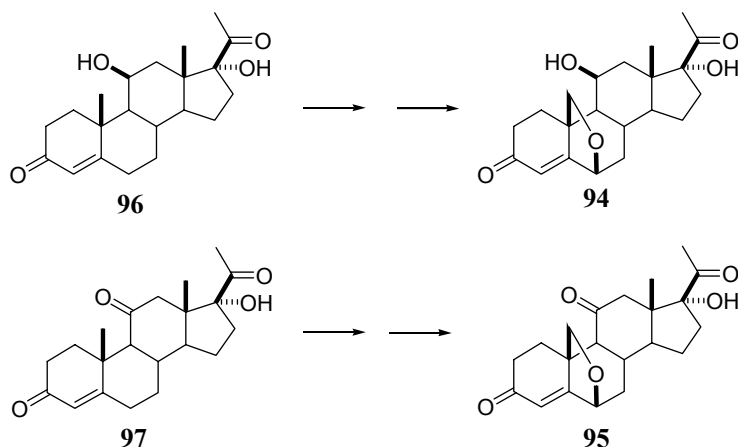
El compuesto **93** fue sintetizado a partir de formiato de pregnenolona para comparar su acción biológica con la de aldosterona [Benedetti *et al*, 1996]. En este caso

fue necesario funcionalizar primero C-18 formando el C-18 iodo derivado y posteriormente el C-19.



11 β ,17 α -dihidroxi-6,19-óxidoprogesterona (94) y 11-ceto-17 α -hidroxi-6,19-óxidoprogesterona (95)

Con el fin estudiar las propiedades biológicas y farmacológicas el mismo grupo de trabajo sintetizó análogos de 6,19-OP con funciones oxigenadas en C-11 y C-17. Sintetizaron 94 a partir de 21-deoxicortisol (96) [Joselevich *et al*, 1997] y 95 a partir de 21-desoxicortisona (97), utilizando estrategias sintéticas similares a las anteriores.



21-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona

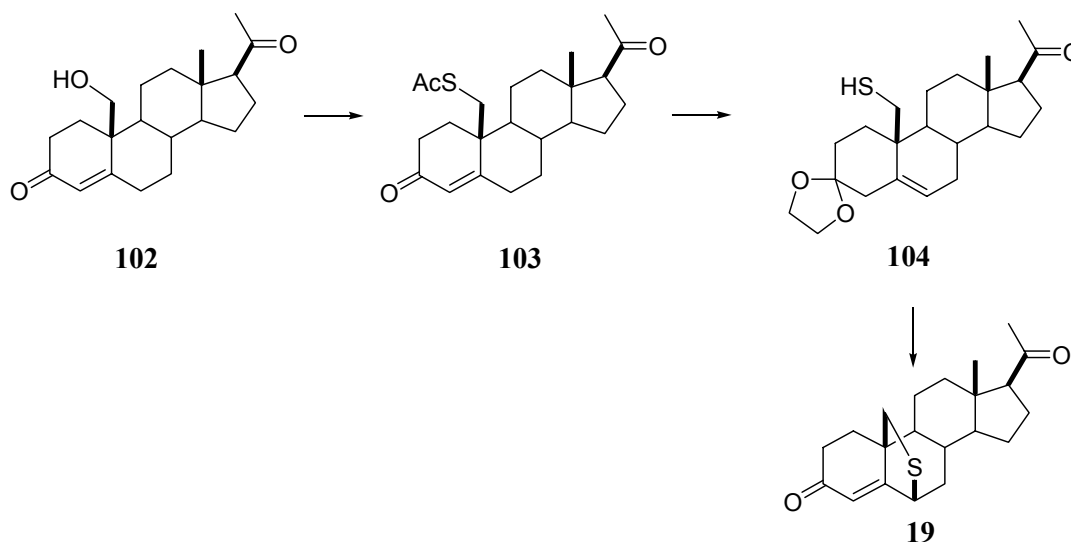
Como se indicó en el Capítulo 1, página 17, Burton y *col* [Veleiro *et al*, 1995] sintetizaron el análogo 21-hidroxilado (16) de 6,19-óxidoprogesterona para determinar la influencia del grupo hidroxilo de C-21 en la actividad corticoidea. La secuencia sintética fue similar a la anterior, partiendo del análogo hidroxilado en C-21. Esta síntesis llevó a

la obtención del primer antiglucocorticoide puro, posteriormente superado al sintetizar el análogo con puente azufrado **17**.

b) Puentes azufrados

Las propiedades biológicas/farmacológicas de 21-hidroxi-6,19-OP llevaron a Burton y *col* a estudiar los análogos con puentes azufrados [Burton *et al*, 2001; Veleiro *et al*, *en prensa*]. Así, sintetizaron y patentaron análogos de progesterona con puentes 6,19-sulfuro **19**, sulfóxido **98** y sulfona **99** y sus análogos con el grupo hidroxilo en C-21 **179**, **100** y **101** respectivamente.

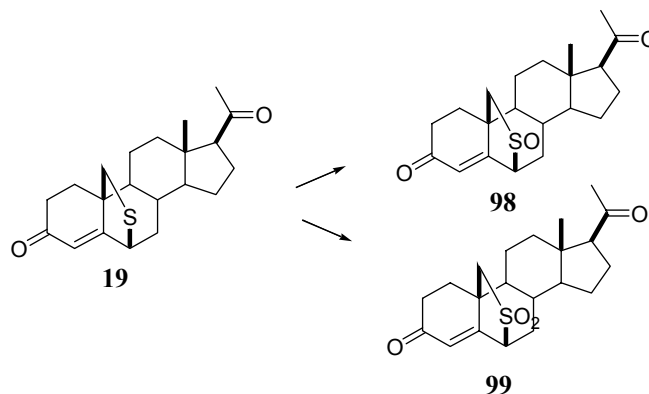
Para la construcción del puente azufrado (**esquema 2.16**), partieron de 19-hidroxiprogesterona (**102**), la cual se transformó en el triflato que dio lugar al 19-tio derivado **103** por desplazamiento con tioacetato de potasio. El doble enlace 4,5 fue desplazado a la posición 5,6 por formación de un 3-etilénecetal y se hidrolizó el tioacetato para dar el 19-tiol libre **104**; el tratamiento con yodo y trietilamina permitió obtener el ciclo buscado (compuesto **19**).



Reactivos: a) 1) $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{O}/\text{Py}$, 2) $\text{KSac}/\text{acetona}$; b) 1) etiléneglicol, $(\text{EtO})_3\text{CH}$, H_2SO_4 , 2) KOH , MeOH ; c) I_2 , $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

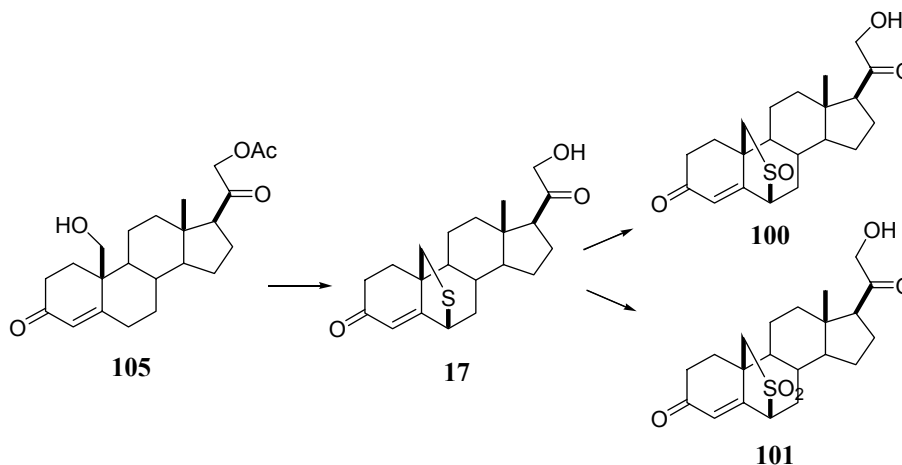
Esquema 2.16

Los derivados oxidados de **19** se obtuvieron utilizando monopersulfato de potasio (*oxone*[®]) en metanol acuoso: a bajas temperaturas (0°C) y tiempos de reacción cortos se obtuvo el 6,19-sulfóxido **98**, mientras que tiempos de reacción más largos a temperatura ambiente dieron la 6,19-sulfona **99** (esquema 2.17).



Esquema 2.17

Utilizando la misma secuencia pero partiendo del precursor 21-hidroxilado **105**, sintetizaron los análogos **17**, **100** y **101** (esquema 2.18).



Esquema 2.18

Actividad biológica

Los ensayos biológicos de estos compuestos mostraron que los compuestos 21-OH-6,19-SP **17** y la correspondiente sulfona **101** son los más activos de esta serie y que presentan aun mayor actividad que 21-OH-6,19-OP (**16**). Como en el caso de los

análogos oxigenados, la introducción de un hidroxilo en C-21 aumenta la actividad antigluocorticoide sin dar lugar a actividad antiprogestágena.

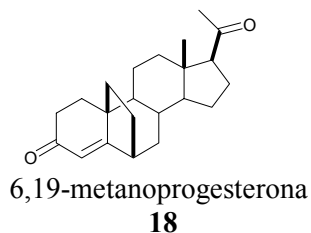
Capítulo 3

Síntesis de 6,19-metanoprogesterona

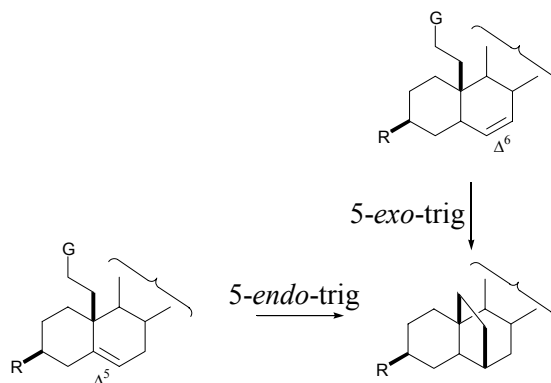
Durante los últimos 20 años, la bioquímica de los esteroides ha avanzado muy rápidamente potenciando la búsqueda de nuevas drogas y renovando el interés en estos compuestos. Un gran número de ellos se utiliza actualmente en el tratamiento de distintas enfermedades [Campos Neves *et al*, 1999 y referencias allí citadas].

Como se mencionó en el **Capítulo 1**, muchas de las hormonas esteroidales naturales y de sus análogos sintéticos contienen la unidad Δ^4 -3-ceto, la cual está asociada con la interacción con los receptores; su presencia lleva a una conformación definida en el anillo A que habitualmente varía entre 1α -sobre y 1α -semisilla, dependiendo de las demás funcionalidades de la molécula. Sin embargo, un puente oxigenado entre las posiciones C-6 y C-19 del esqueleto esteroide, tuerce la molécula en la unión de los anillos A/B estabilizando la conformación cuasi-*cis* que resulta en un sobre 1β para el anillo A [Burton *et al*, 1995]. Este cambio tiene un efecto directo sobre la actividad biológica: como se indicó anteriormente (página 17), el compuesto 21-hidroxi-6,19-óxidoprogesterona es un antigluocorticoide selectivo que está exento de actividades mineralocorticoide y progestágenas. Pequeños cambios en estos puentes permiten un “refinamiento” de la respuesta biológica: en los compuestos en los cuales el puente 6,19 contiene un átomo de azufre en lugar de uno de oxígeno, la selectividad de la acción aumenta todavía más; la diferencia entre ambas es la mayor longitud del enlace C-S lo que hace que el núcleo esteroide de estos compuestos esté levemente menos torcido [Veleiro *et al*, 2004]. Sin embargo, la introducción de átomos de oxígeno adicionales sobre ese puente, como en los correspondientes derivados sulfóxido y sulfona cambia las propiedades biológicas.

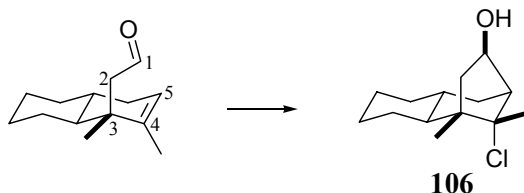
En esta tesis se desarrolla la primera síntesis de 6,19-metanoprogesterona (**18**), el derivado con puente carbonado más simple de progesterona, a partir de esteroides comerciales de bajo costo.



Para la formación del puente 6,19 se buscó una reacción en la cual un carbono incorporado en C-19 pudiera adicionarse a su vez a la posición 6 formando un ciclo de cinco miembros. Según las reglas de Baldwin enunciadas más arriba (página 23), para que esta reacción de ciclación tuviera éxito debía ser del tipo 5-*exo* trig, con lo cual se debía contar con un material de partida que tuviera un doble enlace 6-7 (Δ^6) o formarlo durante la síntesis.

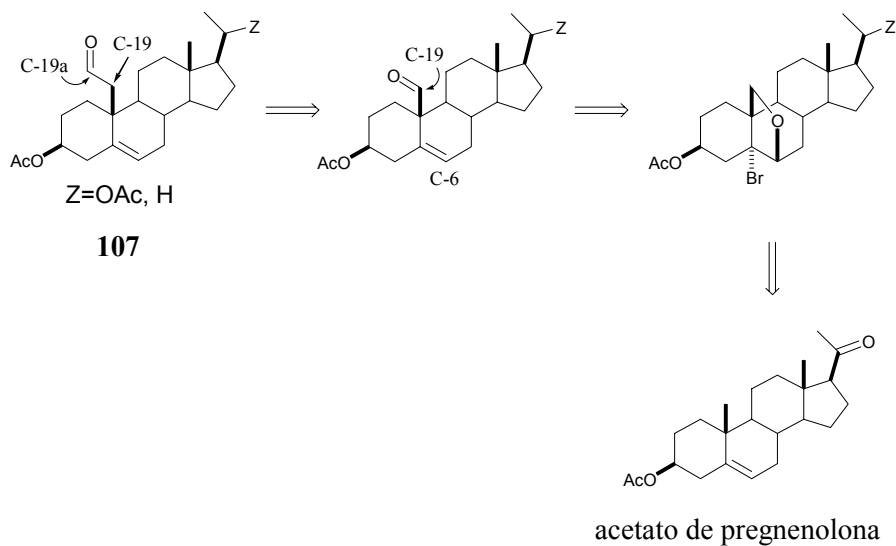


Sin embargo, hay en nuestro laboratorio amplia experiencia en el uso de esteroides derivados de progesterona, como el acetato de pregnenolona u otros, con dobles enlaces 4-5 o 5-6, los cuales son baratos y accesibles. Así, resultó interesante buscar en literatura antecedentes de reacciones que involucraran ciclaciones 5-*endo* trig. Se halló un ejemplo de construcción de un puente ciclopentano (**106**) sobre una decalina [Andersen *et al*, 1985].



Esta transformación se realizó mediante la reacción de Prins, una adición de dobles enlaces a grupos carbonilo catalizada por ácidos de Lewis [Snider, 1991]. Como se verá más adelante (página 81), una de las variantes de esta reacción (tipo II) transcurre formando normalmente este tipo de ciclos, lo cual permitiría utilizar como precursor un esteroide con doble enlace 5-6 (Δ^5).

Se decidió entonces sintetizar el aldehído **107** para luego realizar sobre él la ciclación con la reacción de Prins. Se propuso un esquema retrosintético para este precursor que se presenta en el **esquema 3.1**.



Esquema 3.1

Para el paso de homologación (C-19-C-19a), se utilizó la reacción de olefinación de Wittig con metoximetiltrifenilfosforano con lo cual se introdujo además la funcionalidad aldehído requerida en C-19a.

Parte A

Funcionalización y homologación de C-19

Para la introducción del carbono adicional en el esteroide, fue necesario funcionalizar previamente el metilo angular de C-10. Se utilizó para ello una reacción de funcionalización remota de metilos angulares que da lugar a la síntesis de 19-hidroxi derivados [de Armas *et al*, 1989] (compuesto **91**, **figura 3.1**).

Las otras dos rutas principales descriptas para la introducción de sustituyentes alquílicos diferentes al metilo en la posición 10 del núcleo esteroidal involucran la apertura de un epóxido 5,10 (**108**) o el reordenamiento sigmatrópico [3,3] de un éter alílico unido a la posición 11 β sobre un doble enlace 5,10 (**109**, **figura 3.1**) [Lesuisse *et al*, 1994 y referencias allí citadas]. Estas últimas aproximaciones utilizan como material de partida 19-nor esteroides los cuales presentan el inconveniente de tener un costo comercial muy alto. Si bien es posible la síntesis de estos precursores a partir de esteroides en los cuales esté presente C-19, resultaba poco elegante e ineficiente en términos de economía de átomos, la remoción de un sustituyente que luego debe ser introducido nuevamente. Un ejemplo del uso de esta estrategia se muestra en el **Capítulo 2** (página 34) cuando se menciona la síntesis de 2,19-metanoandrostenediona (**55**).

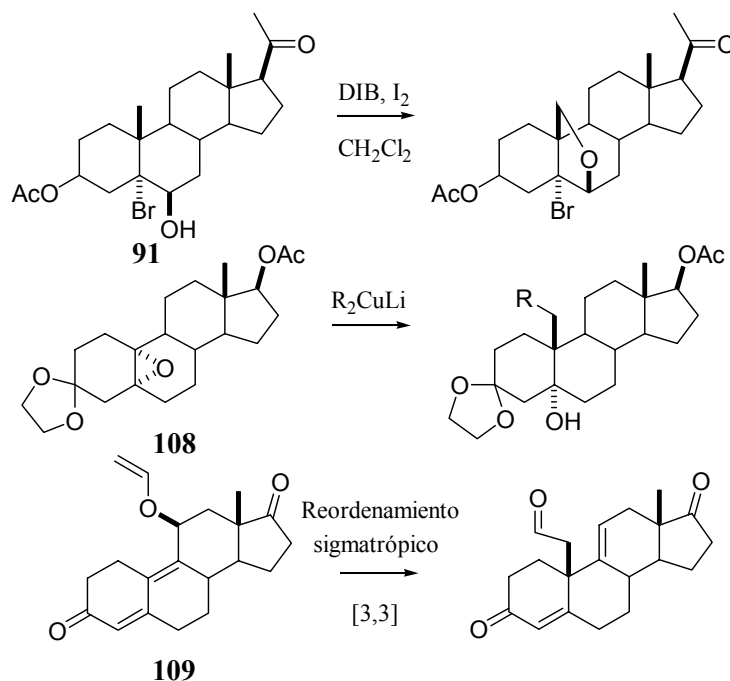


Figura 3.1: Rutas principales para la obtención de derivados funcionalizados en C-19.

3.A.1 Funcionalización de C-19

Todos los métodos eficaces para funcionalizar los metilos angulares (C-18 y C-19) transcurren a través de intermediarios radicalarios cuya alta energía los hace capaces de atacar enlaces C-H no activados. Para que esta reacción sea selectiva, es necesario que transcurra en forma intramolecular y que cumpla con ciertas restricciones geométricas. En sistemas policíclicos considerablemente rígidos como son los esteroides, un radical alcóxido, por ejemplo, puede sustraer un hidrógeno primario a través de un estado de transición cíclico de seis miembros si se encuentra ubicado en ciertas posiciones estéricamente favorables. Para el caso del C-19, éstas se indican en la **figura 3.2**; se puede apreciar que guardan una relación 1,3-diaxial con este metilo angular.

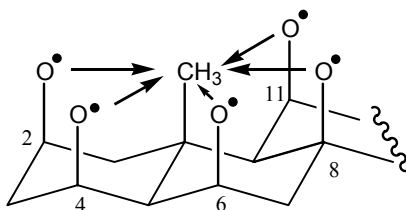
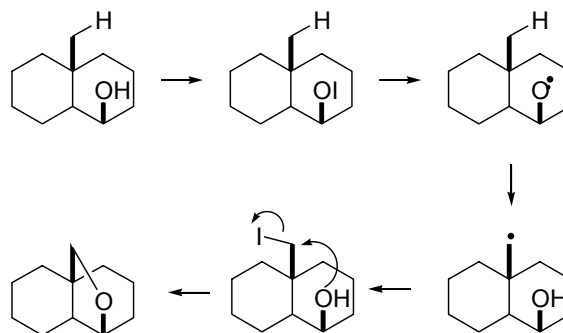


Figura 3.2

Una de las transformaciones más utilizadas con este propósito es la reacción de hipiodito, que consiste en la ruptura homolítica de hipioditos de alquilo que conduce a una sustitución intramolecular en carbonos no activados [Benedetti, 1991]. Los hipioditos se generan por reacciones de intercambio entre el alcohol y reactivos que contengan yodo electropositivo. Luego se produce la ruptura del enlace CO-I generando un radical oxígeno que reacciona inmediatamente con un átomo de carbono que esté ubicado en una posición adecuada estéricamente. El radical carbono que se forma reacciona con un I• formando un iodoalcohol. En el caso de que esta reacción se produzca en 6-hidroxi esteroides, la disposición anti que adopta el sustituyente 19-I lo deja en una posición ideal para que se produzca el ataque S_N2 intramolecular por el 6-OH y se forme un éter cíclico (**esquema 3.2**).



Esquema 3.2

Una forma de realizar estas reacciones, es con yodo en combinación con óxido de mercurio, terbutóxido de potasio, NBS o acetatos de metales pesados (tetraacetato de plomo, acetato de plata, etc). Los solventes más adecuados para la preparación de hipioditos son los hidrocarburos saturados (ciclohexano) y los hidrocarburos halogenados (CH_2Cl_2 y CCl_4), siendo la reacción más rápida cuando se utilizan estos últimos [Burton *et al*, 2001]. Los hipioditos de alquilo preparados de esta manera se degradan por ruptura homolítica del enlace O-I a temperaturas superiores a 60°C . Esta ruptura es acelerada por átomos de yodo, que pueden obtenerse en concentración adecuada por irradiación de una solución de yodo con luz de longitud de onda entre 500 y 550 nm.

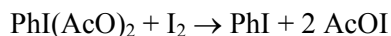
Funcionalización con yodo hipervalente

Se ha observado que compuestos orgánicos con I(III) y I(V) tienen comportamientos parecidos a los derivados orgánicos de metales pesados como Hg (II), Tl (III) y Pb (IV). En particular, compuestos de yodo dicarboxilato se comportan como el $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ en reacciones de oxidación y metilación.

Suárez y *col* [de Armas *et al*, 1989] desarrollaron un método de funcionalización intramolecular de carbonos no activados usando yodo y diacetoxiidobenceno (DIB) en ciclohexano con irradiación lumínica. Este método resultó mucho más conveniente que los utilizados anteriormente: se obtienen mejores rendimientos y es posible trabajar en relaciones casi estequiométricas de reactivos los cuales resultan además mucho menos tóxicos que los de sistemas con metales pesados. Las condiciones más suaves de reacción

permiten monosustituciones dando éteres cíclicos de 5 y 6 miembros y yodoalcoholes, evitando la bifuncionalización que da como productos lactoles y α -yodoéteres.

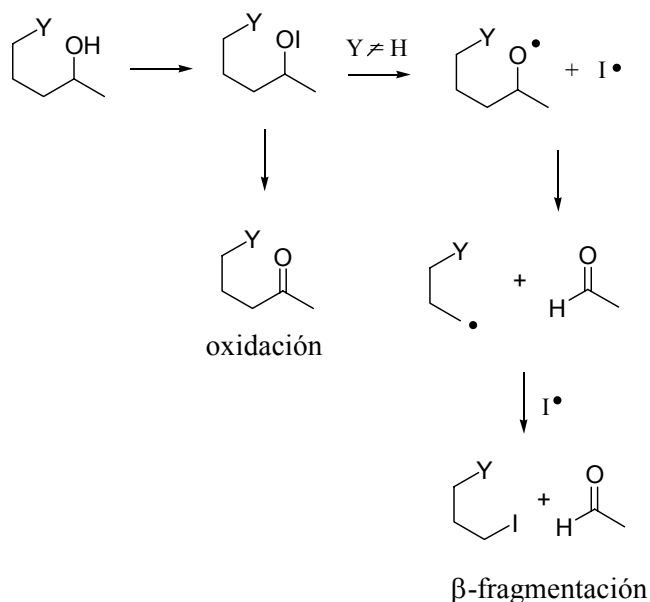
Se ha postulado que los radicales alcoxilo se generan por reacción del alcohol con el hipiodito de acetilo que se genera *in situ* según la reacción:



Reacciones laterales

Hemos dicho que para que la reacción ocurra es necesaria una distancia adecuada entre el radical alcoxilo y el hidrógeno a sustraer. Si no se encuentra un hidrógeno a esa distancia óptima, el radical alcoxilo puede reaccionar por otros caminos energéticamente favorables. La reacción competitiva más importante es la sustracción de hidrógeno intermolecular (por ejemplo del solvente) que regenera el alcohol de partida. Esto puede evitarse usando solventes que no contengan átomos de hidrógeno como el CCl_4 , o que no reaccionen fácilmente, como el benceno y el diclorometano.

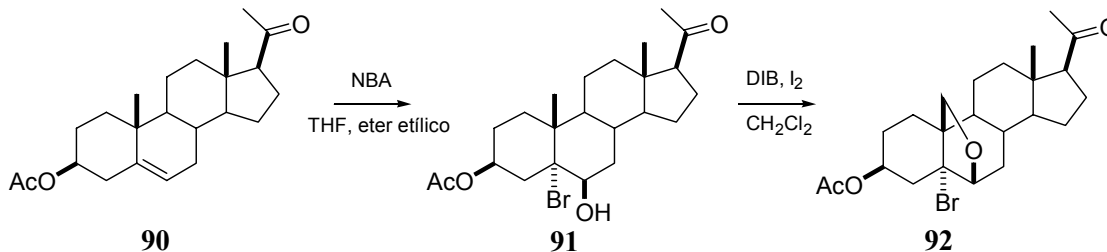
En ausencia de un hidrógeno en el carbono δ al radical alcoxilo y de solventes dadores de hidrógeno, éste puede seguir un camino alternativo: la β -fragmentación (**esquema 3.3**). En el caso de los esteroides, esta reacción lleva a compuestos carbonílicos y a secoesteroides [Nicoletti *et al*, 1996]. Su incidencia depende del método de producción del radical alcoxilo y es mayor en la reacción con $\text{Pb}(\text{AcO})_4$, menor en la fotólisis de nitritos y menor aún en las reacciones de hipohalitos.



Esquema 3.3

Síntesis del precursor 3β,20β-diacetiloxi-5-pregnen-19-al (115)

Para la funcionalización de la posición 19, se utilizó esencialmente la metodología descrita por Suárez [de Armas *et al*, 1989] indicada más arriba (página 59) utilizando como solvente de la ciclación diclorometano en lugar de ciclohexano. Como material de partida se utilizó acetato de pregnenolona, un esteroide comercial de bajo costo (**esquema 3.4**) y se siguió la secuencia habitual de funcionalización formando la bromohidrina (en este caso por reacción con NBA) y luego el bromoéter. El menor impedimento estérico sobre la cara α del acetato de pregnenolona hace que el ataque de la NBA se produzca preferentemente por esa cara obteniéndose como producto mayoritario la 5α-bromo-6β-hidroxi bromohidrina **91**. Estas bromohidrinas son inestables por lo que el crudo de la reacción se trató con DIB/ I₂ en diclorometano irradiando con una lámpara de 300W. Se obtuvo así el bromoéter **92** con un 81% de rendimiento a partir del esteroide comercial (2 etapas).



Esquema 3.4

El espectro de RMN ^1H de **920** muestra, como señales características, las correspondientes al H-3 (5,20 ppm), el H-6 (4,05 ppm), el metilo de C-21 (2,15 ppm) y el del acetato (2,05 ppm) y dos dobletes acoplados entre sí ($J= 8,0$ Hz) asignados a los protones de C-19 (3,73 y 3,95 ppm).

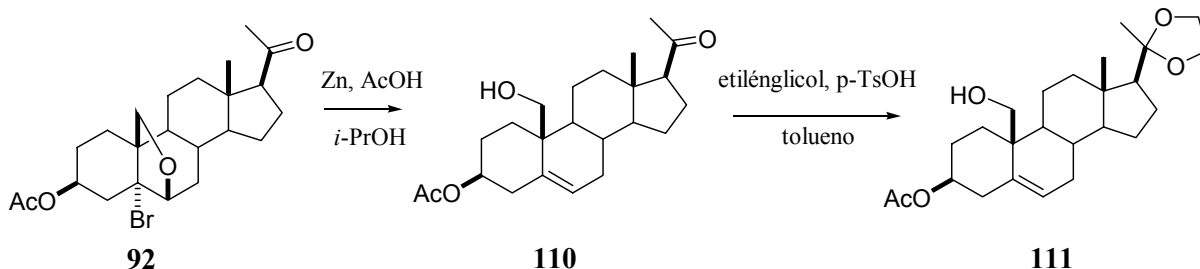
Tanto el acetato de pregnenolona como el producto que se buscaba sintetizar (6,19-metanoprogesterona), cuentan con un grupo cetona en la posición 20. Dado que la ruta planificada implica una olefinación de Wittig sobre un aldehído a construir en la posición 19, no era posible mantener otro grupo carbonilo en la molécula y se decidió proteger C-20 con un acetal antes de realizar la homologación.

Las etapas siguientes eran la apertura del bromoéter y la oxidación a aldehído del alcohol obtenido y debía decidirse en qué momento se protegía C-20. Se podía intentar la protección del bromoéter **92** teniendo presente que la reactividad de los grupos 1,3-dioxolanos frente a las condiciones de apertura (Zn y AcOH en isopropanol) es aleatoria (depende de la molécula particular) [Greene *et al*, 1997]. Sin embargo, la experiencia del laboratorio indicaba que este grupo en la posición 20 es particularmente lábil.

Se intentó entonces proteger el compuesto luego de realizar la apertura del éter (**esquema 3.5**). En este caso, se observó que el rendimiento global de la ruta aumentaba si la reacción de apertura se realizaba sobre el producto crudo de la reacción anterior. Por ello se hizo reaccionar el producto crudo de la reacción de formación del éter, con Zn y AcOH en isopropanol obteniéndose, después de la purificación por cromatografía flash, el compuesto **110** con un 49% de rendimiento (3 pasos).

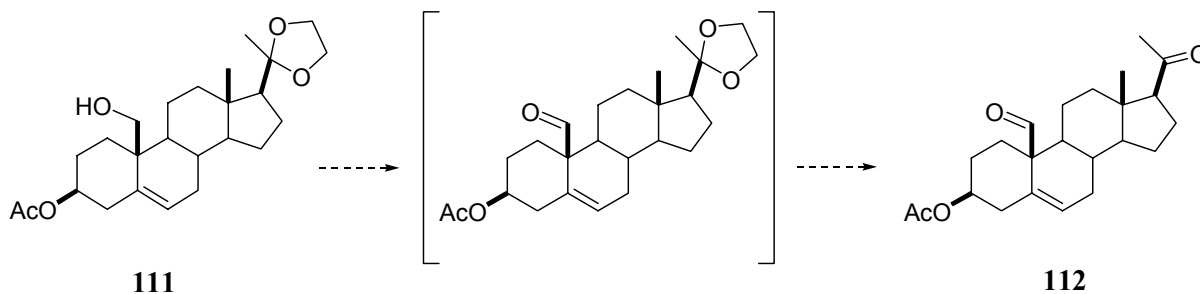
Según observaciones realizadas, la protección del carbonilo de C-20 como acetal en presencia de un grupo hidroxilo libre (en este caso en C-19) es dificultosa probablemente debido a la reactividad y/o interacción de este grupo con los reactivos

utilizados (dietilenglicol y ácido p-toluensulfónico en benceno). Para el caso particular de **110**, se obtuvo buen rendimiento del acetal **111** (90%) cuando se elevó la temperatura respecto a las condiciones habituales utilizando tolueno a reflujo en lugar de benceno.



Esquema 3.5

El alcohol **111**, con la posición 20 debidamente protegida, se hizo reaccionar con PCC y BaCO₃ en CH₂Cl₂ buscando obtener un grupo aldehído en C-19. A pesar que la oxidación parecía transcurrir correctamente al analizarse por CCD, se observó al aislar el compuesto la pérdida del grupo protector en C-20 (probablemente durante el pasaje a través de sílica gel) dejando el compuesto **112** con grupos carbonilo en las posiciones 19 y 20 el cual fue caracterizado por sus espectros de RMN ¹H y ¹³C (esquema 3.6).

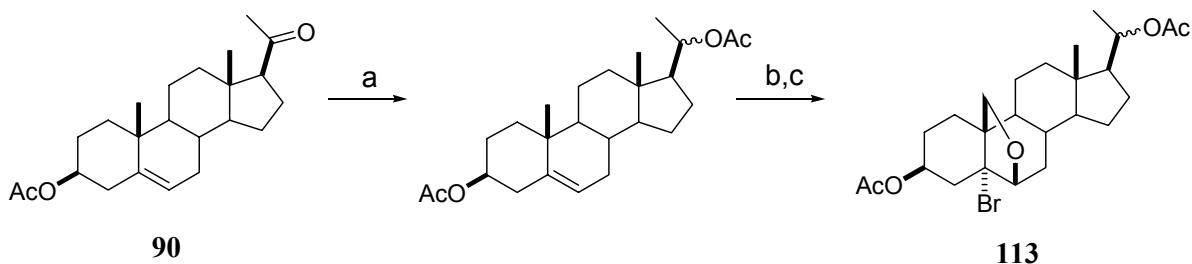


Esquema 3.6

Estos inconvenientes llevaron a modificar levemente la ruta sintética planeada. Se redujo la cetona de C-20 en el material de partida, protegiéndose el alcohol obtenido como acetato y esta funcionalidad se mantuvo hasta casi el final de la síntesis. Si bien la

reducción de la posición 20 produjo una mezcla epimérica de alcoholes $\alpha:\beta$ (9:1), esto no interfirió en la prosecución de la ruta de reacción pues al final de ella se recupera el carbonilo de C-20. Es importante recalcar que tanto la reducción de la posición oxigenada de C-20 como la recuperación del grupo carbonilo se realizaron con excelente rendimiento. Además, el grupo acetato es un protector adecuado y versátil que permite realizar todas las reacciones involucradas en el proceso sintético.

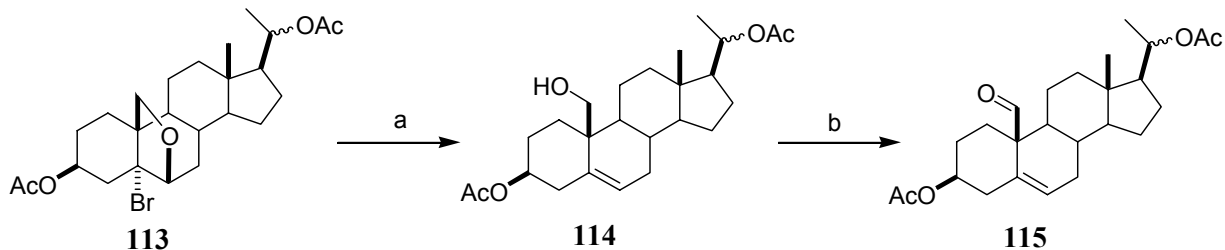
Se siguió entonces el camino descrito por Brachet-Cota [Brachet-Cota, 1989] obteniéndose el compuesto **113** a partir de acetato de pregnenolona con un 63% de rendimiento (3 etapas **esquema 3.7**).



Reactivos: a) 1)NaBH₄, MeOH, CH₂Cl₂, 2)Ac₂O, Py, CH₂Cl₂; b)NBA, HClO₄ 7,5% /THF, Et₂O; c) DIB, I₂, CH₂Cl₂

Esquema 3.7

La apertura del bromoéter **113** con Zn y AcOH en isopropanol, seguida por la oxidación del 19-alcohol **114** con PCC y BaCO₃ en CH₂Cl₂ llevó a la obtención de **115** con un rendimiento superior al observado en la secuencia previa (68% a partir de **113**, **esquema 3.8**).



Reactivos: a) Zn, AcOH/ i-PrOH; b) PCC, BaCO₃, tamiz molecular/CH₂Cl₂

Esquema 3.8

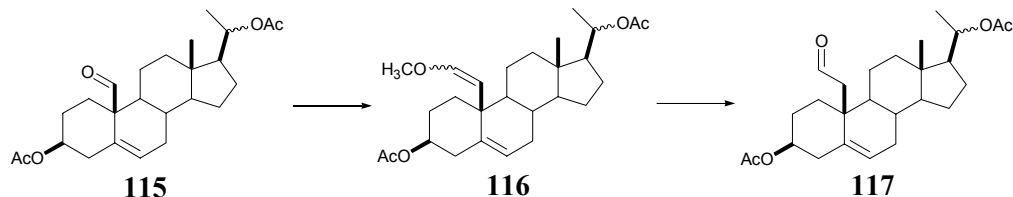
El compuesto **114** presenta en su espectro RMN ¹H dos dobletes mutuamente acoplados a 3,72 y 3,84 ppm ($J= 12,3$ Hz) correspondientes a los protones del C-19. En el espectro RMN ¹³C se observa una señal a 62,7 ppm que se asignó a C-19.

Al convertir **114** en **115**, las señales en el espectro RMN ¹H para la posición 19 se transformaron en un doblete agudo a 9,65 ppm ($J= 1,0$ Hz) debido al acoplamiento (J_w) del protón aldehídico con el de C-9, mientras que en el espectro de RMN ¹³C se observó una señal a 204,8 ppm, ambas indicativas de la presencia del grupo aldehído.

3.A.2 Homologación en C-19

Síntesis del precursor 3 β , 20 β -diacetiloxi-19-metoximetilidén-5-pregнено (116)

En el esquema retrosintético para 6,19-metanoprogesterona (página 53), se puede observar que la reacción elegida para ensayar la ciclación requería un precursor homologado sobre la posición 19 y que el carbono adicional (19a) debía estar funcionalizado como aldehído. Este compuesto se podía obtener mediante una reacción de olefinación de Wittig utilizando metoximetilidéntrifenilfosforano para generar un enol éter cuya posterior hidrólisis permitiera obtener un grupo aldehído en la posición deseada (**esquema 3.9**).



Esquema 3.9

Kočovský y *col* [Kočovský *et al*, 1983-a] estudiaron la adición de metoximetilidéntrifenilfosforano a sustratos similares al aldehído **115** (figura 3.4). Estos autores informaron que, para obtener altos rendimientos, el iluro se debía obtener utilizando como base *n*-BuLi en THF. Sin embargo, se encuentran también descriptos en la literatura rendimientos menores para esta reacción en esas condiciones [Marcotte *et al*, 1982; Kočovský 1983-b], y de hecho en nuestro caso, utilizando las condiciones de Kočovský, no fue posible superar el 35% de rendimiento. Por esta razón fue necesario estudiar detalladamente esta transformación.

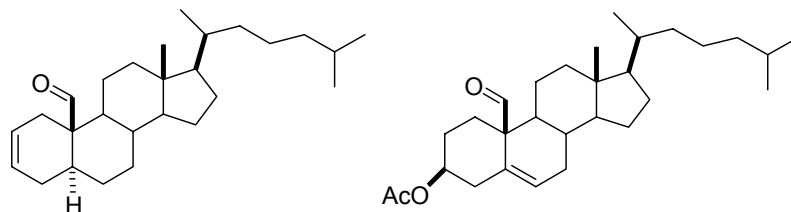


Figura 3.4: Sustratos ensayados por Kočovský y *col* en la reacción de Wittig.

Los ensayos realizados se resumen en las **tablas 3.1** y **3.2** (páginas 68 y 69): en la primera se presentan las condiciones de reacción utilizadas y en la segunda los resultados obtenidos. Cuando se utilizaron las condiciones de reacción descriptas por Kočovský y *col* se obtuvieron mezclas de enol éteres formadas por los dos isómeros E y Z e hidrólisis parcial del grupo acetato de la posición 3 y a veces también de 20. El aumento de la cantidad de equivalentes de iluro (de 5 a 15) no trajo mejoras en la reacción (**tablas 3.1** y **3.2**, entradas 1 y 2). La hidrólisis del acetato de C-20 se pudo evitar al hacer las reacciones a temperatura ambiente en lugar de comenzar agitando a 40°C (**tablas 3.1** y **3.2**, entrada 3). El cambio de solvente (THF) por éter etílico llevó a un pequeño aumento

en el rendimiento de la reacción (**tablas 3.1 y 3.2**, entradas 3 y 4) pero éste era aún muy bajo.

Se decidió intentar la reacción en condiciones libres de sales. Si bien este cambio en las condiciones podría afectar la estereoquímica del producto obtenido, esto no era relevante a la ruta de reacción pues esa estereoquímica se pierde al hidrolizar el enol éter en el siguiente paso. Se preparó entonces una suspensión de cloruro de metoximetilidéntrifetilfosfonio en tolueno a la cual se agregó amiduro de sodio triturado. Esta mezcla se trató con ultrasonido durante media hora y se centrifugó generando así una solución estable del iluro de color rojo intenso. Para realizar los ensayos, esa solución se agregó al aldehído disuelto en tolueno y se agitó a temperatura ambiente. Luego de comprobar la finalización de la reacción por CCD se volcó la mezcla sobre NH_4Cl (aq) y se la extrajo con CH_2Cl_2 .

En los primeros ensayos realizados con este método, la masa de esteroide recuperada fue muy baja y no se reproducían los controles hechos por CCD durante el transcurso de las reacciones, aumentando notablemente la relación material de partida: producto después de aislar los productos de la reacción. Esto llevó a pensar que la forma de cortar la reacción era un factor importante en los resultados por lo que se hizo el siguiente experimento (**tablas 3.1 y 3.2**, entrada 5): se separó el crudo de reacción de uno de los ensayos en dos porciones iguales: una de ellas se introdujo en una columna cromatográfica de sílica gel sin ningún tratamiento previo eluyendo primero con hexano y luego con una mezcla de hexano:acetato de etilo (9:1), mientras que la otra se trató de la misma manera que antes (agitación con NH_4Cl (aq) y extracción con CH_2Cl_2). Se observaron resultados muy diferentes: por un lado, el esteroide eluido de la columna resultó ser, casi en su totalidad, el enol éter buscado (64% de rendimiento con trazas de material de partida); en cambio, en la porción tratada con NH_4Cl se recuperó una masa total de esteroide menor (20%) y se observó en ella una reversión casi total hacia el material de partida (99% respecto al enol éter formado, medido por RMN ^1H del crudo de reacción). Así, resultó evidente que la forma más adecuada para cortar la reacción era la separación directa de la mezcla de reacción a través de una columna cromatográfica.

Si bien las modificaciones anteriores a la reacción trajeron una mejora considerable en su rendimiento (se llegó hasta un 64%), éste no resultaba óptimo. Esto llevó a considerar la posible presencia en el medio de reacción de amoníaco proveniente

de la reacción de formación del iluro con amiduro de sodio. Por ello se decidió desgasificar mediante vacío la solución del iluro previo a su uso. Esta nueva metodología permitió obtener un rendimiento del 91%, el cual se consideró altamente satisfactorio para esta reacción.

Tabla 3.1: Condiciones en que se ensayó la reacción de Wittig

Entrada	Sv	Base	§	No. de agregados	T (°C)	tiempo de reacción
1	THF	<i>n</i> -BuLi	5	3	40°, 1 h/ 25°, 30min	2 h [§]
2	THF	<i>n</i> -BuLi	15	3	40°, 1 h/ 25°, 30min	24 h [§]
3	THF	<i>n</i> -BuLi	3	1	t.a.	90 min [§]
4	Et ₂ O	<i>n</i> -BuLi	3	1	t.a.	90 min [§]
5	Tolueno	NaNH ₂	4	4	t.a.	2 días ^{§,#}
6	Tolueno	NaNH ₂	4	4	t.a.	6 días [#]
7	Tolueno	NaNH₂	2	2*	t.a.	32 h[#]

§ número de equivalentes totales de iluro agregados; [§]reacción cortada agitando con NH₄Cl (aq); [#]mezcla de reacción eluida por una columna de sílica; * solución de iluro desgasificada antes de ser agregada al esteroide

Tabla 3.2: Productos obtenidos en los distintos ensayos de la reacción de Wittig

Entrada	Rendimientos					% masa recuperada	% conversión
	115	115-3-OH	116 (Z:E)	116-3-OH (Z:E)	116-3,20-diOH (Z:E)		
1	-	-	-	-	26 (4:1)	26,0	26,0
2	-	-	-	-	35 (2,5:1)	35,0	35,0
3	2	11	1 (1:0)	2.5 (1:0)	-	16,5	3,5
4	3	5	-	10 (1:0)	-	18,0	10,0
5a	20 ^ξ	-	0,2 (0:1)	-	-	20,2	0,2
5b	trazas [#]	-	64 (1:10)	-	-	64,0	64,0
6	9	10	56 (1:10)	6 (0:1)	-	81,0	62,0
7	-	-	75 (1:11)	16 (1:5)	-	91,0	91,0

^ξ reacción cortada agitando con NH₄Cl (aq); [#] mezcla de reacción eluida por una columna de sílica.

Asignación de las estructuras de 116-E y Z

La estereoquímica del enol éter formado fue determinada mediante las constantes de acoplamiento entre los H-19 y H-19a en los espectros RMN ¹H. Así, en uno de los isómeros (**figura 3.5**), estos protones aparecen como dos dobletes acoplados a 4,48 y 6,09 ppm con una constante de acoplamiento mutua de 13,2 Hz, mientras que en el otro isómero (**figura 3.6**) estos protones aparecen a 3,88 y 5,91 ppm con un acoplamiento de 7,3 Hz. Comparando con valores de literatura [Pretsch *et al*, 1980], se asignó la configuración E al primer compuesto y la Z al segundo. En los espectros RMN ¹H de ambos isómeros se puede observar además la presencia de un singulete alrededor de 3,5 ppm correspondiente al grupo metoxilo.

En el espectro de RMN ¹³C de **116-E**, se observan cuatro señales en la zona de las olefinas (136,6, 124,7, 106,1 y 150,5 ppm), las cuales fueron asignadas a los carbonos 5, 6, 19 y 19a respectivamente, con ayuda de los espectros DEPT y HETCOSY.

En la **tabla 3.3** se muestra la asignación completa de las señales de los espectros de RMN ¹H y RMN ¹³C de **116-E**, realizada a partir de los espectros RMN ¹H, RMN ¹³C, DEPT, COSY-45 y HETCOSY.

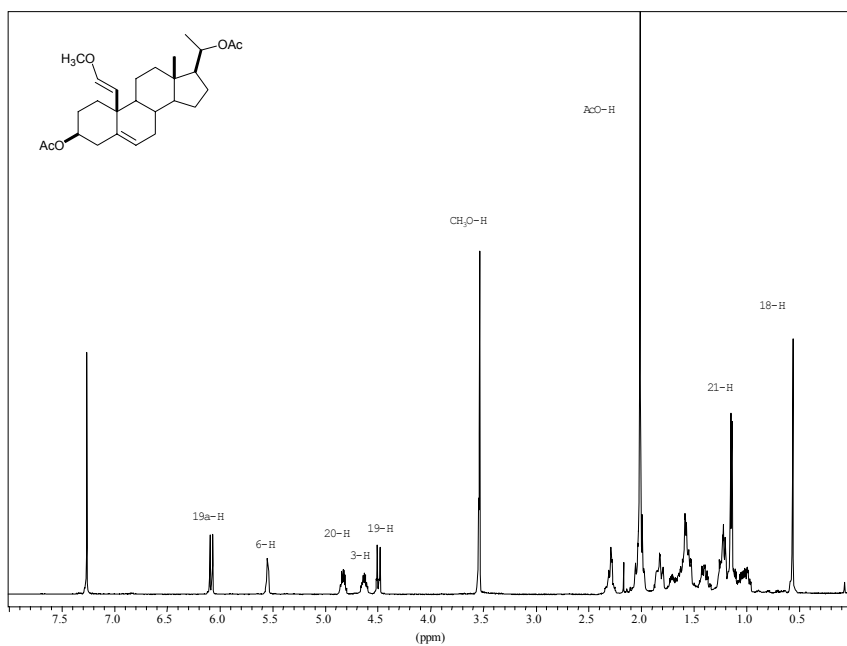


Figura 3.5: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto 116-E

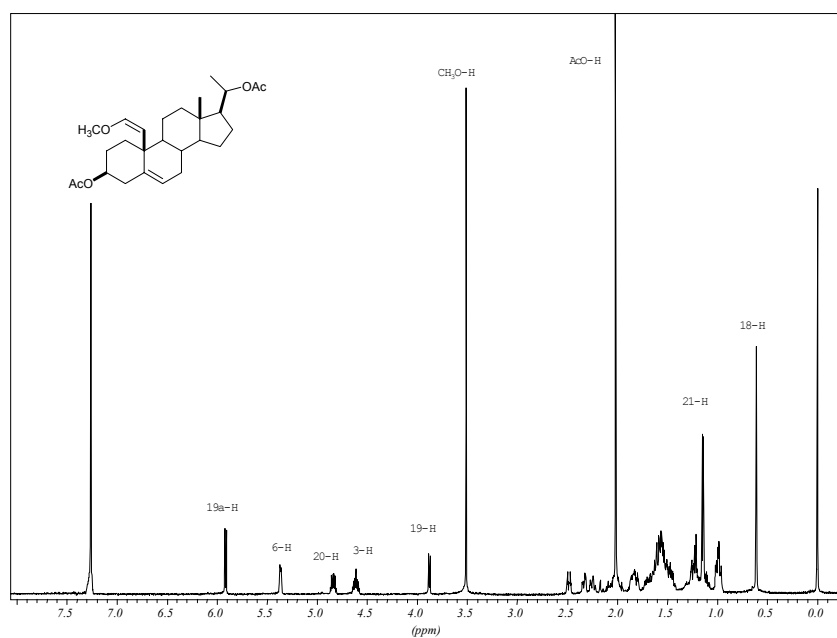


Figura 3.6: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto 116-Z

Tabla 3.3: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **116-E**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	36,5	1,24	2,05	14	55,3	1,05	
2	28,1	1,85	1,59	15	24,3	1,64	1,14
3	73,9	4,62 tt, $J=10,8,$ 5,4; 1H		16	25,4	1,24	1,72
4	39,0	2,32	2,28	17	54,8	1,58	
5	136,6			18	21,3	0,57 s; 3H	
6	124,7	5,55 dd, $J=2,7,$ 2,3; 1H		19	106,1	4,48 d, $J=13,0;$ 1H	
7	31,7	1,56	2,00	20	72,8	4,83 dq, $J=10,5,$ 6,1; 1H	
8	30,9		1,43	21	19,9	1,15 d, $J=6,1;$ 3H	
9	50,2	1,00		19a	150,5	6,09 d, $J=13,0;$ 1H	
10	41,2			CH₃CO₂	21,3 21,5	2,02 s; 3H	
11	21,2	1,56	1,39	CH₃CO₂	170,4 170,5		
12	38,2	1,19	1,81	CH₃O	55,9	3,52 s; 3H	
13	41,2						

En los casos en los cuales se observó la hidrólisis de los grupos acetato de C-3 o C-3 y C-20, los espectros de RMN ^1H de esos compuestos mostraban el corrimiento de la señal del H-3 desde 4,3 hasta 3,6 ppm y la de H-20 desde 4,8 hasta 3,7 ppm respecto de los espectros de ambos isómeros de **116**.

Estereoquímica de la homologación

Si bien la estereoquímica del enol éter de **116** no es relevante para la prosecución de la síntesis, resulta una curiosidad en sí misma pues, como se verá más adelante, contradice los resultados esperados. Maryanoff y *col* [Maryanoff *et al* 1985 y 1986] estudiaron la reacción del iluro no estabilizado $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}n\text{-Pr}$ con benzaldehído mediante

RMN de ^{31}P , ^1H y ^{13}C . En las mediciones realizadas en condiciones libres de sales, notaron una relación inicial *cis*: *trans* de oxafosfetanos de 98:2, la cual se conservó en la relación Z:E de los alquenos resultantes. Esta tendencia en los isómeros es la que se observa generalmente en las reacciones de iluros no estabilizados en condiciones libre de sales.

Vedejs y col [Vedejs *et al*, 1973] consideran que esta selectividad es consecuencia del impedimento estérico sobre el oxafosfetano en formación. Para ellos, la reacción de Wittig implica una cicloadición en la cual el plano del aldehído parcialmente rehibridizado queda inclinado respecto del plano del iluro para minimizar las interacciones estéricas, quedando también “entrecruzados” los enlaces C-O del carbonilo y C-P del iluro, manteniendo así distancias de enlace $\text{P}\cdots\text{O}$ y $\text{C}\cdots\text{C}$ razonables (**figura 3.3**).

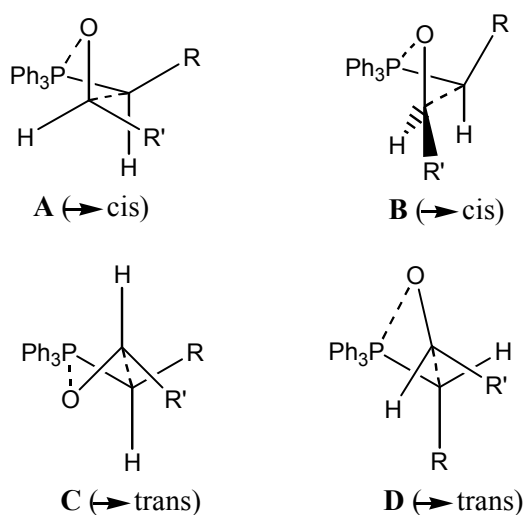


Figura 3.3

La geometría de los estados de transición que llevarían a la formación de oxafosfetano *cis* estaría, según estos autores, entre las dos situaciones límite: **A** (planos paralelos) y **B** (planos perpendiculares). Los arreglos como **C**, que llevarían a la formación de oxafosfetano *trans*, están desestabilizados por la interacción entre el grupo R del iluro y el extremo más voluminoso del aldehído. En caso de formarse los estados de transición paralelos **A**, **C**, y **D**, éstos deberían ser sensibles a un aumento en el volumen

del grupo R' desde *n*-alquilo a *t*-alquilo. Cualquier cambio en este sentido favorecería el estado de transición **D** frente a los otros y debería decrecer la selectividad *cis*. Pero experimentalmente lo que se observa no es esto sino un pequeño aumento en el sentido contrario.

Si el estado de transición que lleva a los productos *cis* se pareciera más a **B**, sería razonable que la selectividad aumentara al aumentar el volumen de R' pues la inclinación del plano del aldehído minimiza las interacciones entre R' y los grupos PPh₃ y R del iluro. Al crecer R', el ángulo puede aumentar hasta llegar a una situación de compromiso que minimice las interacciones entre R' y el iluro y no aumente demasiado aquellas entre el mismo iluro y el enlace C-H del aldehído. Los estados de transición **C** y **D**, que llevarían al oxafosfetano *trans*, no pueden beneficiarse por la inclinación del plano del aldehído pues esto incrementaría las interacciones C-H del aldehído con el lado más voluminoso del iluro; en consecuencia, los alquenos *trans* se formarían por un acercamiento paralelo, como en **D**, y las interacciones R'- iluro son inevitables. Por otro lado, el precursor de oxafosfetano *cis* **B**, estará poco desestabilizado por R' voluminosos resultando en un incremento menor de la relación *cis:trans*. La geometría exacta del estado de transición que lleva a los productos *cis* dependerá del ángulo de inclinación y del grado de rehibridización pero el acercamiento de los reactivos estaría controlado por una trayectoria que minimice la separación entre R' y los grupos voluminosos del iluro. Cabe aclarar que la elección que realizan estos autores del estado de transición inclinado **B** frente a los paralelos **A**, **C**, **D**, etc está basada en una racionalización estérica y no toma en cuenta consideraciones de simetría de los orbitales.

En el estudio de Maryanoff y *col* mencionado previamente, dichos autores observaron que, en presencia de bromuro de litio, el oxafosfetano *cis* desaparecía mucho más rápido que el *trans* pero que los alquenos *Z* y *E* se producían aproximadamente a la misma velocidad. Observaron también que, si bien la relación inicial de oxafosfetanos *cis: trans* era 78:22, la relación final entre los alquenos era 55:45. Los autores concluyeron que los oxafosfetanos se interconvierten pasando a través de los reactivos, lo cual lleva a que el oxafosfetano de menor energía (el *trans*) aumente su proporción respecto a la inicial. En la mayoría de los casos en los cuales se ha registrado este mecanismo de estereomutación, ésta procede a través de un camino descendente de energía pasando por un *trans* oxafosfetano y dando finalmente el alqueno *E*; esta

estereoselectividad se atribuye a la formación de complejos que involucran las sales de litio, los cuales estabilizarían el oxafosfetano intermediario facilitando la reversibilidad de la reacción. Así, a través del intermediario más estable, el *trans* oxafosfetano, aumenta la proporción del alqueno E respecto a las condiciones libres de sales

Por otro lado, durante la generación reversible del iluro y el aldehído a partir de los intermediarios, es posible atrapar el iluro con otro aldehído diferente pero de reactividad similar. Estos experimentos cruzados han demostrado que intermediarios de aldehídos aromáticos experimentan una reversibilidad significativa, mientras que los de aldehídos alifáticos no.

El iluro utilizado en la transformación de **115** en **116** ($\text{Ph}_3\text{PCHOCH}_3$), se comporta, desde el punto de vista de la estereoselectividad, de una manera particular: existen descriptos en literatura [Maryanoff *et al*, 1989] numerosos casos en los cuales, al usar este iluro, se obtiene una mayor proporción de alqueno E independientemente del uso de sales de Li. A nuestro conocimiento, los únicos casos documentados en los cuales se observó una formación mayoritaria del alqueno Z fueron reacciones llevadas a cabo sobre la posición 19 de esteroides en presencia de sales de Li: las realizadas por el grupo de Kočovský y las llevadas a cabo en este trabajo de tesis (70-100% de Z). En las reacciones ensayadas en este trabajo de tesis, la formación mayoritaria del alqueno E se produjo en condiciones libres de sales (92%, **tablas 3.1** y **3.2**, entrada 7), en las cuales la recuperación del aldehído al usar NH_4Cl para cortar la reacción (*vide infra*) indicaría también su reversibilidad.

Para intentar explicar estos resultados, se realizó un análisis computacional utilizando un método semiempírico para optimizar las geometrías de las estructuras que se querían comparar.

Mc Ewen y *col* [Mari *et al*, 1992] realizaron un estudio teórico acerca de los intermediarios oxafosfetanos de la reacción de Wittig utilizando el método semiempírico MNDO-PM3. Si bien los métodos semiempíricos han evolucionado desde entonces, no se hallaron aplicaciones posteriores a 1992 en relación con la reacción de Wittig. Existe un trabajo más reciente [Yamataka *et al*, 1998] en el cual se calcula la misma reacción utilizando métodos *ab initio*.

Dado el número de átomos pesados de las moléculas esteroidales y que la finalidad del cálculo sólo era explicar las tendencias observadas en la estereoselectividad

de la reacción de Wittig, los métodos *ab initio* no eran aplicables. Por eso, se decidió utilizar el método semiempírico AM1 que es habitual en el modelado de esteroides y cuenta con una mejor parametrización que los métodos MNDO y PM3, en particular para fósforo hipervalente.

Para validar este método, se repitió uno de los cálculos realizados en los trabajos citados más arriba, utilizando AM1 en lugar de MNDO-PM3 o métodos *ab initio*. En esos trabajos, los autores calcularon un estado de transición de la reacción de formación de oxafosfetanos a partir de acetaldehído y el iluro $H_3P=CHCH_3$. En ese modelo midieron las distancias entre los carbonos del ciclo del oxafosfetano y entre el oxígeno y el fósforo del mismo ciclo y las diferencias de energía entre los reactivos y el estado de transición.

En la **tabla 3.4** se muestra una comparación entre los valores de distancias encontrados por ellos y los hallados con AM1 para el oxafosfetano *cis*. Se puede observar que estos valores están en el mismo orden lo cual avala el uso del método AM1.

Tabla 3.4

Método	RC-C	RP-O	ΔH	Referencia
HF/3-21G*	2,18	2,59	6,3	Yamataka <i>et al</i> , 1998
B3LYP/6-31G*	2,12	2,85	1,5	Yamataka <i>et al</i> , 1998
MNDO-PM3	2,14	2,48	15,3	Mari <i>et al</i> , 1992
AM1	2,37	2,73	12,9	esta tesis

Se calcularon entonces los oxafosfetanos intermediarios de la reacción con el esteroide **115**.

En el caso de las condiciones libres de sales (**figura 3.7**), se observó que la energía del *trans*-oxafosfetano sería 9,27 kcal/mol menor que la del isómero *cis*. Así, la mayor proporción de alqueno E obtenido experimentalmente en esta tesis (hasta 92%) sería consecuencia de la mayor estabilidad del *trans*-oxafosfetano, favorecida además por la reversibilidad de la reacción. Cabe destacar que dicha reversibilidad no era esperada pues se trataba de un aldehído alifático en condiciones libres de sales (**tablas 3.1 y 3.2**, entradas 5 a 7).

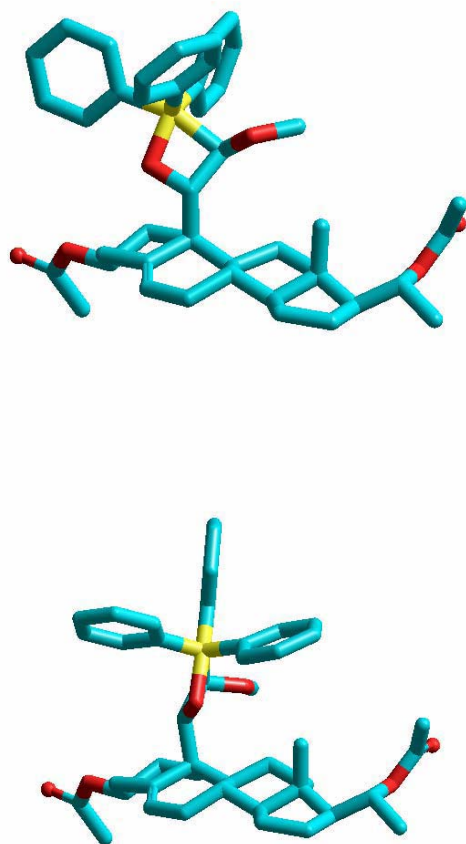


Figura 3.7: Oxafosfetanos intermediarios en condiciones libres de sales

$$\Delta H^{\text{rel}} = 9,27 \text{ kcal/mol.}$$

Arriba: *trans*. Abajo: *cis*.

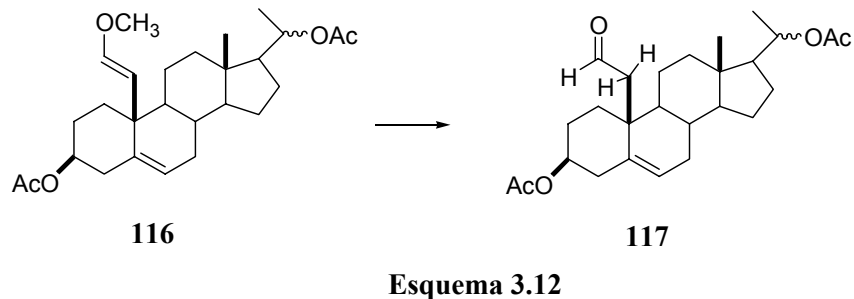
En el modelo del oxafosfetano *cis* (**figura 3.7**) referido más arriba, se observó que los oxígenos correspondientes al aldehído y al metoxilo se encontraban a poca distancia entre sí, siendo posiblemente la repulsión entre ellos lo que desestabilizaba a este isómero. Para explicar la mayor proporción de alqueno *Z* obtenida en presencia de sales de litio, se analizó la formación de un complejo de coordinación entre el Li, los dos oxígenos mencionados y los oxígenos de dos moléculas de solvente (THF). Así, se tomaron los intermediarios modelados antes y se les agregó un catión Li^+ y dos moléculas

de THF dispuestos en una geometría que correspondiera a la coordinación tetraédrica característica del litio. En los cálculos AM1 de los dos isómeros se observó que el complejo no divergía, con los átomos manteniéndose a una distancia que mostraba una interacción favorable entre ellos. Respecto a las energías de los isómeros, los cálculos muestran una preferencia por el oxafosfetano *cis*, con una diferencia de 0,87 kcal/mol. Este resultado indicaría que la presencia del catión Li^+ estabiliza ese isómero y justificaría que el alqueno *Z* sea mayoritario en los resultados experimentales, hecho del cual sólo se conoce un antecedente para el caso del iluro utilizado.

Cabe aclarar que en la discusión anterior no se ha tomado en cuenta la influencia del solvente utilizado. Los experimentos hechos en presencia de sales de litio se hicieron en THF mientras que aquellos realizados en condiciones libres de sales fueron realizados en tolueno. Es de esperar que en el primer caso la coordinación del litio con el solvente tienda a desfavorecer la formación de alquenos *trans*, lo cual va en el mismo sentido de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis. Sin embargo, la formación prácticamente cuantitativa de alquenos *cis* no era de esperarse y se atribuye a los factores indicados más arriba.

Síntesis de 3 β ,20 β -diacetiloxi-5-pregnen-19-carboxaldehído (117)

Una vez optimizada la síntesis del enol éter **116**, se ensayaron distintas condiciones para obtener el aldehído homólogo **117**. Inicialmente se intentó la hidrólisis usando ácido perclórico en éter en concentraciones que variaron desde un 7% hasta solución saturada; los rendimientos obtenidos en estas condiciones fueron bajos (45% como máximo). Se realizó entonces la hidrólisis usando ácido clorhídrico 4N en acetona [Ottow *et al*, 1993]; en estas condiciones se pudo obtener una mezcla de aldehídos cuya posterior acetilación llevó al compuesto buscado **117** con un excelente rendimiento global (98%) (**esquema 3.12**).



El espectro RMN ^1H de **117** (**figura 3.8**) mostró como señales características el doble doblete de aldehído a 9,76 ppm ($J= 1,5$ y $5,6$ Hz) y dos dobletes acoplados a 2,33 y 2,71 ppm ($J= 15,2$ Hz) que fueron asignados a los protones de C-19. El RMN ^{13}C muestra una señal a 203,9 ppm que se asignó al C-19a y otra a 45,5 ppm. En el HETCOSY de **117** se observa acoplamiento entre esta última señal y los protones de 2,33 y 2,71 ppm, por lo que se la asignó al C-19.

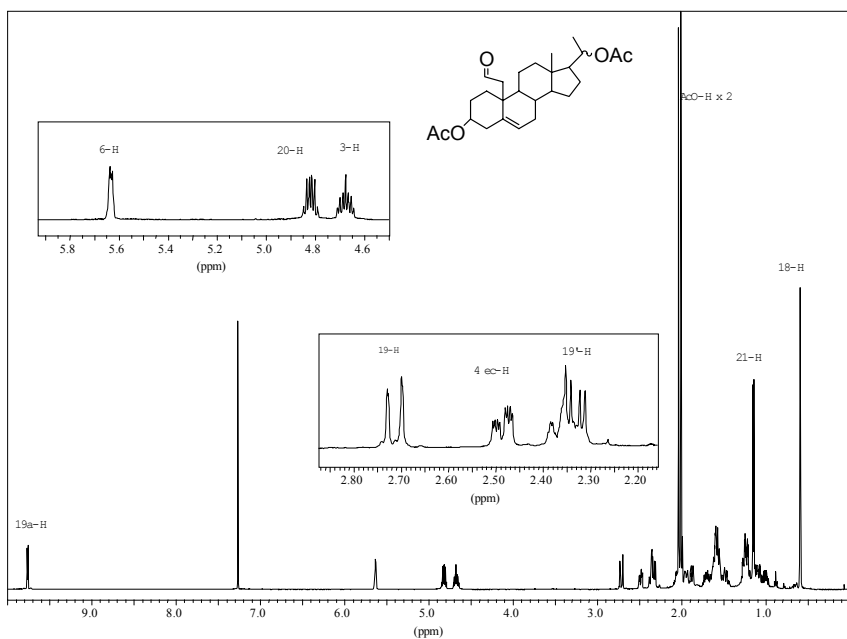


Figura 3.8: Espectro RMN ^1H del compuesto **117**

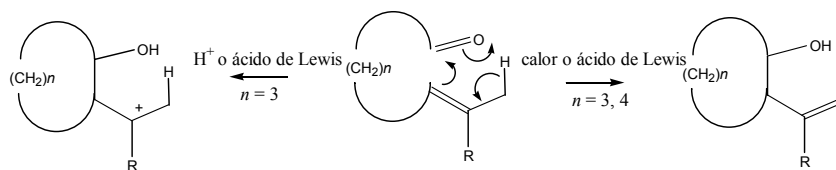
Parte B

Ciclación

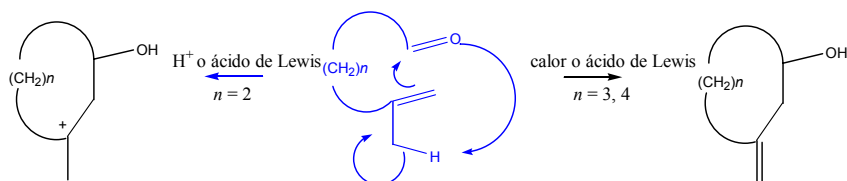
3.B.1 Reacción de Prins

Una gran variedad de compuestos carbonílicos reacciona con alquenos en presencia de ácidos de Lewis como catalizadores para formar un enlace carbono-carbono entre el carbono carbonílico y uno de los carbonos del doble enlace [Snider, 1991]. Existen dos mecanismos diferentes descritos para esta transformación: concertado (reacción "eno") o en etapas (reacción de Prins); en el primer caso, la reacción puede también ocurrir con iniciación térmica (sin catalizador), mientras que en el segundo puede ser catalizada por un ácido de Brønsted. Cuando ambas funcionalidades se encuentran en la misma molécula tiene lugar una reacción intramolecular. En este caso, las reacciones "eno" y Prins intramoleculares se han dividido en tres clases, según el patrón de conectividad entre el carbonilo y el alqueno:

Tipo I: el carbono carbonílico forma un nuevo enlace con el carbono interno de la olefina. La reacción puede ocurrir por una vía concertada ($n = 3, 4$) o en etapas ($n = 3$). Este tipo de reacciones está restringido a la formación de anillos de cinco o seis miembros y corresponde a la adición *exo* según las reglas de Baldwin.

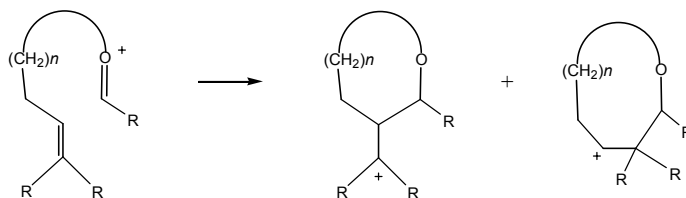


Tipo II: el carbono carbonílico se une al carbono terminal del doble enlace. Pueden ocurrir reacciones "eno" concertadas ($n = 3, 4$) o reacciones de Prins ($n = 2$). Las reacciones "eno" de este tipo están restringidas a la formación de anillos de seis y siete miembros, mientras que las de Prins sólo pueden formar anillos de cinco miembros.



Es interesante notar que esta ciclación es *5-endo-trig*, la cual no está favorecida según las reglas de Baldwin.

Tipo III: una cadena lateral del alqueno se encuentra enlazada al oxígeno carbonílico. Estas son reacciones de Prins y dan lugar a la formación de éteres cíclicos.

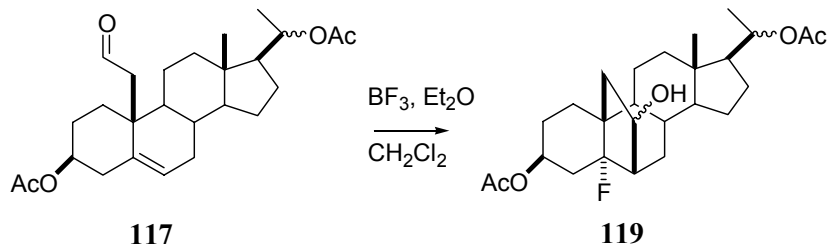


Síntesis de 3 β ,20 β -diacetiloxi-5 α -cloro-19 α -hidroxi-6,19-metanopregnano (118)

Andersen y *col* [Andersen *et al*, 1985] publicaron un extenso estudio acerca del uso de la reacción de Prins de tipo II para la construcción de anillos de cinco miembros. Entre los numerosos ácidos de Lewis utilizados, el $TiCl_4$ resultó ser el más eficaz para esta transformación, obteniéndose en general cloroalcoholes con buen rendimiento.

Sin embargo, se encontraba descrito este tipo de reacción con otros ácidos de Lewis y aún ácidos minerales. Por esta razón, se ensayaron en esta tesis otras condiciones. Se intentó inicialmente la ciclación utilizando un ácido mineral (solución saturada de $HClO_4$ en éter), pero no se observó reacción alguna a temperatura ambiente ni a la temperatura de ebullición. Utilizando trifluoruro de boro-eterato en diclorometano seco [Blomquist *et al*, 1968], se obtuvo una mezcla compleja de productos (determinada por CCD) con un compuesto mayoritario el cual, de acuerdo con los datos de RMN 1H , se identificó tentativamente como el 5-fluoroderivado **119** (esquema 3.13). En el espectro RMN 1H del producto crudo de esta reacción, no se observaba la presencia de señales de aldehído ni de olefina, pero sí una señal a 4,2 ppm que podría corresponder al H de C-19 α en el compuesto ciclado. Además se observaban varias señales que se podrían atribuir al producto de desacetilación parcial en C-3.

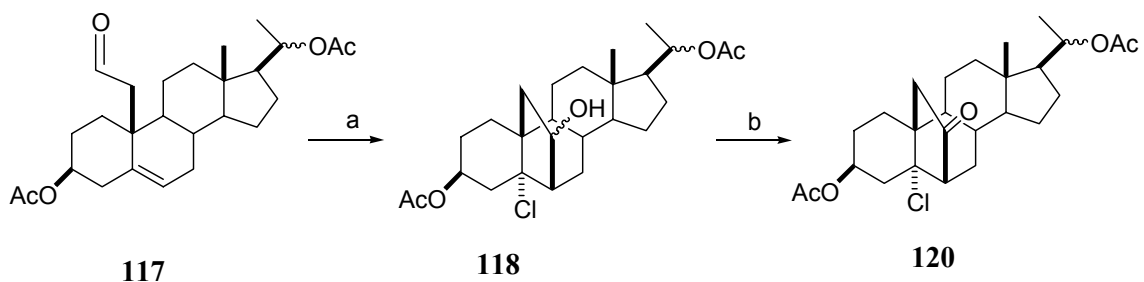
El compuesto **119** se descompuso al intentar su acetilación (anhídrido acético/ piridina) y purificación, probablemente a través de una reacción tipo retroaldólica en las condiciones básicas de la acetilación.



Esquema 3.13

Se decidió entonces utilizar tetracloruro de titanio. En un primer ensayo, se agitó el esteroide con TiCl_4 en diclorometano seco [Andersen *et al*, 1985] y se observó la formación de dos compuesto mayoritarios en proporción 3:1; probablemente una mezcla de epímeros de **118** en C-19a. La estructura de **118** se asignó posteriormente en base a datos espectroscópicos (ver más adelante).

Con el fin de identificar el producto de la reacción, se oxidó la mezcla cruda con PCC y se purificó por cromatografía aislando el esteroide puenteado **120** aunque con un rendimiento bajo (19% a partir de **117**, esquema 3.14).



Reactivos: a) TiCl_4 10%/CH₂Cl₂; b) PCC, BaCO₃, tamiz molecular/CH₂Cl₂

Esquema 3.14

El espectro RMN ¹H de **120** mostró dos dobletes acoplados a 2,14 y 2,47 ppm respectivamente ($J= 19,1$ Hz) que fueron asignados a los protones de C-19 que forman parte del puente carbonado; ambas señales mostraron, en el espectro HETCOSY, acoplamiento con la señal a 41,1 ppm, por lo que ésta fue asignada al C-19. Por otro lado, el protón de C-6 aparece como un singulete ancho a 2,41 ppm. El espectro RMN ¹³C mostró dos señales de carbono cuaternario que no estaban presentes en el espectro de

117: una a 214,7 ppm que fue asignada al carbono carbonílico de C-19a y otra a 78,3 ppm asignada al C-5.

En la **tabla 3.5** se muestra la asignación completa de los protones y carbonos de este compuesto, obtenida a partir de los espectros COSY y HETCOSY. En la **figura 3.9** se muestra el espectro RMN ^1H del compuesto **120**.

Tabla 3.5: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **120**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	23,4	1,60	1,69	13	43,0		
2	26,2	2,06	1,48	14	47,6	1,83	
3	69,0		5,21 tt, $J=11,$ 4, 4,6; 1H	15	23,3	1,50	1,1 0
4	41,8	2,25 ddd, $J=14,1,$ 4,5, 2,1; 1H	1,62	16	25,3	1,26	1,7 0
5	78,3			17	54,8	1,62	
6	59,3	2,41 sa		18	12,9	0,60 s; 3H	
7	29,9	1,62	1,95	19	41,1	2,47 d, $J=19,2;$ 3H 2,14 d, $J=19,2;$ 3H	
8	33,6		1,27	20	72,6	4,83 dq, $J=10,5,$ 5,9; 1H	
9	54,3	1,30		21	19,8	1,14 d, $J=5,9;$ 1H	
10	45,2			19a	214,7		
11	22,4	1,49	1,11	<u>CH₃CO₂</u>	21,2 21,5	2,01 s; 3H 2,02 s; 3H	
12	38,9	1,35	1,82	<u>CH₃CO₂</u>	170,2 170,3		

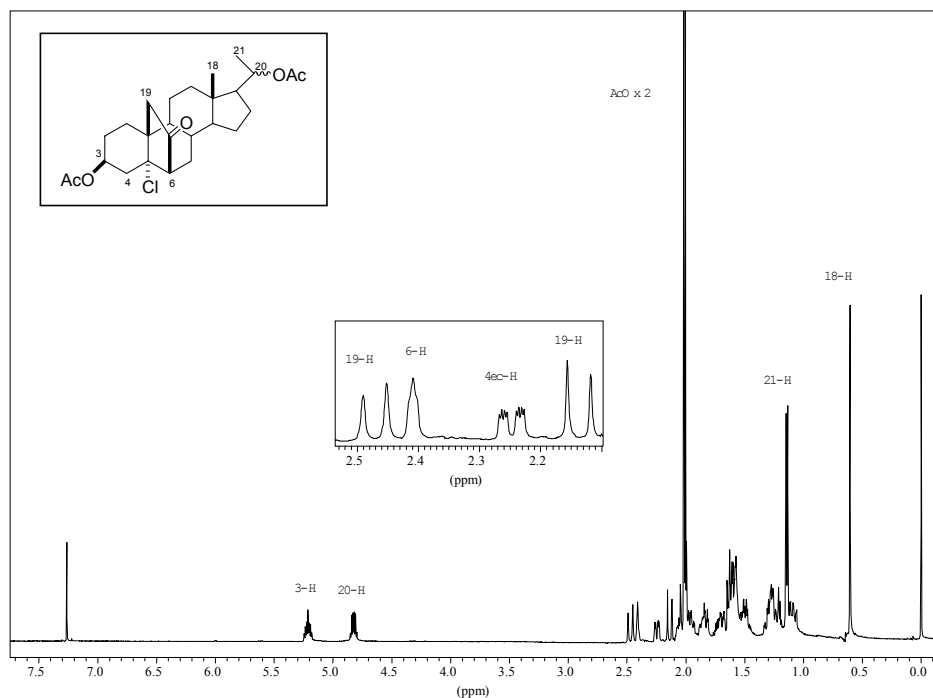


Figura 3.9: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **120**

Con el fin de mejorar el rendimiento de la reacción de ciclación que daba lugar a **118** se ensayaron diversas condiciones de reacción (**tabla 3.6**). En algunos ensayos, sobre todo en los realizados a menor temperatura, se observó la formación de un producto secundario, inicialmente postulado como el epímero en C-19a de **118**. Sin embargo, un análisis espectroscópico minucioso indicó que la estructura correspondía a **121** (ver el análisis estructural en página 89).

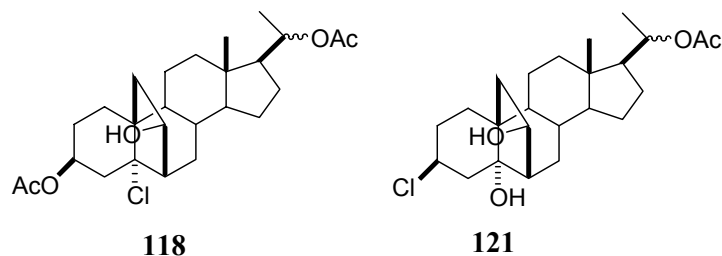


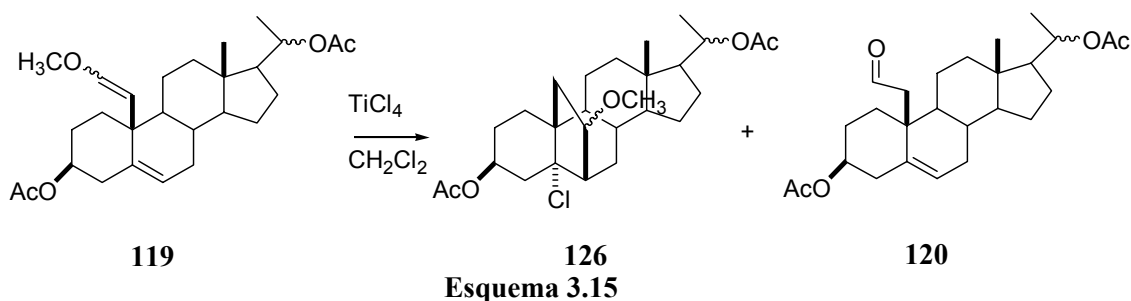
Tabla 3.6: Condiciones de los ensayos de ciclación del compuesto **117**

Entrada	T reacción (°C)	t reacción (min)	condiciones de agitación posteriores a la finalización de la reacción (por CCD)	%118	%121
1	-18	60	Sin agitación. NH ₄ Cl	37	0
2	-15	120	90 min (NH ₄ Cl, 0°C)	40	4
3	-15	120	60 min (NH ₄ Cl, 25°C)	38	0
4	-30	120	15 min (<i>i</i> -PrOH, 0°C)	24	9
5	-30	120	15 min (<i>i</i> -PrOH:H ₂ O (1:3), 0°C)	42	11

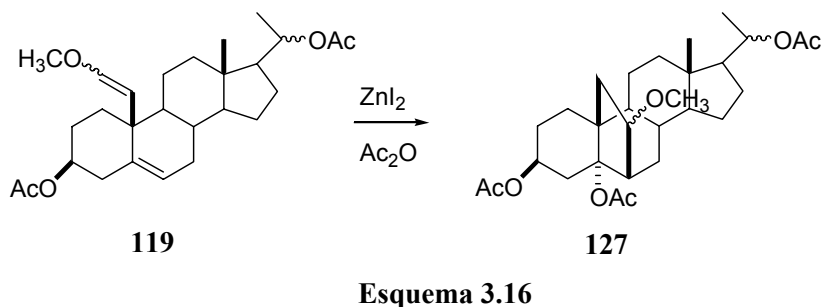
En los primeros ensayos, una vez comprobada por CCD la desaparición del material de partida, se cortó la reacción por agregado de cloruro de amonio acuoso. (**tabla 3.6**, entrada 1), obteniéndose un rendimiento del 37%. Para intentar mejorar el rendimiento, se ensayaron diferentes procedimientos para cortar esta reacción (**tabla 3.6**, entradas 2 a 5): distintas temperaturas y tiempos de agitación con NH₄Cl (aq), agitación de la mezcla con isopropanol y agitación con una mezcla de isopropanol:agua; esto último produjo los mejores resultados (**tabla 3.6**, entrada 5).

Es interesante notar que en la reacción que dio lugar a **120** (**esquema 3.14**) no se obtuvo el análogo oxidado de **121**. Considerando la estructura que debería presentar este compuesto, con un grupo ceto en posición beta a un hidroxilo, es posible que, de haberse obtenido, haya sufrido una reacción retroaldólica en el medio de reacción (o en la columna cromatográfica), hecho que explicaría también los bajos rendimientos obtenidos en ese caso.

Dado que tanto la hidrólisis del enol éter **119** como la reacción de Prins se realizaron en medio ácido, se intentó realizar las dos transformaciones en un solo paso, haciendo reaccionar **119** con TiCl_4 en las mejores condiciones experimentales halladas anteriormente. Se obtuvo una mezcla de compuestos que presentaba algunas señales en el RMN ^1H correspondientes al aldehído **120** (minoritario) y otras (de mayor intensidad) que se asignaron tentativamente a la estructura **126** en la cual el grupo hidroxilo del puente se encontraba metilado. Se asignó el singulete a 3,29 ppm al metoxilo de C-19a y el doble doblete ($J= 8,4$ y $3,7$ Hz) a 3,65 ppm al protón de 19a.



Si bien era posible la formación del puente carbonado a partir del enol éter **119**, la presencia del grupo OCH_3 en C-19a agregaba una dificultad adicional. Se ensayó entonces la reacción utilizando como ácido de Lewis ZnI_2 en Ac_2O , reactivo utilizado en este laboratorio para la ruptura de éteres [Benedetti *et al*, 1990]. En estas condiciones, se obtuvo el compuesto **127**, que presenta un metoxilo en la posición 19a y un acetato en la posición 5. No obstante esta reacción transcurrió con bajo rendimiento (15%) (**esquema 3.16**).

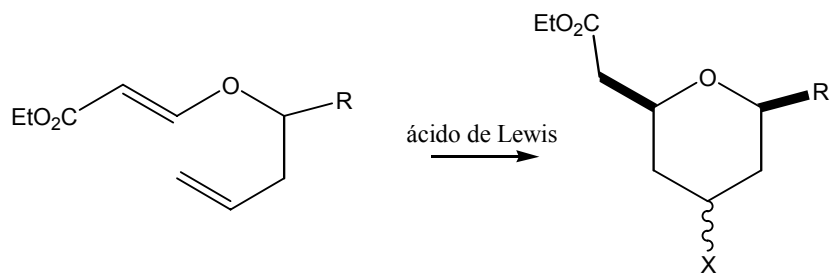


Las señales diagnósticas en el espectro RMN ^1H de **127** fueron: un doble doblete a 3,61 ppm ($J= 3,3$ y $8,4$ Hz) que se asignó al H de C-19a, un singulete ancho a 2,86 ppm asignado al H de C-6 y otro singulete a 3,27 ppm correspondiente al grupo metoxilo. Por otro lado, se observó la presencia de tres singuletes de los grupos acetato en la región de 2 ppm (a 1,99, 2,01 y 2,10 ppm).

Los espectros RMN ^{13}C y DEPT de **127** mostraron a su vez la señal de un carbono cuaternario a 83,0 ppm correspondiente al C-5 y señales a 58,3 ppm (CH) y a 55,0 ppm (CH_3) que se asignaron a C-19a y al grupo metoxilo respectivamente. El análisis espectroscópico de este compuesto apoyaría también la estructura propuesta previamente para **126**.

Tanto en la reacción que dio lugar a la formación de **126** como en la que llevó a **127** el enol éter no se hidrolizó (se conserva el metoxilo en el compuesto final), aparentemente participando como tal en la reacción con el doble enlace.

Existen antecedentes de ciclación de enol éteres en condiciones de Prins. En un estudio de esta reacción, Hart y Bennet [Hart *et al*, 2003] utilizaron distintos ácidos (de Lewis y de Brönsted), para sintetizar tetrahidropiranos mediante la reacción que se ilustra en el **esquema 3.17**. En esta reacción, el grupo X depende del ácido que se utilice ($\text{X}=\text{Cl}$ con TiCl_4 , $\text{X}=\text{OH}$ con TFA y posterior basificación, etc) y la estereoquímica del carbono que queda sustituido con X depende del grupo R. Tanto en ese caso como en el de esta tesis, la formación del ciclo podría producirse por coordinación del ácido de Lewis con el oxígeno del enol éter y posterior ataque del doble enlace para formar la nueva unión C-C.



Esquema 3.17

Entre los ácidos de Lewis utilizados en la síntesis descrita, el TiCl_4 fue el que dio los mejores resultados cuando se lo hizo reaccionar con el aldehído **120**. Sin embargo, los rendimientos no eran satisfactorios. Dado que las reacciones parecían completas cuando se las analizaba por CCD y los testigos de estas mezclas crudas utilizados en las separaciones cromatográficas se degradaban con el tiempo, parecía probable que ocurriera descomposición parcial de los compuestos al purificarlos por cromatografía. Por ello se prosiguió la síntesis sin purificar en este paso. Trabajando con las mezclas crudas de la ciclación en la posterior remoción radicalaria del hidroxilo por el método de Barton-McCombie (ver más adelante), se logró un rendimiento del 37% en el metanoesteroide **128** a partir del aldehído **120** (tres reacciones).

Asignación de las estructuras de 121 y 118

Después de purificar una alícuota de la reacción de formación de **121** y **118**, las estructuras de estos compuestos fueron asignadas a partir de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C y los experimentos COSY de cada compuesto, los espectros de HETCOSY y HMBC de **121** y de la irradiación selectiva del H-19a en el espectro RMN ^1H de **118**.

Las señales diagnósticas en los espectros RMN ^1H de **121** y **118**, fueron los picos a 4.14 y 4.26 ppm respectivamente asignados a los H-19a y la ausencia de las resonancias características de los protones de aldehído y de olefina. Al irradiar en el espectro RMN ^1H de **118** la señal a 4,26 ppm se observó una pérdida parcial de señales alrededor de 1,8 ppm y de 2,0 ppm, lo que indicaba que los protones acoplados a los de C-19a (los del C-19) están ubicados en esa zona; se asignaron a ellos las señales de 1,78 y 1,98 ppm. En las **figuras 3.10** y **3.11** se muestran los espectros RMN ^1H de **121** y **118** respectivamente.

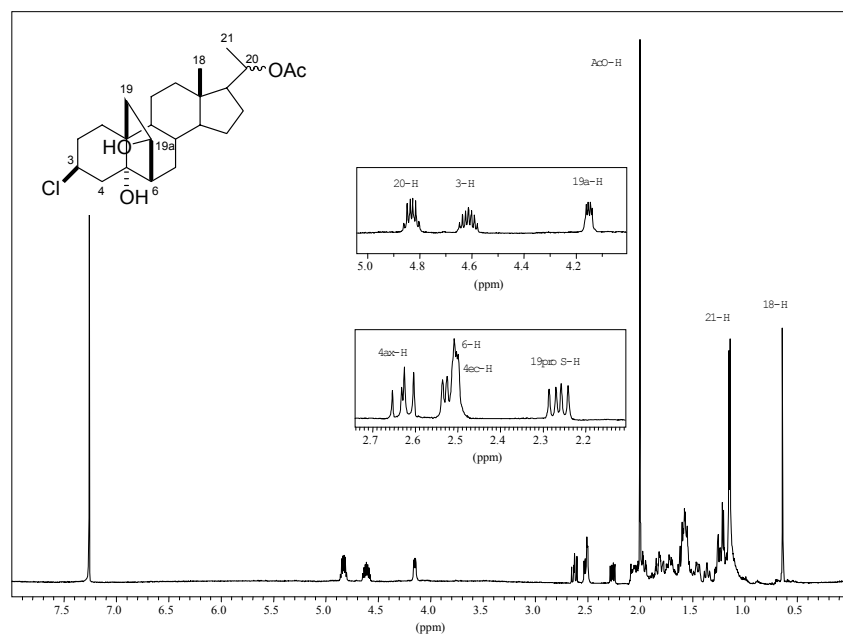


Figura 3.10: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto 121

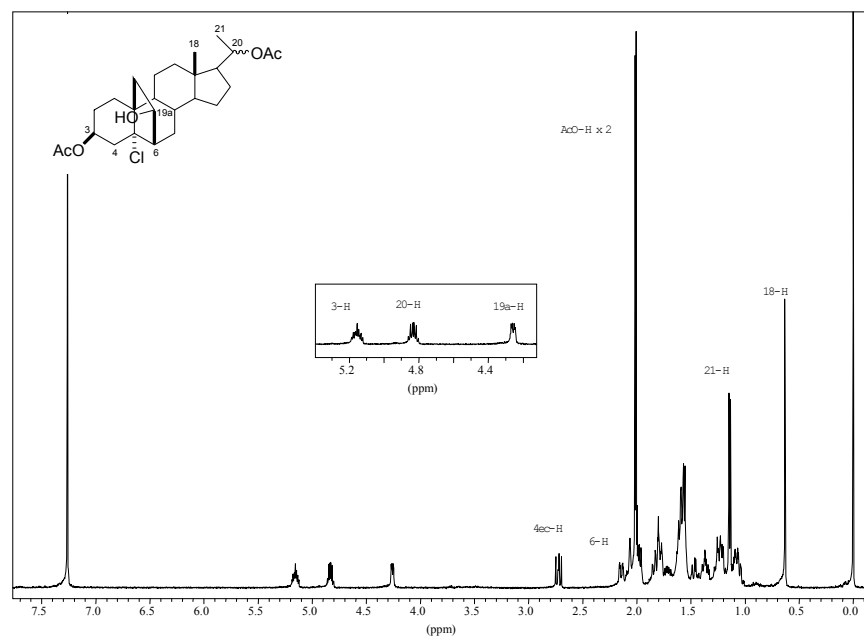


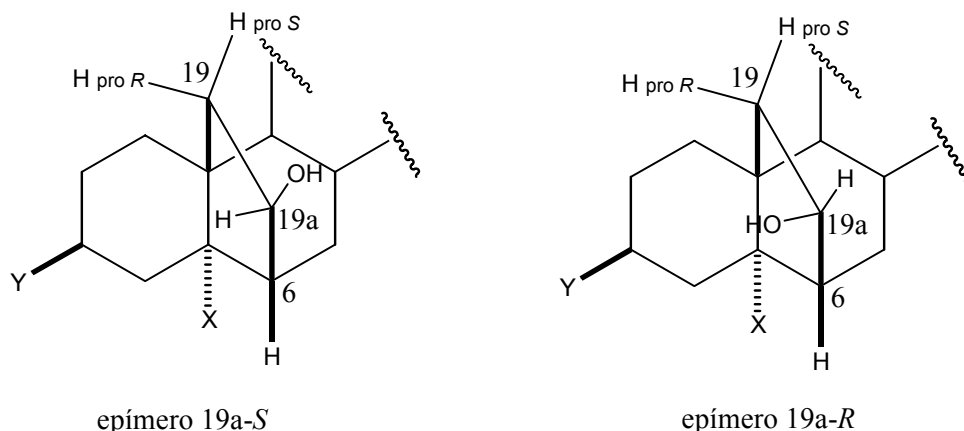
Figura 3.11: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto 118

En la **tabla 3.7** se muestran las resonancias más importantes que se pueden observar en los espectros de RMN ^1H y de RMN ^{13}C de los compuestos **120** (página 83), **121** y **118** y que permitieron asignar las estructuras de estos compuestos.

Tabla 3.7: Comparación entre los desplazamientos de RMN ^1H y de RMN ^{13}C de los compuestos puenteados **120**, **121** y **118**.

	120				121				118			
	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$		$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$		$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$				
		α	β		α	β		α	β			
3	69,0		5,21	55,9	4,61		73,4		5,15			
4	41,8	2,2 4	1,6 2	40,4	2,51	2,63	41,5	2,1 5	2,7 2			
5	78,3			95,5			82,3					
6	59,3	2,4 1		55,3	2,50		54,1	2,0 6				
10	43,0			50,1			48,0					
19	41,1		2,47 2,14	42,9		1,56 (proR) 2,26 (proS)	41,5		1,78 (proR) 1,98 (proS)			
19a	214,7			77,6		4,14	70,4		4,26			
CH₃CO₂	21,2 21,5	2,01 2,02		21,5		2,01	21,4 21,5		2,00 2,01			
CH₃CO₂	170,2 170,3			170,4			170,4 170,5					

Para asignar la estereoquímica en los C-19a de los compuestos **121** y **118**, se midieron las constantes de acoplamiento entre los protones de los puentes carbonados en los espectros RMN ^1H . Además, se calcularon las geometrías de los isómeros *R* y *S* de ambos compuestos (AM1) y sobre estos modelos se estimaron las constantes de acoplamiento utilizando la ecuación de Altona [Haasnoot *et al*, 1980] (**figura 3.12, tabla 3.8**).



124: X= OH, Y=Cl
122: X= Cl, Y=OAc

Figura 3.12: Asignación de configuración de los C-19a de los compuestos **121** y **118**.

Tabla 3.8: (a) acoplamientos calculados mediante la ecuación de Altona de los hidrógenos del puente carbonado de los compuestos **121** y **118**; (b) valores experimentales.

	$J_{19a,19pro-R}$	$J_{19a,19pro-S}$	$J_{19a,6}$
Isómero S^a	10	4	7
Isómero R^a	3	10	1
121 ^b	4	8	~ 0
118 ^b	4	8	~ 0

Como se observa en la **tabla 3.8**, existe buena coincidencia entre los valores de acoplamiento medidos y los calculados para la configuración R de C-19, la cual quedó así asignada para ambas moléculas.

La estereoquímica R para el C-19a del producto mayoritario de la reacción de Prins (tanto para **118** como para **121**) es la esperada en base a consideraciones estéricas. La coordinación del ácido de Lewis sobre el átomo de oxígeno carbonílico en C-19a (en **120**) coloca un grupo muy voluminoso sobre la cara β del esteroide (**figura 3.13**). Así,

quedaría favorecido el ataque sobre C-6 con este grupo ubicado preferentemente sobre el anillo A, menos impedido. En cambio, para obtener la estereoquímica *S*, el aldehído coordinado con el titanio debe colocarse sobre el anillo C. La **figura 3.13** muestra estas consideraciones estéricas sólo en forma esquemática. Teniendo en cuenta los radios de Van der Waals de Ti y Cl, el grupo dibujado sobre el oxígeno aldehídico debería tener un diámetro de más de cuatro veces la distancia carbono-carbono, lo cual implicaría una compresión estérica aun mayor a la esquematizada.

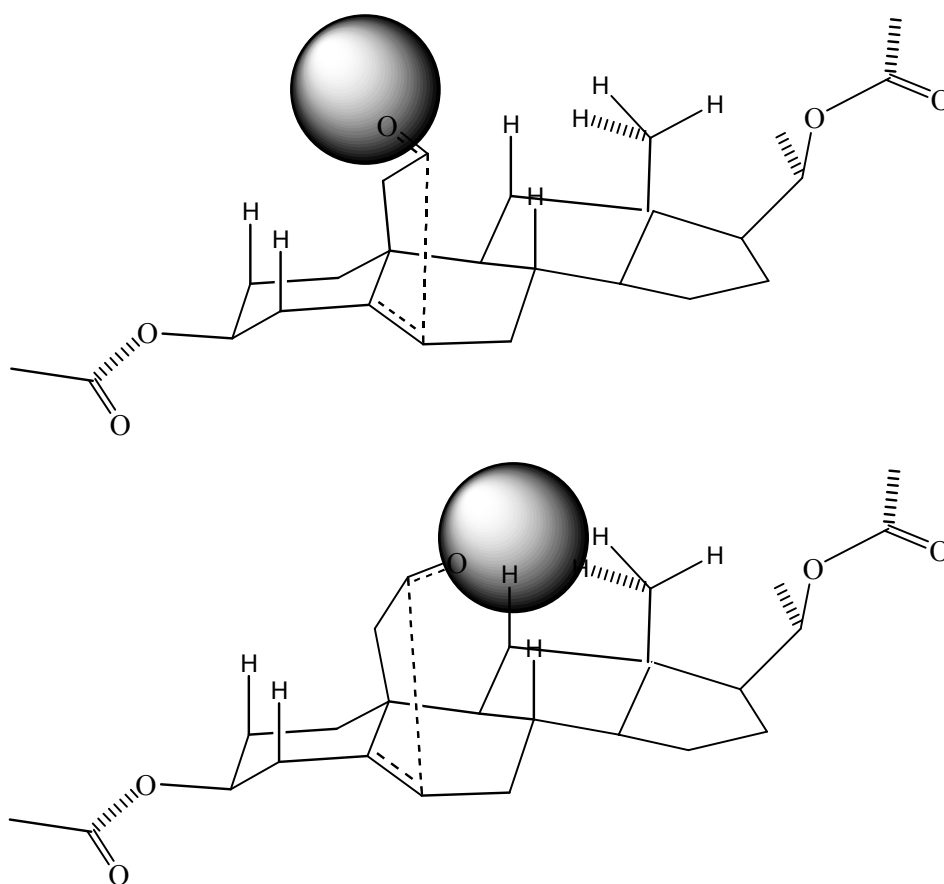


Figura 3.13: Interacción estérica de un grupo voluminoso unido al oxígeno aldehídico con los anillos A (arriba) y C (abajo) del compuesto **120**.

Formación de 121

La obtención del producto sustituido en C-3 por cloro (**121**) podría explicarse considerando la formación del acetato alílico **129** como uno de los productos de la reacción de Prins y su posterior sustitución (probablemente vía S_N1 en presencia de exceso de $TiCl_4$) por cloro (**figura 3.14, esquema 3.18**).

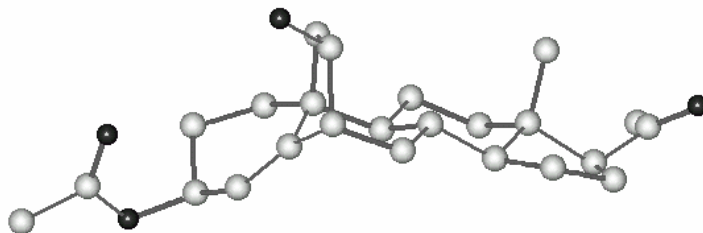
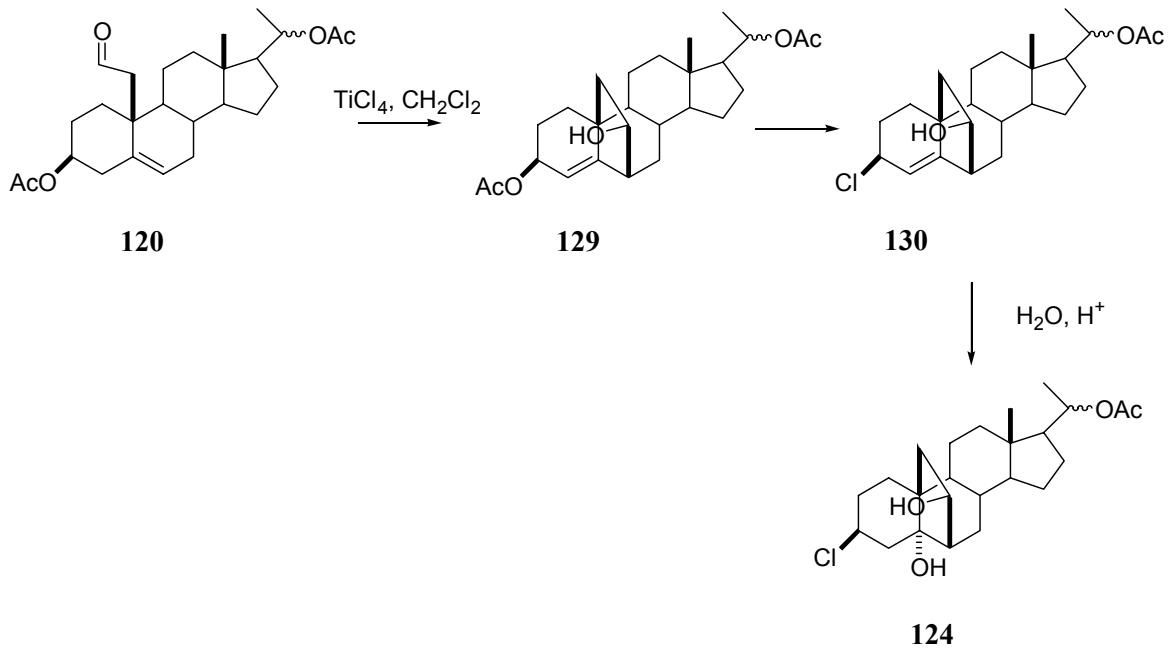


Figura 3.14: Modelo (AM1) del compuesto **129**.

La subsiguiente adición de agua sobre el doble enlace 4,5, extremadamente tensionado por la presencia del puente carbonado 6,19 ocurriría al cortar la reacción catalizada por el medio ácido resultante.



Esquema 3.18

Como se indicó más arriba, el aldehído coordinado con el TiCl_4 se aproxima al C-6 para formar el ciclo, quedando el complejo sobre el anillo A del esteroide. Tanto de haberse formado un carbocatión alílico sobre C-3 (reacción tipo $\text{S}_{\text{N}}1$), como de haber reaccionado en forma concertada (tipo $\text{S}_{\text{N}}2$), sería posible que un cloro unido al Ti se adicionara desde la cara β . Aun sin considerar un ataque del cloro intramolecular (desde el complejo), en el caso del acetato alílico **129** la posición C-3 está más expuesta desde la cara β (**figura 3.14**). Esta estereoselectividad debería aumentar notablemente si se considera que el cloro proviene del grupo coordinado con el aldehído. Esta sustitución debería ocurrir rápida y cuantitativamente en el momento en el que se forma el doble enlace en C-4, ya que nunca se pudo aislar el análogo 3-acetilado de **121**, el cual debería obtenerse en caso de estar presente **129** al cortar la reacción.

Como se verá más adelante (**Capítulo 4**, página 122), en algunos ensayos realizados en esta tesis se obtuvieron 3β -cloro derivados a partir de los grupos 3β -acetiloxi y 3β -terbutildimetilsililoxi de esteroides Δ^5 en presencia de tetracloruro de

estaño o tetracloruro titanio trabajando a baja temperatura (-20 a 0°C). Sin embargo, en esos casos el mecanismo implicado sería diferente (ver **Capítulo 4**, página 123).

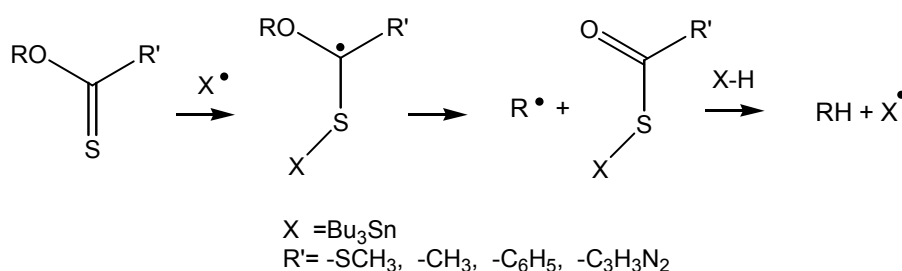
3.B.2 Desoxigenación de C-19a

El compuesto obtenido con la ciclación de Prins, **118**, posee un grupo hidroxilo sobre el puente carbonado (C-19a); dado que se deseaba obtener 6,19-metanoprogesterona, fue necesaria su remoción. Para ello se utilizó la reacción de desoxigenación radicalaria desarrollada por Barton y Mc Combie [Barton *et al*, 1975].

3.B.2.1 Reacción de desoxigenación de Barton-McCombie

Se presentan dificultades cuando se busca la desoxigenación de alcoholes secundarios en los cuales el proceso S_N2 está muy impedido estéricamente. Barton y Mc Combie desarrollaron un método de desoxigenación por vía radicalaria, logrando así el uso de condiciones neutras y evitando cualquier tipo de proceso iónico. En este método, el enlace C-O se rompe homolíticamente para dar un radical carbono que luego es atrapado por átomos de hidrógeno transferidos desde un dador adecuado.

En un principio, la reacción se desarrolló utilizando hidruro de tributilestaño como dador de hidrógeno y se demostró que seguía el mecanismo que se indica en el **esquema 3.19**.



Esquema 3.19

La fuerza impulsora de esta reacción es la formación del grupo carbonilo a partir de un tiocarbonilo, menos estable energéticamente. Requiere un reactivo que genere los radicales X[•] capaces a su vez de formar un enlace fuerte con el azufre y que actúe

también como donador de átomos de hidrógeno. De esta manera, el radical carbonado será atrapado de la manera deseada regenerando el radical X^\bullet ; consideraciones termodinámicas sugirieron el uso de Bu_3SnH . Sin embargo, este reactivo presenta dos inconvenientes principales: uno es que los compuestos de estaño son altamente tóxicos y contaminantes y el otro es que las trazas de estaño que quedan en la reacción son muy difíciles de remover del seno de la reacción. Esto hizo deseable la búsqueda de algún reactivo alternativo.

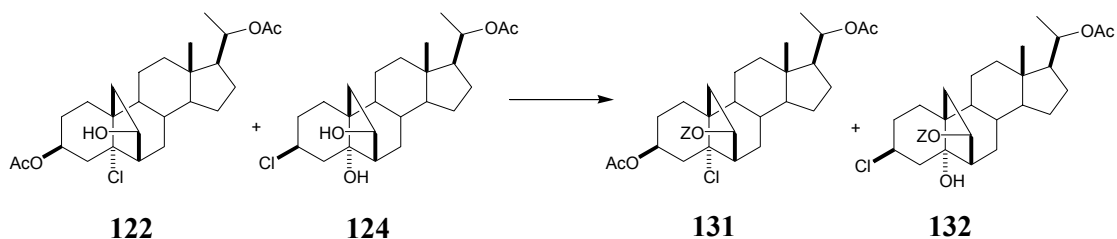
Barton y *col* propusieron entonces el uso de silanos [Barton *et al*, 1993]. El enlace Si-H es relativamente débil en algunos silanos y el enlace Si-heteroátomo formado en la reacción radicalaria relativamente fuerte, generando así la fuerza impulsora de la reacción. Dependiendo de los grupos con los cuales estén sustituidos, los silanos ofrecen un gran rango de fuerza de enlace Si-H dando lugar a distintas alternativas al elegir el hidruro a utilizar. El difenilsilano, en particular, demostró ser útil en la desoxigenación de alcoholes y deshalogenación de varios haluros orgánicos. En la mayoría de los casos, se obtienen altos rendimientos al utilizar este compuesto en la transformación de xantatos, tiocarbonatos, yoduros y bromuros en sus correspondientes hidrocarburos. Sin embargo, presenta el inconveniente de que la cadena radicalaria es muy corta y debe ser reiniciada repetidamente.

3.B.2.2 Síntesis de 3 β , 20 β -diacetiloxi-5 α -cloro -6,19-metanopregnano (128)

En el caso del compuesto **118**, las condiciones suaves de reacción con difenilsilano resultaron particularmente convenientes ya que se deseaba conservar el cloro de C-5. La remoción radicalaria del cloro, favorecida por dejar un radical terciario, dejaría un producto reducido en C-5, dificultando la posterior formación del doble enlace conjugado en Δ^4 presente en el producto final. Por lo tanto, se requerían condiciones de reacción específicas capaces de remover selectivamente el hidroxilo de C-19a en presencia de cloro.

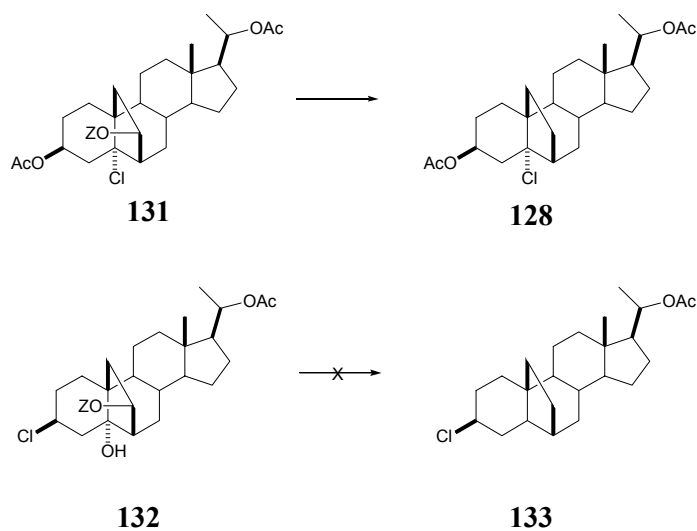
Por los motivos indicados anteriormente (página 89), se utilizó en esta reacción la mezcla de **121** y **118** sin separar (**esquema 3.20**). Mediante el tratamiento con DBU, sulfuro de carbono y yoduro de metilo a temperatura ambiente, se obtuvo una mezcla de los xantatos **131** y **132**, la cual fue separada por cromatografía flash.

El espectro RMN ^1H de **131** mostró, como señales diagnósticas, el corrimiento a campos bajos de la señal correspondiente al H-19a (4,26 ppm en **118**, 5,62 ppm en **131**), y la aparición de un singulete a 2,57 ppm correspondiente al metilo del xantato. En el espectro RMN ^1H de **132** también se observa el corrimiento de la señal de 19a (4,14 ppm en **121** a 5,68 ppm en **132**) y la presencia de un pico cuya integración corresponde a un solo xantato, a 2,53 ppm.



Esquema 3.20

La desoxigenación de **131** con difenilsilano en tolueno utilizando AIBN como iniciador (**esquema 3.21**) dio el 5 α -cloro-6,19-metanopregnano **128**, el cual se obtuvo puro con un rendimiento global de 37% a partir de **120** (tres pasos). El xantato **132** resultó extremadamente lábil, descomponiéndose al someterlo a las condiciones de desoxigenación radicalarias.



Esquema 3.21

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **128** (figura 3.15) no se observan señales a campos más bajos que 2,2 ppm, excepto las correspondientes a los hidrógenos de los carbonos 3 y 20, indicando la ausencia de heteroátomos unidos al puente carbonado (C-19a).

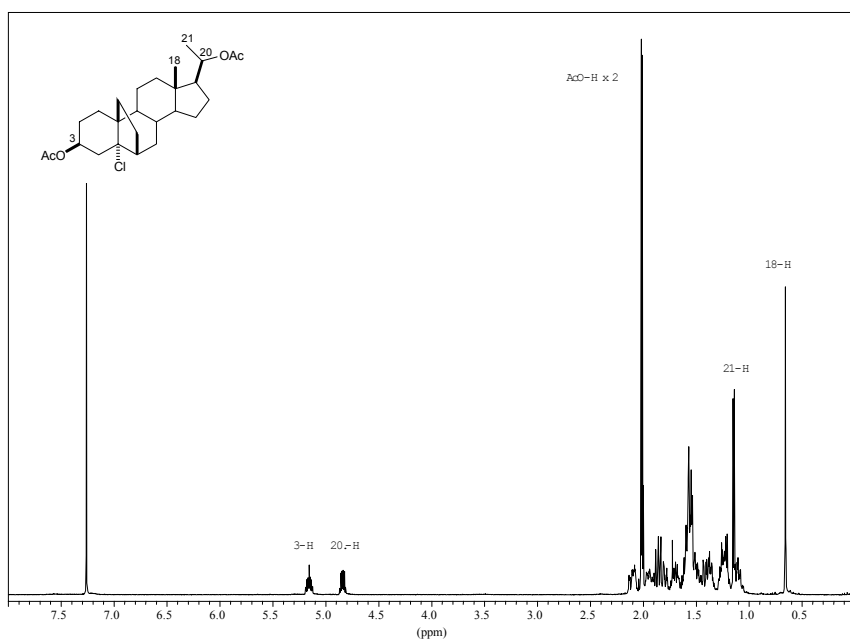


Figura 3.15: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **128**

En la **tabla 3.9** se presenta la asignación completa de las señales de RMN ^1H y RMN ^{13}C de **128** realizadas con ayuda de los espectros DEPT-135 y COSY-45.

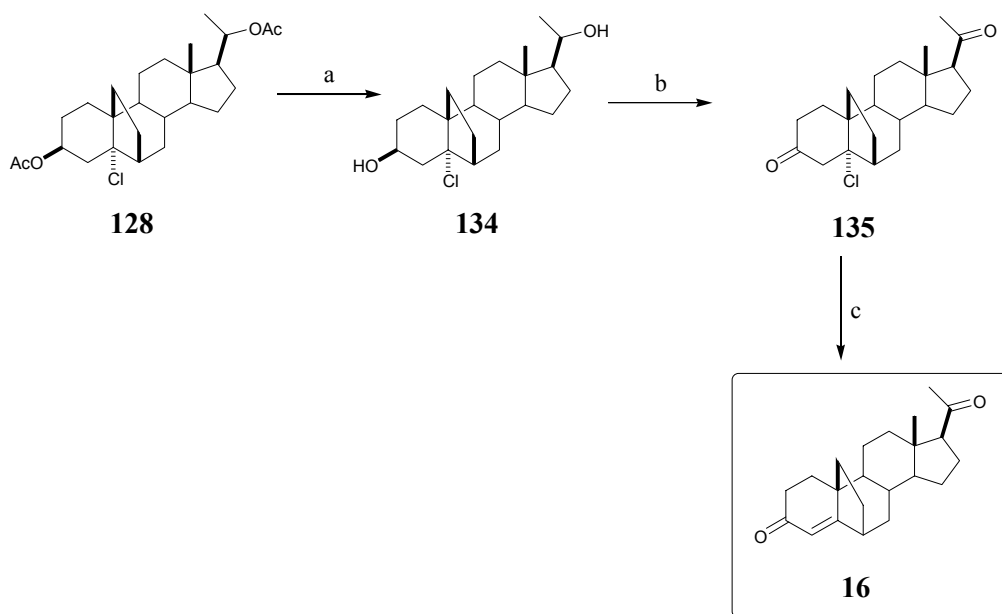
Tabla 3.9: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **128**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	25,9	1,44	1,56	13	48,0		
2	26,9	1,96	1,50	14	48,3	1,59	
3	72,8	5,16 tt, $J=11,2,$ 4,6; 1H		15	23,7	1,56	1,56
4	41,3	2,12 ddd, $J=13,4,$ 4,3, 2,2; 1H	1,86 dd, $J=13,$ 4, 11,2; 1H	16	25,5	1,19	1,72
5	82,3			17	55,0	1,62	
6	45,5	2,09		18	13,0	0,65	
7	32,4	1,28	1,86	19	24,3	1,54 (pro R) 1,71 (pro S)	
8	33,1		1,39	20	70,1	4,84 dq, $J=10,6,$ 6,0; 1H	
9	54,2	1,24		21	19,9	1,14	
10	43,1			19a	25,6	1,55 (pro S) 1,92 (pro R)	
11	22,1	1,38	1,11	CH₃CO₂	21,3 21,5	2,01 s; 3H 2,02 s; 3H	
12	39,2	1,27	1,80	CH₃CO₂	170,3 170,5		

3.B.3 Síntesis de 6,19-metanopregn-4-ene-3,20-diona (18)

Para obtener el producto final **16**, se desacetiló **128** por tratamiento con hidruro de aluminio y litio obteniéndose el diol **134**, el cual se oxidó con PCC en las condiciones habituales (**esquema 3.22**). La dicetona resultante (**135**) fue deshidrohalogenada por

agitación en presencia de alúmina básica para dar 6,19-metanopregn-4-eno-3,20-diona (**16**). Estas últimas reacciones transcurren con alto rendimiento (superior al 90%). El compuesto blanco **16** se obtuvo entonces en 13 etapas a partir del bromoéter **116** con un rendimiento global de 14%.



Reactivos: a) LiAlH_4 , Et_2O ; b) PCC, BaCO_3 , tamiz molecular, CH_2Cl_2 ; c) alúmina básica, CH_2Cl_2

Esquema 3.22

El espectro RMN ^1H de **134** mostró el desplazamiento de las señales de los protones de C-3 y C-20 a 4,15 y 3,69 ppm respectivamente (típicos de hidrógenos en posición *ipso* a alcoholes). El espectro de RMN ^{13}C muestra los carbonos correspondientes a esos protones a 70,1 y 66,2 ppm respectivamente. El espectro de RMN ^{13}C del compuesto **135** mostró las señales correspondientes a los grupos cetona de C-3 y C-20 (209,5 y 207,8 ppm respectivamente) coincidentemente con la desaparición de los protones correspondientes a los carbonos sustituidos con los grupos alcohol.

En el espectro RMN ^1H de **16**, se observó la señal a 5,76 ppm correspondiente al H-4 de la olefina conjugada y un singlete ancho a 2,80 ppm que fue asignado al protón

de C-6. La asignación completa de este compuesto se muestra en la **tabla 3.10**, su espectro RMN ^1H en la **figura 3.16** y su espectro COSY en la **figura 3.17**.

Tabla 3.10: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **16**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	70,8	1,72 dt, $J=14,1,$ 8,0; 1H	2,23 ddd, $J=14,1,$ 5,2, 3,0; 1H	12	38,6	1,46	2,06
2	33,9	2,29	2,24	13	44,8		
3	199,7			14	55,3	1,22	
4	115,7		5,76 s; 1H	15	24,1	1,62	1,23
5	181,1			16	23,0	1,66	2,16
6	42,9		2,80 sa; 1H	17	63,3	2,51 t, $J=9,1;$ 1H	
7	41,2	1,31	1,75	18	13,8	0,69 s; 3H	
8	33,9		1,57	19	32,6	1,34 (pro S) dt, $J=13,1, 4,0;$ 1H 2,00 (pro R) ddd, $J=13,1,$ 8,0, 5,3; 1H	
9	51,6	1,53		20	209,2		
10	45,3			21	31,4	2,12 s; 3H	
11	23,4	1,62	1,47	19a	27,3	1,63 (pro S) 1,90 (pro R)	

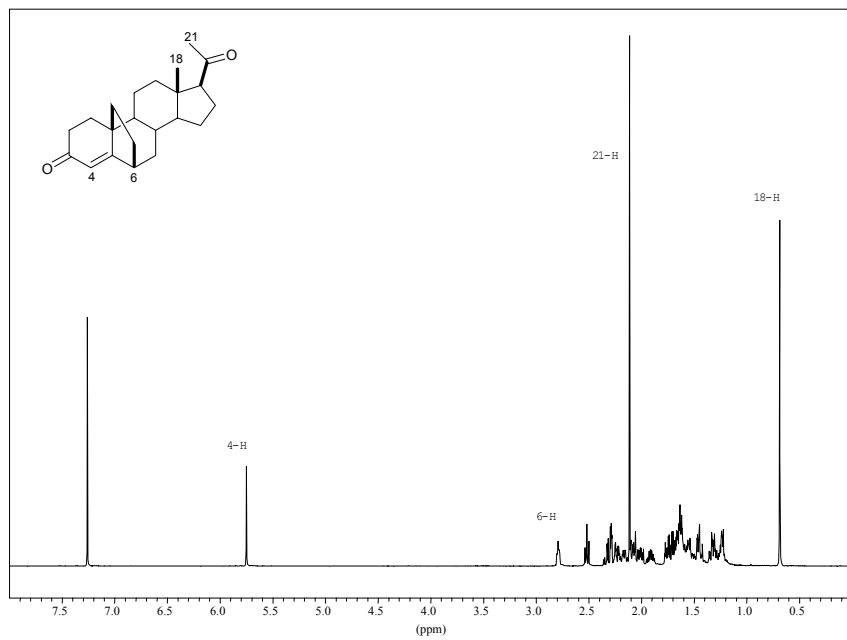


Figura 3.16: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **16**

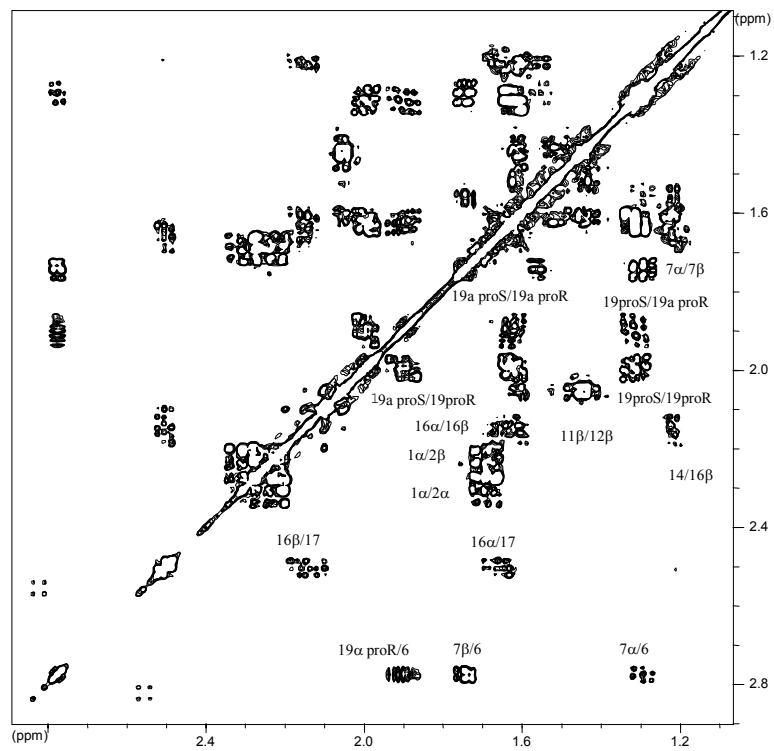


Figura 3.17: Espectro COSY-45 del compuesto 16

Capítulo 4

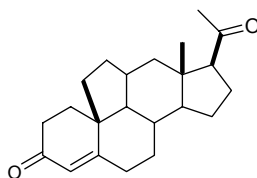
Estudios sobre la formación de ciclos 11,19-carbonados

Parte A

Aproximación iónica

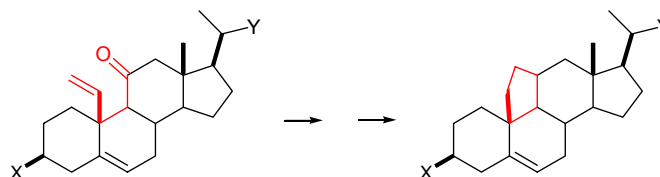
Como se mencionó en el **Capítulo 1** (página 12), Burton y *col* realizaron un estudio sistemático de la relación estructura / actividad de esteroides similares a los corticosteroides naturales. Así, sintetizaron una serie de compuestos que se caracterizaban por un aumento progresivo en la curvatura del anillo A. Los compuestos que resultaron con curvaturas extremas fueron 6,19-óxidoprogesterona (**8**, la más plegada) y 11,19-óxidoprogesterona (**7**, la más plana).

El estudio de compuestos análogos en los cuales no estén presentes las contribuciones electrostáticas debidas a la presencia de heteroátomos, llevó a sintetizar el análogo carbonado de 6,19-óxidoprogesterona (**18**, **Capítulo 3**), y a realizar una aproximación a la síntesis de 11,19-metanoprogesterona, análogo carbonado de 11,19-óxidoprogesterona. Los estudios realizados con este fin se describen en el presente capítulo.



11,19-metanoprogesterona

Considerando el éxito de la estrategia sintética que llevó a la síntesis de 6,19-metanoprogesterona, se buscó formar el puente 11,19 de una manera análoga. Para ello era necesario disponer de un grupo carbonilo y un doble enlace en esas posiciones. Aunque la síntesis de 19a-aldehídos se había optimizado para la síntesis del compuesto **120** (ver **Capítulo 3**, página 77), resultaba más sencillo desde el punto de vista de la estrategia sintética colocar el doble enlace en el apéndice de C-19, ya que por reacción de un 19-aldehído con Ph_3PCH_2 (el fosforano más sencillo) y en un solo paso se obtenía esa funcionalidad. Por otra parte, la simple oxidación del 11α -hidroxilo daba lugar al carbonilo requerido en C-11, evitando así excesivos pasos de protección/ desprotección. En cambio, la formación del doble enlace en esa posición (C-11-C-12), requería dos pasos de síntesis y más etapas de protección/ desprotección, a la vez que una selección muy rigurosa de las mismas. Se eligió entonces, para intentar la reacción de Prins, sintetizar un pregneno con un grupo vinilo unido a C-10 y un carbonilo de cetona sobre C-11.



Este sistema llevaría a una reacción de Prins de Tipo II (**Capítulo 3**, página 81). La formación de ciclos a partir de cetonas, incluso formando enlaces transanulares [Snider, 1991] se encuentra descrita en literatura (**figura 4.1**). Por otra parte, la formación de los ciclos fusionados (como sería el 11,19-metano) es más favorables energéticamente que la de los puenteados (6,19). A continuación se indican, tomados de literatura, algunos ejemplos de formación de ciclos de cinco miembros utilizando esta metodología para la formación de compuestos bi o policíclicos.

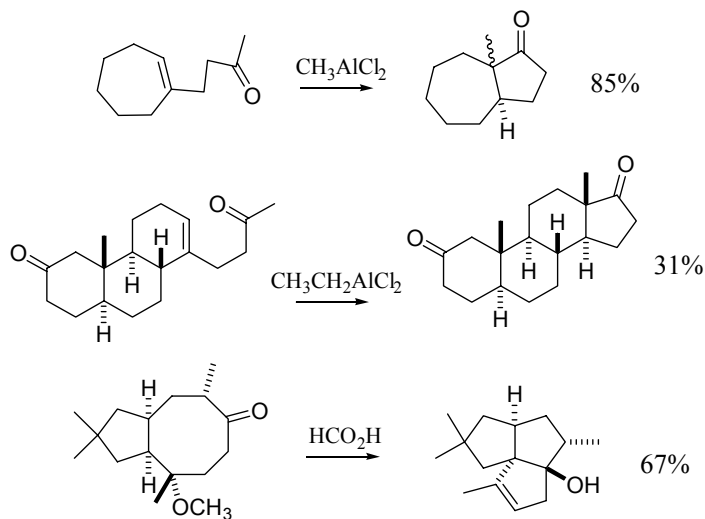
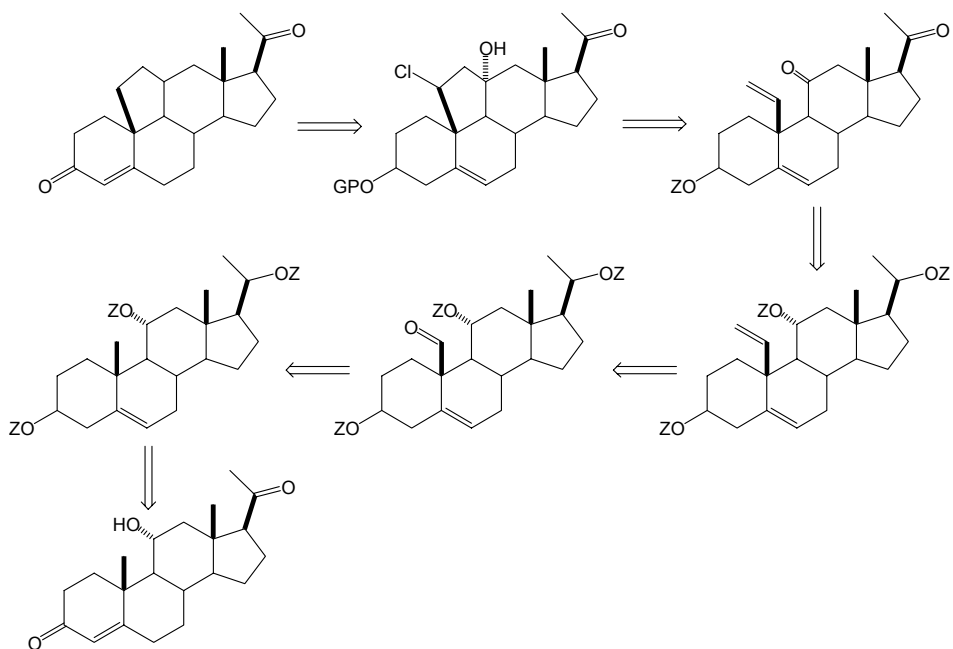


Figura 4.1

El esquema retrosintético de esta aproximación se presenta a continuación (**esquema 4.1**).

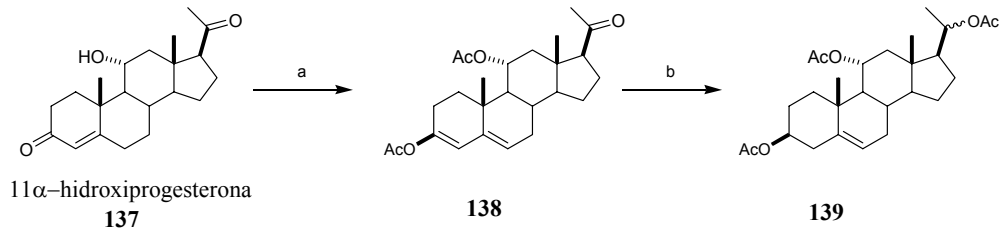


Esquema 4.1

4.A.1 Funcionalización de C-19

Síntesis del precursor 3 β ,11 α ,20 β -triacetiloxi -5-pregnen-19-al (136)

Para la funcionalización del metilo angular de C-19 se utilizó el método descrito por Suárez [de Armas *et al*, 1989] con las diferencias indicadas anteriormente (**Capítulo 3**, página 61). Dado que no se disponía de Δ^5 -pregnanos oxigenados en la posición 11, la síntesis debió comenzarse en este caso con un Δ^4 -3 cetopregnano. Se eligió para ello 11- α -hidroxiprogesterona, un esteroide comercial de bajo costo, el cual se transformó en el enol acetato **138** por tratamiento con una mezcla de anhídrido acético/ cloruro de acetilo a 60°C. La reducción simultánea del carbonilo en C-3 regenerado *in situ* y del carbonilo de C-20 con NaBH₄ en medio básico y la posterior acetilación con anhídrido acético y piridina permitió obtener el compuesto **139** con el doble enlace en la posición adecuada con un 65% de rendimiento (3 pasos). La secuencia sintética se presenta en el **esquema 4.2**.



Reactivos: a) Ac₂O/AcCl ; b) 1) NaBH₄, NaOH 10%/ MeOH, H₂O; 2) Ac₂O, Py, CH₂Cl₂

Esquema 4.2

El espectro de RMN ¹H de **139** (figura 4.2) muestra, como señales características, las correspondientes a los protones de C-3, 11 y 20 acetilados (4,58, 5,21, 4,79 ppm respectivamente), el protón olefínico de C-6 (5,45 ppm) y los tres singuletes correspondientes a los acetatos (2,00, 2,01 y 2,03 ppm). En el espectro de RMN ¹³C se ven, entre otras, las señales correspondientes a los tres carbonos acetilados alrededor de 21,5 ppm y las de los dos carbonos olefínicos a 122,5 y 139,7 ppm.

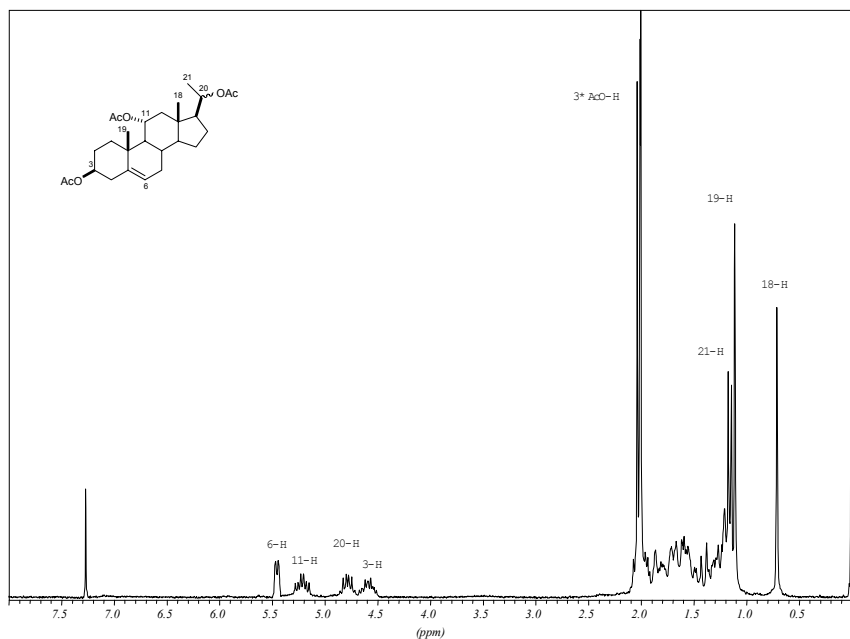
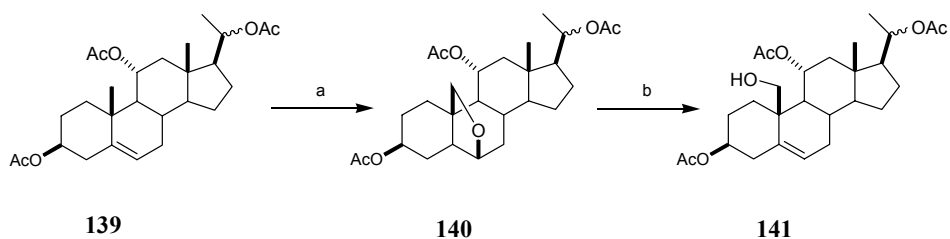


Figura 4.2: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **139**

La formación de bromohidrinas sobre **139** presentó las primeras dificultades en esta secuencia. Si bien esta reacción se había optimizado para la síntesis de 6,19-metanoprogesterona y se utiliza de rutina en nuestro laboratorio también para 11-ceto y 11 β -hidroxipregnanos, en el caso de **139** los rendimientos no fueron buenos. La presencia de un grupo voluminoso en la posición 11 α (en este caso acetato) aumenta el impedimento estérico sobre esa cara equiparándolo con el que producen los grupos presentes sobre la cara β , haciendo que el ataque inicial del ion bromonio por ambas caras del esteroide esté igualmente favorecido. En todas las condiciones ensayadas se obtuvo una mezcla de bromohidrinas 1:1. Se continuó igualmente con esta ruta, ya que la otra bromohidrina (5 α -OH, 6 β -Br) daba lugar, en el siguiente paso de reacción, a la formación de un intermediario (5 α ,6 α -epóxido) útil para otros caminos sintéticos que se desarrollaban en el laboratorio; este producto además revertía en parte al producto de partida.

La mezcla de bromohidrinas se disolvió en diclorometano y trató con DIB/I₂ irradiando con una lámpara de tungsteno de 300W. Se obtuvo así una mezcla de compuestos cuyo espectro de RMN ¹H indicaba la presencia del bromoéter **140** (dos dobletes acoplados entre sí ($J= 9,1$ Hz) a 3,76 y 4,00 ppm, zona donde habitualmente aparecen los protones del C-19 del bromoéter). La separación cromatográfica de esta mezcla resultó infructuosa ya que el bromoéter tenía un comportamiento idéntico al de uno de los productos secundarios de la reacción.

Se realizó entonces la apertura del bromoéter con la mezcla cruda proveniente de la reacción de ciclación, considerando que sería posible la purificación posterior del alcohol obtenido. Se trató la mezcla con cinc y ácido acético en isopropanol y efectivamente el producto crudo se pudo purificar por cromatografía flash obteniéndose el 19-alcohol **141** con un 37% de rendimiento a partir de **139** (tres pasos de reacción, **esquema 4.3**).



Reactivos: a) 1) NBA, HClO₄/ Et₂O, THF; 2) DIB, I₂/CH₂Cl₂; b) Zn, AcOH / i-PrOH

Esquema 4.3

El espectro RMN ¹H de **141** (figura 4.4) presenta, como señales características, los dos dobletes acoplados a 3,56 y 3,99 ppm (J= 11,7 Hz) de los protones de C-19 y el protón olefínico de C-6 a 5,79 ppm. En el espectro de RMN ¹³C aparece la señal a 62,5 ppm que se asignó al C-19.

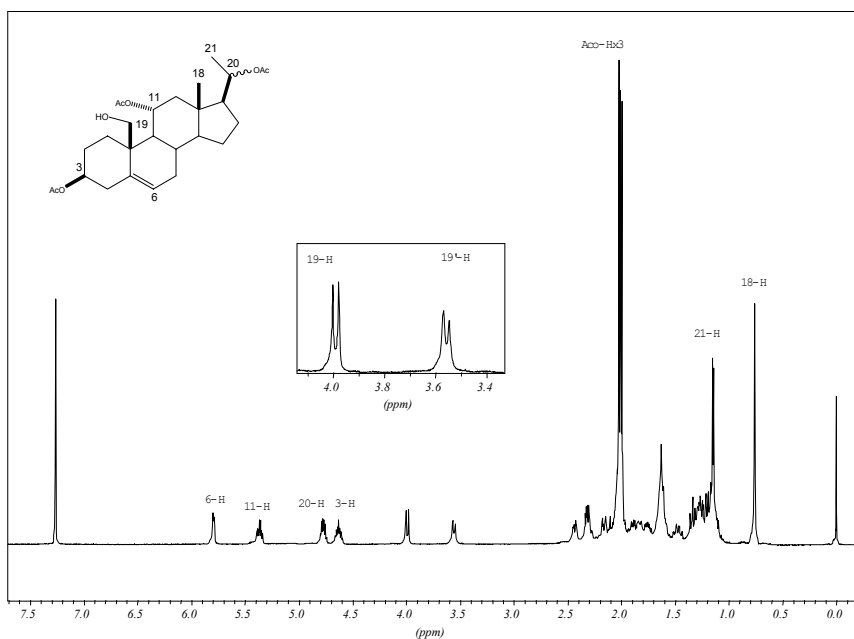
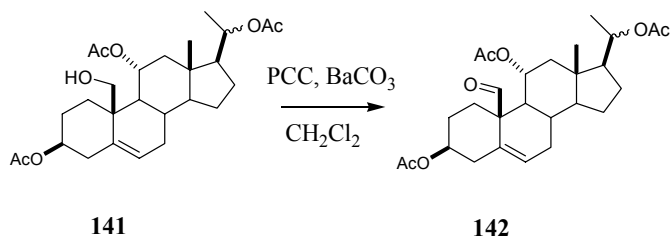


Figura 4.4: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **141**

La oxidación del alcohol **141** al correspondiente aldehído se realizó sin inconvenientes con PCC en presencia de BaCO₃, obteniéndose **142** con 90% de rendimiento (**esquema 4.4**).



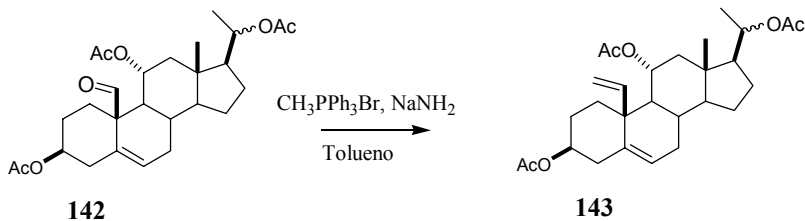
Esquema 4.4

142 presenta en su espectro de RMN ¹H, entre otras, la señal a 9,71 ppm y en el espectro de RMN ¹³C la señal a 204,0 ppm, ambas características del grupo aldehído. La presencia de las otras tres funciones oxigenadas de la molécula (3, 11 y 20) adecuadamente protegidas permitió realizar sobre **142** la reacción de homologación.

4.A.2 Homologación de C-19. Reacción de Wittig

Síntesis del precursor 3β,11α,20β-triacetiloxi-19-(metilidén)-5-pregнено (143)

Para la homologación de C-19 mediante la reacción de Wittig, se utilizó metiléntrifenilfosforano preparado en condiciones libres de sales como se muestra en el esquema 3.6.



Esquema 4.5

Siguiendo la metodología descrita en la página 67, el iluro se formó por reacción de bromuro de metiltrifenilfosfonio y amiduro de sodio en tolueno. En este

caso, con sólo un equivalente de iluro, se obtuvo el compuesto **143** como único producto con un 83% de rendimiento. Esta reacción se ensayó también con el iluro formado con bromuro de metiltrifenilfosfonio y *n*-butil litio, pero en estas condiciones se observó desprotección parcial en C-3 y el rendimiento fue notablemente inferior. Otra vez, los resultados experimentales obtenidos en esta tesis no coinciden con los datos informados por Kočovský *et al* (ver **Capítulo 3** y Kočovský *et al*, 1983-b), quien informa que la formación del iluro con *n*-butil litio es ventajosa frente a las condiciones libres de sales.

El espectro de RMN ^1H de **143** (**figura 4.6**) muestra el patrón de señales característico de los grupos vinilo, cuyos acoplamientos se indican en la **figura 4.5**: un doble doblete a 4,99 ppm (H-19a, $J_{trans}= 17,5$ Hz y $J_{gem}= 1,6$ Hz), otro doble doblete a 5,36 ppm (H'-19a, $J_{cis}= 10,6$ Hz y $J_{gem}= 1,6$ Hz) y un tercer doble doblete a 5,64 ppm (H-19, $J_{trans}= 17,5$ Hz y $J_{cis}= 10,6$ Hz).

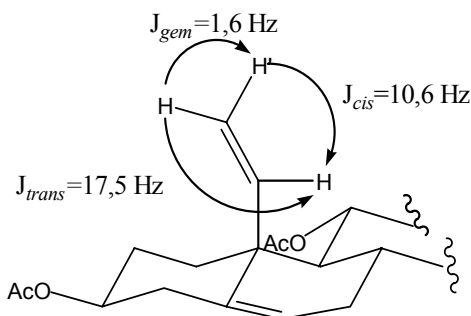


Figura 4.5: Acoplamientos entre los protones del grupo vinilo del compuesto **143**

El espectro de RMN ^{13}C de **143** presentó cuatro señales en la zona de dobles enlaces asignadas a los carbonos 19 (141,2 ppm), 19a (119,1 ppm), 5 (136,4 ppm) y 6 (125,1 ppm).

La asignación completa de las señales de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C de **143** realizada con ayuda de los espectros DEPT, COSY y HETCOR se presenta en la **tabla 4.1**.

Tabla 4.1: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **143**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	36,7	1,37 dq, $J=13,9$, 3,4; 1H	2,18 dt, $J=13,9$, 3,3; 1H	13	42,5		
2	28,5	1,80	1,46	14	54,2	1,14	
3	73,6	4,58 tt, $J=11,2$, 4,8 1H		15	24,2	1,12	1,66
4	38,8	2,30 dd, $J=5,0$, 2,5; 1H	2,25 dd, $J=12,0$, 5,1; 1H	16	25,6	1,77	1,26
5	136,4			17	54,5	1,61	
6	125,1		5,66 dd, $J=4,0$, 1,7 1H	18	12,8	0,58	
7	31,8	1,66	2,02	19	141,1	5,64 dd, $J=17,4$, 10,4; 1H	
8	30,9		1,48	20	72,7	4,73	
9	53,0	1,42		21	19,7	2,09	
10	46,0			19a	119,1	5,36 dd, $J=10,6$, 1,7; 1H 4,99 dd $J=17,5$, 1,6; 1H	
11	72,1	5,04 dt, $J=10,0$, 5,2; 1H		CH₃CO₂	21,3 21,3 21,9	1,98 s; 3H 1,99 s; 3H 2,02 s; 3H	
12	45,1	1,15	2,27 dd, $J=7,4$, 2,4 1H	CH₃CO₂	169,9 170,4 170,6		

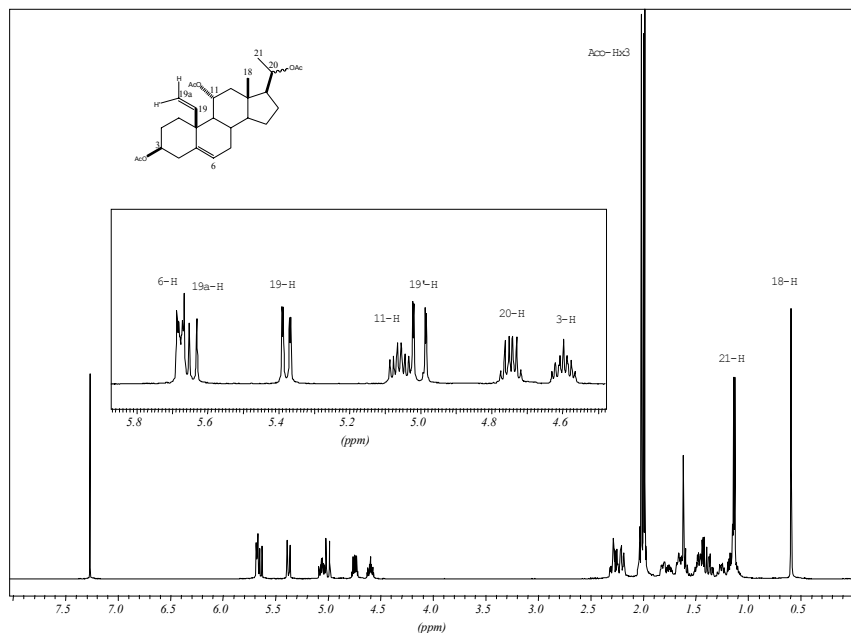


Figura 4.6: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **143**

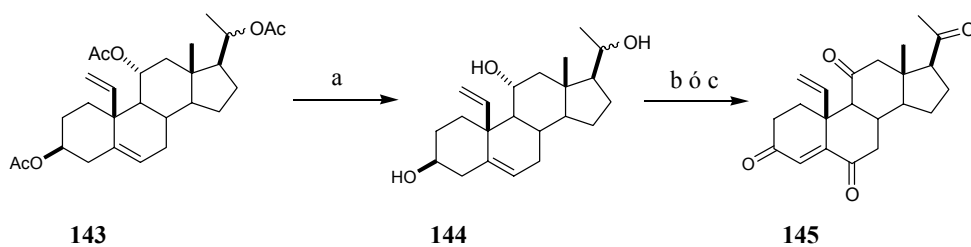
4.A.3 Reacción de Prins

Como se indicó anteriormente, para realizar la ciclación se necesitaba un precursor con un carbonilo en C-11. Por otro lado, las posiciones 3 y 20 del producto final que se deseaba sintetizar tenían grupos cetona. Por eso, en una primera aproximación, se intentó sintetizar una 3,11,20-tricetona y ensayar sobre ella la reacción de Prins, ahorrando de este modo varias etapas de desprotección y protección selectiva. Es importante aclarar que reacciones de este tipo se encuentran descritas en la literatura (en moléculas con más de un carbonilo presente y aun conjugados) y con muy buen rendimiento [Snider, 1991].

Se procedió a desacetilar **143** obteniéndose **144** con excelente rendimiento (97%) (esquema 4.6).

Al intentar oxidar **144** con el reactivo de Jones, se observó que, aun cortando la reacción antes de que desapareciera completamente el material de partida, **144** se oxidaba también en la posición 6 para dar el compuesto **145**. Esto indicaba que el doble enlace 5-6 se isomerizaba espontáneamente a la posición 4-5 para conjugarse

con el grupo carbonilo de C-3 permitiendo la oxidación alílica sobre C-6. Se ensayó entonces la oxidación en condiciones más suaves utilizando PCC con BaCO₃, pero se obtuvo el mismo resultado. Cabe señalar que esta reacción se realiza habitualmente sin dificultades en el laboratorio, ya que constituye la etapa final de la síntesis de otros análogos de hormonas (formación del sistema Δ⁴-3-ceto en el anillo A). Este resultado indicó nuevamente la dificultad de extrapolar resultados a distintos esteroides aunque éstos sean estructuralmente muy similares. Después de purificar por cromatografía flash se obtuvo **145** con un rendimiento del 54% a partir de **143**.



Reactivos: a) NaOH 10%/ MeOH; b) CrO₃, H₂SO₄/ acetona, H₂O; c) PCC, BaCO₃, MS/ CH₂Cl₂

Esquema 4.6

El espectro de RMN ¹H de **145** mostró, entre otras señales, las correspondientes al grupo vinilo: tres dobles dobletes a 4,89 ppm (*J*= 1,6 y 17,9 Hz), 5,34 ppm (*J*= 1,6 y 10,6 Hz) y 6,35 ppm (*J*= 10,6 y 17,9 Hz) ppm respectivamente, y el singulete correspondiente al protón de C-4 en el sistema conjugado a 6,47 ppm. Su espectro de RMN ¹³C muestra cuatro señales a campos bajos que se asignaron a los cuatro grupos ceto de la molécula: 207,2 ppm a C-20, 206,8 ppm a C-11, 199,6 y 199,0 ppm a C-3 y C-6; se observan además cuatro señales en la zona de dobles enlaces que fueron asignadas como sigue: 154,0 ppm a C-5, 136,6 ppm a C-19, 129,6 ppm a C-4 y 120,9 ppm a C-19a.

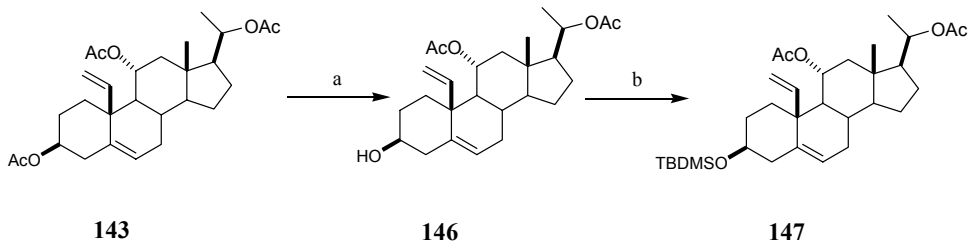
No obstante la presencia del carbonilo en C-6, se intentó la reacción de Prins sobre **145**. Según un modelo de **145** (AM1), la menor distancia que se obtiene entre C-19a y C-11 es 2,9 Å, mientras que en el compuesto **x13** (utilizado con éxito en la síntesis de 6,19-metanoprogesterona), la menor distancia obtenida en los cálculos entre los carbonos que forman el puente (C-19a y C-6) es mayor (3,6 Å). Como se

indicó anteriormente, la formación de ciclos fusionados es energéticamente más favorable que la de ciclos puenteados, y existen antecedentes en literatura de este tipo de reacción en sustratos polifuncionales. Sin embargo, al tratar el compuesto con TiCl_4 a diferentes temperaturas (-40°C , 0°C , 30°C) no se produjo reacción, recuperándose en todos los casos el material de partida.

Probablemente, la falta de reactividad de **145** se debió a que el carbonilo de C-3 está mucho más expuesto que el de C-11 y por lo tanto el TiCl_4 se coordina en esta posición. En consecuencia, se consideró más adecuado utilizar un precursor que no tuviera carbonilo en la posición 3. Se intentó entonces proteger regioselectivamente el alcohol de C-3 en el triol **144**, ya que este compuesto se podía obtener con buen rendimiento. De ser viable, la simple oxidación posterior de las posiciones 11 y 20 daría directamente el precursor deseado para la reacción de Prins. Sin embargo, la acetilación usando anhídrido acético y piridina en distintas condiciones (concentraciones de los reactivos en diclorometano, temperaturas, etc.), no mostró regioselectividad. Al intentar proteger el hidroxilo de C-3 con un terbutildimetilsilil éter, si bien se pudo sililar sólo el hidroxilo de C-3, los rendimientos fueron bajos[§].

Se volvió entonces al acetato **143** cuyo alcohol de C-3 se desprotegió selectivamente con K_2CO_3 10% en MeOH/THF dando **146** (**esquema 4.7**) con excelente rendimiento. El espectro RMN ^1H del compuesto **146** es similar al de **143** con la diferencia de que la señal del protón de C-3 aparece a 3,52 ppm y se observan sólo dos señales de acetato a 2,00 y 2,03 ppm. El hidroxilo de C-3 de **146** se protegió posteriormente con un grupo terbutildimetilsililo para obtener el compuesto **147** con un rendimiento de 88% (dos etapas).

[§] Como se verá más adelante (ver **Apéndice A**), la protección regioselectiva de las posiciones 3, 11 y 20 (y especialmente de estas dos últimas) es extremadamente difícil.



Reactivos: a) K_2CO_3 10%/ THF, MeOH; b) TBDMSCl, Im/ CH_2Cl_2 , DMF

Esquema 4.7

El espectro de RMN 1H de **147** (figura 4.6) indicó la presencia del grupo terbutildimetilsililo por las señales características de sus grupos metilo a 0,036 ppm y terbutilo a 0,87 ppm. Se observan también las señales ya descritas del grupo vinilo sobre el C-10 y las correspondientes a los protones de C-11 (5,05 ppm) y C-20 (4,74 ppm), posiciones que se encuentran acetiladas en este compuesto. El espectro de RMN ^{13}C de **147** muestra también las señales del grupo terbutildimetilsililo: los metilos del terbutilo a 25,8 ppm, el carbono cuaternario del terbutilo a 18,2 ppm y los metilos unidos al silicio a -4,6 ppm.

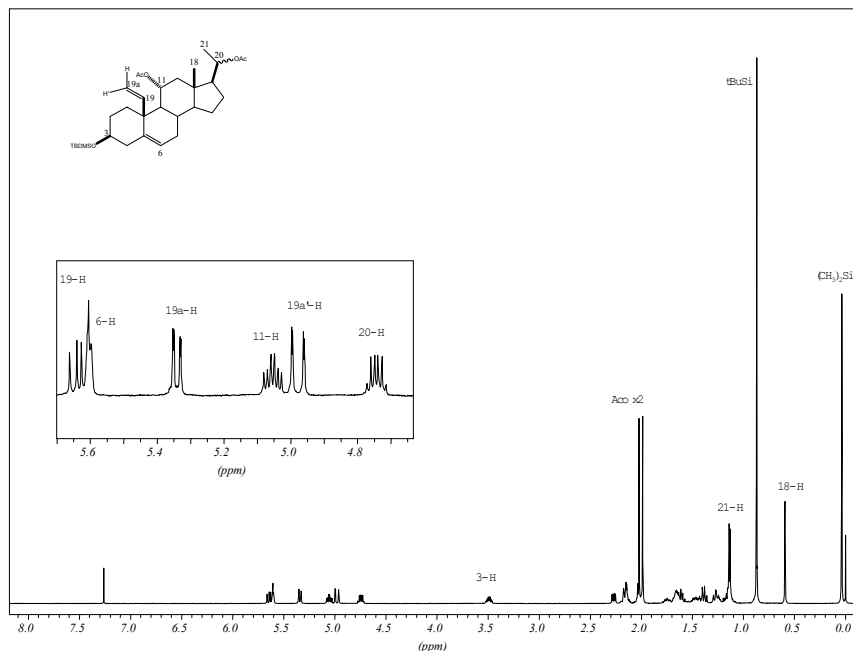
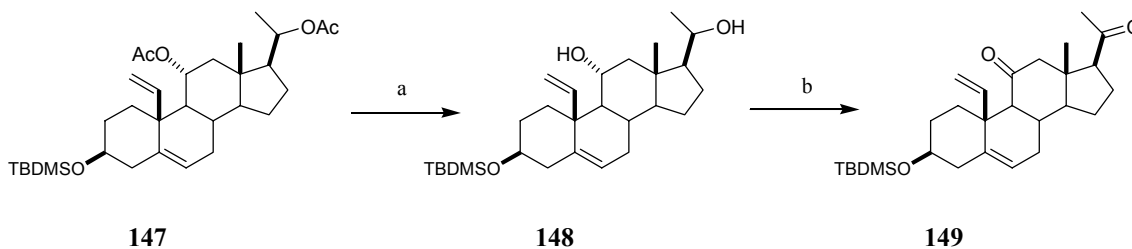


Figura 4.6: Espectro RMN 1H (500 MHz) del compuesto **147**

La desacetilación y posterior oxidación de las posiciones 11 y 20 de **147** permitieron obtener el dicetoderivado **149** (62% de rendimiento en dos etapas) sobre el cual resultaba posible ensayar la reacción de ciclación (**esquema 4.8**).

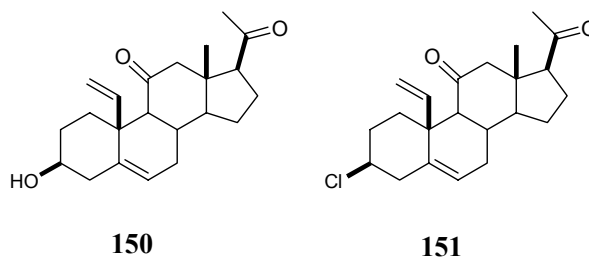


Reactivos: a) NaOH 10%/ MeOH; b) PCC, BaCO₃, MS/ CH₂Cl₂

Esquema 4.8

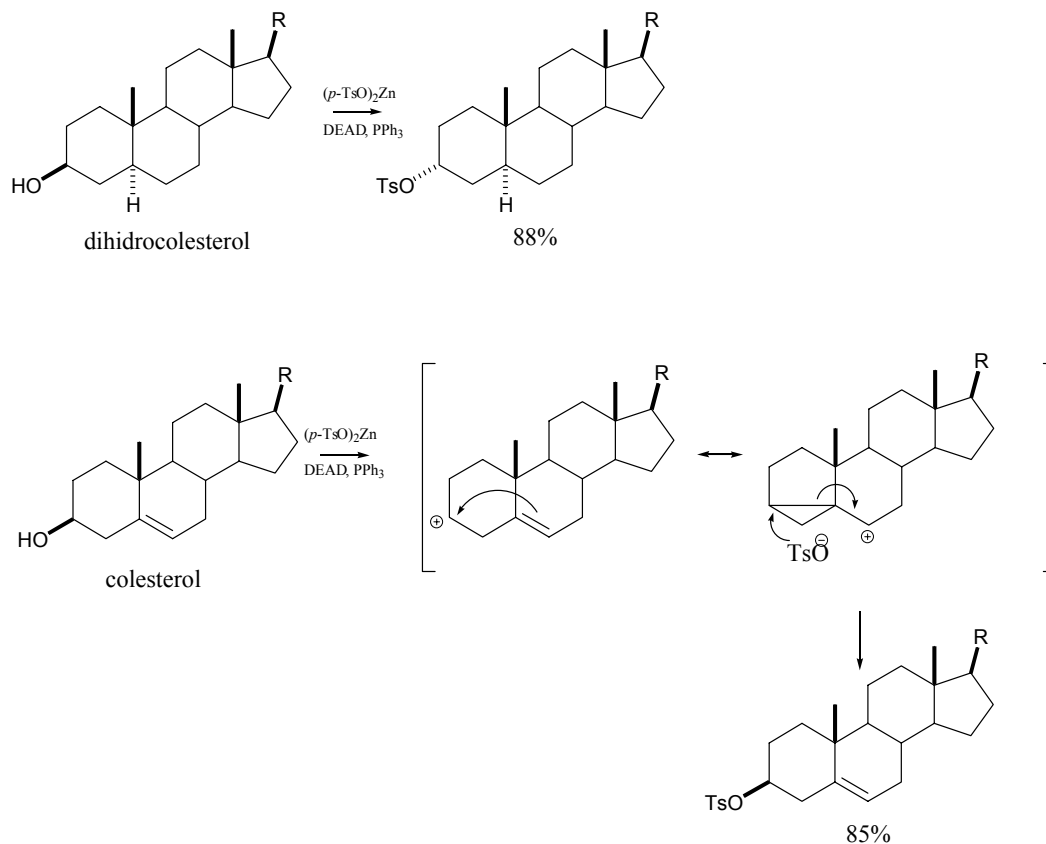
El espectro RMN ¹H de **149** mostró un singulete a 2,10 ppm correspondiente al metilo de C-21 y la ausencia de señales de los protones de C-11 y C-20 presentes en el precursor. El espectro de RMN ¹³C mostró dos señales a 207,9 ppm y 208,9 ppm que fueron asignadas a grupos cetona en las posiciones 11 y 20 respectivamente.

El primer intento de ciclación de **149** se realizó sobre una pequeña porción de este compuesto utilizando las mejores condiciones encontradas para la síntesis del 6,19-análogo (**Capítulo 3**, página 86). Sin embargo, después de separar el producto crudo de reacción por CCD preparativa, sólo se pudieron aislar los compuestos **150** (análogo 3-hidroxilado de **149**) y **151**, en el cual se produjo la sustitución del grupo TBDMSO de la posición 3 por un cloro.



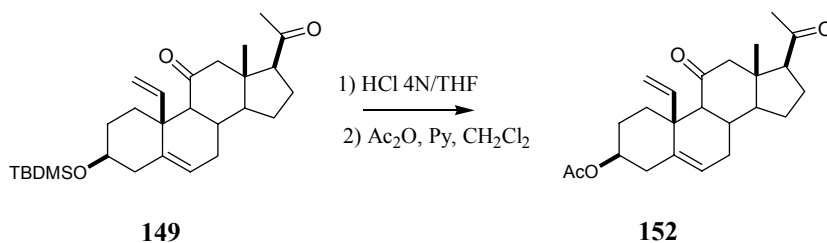
En el espectro de RMN ^1H de **151**, la señal de H-3 aparece a 3,79 ppm. En su espectro de RMN ^{13}C se observa la señal de C-3 a 59,9 ppm, consistente con la presencia de un cloro en esa posición. En el espectro de masa de **151** se puede observar un m/z de 360 correspondiente al M^+ , otro a 362 correspondiente a $(\text{M}+2)^+$ con una relación entre sí de 3:1 y otro a 324 correspondiente a la pérdida de HCl ($\text{M}^+ - \text{HCl}$), todos ellos consistentes con la presencia de un átomo de cloro en la molécula.

Antecedentes bibliográficos para este tipo de sustitución se encuentran descritos en relación a la sustitución de hidroxilos en la posición 3β de Δ^5 -esteroides con retención de configuración [Pearson *et al*, 1999]. La tosilación del hidroxilo de la posición 3 de dihidrocolesterol (**esquema 4.9**) con bis(*p*-toluensulfonato) de zinc (condiciones de Mitsunobu) se lleva a cabo con 88% de inversión de la configuración; sin embargo, la misma reacción con colesterol da 85% del 3β -tosilato (retención). Este resultado se ha explicado postulando la existencia de una especie intermediaria ciclopropilmetil-homoalílica la cual sería atacada por el ion tosilato desde la cara β de la molécula. De hecho, condiciones de reacción más drásticas para la reacción de Mitsunobu en colesterol con ácido benzoico llevan a una mezcla de cuatro productos (adiciones sobre las caras α y β en los carbonos 3 y 6) lo que confirmaría la ocurrencia de este tipo de reordenamientos.



Esquema 4.9

Considerando que la ciclación que llevó al puente 6,19-metano se había realizado con éxito teniendo el grupo hidroxilo de C-3 protegido como acetato (ver **Capítulo 3**, página 86), se decidió utilizarlo también en este caso. Para ello se desprotegió el grupo hidroxilo de **149** por tratamiento con ácido clorhídrico en THF y luego con anhídrido acético y piridina, se obtuvo el compuesto **152** (71% de rendimiento en los dos pasos, **esquema 4.10**).



Esquema 4.10

En el espectro RMN ^1H de **152** (figura 4.7) se puede observar la señal del protón de C-3 de a 4,62 ppm y el singulete del acetato a 2,00 ppm.

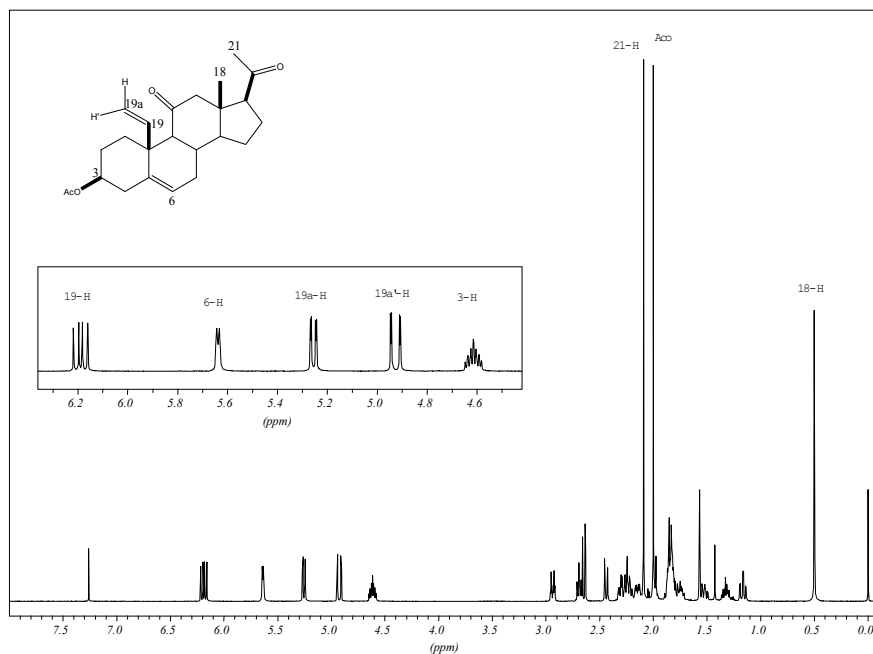
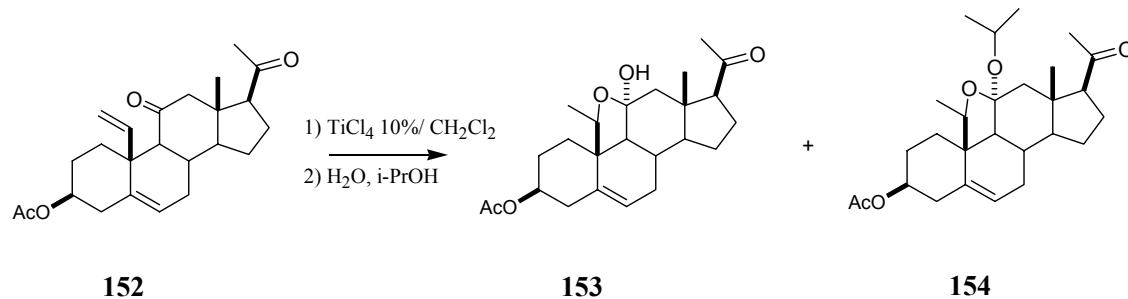


Figura 4.7: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **152**

Se intentó la ciclación sobre **152** con TiCl_4 10% en CH_2Cl_2 a -15°C y se cortó la reacción de la manera habitual (agregado a la solución de una mezcla de isopropanol: agua). Al separar el producto crudo de la reacción por cromatografía flash se aislaron los compuestos **154** y **153**; el análisis de sus espectros de RMN (ver más adelante) indicó que no se habían obtenido los ciclos carbonados y llevó a asignarles las estructuras que se presentan en el **esquema 4.11**. En otro ensayo, y con el fin de obtener un solo producto, se cortó la reacción volcando la mezcla sobre agua, obteniéndose así sólo el hemiacetal **153** con 80% de rendimiento.



Esquema 4.11

Se ensayaron otras condiciones (temperatura, concentración, catalizador, etc) pero en estos casos o bien se recuperaba el material de partida inalterado, o bien ocurría desprotección (compuesto **150**, página 123) y/o reemplazo del sustituyente en C-3 por cloro (con SnCl_4 , compuesto **151**, página 123). No se obtuvo en ningún caso el ciclo carbonado.

Asignación de las estructuras de **153** y **154**

Para asignar la estructura de **153** se utilizaron los espectros de RMN ^1H , COSY-45, RMN ^{13}C y DEPT. A partir del espectro de RMN ^1H (**figura 4.7**), se asignaron las señales características de Δ^5 -20-cetopregnanos: dos singuletes correspondientes a los metilos en C-18 y C-21 (0,70 y 2,09 ppm respectivamente) y un doblete a 5,67 ppm ($J= 6,1$ Hz) correspondiente a H-6. Se observan también las señales que indican una posición 3α -acetilada (triple triplete a 4,65 ppm (H-3, $J= 5,2$ y 11,2 Hz)) y el singulete a 2,03 ppm correspondiente al metilo del acetato. A 4,24 ppm se puede ver un cuarteto ($J= 6,6$ Hz) acoplado al doblete a 1,54 ppm, dos dobletes que correlacionan entre sí a 1,91 y 2,38 ppm, y un singulete a 2,23 ppm. Estas señales fueron asignadas a los H-19, H-19a, H-12 α y H-12 β respectivamente (ver más abajo).

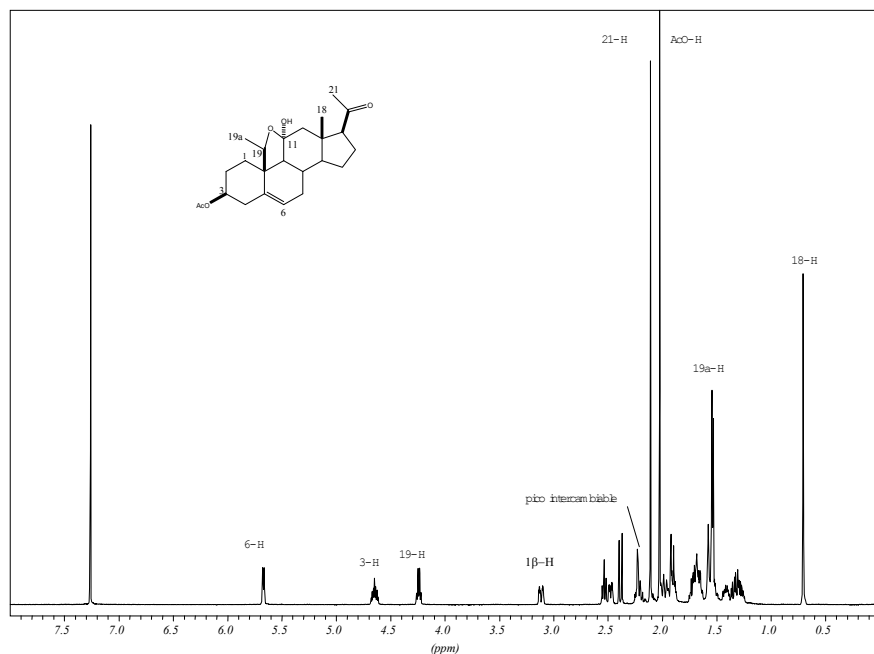


Figura 4.7: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **153**

A partir de la señal de H-3, y siguiendo las correlaciones del COSY-45, se asignaron los protones del anillo A del esteroide (ver la asignación completa en la **tabla 4.3**). Luego, partiendo de H-6 se asignaron secuencialmente los protones 7α , 7β , 8 y 9; a partir de H-8 se asignaron 14, 15α , 15β , 16α , 16β y 17.

La correlación observada de H-9 (con H-8) confirmó la ausencia de protones en posición 11. Se asignaron del mismo modo las señales a 1,91 y 2,38 ppm (que sólo correlacionan entre sí) a los protones 12α y 12β respectivamente; estos dos últimos protones presentaban un corrimiento de alrededor de 0,4 ppm a campos más altos respecto a las señales correspondientes en el 11-ceto-precursor **152**. En el espectro de RMN ^{13}C se observaba un pico a 105,5 ppm asignado al carbono hemicetálico, confirmando la presencia de un hemicetal en C-11. Por otro lado, el singulete que se observa en el espectro de RMN ^1H a 2,23 ppm no presentaba ninguna correlación en el COSY-45 y se intercambiaba con agua deuterada, por lo que se asignó al hidroxilo hemicetálico.

Las señales a 1,54 y 4,24 ppm del espectro de RMN ¹H, que correlacionaban entre sí, indicaban la presencia de un metilo unido a un metino el cual, a su vez, debía estar unido a un átomo electronegativo ya que aparecía a campos bajos (4,24 ppm). Así, se postuló la formación de un ciclo oxigenado 11,19 sustituido en C-19 con un metilo, confirmando la estructura propuesta.

Tabla 4.3: Desplazamientos químicos de RMN ¹H (500 MHz) y RMN ¹³C (125 MHz) del compuesto **153**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	33,1	1,35 dd, $J=14,7,$ 4,9; 1H	3,12 ddd, $J=14,7,$ 4,6, 2,6; 1H	13	44,6		
2	40,0	1,90	1,70	14	64,3	1,41 dt, $J=11,7,$ 7,0; 1H	
3	74,0	4,65 tt, $J=11,2,$ 5,2; 1H		15	23,4	1,28	1,66
4	29,11	2,47 ddd, $J=12,1,$ 4,6, 2,3; 1H	2,00	16	22,9	2,27	1,71
5	137,8			17	61,2	2,69	
6	125,1		5,67 d, $J=6,1;$ 1H	18	13,9	0,70 s; 3H	
7	29,0	1,67	1,93	19	82,8	4,24 q, $J=6,6;$ 1H	
8	31,1		1,52	20	208,7		
9	52,4	1,53		21	21,1	2,09	
10	48,0			19a	32,7	1,54 d, $J=6,6;$ 1H	
11	105,5			CH₂CO₂	21,4	2,03 s; 3H	
12	49,9	1,91 d, $J=13,4;$ 1H	2,38 d, $J=13,4;$ 1H	CH₃CO₂	170,3		

Es interesante destacar que este compuesto existe en solución exclusivamente en su forma hemicetálica mientras que el análogo sin el metilo-19a (intermediario en la síntesis de 11,19-óxidoprogesterona), está en solución como una mezcla de la forma cerrada (hemicetálica) y la abierta (hidroxicetona) en proporción 7:3 (por RMN ^1H). Esto indicaría un efecto importante de ese grupo metilo sobre la forma y probablemente la reactividad de la molécula.

El espectro de RMN ^1H del compuesto **154** (figura 4.8), resultó muy similar al de **153** excepto por las dos señales del grupo isopropilo que acoplan entre sí ($J= 6,0$ Hz): un multiplete a 4,03 ppm (CH) y un doblete a 1,21 ppm (dos CH_3). También se nota la ausencia de la señal intercambiable presente a 2,23 ppm en el espectro de **153**.

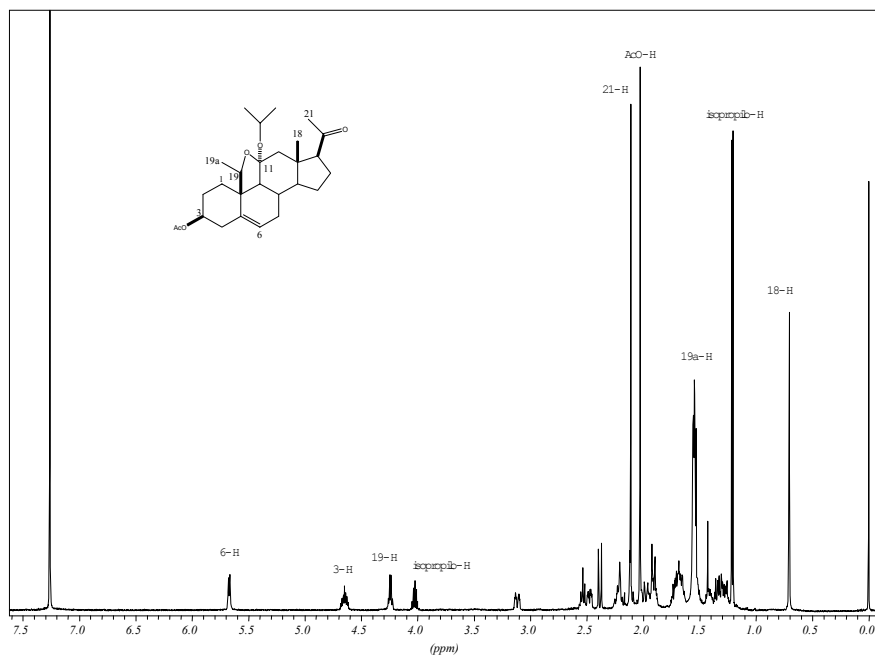


Figura 4.8: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **154**

No se estudió el mecanismo por el cual procede esta reacción. Se pudo comprobar, no obstante, que la presencia del titanio es importante, ya que el compuesto **152** se recuperó inalterado al tratarlo en medio ácido (HCl (c), MeOH, CH_2Cl_2 , t. a. 18 hs). Por otra parte, y a diferencia de lo observado en el caso del

punte 6,19, en este caso se favorecería la ciclación 5-*exo* trig (favorable según las reglas de Baldwin) frente a la 5-*endo* trig (reacción de Prins).

Parte B

Aproximación radicalaria

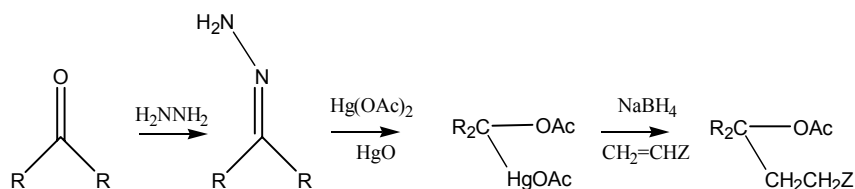
Ciclaciones radicalarias. Generalidades.

El método más general para la formación de nuevos enlaces carbono-carbono a través de intermediarios radicalarios es la adición de un radical a un alqueno. En el caso particular de que el carbono que formará el radical y el doble enlace estén sobre la misma molécula, el nuevo enlace carbono-carbono producirá un ciclo carbonado. La reacción resulta eficiente si se cumplen ciertas condiciones.

Desde un punto de vista sintético, la regio y estereoselectividad de la ciclación son de gran importancia. Entre los factores que gobiernan el curso de la reacción está el tamaño del ciclo que se forma, estando particularmente favorecidos los anillos de cinco miembros frente a los de seis y siete. Por otro lado, es importante la presencia de sustituyentes: la posición menos impedida estéricamente es la atacada preferencialmente tanto porque está más accesible como porque el nuevo radical formado (más sustituido) será más estable. En el caso de estructuras relativamente rígidas, los factores de proximidad determinados por la geometría específica del sistema de anillos tiene mucha importancia.

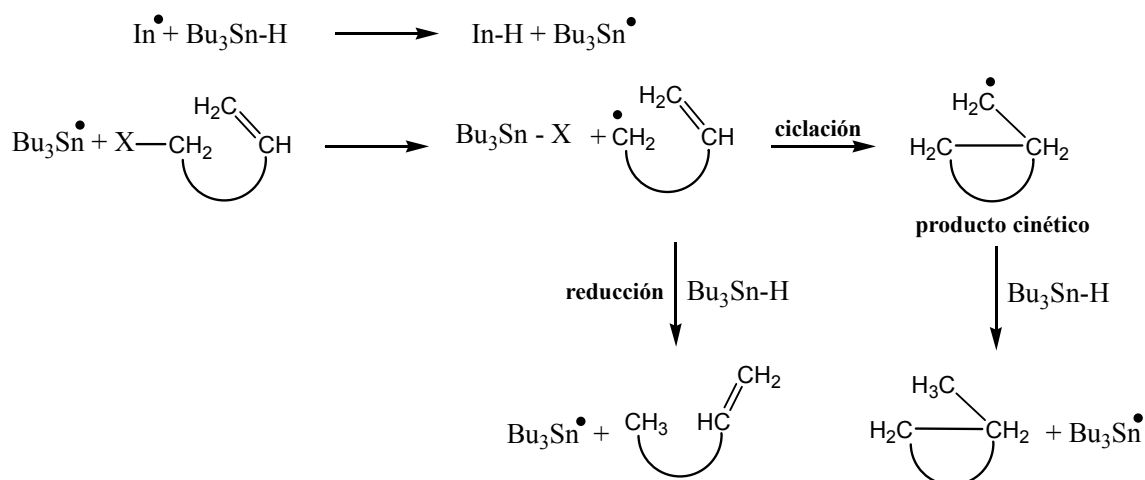
Mecanismo de reacción

En general, los radicales se generan por substracción de un halógeno, xantato o tioéster relacionado por reacción con un generador de radicales (como hidruro tributilestaño) y utilizando azoisobutironitrilo (AIBN) como iniciador de la cadena radicalaria (este procedimiento está relacionado a la desoxigenación radicalaria de Barton (**Capítulo 3**, página 96)). Otra fuente de radicales, propuesta por Giese [Giese 1985] son los compuestos organomercúricos los cuales pueden ser preparados a partir de hidrazonas por tratamiento con óxido de mercurio y acetato de mercurio (ver **esquema 4.12**). Aquí los radicales se generan por reducción del intermediario organomercúrico, formado con NaBH_4 o un reductor similar.



Esquema 4.12

Una vez formado el radical precursor (esquema 4.13), éste puede reaccionar de forma intramolecular produciendo la ciclación o de forma intermolecular sustrayendo un hidrógeno del Bu₃SnH para obtener un compuesto reducido. En el caso de reaccionar para formar el ciclo, el compuesto que se forma será el más favorecido cinéticamente. Las ciclaciones radicalarias más estudiadas son las que ocurren a partir de un radical 6-hexenilo. En esos casos, el estado de transición de tipo silla favorece la formación del ciclo de cinco miembros, a pesar de formar un radical en el carbono primario (control cinético).

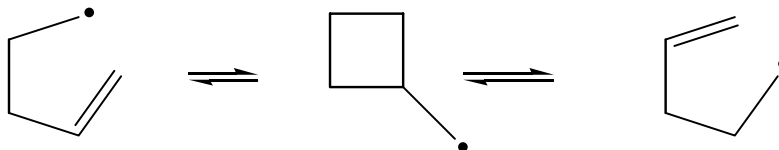


Esquema 4.13: Mecanismo de reacción de las ciclaciones radicalarias

Sin embargo, cuando la molécula es rígida (por ejemplo en esteroides) se forma con mayor facilidad el producto que surja del acercamiento adecuado, es decir, aquel en que el estado de transición resulte menos tensionado. Así, como se vio en el **Capítulo 2**, página 40, Schöllkopf y *col* [Schwed *et al*, 1998] sintetizaron esteroides con puentes alcano 11,19 utilizando la ciclación radicalaria que ocurre con completa regioselectividad 6-*endo* trig en lugar de la esperada 5-*exo* trig, favorecida de acuerdo a las reglas de Baldwin.

Para este trabajo de tesis, se planificó la formación de un precursor en el cual un radical sobre la posición 11 reaccionaría con un vinilo en C-10 dando un ciclo de cinco miembros. En el caso de un radical 5-pentenilo sin restricciones geométricas, la teoría

prevé la formación favorecida del ciclobutano y el radical primario, el cual normalmente revierte o reordena en las condiciones de reacción para regenerar el sistema abierto.



No obstante, es poco probable que esta ciclación ocurra en el sistema esteroideal planteado, debido a la distancia excesiva que existe entre el radical formado en C-11 y el C-19 (el C-11 está en el anillo C a una distancia de 3Å), mientras que la distancia entre C-11 y C-19a resultaría adecuada (2,68Å). De todos modos, en el caso de formarse el radical metilciclobutilo éste, reordenaría hacia el radical terciario ubicado sobre C-10, dando a compuestos potencialmente útiles (19-nor-11b-sustituídos).

Por otra parte, la teoría y los cálculos indican que el carbono radicalico formado adopta una configuración sp^2 (habitual en radicales carbonados), de modo que el electrón libre podría ubicarse sin inconvenientes sobre la cara β del esteroide (condición necesaria para que la reacción pueda ocurrir). Por otra parte, la ciclación sobre C-19a formaría un ciclo de cinco miembros y un radical secundario.

Hay que tener en cuenta que para que la ciclación radicalaria se produzca (reacción intramolecular), su velocidad debe ser mayor que la de la reducción (reacción competitiva intermolecular). Para lograr esta selectividad, es necesario mantener baja la concentración de radicales en el medio. Las técnicas para lograrlo incluyen: baja concentración del reactivo generador de radicales, por ejemplo generándolo *in situ* por reacción de haluro de tributilestaño con cantidades estequiométricas de NaBH_4 ; agregar en forma continua a la reacción una mezcla del iniciador y del reactivo generador de radicales; utilizar un generador de radicales que produzca una cadena radicalaria corta (como el difenilsilano) o agregar el iniciador en forma lenta y continua. Alternativamente, se puede utilizar un transportador de radicales que no lleve hidrógeno (no reductor) como el $(\text{SnBu}_3)_2$.

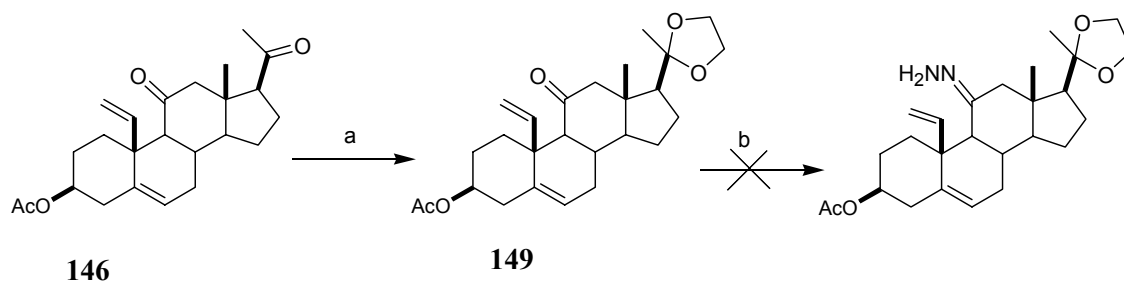
Radicales a partir de hidrazonas

En nuestro laboratorio se ha utilizado con éxito la reacción descrita por Giese para realizar reordenamientos radicalarios en ciclopropil cetonas esteroideas [Di Chenna *et al*, 2002-b]. Por tanto, en una primera aproximación a la ciclación radicalaria se ensayó esta

metodología. Además, el compuesto **146** ya utilizado presentaba las funcionalidades adecuadas para ensayar esta reacción ya que sólo era necesario proteger en forma selectiva el carbonilo de C-20. Esto se logró sin inconvenientes por medio de un acetal cíclico dada la regioselectividad conocida de esta reacción (compuesto **149**, **esquema 4.13**).

El espectro de RMN ^1H de **149** mostró como señales características el corrimiento del pico correspondiente al metilo de C-21 desde 2,09 (en la dicetona **146**) hasta 1,24 (en **155**). Se observa además la señal compleja de los metilenos del acetal alrededor de 3,70 ppm.

Se ensayó entonces la formación de la hidrazona sobre **149**, utilizando las mejores condiciones desarrolladas en este laboratorio para la formación de hidrazonas esteroidales en 11-cetopregnanos [Ferrara, 1996] ya que esta posición es particularmente poco reactiva por el impedimento estérico que produce C-19 (en este caso aumentado por la presencia de C-19a) y por tratarse además de un carbonilo muy fácilmente enolizable. No obstante en esas condiciones sólo se produjo la descomposición del material de partida (numerosas manchas en CCD y ausencia de señales de doble enlace en el espectro de RMN ^1H del crudo de reacción, **esquema 4.14**). Por estas razones se descartó esta secuencia.



Reactivos: a)etilénglicol, *p*-tsOH/ ortoformiato de etilo; b) $\text{NH}_3\text{NH}_2\text{OH}$ 80%, BaO/etilénglicol

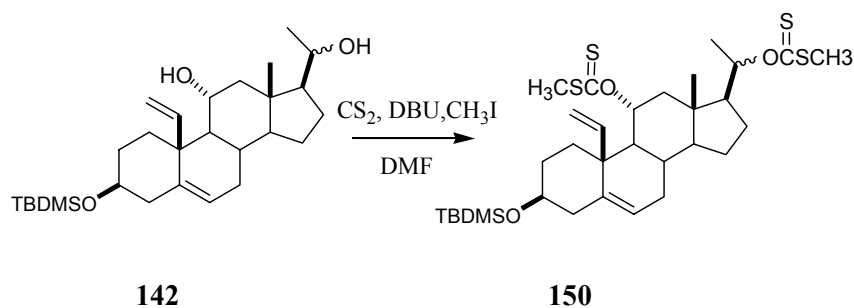
Esquema 4.134

Radicales a partir de xantatos y tioésteres relacionados

Como segunda aproximación, se intentó formar el radical libre a partir de un xantato. Puesto que se disponía del compuesto **1428**, se ensayó, en una primera aproximación, la formación del dixantato **150** (**esquema 4.15**).

La reacción transcurrió sin inconvenientes con un rendimiento del 89%. En el espectro RMN ^1H de **150** se observan, entre otras, las dos señales a 2,52 y 2,55 ppm correspondientes a los metilos de los xantatos.

Sin embargo, al hacer reaccionar **150** con difenilsilano en tolueno a reflujo usando AIBN como iniciador de radicales, el compuesto se descompuso (se observaron muchas manchas en CCD).

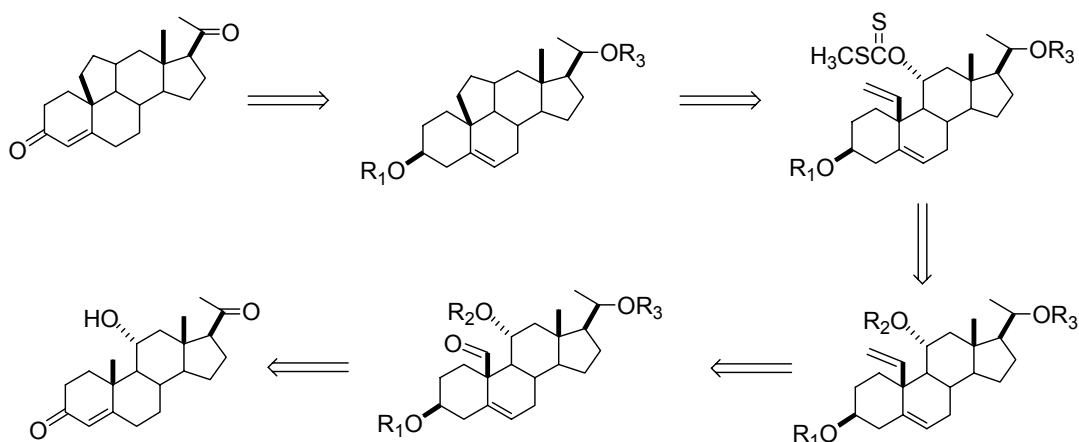


Esquema 4.15

La reacción simultánea de dos centros radicalícos en una molécula está ampliamente documentada en literatura, por ejemplo, en la formación de alquenos a partir de dioles [Motherwell *et al*, 1992] Probablemente, la formación de un radical carbonado en C-20 en estas condiciones daría lugar a reacciones secundarias indeseables (reordenamientos, dimerizaciones, etc). Por lo tanto, consideramos la utilización de un precursor que tuviera la posibilidad de formar sólo un radical en la posición 11 y para ello resultaba necesario distinguir las posiciones oxigenadas de C-11 y C-20.

Para el diseño de esta nueva estrategia se utilizó la experiencia de las reacciones realizadas en las síntesis anteriores, en particular de las etapas claves: funcionalización de la posición 19 y reacción de homologación de Wittig.

En el **esquema 4.16** se muestra el esquema retrosintético seguido partiendo, como en la aproximación iónica, del esteroide comercial 11α -hidroxiprogesterona (**131**).

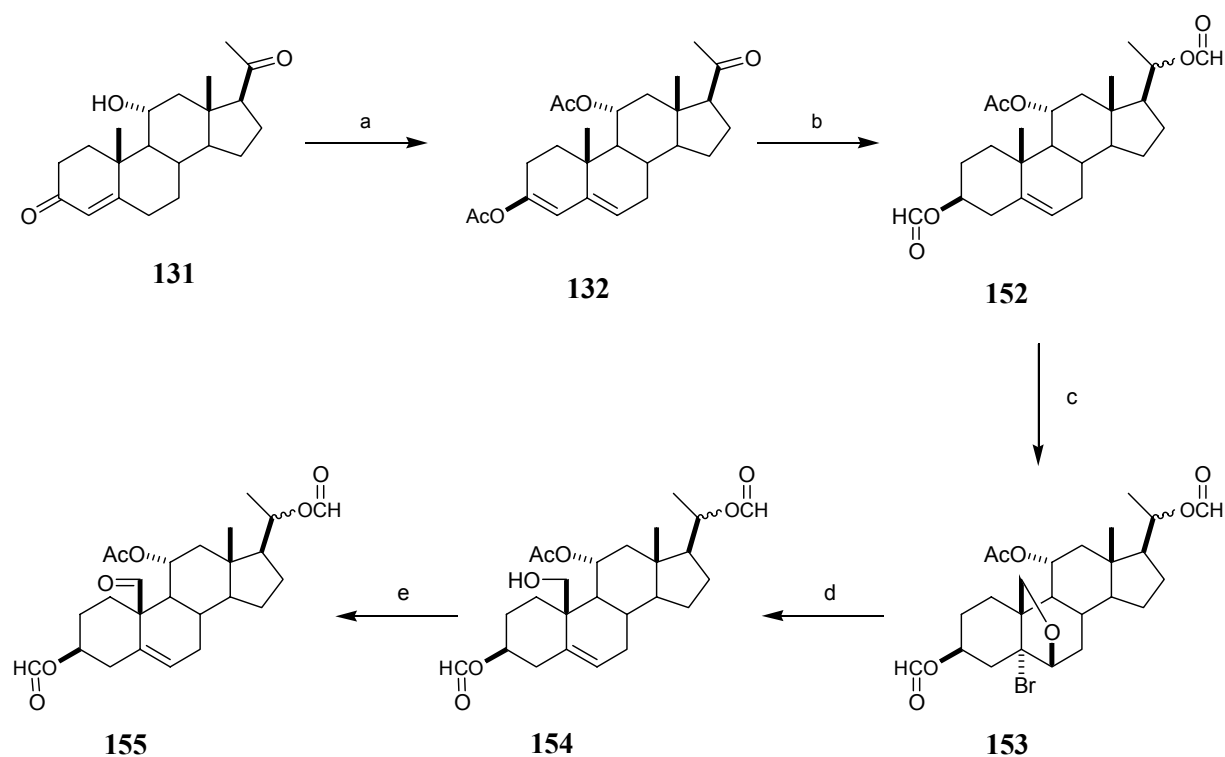


Esquema 4.16: Retrosíntesis propuesta para la formación radicalaria de 11,19-metanoprogesterona

El precursor más avanzado de la secuencia anterior que se podía utilizar fue el compuesto triacetilado **137** sobre el cual ya se había realizado la reacción de homologación. Sin embargo, en esta nueva aproximación se necesitaba diferenciar la posición 11 para formar sólo allí el radical. Como ya se mencionó, la posición 3 es mucho más accesible y por lo tanto más reactiva que 11 y 20, y puede ser hidrolizada regioselectivamente (por ejemplo con K_2CO_3 10% en una mezcla de THF/MeOH). En cambio los hidroxilos 11 α y 20 presentan una reactividad química similar. Para estudiar la regioselectividad entre estas dos posiciones, se sintetizaron compuestos modelo sobre los cuales se ensayaron distintas estrategias de desprotección/ protección las cuales se detallan en el **Apéndice A**. No se logró regioespecificidad ni aun regioselectividad entre las posiciones 11 α y 20 con ninguno de los métodos ensayados. En cambio se pudo demostrar que la diferencia de reactividad entre los grupos protectores formiato y acetato se mantiene claramente. Por tanto, un compuesto que tuviera acetato en la posición 11 y formiato en la 20 (o viceversa) podía utilizarse para el propósito buscado. Con esta premisa, se siguió la secuencia sintética que se describe a continuación, partiendo de 11 α -hidroxiprogesterona.

Síntesis del precursor 11 β -acetiloxi-20 β -hidroxi-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-19-al (151)

Mediante una secuencia sintética similar a las utilizadas anteriormente, se sintetizó el aldehído precursor **155** partiendo de 11 α -hidroxiprogesterona (**esquema 4.17**). El éxito de esta secuencia sintética dependía de la estabilidad de los formiatos, fundamentalmente el de C-20,* en las condiciones ácidas que implicaba la formación de la bromohidrina y fundamentalmente la apertura del éter 6,19. En las condiciones previamente optimizadas de esta reacción se observó que el formiato de C-20 no se hidrolizaba y que el de C-3 sólo lo hacía parcialmente.



Reactivos: a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcCl}$; b) 1) NaBH_4 , NaOH 10%/ MeOH , H_2O ; 2) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{HCO}_2\text{H}$; c) 1) NBA , HClO_4/THF , éter; 2) DIB , $\text{I}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, $h\nu$; d) Zn , $\text{AcOH}/i\text{-PrOH}$; e) PCC , BaCO_3 , $\text{MS}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Esquema 4.17

* Cuando el grupo hidroxilo de C-20 está libre, el tratamiento con medio ácido da lugar a reacciones de reordenamiento con inclusión del C-20 en el anillo D.

Por tratamiento de 11 α -hidroxiprogesterona con una mezcla de cloruro de acetilo/anhídrido acético a reflujo se obtuvo el enolacetato **132** (esquema 4.17). La reducción simultánea del carbonilo en C-3 regenerado *in situ* y del carbonilo de C-20 con NaBH₄ en medio básico y la posterior formilación con anhídrido mixto fórmico-acético llevó al compuesto **1529** con un 65% de rendimiento (dos pasos).

152 se trató con NBA y HClO₄ para formar una mezcla de bromohidrinás la cual fue tratada con DIB en CH₂Cl₂ e irradiada con una lámpara de 300W. Se obtuvo el compuesto **153** el cual se hizo reaccionar sin purificar con Zn y AcOH en isopropanol. Después de purificar la mezcla de reacción por cromatografía flash se obtuvo el alcohol **154** con un 31% de rendimiento (tres pasos) y un 10% de su análogo 3-hidroxilado. En el espectro de RMN ¹H del alcohol **154** se observan dos dobletes acoplados entre sí (*J*= 11,0 Hz) a 4,00 y 3,55 ppm correspondientes a los protones de C-19.

El alcohol **154** se oxidó con PCC en las condiciones habituales para dar el aldehído **155** con un 92% de rendimiento. El espectro RMN ¹H del aldehído **155** mostró la aparición de un singulete a 9,72 ppm correspondiente al grupo aldehído y la desaparición de las señales que indicaban la presencia del grupo CH₂OH en **154**. El espectro de RMN ¹³C mostró las señales a 203,8, 160,5 y 169,6 ppm asignadas a los grupos carbonilo de aldehído (C-19), formiato y acetato respectivamente.

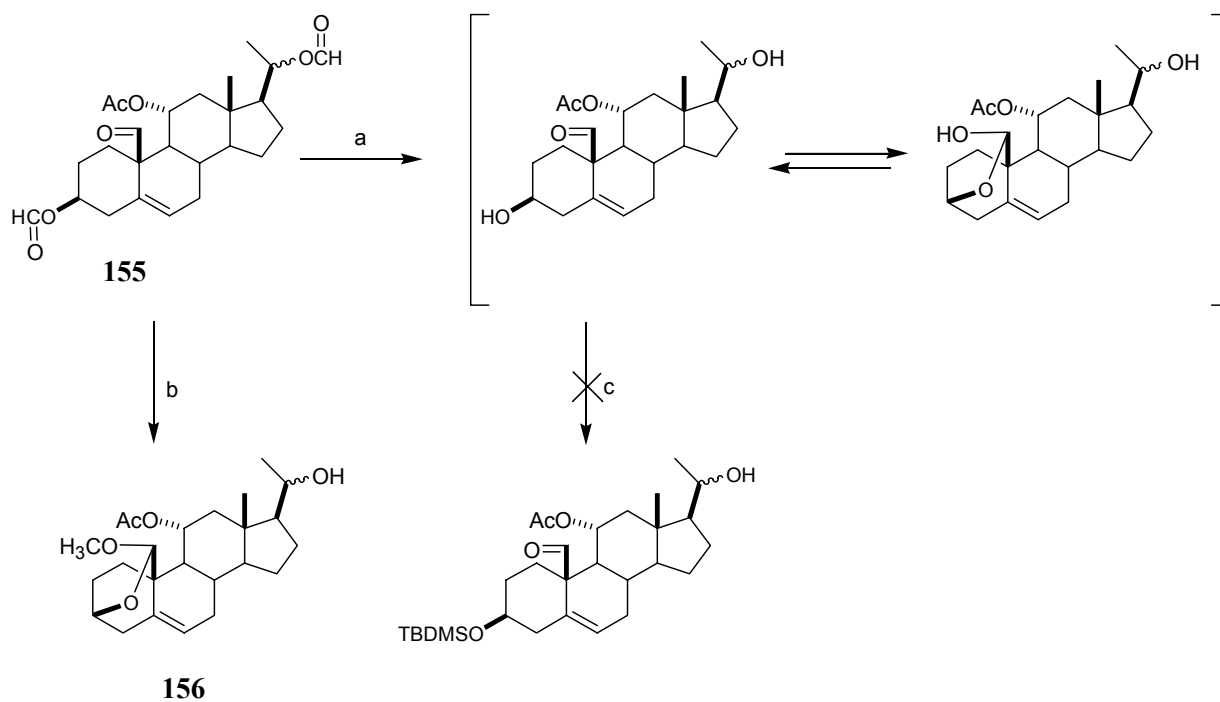
Antes de realizar la reacción de Wittig fue necesario remover los grupos formiato presentes en **155** pues son reactivos frente a los iluros. Para ello se utilizaron las mejores condiciones obtenidas con los compuestos modelo (ver **Apéndice A**). Sin embargo, con el compuesto **155** la reacción resultó más compleja. En particular, las señales del espectro de RMN ¹H del crudo de reacción con KHCO₃/MeOH indicaban claramente la ausencia de formiatos pero también la formación de dos compuestos de los cuales uno correspondía al diol buscado mientras que el otro (que no pudo identificarse en ese momento) no presentaba la señal característica del grupo aldehído (~10 ppm). Estos compuestos no se podían separar por cromatografía. Ante estos resultados inesperados, se ensayaron otras condiciones de deformilación (ver **tabla 4.4** y **Apéndice A**).

En los ensayos realizados en medio básico se observó el mismo patrón de reactividad que se indica más arriba y los intentos de separar las mezclas obtenidas fueron infructuosos. En cambio, cuando se utilizó ácido clorhídrico en una mezcla de MeOH,

diclorometano y agua, se obtuvo un solo producto el cual fue identificado a través de su espectro de RMN ^1H como el metilacetal **156** (ver **esquema 4.18** y **figura 4.9**).

Tabla 4.4: Condiciones ensayadas para la deformilación de **155**

Reactivos	Temp	tiempo	Productos
$\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$	t.a.	30 min	mezclas
$\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}, \text{H}_2\text{O}$	t.a.	15 min	mezclas
PTSA/EtOH	t.a.	18 hs	mezclas
$\text{KHCO}_3/\text{MeOH}, \text{H}_2\text{O}$	t.a.	18 hs	mezclas
$\text{HCl}/\text{MeOH}, \text{CH}_2\text{Cl}_2, \text{H}_2\text{O}$	0°C	3 hs	165



Reactivos: a) primeras cuatro entradas de la **tabla 4.4**; b) $\text{HCl}/\text{MeOH}, \text{CH}_2\text{Cl}_2, \text{H}_2\text{O}$;
c) $\text{TBDMSCl}, \text{Im}/\text{DMF}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$

Esquema 4.18

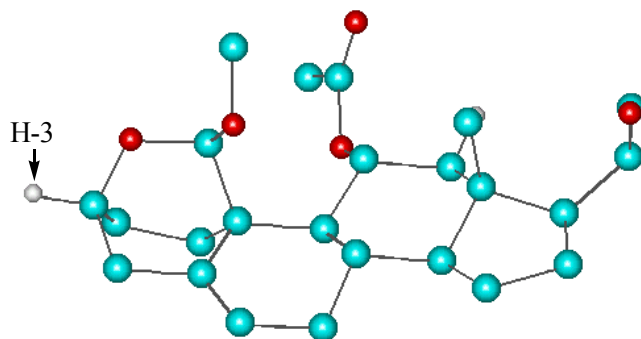


Figura 4.9: Modelo (AM1) del metilcetal **156**

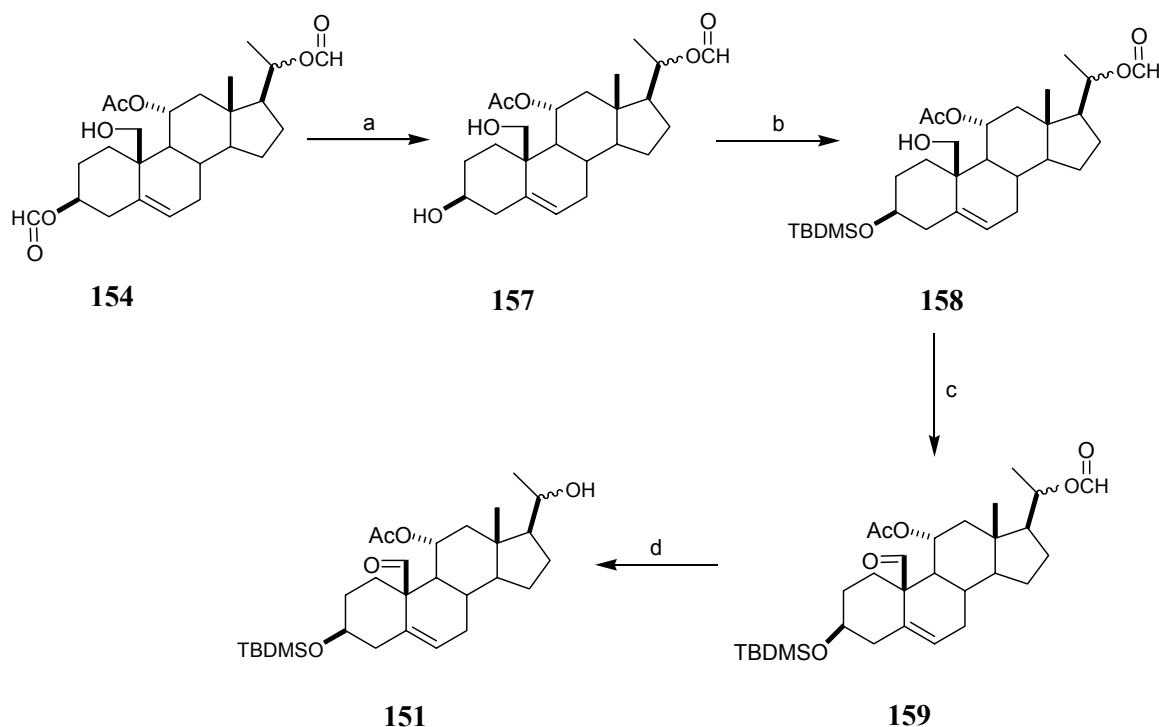
Las señales diagnósticas en el espectro de RMN ^1H de **156** fueron: un singlete que integra para un protón a 4,57 ppm correspondiente al protón de C-19, otro singlete a 3,48 ppm que integraba para tres protones correspondiente al metoxilo sobre C-19 y un singlete a 4,05 ppm que se asignó al protón de C-3. El $W^{1/2}$ de esta señal (7,5 Hz, típico de protones ecuatoriales) concuerda con la posición correspondiente a la conformación bote torcido que adopta necesariamente en este caso el anillo A.

La formación del metilcetal **156** permitió inferir que las señales observadas en los espectros de RMN ^1H de los productos crudos de reacción de los ensayos de deformilación realizados en medio básico correspondían al producto deformilado buscado que se encontraba como una mezcla en equilibrio del hemicetal y el hidroxialdehído (**tabla 4.4**, **esquema 4.18**).

Para la formación de estos acetales y hemicetales era necesaria la interconversión silla/bote del anillo A del esteroide deformilado, aun a las bajas temperaturas en que se realiza la reacción. La barrera de interconversión, calculada por el método AM1 es de 3,86 kcal/mol.

Se intentó entonces la protección de la mezcla obtenida con TBDMSCl considerando que el equilibrio se desplazaría hacia la forma abierta hasta lograr la protección total del compuesto (**esquema 4.18**), pero esta reacción transcurrió con muy bajo rendimiento.

Se decidió entonces cambiar el grupo protector de C-3 en la etapa previa a la oxidación del alcohol de C-19 (**esquema 4.19**). Para ello se desprotegió regioselectivamente la posición 3 de **154** con KHCO_3 en MeOH obteniéndose el diol **157**. Este último compuesto se protegió como terbutildimetilsilil derivado (**158**) (la formación del 19-OTBDMS derivado requiere condiciones más enérgicas y mayor tiempo de reacción).



Reactivos: a) $\text{KHCO}_3/\text{MeOH}$; b) TBDMSCl , Im/DMF; c) PCC , BaCO_3 , MS/ CH_2Cl_2 ; d) $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$, CH_2Cl_2

Esquema 4.19

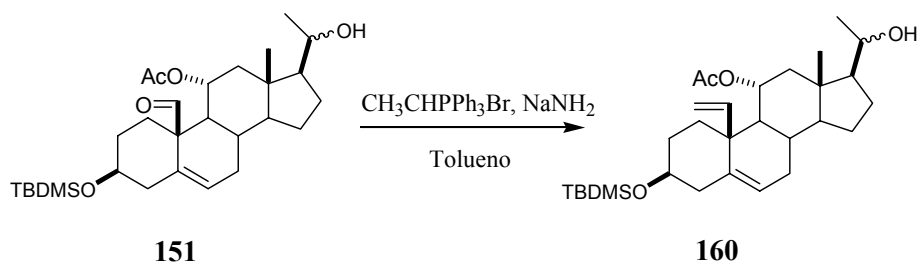
El espectro de RMN ^1H de **157** mostró el corrimiento a campos altos de la señal de H-3 (3,52 ppm) respecto de la de **154** (4,72 ppm) y la disminución de la intensidad del pico del formiato. El espectro de RMN ^1H de **158** mostró como señales características los picos del TBDMS: singletes a 0,88, 0,051 y 0,054 ppm. Su espectro de RMN ^{13}C también mostró las señales características de este grupo (25,9 ppm, 18,2 ppm y -4,6 ppm).

La oxidación de **158** al aldehído **159** se realizó con PCC en presencia de BaCO_3 y sobre este compuesto se pudo realizar sin inconvenientes la deformilación de la posición 20 ($\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$), obteniéndose el compuesto **151** con las posiciones oxigenadas de C-11 y C-20 diferenciadas, con un rendimiento de 55% (tres pasos).

El espectro de RMN ^1H de **159** mostró a 9,70 ppm la señal del grupo aldehído, además de las otras señales características de esta estructura. En su espectro de RMN ^{13}C se observa, entre otras, una señal a 204,7 correspondiente al aldehído. En el espectro RMN ^1H de **151** se observa la señal correspondiente al H-20 a 3,70 ppm, desplazada más de 1 ppm hacia campos más altos que en **159**.

Síntesis del precursor 19-metilidén-3 β -terbutildimetilsiloxi-11 α -metiltiotiocarboniloxi-5-pregnen-20-ona (**166**)

En base a la experiencia recogida en las síntesis anteriores para la reacción de Wittig, se utilizó el método de formación del iluro a partir de la sal de fosfonio y amiduro de sodio en tolueno. Se obtuvo así el compuesto **160** con un 85% de rendimiento.



Esquema 4.20

El espectro de RMN ^1H de **160** (figura 4.10, página 146) presentó, como señales características, las correspondientes al grupo vinilo sobre C-10 (que ya han sido descritas

para el compuesto **137** (página 115), las correspondientes al acetato en C-11, al TBDMSO en C-3 y al grupo hidroxilo en C-20.

Tabla 4.4: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **160**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	37,2	1,35	2,12	15	24,4	1,43	1,60
2	32,9	1,62	1,37	16	25,7	1,65	1,15
3	72,4	3,45 tt, $J=10,3,$ 5,1 1H		17	57,8	1,32	
4	43,7	2,13	1,17	18	12,9	0,69 s; 3H	
5	138,3			19	141,6	5,62 $J=17,5,$ 10,7; 1H	
6	123,7	5,57 d, $J=5,4,$ 1H		20	70,0	3,66 dq $J=10,1,$ 5,8; 1H	
7	31,9	1,59	1,97	21	23,6	1,10 d, $J=6,1$ 1H	
8	31,0	1,44		19a	118,9	5,35 dd, $J=10,5,$ 1,9; 1H 4,98 dd $J=17,5,$ 1,9; 1H	
9	52,2	1,34		CH₃CO₂	21,9	1,97	
10	42,6*			CH₃CO₂	170,0		
11	72,1	5,12 dt, $J=10,0,$ 5,4; 1H		(CH₃)₃CSi	25,9	0.83 s; 9H	
12	46,0	1,17	2,36	(CH₃)₃CSi	18,2		
13	42,6*			(CH₃)₂Si	-4,6	-0.04 s; 6H	
14	54,5	1,10					

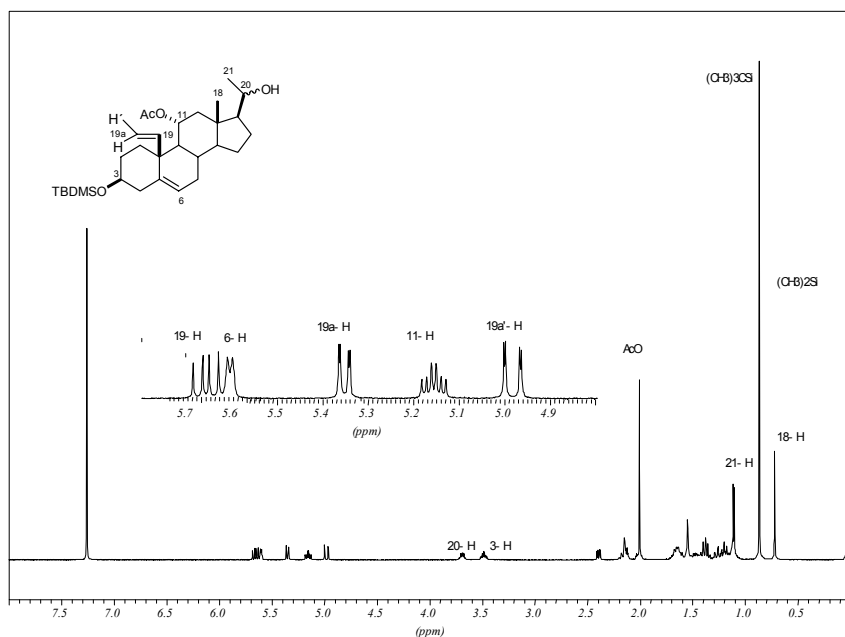
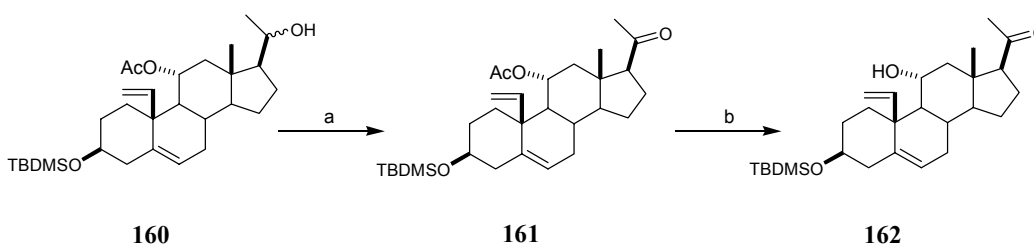


Figura 4.10: Espectro RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **160**

Con el fin de distinguir las posiciones 20 y 11 y a la vez generar el carbonilo en C-20 necesario para el producto final, se oxidó **160** para dar **161** el cual se desacetiló posteriormente obteniéndose **162** con 70% de rendimiento en dos pasos.



Reactivos: a) PCC, BaCO₃, MS/CH₂Cl₂; b) KOH 10%/MeOH

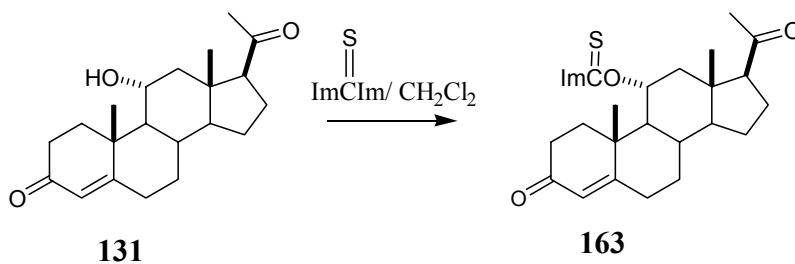
Esquema 4.21

Como señal diagnóstica en el espectro de RMN ^1H de **161** se observa la presencia del pico a 2,09 ppm correspondiente al metilo de C-21 y la ausencia de la señal a 3,69 ppm correspondiente al protón de C-20 hidroxilado de **160**, indicativos ambos de un C-20

carbonilo. Del mismo modo, el espectro de RMN ^{13}C presentaba las señales correspondientes a la estructura del compuesto.

Por otra parte, en el espectro de RMN ^1H de **162**, se pudo observar la ausencia de grupo acetato y la presencia de la señal de C-11 a 3,94 ppm indicativas ambas de la desacetilación. El mismo análisis se puede realizar en el espectro de RMN ^{13}C (ver asignación en el **Apéndice B**). De este modo, se pudo disponer finalmente del precursor adecuadamente funcionalizado para intentar con él la reacción de ciclación radicalaria.

Para generar el radical sobre C-11, se utilizaron las condiciones de reacción desarrolladas para la desoxigenación radicalaria de Barton, buscando favorecer el proceso intramolecular [Uk Rhee *et al*, 2003]. La posición 11α está impedida estéricamente, por lo que fue necesario optimizar las condiciones de formación de los tioésteres en el hidroxilo en C- 11α . Como primera aproximación se buscó sintetizar el imidazotiocarbonil derivado sobre el compuesto modelo 11α -hidroxiprogesterona (**131**), el cual se hizo reaccionar con tiocarbonildiimidazol. Se obtuvo el derivado buscado **163** con buen rendimiento (88%, **esquema 4.22**). En el RMN ^1H del derivado se observó el corrimiento a campos bajos de la señal de H-11 (de 4,03 a 6,07 ppm) y la presencia de tres señales a 8,34, 7,60 y 7,07 ppm correspondientes al grupo imidazol.



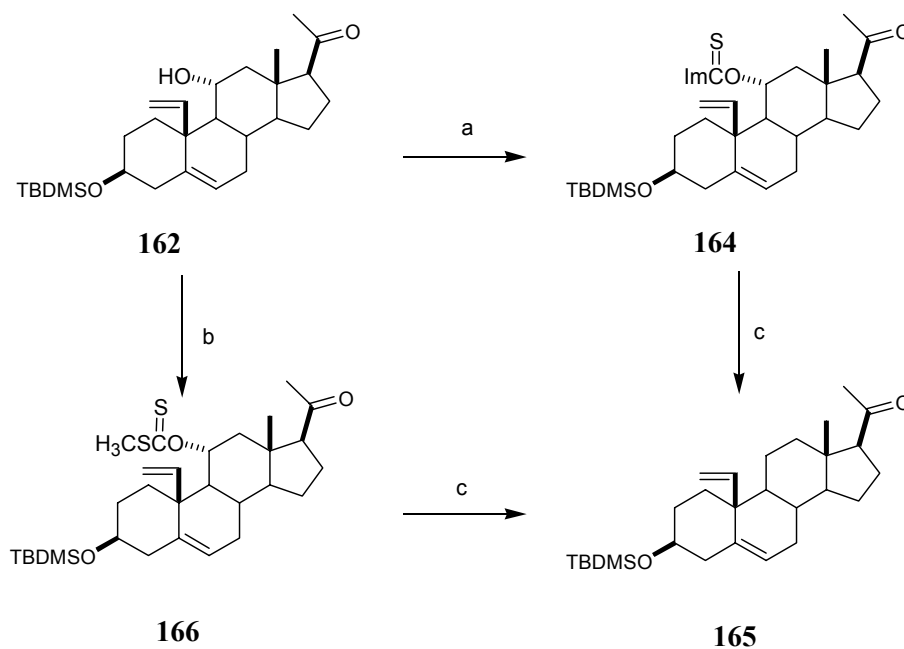
Esquema 4.22

Se repitió la reacción sobre una alícuota de **162** pero en este caso la reacción no fue tan limpia (se observaron numerosas manchas en CCD). En el espectro RMN ^1H del producto crudo de reacción se observó la presencia de una señal asignable al H-11 de **164** y tres grupos de señales correspondientes al grupo imidazol, además de varias señales que no se pudieron asignar. No obstante el producto crudo de reacción se hizo reaccionar con difenilsilano en tolueno usando AIBN como iniciador. En estas condiciones, sólo se aisló el

producto de reducción de la posición 11 (**165**) con un rendimiento muy bajo (**esquema 4.23**).

Dado que la reacción de formación del tiocarbonil derivado sobre **162** no fue satisfactoria, se ensayó la formación del xantato. Esta reacción transcurrió en forma mucho más limpia obteniéndose **166** con un 90% de rendimiento.

En el espectro de RMN ^1H de **166**, se pudo observar la presencia del grupo xantato sobre C-11 por la aparición de un singulete a 2,59 ppm y el desplazamiento de la señal del H-11 a 5,94 ppm. Cuando **166** se trató con difenilsilano en las condiciones anteriores, se obtuvo sólo el producto de reducción **165**.



Reactivos: a) ImCSIm/ CH_2Cl_2 ; b) DBU, CS_2 , CH_3I /DMF; c) Ph_2SiH_2 ,AIBN/Tol

Esquema 4.23

Con el fin de descartar la posibilidad de que el solvente pudiera participar en el transporte de radicales H^\bullet favoreciendo el camino de reducción, se repitió la reacción utilizando benceno en lugar de tolueno. Para favorecer además la reacción intramolecular, se diluyó el esteroide 10 veces respecto al ensayo anterior. La reacción transcurrió más lentamente, pero, no obstante ello, sólo se obtuvo el producto de reducción **165**.

Dado que el carbono radicalico generado en C-11 se encuentra en una zona estéricamente congestionada de la molécula, se consideró que el uso de un reactivo más voluminoso que el difenilsilano para la transferencia de H• debería desfavorecer la reacción intermolecular de reducción. Se utilizó entonces hidruro de tributilestaño en benceno con AIBN como iniciador.[†] En este caso, la reacción transcurrió muy lentamente y luego de 10 días se recuperó una mezcla del material de partida con el compuesto reducido **165**.

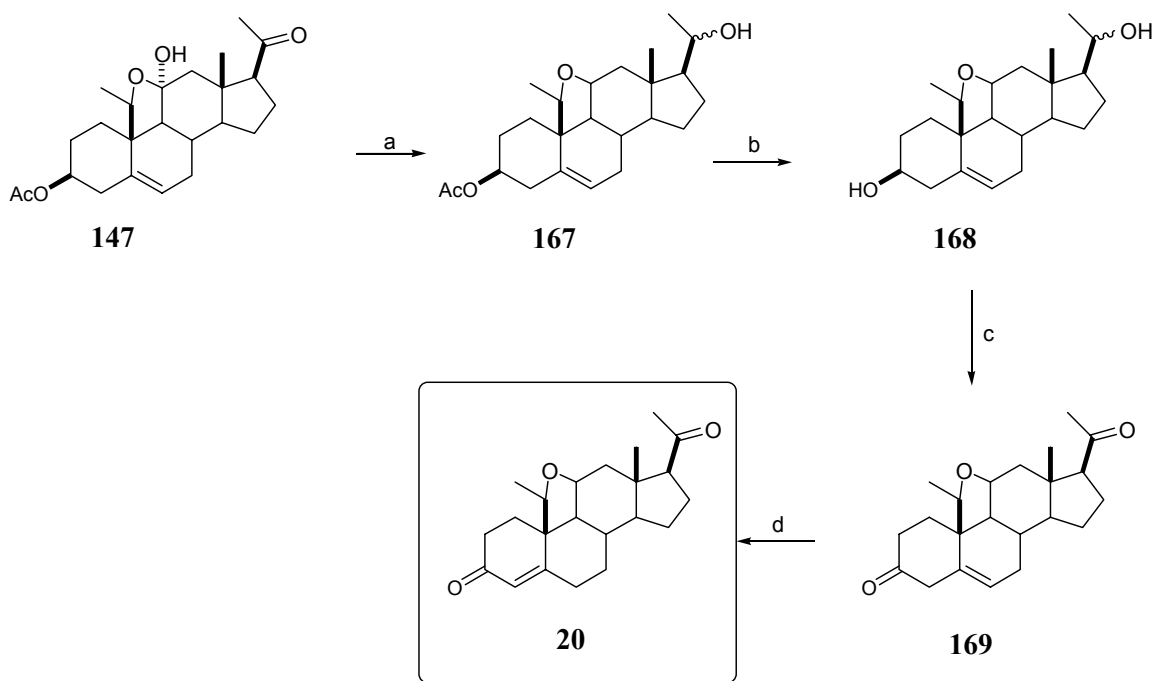
Los resultados experimentales mostraron que esta ruta no era adecuada para la formación del puente 11,19-metano. Sería probablemente más conveniente generar el radical desde el apéndice de C-10 que tiene mayor movilidad para que reaccione sobre un doble enlace en el anillo C. Para corresponder a las reglas de Baldwin, el doble enlace debería estar ubicado entre las posiciones 11 y 12 (ciclación 5-*exo* trig). La formación de ese doble enlace no es sencilla porque la deshidratación de una función oxigenada en C-11 genera un doble enlace 9,11. Sin embargo, considerando los resultados de literatura, es posible que la reacción también ocurra sobre el doble enlace 9,11 (ver **Capítulo 2**, página 38). Como se indicó más arriba (página 135), la utilización de un transportador de radicales no reductor como (SnBu₃)₂ sería otra alternativa posible.

[†] Estas condiciones fueron las utilizadas en la ciclación 6-*endo* trig descrita en bibliografía, la cual se utilizó como referencia aquí (página 36). De todos modos, los mismos autores informan que esas condiciones no son aplicables a otros sustratos a pesar de la similitud de estructuras.

Parte C

Síntesis de 19(S)-metil-11,19-
óxidoprogesterona (**20**)

El compuesto **147** (obtenido según se describe en la **Parte A** de este capítulo, página 126), contiene en su estructura un puente 11,19-oxygenado sustituido en C-19. Así, a través de una secuencia de transformaciones sintéticas similar a la realizada en este laboratorio para la obtención de 11,19-óxidoprogesterona se podría acceder a un análogo sustituido en C-19 de este poderoso mineralocorticoide sintético. Como se indicó en el **Capítulo 2**, análogos esteroidales que incorporan grupos metilo sobre los puentes carbonados modifican el entorno estérico sobre la cara β de la molécula, alterando la actividad biológica de los mismos. Resultó interesante, por tanto, sintetizar el compuesto 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (**20**, **esquema 4.24**).



Reactivos: a) NaBH_3CN , MeOH; b) K_2CO_3 10%/THF, MeOH; c) PCC, BaCO_3 , MS/ CH_2Cl_2 ; d) HCl 7,6N/MeOH, THF

Esquema 4.24

La reducción del hemicetal presente en **147** se realizó por tratamiento del compuesto con cianoborohidruro de sodio en metanol a pH~3 obteniéndose el éter cíclico

167 con un 84% de rendimiento. El RMN ^1H de **167** mostró dos señales características a 4,30 ppm (correspondiente a H-11) y a 3,75 ppm (correspondiente a H-20). En su espectro de RMN ^{13}C se observa el corrimiento hacia campos más altos de la señal de C-11 (de 105.5 ppm (hemicetal) en **147** a 80.7 ppm (éter cíclico) en **167**). Como durante la reacción se produce concomitantemente la reducción a alcohol del carbonilo de C-20 aparece ahora la señal correspondiente a 70,3 ppm. En la **tabla 4.4** se presenta la asignación completa de las señales de RMN ^1H y ^{13}C , la cual se obtuvo a partir de los experimentos de RMN ^1H , COSY-45, RMN ^{13}C y DEPT.

Tabla 4.4: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **167**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	31,6	1,19	2,23	13	42,4		
2	40,0	1,92	1,71	14	52,0	1,14	
3	74,0	4,65 tt, $J=11,0,$ 4,9; 1H		15	25,5		
4	29,8	2,46 ddd, $J=11,8,$ 4,5, 2,1; 1H	2,06	16	23,7	1,20	1,68
5	136,5			17	59,2	1,35	
6	125,9		5,66 d, $J=5,7;$ 1H	18	14,2	0,91 s; 3H	
7	29,0	1,66	1,97	19	75,7	4,14 q, $J=6,5;$ 1H	
8	31,6		1,25	20	70,3	3,75 dq, $J=10,0,$ 6,1; 1H	
9	57,2	1,23		21	23,5	1,13 d, $J=6,1;$ 1H	
10	47,3			19a	20,0	1,42 d, $J=6,5;$ 1H	
11	80,7	4,30 sa		CH_3CO_2	21,4	2,03 s; 3H	
12	42,9	1,45	2,44	CH_2CO_2	170,5		

La desacetilación de la posición 3 en **167** se realizó con carbonato de potasio 10% en metanol/THF obteniéndose en forma cuantitativa el diol **168**. **168** se oxidó en la forma habitual con PCC y BaCO₃ en CH₂Cl₂ y se obtuvo la dicetona **169** con un rendimiento excelente (97%). Su espectro de RMN ¹H muestra, entre otras señales, un singulete a 2,14 ppm correspondiente al metilo de C-21 y la ausencia de picos asignables a protones en las posiciones 3 y 20 (presentes en **168**).

169 se trató con HCl 7,6 N en metanol/ THF a fin de lograr la conjugación del doble enlace con el carbonilo de C-3. Se obtuvo así (19(S)-metil)-11,19-óxidoprogesteroa (**20**) en 16 pasos de reacción con un 6,4% de rendimiento global a partir de 11 α -hidroxiprogesteroa.

Asignación de la estructura de **20**

En la **figura 4.16** se muestra el espectro de RMN ¹H del compuesto **20** y en la **tabla 4.5** la asignación completa de las señales de sus espectros de RMN ¹H y ¹³C. Para la asignación de los protones se utilizó el espectro COSY-45 (**figura 4.17**).

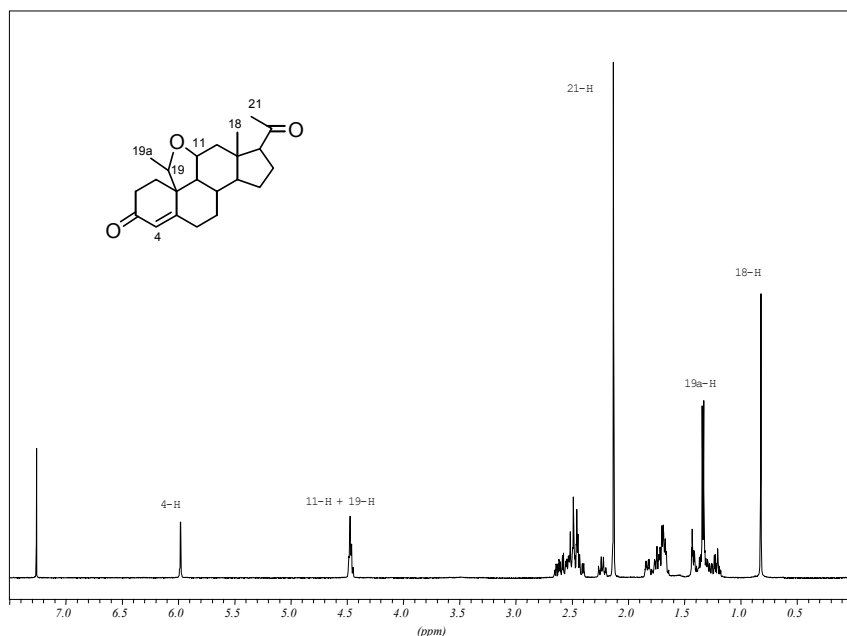
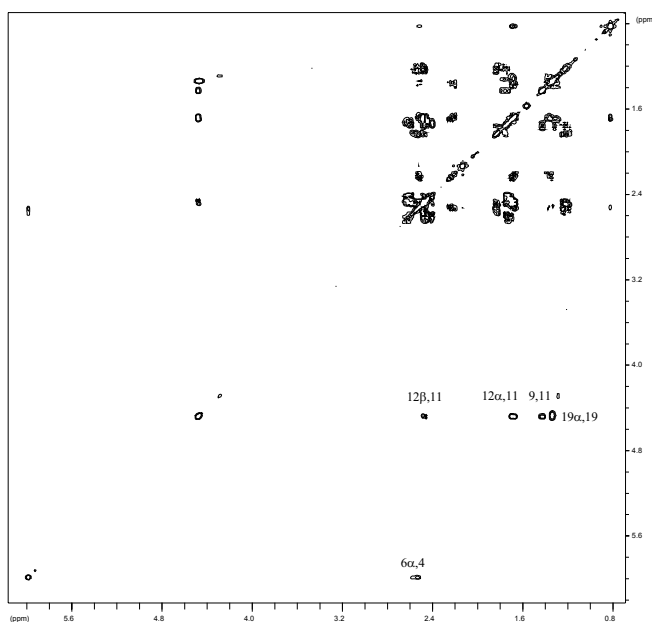


Figura 4.16: Espectro RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **20**

Utilizando el RMN ^1H , se asignaron las señales características de los Δ^4 -3-cetopregnanos: dos singletes correspondientes a H-18 (0,82 ppm) y H-21 (2,13 ppm) y un doblete (5,98 ppm, $J= 1,6$ Hz) correspondiente a H-4 (desplazamiento característico para este protón en los sistemas Δ^4 -3-ceto). La señal de H-4 muestra, en el COSY-45, un acoplamiento con una señal a 2,54 ppm que fue asignada al H-6 β . A partir de esta señal, siguiendo las correlaciones del COSY-45, se asignaron secuencialmente los protones de las siguientes posiciones: 6 α , 7 α y 7 β , 8, 9, 11, 12 α y 12 β . También a partir de 8 se asignaron 14, 15 α y 15 β , 16 α y 16 β y 17.

La señal a 4,47 ppm se asignó al H-19 por comparación con los espectros de los compuestos **147** y **167**. Del mismo modo, el doblete a 1,34 ppm ($J= 6,4$ Hz) se pudo asignar al metilo de C-19a. En el COSY-45 de **20** se observan correlaciones entre la señal a 4,47 ppm y aquellas a 1,34, 1,42, 1,68 y 2,48 ppm. Las tres últimas señales correspondían a los acoplamientos esperados de H-11 con los protones de H-9, H-12 α y H-12 β . El acoplamiento con H-19 confirma la asignación de la señal a 1,34 ppm al metilo de C-19a.



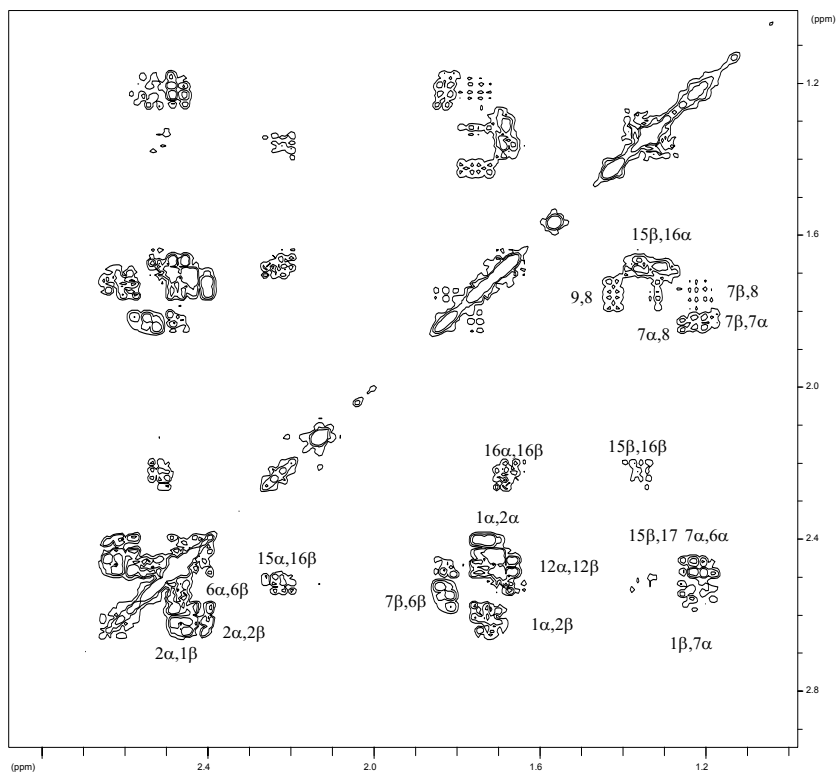


Figura 4.17: Espectro COSY-45 (500 MHz) del compuesto 20

Tabla 4.5: Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz) y RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **20**

	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$			$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$	
		α	β			α	β
1	35,2	1,73	2,45	12	41,6	1,68	2,48
2	34,7	2,42	2,63	13	44,2		
3	198,7			14	61,1	1,42	
4	128,8	5,98 d, $J=1,5$; 1H		15	23,4	2,25	1,35
5	163,2			16	22,6	1,68	2,23
6	30,0	2,47	2,54	17	64,2	2,51	
7	29,4	1,22 dq, $J=12,5$, 3,7; 1H	1,83	18	15,7	0,82 s; 3H	
8	35,1		1,75	19	76,8	4,47 q, $J=6,2$; 1H	
9	52,6	1,42 dd, $J=10,7$, 3,6; 1H		20	208,7		
10	48,4			21	31,1	2,13 s; 3H	
11	78,7	4,47 dd, $J=6,7$, 4,6; 1H		19a	17,4	1,34 d, $J=6,2$; 3H	

La estereoquímica absoluta del carbono 19 de **20** se estableció a partir de un experimento NOESY. En la **tabla 4.6** se indican las distancias calculadas para los conformeros de menor energía (AM1) entre algunos protones que permitirían distinguir los dos posibles isómeros 19R y 19S (**figuras 4.18** y **4.19**). Experimentalmente se observó que los protones de las posiciones 6 β , 8 y 18 correlacionaban con el H-19 y no con H-19a, mientras que H-19a correlacionaba con H-1 β y H-2 β , consistente con lo calculado para la configuración 19S. La posible correlación entre H-19 y H-1 β (que ocurriría en el isómero 19R) no es relevante ya que se superpondría con la que existe en ambos isómeros entre H-11 y H-1 β .

Tabla 4.6: Distancias entre algunos protones de los isómeros R y S de **20** (AM1) y su correlación en el espectro NOESY

H	Correlación	Distancia H-H isómero R (Å) ^b	Distancia H-H isómero S (Å) ^b	Correlación
19	2β	2,1	4,0	no se observa
	6β	4,5	2,7	se observa
	8	4,0	2,2	se observa
	18	4,1	2,6	se observa
19a	1β	4,5	2,3	se observa
	2β	3,5	2,2	se observa
	6β	2,4	4,8	no se observa
	8	2,0	4,4	no se observa
	18	2,4	4,1	no se observa

^a no se incluyen las interacciones entre hidrógenos vecinales ni geminales

^b distancias calculadas para el conformero más estable de **20** (AM1)

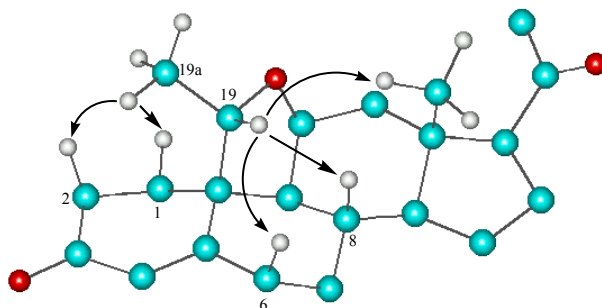


Figura 4.18: Correlaciones NOE del conformero de menor energía (AM1) del isómero S del compuesto **20**

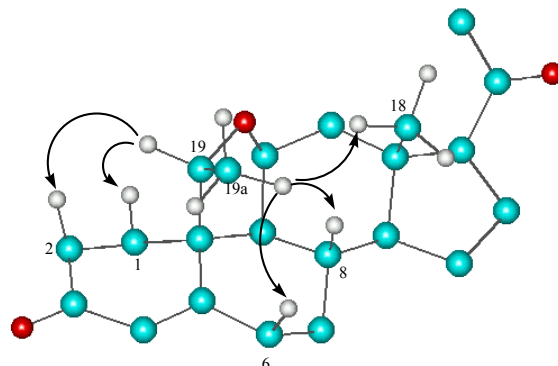


Figura 4.19: Correlaciones NOE del conformero de menor energía (AM1) del isómero R del compuesto **20**

La configuración 19S en el compuesto **20** está de acuerdo con lo previsto según consideraciones conformacionales. Se puede observar en la **figura 4.20** que el grupo vinilo de **146** (precursor de la ciclación) queda ubicado hacia atrás en el conformero de menor energía, por lo que la unión del oxígeno de C-11 genera la configuración 19S. Una vez establecida la configuración absoluta de C-19 en el paso de ciclación, no se modifica a lo largo de la secuencia sintética que lleva al compuesto final (**20**).

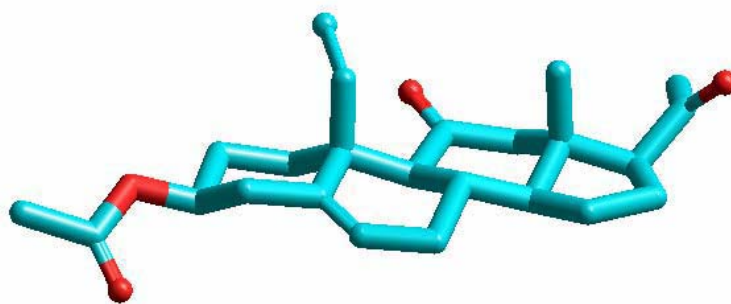


Figura 4.20: Conformero de menor energía (AM1) del compuesto **146**.

Capítulo 5

Actividad Biológica

5.1 Afinidad de 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (20) al receptor de mineralocorticoides

Como hemos visto en el **Capítulo 1** (página 15), la conformación plana que adopta 11,19-óxidoprogesterona (7) debido a la presencia del puente 11,19-óxido, le confiere una gran actividad mineralocorticoide. Si bien se sabe que el sitio de unión de 7 al receptor de MC no es el mismo que el de aldosterona (el MC natural más potente en humanos), este compuesto tiene cierta afinidad y, aunque en baja medida, produce un desplazamiento de aldosterona cuando ésta se halla unida a su receptor celular. El compuesto 19(S)-metil-11,19-óxido progesterona (20) sintetizado en este trabajo de tesis comparte la “planaridad” con 7 (**figura 5.1**) pero presenta una mayor hidrofobicidad e impedimento estérico en su cara β debido a la presencia del grupo metilo en la posición 19. Por este motivo, resultó interesante estudiar su actividad mineralocorticoide y se comenzó estudiando su afinidad por el receptor de mineralocorticoides.

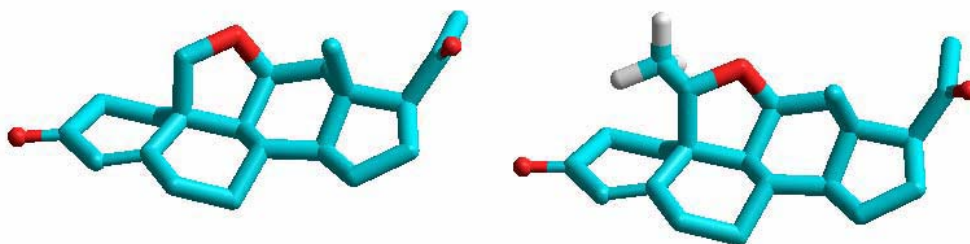


Figura 5.1: Modelos (AM1) de 11,19-óxidoprogesterona (7) y (19(S)-metil)-11,19-óxidoprogesterona (20)

En este trabajo, realizado por la Dra. Nora Ceballos (Departamento de Química Biológica, FCEyN, UBA), se midió el desplazamiento de la unión de aldosterona tritiada (aldo-³H) a su receptor producido por **20** y se lo comparó con el que producen la aldosterona fría (sin marcar) y **7**. Estos resultados pueden verse en la **tabla 5.1** y en el **gráfico 5.1**.

Tabla 5.1: Porcentaje de desplazamiento de la unión de aldo-³H a su receptor.

Concentración de esteroide (nM)	aldosterona	7	20
0	0	0	0
2	27	1	0
5	38	2	0
10	53	6	0
20	87	12	2
40	94	28	0
80	97	43	1
100	100	52	11
2000	100	90	23

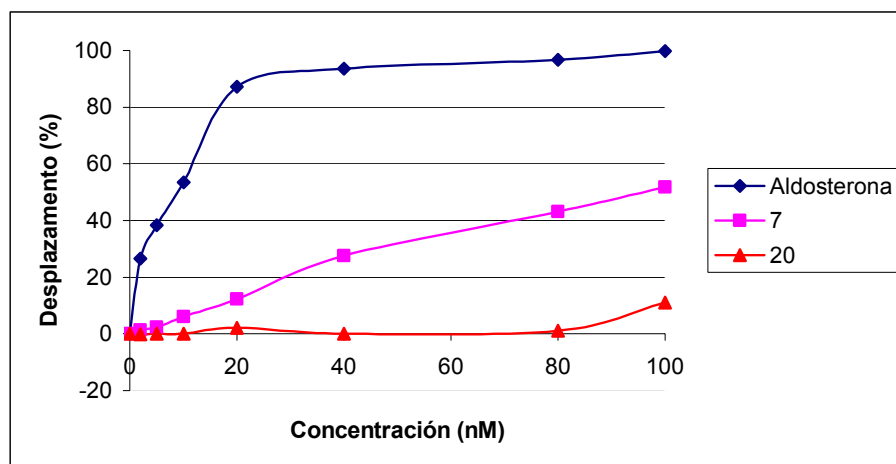


Gráfico 5.1: Desplazamiento de la unión de aldo-³H a su receptor.

En las mediciones se puede observar que la aldosterona desplaza el 53% de la aldo-³H a una concentración de 10 nM, mientras que **7** necesita una concentración 10

veces mayor para obtener un desplazamiento similar. Respecto a **20**, sólo logró producir un desplazamiento del 23% al la concentración de enlace no específico (200 nM), por lo cual se considera que no tiene ninguna afinidad por el sitio de unión de aldosterona del receptor.

Conclusiones

En este estudio se demostró que la presencia del grupo metilo en la cara β de **20** influye en la unión al receptor celular y probablemente también en sus propiedades farmacológicas. El estudio de dichas propiedades se realizará próximamente.

5.2 Actividad antiherpética de pregnanos 19-sustituídos.

En un trabajo realizado por la Lic. Erina Petrera del grupo de trabajo de la Dra. Celia Coto (laboratorio de Virología, Departamento de Química Biológica, FCEyN, UBA), se estudió actividad antiviral de algunos esteroides sintetizados en este trabajo de tesis (**figura 5.2**) los cuales se diferenciaban principalmente en la sustitución de C-19.

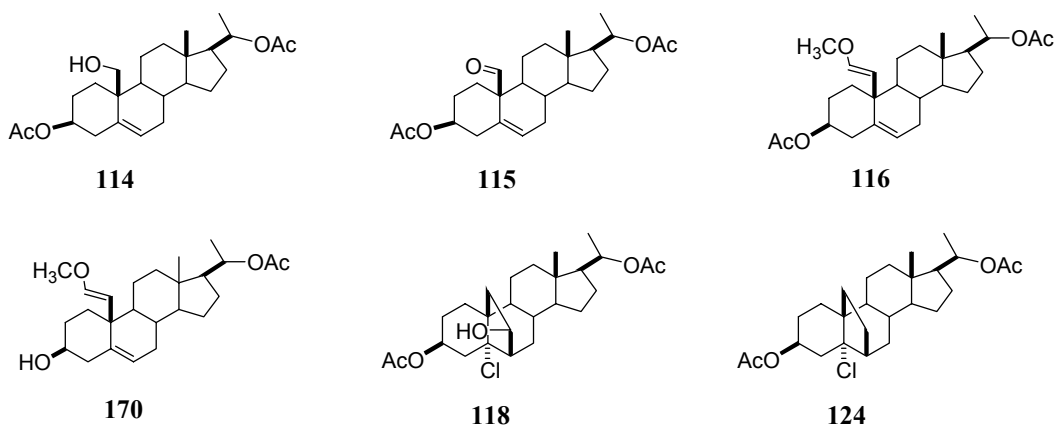


Figura 5.2: Esteroides estudiados para su actividad antiherpética.

Se estudiaron el 19-alcohol **114**, su análogo oxidado **115**, el análogo homologado **116**, el compuesto **118** (cuyo puente 6,19 fija las conformaciones moleculares y cuyo hidroxilo en C-19a confiere hidrofiliidad a la cara β) y el compuesto **124** (cuyo puente

6,19 no contiene grupos hidrofílicos). Se agregó el compuesto **170**, obtenido como subproducto en la síntesis de **116**, el cual difiere de éste último sólo en la protección del hidroxilo de C-3.

Para esto se realizaron ensayos sobre células cultivadas *in vitro* que fueron infectadas con dos cepas del virus herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2).

Evaluación de la citotoxicidad

Se midió la toxicidad producida por los compuestos en contacto con las células, tanto en estado estacionario como en crecimiento. Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfoxido y se realizaron diluciones seriadas que fueron incubadas sobre células en crecimiento o en estado estacionario. Se evaluó la viabilidad celular a las 24 h y a las 72 h utilizando el método de MTT y se obtuvo la concentración del compuesto que reduce la viabilidad celular al 50% (CC₅₀, concentración citotóxica 50%). Una comparación entre los valores de CC₅₀ indicó que los compuestos **114** (33,9 µM), **115** (33,6 µM), **170** (62,8 µM) y **124** (35,9 µM) son los más citotóxicos luego de 72 h de incubación. Por otro lado los valores de CC₅₀ de los compuestos **116** (254,2 µM) y **118** (1571,0 µM) no cambiaron significativamente para células estacionarias o en crecimiento luego de 72 h de incubación, sugiriendo que la síntesis macromolecular de las células no estaría afectada por estos compuestos.

Propiedades antivirales

Se realizaron estudios de dosis respuesta con los compuestos **116**, **118** y **124**. Células en estado estacionario fueron inoculadas con HSV-1 KOS o HSV-2 G. Luego de 1 h de incubación se retiró el virus y las células se incubaron con distintas concentraciones de los compuestos. A las 24 h post infección se cosechó el sobrenadante y se midió el rendimiento viral. Se observó que la inhibición del virus era dependiente de la concentración y presentaba la misma cinética tanto para HSV-1 como para HSV-2.

Tabla 5.2: Propiedades antivirales de los compuestos **116**, **118** y **124** contra los virus HSV-1 y HSV-2.

Compuesto	CC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (HSV-1) (μM)	IS	EC ₅₀ (HSV-2) (μM)	IS
116	254,2	4,77	183,2	3,2	273,1
118	1571,0	27,40	120,5	68,9	47,9
124	35,9	13,9	45,6	20,6	30,8

Se calcularon los valores de la concentración de compuesto requerida para reducir el rendimiento viral al 50% (EC₅₀, concentración efectiva 50%), con HSV-1 y con HSV-2 (ver **tabla 5.2**). Calculando la razón entre la CC₅₀ y la EC₅₀ se obtuvieron los índices de selectividad (IS) que indicaron que el compuesto más activo contra HSV-1 fue el **116** con un IS de 183,2, seguido por el **118** y por el **124**. Para HSV-2 se obtuvieron resultados similares, el más activo fue **116** con 273,1, seguido de **118** y **124**.

También se midió la inhibición del efecto citopático producido por HSV-1 resultando que los compuestos **116**, **118** y **124** reducen la infectividad viral en un 90%.

Susceptibilidad de HSV-1 al compuesto 118 en diferentes condiciones experimentales

Para determinar si los pregnanos actúan como verdaderos antivirales se realizó una serie de experimentos utilizando el compuesto **118** a una concentración de 107.1 μM. Se vio que la capacidad infecciosa de las partículas virales de HSV-1 no fue afectada por el contacto directo con el compuesto. Células previamente tratadas con **118** permanecen susceptibles a la infección con HSV-1. La adsorción-penetración del virus no fue impedida por el compuesto **118** mientras que hubo un 96% de inhibición cuando se trataron las células con heparina, un inhibidor de la adsorción viral.

Experimentos de remoción de la droga a distintos tiempos mostraron que no era necesaria la presencia del compuesto durante el período completo de 24 h para ejercer el efecto inhibitorio: se obtuvo el mismo grado de inhibición viral cuando el compuesto fue agregado luego de la adsorción y permaneció hasta las 7 h post infección que cuando el

compuesto permaneció en contacto con las células el período completo, observándose efecto inhibitorio a partir de las 3 h post infección.

Por otro lado, se realizaron estudios de inmunofluorescencia indirecta sobre monocapas de células infectadas y posteriormente tratadas con **118**. A las 24 h post infección se fijaron las células con metanol y se realizó una tinción indirecta de antígenos de HSV-1 usando anticuerpos anti-HSV-1 purificados de suero hiperinmune de conejo reactivo contra todas las proteínas de HSV-1 e inmunoglobulina G (IgG) de cabra anti-conejo fluoresceinada. Estos estudios revelaron un efecto inhibitorio considerable del compuesto **118** sobre la síntesis de antígeno viral confirmando los datos obtenidos previamente.

Conclusiones

Se demostró que compuestos que presentaron baja citotoxicidad inhibieron la replicación tanto del virus herpes simplex tipo 1 como del tipo 2, se observó además que estos compuestos inhibieron también el efecto citopático del virus. El compuesto más efectivo contra HSV-1 y HSV-2 fue el **116**, mientras que el **118** fue el menos citotóxico. La comparación del compuesto **116** con su análogo acetilado **170** parece indicar que la presencia de un hidroxilo libre en el C-3 confiere alta toxicidad. La comparación entre **118** y **124** indicaría que el grupo hidroxilo en el puente (C-19a) podría ser benéfico. Por otro lado los pregnanos con un átomo de oxígeno unido directamente al esqueleto esterooidal (C-19, como en **114** y **115**) son mucho más tóxicos que sus análogos donde el heteroátomo está ubicado más lejos (C-19a, como en **116** y **118**).

Con los ensayos realizados no se pudo explicar cómo los pregnanos **116**, **118** y **124** interfirieron con la replicación viral. Los resultados obtenidos con el compuesto **118** indicarían que a concentraciones no citotóxicas deberían estar inhibidos uno o más eventos intracelulares que ocurren luego de la penetración viral. De particular interés es la susceptibilidad de HSV-2 a **124**, ya que este virus es un agente transmitido sexualmente y que está altamente diseminado en la población humana.

En resumen se puede concluir que estos derivados esteroideos deberían ser considerados como nuevos agentes antivirales moderados. Además, como se mencionó en el **Capítulo 1**, se espera que los puentes carbonados confieran mayor estabilidad metabólica y aumenten la vida media *in vivo* de estos compuestos.

Capítulo 6

Detalles Experimentales

Generalidades

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

Los espectros IR fueron obtenidos en film delgado, usando pastillas de KBr en un espectrómetro Nicolet Magna IR 550 FT-IR.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) se realizaron a 200,13 ó 500,13 MHz en espectrómetros Bruker AC-200 o AM-500 respectivamente. Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono (RMN ^{13}C) se midieron a 50,32 ó 125,77 en espectrómetros Bruker AC-200 o AM-500 respectivamente. En todos los casos se utilizó cloroformo-d como solvente, en tubos de 5 mm de diámetro. Los desplazamientos químicos para RMN ^1H se expresan en la escala de δ , en partes por millón (ppm) respecto a 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), singulete ancho (sa), doblete (d), doble doblete (dd), doble doble doblete (ddd), triplete (t), doble triplete (dt), triple triplete (tt), cuarteto (c), doble cuarteto (dc), quintuplete (q), multiplete (m). Los desplazamientos químicos para RMN ^{13}C se expresan en ppm tomando como referencia el pico central correspondiente a la señal del cloroformo-d (77,0 ppm). La multiplicidad de las señales se determinó por la técnica de incremento libre de distorsión por transferencia de polarización (DEPT-135).

Las asignaciones completas de los espectros protónicos y de ^{13}C de los compuestos descritos fueron realizadas utilizando una combinación de técnicas mono y bidimensionales. La estrategia básica utilizada consistió en la medición de los espectros de RMN ^1H , ^{13}C y DEPT-135, asignando la mayor cantidad de señales posible. El paso siguiente fue la medición de un espectro de correlación heteronuclear (HETCOSY ó HSQC) con desacople ^1H - ^1H para obtener los desplazamientos químicos de cada uno de los protones de la región de mayor superposición de señales (0,8-2,4 ppm). La verificación de estas señales se realizó por comparación con el espectro de correlación homonuclear (COSY 45 o TOCSY). Cuando fue necesario determinar o confirmar la orientación espacial de algún grupo presente en la molécula se recurrió al espectro NOESY. Los espectros de RMN ^{13}C indicados en los compuestos descritos en este

capítulo se encuentran detallados en el **Apéndice B**. Los espectros de RMN ^1H de los compuestos descritos en este capítulo se encuentran detallados en el **Apéndice C** o en los capítulos de descripción de resultados con la indicación correspondiente.

Los espectros de masa por introducción directa se realizaron en un espectrómetro Shimadzu QP-5000, ionizando con impacto electrónico a 70 eV (UMYMFOR, CONICET-FCEN, UBA). Los EM listados en este capítulo se realizaron por IE. Los espectros de masa de alta resolución (EMAR) se realizaron en un espectrómetro ZAB-SEQ BEQQ (VG analytical) (UMYMFOR, CONICET-FCEN, UBA) o en un ZAB2SE (VG analytical) (UCR Mass Spectrometry Facility, UCLA).

Las cromatografías analíticas en capa delgada (CCD) se realizaron utilizando la técnica ascendente en soportes de aluminio (Sílicagel 60 F₂₅₄, Merck). La detección se hizo por inmersión de las placas en una solución de ácido sulfúrico 20% en etanol o una solución de Ce(SO₄)₂ 0,1% p/v y Mo₇O₂₄(NH₄)₆ 5 % p/v en H₂SO₄ 10% y posterior calentamiento a 120°C o por detección al UV ($\lambda=254$ nm).

Las cromatografías en capa delgada preparativas (CCP) para muestras de hasta 25 mg se realizaron en cromatoplasmas para CCD en soporte de aluminio (Sílicagel 60 F₂₅₄, Merck).

Las cromatografías flash (CF) en columna se realizaron según Still *et al*, [1978] utilizando sílicagel (Sílicagel 60, malla 230-400 Merck) y aplicando presión de nitrógeno para acelerar el paso del solvente de elución, el cual se indica en cada caso.

Las cromatografías flash en columna seca (CFCS) se realizaron según Harwood, [1985] (sílicagel 60 G, Merck) empleando embudos con placas filtrantes de vidrio sinterizado y haciendo vacío para acelerar el paso del solvente de elución, el cual se indica en cada caso.

Los microanálisis fueron realizados por la Lic. Marta Marcote y la Lic. María de las Mercedes Rivero (UMYMFOR, CONICET-FCEN). Las muestras para microanálisis fueron secadas a 60°C en vacío durante dos horas con pentóxido de fósforo como agente desecante.

Purificación de solventes

Todos los solventes utilizados se purificaron previamente por destilación. Los solventes anhidros se destilaron bajo atmósfera de nitrógeno.

Diclorometano: se secó sobre pentóxido de fósforo durante 18 hs y se destiló recogiéndolo sobre tamices moleculares de 3 Å.

Éter etílico: se dejó 18 hs sobre hidruro de calcio, se reflujo sobre sodio con benzofenona hasta que adquirió una coloración azul y se destiló inmediatamente antes de usar.

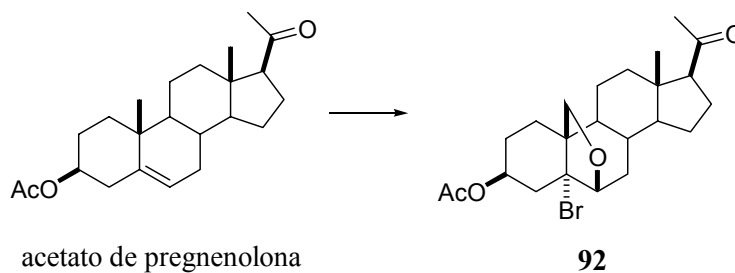
Tolueno: se trató igual que el éter etílico, se destiló y se guardó sobre cinta de sodio bajo atmósfera de nitrógeno.

Tetrahidrofurano: se trató igual que el éter etílico. Se destiló inmediatamente antes de usar.

Dimetilformamida: se dejó 18 hs sobre hidruro de calcio, se destiló a presión reducida y se guardó sobre tamices moleculares de 4 Å.

Detalles experimentales

3 β -Acetiloxi-5 α -bromo-6,19-oxidopregnan-20-ona (92)



A una solución de acetato de pregnenolona (0,620 g, 1,73 mmoles) en éter etílico (7,5 ml) y THF (3 ml) a 10°C y protegido de la luz se agregó HClO₄ 7,5% (aq). Sobre esta mezcla se agregó NBA (0,37 g, 2,7 mmoles) en 8 porciones durante 60 minutos. Pasados otros 25 minutos de agitación, se lavó la mezcla con Na₂S₂O₃ (ss), se la volcó sobre CH₂Cl₂: MeOH (1:1) y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂: MeOH (10:1).

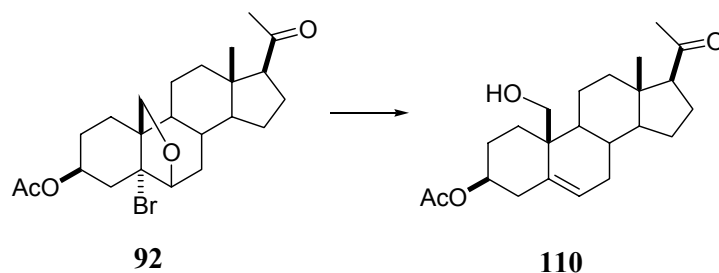
Después de evaporar el solvente, se disolvió el crudo de reacción (0,76 g) sin purificación previa en CH₂Cl₂ recientemente destilado. A la mezcla se agregó DIB (0,57 g, 1,7 mmoles) y yodo (0,4 g, 1,6 mmoles) y se irradió con una lámpara de 300 W durante 50

minutos. La mezcla se lavó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ss), se decantó y se evaporó el solvente. El crudo se purificó mediante CFCS obteniéndose el bromoéter **92** (0,63 g, 80,8% en dos pasos).

Rf=0,68 (tolueno-acetato de etilo 5:2)

RMN ^1H : $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,65 (s, 3H, H-18), 2,15 (s; 3H, H-21), 2,05 (s, 3H, acetato), 3,73 (d, $J=8,0$; 1H, H-19), 3,95 (d, $J=8,0$; 1H, H-19'), 4,05 (sa, 1H, H-6), 5,20 (tt, $J=11, 5$; 1H, H-3).

3 β -Acetiloxi-19-hidroxi-5-pregnen-20-ona (**110**)

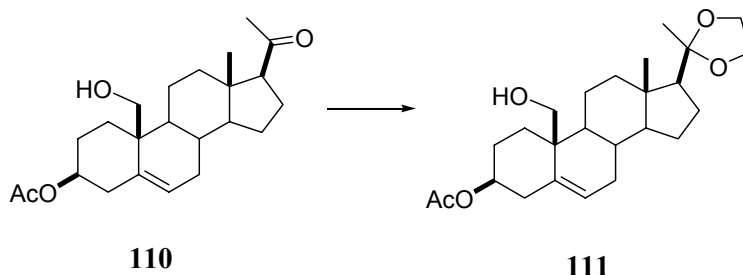


Se disolvió el producto crudo de una reacción anterior (obtenido a partir de 0,620 g de acetato de pregnenolona) en isopropanol recientemente destilado (60 ml). Se agregó Zn en polvo (0,800 g) y la mezcla resultante se calentó a 75°C. Se agregó ácido acético (0,7 ml), la mezcla se agitó vigorosamente por 80 min a reflujo, se filtró y se evaporó el solvente. El residuo resultante se tomó con diclorometano, se lavó con NaHCO_3 acuoso y se secó con sulfato de sodio. La purificación por cromatografía flash dio *19-hidroxi esteroide* **110** (0,320 g, 49%, tres pasos).

Rf=0,55 (tolueno-acetato de etilo 5:2)

RMN ^1H : $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,68 (s, 3H, H-18), 2,03 (s, 3H, acetato), 2,12 (s; 3H, H-21), 3,61 (d, $J=11,0$; 1H, H-19), 3,85 (d, $J=11,0$; 1H, H-19'), 4,65 (tt, $J=11,1, 5,1$; 1H, H-3), 5,77 (d, $J=5,1$; 1H, H-6).

3 β -Acetiloxi-20-etilendioxi-19-hidroxi-5-pregнено (111)



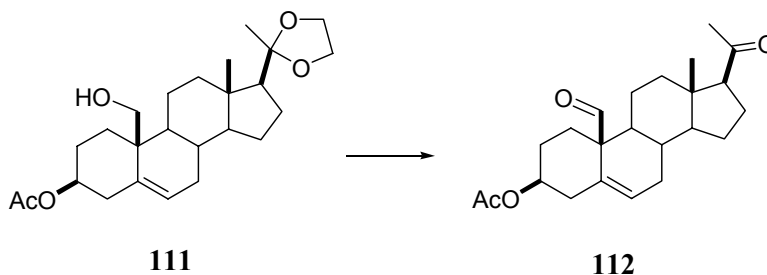
110 (50 mg, 0,134 mmoles) se disolvieron en tolueno (15 ml) y se agregó a la solución etilén-glicol (0,6 ml) y una punta de espátula de p-TsOH. La mezcla se reflujo utilizando una trampa de Dean-Stark. Luego de 50 minutos, se volcó la reacción sobre NaHCO₃ (ss) y se extrajo con CH₂Cl₂. La evaporación del solvente dio **111** (50 mg, 90%).

R_f=0,54 (hexano-acetato de etilo 1:1)

RMN ¹H: δ_{H} (200): 0,83 (s, 3H, H-18), 1,29 (s; 3H, H-21), 2,03 (s, 3H, acetato), 3,62 (d, $J=11,3$; 1H, H-19), 3,92 (d, $J=11,3$; 1H, H-19'), 4,64 (tt, $J=11,1, 5,1$; 1H, H-3), 5,76 (d, $J=5,1$; 1H, H-6), 3,78-4,09 (señal compleja, 4H, dioxolano).

RMN ¹³C: Ver Apéndice B.

3 β -Acetiloxi-19-oxo-5-pregnen-20-ona (112)

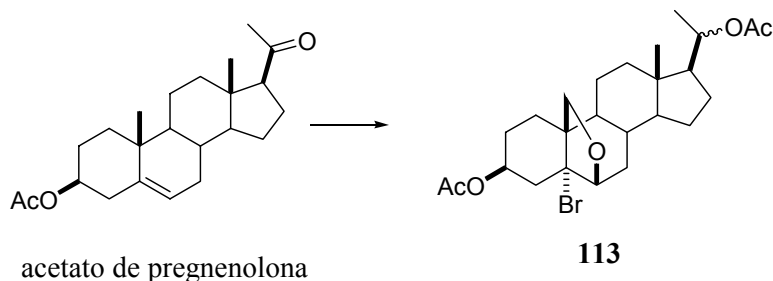


Una suspensión de clorocromato de piridonio (0,103 g, 0,48 mmol), carbonato de bario (0,062 g, 1,8 mmol) y tamiz molecular de 4Å (0,05 g) en diclorometano seco (5 ml), se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante 15 min; luego se agregó el compuesto **111** (0,035 g, 0,084 mmol). Después de una hora se diluyó la mezcla con éter etílico y se la filtró a través de un lecho sílica gel lavando con éter. La evaporación del solvente dio el aldehído **112** (0,028 g, 90%) homogéneo por tlc.

RMN ¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,59 (s, 3H, H-18), 2,00 (s, 3H, acetato), 2,10 (s; 3H, H-21), 4,60 (tt, $J=11,5, 5,5$; 1H, H-3), 5,88 (d, $J=5,5$; 1H, H-6), 9,66 (d, $J=1,5$; 1H, H-19).

RMN ¹³C: Ver Apéndice B.

3 β ,20 β -Diacetiloxi-5 α -bromo-6,19-oxidopregnano (113)



Se disolvió acetato de pregnenolona (3,1 g, 8,6 mmoles) en una solución de CH_2Cl_2 (75 ml) y metanol (75 ml) a 0°C . Se agregó NaBH_4 (0,6 g, 16 mmoles) y se agitó durante 90 minutos. La mezcla se neutralizó con HCl , se evaporó el solvente, se tomó con agua y se extrajo con CH_2Cl_2 para obtener 3 β ,20 β -dihidroxipreg-5-eno.

3 β ,20 β -dihidroxipreg-5-eno sin purificar (2,95 g) se disolvió en CH_2Cl_2 (2ml) a 0°C y se agregó TEA (4 ml), anhídrido acético (6 ml) y una punta de espátula de DMAP. Después de 12 horas de agitación se obtuvo 3 β ,20 β -diacetiloxi-5-pregnano (3,6 g, 94%, dos pasos, 20 β /20 α 9:1).

R_f=0,64 (ciclohexano-acetato de etilo 7:3)

Punto de fusión: 140-145 $^\circ\text{C}$

RMN ¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,65 (s, 3H, H-18), 1,12 (d, $J=5,8$; 3H, H-21), 2,01 (s, 3H, acetato), 2,03 (s, 3H, acetato), 4,60 (tt, $J=11, 5$; 1H, H-3), 4,84 (dq, $J=10,3, 6,0$; 1H, H-20), 5,39 (d, $J= 3,2$; 1H, H-6).

El compuesto **113** se sintetizó a partir de 3 β ,20 β -diacetiloxi-5-pregnano (3,6 g, 8,9 mmoles) de manera análoga al compuesto **92** con un rendimiento de 67% (3,0 g, 2 pasos).

R_f=0,55 (hexano-acetato de etilo 7:3)

Punto de fusión: 150-153 $^\circ\text{C}$ (etanol-agua)

IR ($\text{KBr}/\text{cm}^{-1}$): 2945, 1733, 1369, 1248, 1091, 1042.

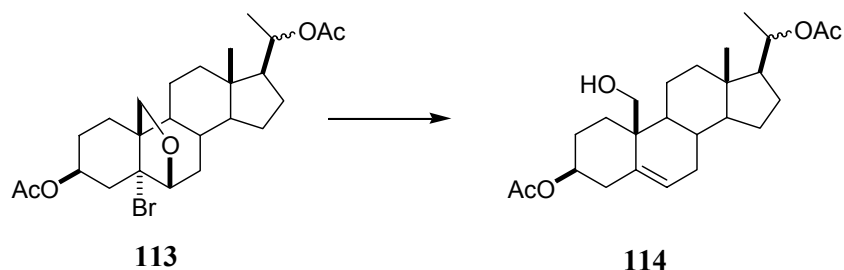
RMN ¹H: δ_H(200): 0,67 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, *J*=6,0; 3H, H-21), 2,01 (s, 3H, acetato), 2,03 (s, 3H, acetato), 3,76 (d, *J*=9,1; 1H, H-19), 3,99 (d, *J*=9,1; 1H, H-19), 4,84 (dq, *J*=10,3, 6,0; 1H, H-20), 5,20 (tt, *J*=11, 5; 1H, H-3).

RMN ¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 438 (M⁺-AcOH, 1), 436 (1), 399 (1), 357 (5), 297 (14), 267 (8), 121 (20), 43 (100).

Microanálisis: C₂₅H₃₇BrO₅ calculado C 60,4; H 7,5, obtenido C 60,4; H 7,5.

3β,20β-Diacetiloxi-19-hidroxi-5-pregneno (114)



Se disolvió **113** (0,100 g, 0,20 mmol) en isopropanol recientemente destilado (20 ml). Se agregó Zn en polvo (0,255 g) y la mezcla resultante se calentó a 75°C. Se agregó ácido acético (0,2 ml), la mezcla se agitó vigorosamente por 45 min a reflujo, se filtró y se evaporó el solvente. El residuo resultante se tomó con diclorometano, se lavó con NaHCO₃ acuoso y se secó con sulfato de sodio. La purificación por cromatografía flash dio *19-hydroxi esteroide 114* (0,059 g, 71%) homogéneo por tlc.

R_f=0,52 (hexano-acetato de etilo 7:3).

Punto de fusión: 70-74°C (etanol-agua).

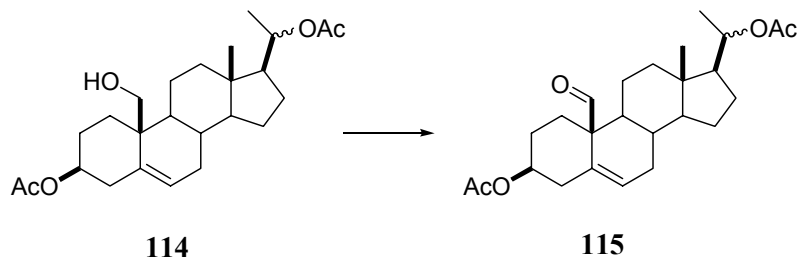
RMN ¹H: δ_H(200): 0,70 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, *J* = 6,0; 3H, H-21), 2,02 (s, 3H, acetato), 2,03 (s, 3H, acetato), 3,72 (d, *J*=12,3; 1H, Ha-19), 3,84 (d, *J*=12,3; 1H, Hb-19), 4,64 (tt, *J*=11,2, 5,1; 1H, H-3), 4,84 (dq, *J*=10,2, 6,0; 1H, H-20), 5,76 (d, *J*= 3,2; 1H, H-6).

RMN ¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 366 (7), 354 (2), 331 (4), 263 (4), 155 (19), 117 (20), 91 (32), 43 (100) .

Microanálisis: C₂₅H₃₈O₅ . H₂O: calculado: C 68, 8; H 9,2, obtenido C 69,1; H 9,3.

3 β ,20 β -Diacetiloxi-5-pregnen-19-al (115)



Una suspensión de clorocromato de piridonio (1,38 g, 6,4 mmol), carbonato de bario (0,83 g, 2,4 mmol) y tamiz molecular de 4Å (0,64 g) en diclorometano seco (95 ml), se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante 15 min; luego se agregó el compuesto **114** (0,667 g, 1,60 mmol). Después de una hora se diluyó la mezcla con éter etílico y se la filtró a través de un lecho sílica gel lavando con éter. La evaporación del solvente dio el aldehído **115** (0,638 g, 96%) homogéneo por TLC.

Rf=0,63 (hexano-acetato de etilo 7:3).

Punto de fusión: 100-105°C (*i*-PrOH).

IR (KBr/cm⁻¹): 2939, 2871, 2368, 1732, 1244, 1032.

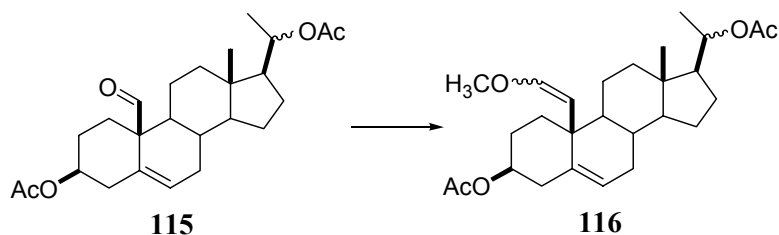
RMN ¹H: δ_H (500) 0,59 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, $J=6,0$; 3H, H-21), 2,00 (s, 3H, acetato), 2,01 (s, 3H, acetato), 4,59 (tt, $J=5,2, 11,1$; 1H, H-3), 4,81 (dq, $J=6,0, 10,3$; 1H, H-20), 5,87 (m, 1H, H-6), 9,65 (d, $J=1,2$; 1H, H-19).

RMN ¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 416 (M⁺, 0.1), 356 (10), 327 (34), 267 (78), 143 (43), 91 (46), 43 (100).

Anal. calcd. para C₂₅H₃₆O₅: C 72,1; H 8,7. Obtenido C 71,9; H 8,9.

3 β , 20 β -Diacetiloxi-19-metoximetilidén-5-pregнено (116)



Para todos los ensayos realizados, el aldehído **115** fue previamente recristalizado (*i*-PrOH). Tanto la preparación de los iluros como las reacciones con el esteroide se realizaron bajo atmósfera de nitrógeno seco. Los solventes fueron destilados y secados antes de usar.

Método 1 (Tabla 3.1, entrada 1, página 68):

Iluro: Se disolvió cloruro de metoximetilidéntriphenilfosfina (1,035 g, 3,2 mmoles) en THF seco (5 ml) a 0°C y se agregó n-BuLi (3,5 ml conteniendo 8,8 mmoles) obteniéndose una solución color rojo oscuro.

Reacción: **115** (407 mg, 0,98 mmoles) se disolvió en THF (4 ml). Se agregó la solución de iluro preparada anteriormente (3 equivalentes) y se dejó reaccionar por 30 minutos a temperatura ambiente. Se llevó la solución a 40°C durante una hora y luego se la dejó volver a temperatura ambiente. Se repitió dos veces el procedimiento anterior agregado 1 equivalente de iluro cada vez (total 5 equivalentes agregados). Se agregó NH₄Cl (ss) y se extrajo con éter etílico. Se purificó por CF (hexano: acetato de etilo 8:2).

Método 2 (Tabla 3.1, entrada 2, página 68):

Iluro: Se preparó de la misma manera que en el método 1.

Reacción: **115** (500 mg, 1,2 mmoles) se disolvió en THF (4 ml) y se trató de la misma manera que en el método 1, pero haciendo 3 agregados de 5 equivalentes de iluro cada vez (15 equivalentes de iluro en total). Se agregó NH₄Cl (ss) y se extrajo con CH₂Cl₂. Se purificó por CF (hexano: acetato de etilo 8:2).

Método 3 (Tabla 3.1, entrada 3, página 68):

Iluro: Se preparó de la misma manera que en el método 1.

Reacción: **115** (50 mg, 0,12 mmoles) se disolvió en THF (1,2 ml) y se agregaron 3 equivalentes de iluro a temperatura ambiente. Se agregó NH₄Cl (ss) y se extrajo con CH₂Cl₂. Se purificó por CF (hexano: acetato de etilo 9:1).

Método 4 (Tabla 3.1, entrada 4, página 68):

Iluro: Cloruro de metoximetilidéntrifenílfosfina (126 mg, 0,37 mmoles) se disolvió en éter etílico seco (0,6 ml) y se agregó n-BuLi (0,27 ml conteniendo 0,6 mmoles) obteniéndose una solución color rojo oscuro.

Reacción: 115 (50 mg, 0,123 mmoles) se disolvieron en éter etílico (1,2 ml) a 0°C y se agregó el iluro preparado anteriormente (3 eq). Luego de 90 minutos de agitación se agregó a la solución NH₄Cl y se extrajo con éter etílico. Se purificó por CCD preparativa (hexano: acetato de etilo 6:4).

Método 5 (Tabla 3.1, entrada 5, página 68):

Iluro: Cloruro de metoximetilidéntrifenílfosfina (200 mg, 0,62 mmoles) se disolvió en tolueno seco (2 ml), se agregó un exceso de NaNH₂ (50 mg, 1,16 mmoles) y se pulverizó en el tubo con una varilla bajo una corriente de nitrógeno. La mezcla se sonicó en un baño ultrasónico durante 30 minutos obteniéndose una solución color rojo oscuro que luego se centrifugó.

Reacción: 115 (43 mg, 0,106 mmoles) se disolvió en tolueno seco (0,4 ml) bajo atmósfera de nitrógeno seco. A esta solución se agregó la solución de iluro (2,0 ml conteniendo 5,6 equivalentes de iluro) en cuatro agregados durante 2 días mientras se agitaba a temperatura ambiente. El crudo de reacción se dividió en dos partes iguales. Una de ellas se introdujo en una columna cromatográfica sin tratamiento previo y se eluyó con una mezcla de hexano: acetato de etilo (9:1) para obtener **116** (15 mg, 64 %) como una mezcla de isómeros E/Z (10:1 determinado por RMN ¹H) y trazas de **115** sin reaccionar. La otra porción se trató con NH₄Cl (ss), se extrajo con CH₂Cl₂ y se evaporó el solvente obteniéndose **115** sin reaccionar (9 mg, 20%) contaminados con **116-E** (99:1 por RMN ¹H).

Método 6 (Tabla 3.1, entrada 6, página 68):

Iluro: se preparó de la misma manera que en el método 5.

Reacción: 115 (90 mg, 0,126 mmoles) se disolvió en tolueno seco (0,9 ml). A esta solución se agregó una porción de solución de iluro (0,4 ml conteniendo 1 equivalente de iluro) y se agitó a temperatura ambiente. A las dos horas se agregó otra porción de iluro y la mezcla se agitó durante 6 días más. El crudo de reacción se introdujo en una columna

cromatográfica sin tratamiento previo y se eluyó con una mezcla de hexano: acetato de etilo (9:1) para obtener **116** (54 mg, 56,2 %) como una mezcla de isómeros E/Z (10:1 determinado por RMN ¹H) y **115** sin reaccionar (9mg, 9%). Posterior elución con hexano: acetato de etilo (8:2) dio los derivados 3-hidroxilados de **116-E** (5mg, 6%) y de **115** (8mg, 10%).

Método 7 (Tabla 3.1, entrada 7, página 68):

Iluro: Se siguió el mismo procedimiento que en el método 6 y posteriormente la suspensión desgasificó al vacío (0,5 torr).

Reacción de Wittig: A una solución del aldehído **115** (0,5 g, 1,2 mmoles) en tolueno seco (0,5 ml), se agregaron 5 ml de la solución del iluro (1,5 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas. Se agregó una segunda porción de solución de iluro (5 ml) y se continuó agitando durante 16 horas más. La mezcla de reacción se volcó directamente en una columna de sílica gel. Elución con hexano-acetato de etilo 9:1 dio el enol éter **116** (0,4 g, 75%) como una mezcla de isómeros E/Z (11:1 determinado por RMN ¹H).

Isómero E: R_f=0,60 (hexano-acetato de etilo 7:3).

Punto de fusión: 132-136°C (*i*-PrOH).

IR (KBr/cm⁻¹): 2939, 2360, 1732, 1244, 1034.

RMN¹H: Ver **Tabla 7.3**, página 71.

RMN¹³C: Ver **Apéndice B**.

EM (m/z, %): 384 (M⁺-AcOH, 22), 326 (48), 266 (12), 162 (29), 130 (37), 3891 (46), 43 (100).

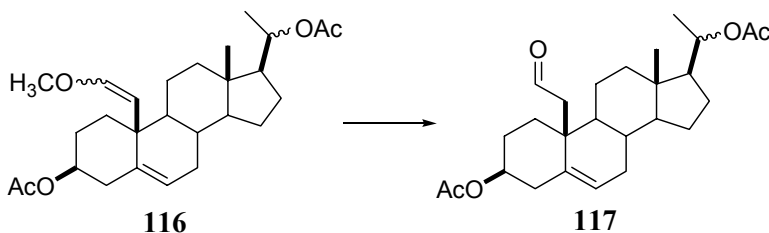
Microanálisis: C₂₇H₄₀O₅: calculado C 72,9; H 9,1, obtenido C 72,9; H 9,0.

Isómero Z: R_f=0.62, hexano-acetato de etilo 7:3)

RMN¹H: δ_H(500): 0,61 (s, 3H, H-18), 1,15 (d, *J*=6,1; 3H, H-21), 2,01 (s, 3H, acetato), 2,02 (s, 3H, acetato), 3,50 (s, 3H, CH₃O), 4,62 (tt, *J*=5,2, 11,1; 1H, H-3), 4,83 (dq, *J*=6,1, 11,2; 1H, H-20), 5,36 (dd, *J*= 2,0, 3,1; 1H, H-6), 3,88 (d, *J*=7,3; 1H, H-19), 5,91 (d, *J*=7,3; 1H, H-19a).

Posterior elución con hexano- acetato de etilo 6:4 dio 20 β -acetiloxi-3 β -hidroxi-19-(metoximetiliden)-pregn-5-ene (77 mg, 16%) como una mezcla E/Z (5:1 determinado por RMN ¹H), la cual por acetilación (anhídrido acético piridina) dio **116** (79 mg, 93 %).

3 β ,20 β -Diacetiloxi-5-pregnen-19-carboxaldehído (117)



A una solución del enol éter **116** (0,200 g, 0,449 mmol) en acetona (8 ml), se agregó ácido clorhídrico 4N aq. (0,8 ml) y se agitó la mezcla resultante por 16 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Luego de neutralizar la mezcla con NaHCO₃, se evaporó el solvente, se agregó agua, se extrajo con diclorometano, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó el solvente. La mezcla obtenida se redisolvió en diclorometano y se acetiló con anhídrido acético (0,6 ml) y piridina (0,6 ml) durante 16 horas a temperatura ambiente. El tratamiento habitual de la mezcla de reacción rindió el aldehído **1170** (0,19 g, 98%).

R_f=0,44 (hexano-acetato de etilo 7:3).

IR: (KBr/cm⁻¹): 2938, 1726, 1384, 1248, 1034

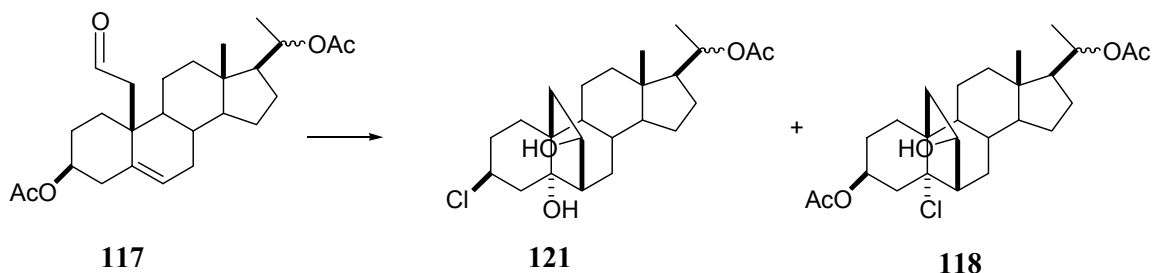
RMN¹H: Ver Apéndice C.

RMN¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %) 370 (M⁺-AcOH, 3), 326 (19), 266 (8), 142 (21), 43 (100).

Este compuesto se descompuso al calentar en solvente por lo que no pudo ser recristalizado.

3 β ,20 β -Diacetiloxi-5 α -cloro-19a(R)-hidroxi-6,19-metanopregnano (118) y 20 β -acetiloxi-3 β -cloro-5 α ,19a(R)-dihidroxi-6,19-metanopregnano (121)



A una solución de **117** (0,32 g, 0,744 mmol) en diclorometano seco (11 ml) enfriando a -70°C , se agregó una solución de TiCl_4 (1 ml) en diclorometano (10 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción fue agitada a -30°C por 2h, se agregó una mezcla *i*-PrOH-agua 1:3 (12 ml) y se continuó agitando la solución resultante a 0°C por 15 min. La fase orgánica se lavó con agua y NaHCO_3 acuoso, se secó, filtró y concentró para dar los *6,19*-metano esteroides **121** y **118** (1:4 por RMN ^1H). Una alícuota se purificó por CF dando:

121:

R_f=0,43 (hexano-acetato de etilo 6:4).

RMN ^1H : Ver Apéndice C.

RMN ^{13}C : Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 388 ($\text{M}^+ - \text{HCl}$, 1), 370 ($\text{M}^+ - \text{HCl} - \text{H}_2\text{O}$, 18), 326 (100), 266 (57).

118:

R_f=0,25 (hexano-acetato de etilo 6:4)

Punto de fusión: $110-115^{\circ}\text{C}$ (etanol-agua)

IR: ($\text{KBr}/\text{cm}^{-1}$): 3415, 2938, 2360, 1733, 1255, 1084, 1034

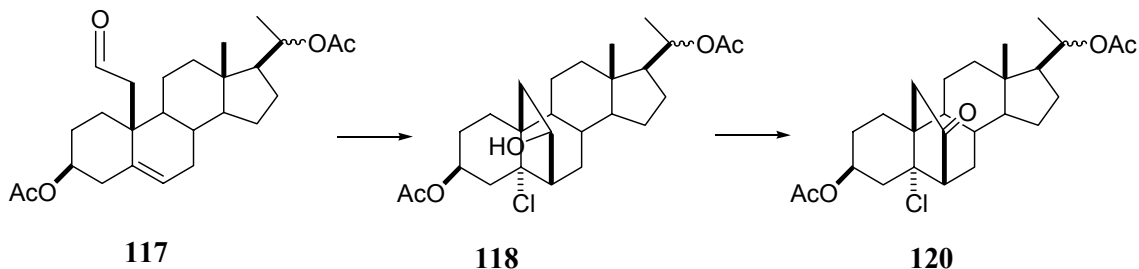
RMN ^1H : Ver Apéndice C.

RMN ^{13}C : Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 448 ($(\text{M}+2)^+$, 0,2), 446 (M^+ , 0,7), 408 ($(\text{M}+2)^+ - \text{AcOH}$, 1), 406 ($\text{M}^+ - \text{AcOH}$, 4), 369 ($\text{M}^+ - \text{AcOH} - \text{HCl}$, 5), 326 (12), 266 (14), 43 (100).

Microanálisis: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{ClO}_5$: calculado: C 66,9; H 8,4, obtenido C 66,6; H 8,4.

3 β ,20 β -Diacetiloxi-5 α -cloro-19a-oxo-6,19-metanopregnano (120)



117 (35 mg, 0,080 mmoles) se trató con TiCl_4 en CH_2Cl_2 como se indica en la descripción anterior. El crudo de la reacción se oxidó con PCC en CH_2Cl_2 en las mismas condiciones con las que se oxidó **114** a **115** (página 178). Después de purificar por CCD preparativa se obtuvo **120** (7 mg, 19%, dos pasos).

R_f=0,69 (hexano-acetato de etilo 1:1)

Punto de fusión: 125-127 °C (etanol-agua)

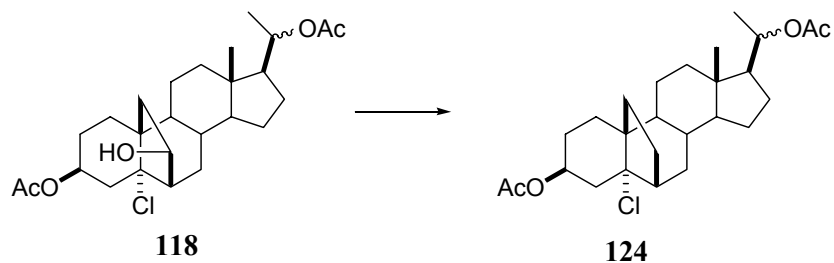
RMN¹H: Ver **tabla 3.5**, página 84.

RMN¹³C: Ver **tabla 3.5**, página 84.

EM (m/z, %): 466 (M^{+2} , 0,10), 464 (M^+ , 0,25), 406 ($(\text{M}+2)^+$ - AcOH, 3), 404 (M^+ - AcOH, 7), 389 (2,8), 375 (1,4), 368 (M^+ - AcOH-HCl, 2), 362 (0,64), 344 (M^+ - 2AcOH, 0,76), 308 (M^+ - 2AcOH-HCl, 2), 134 (13), 55 (22), 43 (100).

EMAR: $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{ClO}_5$ (M^+): calculado: 464,2392, obtenido 464,2395.

3 β , 20 β -Diacetiloxi-5 α -cloro-6,19-metanopregnano (124)



A una solución de la mezcla cruda de **121** y **118** (0,300 g) en DMF (2,53 ml), se agregaron DBU (0,361 ml, 2,42 mmol) y CS_2 (3,35 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar la mezcla durante 90 min a temperatura ambiente, se agregó ioduro de

metilo (6,21 ml) y se dejó otros 90 minutos. El exceso de ioduro de metilo se evaporó bajo una corriente de nitrógeno y la mezcla se lavó con KHSO_4 (ss), se extrajo con AcOEt y se evaporó el solvente a sequedad. El producto crudo de esta reacción se purificó parcialmente por CF para eliminar el sulfuro de metilo formado como subproducto de la reacción, obteniéndose 0,216 g de una mezcla de xantatos.

El producto crudo de la reacción anterior (0,216 g) se disolvió en tolueno seco (3,1 ml) y se agregó difenilsilano (0,163 ml, 0,885 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno. A la solución resultante, calentada a 90°C , se agregaron 10 porciones de 0,336 ml de una solución de AIBN en tolueno (44 mg/ml) a intervalos de 30 min. Transcurridos otros 30 minutos, la mezcla fue evaporada y purificada por CF obteniéndose el *metano esteroide* **124** (0,125 g, 37%, tres pasos).

R_f=0,49 (hexano-acetato de etilo 8:2)

Punto de fusión: 121-124°C (etanol-agua)

IR: ($\text{KBr}/\text{cm}^{-1}$): 2945, 1740, 1369, 1241, 1091, 1035

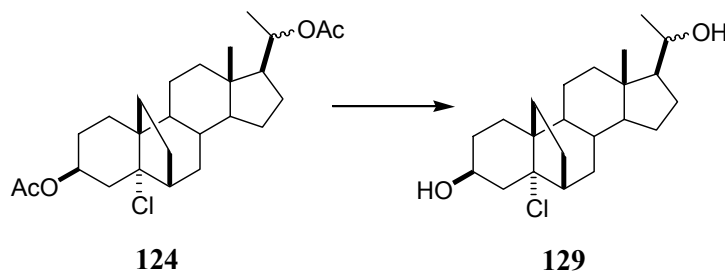
RMN¹H: Ver **tabla 3.9**, página 100.

RMN¹³C: Ver **Apéndice B**.

EM (m/z, %): 450 (M^+ , 0,14), 414 ($\text{M}^+ - \text{HCl}$, 0,7), 330 (14), 137 (37), 119 (42), 55 (87), 43 (100).

Microanálisis: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{ClO}_4$: calculado: C 69,2; H 8,7, obtenido C 69,0; H 8,7.

3β, 20β-Dihidroxi-5α-cloro-6,19-metanopregnano (**129**)



Se agitó el diacetato **124** (0,032 g, 0,07 mmol) con hidruro de aluminio y litio (0,048 g, 1,3 mmol) en éter etílico seco (0,7 ml) durante 90 min bajo atmósfera de nitrógeno.

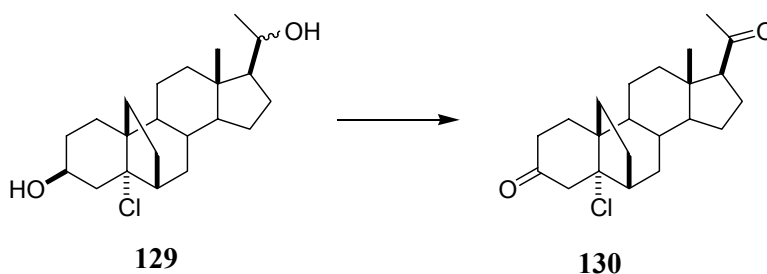
Después de agregar acetato de etilo, la mezcla se lavó con KHSO_4 acuoso y se extrajo con éter etílico obteniéndose el *diol* **129** (0,025 g, 97%).

$R_f=0,43$, hexano-acetato de etilo 1:1

RMN^1H : $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,77 (s, 3H, H-18), 1,12 (d, $J=6,1$; 3H, H-21), 3,70 (dq, $J=6,1, 10,2$; 1H, H-20), 4,05 (tt, $J=5,2, 11,1$; 1H, H-3).

RMN^{13}C : Ver Apéndice B.

5 α -Cloro-6,19-metanopregnan-3, 20-diona (**130**)



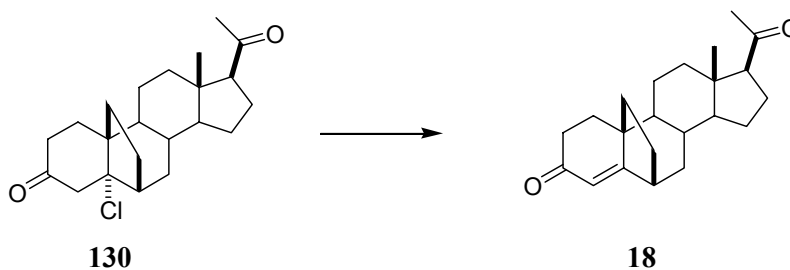
El compuesto **129** (0,059 g, 0,15 mmol) fue oxidado con clorocromato de piridonio, de la manera descrita anteriormente para el compuesto **114** (página 178), dando la *dicetona* **130** (0,051 g, 93%).

$R_f=0,61$ (hexano-acetato de etilo 1:1).

RMN^1H : $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,67 (s, 3H, H-18), 2,12 (s, 3H, H-21)

RMN^{13}C : Ver Apéndice B.

6,19-metanoprogesterona (**18**)



Una solución de la dicetona **130** (0,050 mg, 0,138 mmol) en diclorometano (2,8 ml) se agitó durante 3 horas en presencia de alúmina básica (0,3 g). Después de filtrar, evaporar el solvente y purificar por cromatografía flash, se obtuvo *6,19-metanoprogesterona* **18** (0,035 g, 70%).

R_f=0,40 hexano-acetato de etilo 6:4

Punto de fusión: 125-127°C (etanol-agua)

IR (KBr/cm⁻¹): 2930, 1740, 1697, 1661, 1447, 1248, 1077, 1034

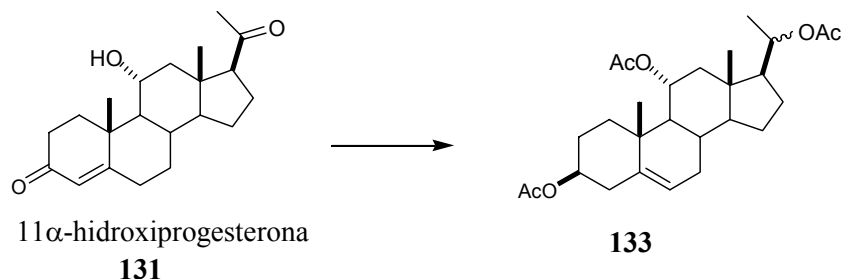
RMN¹H: Ver tabla 3.10, página 102.

RMN¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 326 (M⁺, 23), 284 (16), 241 (16), 147 (17), 135 (34), 43 (100).

Microanálisis: C₂₂H₃₀O₂: calculado: C 80,9; H 9,3, obtenido C 81,1; H 9,3.

3β,11α,20β-Triacetiloxipregn-5-eno (133)



Una solución de 11α-hidroxiprogesterona **131** (5,0 g, 15.1 mmoles) en anhídrido acético (100 ml) y cloruro de acetilo (150 ml) se agitó durante 90 minutos a 70-75 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La evaporación del solvente dio el enol éter **132** (6,65g), el cual se disolvió en etanol 95% (450 ml) y se enfrió a 5°C. Se agregó una solución de borohidruro de sodio (7,64 g, 0,2 moles) en etanol (300 ml) y agua (280 ml) a 5°C, seguido de una solución de NaOH 10% en cuatro porciones durante un período de 60 minutos. La reacción agitó durante 90 minutos y luego se cortó agregando HCl 1N hasta llegar a pH=5, se concentró, se diluyó con agua, se extrajo con CH₂Cl₂ y se evaporó el solvente para obtener 11α-acetiloxi-3β,20β-dihidroxipregn-5-eno.

El producto crudo de la reacción anterior (6,0 g) se disolvió en CH₂Cl₂ (20 ml), anhídrido acético (8 ml) y TEA (12 ml) y se agitó en presencia de una cantidad catalítica de DMAP durante 60 minutos. Se volcó el crudo de reacción sobre agua y se extrajo con CH₂Cl₂. La mezcla se purificó por CF para obtener **133** (4,52 g, 65% a partir de 11α-hidroxiprogesterona).

R_f=0,40 (hexano-acetato de etilo 1:1).

Punto de fusión: 122-124°C (etanol-agua)

IR (KBr/cm⁻¹): 2980, 1747, 1377, 1241, 1041, 756

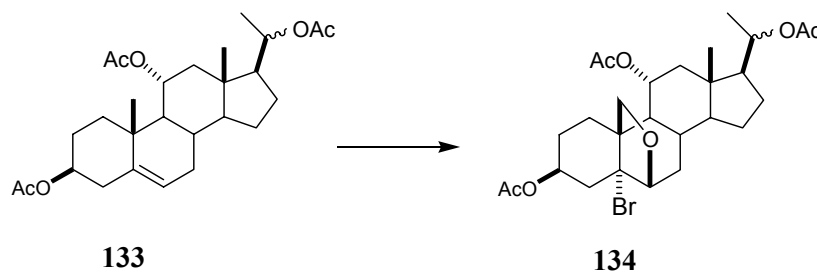
RMN¹H: Ver Apéndice C.

RMN¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 400 (M⁺-AcOH, 10), 340 (M⁺-2AcOH 1,5), 325 (1,5), 280 (M⁺-3AcOH, 3), 265 (7,6), 105 (12), 43 (100).

EMAR: C₂₇H₄₄NO₆ (M+NH₄⁺): calculado: 478,3169, obtenido 478,3147.

3β,11α,20β-Triacetiloxi-5α-bromo-6,19-oxidopregnano (134)



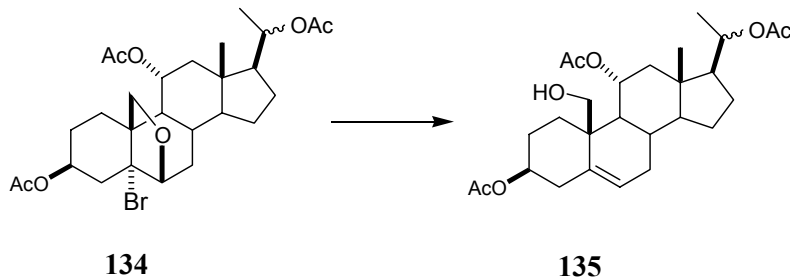
El compuesto **134** se sintetizó a partir de **133** (2,5 g, 5,23 mmoles) en las mismas condiciones que las utilizadas para la síntesis del compuesto **92** (página 173). Una alícuota de la reacción se recrystalizó de isopropanol:agua dando:

R_f=0,45 (tolueno-acetato de etilo 5:2).

Punto de fusión: 95-97°C (isopropanol-agua)

RMN¹H: δ_H(200): 0,72 (s, 3H, H-18), 1,14 (d, J= 6,2; 3H, H-21), 4,04 (d, J= 4,0; 1H, H-6), 1,99 (s, 3H, acetato), 2,02 (s, 3H, acetato), 2,09 (s, 3H, acetato), 3,76 (dt, J= 9,0; 1H; H-19), 3,99 (d, J=9,0; 1H; H-19'), 4,67-5,25 (m, 3H; H-3,11,20).

3β,11α,20β-Triacetiloxi-19-hidroxi-5-pregnano (135)



El crudo de la reacción anterior se trató de manera análoga a **92** (página 174). Después de purificar por CF se obtuvo **135** (0,953 g, 37% a partir de **133**, tres pasos).

$R_f=0,20$ (ciclohexano -acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 86-88°C (i-PrOH:agua)

IR (KBr/cm⁻¹): 3458, 2952, 2867, 1747, 1384, 1248, 1027

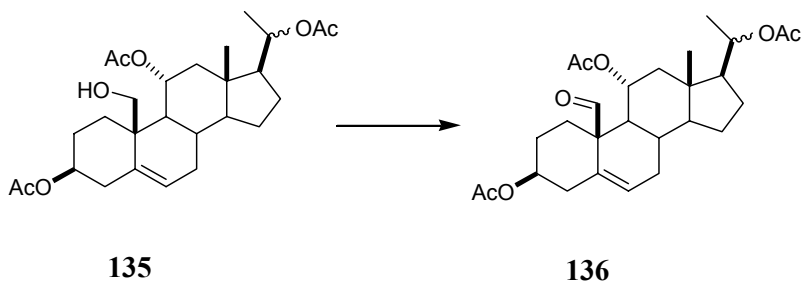
RMN¹H: Ver Apéndice C

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 476 (M⁺, 0.1), 416 (M⁺-AcOH, 2), 386 (5), 356 (M⁺-2AcOH, 3), 326 (100), 296 (M⁺-3AcOH, 3), 266 (34), 267 (78), 143 (33), 91 (34).

Microanálisis: Anal. calcd. para C₂₇H₄₀O₇: C 68, 0; H 8,5. Obtenido C 67,9; H 8,7.

3β,11α,20β-Triacetiloxi-5-pregnen-19-al (136)



La oxidación de **135** (0,94 g, 1,97 mmoles) según las mismas condiciones con las que se oxidó **114** a **115** (página 178), llevó al compuesto **136** (0,85g, 90%)

$R_f=0,45$ (ciclohexano- acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 145-146°C (hexano: CH₂Cl₂)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2924, 1740, 1655, 1384, 1248, 1035

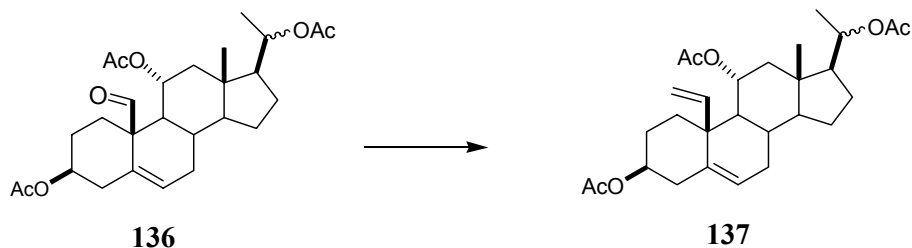
RMN¹H: Ver Apéndice C.

RMN¹³C: Ver Apéndice B.

EM (m/z, %): 474 (M⁺, 0,4), 432 (3), 414 (M⁺-AcOH, 0,4), 386 (5), 354 (M⁺-2AcOH 7), 326 (M⁺-2AcOH-CO,100), 294 (M⁺-3AcOH, 6), 280 (10), 266 (56), 143 (52), 91 (51), 55 (74).

Microanálisis: Anal. calcd. para C₂₇H₃₈O₇: C 68,3; H 8,1. Obtenido C 68,1; H 8,2.

3 β ,11 α ,20 β -Triacetiloxi-19-metilidén-5-pregнено (137)



El iluro de bromuro de metiléntrifenilfosfonio se preparó según el procedimiento utilizado para la síntesis de **116** (método 7, página 181). Se agregó un equivalente de iluro a **136** (53 mg, 0,112 mmoles) disuelto en tolueno (0,5 ml) y se agitó la reacción durante 30 minutos. La elución directa de la mezcla de reacción a través de una columna de sílica gel dio **137** (44 mg, 83%).

R_f=0,59 (ciclohexano-acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 103-105°C (*i*-PrOH : agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2952, 2881, 1733, 1377, 1255, 1035

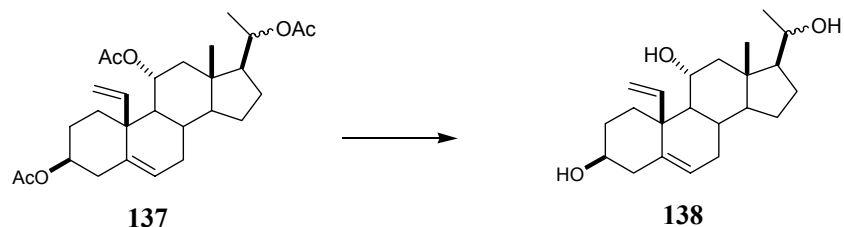
RMN¹H: Ver tabla 4.1, página 117.

RMN¹³C: δ_C(500): Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 472 (M⁺, 0,1), 412 (M⁺-AcOH, 18), 352 (M⁺-2AcOH, 55), 310 (25), 292 (M⁺-3AcOH, 99), 277(39), 263 (48), 169 (54), 131 (68), 117 (63), 91 (100).

EMAR: C₂₈H₄₄NO₆ (M+NH₄⁺): calculado: 490,3169, obtenido 490,3168.

3 β ,11 α ,20 β -Trihidroxi-19-metilidén-5-pregнено (138)



137 (0,054 g, 0,125 mmoles) se disolvió en metanol (8,6 ml), se agregó solución de NaOH 10% (0,8 ml) y se agitó durante 2 días a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con HCl, se extrajo con éter y se evaporó el solvente obteniéndose **138** (42 mg, 97%).

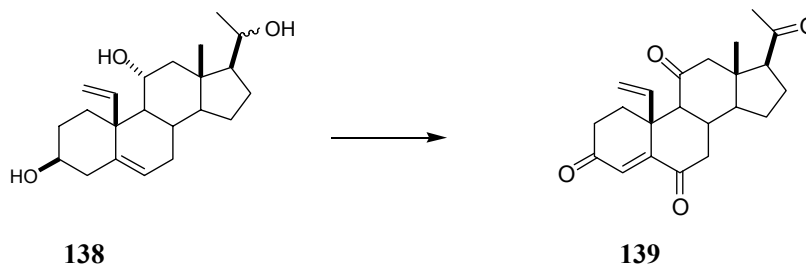
$R_f=0,43$ (metanol-acetato de etilo 5:95).

Punto de fusión: 161-162°C (*i*-PrOH : agua)

RMN¹H: $\delta_H(200)$ 0,69 (s, 3H, H-18), 1,13 (d, $J=6,2$; 3H, H-21), 3,54 (tt, $J=5,0, 10,8$; 1H, H-3), 3,69 (dq, $J=6,2, 11,0$; 1H, H-20), 3,95 (dt, $J=5,2, 11,0$; 1H, H-11), 5,01 (dd, $J=1,8, 17,5$; 1H, H-19a), 5,33 (dd, $J=2,0, 10,6$; 1H, H-19a'), 5,63 (d, $J=5,5$; 1H, H-6), 5,88 (dd, $J=10,6, 17,5$; 1H, H-19).

RMN¹³C: $\delta_C(500)$: Ver Apéndice B

19-Metilidén-4-pregnen-3,6,11,20-tetraona (139)



Método A: La oxidación con PCC de **138** (25 mg, 0,072 mmoles) según las mismas condiciones con las que se oxidó **114** a **115**, llevó al compuesto **139** (14 mg, 54%).

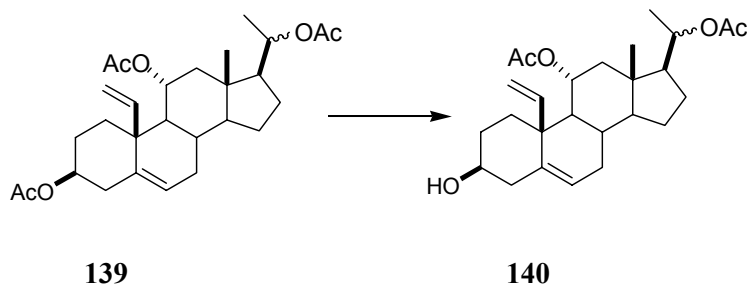
Método B: Se disolvió **138** (11 mg) en acetona (1 ml) y se agregó el reactivo de Jones (0,044 ml de una solución de 27 mg de CrO₃ en 23 ml de H₂SO₄ (c) y 100 ml de agua) gota a gota mientras se burbujeaba nitrógeno en la solución. Después de 90 minutos, se cortó la reacción agregando *i*-PrOH, se redujo el volumen de solvente a la mitad, se agregó agua y se extrajo con CH₂Cl₂ para obtener de **139** (7 mg, 56%)

$R_f=0,40$ hexano-acetato de etilo 3:7.

RMN¹H: $\delta_H(200)$ 0,64 (s, 3H, H-18), 2,13 (s, 3H, H-21), 4,87 (d, $J=17,9$; 1H, H-19a), 5,33 (d, $J=10,6$; 1H, H-19a'), 6,35 (dd, $J=10,6, 17,5$; 1H, H-19), 6,47 (s, 1H, H-4).

RMN¹³C: $\delta_C(500)$: Ver Apéndice B

3 β -Hidroxi-11 α ,20 β -diacetiloxi-19-metilidén-5-pregнено (140)



Se disolvió **139** (430mg, 0,91 mmol) en una solución de THF (3ml) y metanol (3 ml). Se agregó K₂CO₃ 10% (0,36 ml) y se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl, se extrajo con CH₂Cl₂, se secó y se evaporó el solvente para dar **140** (426 mg, 97%).

R_f=0,52 (hexano-acetato de etilo 1:1).

Punto de fusión: 134-136°C (*i*-PrOH : agua)

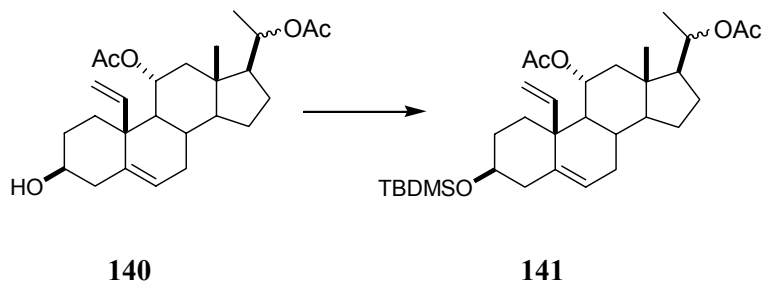
IR: (KBr/cm⁻¹): 3422, 2324, 2874, 1740, 1640, 1391, 1241, 1027

RMN¹H: δ_H (500) 0,596 (s, 3H, H-18), 1,135 (d, $J=6,2$; 3H, H-21), 1,986 (s, 3H, acetato), 2,027 (s, 3H, acetato), 3,522 (tt, $J=5,0, 11,1$; 1H, H-3), 4,746 (dq, $J=6,2, 11,1$; 1H, H-20), 4,996 (dd, $J=1,8, 17,9$; 1H, H-19a), 5,063 (dt, $J=5,2, 11,0$; 1H, H-11), 5,371 (dd, $J=1,8, 10,8$; 1H, H-19a'), 5,650 (d, $J=5,0$; 1H, H-6), 5,652 (dd, $J=10,8, 17,9$; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 430 (M⁺, 4), 370 (M⁺-AcOH, 32), 310 (M⁺-2AcOH, 54), 295 (24), 263 (48), 169 (54), 131 (68), 117 (63), 91 (100).

3 β -Terbutildimetilsilil-11 α ,20 β -diacetiloxi-19-metilidén-5-pregнено (141)



Se disolvió **140** (376 mg, 0,87 mmol) en diclorometano (4,7 ml). Se agregó a la solución dimetilformamida (9,0 ml), imidazol (470 mg, 8 eq) y cloruro de terbutildimetilsililo (705 mg, 9 eq), y se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 1h. La mezcla resultante se volcó sobre agua, se extrajo con éter etílico y se lavó con NaCl (ss). Se purificó por CFCS eluyendo con ciclohexano-acetato de etilo 9:1, obteniéndose el producto **141** (430 mg, 91%).

R_f=0,70 (ciclohexano-acetato de etilo 1:1).

Punto de fusión: 129-131°C (*i*-PrOH : agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2945, 2859, 2332, 1733,, 1377, 1248, 1091, 1027, 863, 795.

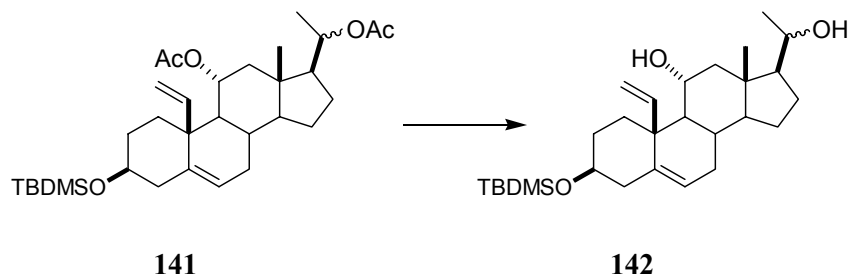
RMN¹H: Ver Apéndice C.

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 544 (M⁺, 0,3), 427 (M⁺-TBDMS, 86), 367(M⁺-AcOH- TBDMS, 40), 293 (34), 117 (29), 75 (100).

Microanálisis: Anal. calcd. para C₃₂H₅₂O₅Si: C 70,5; H 9,6. Obtenido C 70,3; H 8,9.

3β-Terbutildimetilsiloxi-11α,20β-dihidroxi-19-metilidén-5-pregneno (142)



Se agitó **141** (550mg, 1,03 mmol) disuelto en metanol (136 ml) en presencia de NaOH 10% (16,3 ml) durante 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con ácido acético en frío, se evaporó el metanol y se extrajo con éter para dar **142** (407 mg, 87%).

R_f=0,27 (hexano-acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 95-97°C (*i*-PrOH : agua)

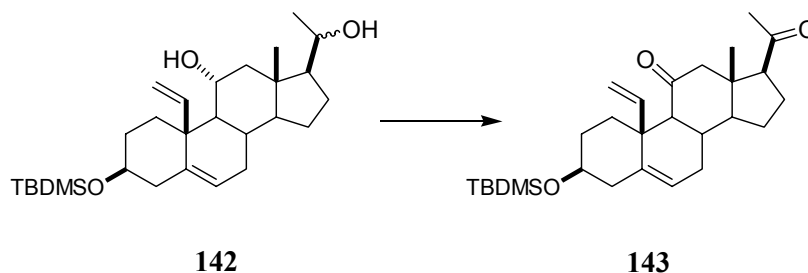
IR: (KBr/cm⁻¹): 3287, 2966, 2931, 2867, 2339, 1255, 1099, 835, 778.

RMN¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,04 (s, 6H, ((CH₃)₂Si del TBDMS), 0,67 (s, 3H, H-18), 0,89 (s, 9H, (CH₃)₃CSi del TBDMS), 1,14 (d, $J=5,8$; 3H, H-21), 3,50 (tt, $J=5,2$, 11,0; 1H, H-3), 3,66 (dq, $J=5,8$, 11,1; 1H, H-20), 4,99 (dd, $J=1,8$, 18,1; 1H, H-19a), 3,93 (dt, $J=5,1$, 10,0; 1H, H-11), 5,30 (dd, $J=1,8$, 10,9; 1H, H-19a'), 5,86 (dd, $J=10,9$, 18,1; 1H, H-19), 5,60 (d, $J=5,2$; 1H, H-6).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 460 (M⁺, 0,6), 403 (58), 385 (14), 311 (14), 293 (21), 171 (27), 75 (100).

3 β -Terbutildimetilsililoxi- 19-metilén-5-pregnen-11,20-diona (143)



La oxidación de **142** (770 mg, 1,67mmoles) según las mismas condiciones con las que se oxidó **114** a **115** (página 178) dio, luego de tres horas de reacción, la *dicetona* **143** (0,611 g, 80%) homogénea por tlc.

R_f=0,77 (ciclohexano-acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 117-119°C (*i*-PrOH : agua)

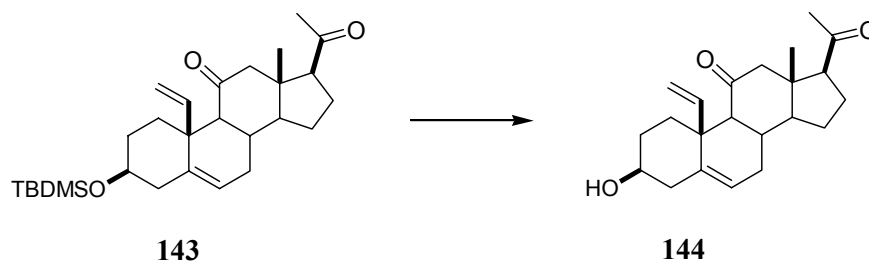
IR: (KBr/cm⁻¹): 2959, 2924, 2852, 1704, 1092, 878, 849, 771.

RMN¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,04 (s, 6H, ((CH₃)₂Si del TBDMS), 0,49 (s, 3H, H-18), 0,87 (s, 9H, (CH₃)₃CSi del TBDMS), 2,10 (s; 3H, H-21), 3,48 (tt, $J=5,2$, 11,0; 1H, H-3), 4,90 (dd, $J=2,0$, 18,0; 1H, H-19a), 5,23 (dd, $J=2,0$, 11,1; 1H, H-19a'), 5,58 (d, $J=5,1$; 1H, H-6), 6,17 (dd, $J=11,1$, 18,0; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 456 (M⁺, 0,2), 441 (1), 399 (59), 385 (14), 371 (6), 75 (100).

3 β -Hidroxi-19-metilidén-5-pregnen-11,20-diona (144)



Una solución de **143** (589 mg, 1.29 mmoles) en THF (44 ml), se agitó en presencia de HCl 4N (4 ml) durante 90 minutos. El crudo de reacción se neutralizó con NaHCO₃, se extrajo con diclorometano, se secó y se purificó por CFCS eluyendo con ciclohexano-acetato de etilo 6:4. Se obtuvo el compuesto **144** (376 mg, 85%), homogéneo por tlc.

R_f=0,20 (ciclohexano-acetato de etilo 6:4)

Punto de fusión: 153-155°C (*i*-PrOH : agua)

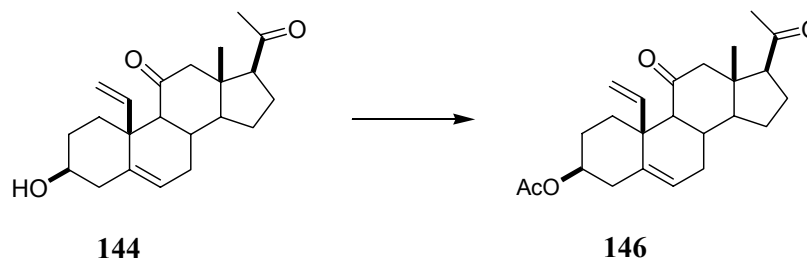
IR: (KBr/cm⁻¹): 3408, 2974, 2924, 2859, 2325, 1712, 1370, 1063, 999.

RMN¹H: δ_H (200): 0,50 (s, 3H, H-18), 2,10 (s, 3H, H-21), 3,54 (tt, *J*=5,0, 11,0; 1H, H-3), 4,93 (dd, *J*=1,9, 17,8; 1H, H-19a), 5,25 (dd, *J*=1,9 10,7; 1H, H-19a'), 5,62 (d, *J*=4,9; 1H, H-6), 6,19 (dd, *J*=10,7, 17,8; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 342 (M⁺, 34), 325 (6), 298 (100), 286 (35), 269 (26), 237 (39), 195 (25), 131 (52), 117 (68), 91 (98).

3 β -Acetiloxi-19-metilidén-5-pregnen-11,20-diona (146)



Se disolvió **144** (376 mg, 0,96 mmol) en diclorometano (67,2 ml), se agregó anhídrido acético (13,4 ml) y piridina (13,4 ml) y se dejó reaccionar la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente. Se volcó el producto crudo de reacción sobre HCl 1N y se extrajo con diclorometano obteniéndose **146** (351 mg, 83%), homogéneo por tlc.

R_f=0,40 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

Punto de fusión: 120-125°C (hexano/acetato de etilo)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2966, 1733, 1697,1370, 1255, 1035.

RMN¹H: Ver Apéndice C

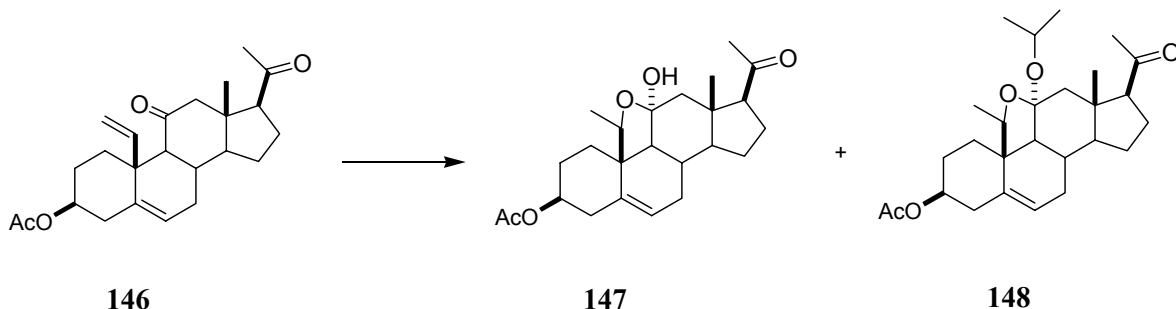
RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 385 (M⁺, 2), 325 (M⁺-AcOH, 33), 324 (100), 296 (22), 281 (96), 235 (26), 157 (41), 129 (64), 91 (80).

EMAR: C₂₄H₃₃O₄ (M+H⁺): calculado: 385,2379, obtenido 358,2369.

3β-Acetiloxi-11α-hidroxi-19(S)-metil-11,19-óxido-5-pregnen-20-ona (147) y

3β-Acetiloxi-11α-isopropoxi-19(S)-metil-11,19-óxido-5-pregnen-20-ona (148)



146 (40 mg, 0,122 mmoles) se trató con TiCl₄ en CH₂Cl₂ en las condiciones utilizadas para la transformación de **120** en **121** y **118** (página 183). Los reactivos se mezclaron a -70°C, se dejó la mezcla a llegar a -15°C y se la agitó a esta temperatura durante 3 horas. Luego se elevó la temperatura hasta 7°C y se agitó la mezcla a esta temperatura durante 4 días más. La reacción se cortó de la misma forma que la ciclación de **120** y se purificó por CF. Por elución con ciclohexano-acetato de etilo 7:3 se obtuvo el compuesto **148** (7 mg, 15%). Posterior elución con ciclohexano-acetato de etilo 1:1 dio **147** (29 mg, 67%).

Una muestra analítica de **148** tuvo:

R_f=0,57 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

Punto de fusión: 110-115°C (etanol-agua)

RMN¹H: δ_H(500): 0,71 (s, 3H, H-18), 1,21 (d, J=6,1; 6H, CH₃-isopropóxido), 1,54 (d, J=6,4; 1H, H-19a), 1,91 (d, J=13,5; 1H, H-12α), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,38 (d, J=13,5; 1H,

H-12 β), 4,64 (tt, $J=5,7, 11,0$; 1H, H-3), 4,24 (q, $J=6,4$; 1H, H-19), 4,02 (m, $J=6,1$; 1H, CH-isopropóxido), 5,67 (d, $J=5,9$; 1H, H-6).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

Una muestra analítica de **147** tuvo:

R_f=0,31 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

Punto de fusión: 121-123°C (etanol-agua)

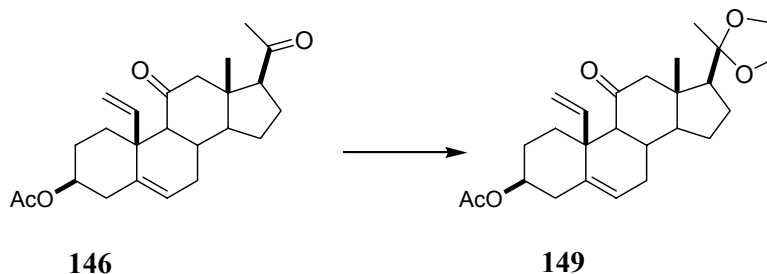
IR: (KBr/cm⁻¹): 3401, 2924, 1705, 1648, 1248, 1106, 1049.

RMN¹H: Ver tabla 4.3, página 128.

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 385 (3), 358 (1,7), 324 (M⁺-AcOH-H₂O, 2), 309 (1,5), 298 (57), 280 (3,4), 195 (7), 131 (14), 43 (100)

3 β -Acetiloxi -20,20-etilendioxi-19-metilidén-5-pregnen-11-ona (149)

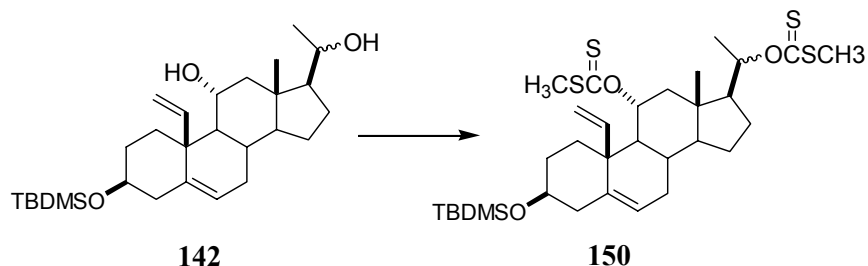


146 (23 mg, 0,06 mmoles) se disolvió en una mezcla de etilenglicol (0,09 ml) y ortoformiato de etilo (0,14ml) y se agregó ácido p-toluensulfónico (6 mg). La mezcla se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente y luego se volcó sobre NaHCO₃ (ss) manteniendo el pH a 7-8. Se extrajo con CH₂Cl₂ y se evaporó el solvente obteniendo **149** (10 mg, 39%).

R_f=0,45 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

RMN¹H: : $\delta_H(200)$: 0,63 (s, 3H, H-18), 1,24 (s, 3H, H-21), 2,01(s, 3H, H-AcO), 3,6-4,2 (m, 4H, H-dioxolano), 4,61 (dt , $J=10,4, 4,9$; 1H, H-3), 4,93 (dd, $J=1,8, 18,0$; 1H, H-19a), 5,22 (dd, $J=1,8, 10,4$; 1H, H-19a'), 5,65 (d, $J=5,3$; 1H, H-6), 6,22 (dd, $J=10,4, 18,0$; 1H, H-19).

3 β -Terbutildimetilsililoxi-11 α ,20 β -bis(metiltiotiocarboniloxi)-19-metilidén-5-pregнено (150)



Se trató **142** (20 mg, 0,043 mmoles) en las mismas condiciones en las que se sintetizó el xantato de **118**.

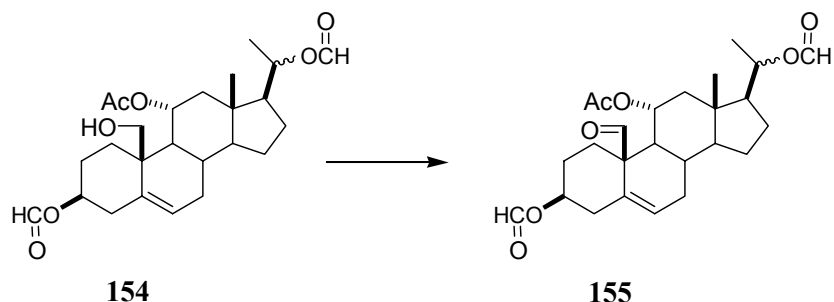
Después de purificar por CF se obtuvo **150** (13 mg, 55%), su derivado 11-hidroxilado (6 mg, 34%) y el derivado 20-hidroxilado (2 mg, 10%).

Para **150**:

R_f=0,67 ciclohexano-acetato de etilo 1:1

RMN¹H: δ_{H} (200): 0,04 (s, 6H, ((CH₃)₂Si del TBDMS), 0,62 (s, 3H, H-18), 0,86 (s, 9H, (CH₃)₃CSi del TBDMS), 1,27 (d, $J=6,0$; 3H, H-21), 2,52 (s, 3H, H-SCH₃), 2,55 (s, 3H, H-SCH₃), 3,50 (tt, $J=5,0, 11,2$; 1H, H-3), 5,5-5,8 (m; 3H, H-6, 19, 20), 4,98 (dd, $J=1,8, 18,1$; 1H, H-19a), 5,33 (dd, $J=1,8, 10,9$; 1H, H-19a'), 5,87 (dt, $J=5,3, 10,0$; 1H, H-11).

11 β -Acetiloxi-3 β ,20 β -diformiloxi-5-pregnen-19-al (155)



El compuesto **154** se obtuvo de manera análoga al compuesto **141** utilizando el anhídrido mixto fórmico-acético para formular las posiciones 3 y 20, según se detalla en el **Capítulo 4** (pag 139).

La oxidación con PCC de **154** (600 mg, 1,34 mmoles) según las mismas condiciones con las que se transformó **114** en **115** (página 178), llevó al compuesto **155** (550 mg, 92%).

R_f=0,40 ciclohexano-acetato de etilo 1:1

Punto de fusión: 137-139°C (isopropanol)

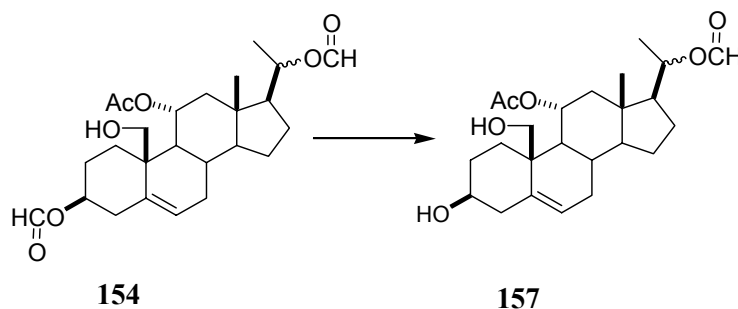
IR: (KBr/cm⁻¹): 2926, 1735, 1718, 1650, 1380, 1246, 1034

RMN¹H: : δ_{H} (200): 0,69 (s, 3H, H-18), 1,19 (d, $J=6,0$; 3H, H-21), 2,06 (s, 3H, H-AcO), 4,72 (tt, $J=4,8, 11,0$; 1H, H-3), 4,89 (dq, $J=5,5, 11,0$; 1H, H-20), 4,98 (dt, $J=5,1, 10,9$; 1H, H-11), 5,92 (d, $J=5,7$; 1H, H-6), 7,89 (s, 1H, H-formiato), 7,99 (s, 1H, H-formiato), 9,71 (d, $J=1,1$; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 360 (M⁺-AcOH-H₂O, 4), 342 (4), 330 (10), 314 (M⁺-AcOH-H₂O-HCO₂H, 7), 290 (6), 268 (M⁺-AcOH-H₂O-2HCO₂H, 2), 143 (18), 121 (21), 105 (36), 91 (45), 55 (66), 43 (100).

11 β -Acetiloxi-20 β -formiloxi-3 α ,19-dihidroxi-5-pregнено (157)



A una solución de **154** (500 mg, 1,11 mmoles) en metanol (240 ml) se agregó bicarbonato de potasio (503 mg) y se agitó a 25°C durante 100 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. Se neutralizó la solución con ácido acético y se la concentró a presión reducida a un décimo del volumen. La extracción con diclorometano de la mezcla dio **157** (445 mg, 95%).

R_f=0,22 ciclohexano-acetato de etilo 1:1

Punto de fusión: 101-103°C (hexano: acetato de etilo)

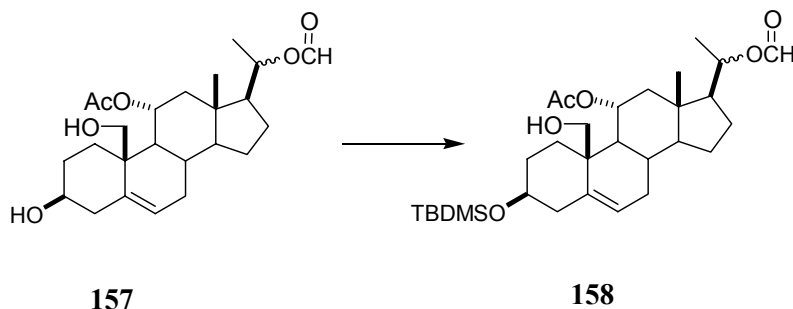
IR: (KBr/cm⁻¹): 3422, 2945, 2867, 1718, 1455, 1384, 1184, 1048, 749.

RMN¹H: Ver Apéndice C

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 360 (M^+ -AcOH, 2), 342 (M^+ -AcOH-H₂O, 5), 296 (M^+ -AcOH-H₂O-HCO₂H, 8), 143 (20), 105 (41), 91 (50), 55 (70), 43 (100).

11 β -Acetiloxi-20 β -formiloxi-19-hidroxi-3 α -terbutildimetilsililoxi-5-pregнено (158)



157 (520 mg, 1,24 mmoles) se trató en las mismas condiciones en las cuales **140** se transformó en **141** (página 193), obteniéndose **158** (463 mg, 70%).

R_f=0,48 ciclohexano-acetato de etilo 7:3

Punto de fusión: 168-167°C (*i*-PrOH : agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2957, 2932, 1722, 13866, 1248, 1179, 1098, 837, 781.

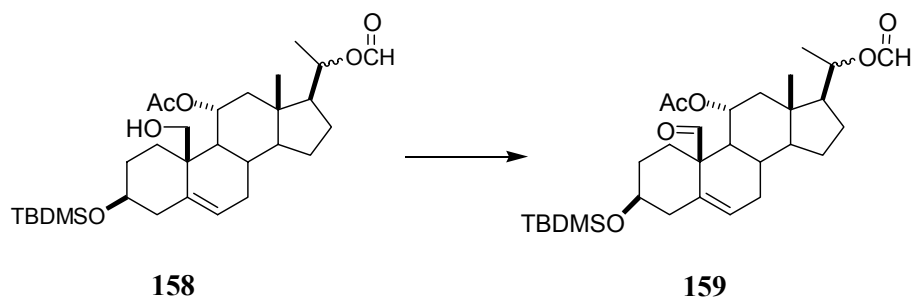
RMN¹H: $\delta_H(200)$: 0,053 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,78 (s, 3H, H-18), 0,88 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 1,19 (d, *J*=6,3, 3H, H-21), 2,02 (s, 3H, acetato), 3,49 (da, *J*=11,0, 2H, H-19+H-3), 4,01 (q, *J*=11,1; 1H, H-19'), 4,90 (dq, *J*=10,6, 5,9; 1H, H-20), 5,40 (*J*=10,8, 5,1; 1H, H-11), 5,73 (d, *J*=5,3; 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, formiato).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 401 (M^+ -TBDMSi-H₂O, 1), 359 (M^+ -TBDMSi-AcOH, 1), 341 (1,5), 313 (16), 131 (TBDMSiO, 22), 105 (35), 75 (86), 43 (100).

EMAR: C₃₀H₅₄NO₆Si (M^+ +NH₄⁺): calculado: 552,3720, obtenido 552,3727.

11 β -Acetiloxi-20 β -formiloxi-3 α -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-19-al (159)



158 (433 mg, 0,81 mmoles) se oxidó con PCC en las mismas condiciones en las que se oxidó **114** a **115** (página 178). Se obtuvo **159** (390 mg, 90%).

R_f=0,44 hexano-acetato de etilo 8:2

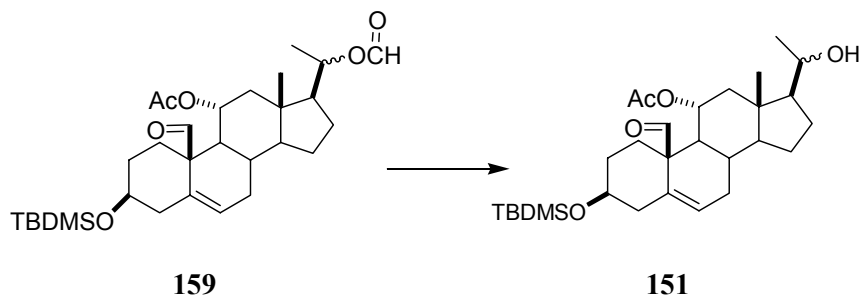
Punto de fusión: 142-144°C (etanol-agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2934, 1742, 1735, 1652, 1383, 1247, 1178, 1100, 1034, 836, 782.

RMN¹H: δ_{H} (200): 0,031 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,66 (s, 3H, H-18), 0,86 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 1,19 (d; *J*=6,5, 3H, H-21), 2,06 (s, 3H, acetato), 3,47 (m, 1H, H-3), 4,95 (m, 2H, H-20, H-11), 5,82 (d; *J*=5,2; 1H, H-6), 8,00 (s, 1H, formiato), 9,67 (s, 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

11 β -Acetiloxi-20 β -hidroxi- 3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-19-al (151)



159 (370 mg, 0,694 mmoles) se disolvió en una mezcla 1:1 de metanol/ CH₂Cl₂ (400 ml) y se agitó con 313 mg de K₂CO₃ durante tres horas a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con HCl y se extrajo con CH₂Cl₂ para obtener **151** (315 mg, 90%).

R_f=0,40 hexano-acetato de etilo 7:3

Punto de fusión: 152-154°C (hexano CH₂Cl₂)

IR: (KBr/cm⁻¹): 3408, 2945, 2931, 2859, 1726, 1647, 1255, 1084, 820, 750.

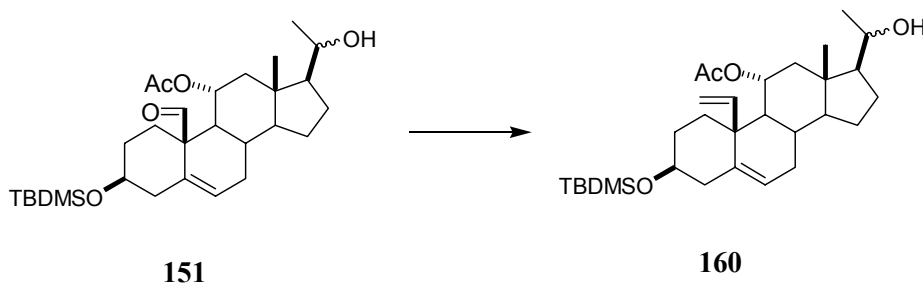
RMN¹H: Ver Apéndice C

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 504 (M⁺, 1,5), 447 (M⁺-*t*-Bu, 10), 445 (2,3), 416 (17), 387 (M⁺-*t*-Bu-AcOH, 95), 369 (13), 359 (16), 343 (6), 313 (M⁺-TBDMSiO-AcOH, 10), 295 (26), 143 51), 131 (TBDMSiO, 37), 75 (100), 43 (95).

EMAR: C₂₉H₅₂NO₅Si (M+NH₄⁺): calculado: 522,3615, obtenido 522,3621.

11β-Acetiloxi-20β-hidroxi-19-metilidén-3β-terbutildimetilsiloxi-5-pregнено (160)



151 (100 mg, 0,198 mmoles) recristalizado de *i*-PrOH se trató en las mismas condiciones en las que se obtuvo **137**, obteniéndose en este caso **160** (85 mg, 85%).

R_f=0,38 hexano-acetato de etilo 7:3

Punto de fusión: 153°C (*i*-PrOH : agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 3445, 2940, 2852, 1720,1248, 1084, 870, 832, 770.

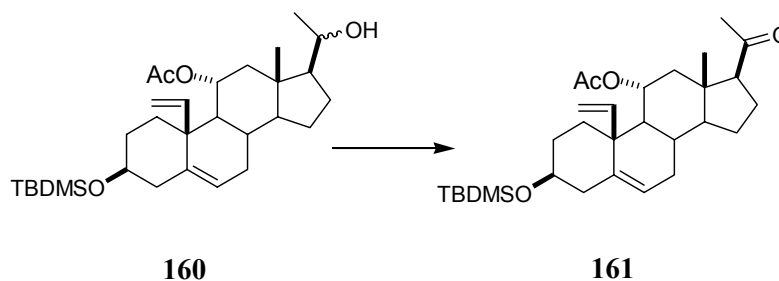
RMN¹H: Ver **Tabla 4.4**, página 145.

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 445 (M⁺-*t*-Bu, 3), 427 (1), 385 (M⁺- *t*-Bu-AcOH, 60), 367 (8), 311 (M⁺-TBDMSiO-AcOH, 7), 293 (8), 131 (TBDMSiO, 14), 117 30), 75 (100), 45 (97).

EMAR: C₃₀H₅₄NO₄Si (M+NH₄⁺): calculado: 520,3822, obtenido 520,3844.

11 β -Acetiloxi-19-metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (161)



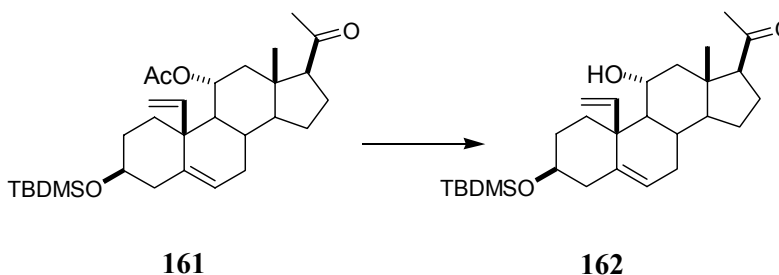
160 (90 mg, 0,18 mmoles) se oxidó con PCC en las condiciones habituales para dar cuantitativamente **161** (87mg, 98%).

R_f=0,64 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

RMN¹H: : δ_{H} (200): 0,041 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,58 (s, 3H, H-18), 0,87 (s,9H, (CH₃)₃CSi), 2,06 (s, 3H, acetato), 2,09 (s,3H, H-21), 3,48 (dt, , $J=10,7, 4,9$; 1H, H-3), 5,00 (dd, $J=1,8, 17,9$; 1H, H-19a), 5,13 (dq, $J=11,2, 5,3$; 1H, H-11), 5,37 (dd, $J=1,8, 10,6$; 1H, H-19a'), 5,65 (d, $J=5,3$; 1H, H-6), 5,66 (dd, $J=10,9, 17,6$; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

11 β -Hidroxi-19-metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (162)



161 (76 mg, 0,153 mmoles) se disolvió en metanol (13 ml) y se agitó en presencia de KOH 10% (1 ml) durante 24 horas. La mezcla se neutralizó en frío con HCl y se extrajo con CH₂Cl₂ para obtener **162** (50 mg, 70%).

R_f=0,33 ciclohexano-acetato de etilo 7:3

Punto de fusión: 123-125°C (isopropanol-agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 3451, 2930, 2852, 1697,1248, 1084, 865, 840, 771.

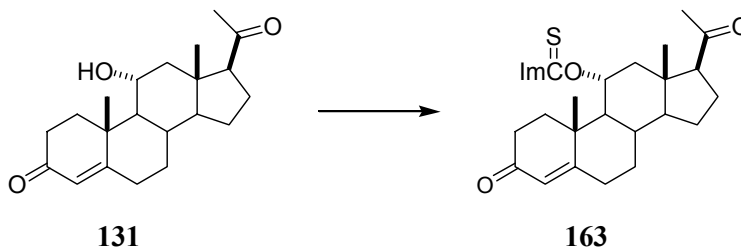
RMN¹H: : δ_{H} (200): 0,042 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,54 (s, 3H, H-18), 0,87 (s,9H, (CH₃)₃CSi), 2,12 (s,3H, H-21), 3,52 (dt, , $J=10,5, 4,7$; 1H, H-3), 3,94 (dq, $J=11,0, 5,3$; 1H, H-11),

5,01 (dd, $J=1,8, 18,0$; 1H, H-19a), 5,33 (dd, $J=1,8, 10,7$; 1H, H-19a'), 5,61 (d, $J=5,3$; 1H, H-6), 5,86 (dd, $J=10,9, 17,9$; 1H, H-19).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 401 (31), 309 (11), 291 (4), 171 (13), 131 (14), 119 (14), 75 (68), 43 (100).

11 α -(imidazotiocarbonilo)progesterona (163)

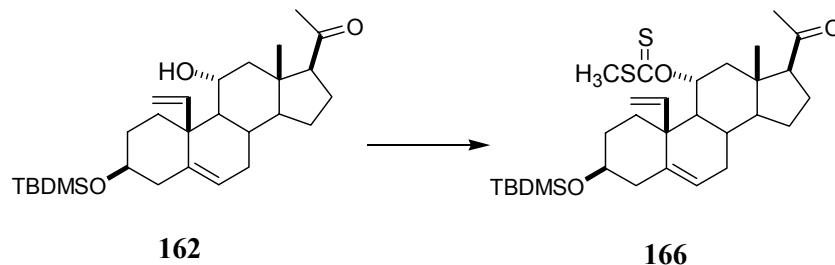


11 α -hidroxiprogesterona **131** (20 mg, 0,06 mmoles) se disolvió en CH₂Cl₂ seco. Se agregó tiocarbonildiimidazol (22 mg, 0,12 mmoles) y se agitó durante 24 horas bajo atmósfera de nitrógeno seco. La mezcla se volcó sobre agua y se extrajo con CH₂Cl₂ para dar el derivado **163** (17 mg, 88%).

R_f=0,29 ciclohexano-acetato de etilo 1:1

RMN¹H: $\delta_H(200)$: 0,81 (s, 3H, H-18), 1,35 (s, 3H, H-19), 2,12 (s, 3H, H-21), 5,79 0,81 (s, 1H, H-4), 7,07 (s, 1H, H-Im), 7,60 (s, 1H, H-Im), 8,34 (s, 1H, H-Im).

19-Metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-11 α -metiltiotiocarbonilo-5-pregnen-20-ona (166)



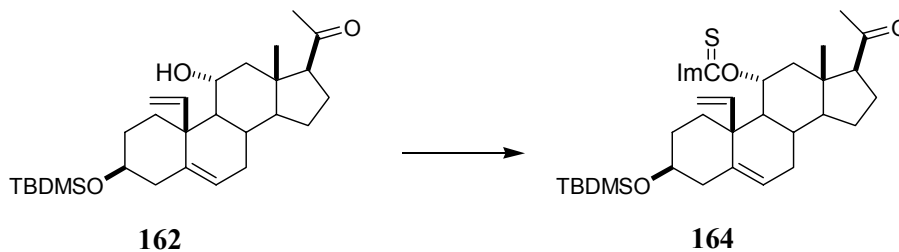
162 (65 mg, 0,142 mmoles) se trató de la misma manera que el compuesto **118** (página 185) para dar, después de purificar por CF, el xantato **166** (66 mg, 90%).

R_f=0,23 ciclohexano-acetato de etilo 95:5

RMN¹H: δ_H(200): 0,037 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,60 (s, 3H, H-18), 0,87 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,10 (s, 3H, H-21), 2,59 (s, 3H, CH₃CS), 3,47 (dt, *J*=10,5, 4,7; 1H, H-3), 5,00 (dd, *J*=2,0, 18,0; 1H, H-19a), 5,35 (dd, *J*=2,0, 10,7; 1H, H-19a'), 5,62 (d, *J*=5,5; 1H, H-6), 5,67 (dd, *J*=10,9, 17,9; 1H, H-19), 5,94 (dq, *J*=10,8, 5,1; 1H, H-11),

RMN¹³C: Ver Apéndice B.

11α-imidazotiocarboniloxi-19-metilidén-3β-terbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (164)

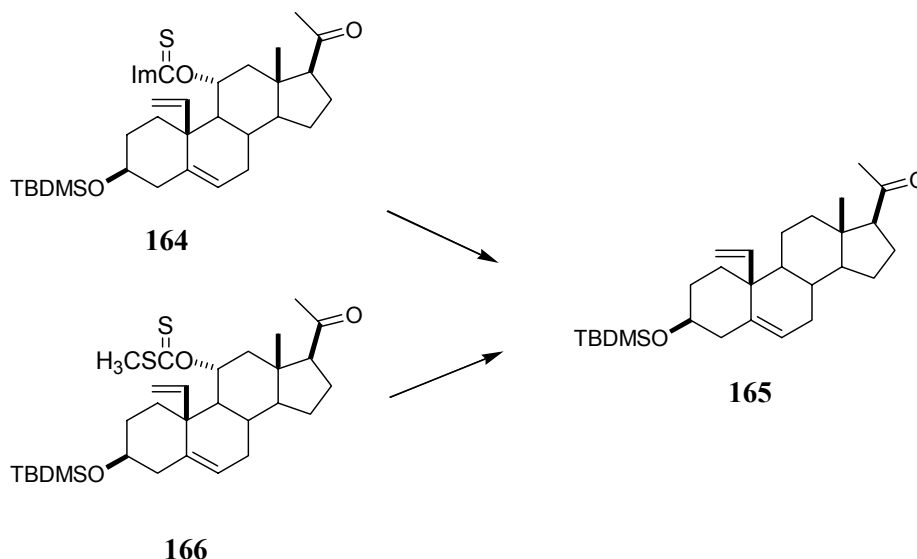


164 se sintetizó a partir de **162** tratando este compuesto de la misma manera que a 11α-hidroxiprogesterona (ver más arriba).

R_f=0,20 ciclohexano-acetato de etilo 7:3

RMN¹H: δ_H(200): 0,040 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,64 (s, 3H, H-18), 0,86 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,12 (s, 3H, H-21), 3,50 (dt, *J*=10,7, 4,5; 1H, H-3), 4,63 (dq, *J*=11,0, 5,3; 1H, H-11), 5,05 (dd, *J*=1,8, 18,0; 1H, H-19a), 5,52 (dd, *J*=1,8, 10,7; 1H, H-19a'), 5,66 (d, *J*=5,3; 1H, H-6), 5,80 (dd, *J*=10,9, 17,9; 1H, H-19), 7,07 (s, 1H, H-Im), 7,70 (s, 1H, H-Im), 8,35 (s, 1H, H-Im).

19-Metilidén-3 β -terbutildimetilsiloxi-5-pregnen-20-ona (165)



Ensayo 1: **164** (6 mg, 0,011 mmoles) se disolvió en tolueno seco (0,09 ml) bajo atmósfera de nitrógeno seco y se trató con difenilsilano (0,0047 ml). La mezcla se calentó a reflujo y se agregó AIBN (0,0093 ml de una solución de 44 mg/ml en tolueno) en 10 porciones durante 3 horas. Luego de purificar por CCD preparativa, se obtuvo **165**.

Ensayo 2: **166** (11 mg, 0,021 mmoles) se trató con difenilsilano y AIBN en tolueno (0,20 ml) en las mismas condiciones que el ensayo anterior obteniéndose nuevamente **165**.

Ensayo 3: **166** (13 mg, 0,025 mmoles) se trató con difenilsilano y AIBN en benceno (2,4 ml) en las mismas condiciones que el ensayo 1. Luego de 9 días se separó la mezcla por CCD preparativa obteniéndose **165** y **166** en proporción 1:2 (RMN ^1H).

Ensayo 4: **166** (10 mg, 0,021 mmoles) se trató con hidruro de tributilestaño (2 equivalentes distribuidos en 10 agregados) y AIBN en benceno (2,4 ml) en las mismas condiciones que el ensayo 1. Luego de 10 días a reflujo se separó la mezcla por CCD preparativa obteniéndose **165** y **166** en proporción 1:3(RMN ^1H).

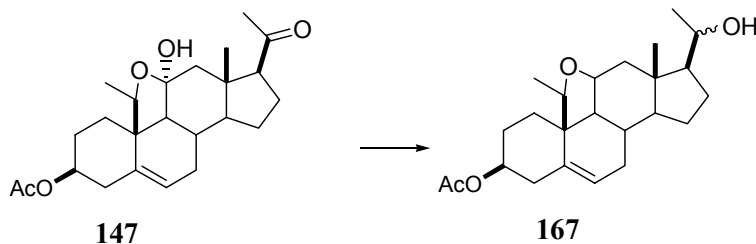
177:

R_f=0,58 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

RMN ^1H : δ_{H} (200): 0,043 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,52 (s, 3H, H-18), 0,87 (s,9H, (CH₃)₃CSi), 2,13 (s,3H, H-21), 3,50 (dt , $J=10,7, 4,5$; 1H, H-3), 4,92 (dd, $J=1,8, 18,0$; 1H, H-19a), 5,26 (dd, $J=1,8, 10,7$; 1H, H-19a'), 5,56 (d, $J=5,3$; 1H, H-6), 5,63 (dd, $J=10,9, 17,9$; 1H, H-19).

EM (m/z, %): 385 (4), 284 (14), 265 (1), 251 (1), 241 (1), 237 (TBDMSiO, 1), 131 (TBDMSi, 6), 91 (15), 75 (36), 43 (100).

3 β -Acetiloxi-20 β -hidroxi-19(S)-metil-11,19-óxido-5-pregneno (167)



147 (88 mg, 0,219 mmoles) se disolvieron en metanol (9 ml) y se llevó la solución a pH=3 con una solución de HCl 1N: metanol 1:1 utilizando naranja de metilo como indicador. Se agregó NaBH₃CN (60 mg, 0,875 mmoles) y se agitó la mezcla bajo atmósfera de nitrógeno durante 4 horas. Se evaporó el metanol, se agregó agua y se extrajo con acetato de etilo para obtener **167** (72 mg, 84%).

R_f=0,40 (ciclohexano-acetato de etilo 6:4).

Punto de fusión: 134-135°C (etanol-agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2957, 1729, 1373, 1242, 1036.

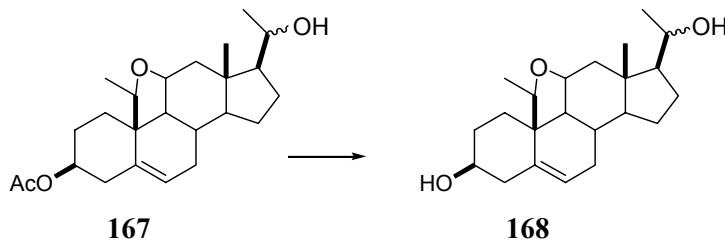
RMN¹H: Ver Apéndice C

RMN¹³C: Ver Apéndice B

EM (m/z, %): 344 (3,8), 345 (1), 328 (M⁺-AcOH, 3,8), 284 (94), 266 (3,8), 144 (31), 91 (28), 43 (100).

EMAR: C₂₄H₃₇O₄ (M+H⁺): calculado: 398,2692; obtenido 398,2688.

3 β ,20 β -Dihidroxi-19(S)-metil-11,19-óxido-5-pregneno (168)



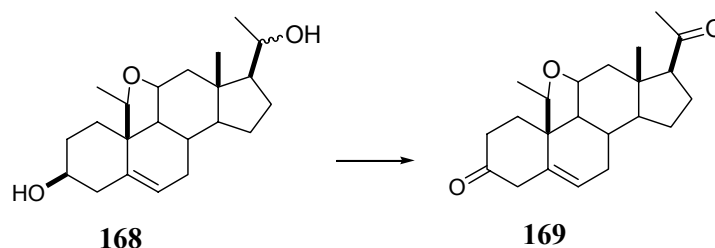
167 (72 mg, 0,184 mmoles) se disolvió en metanol (18 ml) y se agitó en presencia de NaOH 10% en metanol (1,8 ml). Después de una hora de reacción, se neutralizó con HCl y se extrajo con éter recuperándose **168** (60 mg, 94%).

R_f=0,31 ciclohexano-acetato de etilo 4:6

RMN¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,91 (s, 3H, H-18), 1,13 (d, $J=5,9$; 3H, H-21), 1,33 (d, $J=6,4$; 3H, H-19a), 3,59 (tt, $J=5, 11$; 1H, H-3), 3,75 (dq, $J=10,0, 5,9$; 1H, H-20), 4,13 (q, $J=6,5$; 1H, H-19), 4,31 (sa; 1H, H-11), 5,63 (d, $J=5$; 1H, H-6).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

19(S)-metil-11,19-óxido-5-pregnen-3,20-diona (169)



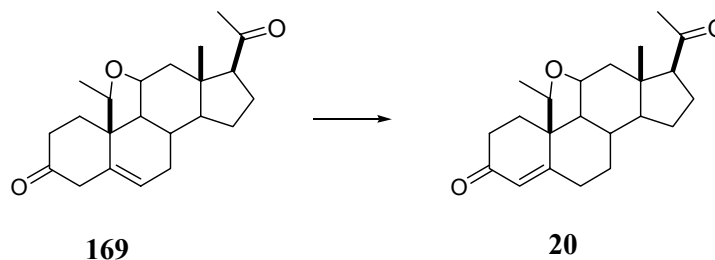
168 (67 mg, 0,197 mmoles) se oxidó con PCC en las mismas condiciones en las que se oxidó **114** a **115** (página 178) obteniéndose **169** (64 mg, 97%).

R_f=0,43 ciclohexano-acetato de etilo 4:6

RMN¹H: $\delta_{\text{H}}(200)$: 0,78 (s, 3H, H-18), 1,48 (d, $J=6,4$; 3H, H-19a), 2,14 (s; 3H, H-21), 4,28 (q, $J=6,5$; 1H, H-19), 4,45 (sa; 1H, H-11), 5,65 (d, $J=5,3$; 1H, H-6).

RMN¹³C: Ver Apéndice B

19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (20)



Se disolvió **169** en una mezcla de metanol (8,6 ml) y CH₂Cl₂ (2,6 ml) y se agregó HCl 7,6 N (2,2 ml). Después de agitar la reacción durante dos horas se neutralizó con NaHCO₃, se extrajo con CH₂Cl₂ y se purificó por CF para obtener 19-metil-11,19-óxidoprogesterona (**20**, 53 mg) con un 6,4% de rendimiento global a partir de 11 α -hidroxiprogesterona.

Rf=0,25 ciclohexano-acetato de etilo 6:4

Punto de fusión: 113-115°C (isopropanol-agua)

IR: (KBr/cm⁻¹): 2920, 2851, 1740, 1661, 1276, 762.

RMN¹H: Ver **tabla 4.6**, página 159.

RMN¹³C: Ver **Apéndice B**

EM (m/z, %): 314 (1), 298 (5), 292 (4), 161 (5), 105 (7), 91 (11), 43 (100).

EMAR: C₂₂H₃₁O₃ (M+H⁺): calculado: 343,2273, obtenido 343,2277.

Desplazamiento de la unión de aldosterona-³H al receptor de mineralocorticoides por 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (20) y 11,19-óxidoprogesterona (7).

Se adrenalectomizaron ratas de la cepa Wistar de dos meses de edad. Pasadas las 24 hs, se sacrificaron los animales, y se perfundieron los riñones *in situ* con 40 ml de NaCl 0.9 % frío. Se extrajeron los riñones y se homogeneizaron en buffer Tris-HCl 25 mM, EDTA 10 mM, DTT 2 mM, molibdato de sodio 20 mM, pH 7.4, y PMSF 1 mM (inhibidor de proteasas) en una relación de 1.5 ml por 1 g de tejido. Todos los procedimientos se realizaron a 4°C. La fracción citosólica se obtuvo luego de dos centrifugaciones sucesivas a 800 g (10 minutos) y 105.000 g (60 minutos). Las proteínas de la fracción citosólica se cuantificaron mediante el método de Bradford (1976).

La unión de aldosterona a su receptor se estudió mediante el método de actividad específica variable en presencia de 1 μ M de RU28362 (bloqueante del receptor de glucocorticoides). De acuerdo a esto, la curva de unión se construyó incubando 800 μ g de proteínas con concentraciones crecientes de aldosterona fría (2, 5, 10, 20, 40, 80 y 2000 nM) y 0,14 μ Ci de aldosterona-³H (2 nM) en un volumen final de 500 μ l.

Para caracterizar las propiedades de desplazamiento de 19(S)-metil-11,19-

óxidoprogesterona (**20**) y 11,19-óxidoprogesterona (**7**) se utilizaron concentraciones semejantes a las de aldosterona.

Los parámetros utilizados para el trazado de la curva son la radiactividad total por tubo, el unido máximo y el unido no específico. La radiactividad total se determinó contando la radiactividad presente en una alícuota igual a la agregada en cada tubo. El unido máximo corresponde a la incubación de las proteínas en ausencia de masa radioinerte por lo que toda la masa unida es radiactiva. El unido no específico se obtiene por medio de la incubación de las proteínas, el esteroide radiactivo y una concentración de 2000 nM del esteroide frío que desplaza la unión específica del esteroide tritiado, permitiendo cuantificar la radiactividad unida en forma inespecífica. Los puntos de la curva de unión, al igual que la radiactividad total, el unido máximo y el unido no específico se realizaron por triplicado.

La reacción tuvo lugar durante 18-20 hs a 4°C, luego de lo cual se agregaron 500 µl de carbón:dextrano (2%:0.2%) en buffer fosfato salino (Fosfato de sodio 10 mM, NaCl 0.9 %) a todos los tubos, menos a los correspondientes a la radiactividad total, y se centrifugaron a 5.000 rpm durante 30 minutos a 4°C. El pellet de carbón-dextrano contiene los esteroides libres mientras que en el sobrenadante se encuentran los esteroides unidos a su receptor. Se contó la radiactividad presente en 250 µl del sobrenadante.

La masa de aldosterona unida se calculó a partir de la actividad específica correspondiente a cada punto de la curva.

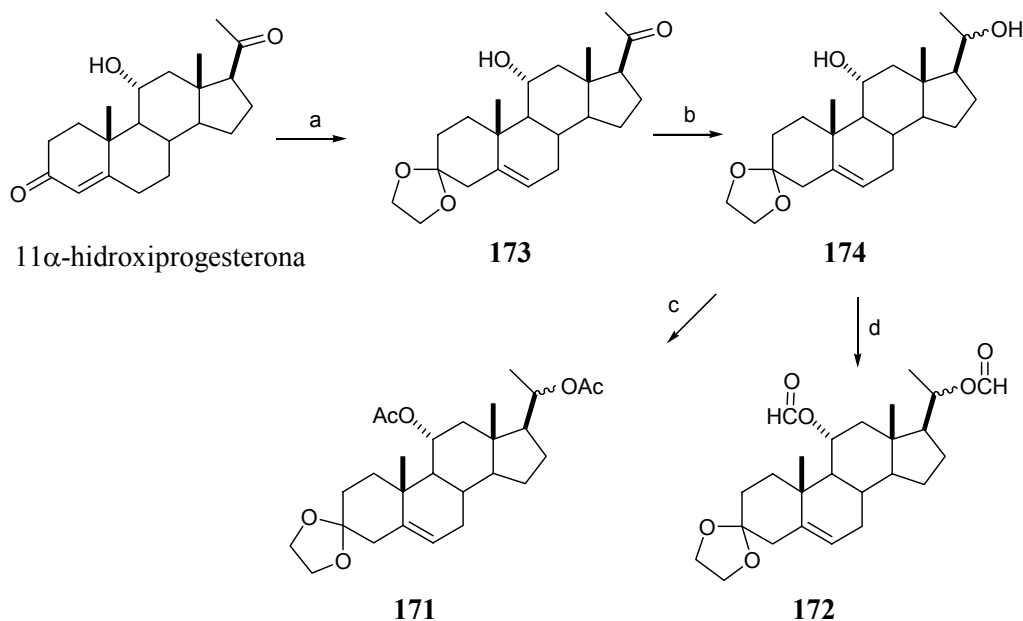
Para determinar los parámetros de unión al receptor se graficó la masa de aldosterona unida en función de la masa total de la misma. A partir de éste se construyó un Scatchard graficando el unido/libre en función del unido. La pendiente de la recta corresponde a $-1/K_d$ mientras que la intersección con el eje de las abscisas representa la concentración de receptores. Estos análisis se llevaron a cabo mediante el uso del Programa Ligand (Ligand Software David Rodbard, NIH) que, además pone a prueba el ajuste a modelos de 1 y 2 sitios de unión.

Apéndice A

Diferenciación de las posiciones
oxigenadas 11 y 20.

Como se indicó en el **Capítulo 4** (página 138) para realizar la síntesis de 11,19-metanoprogesterona por una vía radicalaria se necesitaba un esteroide precursor que tuviese las posiciones oxigenadas 11 y 20 diferenciadas. Los grupos funcionales presentes en esas posiciones presentan una reactividad muy similar, de modo que antes de encarar la síntesis fue necesario estudiar la regioselectividad en esas zonas de la molécula. Si bien la experiencia acumulada en el trabajo con esteroides en este laboratorio indicaba que los resultados obtenidos con un compuesto particular no eran necesariamente extrapolables a otros, este estudio permitiría al menos descartar opciones no viables.

Para ello se sintetizaron compuestos modelo (**171** y **172**, **esquema A1.1**) y se estudió la regioselectividad para la desprotección formiatos y acetatos en las posiciones 11 y 20. Estos grupos protectores se eligieron en virtud de su fácil manipulación y efectividad.



Reactivos: a) i) o-formiato de etilo, etilénglicol, PTSA; ii) acetona, CH₂Cl₂, H₂O, PPTS; b) NaBH₄, CH₂Cl₂, MeOH; c) Ac₂O/Py; d) AcOCOH/Py.

Esquema A1.1

Se protegió entonces regioselectivamente el grupo carbonilo de la posición 3 en 11 α -hidroxiprogesterona mediante una secuencia de dos etapas, [Ferrara A., 1986] que implica la protección como cetales de ambos carbonilos (11 y 20); posterior desprotección del acetal sobre C-20, más tensionado y por tanto más lábil, obteniéndose así el compuesto **173**. El carbonilo de C-20 se redujo en forma habitual (NaBH₄; EtOH, Cl₂CH₂) obteniéndose el 11 α ,20-diol **174**. En el espectro de RMN ¹H de **174** se observaron los H-11 β (axial, 4,08 ppm) y 20 (3,72 ppm) además del CH₃-21 (1,14 ppm) características de los pregnanos 20-hidroxilados.

La masa obtenida de **174** fue separada en dos fracciones una de las cuales fue acetilada (anhídrido acético/ piridina) para dar **171** y la otra formilada (anhídrido fórmico-acético) obteniéndose **172**. Los espectros de RMN ¹H de ambos compuestos indicaron la presencia de dichos grupos: acetato (2,00 ppm); y los correspondientes H de 11 (5,17 ppm) y 20 a (4,78 ppm) para **171**); formiato (8,00 ppm) y los correspondientes H de 11 (5,35 ppm) y 20 (4,93 ppm) para **172**).

Sobre **171** y **172** se hicieron las pruebas de desprotección selectiva que se indican en la **tabla A1.1**. La mezcla de productos fue analizada por RMN ¹H comparando el espectro obtenido para el crudo de cada reacción con el de los productos de partida y con **174**. El porcentaje de productos (cuando se obtuvieron más de uno) fue también estimado desde los espectros protónicos.

Como se puede observar en la **tabla A1.1**, en ningún caso se pudo lograr regioespecificidad ni aun regioselectividad entre las posiciones 11 y 20. En cambio, se pudo demostrar que la diferencia de reactividad intrínseca de los grupos formiato y acetato se mantiene claramente aun en esas posiciones. Por lo tanto se pudo inferir de este estudio que el compuesto utilizado debiera tener protegidos diferentemente en cada posición (11 y 20).

Tabla A1.1: Condiciones de desprotección ensayadas.

Producto de partida	Reactivos	T	t	Producto
171 (diacetato)	NaOH/MeOH	t. a.	18 hs	mezclas
	K ₂ CO ₃ /MeOH	t. a.	18 hs	mezclas
	K ₂ CO ₃ /MeOH, CH ₂ Cl ₂	0°C	2 hs	NR
	K ₂ CO ₃ /MeOH, H ₂ O	t. a.	2 hs	NR
172 (diformiato)	K ₂ CO ₃ /MeOH, CH ₂ Cl ₂	0°C	10 min	mezclas
			50 min	174 mayoritario
			18 hs	174 puro
	KCO ₃ H/MeOH	5°C (sin agitación)	1 noche	NR
			t. a.	2 hs
	HCl/ MeOH, CH ₂ Cl ₂ , H ₂ O	0°C	1 h	mezclas
	PTSA/ acetona, CH ₂ Cl ₂ , H ₂ O	t. a.	20 hs	Se pierde el acetal
PPTSA/ acetona	t. a.	16 hs	NR	

Apéndice B

Desplazamientos químicos de ^{13}C

Desplazamientos de ^{13}C de los compuestos sintetizados

C	Compuesto 18	20	111	112	113	114	115
1	30,8	35,32	33,0	30,2	32,8	33,1	30,3
2	33,9	34,69	28,1	28,2	26,9	28,1	28,8
3	199,7	198,67	73,4	72,6	70,0	73,4	64,5
4	115,8	128,67	38,2	39,0	41,3	38,2	39,1
5	181,1	163,23	134,7	132,0	74,5	134,7	131,7
6	42,9	29,98	128,0	128,0	82,2	127,8	128,3
7	41,2	29,41	31,1	31,2	23,3	31,2	31,3
8	33,9	35,07	32,8	32,9	33,2	33,1	32,8
9	51,6	52,57	50,3	50,0	53,8	50,3	48,8
10	45,3	48,44	41,6	53,5	45,9	41,5	53,6
11	32,4	78,67	22,9	22,3	22,5	21,5	22,1
12	38,6	41,57	39,6	39,4	39,1	39,3	39,5
13	44,8	44,21	42,0	42,0	43,0	42,3	42,1
14	55,3	61,12	57,4	55,3	48,8	56,8	55,9
15	24,1	23,37	23,6	23,9	23,4	24,0	24,0
16	23	22,56	24,5	25,8	25,5	25,4	25,4
17	63,3	64,19	58,1	62,5	54,8	54,9	54,9
18	13,8	15,67	13,1	13,2	13,0	12,6	12,3
19	32,6	76,84	62,7	204,2	67,5	62,7	204,8
20	209,2	208,72	111,9	207,3	72,8	72,8	72,7
21	31,4	31,11	21,5	32,4	19,9	19,8	19,9
19a	23,3	17,39	-	-	-	-	-
$\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}_2$	-	-	21,3	21,3	21,3, 21,5	21,3, 21,4	21,5, 21,5
$\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{O}_2$	-	-	170,4	170,2	170,4, 170,5	170,4	170,4, 170,6
CH_3O	-	-	-	-	-	-	-
$\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$	-	-	63,2 65,1	-	-	-	-

Apéndice B

C	116	117	118	121	124	129	130
1	36,5	36,6	25,9	28,3	25,9	25,6	36,8
2	28,1	27,6	26,8	31,3	27,0	30,2	28,4
3	73,9	73,2	73,4	55,9	70,2	70,1	209,5
4	39,0	38,2	41,5	40,0	41,3	44,6	51,5
5	136,6	135,6	82,3	95,5	82,7	83,5	83,6
6	124,7	125,6	54,1	55,3	45,5	45,4	44,8
7	31,7	31,3	30,4	31,9	32,4	32,3	32,0
8	30,9	32,7	34,0	33,3	33,2	42,9	33,2
9	50,2	50,5	54,1	54,9	54,2	54,1	54,9
10	41,2	40,5	43,1	50,1	43,0	42,9	44,6
11	21,2	21,5	22,1	22,4	22,1	22,0	22,2
12	38,2	39,1	39,1	39,1	39,3	39,6	38,8
13	41,2	42,2	13,0	42,9	45,7	45,4	46,0
14	55,3	56,7	47,6	45,2	48,3	48,2	48,3
15	24,3	24,0	23,5	23,5	23,7	26,1	23,9
16	25,4	25,3	25,5	25,4	25,6	25,4	25,8
17	54,8	54,8	54,9	54,7	55,0	54,0	63,5
18	12,3	12,4	13,0	12,9	13,0	12,7	13,8
19	106,1	45,5	36,6	42,9	24,3	24,1*	25,9
20	72,8	72,8	72,7	72,6	72,8	66,2	207,8
21	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	23,2	31,5
19a	150,5	203,9	70,4	77,6	25,7	23,7*	22,8
<u>C</u>H₃CO₂	21,3, 21,5	21,3, 21,4	21,4, 21,5	21,5	21,4, 21,5	-	-
CH₃<u>C</u>O₂	170,4, 170,5	170,3, 170,4	170,4, 170,5	170,4	170,3, 170,5	-	-
CH₃O	55,9	-	-	-	-	-	-

Apéndice B

C	133	134	135	136	137	138	139
1	38,1	34,6	34,6	31,1	36,73	37,3	46,2
2	27,9	28,6	28,2	28,9	28,45	30,4	33,6
3	72,7	73,3	73,3	72,6	73,6	72,5	199,1
4	38,4	38,0	38	39,8	38,62	37,5	129,6
5	139,5	75,0	135,4	132,4	136,43	137,0	154,1
6	122,8	82,5	127,1	127,8	125,11	125,5	199,7
7	32,1	23,3	31,3	32,1	31,81	31,8	34,0
8	31,9	32,9	32,9	32,6	30,94	31,2	31,2
9	53	53,0	53	51,8	52,96	53,0	59,2
10	38,1	42,6	42,9	54	45,96	45,7	47,0
11	71,8	72,8	72,6	72,5	72,07	72,0	206,8
12	45,2	45,4	45,5	45,2	45,12	44,0	56,5
13	42,2	42,8	42,8	42,4	42,47	42,5	47,4
14	54,7	54,6	54,5	54,7	54,21	55,0	55,4
15	24,3	24,3	24,1	25,5	24,23	24,2	23,5
16	25,5	25,6	25,5	23,9	25,62	25,2	23,7
17	54,5	55,5	55,5	54,5	54,52	59,1	61,7
18	12,9	13,0	12,9	12,9	12,81	12,5	14,2
19	19,2	68,6	62,5	204	141,14	141,3	139,6
20	73,6	72,6	72,8	71,6	72,73	72,3	207,3
21	19,8	20,2	19,7	19,7	19,73	32,4	35,1
19a	-	-	-	-	119,14	119,1	120,9
<u>C</u>H₃CO₂	21,3*2, 21,8	21,3, 21,5, 21,8	21,3*2, 21,8	21,3*2, 21,7	21,9, 21,3*2	-	-
CH₃<u>C</u>O₂	170,0, 170,4, 170,5	170,1, 170,3, 170,4	170,0, 170,3, 170,4	169,6, 170,5	169,9, 170,4, 170,6	-	-

Apéndice B

C	140	141	142	143	144	146	147
1	37,1	38,8	37,94	36,0	35,72	35,59	33,09
2	32,5	31,8	31,77	32,6	32,27	28,28	39,98
3	72,8	72,3	72,78	72,4	71,32	73,6	74,04
4	37,1	43,6	43,59	43,0	42,21	38,1	29,11
5	137,5	138,2	168,74	138,5	137,58	136,7	137,8
6	124,2	123,6	123,26	122,5	122,96	124	125,12
7	31,9	32,8	32,87	32,4	32,27	32,6	29,0
8	31,0	31,0	30,67	31,3	31,23	31,3	31,09
9	53,0	53,1	54,82	62,2	61,99	62,1	64,26
10	45,9	45,9	46,17	46,6	46,54	46,6	47,98
11	72,2	72,8	68,94	207,9	208,07	207,9	105,54
12	45,2	45,1	43,66	56,6	56,33	56,4	49,89
13	42,5	42,5	43,0	44,8	44,63	44,8	44,58
14	54,4	54,3	56,72	54,8	45,53	54,46	52,4
15	24,3	24,3	24,39	24,2	24,03	24,1	23,35
16	25,6	25,6	24,7	23,5	23,37	23,5	22,95
17	54,6	54,5	57,88	61,3	61,02	61,0	61,17
18	12,9	12,8	13,14	14,2	14,11	14,2	13,89
19	141,4	141,4	142,57	142	141,75	141,6	82,79
20	71,5	72,2	70,1	208,9	209	208,9	208,68
21	19,8	19,8	23,77	32,3	32,16	32,2	32,73
19a	119,1	119,0	117,75	118,0	118,0	118,2	21,09
<u>C</u>H₃CO₂	21,4, 21,9	21,4, 21,9	-	-	-	21,3	21,37
CH₃<u>C</u>O₂	169,9, 170,4	170, 172	-	-	-	170,5	170,3
(<u>C</u>H₃)₃CSi(CH₃)₂	-	25,89	-	25,8	-	-	-
(CH₃)₃<u>C</u>Si(CH₃)₂	-	18,2	-	18,22	-	-	-
(CH₃)₃CSi(<u>C</u>H₃)₂	-	(-4,59)	-	(-4,59)	-	-	-

Apéndice B

C	148	151	155	157	158	159
1	33,19	31,2	31,09	33,0	33,03	31,3
2	40,04	33,3	28,86	31,3	31,27	31,3
3	74,17	71,5	72,38	71,3	72,11	71,4*
4	29,05	44,5	39,74	34,9	43,16	44,5
5	138,15	134,3	132,15	136,9	136,91	134,4
6	124,97	126,1	128,08	126,3	125,87	1226,0
7	29,14	32,5	31,97	32,1	32,58	32,5
8	32,84	32,6	32,51	33,0	33,03	33,3
9	64,40	52,1	51,88	53,0	53,12	52,1
10	48,00	54,0	54,32	42,6	42,81	54,0
11	107,82	71,3	72,45	72,2	72,69	72,4
12	44,34	46,0	45,41	45,6	45,59	45,4
13	44,24	42,6	42,47	42,6	42,61	42,4
14	52,39	54,8	54,80	54,3	54,32	54,3
15	23,16	24,1	25,50	25,64	25,64	25,5
16	23,39	25,5	23,70	24,0	23,96	23,8
17	61,96	57,0	53,96	55,7	55,75	54,8
18	14,14	13,0	12,93	13,1	13,05	12,9
19	82,68	204,9	203,77	62,7	62,75	204,7
20	208,75	69,8	71,26	72,4	72,37	71,3*
21	31,12	23,7	19,75	19,8	19,80	19,8
19a	20,32	-	-	-	-	-
<u>CH</u>₃CO₂	21,38	21,7	21,70	21,9	21,97	21,7
CH₃<u>C</u>O₂	170,47	169,7	169,64	170,2	170,10	169,7
(<u>CH</u>₃)₃CSi(<u>CH</u>₃)₂	-	25,8	-	-	25,86	25,8
(CH₃)₃<u>C</u>Si(CH₃)₂	-	18,1	-	-	18,17	18,1
(CH₃)₃CSi(<u>C</u>H₃)₂	-	(-4,6)	-	-	(-4,64)	(-4,3)
(<u>C</u>H₃)₂CH	23,39	-	160,3	160,7	160,66	160,3
(CH₃)₂<u>C</u>H	64,40	-	-	-	-	-

Apéndice B

C	160	161	162	166	167	168	169
1	37,22	37,2	37,95	37,0	31,57	32,83	31,47
2	32,88	31,6	31,55	31,7	39,95	43,95	38,75
3	72,38	71,1	72,63	72,2	73,99	72,02	208,88
4	43,67	43,9	43,66	43,5	29,79	29,72	50,10
5	138,25	138,1	138,62	138,1	136,49	137,58	134,77
6	123,68	123,5	123,14	123,4	125,93	124,8	126,19
7	31,88	32,8	32,83	32,9	28,97	29,66	29,52
8	30,95	30,9	30,69	31,1	31,57	31,54	31,87
9	52,22	52,9	56,83	55,1	57,22	57,26	56,63
10	42,62*	45,8	46,07	45,9	47,25	47,13	47,70
11	72,05	72,2	69,17	81,8	80,65	80,71	80,47
12	45,97	44,7	49,92	43,0	42,92	42,93	41,74
13	42,62*	43,5	44,25	44,0	42,45	42,39	43,83
14	54,49	55,1	55,46	53,2	51,99	52,03	52,57
15	24,38	22,9	22,97	22,9	25,55	25,52	23,51
16	25,68	24,2	24,24	24,1	23,69	32,67	22,41
17	57,84	63,0	63,17	62,8	59,18	59,15	64,29
18	12,90	13,8	14,17	13,4	14,18	14,18	15,18
19	141,56	141,1	142,17	141,1	75,72	75,69	75,68
20	70,02	208,6	211,2	207,9	70,29	70,28	208,81
21	32,64	31,4	31,39	31,5	23,45	23,39	30,25
19a	118,89	119,2	118,17	119,4	19,96	19,97	19,51
<u>C</u>H3CO2	21,93	21,8	-	-	21,37	-	-
CH3<u>C</u>O2	170,02	170,3	-	-	170,5	-	-
(<u>C</u>H3)3CSi(CH3)2	25,92	25,9	25,93	25,8	-	-	-
(CH3)3<u>C</u>Si(CH3)2	18,21	18,2	18,24	19,0	-	-	-
(CH3)3CSi(<u>C</u>H3)2	(-4,62)	(-4,6)	(-4,58)	(-4,3)	-	-	-
C<u>S</u>CH3	-	-	-	26,8	-	-	-

Apéndice C

Desplazamientos químicos de ^1H

Apéndice C

C	Compuesto 114		117	
	H α	H β	α	β
1	2,04	1,87	1,25	2,01
2	1,90	1,49	1,95	1,67
3	4,64 tt, $J=10,8,$ 5,5; 1H		4,68 tt, $J=11,4,$ 5,0; 1H	
4	2,42 ddd, $J=13,0, 4,9,$ 2,0; 1H	2,33	2,49 ddd, $J=13,2, 4,9,$ 2,2; 1H	2,36 dd, $J=14,9, 5,7;$ 1H
6		5,76 dd, $J=2,7,$ 2,1; 1H		5,63 dd, $J=5,6,$ 2,7; 1H
7	1,55	2,05	1,60	2,05
8		1,28		1,26
9	1,15		1,10	
11	1,84	1,24	1,58	1,50
12	1,84	1,88	1,2	1,87 dd $J=12,7,$ 3,4; 1H
14	1,05		1,00	
15	1,17	1,76	1,15	1,65
16	1,18	1,00	1,72	1,23
17	1,58		1,59	
18	0,70 s; 3H		0,59 s; 3H	
19	3,72 d, $J=11,5;$ 1H 3,84 d, $J= 8,4;$ 1H		2,33 dd, $J=14,9, 5,6;$ 1H 2,71 d, $J=14,9,$ 1,6; 1H	
20	4,84 dq, $J=10,5, 5,9;$ 1H		4,82 d, $J=6,0,$ 10,6; 1H	
21	1,15 d, $J= 6,2;$ 3H		1,14 d, $J= 6,0;$ 3H	
19a			9,76 dd, $J=5,6,$ 1,6; 1H	
CH ₃ CO ₂	2,02 s; 3H 2,03 s; 3H		2,01 s; 3H 2,04 s; 3H	

Apéndice C

C	118		120	
	α	β	α	β
1	1,48	1,60	1,60	1,69
2	1,97	1,58	2,06	1,48 dq, $J=13,2, 3,3$; 1H
3	5,15 tt, $J=11,4, 4,5$; 1H		5,21 tt, $J=11,4, 4,6$; 1H	
4	2,15 ddd, $J=13,9, 4,5, 2,2$; 1H	2,72 dd, $J=13,9, 11,4$; 1H	2,24 ddd, $J=14,1, 4,3, 2,1$; 1H	1,62
6		2,06		2,41
7	135	1,82	1,62	1,95 dt, $J=12,7, 2,6$; 1H
8		1,07		1,27
9	1,26		1,30	
11	1,79	1,38	1,49	1,11
12	1,56	1,78	1,35	1,82
14	1,57		1,83	
15	1,12	1,71	1,10	1,50
16	1,34	1,09	1,70	1,26
17	1,60		1,62	
18	0,63 s; 3H		0,60 s; 3H	
19	1,78 (proR) dd, $J=15,0, 3,6$; 1H 1,98 (proS) dd, $J=15,0, 8,2$; 1H		2,47 d, $J=19,1$; 1H 2,14 d, $J=19,1$; 1H	
20	4,83 dq, $J=10,1, 6,0$; 1H		4,83 dq, $J=6,0, 10,6$; 1H	
21	1,14 d, $J=6,1$; 3H		1,14 d, $J=5,9$; 3H	
19a	4,26 dd, $J=8,2, 3,6$; 1H			
CH ₃ CO ₂	2,00 s; 3H 2,01 s; 3H		2,01 s; 3H 2,02 s; 3H	

Apéndice C

C	121		133	
	α	β	α	β
1	1,77	1,97 dt, $J=14,0, 3,6;$ 1H	1,28	1,88
2	2,07	1,71	1,56	1,82
3	4,61 tt, $J=11,6, 4,6;$ 1H		4,58 tt, $J=10,8, 5,5;$ 1H	
4	2,51 ddd, $J=12,9, 4,6,$ 2,4; 1H	2,63	2,30	1,20
6		2,50 dd, $J=4,7, 2,1;$ 1H		5,44 d, $J=4,3;$ 1H
7	1,35 dt, $J=12,7, 1,8;$ 1H	1,57	1,64	2,00
8		1,14		1,50
9	1,18		1,37	
11	1,44	1,17	5,21	
12	1,26	1,83	1,20	2,29
14	1,15		1,17	
15	1,13	1,59	1,28	1,66
16	1,74	1,25	2,00	1,49
17	1,60 q, $J=10,1$		1,62	
18	0,64 s; 3H		0,70 s; 3H	
19		1,56 (proR) dd, $J=14,3, 3,6;$ 1H 2,26 (proS) dd, $J=14,3, 8,0;$ 1H		1,10 s, 3H
20		4,83 dq, $J=10,6, 5,9;$ 1H		4,78 dq, $J=5,7, 10,5;$ 1H
21		1,13 d, $J=$ 6,0; 3H		1,14 d, $J=$ 5,7; 3H
19a		4,14 dd, $J=8,0, 3,6;$ 1H		
CH_3C O_2		2,01 s; 3H		1,99 s; 3H 2,00 s; 3H 2,03 s; 3H

Apéndice C

C	135		136	
	α	β	α	β
1	1,24	2,16 dt, $J=14,0$, 3,2; 1H	1,28	2,68 dt, $J=14,0$, 3,6; 1H
2	1,83	1,47 dq $J=12,9$, 3,9; 1H	1,91	1,50
3	4,63 tt, $J=11,0$, 5,2; 1H		4,58 tt, $J=11,6$, 4,6; 1H	
4	2,43 ddd, $J=12,8$, 5,0, 2,3; 1H	2,29	2,49 ddd, $J=12,9$, 4,6, 2,4; 1H	1,87
6		5,79 dd, $J= 4,6$, 1,0; 1H		5,88 d, $J= 5,9$; 1H
7	1,61	2,04	1,77	2,17 ddd, $J=12,9$, 5,8, 2,4; 1H
8		1,89		1,70
9	1,34		1,55	
11		5,36 dt, $J=10,8$, 5,0; 1H		4,93 dt, $J=10,8$, 5,1; 1H
12	1,19	2,32	1,15	2,32 dd, $J=12,3$, 5,0; 1H
14	1,12		1,30	
15	1,65	1,86	1,50	1,91
16	1,74	1,27	1,78	1,30
17	1,62		1,62 q, $J=10,1$	
18	0,76 s; 3H		0,66 s; 3H	
19		3,56 d, $J=11,7$; 1H 3,99 d, $J=11,7$; 1H		9,71 d, $J=1,0$; 1H
20		4,77 dq, $J=10,6$, 5,9; 1H		4,75 dq, $J=10,6$, 5,9; 1H
21		1,15 d, $J= 6,3$; 3H		1,14 d, $J= 6,3$; 3H
19a				
CH ₃ CO ₂		2,00 s; 3H 2,01 s; 3H 2,03 s; 3H		1,96 s; 3H 1,98 s; 3H 2,02 s; 3H

Apéndice C

C	140		α	141	
	α	β		α	β
1	1,17 dt, <i>J</i> =13,8, 3,3; 1H	2,94 dt, <i>J</i> =13,8, 3,5; 1H	1,13		1,47
2	1,85	1,53	1,42		1,67
3	4,62 tt, <i>J</i> =11,4, 4,9; 1H		3,49 tt, <i>J</i> =11,0, 5,3; 1H		
4	2,31 ddd, <i>J</i> =12,8, 5,2, 2,2; 1H	2,24 t, <i>J</i> =11,0; 1H	2,16		1,26
6		5,64 d, <i>J</i> =5,5; 1H		5,62	
7	1,83	2,15 ddd, <i>J</i> =12,8, 5,3, 2,6; 1H	1,62		2,01
8		2,24			1,48
9	2,30		1,38		
11					5,05 dt, <i>J</i> =10,6, 5,3; 1H
12			1,14		2,27 dd <i>J</i> =12,5, 5,2; 1H
14	2,44 d, <i>J</i> =13,0; 1H	2,65 d, <i>J</i> =13,0; 1H	1,14		
15	1,33 dt, <i>J</i> =11,7, 5,9, 2,6; 1H		1,11		1,64
16			1,75		1,27
17	1,81	2,22	1,61		
18	2,69 t, <i>J</i> =9,2; 1H		0,59 s; 3H		
19	0,50 s; 3H			5,63 dd, <i>J</i> =17,5, 10,7; 1H	
20		6,19 dd, <i>J</i> =17,8, 10,7; 1H		4,74	
21		2,09 s; 3H		1,13 d, <i>J</i> = 6,2; 3H	
19a		5,26 dd, <i>J</i> =10,7, 1,8; 1H 4,93 dd, <i>J</i> =17,8, 1,8; 1H		5,34 dd, <i>J</i> =10,5, 1,6; 1H 4,98 <i>J</i> =17,5, 1,6; 1H	
CH ₃ CO ₂		2,00 s; 3H		1,99 s; 3H 2,03 s; 3H	
(CH ₃) ₃ CSi				0,87 s; 6H	
(CH ₃) ₂ Si				0,04 s; 9H	

Apéndice C

C	146		151	
	α	β	α	β
1	1,17 dt, $J=13,8, 3,3$; 1H	2,94 dt, $J=13,8, 3,5$; 1H	1,21	2,63
2	1,85	1,53	1,79	1,41
3	4,62 tt, $J=11,4, 4,9$; 1H		3,48 tt, $J=10,6, 4,7$; 1H	
4	2,31 ddd, $J=12,8, 5,2$, 2,2; 1H	2,24 t, $J=11,0$; 1H	2,32 ddd, $J=13,2, 4,5$, 2,4; 1H	1,82
6	5,64 d, $J=5,5$; 1H		5,81 d $J= 5,7$ 1H	
7	1,83	2,15 ddd, $J=12,8, 5,3$, 2,6; 1H	1,82	2,14
8		2,24		1,68
9	2,30		1,52	
11				5,04 dt, $J=10,9, 5,0$; 1H
12			1,18	2,46 dd $J=12,3, 5,0$; 1H
14	2,44 d, $J=13,0$; 1H	2,65 d, $J=13,0$; 1H	1,10	
15	1,33 dt, $J=11,7, 5,9$, 2,6; 1H		1,21	1,67
16			1,37	1,22
17	1,81	2,22	1,38	
18	2,69 t, $J=9,2$; 1H		0,77 s; 3H	
19	0,50 s; 3H		9,72 s; 1H	
20	6,19 dd, $J=17,8, 10,7$; 1H		3,70 dq, $J=9,8 6,0$; 1H	
21	2,09 s; 3H		1,12 d, $J=$ 6,1; 3H	
19a	5,26 dd, $J=10,7, 1,8$; 1H 4,93 dd, $J=17,8, 1,8$; 1H			
CH_3C O_2	2,00 s; 3H		2,04 s; 3H	
$(\text{CH}_3)_3$ CSi			0,86 s; 9H	
$(\text{CH}_3)_2$ Si			0,04 s; 6H	

Apéndice C

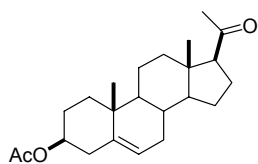
C	157		160	
	α	β	α	β
1	1,18	2,09 dt, $J=14,2, 3,5$; 1H	1,22	1,44
2	1,80	1,38	1,35	1,61
3	3,55* m; 2H		3,49 tt, $J=10,3, 5,2$; 1H	
4	2,40 ddd $J=$ 12,9, 4,8, 2,4 1H	2,21	2,14	1,17
6		5,76 d $J= 5,0$ 1H		5,60 d $J= 5,4$ 1H
7	1,60	2,05	1,59	1,97
8		1,79		1,44
9	1,32		1,34	
11		5,40 dt $J=10,8, 5,0$ 1H		5,12 $J=10,8,$ 5,3 1H
12	1,21	2,10	1,16	2,39 dd, $J=11,6, 5,2$
14	1,16		1,10	
15	1,67	1,77	1,43	1,60
16	1,78	1,29	1,65	1,15
17	1,67		1,32	
18	0,79 s; 3H		0,72	
19	3,99 d, $J=11,6$; 1H, 3,55* m; 2H		5,66 dd, $J=10,6, 17,4$; 1H,	
20	4,91 dq, $J=10,4, 6,0$; 1H		5,15 dq, $J=10,7$ 5,3; 1H	
21	1,19 d, $J=6,2$; 1H		1,11 d, $J=5,9$; 1H	
19a			4,98 dd, $J=1,6, 17,5$; 1H 5,35 dd, $J=1,7, 10,6$; 1H	
CH ₃ CO ₂	2,02 s; 3H		2,01	
(CH ₃) ₃ CSi			0,87	
(CH ₃) ₂ Si			0,035	
HCO	8,02 s; 1H			

Apéndice C

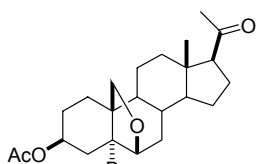
C	162		172	
	α	β	α	β
1	1,19	2,19	1,15	2,05 dt, $J=14,0$, 3,6; 1H
2	1,40	2,00	1,68	1,41
3	3,51 tt, $J=10,3$, 5,2; 1H		3,50 m*	
4	2,20	1,44	2,25	1,18
6	5,60 d $J=5,4$ 1H		5,72 d $J=5,4$ 1H	
7	1,61	2,00	1,68	2,03
8		1,40		1,91
9	1,08		1,30	
11		3,94 $J=10,5$, 4,7 1H		5,40 $J=10,8$, 5,3 1H
12	1,44	2,26 dd, $J=11,6, 5,0$	1,20	2,27 dd, $J=11,6, 5,2$
14	1,08		1,11	
15	1,40	1,62	1,64	1,77
16	2,17	1,67	1,76	1,29
17	2,53		1,67	
18	0,55		0,78 s; 3H	
19	5,84 dd, $J=10,6, 17,3$; 1H		4,00 d, $J=11,6$; 1H 3,5 m*	
20	-		4,89 dq, $J=10,7$ 4,9; 1H	
21	2,11 s; 1H		1,20 d, $J=6,1$; 1H	
19a	5,00 dd, $J=1,6$, 17,5; 1H 5,32 dd, $J=1,7$, 10,6; 1H			
CH ₃ CO ₂			2,02 s; 3H	
(CH ₃) ₃ C Si	0,87		0,88 s; 9H	
(CH ₃) ₂ Si	0,045		0,06 s, 3H 0,05 s, 3H	
HCO			8,03 s; 1H	

Apéndice D

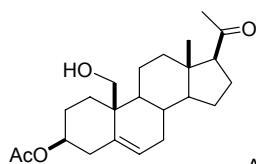
Resumen de Estructuras



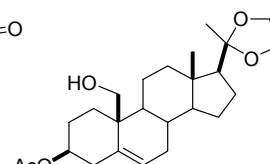
90



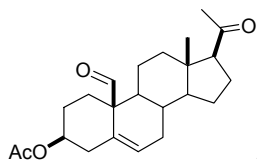
92



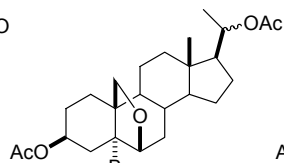
110



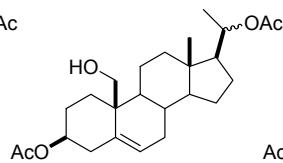
111



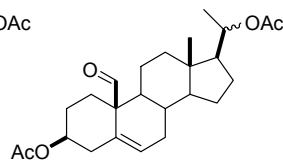
112



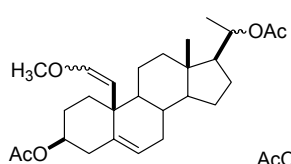
113



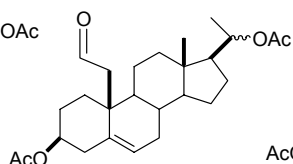
114



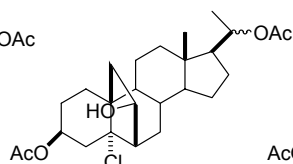
115



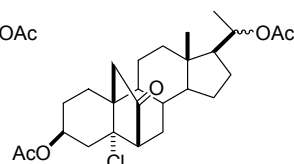
116



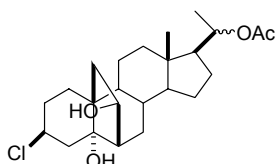
117



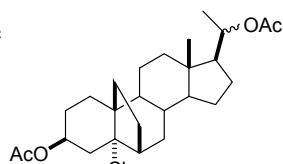
118



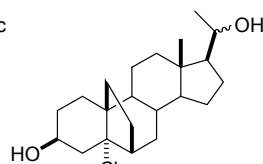
120



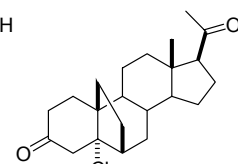
121



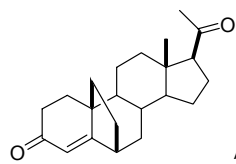
124



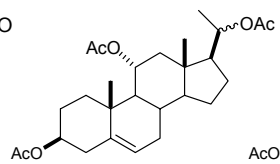
129



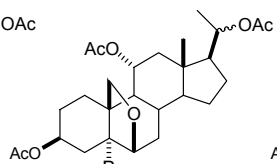
130



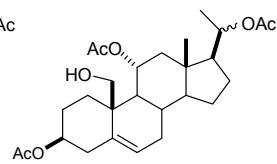
18



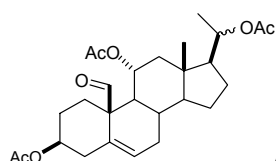
131



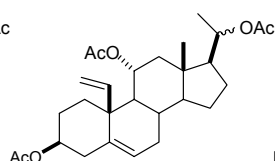
134



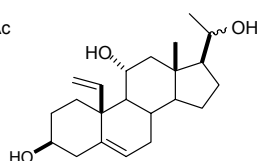
135



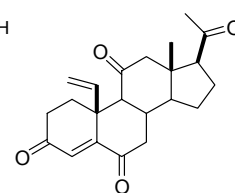
136



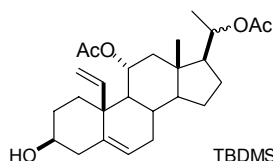
137



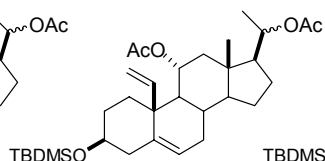
138



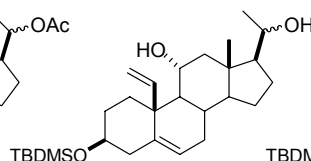
139



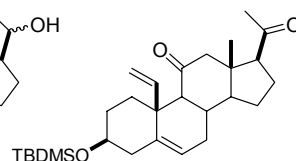
140



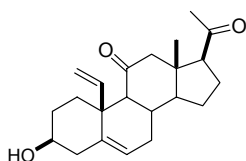
141



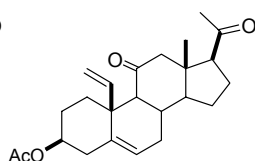
142



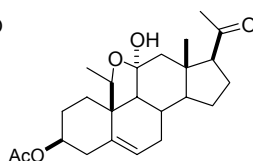
143



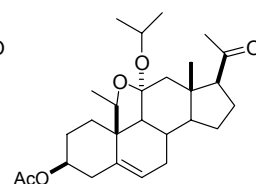
144



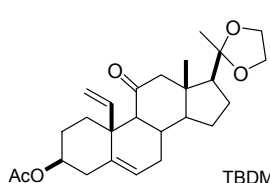
146



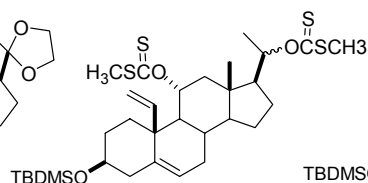
147



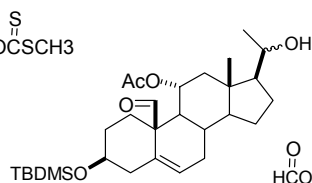
148



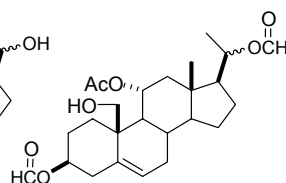
149



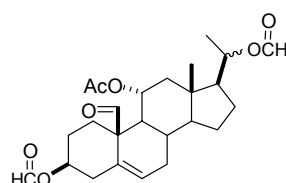
150



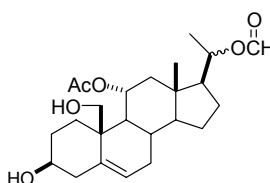
151



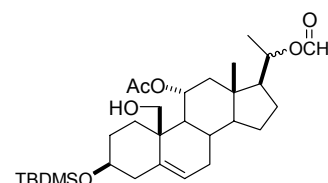
154



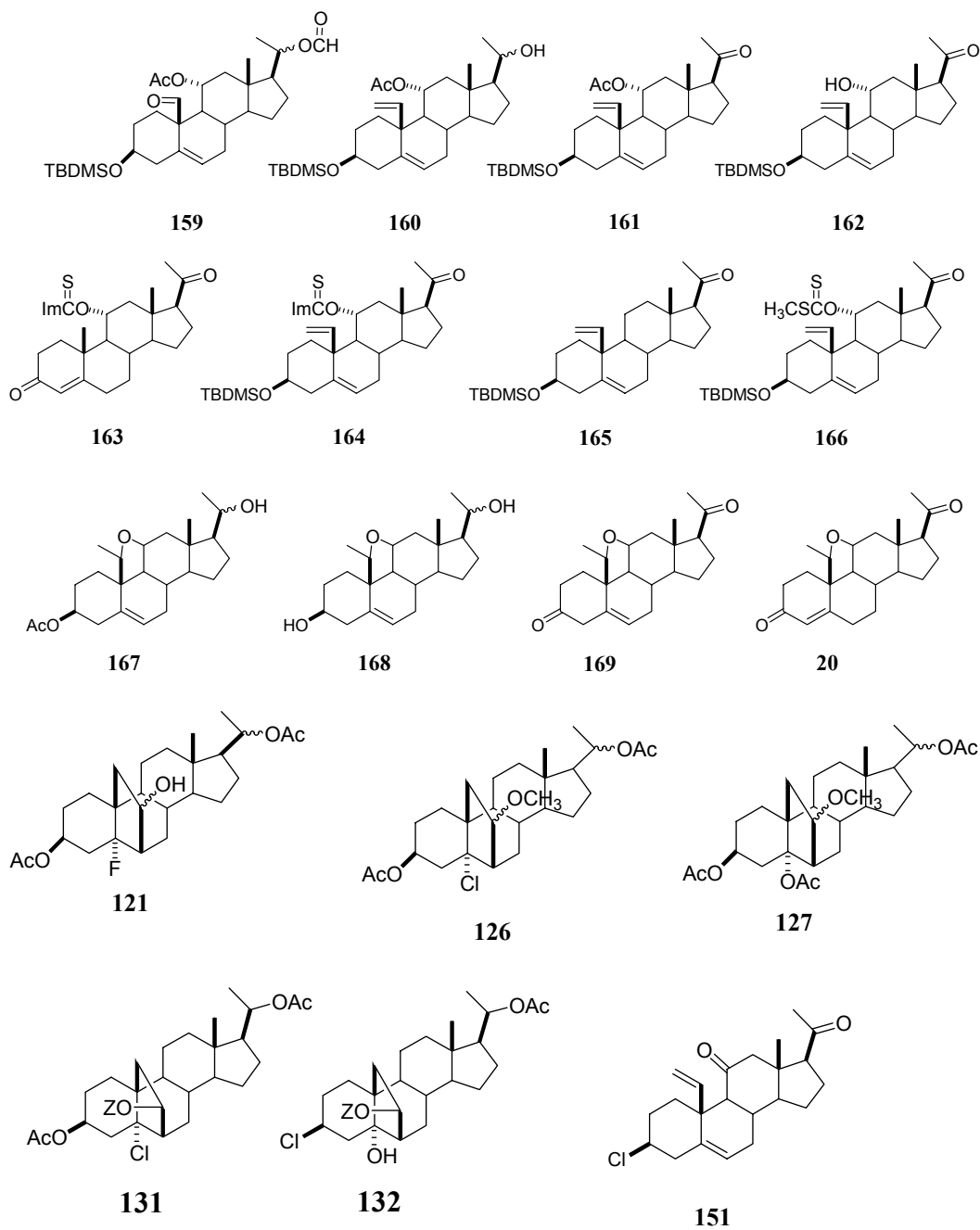
155



157



158



Resumen

El objetivo del presente trabajo de tesis fue la síntesis de hormonas esteroidales con estructuras rígidas. En particular, se sintetizaron análogos de esteroides puenteados en los cuales la presencia del puente fija las conformaciones moleculares y permite estudiar la relación entre estas conformaciones y la respuesta biológica.

En el **Capítulo 1** se presenta una introducción general a las hormonas esteroidales, indicando su actividad biológica y analizando la relación entre dicha función y las estructuras moleculares. Se describen someramente el modo de acción, trastornos que genera el mal funcionamiento del sistema endócrino y algunos medicamentos esteroidales (naturales y sintéticos) que se utilizan actualmente con fines terapéuticos.

En el **Capítulo 2** se reseñan brevemente los principales antecedentes bibliográficos que existen en relación a la construcción de puentes en esteroides. Se hace especial hincapié en la descripción de las metodologías relevantes para la realización de esta tesis y en aquellas empleadas para la formación de ciclos carbonados.

En el **Capítulo 3** se describe la primera síntesis de 6,19-metanopregn-4-ene-3,20-diona (6,19-metanoprogesterona, **18**). Se hace una descripción somera de los métodos radicalarios utilizados para la funcionalización de enlaces C-H no activados y de los antecedentes y resultados obtenidos en la reacción de Wittig para aldehídos neopentílicos en esteroides. Se discute en particular las condiciones experimentales desarrolladas en esta tesis en condiciones de “salt-free” que permitieron la obtención de rendimientos excelentes, superiores a los descriptos para esa reacción. Se analizan también las implicancias estereoquímicas inusuales de la misma y se propone una explicación. Finalmente se describe la formación del puente 6,19-metano mediante una reacción de adición del doble enlace 5,6 sobre el carbono carbonílico incorporado en C-19 catalizada por ácido de Lewis (reacción de Prins) la cual permite realizar la ciclación 5-*endo* trig no favorecida de acuerdo con las reglas de Baldwin.

En el **Capítulo 4** se describen dos aproximaciones a la formación de puentes carbonados entre las posiciones 11 y 19, a partir de 11 α -hidroxiprogesterona. En la primera (vía iónica), se sintetizó el precursor 3 β -acetiloxi-19-metilidén-5-pregnen-11,20-diona (**146**) utilizando las mejores condiciones desarrolladas en este trabajo para la obtención de **18**. El tratamiento de **146** en condiciones de la reacción de Prins produjo inesperadamente la adición del oxígeno carbonílico de la posición 11 sobre el grupo

vinilo previamente generado (C-19 – C-19a) con formación del compuesto hemiacetalico **147**. No obstante, a partir de **147** y realizando las transformaciones sintéticas pertinentes se pudo obtener 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona **20**, un análogo del mineralocorticoide sintético 11,19-óxidoprogesterona (**7**) el cual presenta un grupo metilo adicional sobre la cara β de la molécula. En la segunda aproximación (vía radicalica) se sintetizó el precursor 19-metilidén-3 β -terbutildimetilsililoxi-11 α -metiltiotiocarboniloxi-5-pregnen-20-ona (**166**) y se intentó su ciclación a través del carbono radicalico generado en C-11 en diferentes condiciones experimentales (solvente, temperatura, concentración, transportados de radicales) tomadas de literatura para favorecer el proceso intramolecular.

En el **Capítulo 5** se presentan los ensayos biológicos realizados con 19(S)-metil-11,19-óxidoprogesterona (**20**) y otros compuestos esteroidales 19-sustituidos sintetizados en esta tesis. En el caso del compuesto **20**, se estudió su afinidad por el receptor de mineralocorticoides midiendo el desplazamiento de aldosterona tritizada unida al receptor. Se comparó los resultados con los obtenidos para 11,19-óxidoprogesterona (**7**) y se observó que mientras la afinidad de 11,19-óxidoprogesterona es baja, la de su derivado 19-metilado **20** es nula, indicando que la presencia de un grupo metilo sobre la cara β de la molécula influye en la unión al receptor de aldosterona y probablemente también en sus propiedades farmacológicas. Por otro lado, el estudio de la actividad antiherpética de algunos esteroides sintetizados como parte de este trabajo de tesis mostró que ellos se comportan como antivirales moderados. En particular, el virus herpes simplex tipo 2 (cuya incidencia en la salud humana está bien documentada) mostró una gran susceptibilidad a 3 β , 20 β -diacetiloxi-5 α -cloro-6,19-metanopregnano (**124**).

En el **Capítulo 6** se describen los detalles experimentales del trabajo realizado incluyendo datos espectroscópicos y propiedades físicas de los compuestos descriptos no incluidos en los capítulos anteriores ni en los **Apéndices B** y **C**.

En el **Apéndice A** se describe un estudio de reactividad de las posiciones oxigenadas 11 y 20 de esteroides en relación con los grupos protectores formiato y acetato. En el **Apéndice B** se presentan los desplazamientos de RMN ^{13}C de algunos de los compuestos sintetizados en esta tesis y en el **Apéndice C** la asignación completa de

los desplazamientos de RMN ^1H de algunos de ellos. En el **Apéndice D** se presentan las estructuras de los compuestos sintetizados.

Parte de este trabajo de tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

6,19-Carbon-bridged steroids. Synthesis of 6,19-methanoprogesterone

M. Joselevich, A. A. Ghini y G. Burton, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 939-943 (2003)

Antiherpes virus activities of new 6,19 carbon-bridged steroids and some synthetic precursors.

E. Petrerá, M. Joselevich, A.A. Ghini, G. Burton y C. E. Coto, *Antiviral Chemistry & chemotherapy* **14**, 243-248 (2003)

Citas bibliográficas

- Andersen N. H., S. W. Hadley, J. D. Kelly and E. R. Bacon, *J. Org. Chem.*, **50**, 4144–4151 (1985).
- Bagli, J. F., P. F. Mohand and R. Gaudry, *J. Org. Chem.*, **28**, 1207–1217 (1963).
- Barton D. H. R., D. O. Jang and J. Cs. Jaszberenyi, *Tetrahedron*, **49**, 7193–7214 (1993).
- Barton D. H. R., Mc Combie, S. W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1574–1585 (1975).
- Benedetti M. O. V, E. S. Monteagudo and G. Burton *J. Chem. Res (S)*, 248–249 (1990).
- Benedetti-Doctorovich, M. O. V., A. A. Ghini and G. Burton *Steroids*, **61**, 345–348 (1996).
- Benedetti-Doctorovich, M. O. Violeta, Tesis doctoral, FCEN, UBA (1991)
- Blomquist A. T. and R. J. Himics *J. Org. Chem.* **33**, 1156–1159 (1968)
- Bojack, C, H. Künzer, K. Rölfing and M. Thiel. *Tetrahedron. Lett.* **37**, No. 34, 6103–6104 (1996)
- Brachet-Cota, A. L Tesis doctoral, FCEN, UBA (1989)
- Brachet-Cota, A. L. and G. Burton. *Z. Naturforsch.* **45b**, 711–715 (1990)
- Broess A. I. A., M. B. Groen and H. Hamersma. *Bio. & Med. Letters.* **7**, No. 23, 2929–2934 (1997)
- Burkhart J. P., E. W. Huber, F. M. Lanskovics and N. P. Peet, *J. Org. Chem.*, **57**, 5150–5154 (1992)
- Burton G., C. P. Lantos and A. S. Veleiro, PCT Int. Appl. WO 02 22,647, 21 Mar 2002, EP Appl. EP 00,119,495.0, 18 Sept 2000.
- Burton, G., M. Galigniana, A. L. Brachet-Cota, E. M. Sproviero, A. A. Ghini, C. P. Lantos and M. C. Damasco. *Molecular pharmacology*, **47**, 535–543 (1995)
- Burton, G; Lantos, C. P.; Veleiro, A. S. Patente de invención WO 02/22647 (2001)
- Calandra R., de Nicola A. “Endocrinología Molecular”, Ed. El Ateneo, (1985)
- Campos Neves A. S., M. L. Sá e Melo, M. J. S. M. Moreno, E. J. Tavaréz da Silva, J. A. R. Salvador, S. P. da Costa and R. M. L. M. Martins, *Tetrahedron*, **55**, 3255–3264, (1999)
- Cleve, A., Ottow, E., Neef, G. and Wiechert, R. *Tetrahedron*, **49**, 2217–2226 (1993)
- Corey E. J. and M. Chaykovsky. *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 867–868 (1962)
- de Armas P., J. I. Concepcion, C.G. Francisco, R. Hernandez, J.A. Salazar, E. Suarez, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 405–411 (1989)
- Delettré, J. J., P. Mornon, G. Lopicard, T. Ojasoo and J. P. Raynaud. *J. Steroid. Biochem.*, **13**, 45–59 (1980)

- Desai U. R. Y G. K. Trivedi. *J. Org. Chem.*, **56**, 4625-4631 (1991)
- Di Chenna, P. H., A. Ferrara, A. A. Ghini y G. Burton *J. Chem. Soc , Perkin Trans. I*, 227-231 (2002-b)
- Di Chenna, P. H., Tesis doctoral, F.C.E.y N. U.B.A (2002)
- Duax W. L., J. F Griffin, P. D. Strong,, J. W Funder. and S. Ulick. *J. Am. Chem. Soc*, **104**, 7291-7293 (1982)
- Duax, W. L., V. Cody, J. F. Griffin, D. C. Roher, and C. M. Weeks. *J. Tox. Environ. Health* **4**, 205-227 (1978)
- Ferrara, A, Tesis doctoral, F.C.E.y N. U.B.A (1996)
- Foo R, K M O'Shaughnessy, M J Brown. *Postgrad Med J*, **77**, 639-644 (2001)
- Galigliana M. D., G. P. Vicent G. G., G. Piwien-Pilipuk, G. Burton and C. P. Lantos. *Molecular pharmacology*, **58**, 58-70 (2000)
- Giese B. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **24**, 553-565 (1985)
- Greene T. W. and P. G. M. Wuts. "Protective groups in Organic Chemistry", Ed. Willey-Interscience, tercera edición (1997)
- Gringauz, A: "Introduction to Medicinal Chemistry", Ed. Willey-VCH (1997)
- Haasnoot C. A. G, F. A. A. M. de Leeuw and C. Altona, *Tetrahedron*, **36**, 2783-2792 (1980).
- Hart, D.; Bennett, C. E.; *Org Lett*, **5**, 1499-1502 (2003)
- Harwood, L. M. *Aldr. Chim. Acta*. **18**, 25-27 (1985)
- Hauser D., K. Heusler, J. Kalvoda, K. Schaffner and O. Jeger, *Helv. Chim. Acta*, **47**, 1961-1979 (1964)
- Hazra B. G. and Vandana S. Pore. *J. Indian Inst. Sci.* **81**, 287-298 (2001)
- Höller R and Lischka H. *J. Am. Chem. Soc*, **102**, 4632 (1980)
- Joselevich M., A. A. Ghini and G. Burton *Org. Biomol. Chem.* **1**, 939-943 (2003)
- Klinzer H., D. Bittler, D. Rosenberg, G. Sauer and R. Wiecher, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 6171-6174, (1990)
- Kočovský P. and F. Tureček, *Tetrahedron*, **39**, 3621-3626 (1983-a)
- Kočovský, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **48**, 3618-3628 (1983-b)
- Lan-Hargest, H; J. D. Elliott, D. S. Eggleston, D. A. Holt, M. A. Levy and B. W. Meltcalf: *Tetrahedron Lett.* **28**, 6117-6120 (1987)

- Lesuisse D., F. Canu and B. Tric. *Tetrahedron*, **50**, 8491 (1994)
- Litter, M.: Farmacología experimental y clínica. 4ª ed, Ed. El Ateneo (1973)
- Marcotte P. A. and C. H. Robinson. *Steroids*, **39**, 325-342 (1982)
- Mari F, P. M. Lahti and W. E. Mc Ewen. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 813-821 (1992)
- Maryanoff B. E. and A. B. Reitz. *Chem. Rev.*, **89**, 863-927 (1989)
- Maryanoff B. E., A. B. Reitz, M. S. Mutter, R. R. Inners, H. R. Almond Jr. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 1068-1070 (1985)
- Maryanoff B. E., A. B. Reitz, M. S. Mutter, R. R. Inners, H. R. Almond Jr. , R. R. Whittle, R. A. Olofson. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 7664-7678 (1986)
- Motherwell W. H. and D. Crich “Free radical chain reactions in Organic Synthesis” Academic Press (1992).
- Nicoletti D., Alberto A. Ghini and Gerardo Burton. *J. Org. Chem.*, **61**, 6673-6677 (1996)
- O’Neal J., J., C. L. Wright, J. P. Burkhardt and N. P. Peet *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **44**, No.4-6, 623-631 (1993)
- Ottow E., R. Rohde, W. Schwede and R. Wiecher, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 5253–5256 (1993).
- Pearson A. J. and W. J. Roush en “Handbook of reagents for Organic Synthesis. Activating agents and protective groups” Ed. Willey (1999)
- Peet, N. P.; J. O’Neal, Johnston, J. P. Burkhardt and C. L. Wright. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **44**, No.4-6, 409-420 (1993)
- Peet, N. P.; J. O’Neal, Johnston, J. P. Burkhardt US Pat. 6,313,161 (2001)
- Pitt C. G., D. H. Rector, Cl. E. Cook and M. C. Wani: *J. Med. Chem.* **22**, No. 8, 966-970 (1979)
- Piwien-Pilipuk G., K. C. Kanelakis, A. A. Ghini, C. P. Lantos, G. Litwack, G. Burton and M. D. Galigliana. *Biochimica et biophysica acta*, **1589**, 31-48 (2002)
- Pretsch E., T. Clerc, J. Seibl and W. Simon. “Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos”, Ed. Alhambra (1980)
- Scheidges C., E. Ottow, S. Neier, G. Neef and W. Elger Gen Offen DE 3.820.948 (1990)
- Schwede, W.; K.H. Fritzemeier; W. Halfbrodt; R. Krattenmacher; P.Muhn; G. Neef; E. Ottow and K. Schöllkopf. *Steroids* **63**, 166-177 (1998)
- Snider, B. in *Comprehensive Organic Synthesis*, ed. B. M. Trost and I. Fleming, Pergamon

- Press, New York, Vol. 2, p. 527–561 (1991).
- Stewart P. M. *Lancet*, **353**: 1341-1347 (1999)
- Still, W. C., Khan y Mitra A. *J. Org. Chem*, **43**, 2923-2927 (1978)
- Uk Rhee J., B. I. Bliss, and T. V. RajanBabu *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 1492-1493 (2003)
- Vedejs, E.: Snoble, K.A.J. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 5778 (1973)
- Veleiro A. S., A. Pecci, M. C. Monteserín, R. Baggio, M. T. Garland, C. P. Lantos and G. Burton, *J. Med. Chem.* (en prensa)
- Veleiro, A. S., M. V. Nevado, M. C. Monteserín, and G. Burton. *Steroids*, **60**, 268-271 (1995)
- Vicent G.P., M. C. Monteserín, A. S. Veleiro, G. Burton, C. P. Lantos and M. D. Galigniana. *Molecular pharmacology*, **52**, 749-753 (1997)
- Weeks, C. M., W. L. Duax and M. E. Wolff. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 2865-2868 (1973)
- Yamakawa, M. K. Ezumi, M. Shiro, H. Nakai, S. Kamata, T. Matsui and N. Haga. *Molecular pharmacology*, **30**, 585-589 (1986)
- Yamataka, H and S. Nagase. *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 7530-7536 (1998)