

Tesis Doctoral

Síntesis de 6-tia, aziridino y sulfamido pregnanos análogos de esteroides neuroactivos

Durán, Fernando Javier

2005

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

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

Cita tipo APA:

Durán, Fernando Javier. (2005). Síntesis de 6-tia, aziridino y sulfamido pregnanos análogos de esteroides neuroactivos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Durán, Fernando Javier. "Síntesis de 6-tia, aziridino y sulfamido pregnanos análogos de esteroides neuroactivos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2005.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SÍNTESIS DE 6-TIA, AZIRIDINO Y SULFAMIDO
PREGNANOS ANÁLOGOS DE ESTEROIDES
NEUROACTIVOS

Director de Tesis
Dr. Gerardo Burton

Lugar de Trabajo
Departamento de Química Orgánica

Fernando Javier Durán

Tesis Presentada Para Optar por el Título de
Doctor de la Universidad de Buenos Aires

~2005~

SÍNTESIS DE 6-TIA, AZIRIDINO Y SULFAMIDO PREGNANOS ANÁLOGOS DE ESTEROIDES NEUROACTIVOS

En esta tesis se describe la síntesis de análogos de esteroides neuroactivos por dos vías: i) adición de nitreno a dobles enlaces en C-2/C-3 y C-5/C-6 a partir de un sulfamato en posición 19, ii) síntesis estereoselectiva de 5 α H-6tiapregnanos. Se desarrolló la metodología de aziridinación intramolecular, a partir de sulfamatos olefínicos, derivados de alcoholes primarios y secundarios, posteriormente se los sometió condiciones de aziridinación intramolecular en presencia de iodosilbenceno y catálisis de complejos de Cu(II) para la obtención de aziridinas bicíclicas fusionadas. Se realizaron aperturas de las aziridinas con nucleófilos nitrogenados, oxigenados y azufrados, la apertura en todos los casos fue en el carbono más sustituido. Se realizó la segunda sustitución sobre el carbono que contenía al oxígeno mediante activación del nitrógeno del sulfamidato. Se aplicó la metodología en esteroides utilizando como primer sustrato 3 β -acetiloxi-19-hidroxi-5-pregnen-20-ona, se sintetizó 3 β -acetiloxi-5 β ,6 β -iminopregnan-20-ona N,19-sultona y se realizaron aperturas de la aziridina con fluoruro, cianuro y acetato, observándose la apertura en C-5. En el caso del acetato a altas temperaturas se observó regioselectividad inversa en C-6 debido a la migración del acetato. A partir del 5 β ,6 β -aziridinoesteroide se sintetizó el análogo de neuroesteroide 3 α -hidroxi-5 β ,6 β -iminopregnan-20-ona N,19-sultona. Se utilizó también la metodología en 19-hidroxi-2-pregnen-20-ona y se sintetizó el 2 β ,3 β -iminopregnan-20-ona N,19-sultona, a partir del mismo se prepararon los derivados 3 α -hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona, N,bencil-3 α -hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona y 3 α -fluoro-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona. Para la síntesis de 6-tiapregnanos se partió de la sustitución nucleofílica de un 7-yodo-5,6-seco-6-norpregnano funcionalizado en C-19, que se obtiene por ruptura de un 5,6-diol esteroidal con HgO y yodo en presencia de luz. El esteroide anterior se sustituyó con tioacetato y luego se hidrolizó. El hemitiocetal resultante se redujo regioselectivamente por la cara α con trietilsilano, luego mediante la reacción de Mitsunobu se epimerizó a 3 α y posteriormente fue convertido en 10-metilo mediante la reacción de Barton-McCombie. Por hidrólisis del benzoato se obtuvo 3 α -hidroxi-6-tia-5 α -pregnan-20-ona y por oxidación con oxone el sulfóxido y la sulfona.

Palabras clave: neuroesteroides; aziridinación intramolecular; aziridinas; 6-tiapregnanos; sulfamidatos cíclicos

SYNTHESIS OF 6-THIA, AZIRIDINO AND SULFAMIDO PREGNANE ANALOGUES OF NEUROACTIVE STEROIDS

In this thesis the synthesis of analogues of neuroactive steroids is described i) by an intramolecular nitrene addition onto C-2/C-3 and C-5/C-6 double bonds involving a tethered C-19 sulfamoyl moiety, ii) by synthesis of 5 α H-6-thiapregnanes. An intramolecular aziridination methodology was developed using olefinic sulfamates derived from primary and secondary alcohols that undergo intramolecular copper-catalyzed aziridination in the presence of iodosylbenzene to afford bicyclic fused aziridines. The latter were opened by various nucleophiles to give the corresponding substituted cyclic sulfamates, which in turn reacted, after nitrogen activation, with a second nucleophile at the carbon atom bearing the oxygen atom. The methodology was applied to 3 β -acetyloxy-19-hydroxy-5-pregnen-20-one, the resulting aziridine underwent regioselective nucleophilic ring opening at C-5 at room temperature with cyanide, fluoride, and acetate. In the case of acetate, a reversal of regioselectivity was observed at higher temperatures, a result attributed to a rearrangement process involving aziridine ring opening at the C-5 position and subsequent migration of the acetyl moiety to C-6. Using the 5 β ,6 β -aziridinosteroid, the 3 α -hydroxy-5 β ,6 β -iminopregnan-20-one N,19-sultone was synthesized. 2 β ,3 β -iminopregnan-20-one-N,19-sultone was synthesized from 19-hydroxy-2-pregnen-20-one, nucleophilic opening of the sultone gave 3 α -Hydroxy-S,S-dioxo-19,2-(epoxythioimino)-pregnan-20-one, N,benzyl-3 α -hydroxy-S,S-dioxo-19,2-(epoxythioimino)-pregnan-20-one and 3 α -fluoro-S,S-dioxo-19,2-(epoxythioimino)-pregnan-20-one. The 6-thia pregnanes were obtained by nucleophilic substitution of a 5-oxo-7-iodo-secopregnane intermediate with thioacetate and hydrolysis. The 6-thiasteroid obtained was converted into 6-thia-allopregnanolone and its sulfoxide and sulfone derivatives. The trans stereochemistry at the A/B ring junction was accomplished by stereoselective reduction of an intermediate hemithioacetal with triethylsilane/BF₃.Et₂O.

Keywords: neurosteroids; intramolecular aziridination; aziridines; 6-thiapregnanes; cyclic sulfamidates

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

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y al Fondo para el Mejoramiento de la Calidad Universitaria (FOMEC) por las becas de doctorado otorgadas que hicieron posible la realización de este trabajo.

Al Doctor Gerardo Burton, la Doctora M. Cristina Tettamanzi, el Lic. Gernot Eskuche y José Gallardo por los espectros de RMN 1D y 2D realizados.

*Al Doctor Pablo H. Di Chenna por la realización de los espectros 1D y toda su ayuda con la síntesis, caracterización y química de los ciclopropilpregnanos **197** y **207**.*

A UMYMFOR (CONICET-FCEN) por las determinaciones instrumentales realizadas. A los Srs. Jorge Aznares y Gonzalo Abad por los espectros de masa y CGL-masa realizados y a la Lic. María de las Mercedes Rivero por la realización de los microanálisis.

Agradezco a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y ECOS-Francia por las pasantías enmarcadas en el convenio de cooperación Argentino-Francesa, Proyecto: Síntesis de Análogos de Esteroides Neuroactivos, Código A97E06 y al Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), CNRS-Francia, por haber brindado el lugar para la realización de las mismas.

Al Doctor Robert Dodd (ICSN-CNRS, Francia), por recibirme en su laboratorio, por su interés, dedicación y cordialidad en el trabajo, y por la bibliografía y los reactivos enviados que hicieron posible la finalización del trabajo iniciado en Francia.

Al Doctor Philippe Dauban (ICSN, CNRS, Francia) por su ayuda en el manejo del laboratorio y las enseñanzas y experiencia transmitidas.

Al servicio de microanálisis y espectrometría de masa del ICSN, CNRS, Francia por las determinaciones y espectros realizados.

A mis compañeros de laboratorio en el ICSN, CNRS (Francia) Albane Kessler, Aurélie Tarrade, Loïc Leman, Laurent Sanière, Beatrice Lucas, Brid Farell y Robert Weaving por su inconmensurable afecto, paciencia, ayuda desinteresada, buen humor y excelentes momentos compartidos.

Al Dr. Alberto Ghini por su participación en mi formación científica, su amistad, su ayuda incondicional, su amor por la química y sus consejos a lo largo de mis años de doctorado.

A la Dra. Adriana Veleiro por su instinto maternal, paciencia, amistad, consejos y su ejemplo durante todos estos años.

A Eduardo Sproviero por su ayuda desinteresada en temas de computación, red, e-mail, antivirus y afines.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio a lo largo de estos años María Joselevich, Pablo H. Di Chenna, Rosana I. Misico, M. Cristina Tettamanzi, , Eduardo M. Sproviero, Gisela Arzac, Valeria C. Edelsztejn, Adriana M. Cirigliano, Lautaro Alvarez, Yosy Machado, Evelyn L. Bonifazi, Virginia Dansey, Juan M. Sonogo, Juan C. Rizo Patrón, Paula Taich, Silvina Eduardo, Florencia Speroni y Flavia M. Morelli, por hacer más llevadero el día a día y compartir millones de anécdotas.

A los profesores del Departamento de Química Orgánica por su apoyo y consejos.

A mis compañeros del Departamento de Química Orgánica por su buena voluntad, buen humor, espíritu de sacrificio y tiempo compartido en todos estos años.

A mis amigos de fierro y sus retoños Pablo, Esteban, María, Fernando, Fabiana, Osvaldo, Marcelo, Marcos, Francisco, Astrid, Galo, Lujan, Analía, Gastón, Sebastián G y P, Claudia, Víctor, Daniel, Santiago, Robert, Albane, Jacinta, Karina, Gabriela e Irene por el afecto y el apoyo brindado en estos años.

A los familiares que me han acompañado y apoyado siempre Celso, Estrella, Eduardo, Leonardo, Marisa, María Inés, Juan, Miguel, Daniel, Beatriz y mis sobrinos.

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

Al personal de la Biblioteca Central de la facultad.

A Sabrina y Ana Burton por su amabilidad, su desinteresada colaboración y su eterna paciencia.

A mi madre.

A la memoria de mi padre y mis abuelos Antonio y Dolores.

Agradezco al Doctor Gerardo Burton por haberme brindado la oportunidad de realizar esta tesis, por su dedicación, interés, entusiasmo y apoyo constantes y el conocimiento y experiencia transmitidos durante todos estos años.

*A Patricia, Federico y Néstor por el afecto, el apoyo y la paciencia
que siempre me brindaron.*

INDICE

	Página
CAPÍTULO 1	
Introducción: Receptor GABA_A y la acción de los esteroides neuroactivos	3
❖ Introducción General.	3
Las neuronas	3
❖ El receptor GABA _A	6
Las distintas subclases de receptores de GABA	7
Tipos de receptor y ligandos específicos	7
Estructura molecular del receptor GABA _A	9
Sitios de unión del receptor GABA _A	11
❖ Neuroesteroides	13
Biosíntesis y metabolismo de neuroesteroides	14
Neuroesteroides como moduladores del receptor GABA _A	17
Neuroesteroides y la composición de las subunidades del receptor GABA _A	18
Relación estructura-actividad	19
Farmacocinética y farmacodinámica	22
Usos terapéuticos de los esteroides neuroactivos	23
CAPÍTULO 2	
Aziridinas y Sulfamidatos Cíclicos	29
❖ Aziridinas: Introducción	29
Propiedades de las aziridinas	30
Aplicaciones en síntesis orgánica	32
Síntesis de aziridinas	33
❖ Sulfamidatos Cíclicos: Introducción	44
❖ Reactividad de sulfamidatos cíclicos	45
❖ Síntesis de sulfamidatos cíclicos	45

	Página
CAPÍTULO 3	
Metodología de aziridinación intramolecular y formación de Sulfamidatos Cíclicos	53
❖ Introducción	53
❖ Metodología	54
Síntesis de precursores	54
Aziridinación intramolecular	57
Estudio de aperturas nucleofílicas	60
Doble sustitución	66
CAPÍTULO 4	
Síntesis de 5β,6β-aziridino y 6,19-sulfamido esteroides	73
❖ Introducción	73
Sulfamido esteroides	73
Aziridino esteroides	75
❖ Funcionalización de C-19	77
❖ Síntesis del precursor para la aziridinación	81
❖ Síntesis del aziridinoesteroide 181	83
❖ Aperturas nucleofílicas del compuesto 181	85
❖ Síntesis del aziridinoneuroesteroide 20	94
❖ Doble sustitución sobre derivados de 183	97
CAPÍTULO 5	
Síntesis de 2β,3β-aziridino y 2β,19 sulfamido esteroides	103
❖ Introducción	103
❖ Síntesis del intermediario 193 por la ruta A	105
❖ Síntesis del intermediario 193 por la ruta B	107
❖ Aplicación de las metodologías de sulfanilación y aziridinación	114
❖ Síntesis del análogo 21	117
❖ Síntesis del análogo 22	118
❖ Síntesis del análogo 23	119

	Página
CAPÍTULO 6	
Síntesis de 6-tia-pregnanos análogos de allopregnanolona	125
❖ Introducción	125
❖ Análisis retrosintético	127
❖ Síntesis del secoesteroide 224	128
❖ Inserción del átomo de azufre	131
❖ Síntesis del 6-tia-pregnano	132
❖ Síntesis del análogo 17	135
❖ Síntesis de los análogos oxidados	140
 CAPÍTULO 7	
❖ Actividad biológica de 6-tia-pregnanos análogos de allopregnanolona	149
 CAPÍTULO 8	
❖ Parte Experimental	155
❖ Generalidades	155
❖ Purificación de solventes	157
❖ Purificación y preparación de reactivos	157
❖ Detalles experimentales	158
 Apéndice A : Desplazamientos químicos de ¹H y ¹³C	215
 Apéndice B : Modelado molecular	245
 Apéndice C: Resumen de Estructuras	251
 Resumen	259
 Citas bibliográficas	265

Abreviaturas

Å	angstrom
Ac ₂ O	anhídrido acético
AIBN.	2,2'-azodiisobutironitrilo
Bu ₃ SnH	hidruro de tri-n-butil estaño
CCD	cromatografía en capa delgada
CCP	cromatografía en Capa Preparativa
CF	cromatografía Flash
Col	colaboradores
COSY	espectro de correlación homonuclear H-H
DEAD	diazocarboxilato de dietilo
DEPT-135	incremento libre de distorsión por transferencia de polarización con pulso de 135°
DIB	iodosobenceno diacetato
DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMAP	dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EM	espectrometría de masa
EMAR	espectrometría de masa de alta resolución
EM-FAB	espectrometría de masa-ionización por bombardeo con átomos rápidos
eq	equivalentes
g	gramo
GABA	ácido γ -aminobutírico
HETCOSY	espectro de correlación heteronuclear C-H
HMBC	correlación heteronuclear a varios enlaces
HMQC	correlación heteronuclear mediada por coherencias de varios cuantos
IE	ionización por impacto electrónico
IES	ionización por electrospray
IQ	ionización química
I.R.	infrarojo
J	constante de acoplamiento spin-spin

Lit.	literatura
mM	milimoles
M	molar
M ⁺	ión molecular
MeOH	metanol
MHz	megahertz
ml	mililitro
mmol	milimol
Ms	mesilo
m/z	relación masa/carga
nm	nanometro
Ns	nosilo (p-nitrobencenosulfonilo)
NOESY	espectro de correlación homonuclear por efecto nuclear Overhauser
PCC	clorocromato de piridonio
PhIO	iodosilbenceno
ppm	partes por millón
REE	resonancia de espín electrónico
RMN ¹³ C	resonancia magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
RX	rayos X
Ses	trimetilsilil(etansulfonilo)
S.N.C.	sistema nervioso central
t.a.	temperatura ambiente
TASF	difluorotrimetilsilicato de tris-(dimetilamino)-sulfonio
TBDMSCI	cloruro de t-butildimetilsililo
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
THDOC	tetrahidrodeoxicorticosterona
THF	tetrahidrofurano
Ts	tosilo (p-metilbencenosulfonilo)
U.V.	ultra violeta
W _{1/2}	ancho de la señal a media altura
μl	microlitro

Capítulo 1

Introducción: Receptor GABA_A y la acción de los
esteroides neuroactivos

Receptor GABA_A y la acción de los esteroides neuroactivos

1. Introducción general

1.1 Las neuronas

Hacia fines del siglo XIX, los biólogos G. Retzius y Ramón y Cajal se dedicaron a estudiar la estructura y la función del sistema nervioso. El estudio de las diferentes funciones de la especie humana y los vertebrados tales como la percepción, la capacidad de abstracción, la memoria y otros fenómenos les permitieron postular la existencia de interacciones complejas entre entidades celulares bien definidas llamadas células nerviosas o neuronas. Durante el mismo período y debido principalmente al trabajo de Sherrington, la evolución de la neurobiología condujo a la noción de integración neuronal, por la existencia de una conexión (sinapsis) entre neuronas definidas genéticamente. Así, Sherrington, en 1897, definió la contracción de un músculo como el resultado de una orden (ó integración) proveniente de influencias emitidas por una multitud de neuronas.

Los dos conceptos (neurona e integración neuronal) llevaron a los biólogos a admitir la existencia de una transmisión de información entre neuronas. Estos descubrimientos permitieron elucidar los fenómenos de estructura, función y mecanismos de comunicación de las neuronas.

Las neuronas (figura 1.1) son entidades bien definidas, constituidas por un cuerpo celular (soma), el axón y las dendritas, éstas últimas facilitan el pasaje de la información nerviosa. El cerebro está constituido por cincuenta mil millones de neuronas que forman una red muy compleja, en el interior de la cual cada neurona mantiene no menos de mil conexiones con sus vecinas.

La transmisión del flujo nervioso de una neurona presináptica sobre una neurona postsináptica se efectúa a nivel de una sinapsis por intermedio de moléculas llamadas neurotransmisores (mensajeros químicos), figura 1.2. Liberados por excitación de una neurona presináptica, los neurotransmisores difunden a través del espacio sináptico y al alcanzar la membrana postsináptica, se unen a los receptores situados en la superficie. Su unión específica induce una cascada de reacciones que conducen a una o muchas respuestas biológicas.

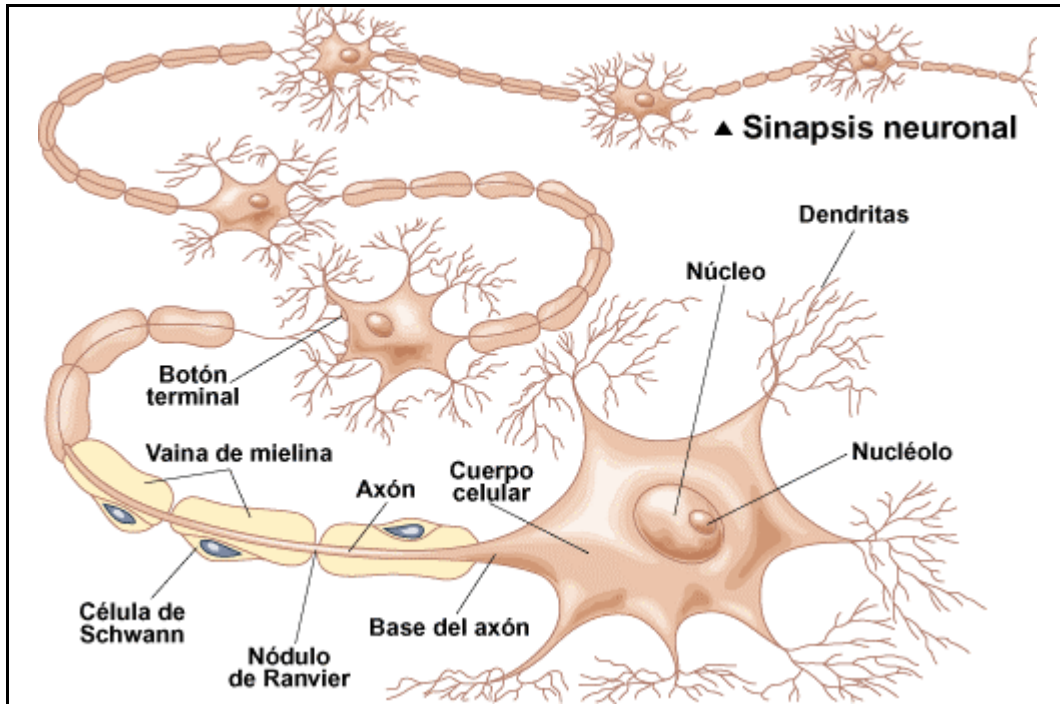


Figura 1.1 Esquema de una neurona.

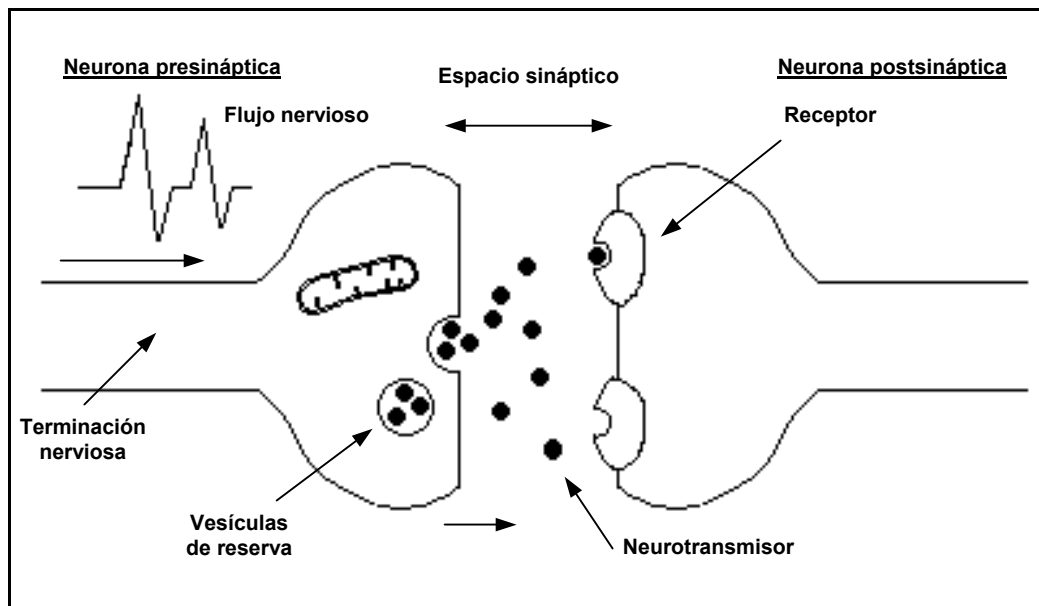


Figura 1.2 Acción de los neurotransmisores.

Durante las décadas de 1960 y 1970 fueron descubiertos numerosos mensajeros químicos de bajo peso molecular; entre los cuales podemos encontrar aminas como la

acetilcolina, la dopamina y el ácido γ -aminobutírico (GABA), α -aminoácidos como el ácido glutámico y el ácido aspártico y neuropéptidos (figura 1.3).

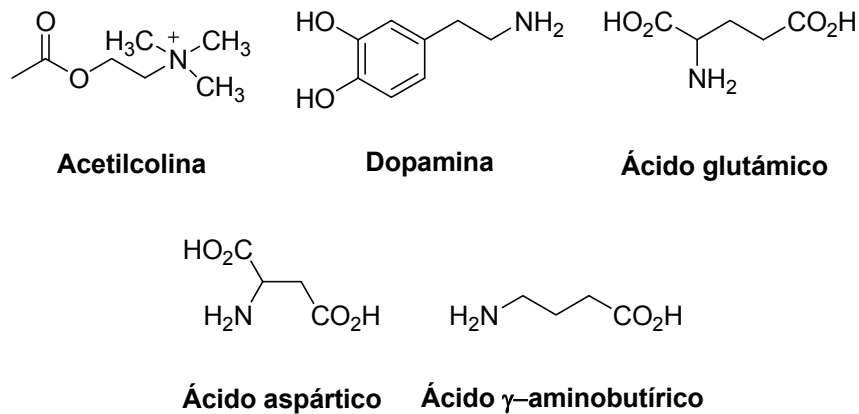


Figura 1.3 Mensajeros químicos del SNC.

Cada mensajero tiene una función específica en el seno del sistema nervioso central. Para un mediador determinado, existe una familia de neuronas que posee las propiedades funcionales, las localizaciones y un modo de comunicación bien definido. Sin embargo, la coexistencia de muchos receptores sobre la misma neurona permite la modulación de la actividad neuronal bajo la influencia de esos diferentes neurotransmisores. Dos tipos de sinapsis químicas ilustran esta interacción sobre el sistema nervioso central: las sinapsis excitatorias y las inhibitorias.

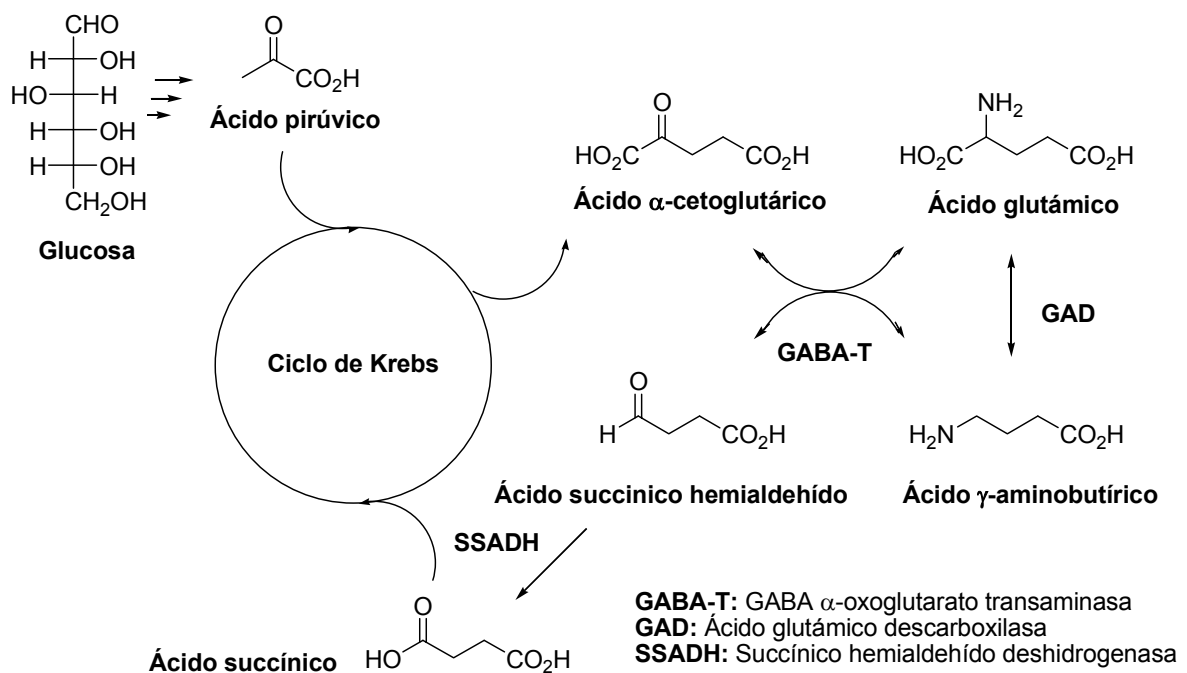
Las sinapsis excitatorias implican a los α -aminoácidos tales como el ácido glutámico y el aspártico en tanto que la transmisión inhibitoria utiliza mayoritariamente al GABA como mensajero. En las sinapsis excitatorias, la transmisión del flujo nervioso conduce a una despolarización de la neurona en tanto que en el sistema inhibitorio (gabaérgico) se observa el fenómeno inverso de hiperpolarización de la membrana; estos dos mecanismos, siempre en equilibrio en el sistema nervioso, constituyen la base de la comunicación neuronal.

Una disfunción cualquiera en estos sistemas de transmisión, constituye el origen de numerosas enfermedades neurológicas tales como la epilepsia, los problemas del sueño, la enfermedad de Huntington y la enfermedad de Parkinson. Debido a que todas estas patologías están ligadas a una desregulación de la transmisión gabaérgica, el estudio del sistema inhibitorio mediado por GABA resulta particularmente interesante y es por ello un tema de investigación muy activo.

2. El receptor de GABA

2.1 Ácido γ -aminobutírico (GABA)

El ácido γ -aminobutírico (GABA) (ver Figura 1.3, página 5), fue descubierto en 1950 por el equipo de Roberts (Roberts, 1986) y se lo considera el neurotransmisor inhibitor más importante del sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. El GABA interviene en el 20% a 50% de las transmisiones sinápticas, según las regiones neuroanatómicas. Se sintetiza a partir de glucosa en el ámbito de las terminaciones nerviosas (esquema 1.1). Este ligando biológico interviene en numerosos procesos fisiológicos tales como la regulación del apetito, el sueño y la adaptación al estrés.



Esquema 1.1 Catabolismo y metabolismo del GABA.

2.2 Transmisión gabaérgica inhibitoria

La llegada de un potencial de acción en la terminación nerviosa de una neurona presináptica induce la apertura de los canales de calcio dependientes del voltaje, lo cual provoca una entrada masiva de iones calcio en la neurona. La concentración intracelular de calcio aumenta y dispara la liberación de GABA, contenido en las vesículas sinápticas, en un proceso de exocitosis dentro del espacio sináptico. El neurotransmisor difunde y luego se fija específicamente sobre las diferentes clases de receptores de GABA (A, B ó C) localizados sobre la membrana postsináptica. Esta fijación induce modificaciones en el receptor, activando una cascada de reacciones que dan origen a la transmisión de la información a la neurona postsináptica.

En lo que concierne al receptor GABA_A, su activación se traduce por la apertura de un canal permeable a iones cloruro. El flujo de iones cloruro provoca así una hiperpolarización de la membrana neuronal, ejerciendo un efecto inhibitorio de la transmisión nerviosa.

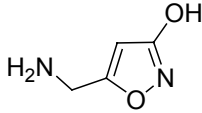
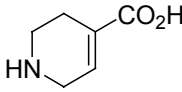
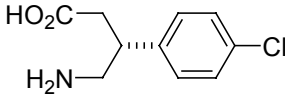
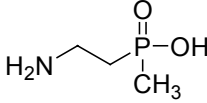
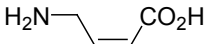
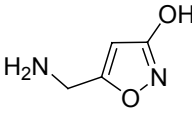
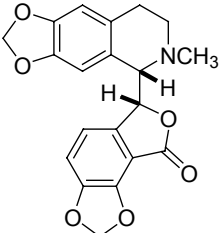
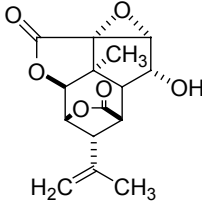
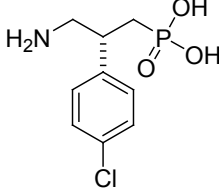
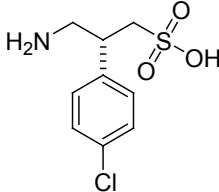
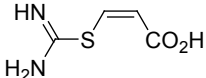
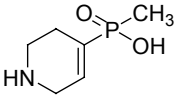
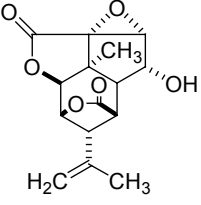
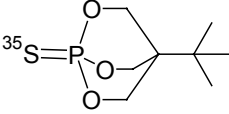
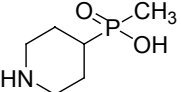
2.3 Las distintas subclases de receptores de GABA

2.3.1 Tipos de receptor y ligandos específicos

En la década de 1970, un alcaloide natural de la familia de las ftalidoisoquinoleínas, la **bicuculina**, aislada de *Dicentra* y *Corydalis* por Manske,(Manske, 1932; 1933) presentó propiedades antagonistas específicas frente a los receptores GABA_A.(Curtis, 1970) Este descubrimiento sirvió de punto de partida para que numerosos grupos de investigación realizaran estudios farmacológicos del GABA en diferentes zonas del SNC. Los receptores inicialmente fueron caracterizados por su sensibilidad frente a este alcaloide. Luego, gracias al descubrimiento de nuevos ligandos específicos se identificaron 3 subclases de receptores.(Bowery, 1980; Johnston, 1975). En la tabla 1.1 se presentan las tres subclases de receptores de GABA, sus principales agonistas y antagonistas y los ligandos radiactivos que se utilizan en los estudios de unión al receptor.

Los receptores GABA_A y GABA_C (Johnston, 1996) son los llamados ionotrópicos porque están acoplados a un canal permeable a iones cloruros; en tanto que los de la clase B (GABA_B), son llamados metabotrópicos por estar acoplados a una proteína G; estos últimos controlan el pasaje de iones potasio al exterior de la célula nerviosa.

Tabla 1.1 Subclases de receptores de GABA, sus agonistas y antagonistas:

	GABA_A	GABA_B	GABA_C
Agonistas específicos	 Muscimol  Isoguvacina	 L-baclofen  SKF 97541	 CACA ácido cis 4-aminocrotónico  Muscimol
Antagonistas específicos	 Bicuculina  Picrotoxina	 Phaclofen  Saclofen	 ZAPA  TPMPA  Picrotoxina
Ligandos radiactivos	[³H]-muscimol [³H]-flunitrazepam  [³⁵S]-TBPS	[³H]-L-baclofen	 [³H]-P4MPA [³H]-muscimol
Mecanismo del receptor	Ionotrópico	Metabotrópico acoplado a proteína G	Ionotrópico
Canal iónico asociado	Cl⁻	K⁺ y Ca²⁺	Cl⁻

Los receptores GABA_B y GABA_C no han sido estudiados en detalle como los de la subclase GABA_A. La identificación de las subunidades proteicas de la serie B dejan predecir una posible heterogeneidad estructural (Möhler, 1999) pero esta hipótesis no ha sido corroborada todavía.

2.3.2 Estructura molecular del receptor GABA_A

Las investigaciones enfocadas a la elucidación de su estructura, revelaron que el receptor GABA_A pertenece a la familia de receptores asociada a canales iónicos (Schofield, 1987). Estos receptores poseen una estructura heterooligomérica pseudomimética transmembranaria de forma pentamérica. Por microscopía electrónica se determinó que es análogo al receptor de acetilcolina (Nayeem, 1994). Los estudios bioquímicos y de biología molecular de la estructura molecular del complejo (Schofield, 1987; Olsen, 1990; Burt, 1991; McDonald, 1994; Bonnert, 1999) , mostraron que está constituido por numerosas subunidades proteicas distintas (tipo α , β , γ , δ , ρ , ϵ , π y θ). La homología en las secuencias peptídicas de las diferentes subunidades varía entre el 30 y el 40% (Figura 1.4). Cada subunidad presenta varias isoformas como por ejemplo: α_{1-6} , β_{1-3} , γ_{1-3} y ρ_{1-3} .

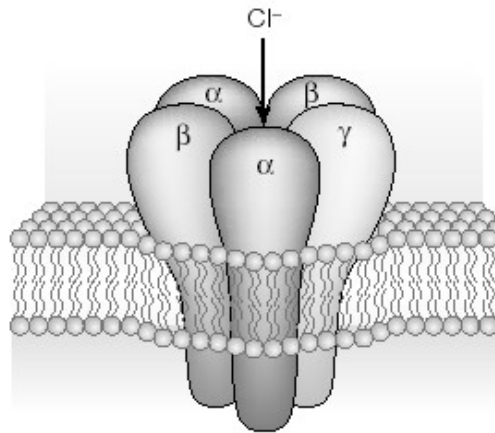


Figura 1.4 Estructura del receptor GABA_A.

Como se mencionó, el complejo está compuesto por cinco subunidades; teniendo en cuenta la existencia de por lo menos ocho tipos diferentes, existen numerosas

combinaciones y arreglos espaciales posibles para formar el receptor. A pesar de tal multiplicidad, no se encuentran todas las combinaciones en el cerebro sino sólo un número limitado, ligado a un arreglo preferencial de combinaciones de unidades entre sí. De esta forma, el número de subclases de receptores presentes dentro del sistema nervioso central es limitado.

El grupo de investigación de Pritchett (Pritchett, 1989), realizando estudios farmacológicos sobre receptores GABA_A recombinados, demostró que las tres subunidades indispensables para la construcción del receptor son α , β y γ . Posteriormente el grupo de Whiting (McKerman, 1996) aclaró que los subtipos más representativos en el cerebro presentan un arreglo pentamérico constituido por dos subunidades α , dos subunidades β y una subunidad γ , figura 1.4.(Chang, 1996; Backus, 1993) El subtipo preponderante (aproximadamente el 60%) es el $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, le sigue $\alpha_2\beta_3\gamma_2$ entre 15-20% y luego $\alpha_3\beta_x\gamma_2$ entre 10-15% (Barnard, 1998; Sieghart, 2002; Simon, 2004; Minier, 2004). Los receptores que incorporan subunidades α_4 , α_5 , α_6 , β_1 , γ_1 , γ_3 , δ , ϵ y θ son menos numerosos, pero no por ello tienen funciones menos importantes. Las subunidades δ y ϵ pueden sustituir a la subunidad γ .

Las subunidades ρ forman pentámeros homoméricos o heteroméricos, los cuales funcionan como receptores de GABA que abren los canales de cloruro, pero que presentan propiedades farmacológicas distintivas respecto de GABA_A. La composición de subunidades influye de forma fundamental en la superficie del receptor, afectando la sensibilidad al GABA, la cinética del transporte iónico y la desensibilización, ubicación neuronal y propiedades farmacológicas. Un estudio de la energía de interacción entre las subunidades, tomadas de a pares, permitió establecer una clasificación de las subunidades acopladas. En el mismo se manifestó que las interacciones entre subunidades diferentes eran más favorables energéticamente que las interacciones entre subunidades similares (Angelotti, 1993). De este modo se estableció que el pentámero presenta preferentemente el arreglo espacial según la estructura presentada en la figura 1.5.

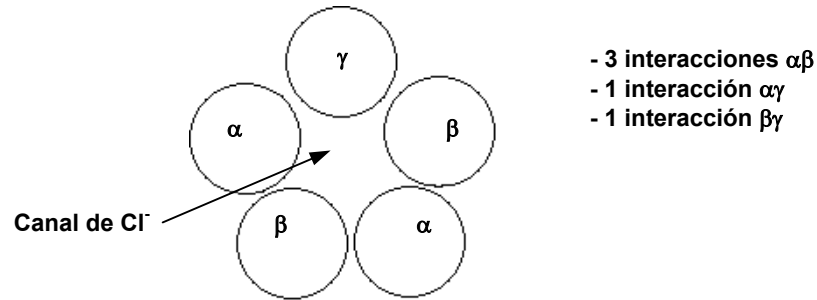


Figura 1.5 Arreglo preferencial de las subunidades del receptor GABA_A.

2.3.3 Localización fisiológica

Los receptores de GABA_A presentan una heterogeneidad estructural y regional en el cerebro. Los estudios de Wisden y colaboradores (Wisden, 1992) establecieron en detalle la distribución regional de los ARN mensajeros de las diferentes subunidades; esto se logró analizando la expresión de los genes que codifican para las diferentes subunidades (α , β ó γ) en las diferentes regiones neuroanatómicas por hibridación *in situ*.

Este estudio mostró que la distribución de los ARN mensajeros puede ser ubicua (subunidades α_1) ó muy específica (subunidad α_6). Ciertas regiones (neocorteza, hipocampo) coexpresan la mayor parte de los ARN mensajeros, conduciendo a una gran diversidad de receptores de GABA_A; en cambio, otras regiones presentan una diversidad más limitada. Así, la localización de las diferentes subunidades, particularmente con la presencia de ciertas formas de subtipos de receptores dentro de regiones neuroanatómicas específicas del cerebro, constituyen un elemento primordial para la elaboración de nuevos ligandos selectivos que posean un perfil farmacológico definido.

2.3.4 Sitios de unión del receptor GABA_A

El receptor GABA_A es un poro permeable a ión cloruro de aproximadamente 5Å de diámetro. Además del sitio de reconocimiento para GABA, posee otros sitios a los cuales se unen una gran variedad de ligandos (Bormann, 2000; Rudolph, 2001). En estos sitios de modulación alostérica (Sieghart, 1995) de la actividad gabaérgica se unen, entre otros, las benzodiazepinas (Squires, 1977), los esteroides (Lambert, 1995), los barbitúricos (Olsen, 1982), la picrotoxina, el tert-butilbiciclofosforotionato (TBPS) (Holland, 1993) y el loreclezole (Windrove, 1994) (Figura 1.6a) Las respuestas del GABA son bloqueadas

competitivamente por bicuculina y no competitivamente por picrotoxina; el receptor se modula intracelularmente por proteína-quinasa como la A y la C.

La topología de la membrana del receptor GABA_C se asume que es similar a la del GABA_A. (Figura 1.6c) Los receptores GABA_C están compuestos exclusivamente por subunidades ρ (ρ 1-3), las cuales pueden ensamblarse de forma homooligomérica o heterooligomérica. Este receptor también es permeable a iones cloruro y es activado selectivamente por el ácido 4-cis-aminocrotónico (**CACA**), bloqueado competitivamente por **TPMPA** y no competitivamente por picrotoxina. Los agonistas de los otros receptores de GABA como la bicuculina y el baclofen son inactivos en GABA_C. El receptor también está regulado por proteína quinasa. La variación de una isoforma en una misma subunidad (α , β ó γ) conduce a una modificación de la actividad biológica del receptor.

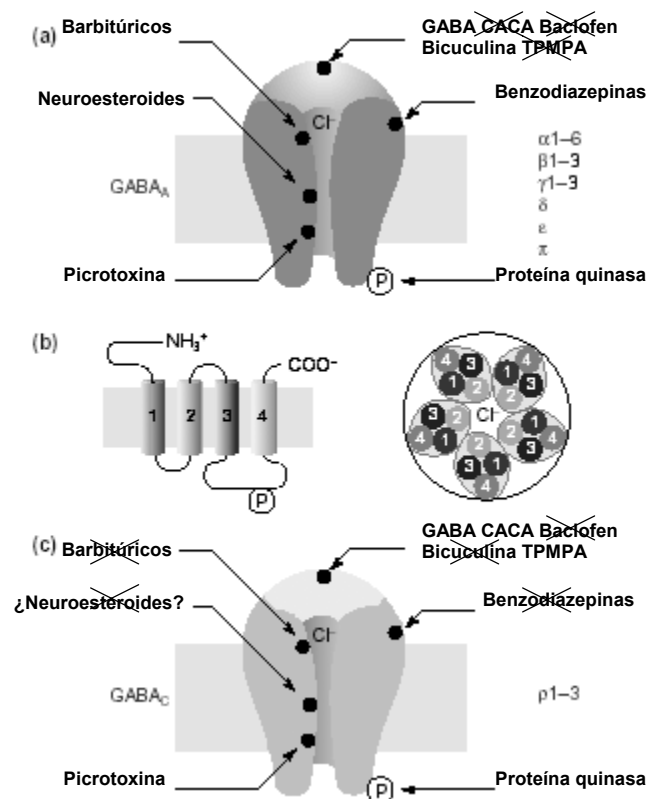


Figura 1.6 Multiplicidad de receptores GABA ionotrópicos A y C. a) Esquema del receptor GABA_A indicando los sitios de unión de sus ligandos principales. b) Esquema de una subunidad con sus 4 dominios transmembrana (TM1 a TM4). El bucle intracelular largo entre TM3 y TM4 contiene los sitios para la fosforilación de las proteína quinasa (P). El dominio TM2 que es anfífilico, forma el recubrimiento del canal de cloruro que se encuentra en el interior del pentámero c) Esquema del receptor GABA_C indicando los sitios de unión de sus ligandos principales. Los compuestos que no presentan sitio de unión se encuentran tachados.

3. Neuroesteroides

El término neuroesteroide fue utilizado originalmente por Baulieu en 1981, en referencia a los esteroides sintetizados localmente en el cerebro a partir de colesterol u hormonas esteroidales precursoras (Baulieu, 1999). Se encontró que estos esteroides, como la pregnenolona (**PREG**), la dehidroepiandrosterona (**DHEA**) (figura 1.7) y sus sulfatos y ésteres lipídicos se encuentran presentes en altas concentraciones en tejidos del sistema nervioso (cerebro y nervios periféricos) y que además estos compuestos persisten en el sistema nervioso central, luego de realizarse la gonadectomía y adrenalectomía. Estos resultados sugirieron que los mismos podrían ser sintetizados *de novo* en el SNC ó SNP ó acumulados en estas estructuras.

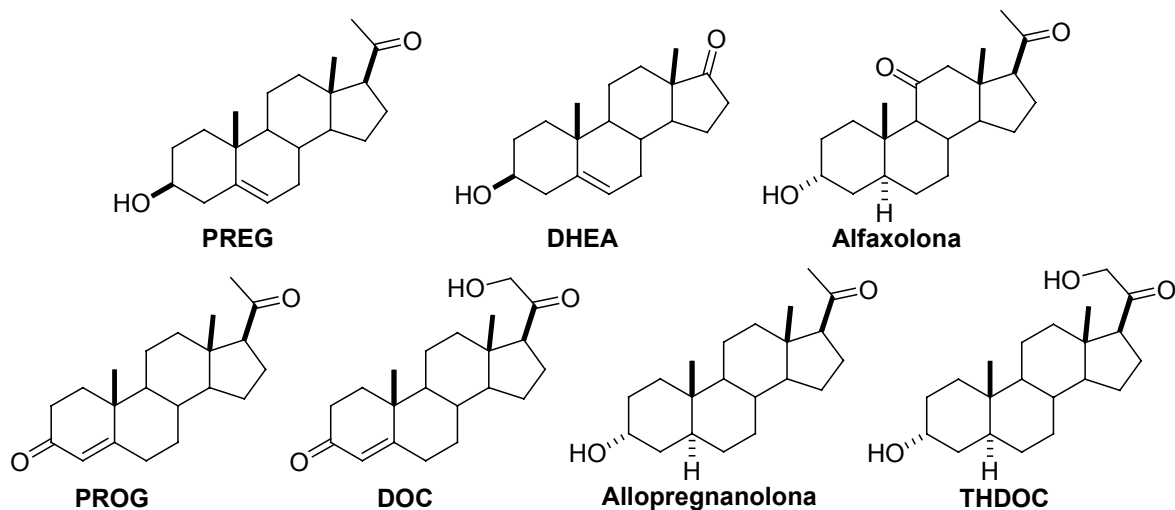


Figura 1.7 Esteroides endógenos, neuroesteroides y alfaxolona.

Posteriormente, el término ha sido usado en referencia tanto a los esteroides que rápidamente alteran la excitabilidad de las neuronas al unirse a los receptores de membrana, como a los de los neurotransmisores inhibitorios (Paul, 1992). El uso común del término neuroesteroide se aplica generalmente a un esteroide endógeno (sintetizado *de novo* en el sistema nervioso central ó periférico) que actúa en el sistema nervioso en forma no clásica (no genómica), es decir mediante acciones celulares que no involucren a los receptores esteroidales del núcleo (que intervienen en la forma de acción genómica). El término esteroide neuroactivo engloba a los neuroesteroides y sus análogos sintéticos con actividades biológicas similares. En ensayos clínicos (Gyermek, 1968; Green, 1978),

ciertos esteroides sintéticos como la alfaxolona (3α -hidroxi- 5α -H-pregnano-11,20-diona) demostraron poseer actividad sedante o anestésica general y también como anticonvulsivante en animales y posiblemente en humanos (figura 1.7).

Existen antecedentes que algunas hormonas esteroidales, como progesterona (**PROG**) y desoxicorticosterona (**DOC**) tienen actividades sedantes y anticonvulsivantes similares (Gyermek, 1967,1968; Reddy, 2002). Estos efectos ocurren rápidamente y no se corresponden con la noción clásica de acción de las hormonas esteroidales en otros tejidos blanco. Sin duda, esteroides como alfaxolona carecen de la actividad hormonal clásica pero actúan como moduladores de la excitabilidad neuronal en forma similar aunque no idéntica a la de los barbitúricos. Esta observación devino en un interés mayor cuando se descubrió que **PROG** y **DOC** son precursores de los esteroides endógenos allopregnanolona (3α -hidroxi- 5α -H-pregnan-20-ona) y allotetrahidrodesoxicorticosterona (**THDOC**, $3\alpha,21$ -dihidroxi- 5α -H-pregnan-20-ona) los cuales poseen similar acción celular que la alfaxolona. Como la alfaxolona, estos neuroesteroides no interactúan con los receptores nucleares clásicos de hormonas esteroidales, sino que modulan la actividad de los canales iónicos asociados a ligandos, siendo el más notable el caso del GABA_A.

3.1 Biosíntesis y metabolismo de neuroesteroides

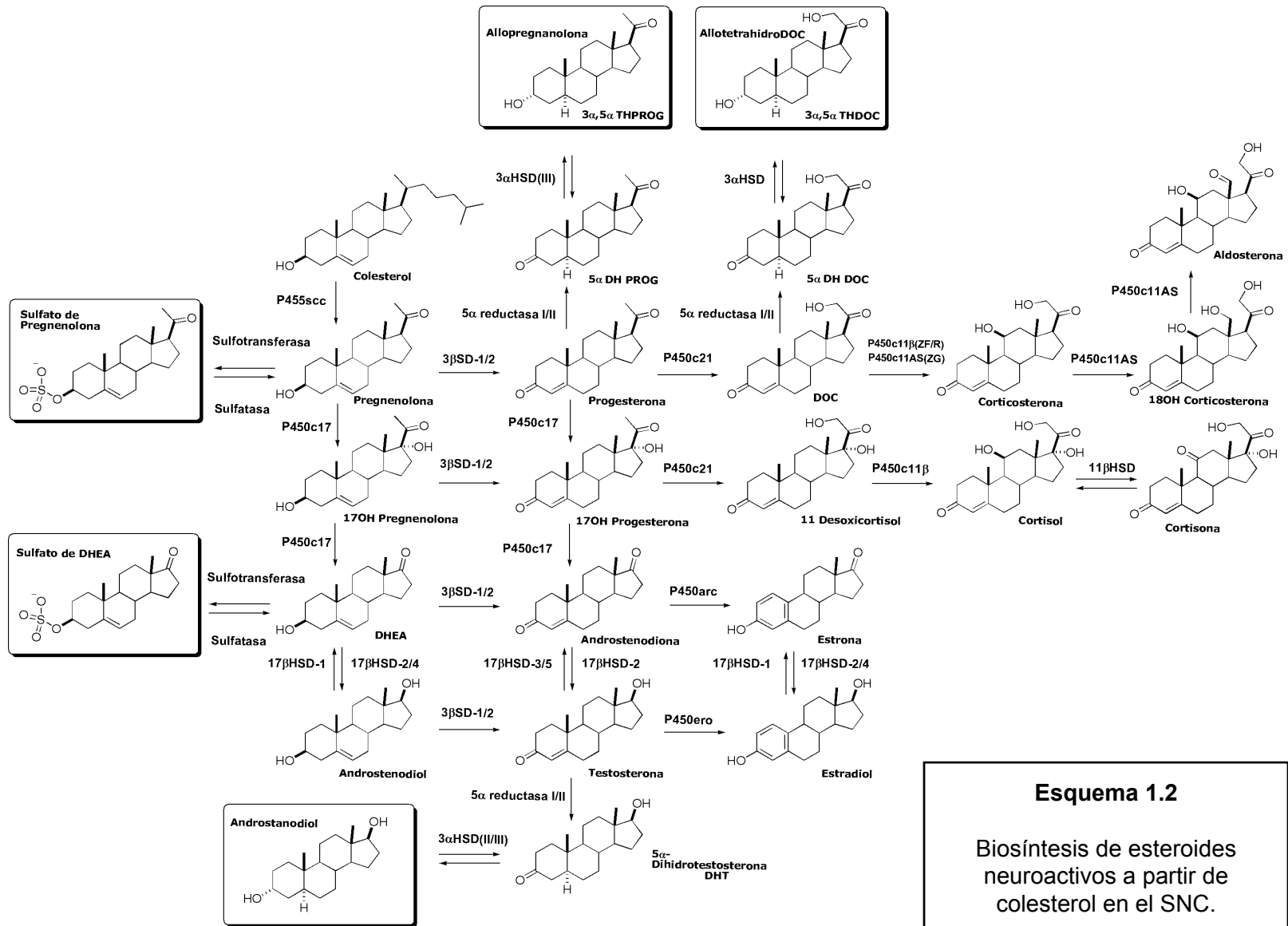
Los esteroides y en particular los neuroesteroides, son sintetizados a partir del colesterol por una serie de reacciones catalizadas por enzimas P450 y *no*-P450. Las propiedades de las enzimas esteroidogénicas, su localización en el sistema nervioso central y su síntesis durante el desarrollo han sido motivo recientemente de numerosos trabajos de revisión (Plassart-Schiess, 2001, Mellon, 2002, Belelli, 2005).

Las enzimas P450 se encuentran codificadas en genes únicos en múltiples especies, pero pueden intervenir en muchos pasos enzimáticos. Por ejemplo, la proteína **P450scc** (enzima mitocondrial que corta la cadena lateral del colesterol) participa en tres reacciones: 20α -hidroxilación, 22 -hidroxilación y escisión del enlace entre C20 y C22 del colesterol. Asimismo, la **P450c17** interviene en la 17α -hidroxilación de pregnenolona ó progesterona y el corte del enlace entre C17 y C20 para obtener dehidroepiandrosterona (**DHEA**) ó androstenodiona.

Inversamente, las enzimas *no*-P450, como 3β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (**3β HSD**), 17β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (**17β HSD**) y 3α -hidroxiesteroide-

deshidrogenasa (**3 α HSD**), tienen sus secuencias en múltiples genes que codifican para muchas proteínas. Cada una de estas proteínas realiza reacciones específicas como las detalladas anteriormente (esquema 1.2).

La síntesis de ambos, hormonas y neuroesteroides, depende del tejido específico y la célula específica de síntesis, correspondiente al arreglo particular de enzimas esteroideogénicas; además de la síntesis *de novo* de neuroesteroides en el cerebro a partir de colesterol, sus metabolitos que se encuentran circulando en el organismo, como **PROG**, **DOC** ó testosterona, pueden ser convertidos en esteroides neuroactivos, como allopregnanolona ($3\alpha,5\alpha$ -tetrahidroprogesterona), androstanodiol ó **THDOC** ($3\alpha,5\alpha$ tetrahidrodesoxicorticosterona). El cerebro contiene las dos enzimas (5α -reductasa y **3 α HSD**) que se requieren para la síntesis de estos esteroides neuroactivos. En el esquema 1.2 se observa la estructura de estos neuroesteroides y sus precursores. Es importante tener en cuenta también la contribución de los tejidos esteroideogénicos clásicos, como los ovarios (para **PROG**), las adrenales (para **DOC**) ó los testículos (para testosterona), para la síntesis de los neuroesteroides en su sitio de acción en el cerebro.



Esquema 1.2

Biosíntesis de esteroides neuroactivos a partir de colesterol en el SNC.

3.2 Neuroesteroides como moduladores del receptor GABA_A

3.2.1 Receptor GABA_A y la acción de los neuroesteroides

Existe considerable evidencia que los neuroesteroides se unen al receptor GABA_A en un sitio distinto al de reconocimiento para GABA, benzodiazepinas y barbitúricos (Gee, 1988; Turner, 1989). Estudios con antagonistas selectivos también refuerzan la hipótesis de que los neuroesteroides no actúan a través del receptor de benzodiazepinas. Como otros moduladores alostéricos del receptor GABA_A, los neuroesteroides favorecen la unión específica de [³H]flunitrazepam (benzodiazepina agonista del receptor), [³H]muscimol, (agonista de unión específica a GABA_A) e inhiben la unión de [³⁵S]t-butil-biciclofosforotionato (**TBPS**), agente convulsivante y antagonista no competitivo del GABA_A.

Estudios electrofisiológicos confirmaron que los neuroesteroides actúan como moduladores alostéricos positivos del receptor GABA_A (Wetzel, 1999) e incrementan el impulso de los potenciales inhibitorios postsinápticos mediados por ese receptor (Teschmacher, 1995). Otros experimentos con ³⁶Cl⁻ fueron consistentes con los anteriores, demostrando que los neuroesteroides potencian el flujo de cloruro estimulado por los agonistas del receptor GABA_A (Grobin, 2001). El aumento de la corriente macroscópica en el receptor, mediada por los neuroesteroides, ocurre a través del incremento de la frecuencia de apertura y la duración de la misma; no hay efectos a nivel de cambio de la conductancia del canal (Lambert, 1999). Los análisis de la cinética del proceso demostraron la existencia de tres estados de apertura cinéticamente diferentes; los neuroesteroides actúan principalmente incrementando la frecuencia relativa de dos estados de apertura: el de duración intermedia y el de larga duración (McDonald, 1994). Como consecuencia, en presencia de neuroesteroides los receptores de GABA_A tienen mayor probabilidad de apertura aumentando el flujo de iones cloruro y provocando un aumento en la transmisión inhibitoria gabaérgica. Estudios con concentraciones fisiológicas de **THDOC**, indicaron que el efecto en la transmisión inhibitoria sináptica, se debe más a la prolongación del tiempo de decaimiento de la corriente inhibitoria postsináptica que al aumento de la amplitud de la misma (Lambert, 2003; Cooper, 1999). Este efecto es neuroespecífico; por ejemplo, a concentraciones nanomolares de neuroesteroides la corriente postsináptica se prolonga en las neuronas del hipocampo, del

cerebelo y de Púkinje; en cambio para neuronas del hipotálamo (Brussaard, 1997; Koksma, 2003) se necesitan concentraciones micromolares.

La modulación del receptor GABA_A por neuroesteroides puede estar sujeta a cambios dinámicos. Existen estudios de cambios de la sensibilidad a neuroesteroides en el tiempo, regulados por el desarrollo neuronal (Cooper, 1999) y por patologías como epilepsias inducidas (Leroy, 2004). Este hallazgo es de importancia patofisiológica, ya que la allopregnanolona presenta niveles altos de concentración en ciertos tipos de enfermedades asociadas a temblores involuntarios y el mismo esteroide es conocido como un potente anticonvulsivo.

3.3 Neuroesteroides y la composición de las subunidades del receptor GABA_A

Muchas de las propiedades farmacológicas del receptor GABA_A dependen de la composición de sus subunidades. La mayoría de las isoformas presentan modulación debida a neuroesteroides, aunque existen moderadas diferencias dependiendo de la presencia y tipo de subunidades α y γ (Shingai, 1991). El tipo de subunidad α influye la eficacia del neuroesteroide, mientras que el tipo de subunidad γ afecta tanto la eficacia como la potencia (CE₅₀) de la modulación sobre los receptores GABA_A (Gee, 1991). En contraste, alteraciones en el tipo de subunidad β no parecen afectar la potencia ni la eficacia. La sustitución de la subunidad γ por la δ , que es expresada en el cerebelo, el hipocampo y el tálamo, resulta en un leve aumento de la eficacia de los neuroesteroides (Wohlfarth, 2002). Sin embargo, Zhu y colaboradores encontraron que la subunidad δ inhibe la acción de los neuroesteroides sobre el GABA_A (Zhu, 1996); la razón de esta discrepancia no se conoce. A altas concentraciones, los neuroesteroides modulan positivamente los canales de cloruro activados por GABA pertenecientes a los homopentámeros de subunidades $\rho 1$ (Morris, 1999; Zhang, 2001), pertenecientes a los receptores GABA_C.

Como el cambio de subunidades en los receptores GABA_A está regido por la transcripción genética y la misma está influida entre otros por factores hormonales, la respuesta de los neuroesteroides cambia con el tiempo: éste es uno de los mecanismos por los que interactúan las acciones genómica y no genómica de los esteroides (Herbison, 2001; Smith, 2002).

3.4 Relaciones estructura –actividad

Desde el descubrimiento que la alfaxolona potenciaba el efecto del GABA en el receptor GABA_A se prepararon muchos esteroides como potenciales anestésicos; sus efectos fueron probados en el complejo receptor utilizando técnicas de desplazamiento de radioligandos, medición del flujo de ión cloruro y electrofisiología (Gee, 1988). Esto permitió determinar aspectos generales de la relación estructura–actividad para la interacción de esteroides con el receptor GABA_A.

Se estableció así que los compuestos debían tener un esqueleto de tipo pregnano o androstano reducido (con la fusión de anillos A y B *cis* o *trans*), debían poseer un grupo hidroxilo con estereoquímica α en posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 20 (pregnanos) o en la posición 17 (androstanos). La cadena lateral de los pregnanos en C-17 debe ser β (figura 1.8).

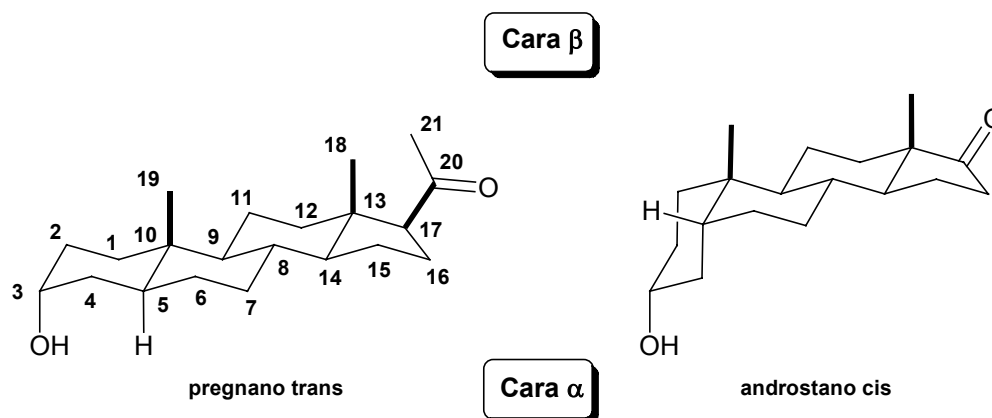


Figura 1.8 Estructuras del farmacóforo base de los neuroesteroides agonistas del receptor GABA_A

Investigaciones posteriores revelaron la existencia de excepciones a este criterio general y han permitido identificar la influencia de otros aspectos estructurales del esteroide sobre la actividad estudiada. Estos resultados se pueden resumir de la siguiente forma:

- La reducción del grupo 20-ceto en los pregnanos suele producir compuestos que se comportan como agonistas parciales. La potencia y eficacia de estos análogos parece depender de determinantes estructurales como ser: la fusión de anillos A y B *cis* o *trans* y la estereoquímica del hidroxilo en 20 (20α ó β). Estudios recientes

demonstraron que grupos polares aceptores de hidrógeno en orientación β en el anillo D, son necesarios para conservar la actividad. Es interesante notar que los esteroides que presentan una eficacia limitada pueden ofrecer ventajas comparativas sobre los agonistas totales en cierto tipo de tratamientos clínicos.

- No es necesario que el esteroide se encuentre en su forma totalmente reducida: 3 α -hidroxi-4-pregnen-20-ona (**1**) y 3 α -hidroxi-5 α -pregn-9(11)-en-20-ona (**2**), por ejemplo, retienen gran parte de la actividad (figura 1.9).

-La introducción de un grupo carbonilo en C-11 redonda en una pérdida parcial de la actividad, mientras que la presencia de un grupo hidroxilo en esa posición o en la posición C-12 produce compuestos esencialmente inactivos.

-El análogo rígido **3** del compuesto **1**, presentó actividad como anticonvulsivo en ensayos realizados con animales de laboratorio.(Veleiro, 2003)

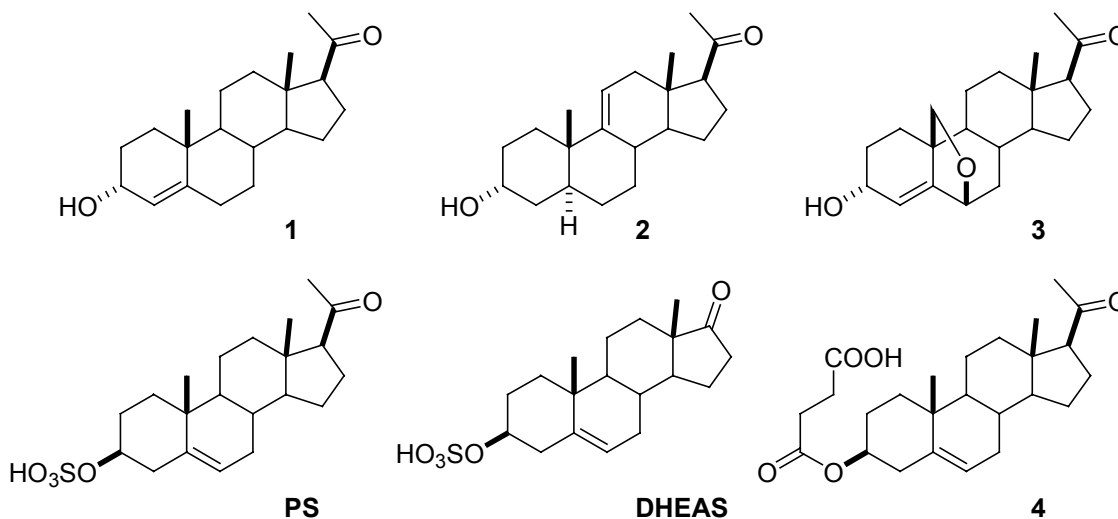


Figura 1.9 Esteroides neuroactivos.

- Ciertos esteroides endógenos, como los ésteres sulfatos de algunos neuroesteroides por ejemplo: sulfato de pregnenolona (**PS**) y sulfato de dehidroepiandrosterona (**DHEAS**) actúan predominantemente como antagonistas del receptor GABA_A potenciando la excitabilidad neuronal (Higashi, 2001). Si bien los requerimientos funcionales para este tipo de actividad no están muy bien establecidos, se sabe que

el éster 3-sulfato no es esencial, ya que otros ésteres como hemisuccinatos (**4**) retienen la actividad antagonista, y que los derivados más potentes tienen en general la configuración 3β .

- La presencia de un átomo de cloro o bromo o de un grupo hidroxilo libre o esterificado en la posición C-21 produce sólo pequeñas pérdidas en la actividad.
- La incorporación de una cadena lateral en posición 17, en el esqueleto de androstano, lleva en el compuesto **17PA**, a la pérdida de la actividad moduladora de $GABA_A$ (Mennerick, 2004), pero presenta actividad específica como antagonista de los esteroides neuroactivos 5α reducidos y no sobre los 5β (figura 1.10). Esto refuerza la teoría que los esteroides 5α y 5β reducidos, tienen diferentes sitios de unión al receptor $GABA_A$.

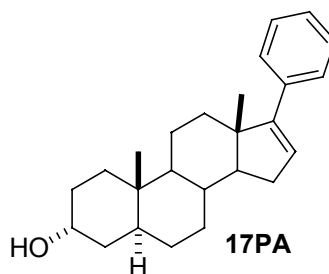


Figura 1.10 Modificaciones en androstanos.

- En pregnanos, los análogos oxigenados (6-oxa-esteroides) **5** y **6** (Nicoletti, 2000) y nitrogenados (6-aza-esteroides) **7** mostraron disminución y pérdida de la actividad respectivamente (Kasal, 2005) (figura 1.11).
- El reemplazo del hidroxilo de posición 3α , por el grupo amino en el compuesto **8** o fluor en el compuesto **9**, preserva la actividad como esteroide neuroactivo, abriendo la posibilidad para la síntesis de análogos solubles en fluidos biológicos que tienen una mayor vida media en presencia de oxidasas, (Matyas, 2004; Slavikova, 2002).
- Kasal y colaboradores, sintetizaron el 7α -hidroxi análogo (**10**) de allopregnanolona, que mantiene la eficacia como esteroide neuroactivo y aumenta la solubilidad en medios acuosos (Chodounska, 2003).

- Los esteroides con ciclos carbonados de seis miembros, entre las posiciones 18 y 20 (compuestos **11 a 14**), presentaron actividad como anestésicos y se encuentran en la etapa de estudios clínicos (Jiang, 2003).
- Estudios de estructura-actividad en análogos de allopregnanolona, basados en la adición de un metilo en posiciones 6 y 7, mostraron que en la orientación 6 β se producía un aumento en la actividad (compuestos **15 y 16**), disminuyendo en las restantes (Zeng, 2005).

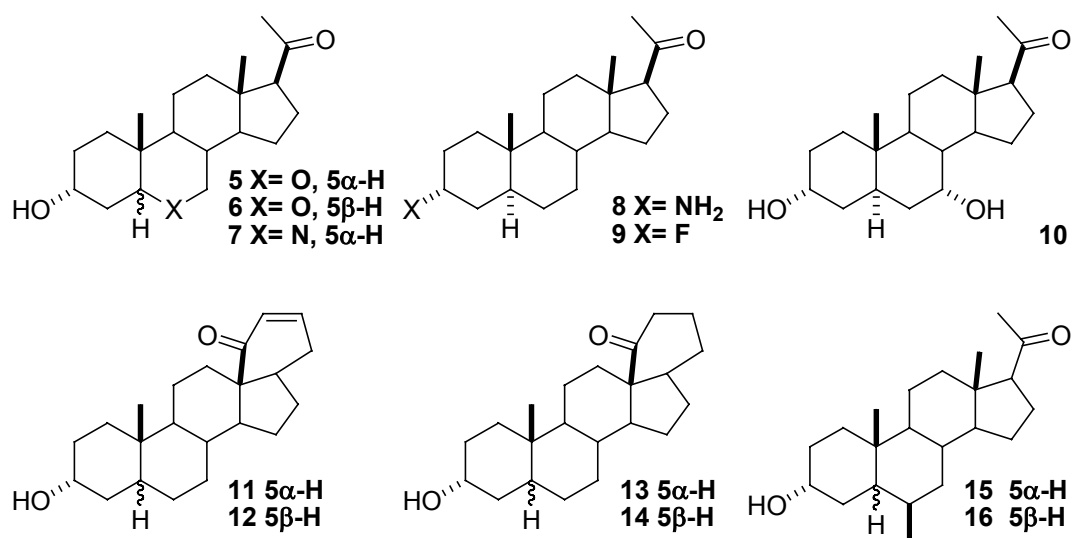


Figura 1.11 Modificaciones en pregnanos.

3.5 Farmacocinética y farmacodinámica

El uso práctico de los neuroesteroides como allopregnanolona (Evans, 1988) está restringido debido a su rápido metabolismo (su tiempo de vida medio en suero es de 16 minutos) y a la baja solubilidad en los fluidos corporales consecuencia de su baja polaridad. Esta propiedad permite al compuesto pasar la membrana hemato-encefálica pero afecta la biodisponibilidad y absorción del esteroide *in vivo* limitando los métodos de aplicación.

Una solución para el primer problema fue introducir un sustituyente en la posición 3 β , como por ejemplo en los compuestos **Ganaxolona** y **Co 2-1970** (figura 1.12). Este tipo de compuestos no pueden ser oxidados al correspondiente derivado 3-ceto (inactivo)

aumentando por un lado el tiempo de vida medio y evitando al mismo tiempo la formación de compuestos esteroidales con actividad hormonal que provocarían efectos secundarios indeseados. La eficacia en modelos preclínicos y los valores de biodisponibilidad en humanos de este tipo de análogos muestra que este tipo de modificación estructural puede originar compuestos que actúen en el SNC como agentes terapéuticos (Edgar, 1997; Gasior, 1999)

En cuanto a la polaridad, la introducción de un grupo amino en posición 2β o 16β aumenta la solubilidad en agua sin modificar apreciablemente la actividad sobre el receptor $GABA_A$. Compuestos con un grupo morfolino en 2β o grupos piperidino en 2β o 16β son comerciales, por ejemplo: **ORG20599** y **ORG-NC-45** (neurobloqueante muscular). El desarrollo de este tipo de análogos como potenciales agentes terapéuticos y/o anestésicos presenta un interés evidente.

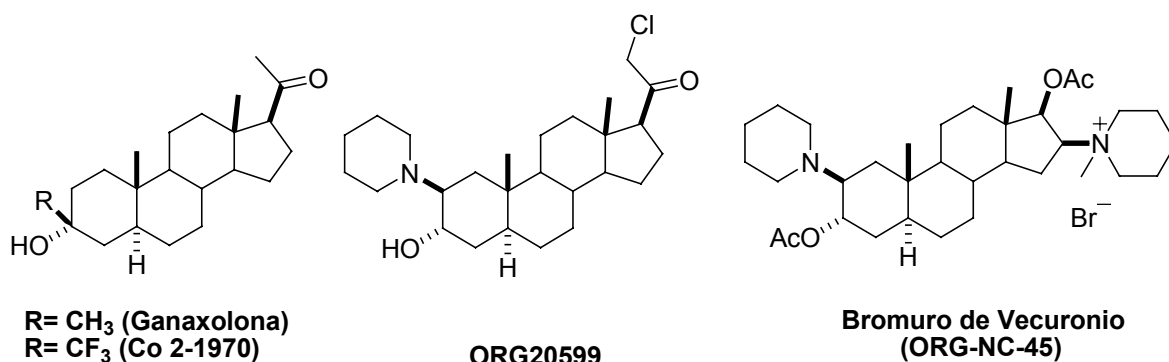


Figura 1.12 Esteroides neuroactivos.

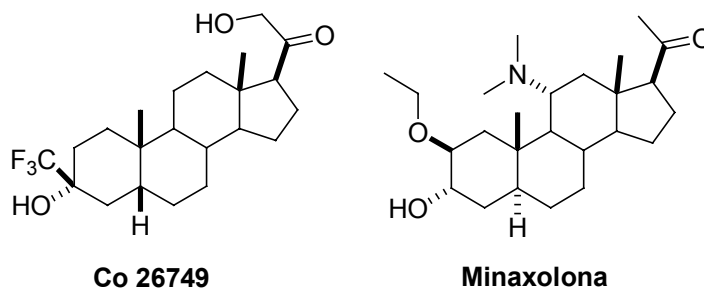
3.6 Usos terapéuticos de los esteroides neuroactivos

Muchos estudios preclínicos y clínicos demostraron la potencial eficacia de los esteroides neuroactivos como una nueva clase de droga para el tratamiento de distintas enfermedades y desórdenes relacionados con el receptor $GABA_A$, como epilepsia, ansiedad e insomnio, entre otras patologías (Gasior, 1999). También han demostrado ser eficaces en modelos preclínicos de migraña y en el tratamiento de ciertos casos de drogodependencia. A continuación se resumen las actividades que dan lugar a las propiedades farmacológicas más importantes.

Anticonvulsivos: los esteroides neuroactivos tienen un amplio perfil anticonvulsivo, análogo al de otras drogas antiepilépticas, que fue comprobado tanto en modelos preclínicos como en clínica. Por ejemplo, ganaxolona demostró eficacia como antiepiléptico en niños y adultos.

Ansiolíticos: son capaces de modular la reacción a la ansiedad y el estrés, algunos análogos sintéticos como **Co 26749** fueron seleccionados para ensayos clínicos debido a la gran diferencia de dosis entre su efecto ansiolítico y efectos colaterales.

Sedantes/hipnóticos: los estudios preclínicos y clínicos sugieren que los esteroides neuroactivos tienen un potencial uso en el tratamiento del insomnio, si bien modulan el ciclo del sueño de forma similar a las benzodiazepinas, algunos datos sugieren que pueden presentar algunas ventajas entre las que se encuentra la de no ser adictivos (Lancel, 1999).



Anestésicos: la mayoría de los análogos sintéticos preparados fueron orientados al descubrimiento de un anestésico esteroide, muchos de ellos fueron eficaces y terminaron en evaluación clínica, como por ejemplo **minaxolona**.

Como objetivo de este trabajo de tesis se planteó la preparación de nuevos análogos de esteroides neuroactivos con átomos o grupos polares electronegativos presentes en su estructura, buscando modificar la capacidad de interacción con los medios y receptores biológicos. Se sintetizaron análogos con dos tipos de variaciones estructurales, los cuales dieron lugar a la obtención de compuestos conformacionalmente más flexibles (a) o más rígidos (b) (figura 1.13):

(a) Reemplazo del metileno de la posición 6 por un átomo de azufre y posterior obtención de sus productos de oxidación. En este tipo de compuestos como **17** si bien se

mantendría parte del potencial electrostático negativo en el anillo B, la capacidad aceptora de puente H debería ser menor por la menor electronegatividad del átomo de azufre y su menor dureza. Los correspondientes sulfóxido (**18**) y sulfona (**19**) deberían proveer compuestos con mayor solubilidad en agua. Como se mencionó, los análogos oxigenados y nitrogenados en esa posición, tienen mayor solubilidad en medios acuosos pero una actividad moduladora disminuida en el caso del oxígeno y nula en el caso del nitrógeno (Nicoletti, 2000; Kasal, 2005). Esto se atribuyó a las propiedades dadoras (6-azaesteroides) y/oceptoras (6-aza y 6-oxaesteroides) de puente de H que adquiriría el anillo B en estos compuestos.

(b) Formación de un anillo de aziridina intramolecular entre 5 β ,6 β y 19 (**20**) mediante una metodología desarrollada en este trabajo de tesis, que le confiere rigidez conformacional y mayor solubilidad en medios acuosos. Se aplicó también esta metodología en la síntesis de 2 β ,19 sulfamidatos cíclicos (compuestos **21**, **22** y **23**) obtenidos por apertura nucleofílica del anillo de aziridina previamente incorporado en la posición 2 β ,3 β .

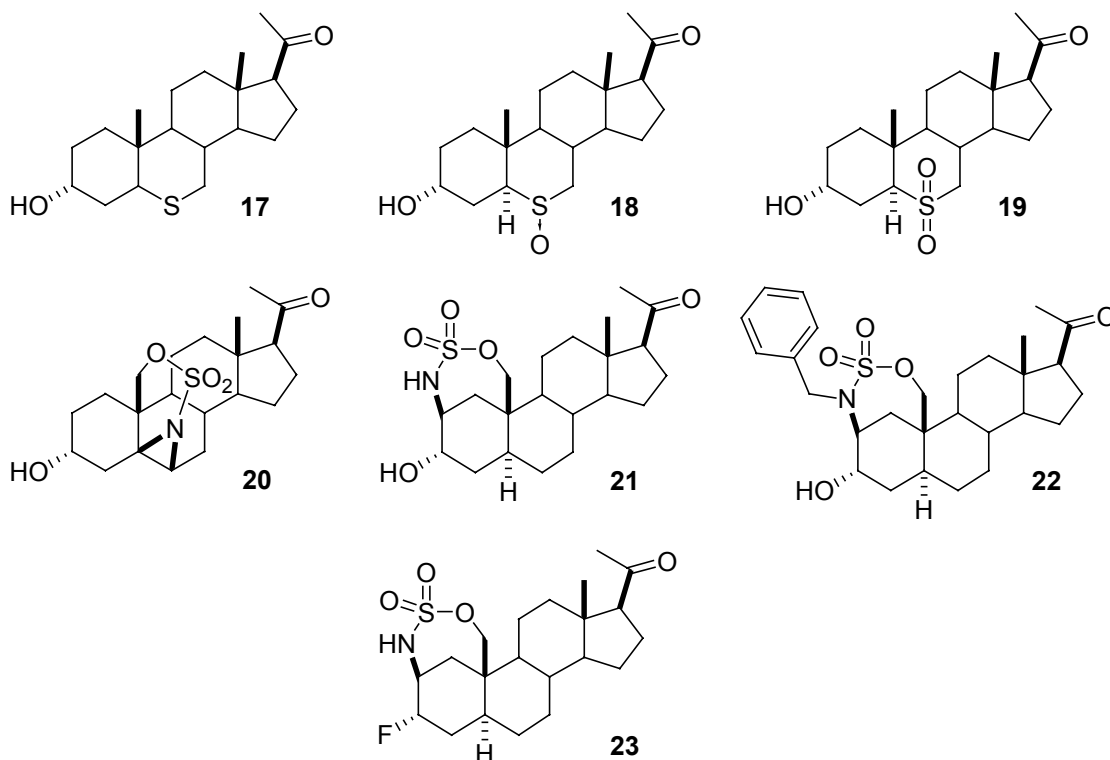


Figura 1.13 Esteroides análogos de allopregnanolona sintetizados en esta tesis.

Capítulo 2

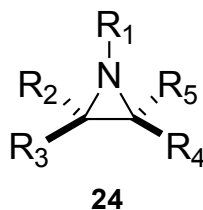
Aziridinas y Sulfamidatos Cíclicos

Aziridinas y Sulfamidatos Cíclicos

1. Aziridinas

1.1 Introducción

Las aziridinas (**24**) son heterociclos saturados de tres miembros que contienen un átomo de nitrógeno en el anillo. Este grupo funcional, que se lo nombra alternativamente, azaetileno o etilenimina, fue descubierto inesperadamente por Gabriel en el año 1888 (Gabriel, 1888), sintetizando al miembro más pequeño de la familia (**25**) (figura 2.1).



24

25 $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H$

Figura 2.1 Estructura de las aziridinas

Las aziridinas, constituyen uno de los sistemas anulares de tres miembros más valiosos en síntesis orgánica moderna; esto se debe a su versatilidad como unidad para la formación de uniones químicas y la transformación de grupos funcionales. Su importancia como herramienta sintética, ha sido extensamente demostrado por la gran cantidad de métodos de preparación desarrollados en los últimos años, especialmente aquellos que involucran aproximaciones asimétricas y su amplio espectro de aplicación en síntesis orgánica (Rai, 2000; Mitsunobu, 1990; Kemp, 1991; Murphree, 2001; Pearson, 1996).

El alcance sintético ha crecido rápidamente en los últimos años, haciéndose evidente en el hecho de que se hayan publicado 24 trabajos de revisión en los últimos 6 años (Sweeney, 2002; Müller, 2003). Debido al creciente interés en los compuestos orgánicos nitrogenados y la potencial utilidad de la química de apertura de aziridinas, es de esperar todavía un aumento en la investigación en este campo en los años venideros.

1.2 Propiedades de las aziridinas

1.2.1 Tensión anular

Como los otros ciclos de tres miembros (ciclopropanos, epóxidos y tiepanos) las aziridinas presentan una gran tensión en el anillo, debido a la distorsión que éste presenta respecto de los ángulos de enlace sp^3 normales. Para minimizar esos efectos de la distorsión, los átomos que forman el anillo adquieren una hibridación particular. Así, estos tienen mayor carácter p que un híbrido sp^3 , haciendo posible un solapamiento más eficaz de los orbitales dirigidos hacia fuera de los ejes que unen a los núcleos de los átomos del anillo. Al aumentar el carácter p respecto de un híbrido sp^3 , el ángulo interorbital "natural" disminuye de 110° a 90° . Al igual que para los ciclopropanos los orbitales de las aziridinas se dice que están "doblados".

Este sistema de enlaces de heterociclos de tres miembros puede considerarse como construido a partir de los orbitales π y π^* de un fragmento de etileno con los orbitales vacantes y ocupados del heteroátomo X (O, S, NR) (Dewar, 1979), figura 2.2. El primer tipo de interacción (a) implica la transferencia de densidad electrónica hacia el heteroátomo y es el que predomina en el caso de átomos electronegativos (interacción del orbital p del etileno con un orbital vacante de X); el tipo (b) implica la retrodonación de densidad electrónica al fragmento olefínico (interacción del orbital π^* con un orbital ocupado de X). La distribución electrónica en los sistemas enlazantes está determinada por las fuerzas relativas de ambos tipos de interacción.

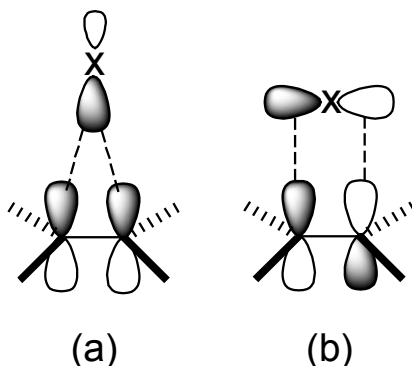


Figura 2.2 Sistema enlazante de los heterociclos de tres miembros.

1.2.2 Longitud de enlace

Las aziridinas poseen una longitud de enlace C-C corta (1,48 Å mientras que para enlaces no tensionados sp^3-sp^3 es de 1,54 Å). Esto, relacionado a las características tipo π intensificadas de los enlaces del anillo permite que se transmita la conjugación a través de los sistemas anulares. Por ejemplo, el espectro de absorción UV de las aziridinas conjugadas con un carbonilo de cetona, proporciona evidencia de una transmisión de la conjugación a través del anillo de la aziridina (Cromwell, 1990).

1.2.3 Basicidad

Las aziridinas son menos básicas que las otras aminas alifáticas, debido en parte al mayor carácter s (menor carácter p) del orbital con el par de electrones no compartido del nitrógeno, por lo que está menos disponible e interactúa con menos eficiencia. La aziridina misma es menos básica que otras aminas alifáticas secundarias como se puede ver por su pK_a (figura 2.3).

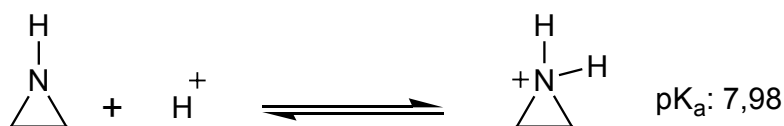


Figura 2.3 Basicidad de aziridinas.

1.2.4 Inversión de la configuración

En las aziridinas se observa una considerable reducción en la velocidad de inversión piramidal del nitrógeno en comparación con otros compuestos de este elemento (Figura 2.4). Las aminas simples no tensionadas presentan barreras bajas de inversión del nitrógeno ($\Delta G^\ddagger = 6$ Kcal/mol) pero ésta es mucho mayor en la aziridina ($\Delta G^\ddagger = 17$ Kcal/mol). Esto se debe a la mayor tensión angular en el estado de transición plano que se requiere para la inversión (figura 2.4).

Por esta razón, algunos derivados adecuados de aziridinas pudieron resolverse como enantiómeros, determinar su configuración absoluta y la barrera de interconversión (Schuring, 1990). A diferencia de las aziridinas, este tipo de enantiómeros por inversión de

nitrógeno en aminas sólo pueden separarse a temperaturas menores de -50°C , debido a la velocidad de interconversión que presentan.

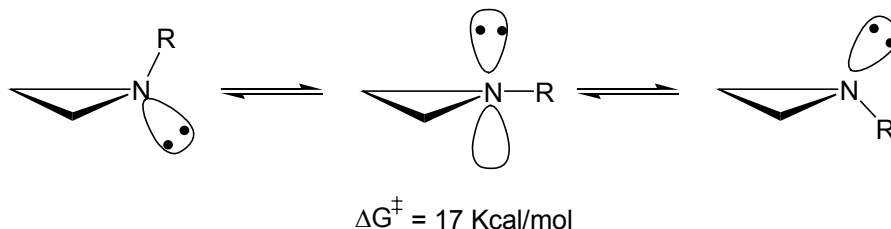


Figura 2.4 Inversión de aziridinas.

Las barreras de inversión pueden determinarse generalmente mediante resonancia magnética nuclear (si la inversión es lo suficientemente lenta) o mediante cálculos computacionales (Nielsen, 1998). De esta forma se pudo estudiar el efecto de los sustituyentes sobre el nitrógeno: aquellos que son atractores de electrones por conjugación estabilizan el estado de transición plano y reducen la barrera energética, mientras que los atractores por efecto inductivo (ej CF_3) elevan considerablemente dicha barrera, posiblemente debido a interacciones desfavorables par solitario-par solitario en el estado de transición plano.

1.2.5 Reactividad

La reactividad química de las aziridinas es una consecuencia directa de la tensión inherente de los ciclos de tres miembros, favorecida en este caso por la habilidad del nitrógeno como grupo saliente, lo que hace que su química implique mayoritariamente reacciones de apertura del anillo en las cuales la fuerza conductora es la liberación de la tensión gracias a la ruptura de una de las uniones C-N. Generalmente las aperturas se dan por ataque de un nucleófilo mediante un mecanismo tipo $\text{S}_{\text{N}}2$. Estas aperturas son mucho más versátiles que, por ejemplo, la de los epóxidos ya que los N-sustituyentes exocíclicos modulan las propiedades y reactividad del anillo.

1.3 Aplicaciones en síntesis orgánica

Como se mencionó anteriormente en este capítulo, las aziridinas tienen gran importancia como intermediarios en síntesis orgánica debido a su habilidad de dar reacciones de apertura regio y estereoselectivas, y han sido utilizadas como sustratos

para la síntesis de importantes sustancias biológicamente activas como por ejemplo alcaloides, aminoácidos y antibióticos β -lactámicos (Taner, 1994). Del mismo modo las aziridinas son en sí mismas importantes, ya que presentan actividades biológicas muy interesantes; así, muchos compuestos con este heterociclo en su estructura poseen actividad antitumoral, antibiótica e inhibidora de varias enzimas que están relacionadas con la reactividad del heterociclo (Iyengar, 1999; Schirmeister, 1999). Existen muchos métodos eficientes para la preparación de un rango amplio de aziridinas estructuralmente diferentes, a continuación se describen los principales métodos de preparación de aziridinas, así como reacciones de apertura del anillo y sus mecanismos.

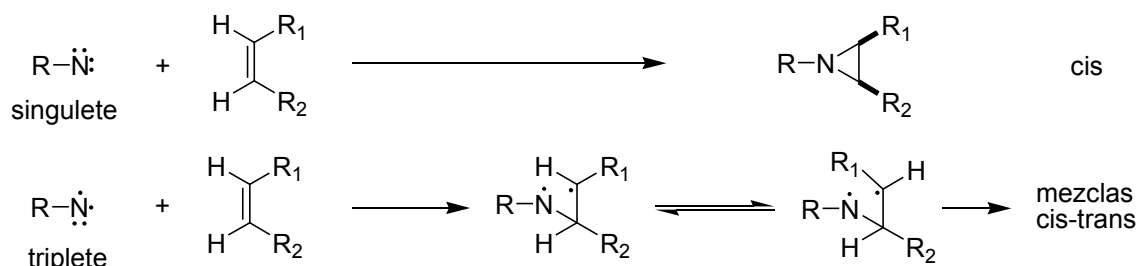
1.3.1 Síntesis de aziridinas

Existe un gran número de métodos de preparación de aziridinas de los cuales se han escrito varios trabajos de revisión (Taner, 1994; Spagnolo, 1998; Sweeney, 2002; Müller, 2003); en esta sección se mencionan algunos de los más importantes y generales.

1.3.1.1 Métodos de aziridinación intermoleculares

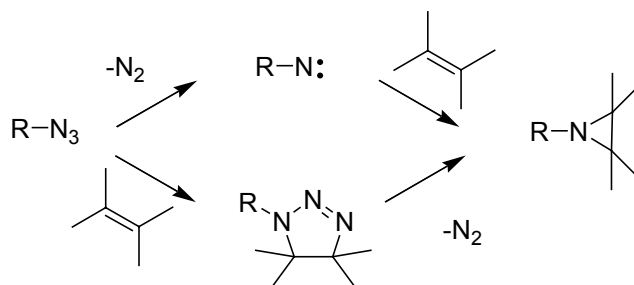
A. Adición directa de nitreno a dobles enlaces

La adición de nitrenos a dobles enlaces es análoga a la de los carbenos, y es la más cercana conceptualmente a la epoxidación de alquenos con perácidos, en general el control estereoquímico es pobre debido a la rápida interconversión de los estados singlete y triplete del nitreno formándose mezclas de cis y trans aziridinas (Osborn, 1997; Sweeney, 2002), esquema 2.1.



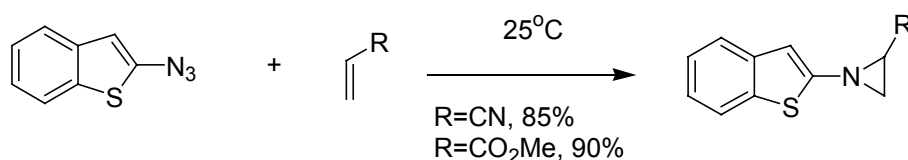
Esquema 2.1 Adición de nitreno a dobles enlaces.

Existen numerosas formas de generar nitreno, una de ellas es la descomposición de azidas. En este caso compite la cicloadición 1-3 dipolar al alqueno que da lugar a triazolinas, pero éstas también descomponen dando aziridinas (Esquema 2.2).



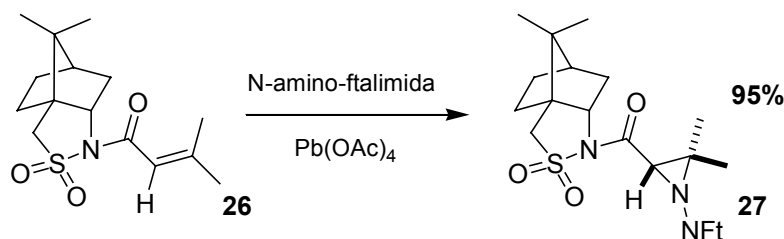
Esquema 2.2

Las azidas heterocíclicas pueden dar aziridinas con buenos rendimientos; la reacción indicada en el esquema 2.1 ocurre por adición de nitreno (no por formación de triazolina) y está favorecida para alquenos pobres en electrones (Spagnolo, 1988), esquema 2.3.



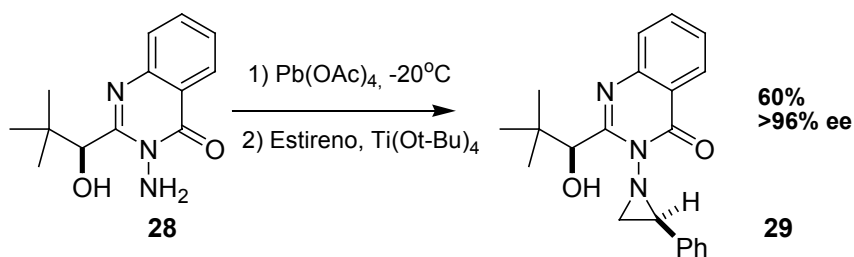
Esquema 2.3

Si bien la obtención de aziridinas no racémicas no es siempre fácil de conseguir por adición de nitreno, en muchos casos se puede inducir asimetría por ejemplo por el lado del alqueno. Vederas y col. prepararon la N-ftalimidoaziridina **27** con un 95 % de selectividad diastereoafacial por oxidación de N-aminoftalimidias con tetraacetato de plomo en presencia del derivado de ácido α,β -insaturado **26** con el auxiliar quiral apropiado adosado al centro carbonílico (Kapron, 1993). En este caso la especie activa es la N-acetoxiaminoftalimida generada in situ con Pb(OAc)₄ y N-aminoftalimida.



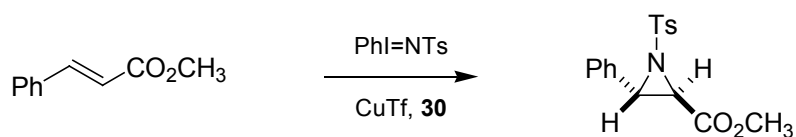
Esquema 2.4

De forma análoga se puede controlar la asimetría desde el agente aziridinante, por ejemplo la quinoxalina derivada de la ter-leucina **28** (esquema 2.5) puede aziridinar estireno, butadieno e indeno con diastereoselectividad completa en presencia de titanatos de alquilo. En este caso la quelación entre el nitrógeno y el alcóxido de titanio del grupo hidroxilo de la cadena lateral controla la diastereoselectividad (Atkinson, 1996).



Esquema 2.5

Uno de los métodos de generación de nitreno más estudiados en los últimos tiempos es el que utiliza los [N-(arilsulfonil)imino]feniliodinanos ($\text{ArN}=\text{I}^+\text{Ph}$), que generan nitreno en presencia de cantidades catalíticas de complejos de metales de transición. Es posible utilizar ligandos quirales para inducir enantioselectividad, por ejemplo las 4,4'-bisoxazolininas disustituidas **30**, (catalizador de Evans) demostraron ser muy efectivas en reacciones de aziridinación enantioselectivas catalizadas por Cu^+ o Cu^{2+} (Evans, 1993). Según el solvente y los sustituyentes R presentes en el inductor quiral, es posible conseguir un alto grado de enantioselectividad, (esquema 2.6).

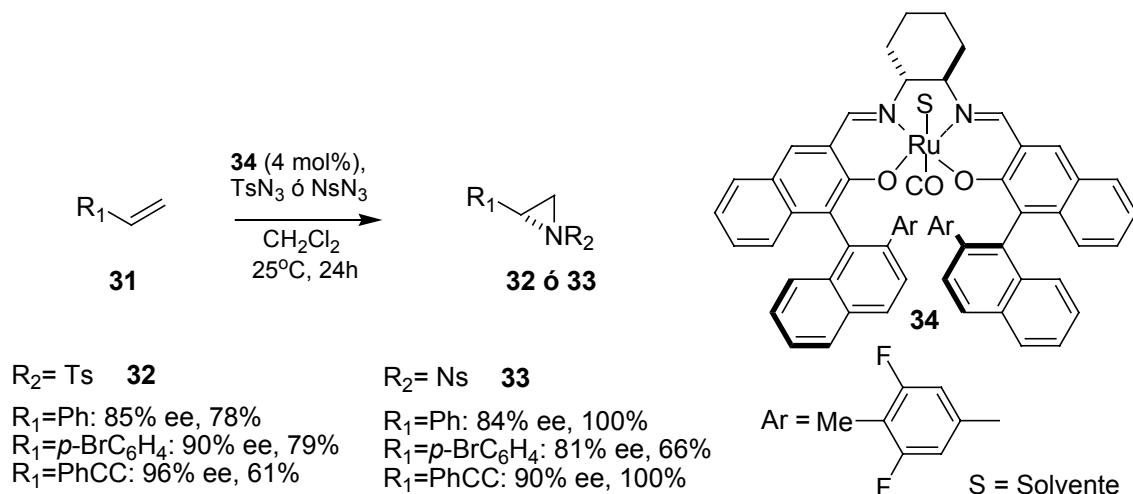


R	Solvente	Rend. %	ee %
CMe_3	MeCN	16	19
Ph	MeCN	21	70
Ph	C_6H_6	63	94

Esquema 2.6

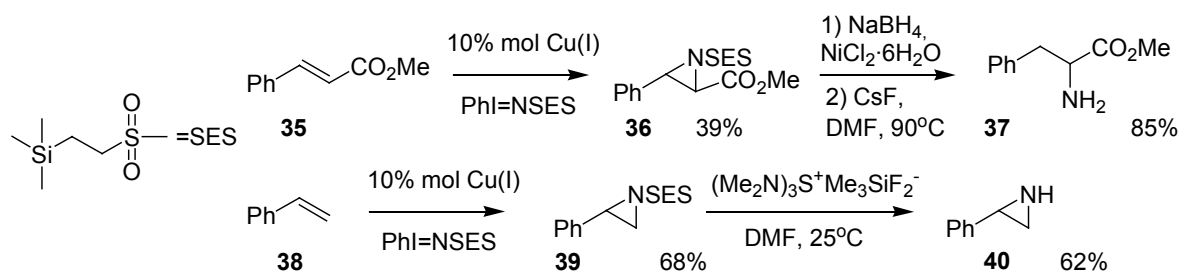
Es un hecho bien conocido, que las azidas orgánicas se descomponen en presencia de luz UV para producir nitrenos. En presencia de complejos de metales de

transición, este tipo de compuestos dan especies metal-nitreno que, dependiendo de las condiciones de reacción y los sustratos, pueden ser utilizados para realizar reacciones de aminación alílica ó aziridinación. Así, el grupo de Katsuki y colaboradores describió (Omura, 2004) la aziridinación de derivados de estireno **31**, por sulfonilazidas como **32** o **33** en presencia de complejos de rodio reutilizables como **34**, con alta enantioselectividad, esquema 2.7.



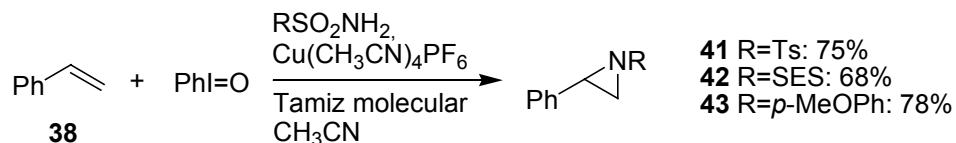
Esquema 2.7

Debido a que las sulfonamidas precisan condiciones drásticas para su desprotección, Dodd y colaboradores desarrollaron como agente aziridinante el reactivo $PhI=NSES$ (Dauban, 1999) El grupo SES (trimetilsililetilsulfonil) requiere condiciones muy suaves de desprotección, que no afectan a la aziridina formada previamente, brindando la posibilidad de realizar reacciones de apertura de la misma y su posterior desprotección como en **37** u obtener la aziridina libre en el caso de **40** (esquema 2.8)



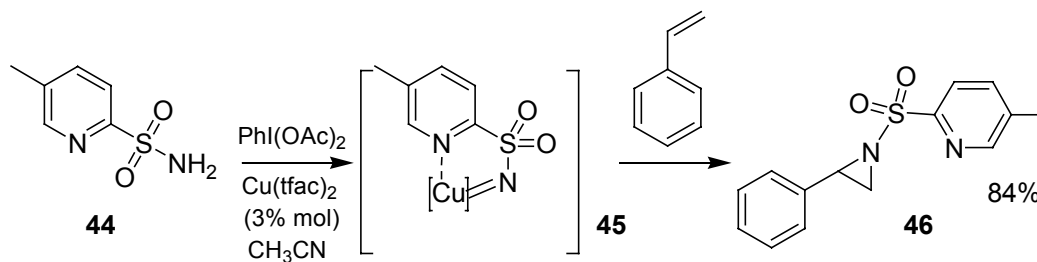
Esquema 2.8

El mismo grupo de investigación, desarrolló la aziridinación intramolecular directa (one pot), sin aislar el iminoiodinano intermediario ($\text{PhI}=\text{NR}$) (Dauban, 2001). El mismo se genera in situ utilizando $\text{PhI}=\text{O}$ (iodosilbenceno) como reactivo, directamente en presencia de complejos de Cu(I) o Cu(II) , (esquema 2.9).



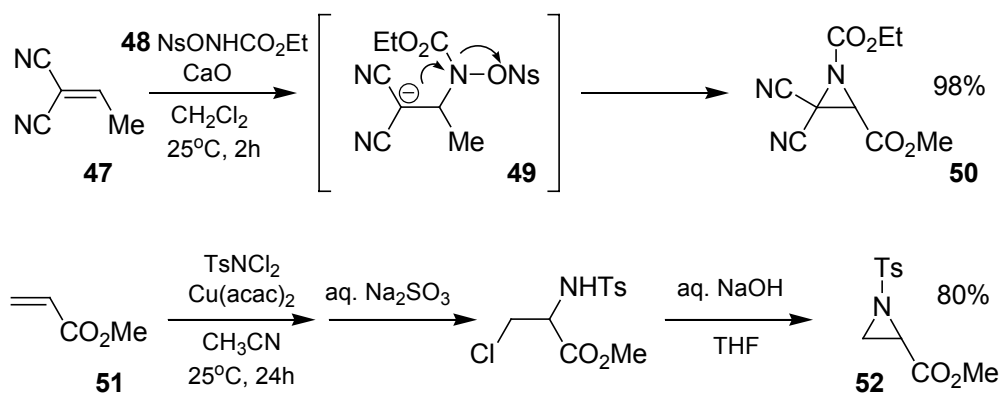
Esquema 2.9

Chang y colaboradores (Han, 2004), desarrollaron una variante de aziridinación intermolecular, donde se utiliza como agente aziridinante 5-metil-2-sulfonamido-piridina **44**, que forma un complejo interno con el cobre (**45**), provocando un incremento en la eficiencia del proceso, con respecto a las sulfonamidas arílicas tradicionales, y permitiendo condiciones más suaves de desprotección (esquema 2.10).

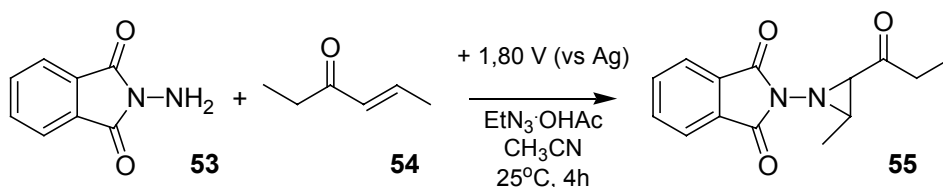


Esquema 2.10

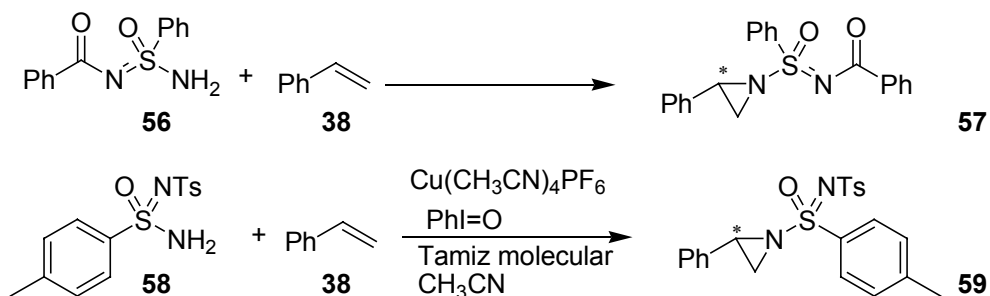
Se ha descrito también la obtención de aziridinas a través de una secuencia de reacciones de carácter tanto nucleofílico como electrofílico. Así, para compuestos como el diciano alqueno **47** (Fioravanti, 2004), que presentan dobles enlaces pobres en electrones, se realizan reacciones de adición del tipo aza-Michael, utilizando el compuesto **48**, en presencia de CaO , para dar el β -amino carbanión **49**. Este reacciona por ataque nucleofílico sobre el N para dar la diciano aziridina **50**. Una variante electrofílica, se presenta en el caso de la adición de *N,N*-dicloro sulfonamidas (Nadir, 2004) sobre dobles enlaces unidos a grupos atractores de electrones, como el metil acrilato **51**. La resultante β -cloro sulfonamida, que proviene de una adición de tipo anti, puede ciclarse en medio básico por ataque electrofílico sobre el N, para obtener la tosil aziridina **52** (esquema 2.11).


Esquema 2.11

Por otra parte, Yudin y colaboradores (Siu, 2001), desarrollaron un método electroquímico, basado en la oxidación anódica de la N-amino-ftalimida **53**, en presencia de olefinas. Compuestos como la trans-4-hexen-3-ona **54**, son convertidos en las correspondientes aziridinas **55**, usando un electrodo de platino a un potencial constante de +1,80 volts (esquema 2.12).


Esquema 2.12

En los últimos años la investigación en el desarrollo de métodos de aziridinación se enfocó hacia la búsqueda de reactivos aziridinantes quirales que evitaran la utilización de auxiliares. Malacria y colaboradores, prepararon sulfonimidamidas quirales como **56** (Leca, 2004) las cuales, dependiendo de las condiciones de reacción, sirven de precursores de aziridinas como **57**, sulfimidias y sulfoximinas. Simultáneamente, el grupo de Dodd trabajó en el mismo tema (Di Chenna, 2004) presentando la sulfonimidamida quiral **58** y obteniendo aziridinas como el compuesto **59** con buenos rendimientos (esquema 2.13).

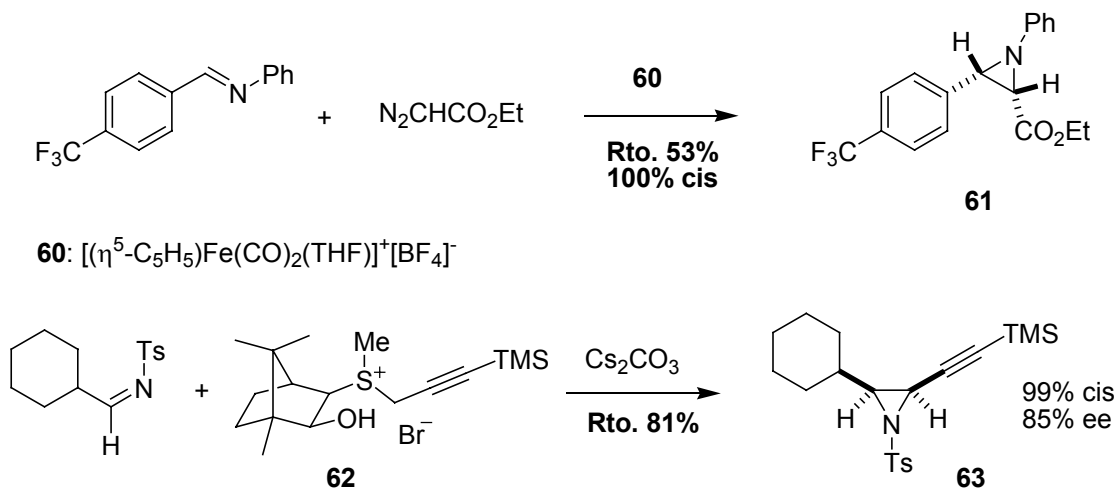


Esquema 2.13

B. Adición directa de carbenos a iminas

Otra ruta importante usada para la preparación de aziridinas es la adición de carbenoides a un doble enlace C=N (imina), en forma análoga a la adición de nitreno al doble enlace carbono-carbono, esquema 2.14. Típicamente el fragmento carbonado proviene de reactivos como diazoacetato de etilo ($\text{N}_2\text{CHCO}_2\text{Et}$). La reacción procede bajo la influencia de varios catalizadores, por ejemplo el ácido de Lewis **60**; en este caso se obtiene principalmente la cis-aziridina **61** (Mayer, 1998).

La reacción de una imina con iluros demostró gran utilidad en la síntesis de aziridinas, si bien la selectividad cis-trans es en general baja o moderada. Dai y col. desarrollaron un método para la aziridinación asimétrica de iminas usando el iluro propargílico derivado de **62**, la selectividad cis es buena (>99%) y la inducción asimétrica, aunque en general es modesta, en algunos casos llega a superar el 85% (Li, 1998).

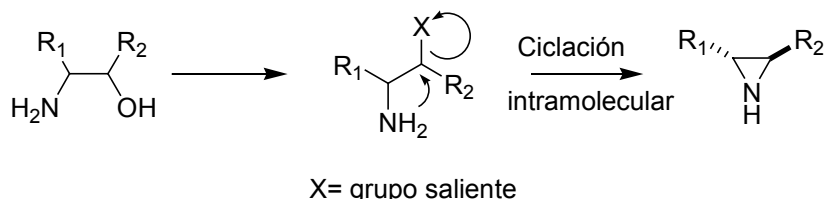


Esquema 2.14

1.3.1.2 Métodos de aziridinación intramoleculares

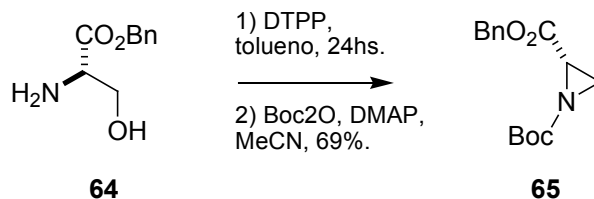
A. A partir de amino alcoholes

Es uno de los métodos clásicos para la preparación de aziridinas, el grupo hidroxilo se transforma en un buen nucleófilo (grupo saliente) produciéndose luego el desplazamiento intramolecular por el par de electrones libres de la amina para dar la aziridina.



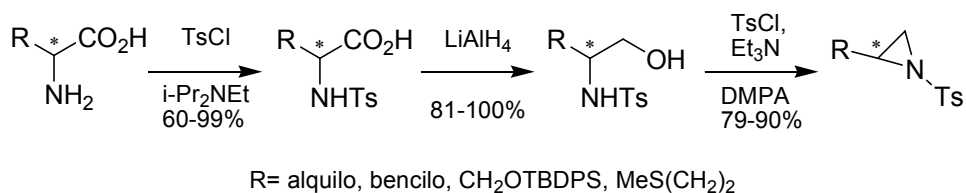
Es un buen método para alcoholes primarios y secundarios, pero no para terciarios que dan principalmente eliminación para producir el alqueno correspondiente. La reacción es generalmente estereoespecífica ya que la amina y el grupo saliente adoptan una conformación trans coplanar en el estado de transición. Si se parte de amino alcoholes enantioméricamente puros, se obtienen aziridinas enantioméricamente puras.

Se ha utilizado como grupo saliente (X) tosilo, mesilo, halógenos, etc; en métodos más recientes se usaron nucleófilos más poderosos como las especies oxifosfonio. Por ejemplo, el tratamiento de amino alcoholes con Br₂, CCl₄ ó DEAD en presencia de Ph₃P se ha usado ampliamente para activar el alcohol y efectuar la ciclación del anillo. Baldwin y col. usaron dietoxitrietilfosfina (DTEP) sobre el éster de O-t-butil-(S)-serina **64** para obtener la aziridina **65** con buen rendimiento (Baldwin, 1996), esquema 2.15.



Esquema 2.15

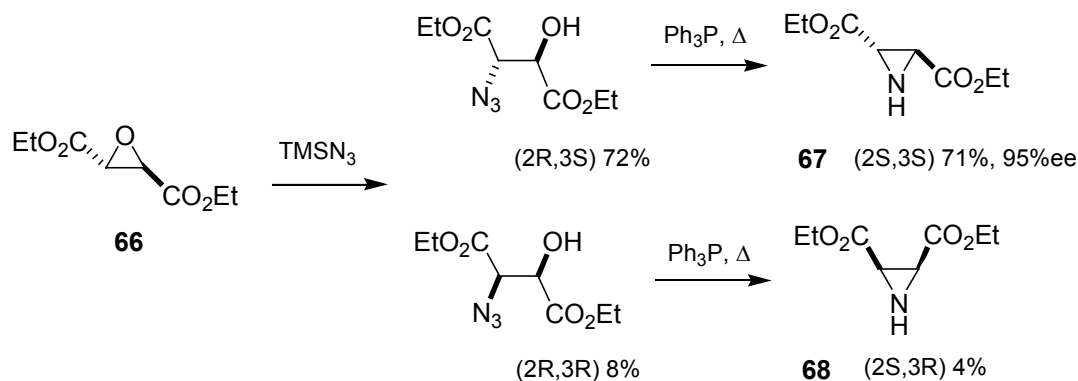
Los 1,2-amino alcoholes enantioméricamente puros que requiere la versión asimétrica se obtienen frecuentemente por reducción de α -aminoácidos enantioméricamente puros comerciales, obteniéndose las aziridinas enantiomericamente puras con alto rendimiento, esquema 2.16 (Berry, 1992).



Esquema 2.16

B. A partir de epóxidos

La apertura regioespecífica de epóxidos con azida permite preparar el correspondiente azido alcohol, el cual se puede transformar en la aziridina mediante la reacción de Staudinger (Staudinger, 1919). Esta reacción involucra tratamiento con trifenilfosfina, formándose la oxaazafosfolina que por inducción térmica cicla generando la aziridina (esquema 2.17). Cuando se parte de epóxidos enantioméricamente puros se tiene acceso a aziridinas no racémicas. Por ejemplo, el método se aplicó a la síntesis de los isómeros cis y trans de los aziridin-2,3-dicarboxilatos **67** y **68** (Legters, 1991), a partir del epóxido **66**.

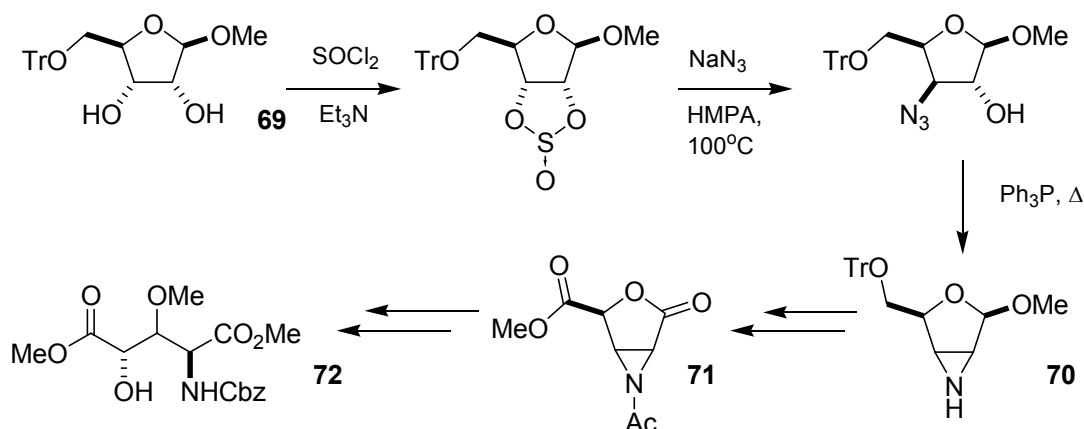


Esquema 2.17

La disponibilidad de epóxidos enantioméricamente puros a partir de alcoholes alílicos mediante la epoxidación asimétrica de Sharpless hace que este método sea muy versátil para la preparación de hidroxi-aziridinas.

C. A partir de dioles

En una secuencia análoga a la de apertura vía azida de Staudinger, los sulfitos cíclicos obtenidos a partir de 1,2 dioles se transforman fácilmente en aziridinas (esquema 2.18). Esta vía fue utilizada por Dodd y colaboradores para la síntesis de derivados 3,4-disustituídos del ácido L-glutámico **72** por apertura del 2,3-aziridino- γ -lactona-4-carboxilato **71** obtenido a partir del 5-O-tritil- β -D-ribofuranósido **69** (Dauban, 1996).

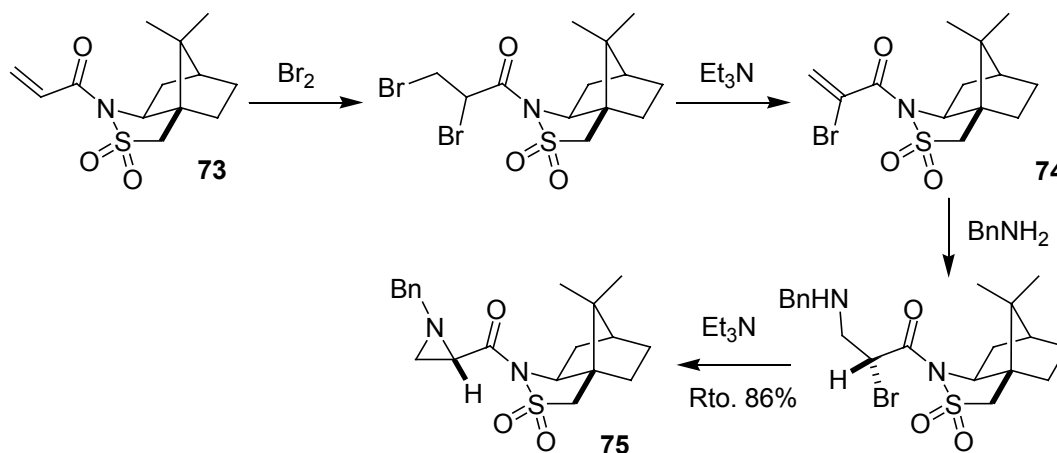


Esquema 2.18

D. A partir de alquenos

I. Reacción de Gabriel-Cromwell

Los 1,2-dibromoalcanos obtenidos por adición de bromo a alquenos pueden dar aziridinas racémicas por tratamiento con aminas (Shustov, 1990) Se puede inducir asimetría utilizando un inductor quiral como en el caso del bromoacrililoilo **74** obtenido por bromación y posterior eliminación del alqueno **73**, obteniéndose como único producto la aziridina **75** (Garner, 1994).



Esquema 2.19

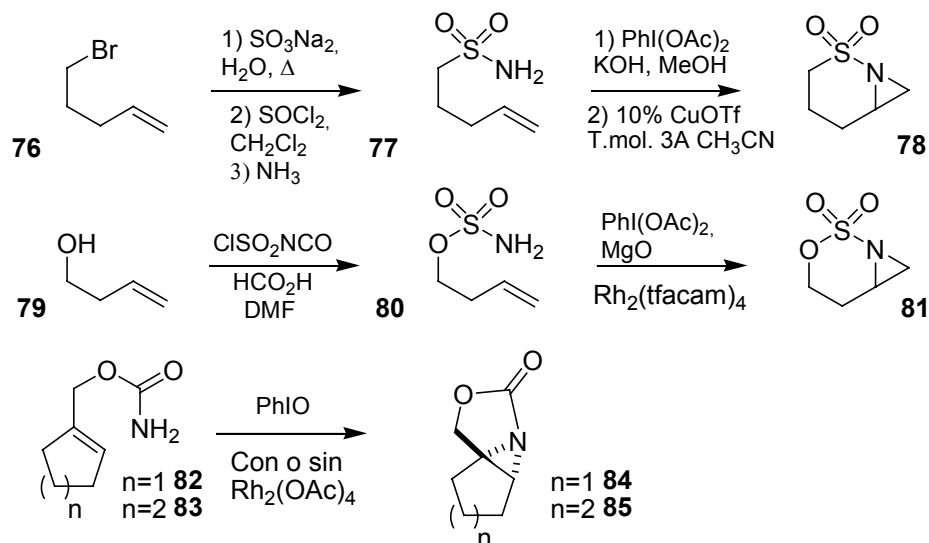
II. Generación de nitrenos

En los últimos 5 años se desarrollaron varias metodologías de aziridinación intramolecular a partir de alquenos y sulfonamidas, carbamatos y sulfamidatos. El primer trabajo en este campo fue el presentado por Dauban y Dodd (Dauban, 2000), en el cual se partió de halogenuros con dobles enlaces en δ ó γ como **76**, transformándolos luego en ácidos sulfónicos por sustitución con sulfito y posteriormente en las correspondientes sulfonamidas como **77** (esquema 2.20). A partir de estos sustratos se prepararon los iminoiodinano derivados y luego se los sometió a las condiciones de aziridinación en presencia de complejos de cobre, obteniéndose intramolecularmente las aziridinas deseadas (ej. **78**). Dos años más tarde Pawda y colaboradores publicaron el mismo tipo de aziridinas pero utilizando complejos de rodio (Pawda, 2004).

Durante este trabajo de Tesis se desarrolló, en colaboración con el grupo del Dr. Dodd (Gif-sur-Yvette, ICSN-CNRS, Francia) una nueva metodología de aziridinación intramolecular (ver capítulo 3), Posteriormente a ello, Dubois y colaboradores (Guthikonda, 2002), ensayaron una aziridinación intramolecular similar, a partir de alcoholes homoalílicos, mediante la síntesis de sulfamidatos como **80** que fueron sometidos a condiciones de generación de nitrenos en presencia de complejos de rodio (o rutenio). Obtuvieron como resultado aziridinas del tipo de **81** (esquema 2.20).

El grupo de Pawda y colaboradores (Pawda, 2002), sintetizó derivados carbamatos (**82** y **83**) a partir de alcoholes alílicos y realizó con ellos la aziridinación intramolecular, utilizando yodossilbenceno para la generación del iodinano y de acetato de

rodio para la generación de nitrenos. El hecho notable en esta metodología es que la aziridinación ocurre aún en ausencia de rodio (**84** y **85**).



Esquema 2.20

2 Sulfamidatos cíclicos

2.1 Introducción

Los sulfamidatos cíclicos son una clase versátil de electrófilos funcionalizados. En consecuencia, en los últimos años, tomando como punto de partida estos reactivos (agentes alquilantes) se ha incrementado la cantidad de aplicaciones en diversas áreas de la síntesis orgánica. El interés por este tipo de compuestos, dio lugar a varios trabajos de revisión en el tema (Lohray, 1997; Byun, 2000; Meléndez, 2003).

Los 1,2, 1,3 y 1,4 sulfamidatos cíclicos (**86-88**) son una alternativa atractiva para la síntesis de heterociclos nitrogenados, permitiendo desde el comienzo definir la estereoquímica del enlace C-N y reteniéndola hasta arribar al objetivo sintético, figura 2.5.

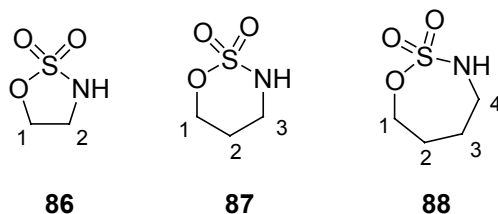


Figura 2.5 Sulfamidatos cíclicos.

2.2 Reactividad de sulfamidatos cíclicos

Este tipo de compuestos son susceptibles a reacciones de sustitución nucleofílica bimolecular SN_2 ; la sustitución ocurre en posición 1, favoreciendo la ruptura del enlace C-O sobre C-N (mecanismo similar al de sustitución de ésteres sulfónicos). Se obtienen mejores resultados si el nitrógeno no está unido a hidrógeno, sino sustituido por un grupo atractor de electrones. Otra reacción importante de este tipo de compuestos, es la eliminación del grupo SO_2 en medio ácido o por acción de ácidos de Lewis, para la obtención de amino alcoholes (Meléndez, 2003), figura 2.6.

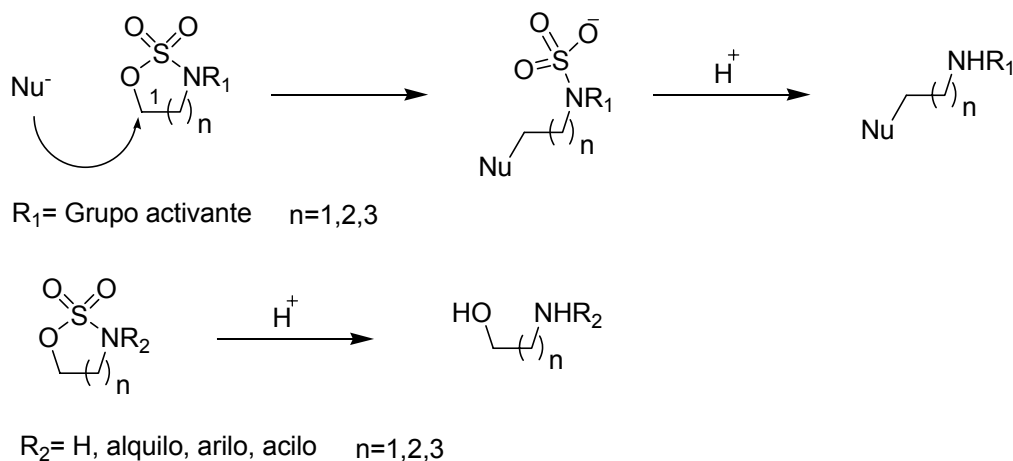


Figura 2.6 Reactividad de sulfamidatos cíclicos.

2.3 Síntesis de sulfamidatos cíclicos

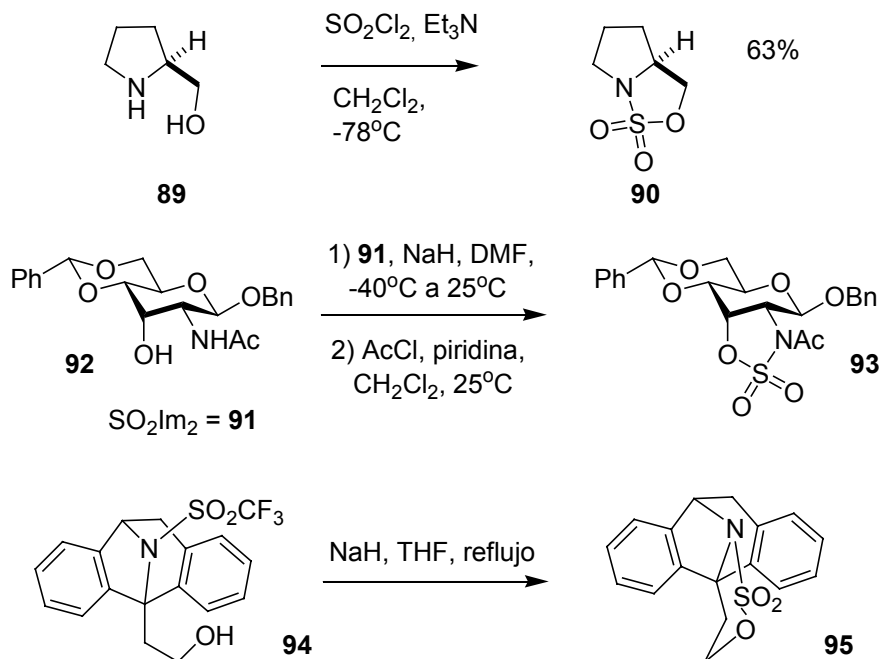
Las metodologías de síntesis de sulfamidatos pueden ser clasificadas en cuatro grupos, las que toman como material de partida amino alcoholes o derivados, las que utilizan dioles o epóxidos, las que parten de compuestos carbonílicos con alcoholes en β y las que a partir del grupo sulfamato realizan una aminación de enlaces simples o dobles.

2.3.1 A partir de amino alcoholes o derivados

Entre los métodos más directos de obtención de sulfamidatos, se encuentra el que utiliza cloruro de sulfurilo como reactivo, a bajas temperaturas y con rendimientos

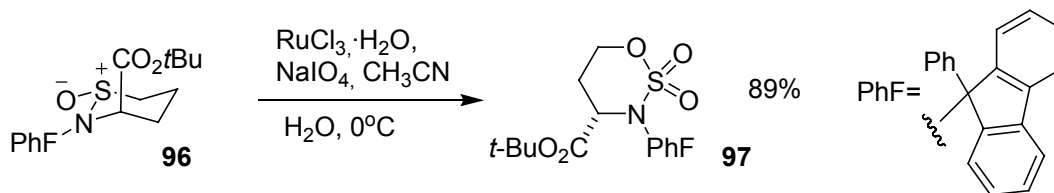
dependientes de la estructura del 1,2 o 1,3 amino ó amido alcohol de partida (esquema 2.21). Un ejemplo es el prolinol **89**, que al ser sometido a condiciones de sulfamidación, dio como resultado el sulfamidato **90** con un 63% de rendimiento, esta reacción resulto no ser efectiva a temperaturas más altas (Alker, 1990).

Aguilera y colaboradores, ensayaron este reactivo en azúcares, pero no obtuvieron resultados satisfactorios. En su lugar utilizaron 1,1'sulfonil imidazol (**91**) con el compuesto **92**, que dio como resultado el compuesto **93** (71% rendimiento) luego de acetilar ya que el reactivo utilizado removió el acetato de **92** (Aguilera, 1996, 1997). El grupo de Lyle, sintetizó el sulfamidato **95** a partir de la trifluorometanosulfonamida **94**, en presencia de hidruro de sodio en THF a reflujo (Lyle, 1987).



Esquema 2.21

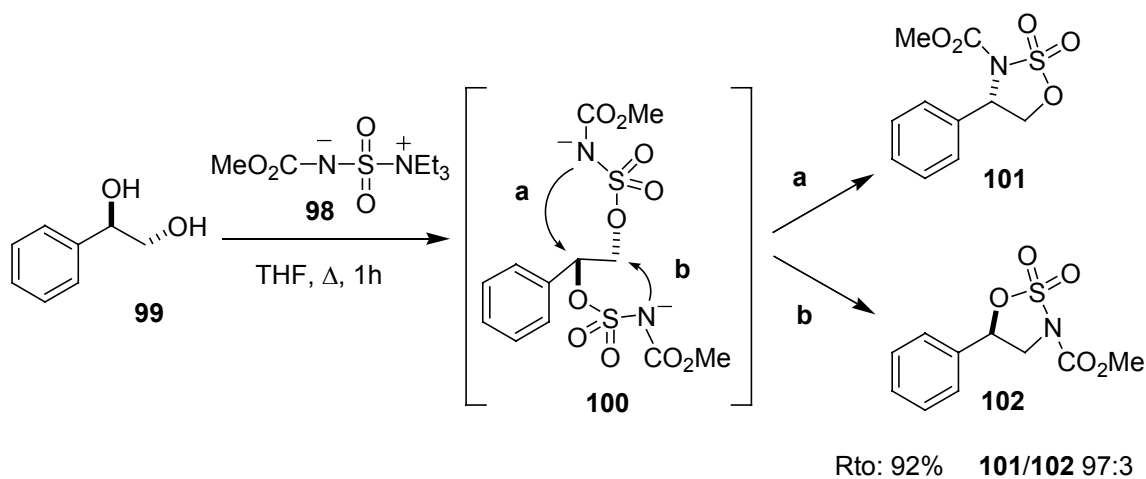
Una metodología similar, pero en dos pasos, es la utilización de cloruro de tionilo para formar el sulfamidito (**96**) y posteriormente la oxidación con RuCl_3 (catalítico) y periodato de sodio en acetonitrilo-agua, para la obtención del sulfamidato **97** (Atfani, 2001), esquema 2.22.



Esquema 2.22

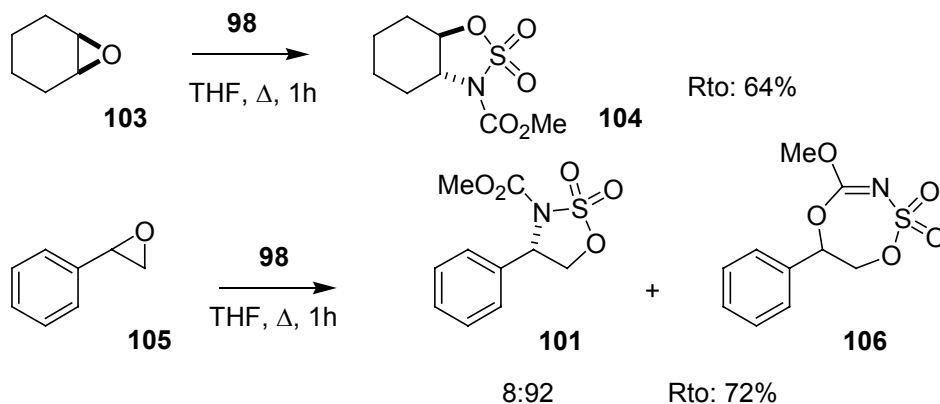
2.3.2 A partir de dioles o epóxidos

Para la síntesis de sulfamidatos cíclicos de 5 miembros, el reactivo de Burgess (98), es uno de los reactivos más utilizados; los compuestos de partida pueden ser 1,2 dioles o epóxidos. Como ejemplo del primer caso, Nicolau y colaboradores (Nicolau, 2002), sintetizaron diferentes sulfamidatos cíclicos como 101 y 102 a partir de dioles vecinales como 99. El mecanismo propuesto para la formación de 101 y 102 se muestra en el esquema 2.23. El primer paso es la formación del intermediario 100, disustituído por el reactivo de Burgess. Luego se produce una reacción S_N2 intramolecular, de uno de los nitrógenos a una de las posiciones oxigenadas a ó b. La relación entre los isómeros, depende de la reactividad e impedimento estérico de cada una de las posiciones involucradas (esquema 2.23).



Esquema 2.23

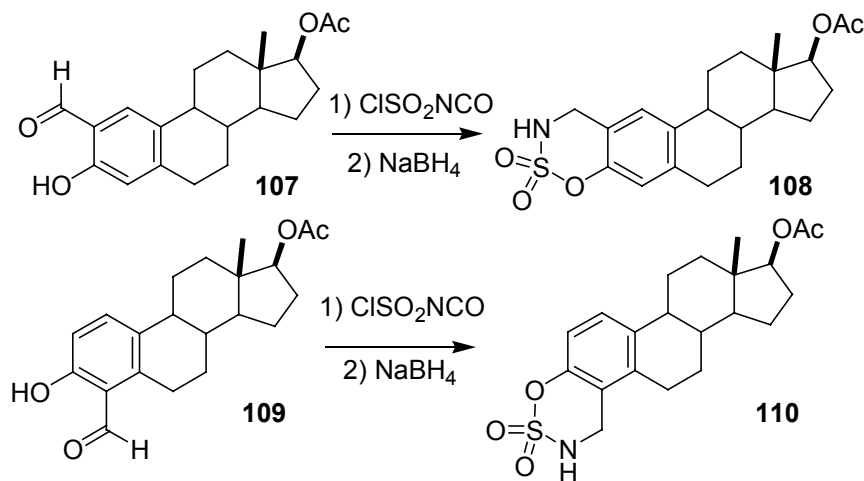
Cuando se parte de epóxidos alquílicos **103** (Rinner, 2003), se obtiene como único producto el sulfamidato cíclico (**104**), pero cuando se trabaja con epóxidos vecinos a un anillo aromático (**105**), se obtiene una mezcla de dos compuestos, un sulfamidato cíclico de 5 miembros (**101**) minoritario y otro de 7 miembros (**106**) mayoritario (esquema 2.24).



Esquema 2.24

2.3.3 A partir β -carbonil alcoholes

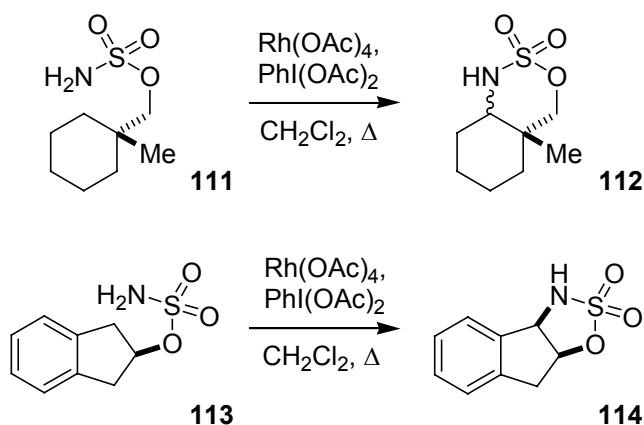
En esta metodología se parte de compuestos carbonílicos que tengan en posición β un hidroxilo (**107**, **109**). Los pasos claves son la formación del sulfamato, realizada con clorosulfonyl isocyanate, y la posterior adición del nitrógeno al carbonilo. A continuación se reduce el doble enlace C-N formado, para dar el sulfamidato cíclico **108** ó **110** (Peters, 2003), esquema 2.25.



Esquema 2.25

2.3.4 Aminación de enlaces simples y dobles

En el último lustro, se han desarrollado los métodos de síntesis de sulfamidatos cíclicos, basados en la aminación de enlaces simples o dobles, a partir de la sulfanilación de alcoholes y la catálisis con complejos ó sales de metales de transición, para la inserción de nitrógeno. El grupo pionero en el desarrollo de estas metodologías, fue el de Du Bois (Espino, 2001; Wehn, 2005), que a partir de sulfamatos como **111** y **113** en presencia de diacetato de iodobenceno y óxido de magnesio con catálisis de sales de rodio, sintetizó los sulfamidatos cíclicos **112** y **114**. Este método da lugar a la obtención de anillos de 6 miembros solo; en el caso que esto no sea posible, se forman los anillos de 5 miembros como **114** (esquema 2.26).



Esquema 2.26

Como ya se mencionó en este capítulo (página 43), posteriormente a la metodología desarrollada en conjunto con el grupo del Dr. Robert H. Dodd (capítulo 3), Du Bois y colaboradores (Guthikonda, 2002), desarrollaron una metodología de aziridinación, a partir de sulfamatos, que en el caso de partir de alcoholes homoalílicos **79**, da lugar a sulfamidatos cíclicos con un anillo de aziridina fusionado (**81**).

Capítulo 3

Metodología de aziridinación intramolecular y
formación de sulfamidatos cíclicos

Metodología de aziridinación intramolecular y formación de sulfamidatos cíclicos

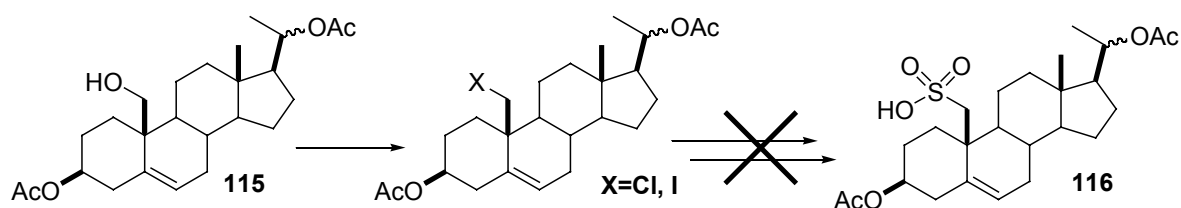
1. Introducción

Como se mencionó en el capítulo 1, para que un pregnano tenga actividad como neuroesteroide debe contener en su estructura un hidroxilo en posición 3α y un grupo cetona en posición 20. Está demostrado que la introducción de grupos polares como amino ó éter en posición 2β , aumenta la solubilidad sin provocar modificaciones importantes sobre la actividad en GABA_A, tal como se observa en **ORG20599**, **bromuro de vecuronio** y **Minaxolona** (estructuras en capítulo 1, pág. 23 y 24).

En los últimos diez años ha despertado gran interés el desarrollo de nuevas metodologías de aziridinación en sus versiones intermolecular e intramolecular (Evans, 1991, 1994), siendo una fuente potencial de compuestos nitrogenados. Para aplicar esta metodología a la síntesis de esteroides se trabajó en colaboración con el grupo del Dr. Dodd (ICSN-CNRS-Gif sùr Ivette) especializado en este tema, en conjunto se evaluó la posibilidad de sintetizar $2\beta,3\beta$ y $5\beta,6\beta$ aziridinoesteroides por vía intramolecular, para su posterior apertura y funcionalización como neuroesteroides utilizando la metodología desarrollada recientemente por ellos (Dauban, 2000). En el caso de síntesis de una aziridina $2\beta,3\beta$ la apertura con nucleófilos oxigenados llevaría a la obtención de un 2β -amino, 3α -hidroxi derivado que cuenta con las funcionalizaciones deseadas. No se planteó la utilización de métodos de aziridinación intermoleculares porque en su mayoría, aplicados a esteroides dan como resultado mezclas α y β ó exclusivamente el isómero α dado el menor impedimento en la cara α de la mayoría de los esteroides. Como primer objetivo se planteó la síntesis de un $5\beta,6\beta$ aziridino pregnano al cual se debían incorporar también características del farmacóforo, los grupos 3α -hidroxi y 20-ceto necesarios para la actividad. Posteriormente se desarrollaría la síntesis del intermediario para la aziridinación intramolecular en Δ^2 . Los antecedentes de aziridinación intermolecular en Δ^5 esteroides son, el de Tardella y *col.* (Fioravanti, 1998) donde se obtienen mezclas de isómeros $5\alpha,6\alpha$ y $5\beta,6\beta$ -aziridinoesteroides, el de Chen y *col.* (Liang, 2002) donde se arriba a la aminación alílica obteniendo un 7α -amino derivado y el de nuestro grupo

realizado por Di Chenna en colaboración con el grupo del Dr. Dodd (Di Chenna, 2002) donde no se obtuvieron resultados satisfactorios.

Basándonos en nuestra experiencia en síntesis de Δ^5 esteroides funcionalizados en C-19 se consideró aplicar la metodología de aziridinación intramolecular desarrollada por Dauban y Dodd (Dauban, 2000) que utiliza como sustratos halogenuros con dobles enlaces en γ y δ (capítulo 2, pág. 43). Para obtener el precursor adecuado se utilizó el camino sintético seguido por Joselevich y *col.* (Joselevich, 2003), para la síntesis del intermedio **115**. Se transformó el 19-hidroxi derivado en 19-yodo y 19-cloro pero no se obtuvieron resultados satisfactorios al realizar la sustitución con ión sulfito, para la obtención de **116**. Esto se debería a la poca reactividad de los derivados neopentílicos en reacciones de sustitución nucleofílica bimolecular y el bajo carácter nucleofílico del ión sulfito usado en esta metodología (esquema 3.1).



Esquema 3.1. Intentos de preparación de precursores para aziridinación.

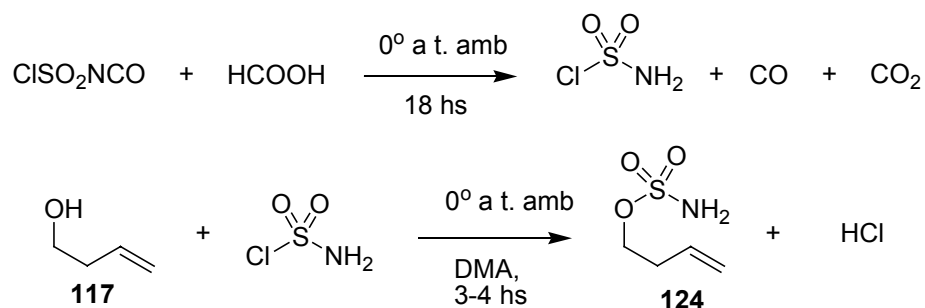
2. Metodología

En vista de los resultados obtenidos se decidió desarrollar una nueva metodología de aziridinación intramolecular que incluyera al hidroxilo de la posición 19 en el precursor para realizar la aziridinación intramolecular. Inspirados por el trabajo de Dubois (Espino, 2001) para la inserción de nitrógeno en posiciones bencílicas y la síntesis de sulfamido esteroides de Koizumi (Okada, 2000), se consideró la posibilidad de desarrollar una metodología de aziridinación intramolecular a partir de alcoholes alílicos y homoalílicos, convirtiéndolos en sulfamidatos y luego someterlos a condiciones de aziridinación, en presencia de complejos de Cu(I) o Cu(II)

2.1 Síntesis de precursores

Para estudiar la factibilidad de esta reacción, se sintetizaron los sulfamidatos a partir de alcoholes homoalílicos comerciales y cloruro de sulfamoilo (generado *in situ*, con

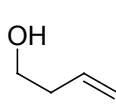
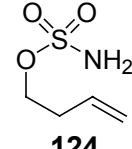
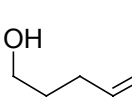
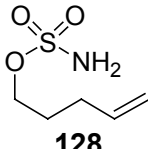
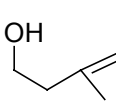
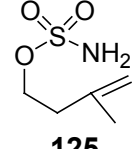
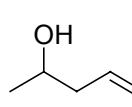
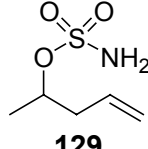
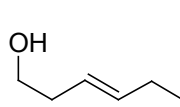
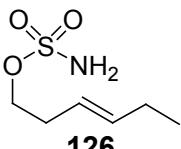
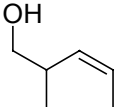
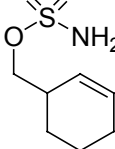
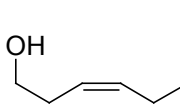
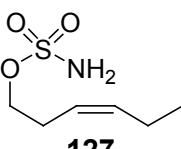
clorosulfonilisocianato y ácido fórmico) en DMA a 0°C, obteniéndose así los precursores deseados, ejemplificado con el compuesto **117** en el esquema 3.2.



Esquema 3.2 Sulfanilación ejemplificada para el compuesto **117**

Se realizó la reacción con siete alcoholes homoalílicos con características estructurales diferentes: sustitución e isomería en el doble enlace, acíclicos, cíclicos y longitud de cadena variable. Los rendimientos resultaron de moderados a muy buenos dependiendo del material de partida. Los resultados se resumen en la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Sulfamidatos sintetizados con la metodología del esquema 3.2.

Alcohol	Sulfamidato	Rto%	Alcohol	Sulfamidato	Rto%
 117	 124	95	 121	 128	40
 118	 125	95	 122	 129	92
 119	 126	95	 123	 130	74
 120	 127	93			

Para realizar el seguimiento de los resultados de las reacciones y caracterizar los compuestos se utilizaron las señales características de RMN ^1H de los mismos. Se observaron las señales de los protones unidos al carbono del sulfamidato entre 4,11 y 4,75 ppm, las de los protones del doble enlace de 5,81 a 4,80 ppm y las señales de los hidrógenos unidos al nitrógeno del sulfamidato dentro del rango de 4,78 a 4,90 ppm. Como ejemplo se utilizan los datos del compuesto **124** que se muestran en la tabla 3.2 y en el espectro de ^1H (figura 3.1).

Tabla 3.2 Asignación de espectros RMN- ^1H y ^{13}C del compuesto **124**

N	^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz)		^1H (CDCl_3 , 300 MHz)					
	Tipo	δ [ppm]	δ [ppm]					
			a	m, J [Hz]		m, J [Hz]	b	m, J [Hz]
1	CH_2	70,4	---	---	4,27	t, 6,6	---	---
2	CH_2	33,1	---	---	2,52	ddt, 13,2, 6,4, 1,5	---	---
3	CH	132,7	---	---	5,81	ddt, 17,1, 10,3, 6,6	---	---
4	CH_2	118,4	5,19	ddd, 17,1, 3,55, 1,5	---	---	5,16	m
NH_2	---	---	---	---	4,81	s	---	---

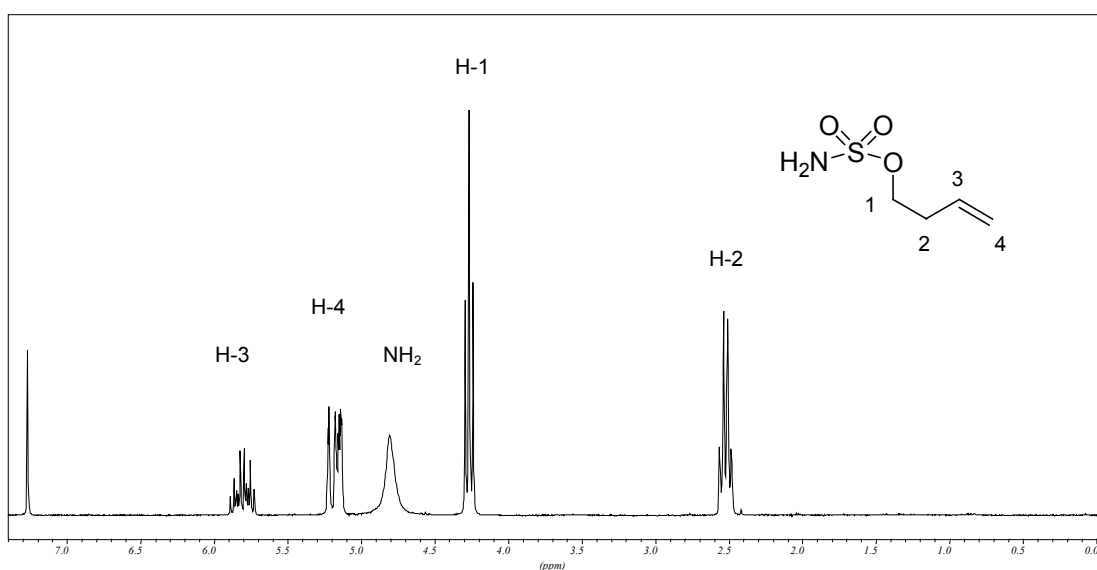
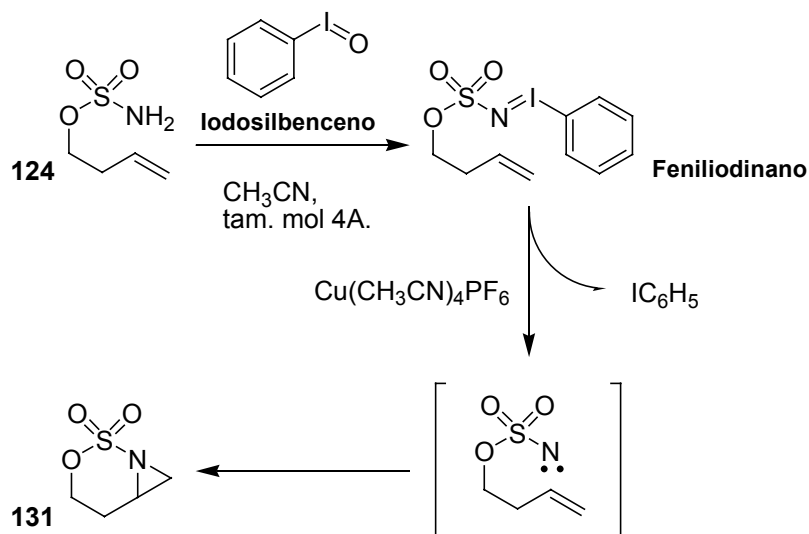


Figura 3.1. Espectro de RMN ^1H (300 MHz) del compuesto **124**

Analizando el espectro de la figura 3.1, se reconocen las señales de los protones unidos al sulfamidato a 4,27 ppm, las de los protones del doble enlace a 5,81, 5,19 y 5,16, ppm, las de los protones del nitrógeno a 4,81 ppm y las del metileno a 2,52 ppm.

2.2 Aziridinación intramolecular

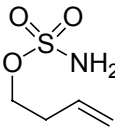
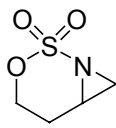
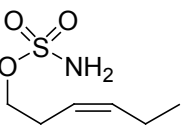
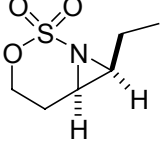
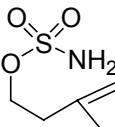
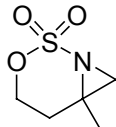
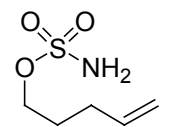
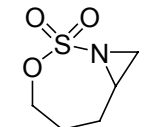
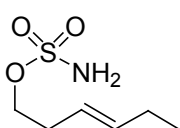
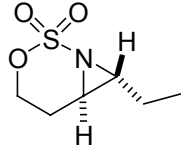
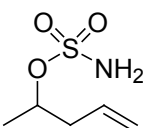
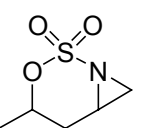
A partir de estos precursores se realizó la aziridinación intramolecular utilizando las condiciones de Dauban et al. (Dauban, 2000, 2001) para sulfonamidas y la formación del iodinano intermedio. En esta metodología se forma *in situ* el feniliodinano intermediario por el agregado de iodosilbenceno al medio de reacción, generándose el nitreno en presencia de cantidades catalíticas del complejo de Cu (I), $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ (esquema 3.3).



Esquema 3.3 Aziridinación intramolecular ejemplificada para el compuesto **124**.

Con los sulfamidatos sintetizados (**124** a **130**) se ensayó la reacción de aziridinación intramolecular obteniéndose resultados positivos en todos los compuestos excepto **130**. En los casos que hubo reacción los rendimientos obtenidos fueron de moderados a muy buenos dependiendo del material de partida (los resultados se presentan en la tabla 3.3).

Tabla 3.3 Aziridinación intramolecular de sulfamidatos.

Sulfamidato	Aziridina	Rto%	Sulfamidato	Aziridina	Rto%
		69			80
124	131		127	134	
		53			50
125	132		128	135	
		94			72
126	133		129	136	

La corroboración de la formación de la aziridina se hizo mediante el análisis de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C y de masa. En la tabla 3.4 se presentan los datos del compuesto **131**. En el espectro de RMN ^1H del compuesto **131** (figura 3.2), se observa que desaparecen las señales características de los protones unidos al nitrógeno del sulfamidato **124** y los del doble enlace en posiciones 3 y 4 (tabla 3.2). En cambio se observan las señales correspondientes a la aziridina **131**, para el hidrógeno unido en posición 3 y para los hidrógenos unidos en posición 4 (tabla 3.4).

Tabla 3.4 Asignación de espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **131**.

N	^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz)		^1H (CDCl_3 , 300 MHz)					
	Tipo	δ [ppm]	a	m, J [Hz]	δ [ppm]	m, J [Hz]	b	m, J [Hz]
1	CH_2	68,7	4,69	dt, 11,7, 6,4	---	---	4,43	ddt, 11,7, 6,8, 6,4
2	CH_2	18,4	2,51	dq, 15,1, 6,4	---	---	2,26	ddt, 15,1, 6,8, 6,4
3	CH	41,6	---	---	3,22	dd, 10,3, 5,4	---	---
4	CH_2	34,3	2,73	dd, 5,4, 1,5	---	---	2,65	dd, 5,4, 1,5

El análisis de las constantes de acoplamiento en el compuesto **131** muestra la formación de un compuesto cíclico. Así, los dos hidrógenos de posición 1 en el compuesto acíclico **124** se presentan como un triplete a 4,27 ppm con J_{H-H} de 6,6 Hz, mientras que en **131** se desdoblan en dos señales, un doble triplete a 4,69 ppm con J_{H-H} de 11,7 y 6,4 Hz y doble doble doblete a 4,43 ppm con J_{H-H} de 11,7, 6,8 y 6,4 Hz

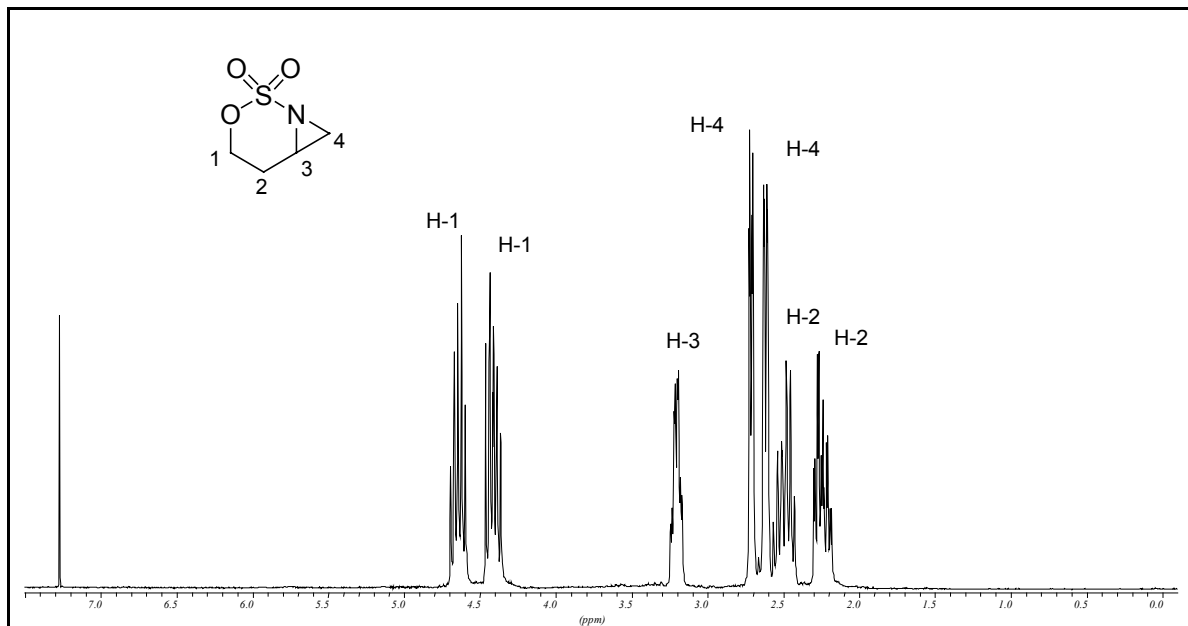


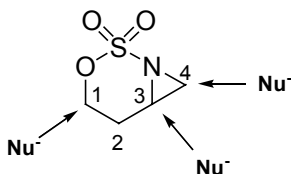
Figura 3.2 Espectro de RMN ^1H (300 MHz) del compuesto **131**

En el espectro de RMN ^{13}C se confirma la desaparición de las señales de los carbonos de los dobles enlaces en el compuesto **124** y la aparición de las señales de los carbonos unidos a nitrógeno, en la aziridina **131** (tabla 3.4). Los resultados fueron confirmados por espectrometría de masas (electrospray) dando una señal de m/z 150 correspondiente a $[\text{M}+\text{H}^+]$ para el compuesto **131**. El resto de las aziridinas de la tabla 3.3 presentaron el mismo patrón espectroscópico.

Al realizar la aziridinación con el compuesto **130** (pág. 55), no se obtuvieron resultados satisfactorios. La falta de reactividad de **130** se atribuyó a que en la conformación más estable el grupo sulfamidato se encuentra en posición ecuatorial, alejado del doble enlace. Cuando se ensayó la reacción a temperaturas mayores, sólo se observó la descomposición del precursor.

3. Estudio de aperturas nucleofílicas

Se estudió la apertura nucleofílica de este tipo de aziridinas tomando como referencia los trabajos de Dauban para la apertura de aziridinas (Dauban, 1996) y los de compilación para la apertura de sulfamidatos cíclicos (Lohray, 1997; Byun, 2000). En este tipo de aziridinosulfamidatos cíclicos existen tres posiciones para el ataque nucleofílico, dos de las cuales llevan a la apertura del anillo de aziridina (posiciones 3 y 4) y la otra deriva en la apertura del anillo de sulfamidato (posición 1), esquema 3.4. Se realizaron ensayos de apertura con la aziridina **131** utilizando distintos tipos de nucleófilos: nitrogenados, oxigenados, azufrados, carbonados y fluorados.

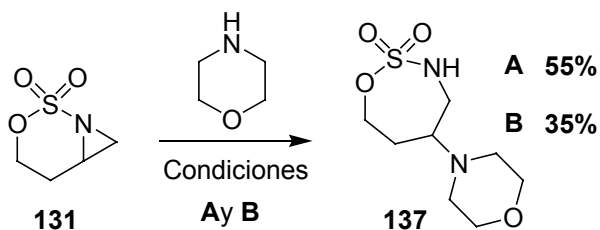


Esquema 3.4. Posibles posiciones de ataque nucleofílico en el compuesto **131**.

3.1 Apertura con aminas

3.1.1 Morfolina

Se realizó el primer ensayo de apertura con morfolina siguiendo el protocolo de Lubell et al. (Atfani, 2001) para sulfamidatos cíclicos de seis miembros sin aziridina fusionada, obteniéndose rendimientos de 55% y 35% según las condiciones de reacción, esquema 3.5.



Reactivos: A) Morfolina, CH₃CN, 75°; B) Morfolina, THF, 25°.

Esquema 3.5 Apertura del compuesto **131** con morfolina.

El análisis por espectrometría de masa del producto demostró la incorporación de morfolina en su estructura observándose el ión $[M+H^+]$ a m/z 237 con abundancia relativa de 100. Los espectros de RMN 1H , ^{13}C y DEPT-135 no fueron suficientes para esclarecer la estructura del compuesto obtenido. Estos resultados, no obstante sirvieron para descartar la posibilidad de la sustitución en posición 1, ya que ello llevaría a un perfil de señales totalmente diferente, se produciría el desplazamiento del grupo sulfamidato dando paso a la apertura del anillo de seis miembros y dejando el anillo de la aziridina intacto. Las señales diagnósticas en RMN 1H para corroborar la presencia del sulfamidato son las de los seis hidrógenos unidos a carbonos adyacentes a oxígeno, dos a 4,25 y 4,09 ppm del sulfamidato y cuatro de la morfolina a 3,49 ppm. Analizando el espectro de RMN ^{13}C se observan dos señales de carbonos unidos a oxígeno (67,6 y 66,5 ppm) y tres señales de carbonos unidos a nitrógeno (62,5, 48,7 y 42,8 ppm).

Para elucidar la estructura del compuesto **137** se realizaron espectros bidimensionales de correlación 1H - 1H (COSY) y 1H - ^{13}C (HMQC) en $(CD_3)_2SO$. Las correlaciones 1H - ^{13}C más importantes son la del metileno a 67,2 ppm con los hidrógenos de 4,25 y 4,09 ppm, la del metino de 62,5 ppm con el protón a 2,70 ppm y la señal del carbono a 42,8 ppm con los hidrógenos a 3,12 y 2,98 ppm, el resto de las correlaciones están resumidas en la tabla 3.5.

Tabla 3.5 Asignación de espectros de RMN 1H y ^{13}C del compuesto **137**.

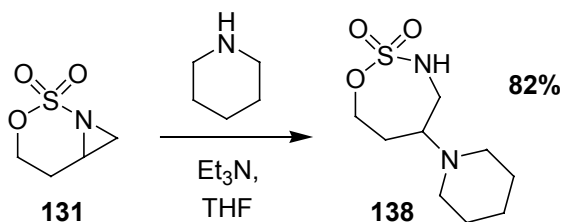
N	^{13}C ($(CD_3)_2SO$, 75 MHz)		1H ($(CD_3)_2SO$, 300 MHz)					
	Tipo	δ [ppm]	δ [ppm]					
			a	m, J [Hz]		m, J [Hz]	b	m, J [Hz]
1	CH ₂	67,6	4,25	dt, 12,5, 3,7	---	---	4,09	ddd, 12,5, 8,8, 1,5
2	CH ₂	24,8	---	---	1,90	m	---	---
3	CH	62,5	---	---	2,70	m	---	---
4	CH ₂	42,8	3,12	dd, 14,0, 2,9	---	---	2,98	m
5	CH ₂	48,7	---	---	2,44	m	---	---
6	CH ₂	66,5	---	---	3,49	t, 4,4	---	---
NH	---	---	---	---	7,82	d, 7,2	---	---

Las correlaciones ^1H - ^1H demostraron que los hidrógenos de posición 4 (3,12 y 2,98 ppm) se acoplan con el hidrógeno del NH (7,82 ppm) y con el protón del metino de 3 (2,70 ppm), el hidrógeno de posición 3 además correlaciona con los hidrógenos de 2 (1,90 ppm) y éstos a su vez acoplan con los del sulfamidato (4,25 y 4,09 ppm). Los hidrógenos de la morfolina correlacionan entre sí (2,44 y 3,49 ppm).

Los resultados obtenidos evidencian que la apertura nucleofílica de la aziridina **131** ocurrió en posición 3 dando lugar a la formación de un anillo de sulfamidato cíclico de siete miembros.

3.1.2 Piperidina

Como continuación de los estudios con nucleófilos nitrogenados, se ensayaron aperturas con otras aminas. Teniendo en cuenta el resultado con morfolina, el estudio de las aperturas fue encarado desde el punto de vista de la apertura de aziridinas, para ello se tomó como base los estudios de Maligres (Maligres, 1997), que realizó las aperturas con diferentes tipos de compuestos nitrogenados. El resultado obtenido con piperidina y **131** fue muy satisfactorio, obteniéndose un único producto con 82% de rendimiento luego de la purificación, esquema 3.6.



Esquema 3.6 Apertura del compuesto **131** con piperidina.

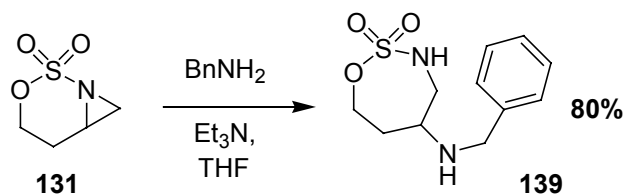
Para corroborar la estructura del compuesto obtenido se realizó un experimento de correlación ^1H - ^1H COSY 45 verificando el acoplamiento del hidrógeno del NH con los hidrógenos de 4 y del hidrógeno de la posición 3 con los protones de posiciones 2 y 4. El espectro de RMN ^{13}C evidenció la presencia de dos carbonos unidos a nitrógeno de amina a 62,8 ppm (metino) y 50,9 ppm (metileno) y uno a nitrógeno de sulfamidato a 43,9 ppm (metileno). El carbono unido a oxígeno se encuentra a 67,5 ppm y el restante metileno del sulfamidato se encuentra a 30,4 ppm. Este producto fue utilizado posteriormente para realizar la segunda sustitución en posición 1 adyacente al oxígeno de sulfamidato.

Tabla 3.6 Asignación de espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **138**.

N	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 250 MHz) δ [ppm]					
	Tipo	δ [ppm]	a	m, J [Hz]	m, J [Hz]	b	m, J [Hz]	
1	CH_2	67,5	4,39	ddd, 13,2, 7,4, 2,2	---	---	4,21	ddd, 13,2, 7,4, 2,2
2	CH_2	30,4	2,20	m	---	---	2,02	m
3	CH	62,8	---	---	2,67	m	---	---
4	CH_2	43,9	---	---	3,30	m	---	---
5	CH_2	50,9	---	---	2,48	m	---	---
6	CH_2	26,6	---	---	1,58	m	---	---
7	CH_2	24,7	---	---	1,45	m	---	---

3.1.3 Bencilamina

Alentados por los resultados obtenidos en la apertura con piperidina, se realizó la apertura con bencilamina, la que ocurrió con un rendimiento del 80%, esquema 3.7.

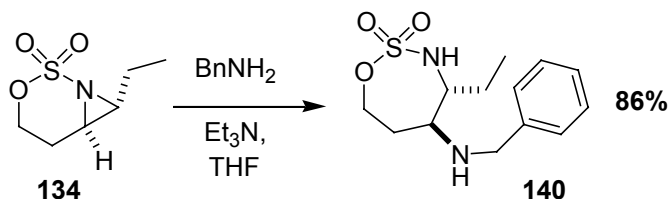

Esquema 3.7 Apertura del compuesto **131** con bencilamina.

La regioquímica de la apertura fue confirmada mediante análisis de los espectros de RMN bidimensionales como en los casos anteriores. Las señales relevantes en los estudios fueron el hidrógeno de posición 3, que presenta acoplamiento con los hidrógenos de 4 y con los hidrógenos de 2 (ver apéndice A de tablas).

3.1.4 Apertura del compuesto 134 con bencilamina

Se realizó la apertura con bencilamina del compuesto **134** que presenta un etilo en posición 4, este compuesto presenta igual grado de sustitución en 3 y 4, convirtiéndose en

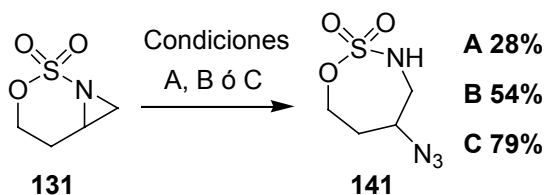
posiciones competitivas en el caso de sustituciones nucleofílicas. Se obtuvo un solo producto con un rendimiento del 86%, esquema 3.8. Los estudios de RMN bidimensional confirmaron la regioquímica de la apertura que ocurrió en posición 3 como en el caso anterior (ver apéndice A de tablas).



Esquema 3.8 Apertura del compuesto **134** con bencilamina.

3.2 Apertura con azida

Se realizó la apertura de **131** con azida mediante tres metodologías distintas: a) con NaN_3 en DMF a 25° ; b) utilizando $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como activante con NaN_3 en DMF según Dauban *et al* (Dauban, 1997) y c) generando *in situ* el ión azida con TMSN_3 y TBAF en THF según Wu *et al* (Wu, 2000), en todos los casos se obtuvo compuesto **141**, esquema 3.9.



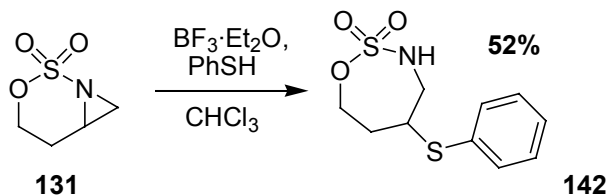
Reactivos: A) NaN_3 , DMF 25° ; B) NaN_3 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, DMF 25° ; C) TMSN_3 , TBAF, THF 25°

Esquema 3.9. Apertura del compuesto **131** con ión azida.

Se corroboró la sustitución mediante el espectro infrarrojo del compuesto **141**, donde se observan las señales características de azida a 2101 y 1177 cm^{-1} . La regioquímica de la apertura se confirmó mediante RMN 2D, con un experimento de correlación H-H COSY-45 en DMSO deuterado, ya que al realizarlo en CDCl_3 la señal del hidrógeno del NH no aparecía en el espectro (ver apéndice A de tablas).

3.3 Apertura con Tiofenol

Teniendo en cuenta la experiencia previa de Dodd *et al* (Dauban, 1997) en la apertura con compuestos azufrados como nucleófilos, se realizó la apertura del compuesto **131** con tiofenol previa activación de la aziridina con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en CHCl_3 , obteniéndose el compuesto **142** con un 52% de rendimiento, esquema 3.10.

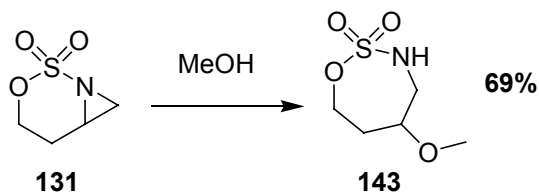


Esquema 3.10 Apertura del compuesto **131** con tiofenol.

Los desplazamientos químicos en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del producto **142** se muestran el apéndice A de tablas. La asignación de los hidrógenos y la regioquímica de la apertura fue determinada mediante un experimento COSY 45.

3.4 Apertura con Metanol

Para la apertura con metanol se realizaron dos intentos utilizando $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ sin resultado satisfactorio y otra dejando el compuesto disuelto en metanol seco durante 24 h. En este último se obtuvo el metoxi derivado **143** con 69% rendimiento, esquema 3.11.



Esquema 3.11 Apertura del compuesto **131** con metanol.

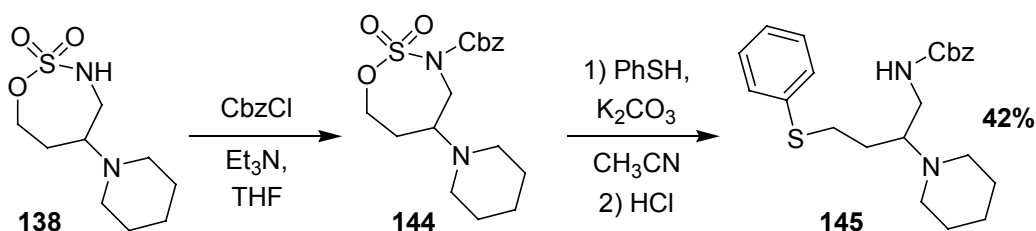
Se confirmó la apertura e incorporación de una molécula de metanol mediante espectrometría de masa (ES) donde se obtuvo un $[\text{M}+\text{H}^+]$ de m/z 182. Los desplazamientos químicos en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del producto **143** se describen en el apéndice A de tablas. La asignación de los hidrógenos y la regioquímica de la apertura fue determinada mediante un experimento COSY 45.

3.5 Apertura con fluoruro y cianuro

Se hicieron diferentes intentos de apertura con el ión cianuro, utilizando cianuro de potasio tanto en DMF, como DMSO y con TMS-CN en presencia de cantidades catalíticas de TBAF. En todos los casos se obtuvieron mezclas complejas difíciles de separar que hicieron imposible la interpretación de los resultados. Fue necesario calentar para que hubiera reacción lo cual pudo haber provocado la descomposición del compuesto de partida. La apertura con fluoruro se ensayó con fluoruro potasio y TBAF no obteniéndose en ambos casos resultados satisfactorios. La basicidad del TBAF más el incremento de la temperatura de reacción influyó probablemente en la descomposición del compuesto. Estas aperturas se lograron con éxito en los derivados esteroidales como se describe más adelante.

4 Doble sustitución:

Para completar el desarrollo de la metodología se planificó la preparación de un derivado que permitiese la sustitución en posición 1 para la obtención de aminas sustituidas. Para ello se eligió el compuesto **138** proveniente de la apertura con piperidina. En base a los antecedentes en bibliografía (Espino,2001; Lohray,1997; Byun,2000; Atfani,2001) sobre sustitución de sulfamidatos, se sabía que para que ocurriera la apertura había que agregar un grupo activante al nitrógeno del sulfamidato.



Esquema 3.12. Esquema planteado para la segunda sustitución.

Para la etapa de activación del sulfamidato fue elegido el grupo protector benciloxicarbonil (Cbz), que demostró ser adecuado como activante pero inestable, ya que al querer aislar el derivado **144** para su caracterización, sólo se obtuvo un rendimiento del 46% (esquema 3.12). Se decidió, entonces no purificar **144** y utilizar el producto crudo en la reacción siguiente. La reacción de **144** con tiofenol en acetonitrilo en

presencia de carbonato de potasio, dio el compuesto deseado **145** con un rendimiento de 42% a partir de **138**. Los resultados de espectrometría de masa (ES) revelaron la sustitución con tiofenol y la posterior pérdida de sulfato con un $[M+H^+]$ a m/z 399.

Para corroborar la sustitución del compuesto en posición 1 se realizaron experimentos de RMN bidimensional de correlación 1H - 1H y 1H - ^{13}C los cuales permitieron confirmar la estructura del producto obtenido. Al analizar los espectros de RMN 1H (figura 3.3) y de correlación 1H - 1H se observó la desaparición de las señales de los hidrógenos unidos al C-1 del sulfamidato a 4,54 ppm en el compuesto **144** y la aparición de los protones del metileno unido al tiofenol a 2,88 ppm en el compuesto **145**. Estos hidrógenos correlacionan con los protones de 1,89 y 1,41 ppm pertenecientes al metileno de la posición 2, que a su vez acoplan con el protón de 2,67 ppm de posición 3 y éste con los de 3,35 y 2,98 ppm de la posición 4. Se observaron además señales de los protones aromáticos del tiofenol junto con las del grupo protector a 7,29 ppm.

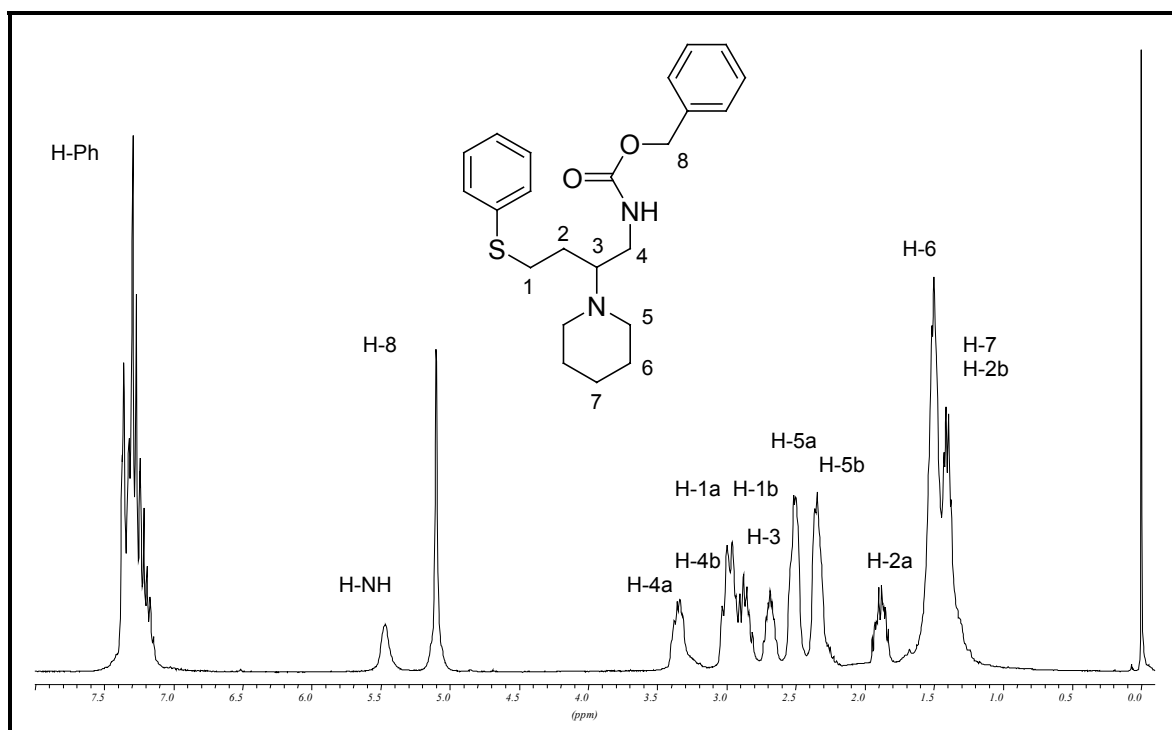


Figura 3.3. Espectro de RMN 1H (250 MHz) del compuesto **145**.

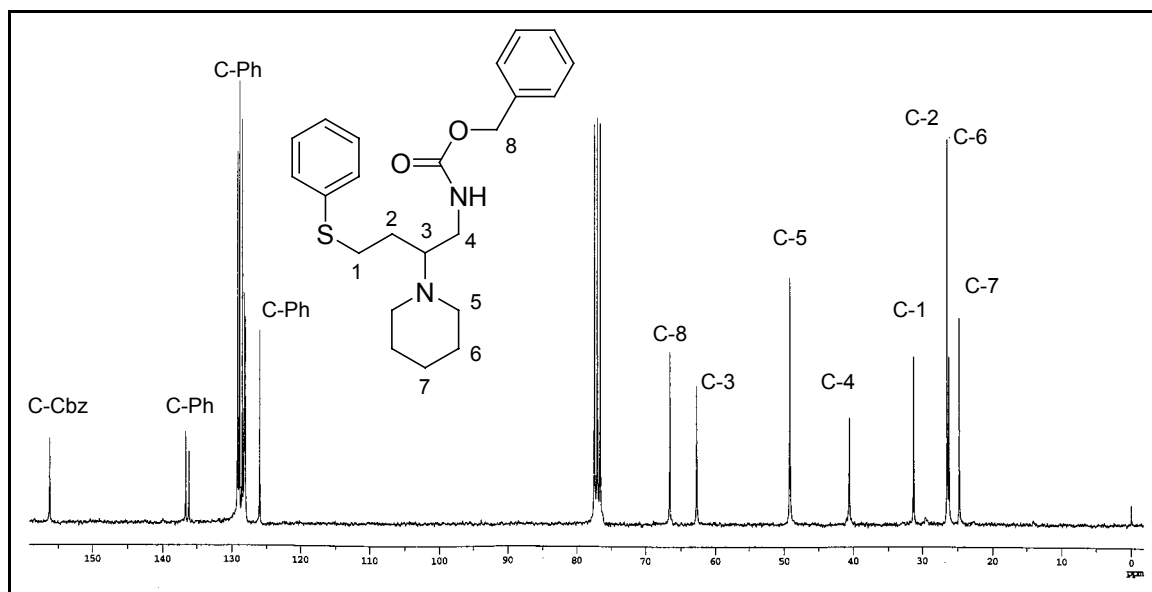


Figura 3.4. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) del compuesto **145**.

En el espectro de RMN ^{13}C (figura 3.4) se observó la desaparición de la señal de carbono unido a sulfamidato a 69,5 ppm y su reemplazo por una señal de carbono unido a azufre a 31,4 ppm, además se observaron cuatro señales adicionales de carbonos aromáticos pertenecientes al tiofenol. El experimento de correlación ^1H - ^{13}C (HMQC) confirmó la estructura buscada, se corroboró que los protones de 2,88 ppm de posición 1 presentan acoplamiento con el metileno unido a azufre en 31,4 ppm, los protones de 1,89 y 1,41 ppm correlacionan con el metileno de 26,6 ppm, el protón de 2,67 ppm presenta acoplamiento con el carbono de 62,8 ppm unido al nitrógeno de piperidina y los hidrógenos de 3,35 y 2,98 ppm correlacionan con el carbono de 40,7 ppm. La asignación completa de los hidrógenos y carbonos del compuesto **145** se presenta en la tabla 3.7.

En los capítulos 4 y 5 se describe la aplicación a esteroides de la metodología de aziridinación intramolecular y las reacciones de apertura.

Tabla 3.7. Asignación de espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **145**

Asignación	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 250 MHz)					
	Tipo	δ ppm	a	Mult.	δ ppm	Mult.	b	Mult.
1	CH_2	31,4	---	---	2,88	m	---	---
2	CH_2	26,6	1,89	m	---	---	1,41	m
3	CH	62,8	---	---	2,67	m	---	---
4	CH_2	40,7	3,35	m	---	---	2,98	m
5	CH_2	49,3	2,51	m	---	---	2,35	m
6	CH_2	26,3	---	---	1,50	m	---	---
7	CH_2	24,8	---	---	1,41	m	---	---
8	CH_2	66,7	---	---	5,10	m	---	---
C=O	C	156,3	---	---	---	---	---	---
C-ipso	C	136,1	---	---	---	---	---	---
C-orto	CH	128,5	---	---	7,29	m	---	---
C-meta	CH	128,9	---	---	7,29	m	---	---
C-para	CH	129,2	---	---	7,29	m	---	---
C-ipso	C	136,2	---	---	---	---	---	---
C-orto	CH	126,0	---	---	7,29	m	---	---
C-meta	CH	128,1	---	---	7,29	m	---	---
C-para	CH	128,2	---	---	7,29	m	---	---
NH	---	---	---	---	5,47	sa	---	---

Capítulo 4

Síntesis de $5\beta,6\beta$ -aziridino y $6\beta,19$ -sulfamido
pregnanos

Síntesis de 5 β ,6 β -aziridino y 6 β ,19-sulfamido esteroides

1. Introducción

En el presente capítulo se desarrollará y discutirá la aplicación de la metodología de aziridinación intramolecular descrita en el capítulo 3, para la aziridinación selectiva de Δ^5 - esteroides, así como las reacciones de apertura de las 5 β ,6 β aziridinas obtenidas.

1.1 Sulfamido esteroides

En los últimos cinco años ha tomado auge la síntesis de sulfamidatos cíclicos en una amplia variedad de compuestos análogos de sustancias con actividad biológica. El agregado del grupo R-O-SO₂-NH o la sustitución del grupo amida por el mismo, aumenta la solubilidad en medios biológicos dado que confiere una mayor polaridad a las moléculas.

En esteroides, se encuentra descrito un ejemplo de sulfamidatos cíclicos, en derivados de estrógenos (Peters, 2003). En su mayoría los estudios realizados fueron hechos en sulfamidatos no cíclicos. El primer estudio de estructura-actividad en este tipo de compuestos fue publicado en el año 1994 por el grupo de Potter quienes realizaron la síntesis de los compuestos **146** a **148**, derivados de estrona (figura 4.1), con la finalidad de utilizarlos como sustratos suicidas de la *estrona sulfatasa* en células tumorales de carcinoma de mama (Howarth, 1994).

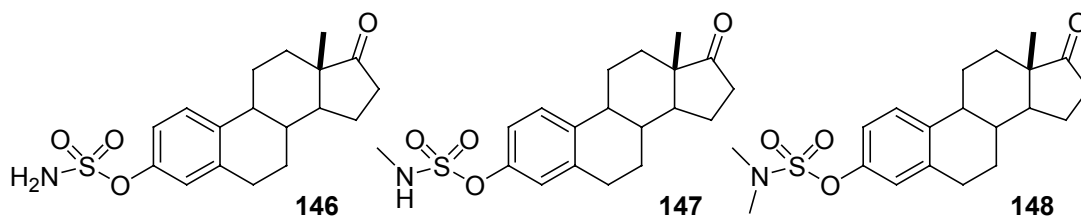


Figura 4.1

Posteriormente, el grupo de Schwarz con el fin de desarrollar inhibidores para la misma enzima, trabajó sobre derivados de estradiol desarrollando distintas familias de

análogos, ejemplificados en las series de compuestos de **149** a **154** (Schwarz,1996), figura 4.2.

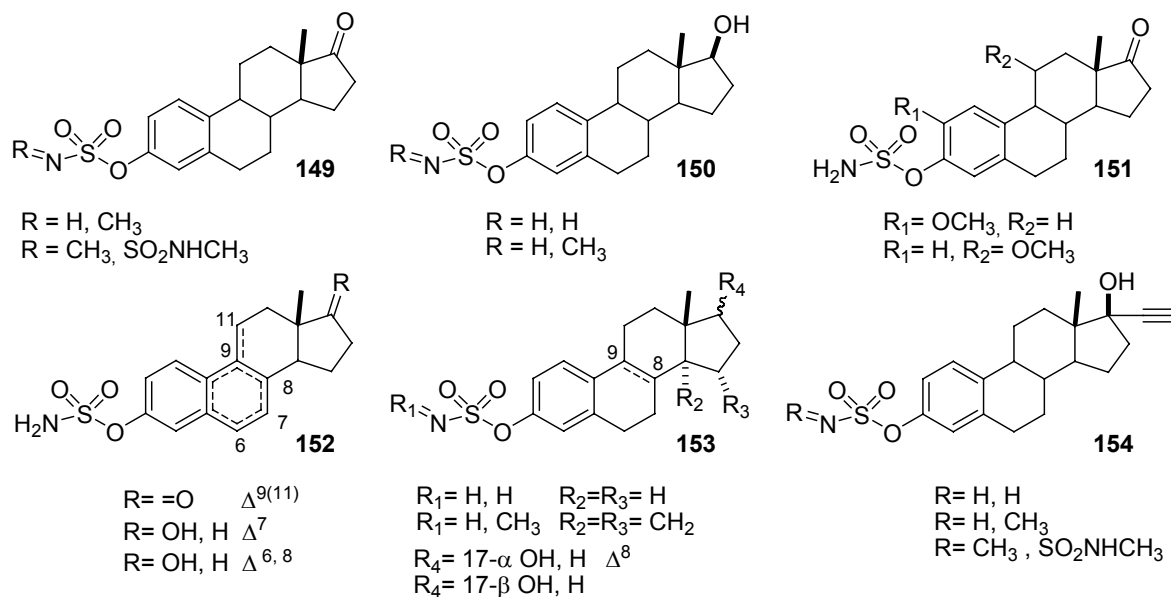


Figura 4.2

Por último el grupo de Li realizó la modificación a nivel del hidroxilo en C-17, combinando las estructuras de dos potentes inhibidores de la *sulfato sintetasa*, la 3-O-sulfamatoestrona y la (p-O-sulfamoil)-N-tetradecanoiltriamina, obteniendo las series de familias de compuestos **155** y **156** (Li,1998), figura 4.3.

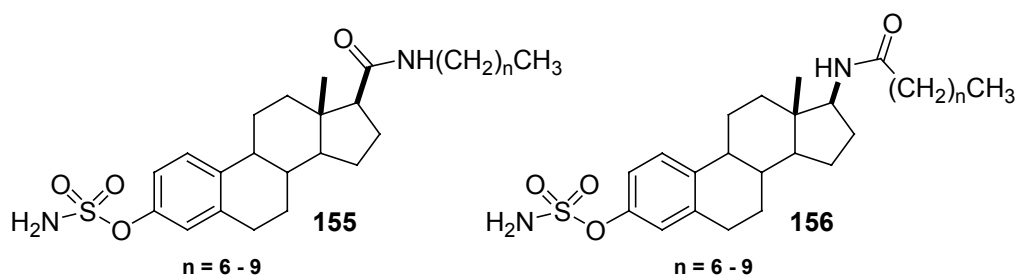


Figura 4.3

El trabajo más reciente sobre sulfamidatos en esteroides fue publicado por el grupo de Okada (Okada,2000). Este resultó ser el método más eficiente para la síntesis de sulfamidatos no cíclicos aplicado a esteroides. Esta metodología fue tomada por numerosos grupos para la síntesis de compuestos no esteroidales y fue la utilizada para

desarrollar la aziridinación intramolecular presentada en el capítulo 3 de esta tesis doctoral. Los compuestos sintetizados por Okada y col. fueron los esteroides sulfanilados **157**, **158** y **159**, figura 4.4.

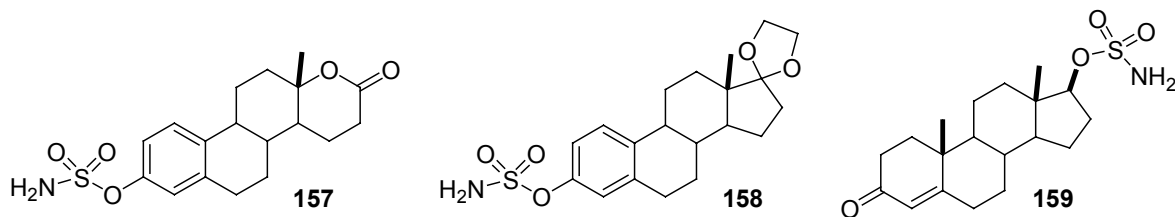


Figura 4.4

1.2 Aziridinoesteroides

La síntesis de compuestos que contengan aziridinas en su estructura y el desarrollo de nuevos métodos de aziridinación han tenido gran relevancia en los últimos años. La aplicación de metodologías de aziridinación en esteroides es de gran interés, no sólo debido a las modificaciones estructurales que conlleva la inserción del anillo en la estructura rígida y los cambios en la solubilidad de sus productos, sino además por su potencialidad como precursores de otros compuestos a partir de la apertura de la aziridina.

Entre las estrategias de síntesis de aziridinas utilizadas en esteroides, encontramos los que parten de una oxima que luego reducen, como en los compuestos **160** (Njar, 1996) y **161** (Ling, 1998), figura 4.5. Otro de los caminos que se tomaron para la síntesis de estos compuestos fue a partir de azidoalcoholes vecinales y su posterior tratamiento con trifenilfosfina para la formación del anillo, como en la estructura **162** (Njar, 1995).

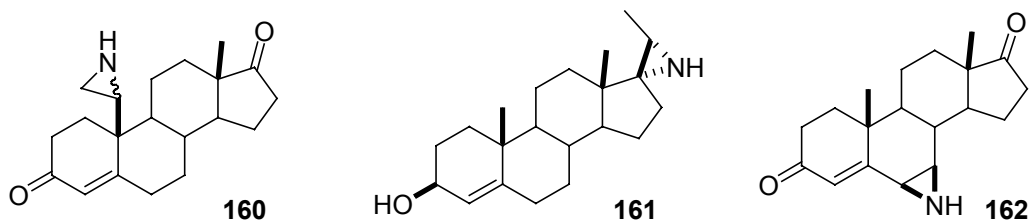


Figura 4.5

Como ya se mencionó en capítulos anteriores la metodología para la síntesis de aziridinas más utilizada en la actualidad es el ataque de nitreno a un doble enlace; el

primer ejemplo en esteroides lo encontramos en el trabajo de Tardella y col., donde se describe la aziridinación de 3β-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona utilizando como generador de nitrenos CaO sobre (arensulfonil)oxicarbamatos (Fioravanti, 1998). Esta reacción no resultó regioselectiva ya que se obtuvieron mezclas de 5α,6α-, 5β,6β-, 16α,17α- y 16β,17β-mono y diaziridinas, figura 4.6.

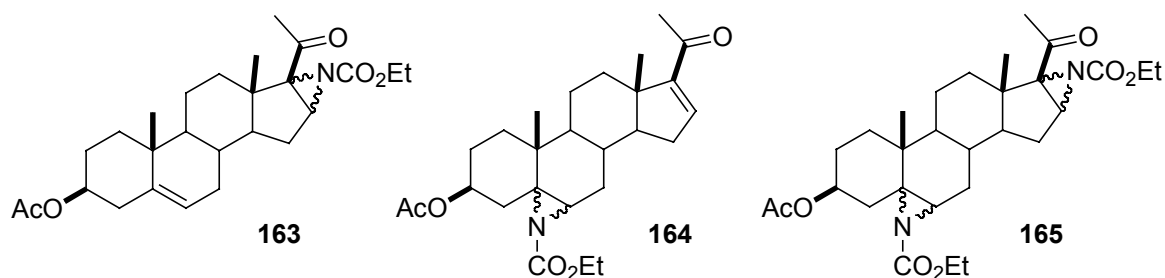


Figura 4.6

Una de las reacciones laterales que pueden ocurrir al generar nitrenos es la amidación alílica, sobre todo si se usan sales de Ru; en este caso, dependiendo del tipo de complejo que se utilice puede servir para realizar una amidación alílica (Espino, 2001) ó una aziridinación (Guthikonda, 2002). Chen y col. (Liang, 2002) intentaron realizar la aziridinación intermolecular de acetato de colesterol con PhI=NTs en presencia del complejo de Salen-Ru^{II} como generador de nitrenos pero obtuvieron sólo amidación alílica en la posición 7 (compuesto 166), pero con diastereoselectividad facial baja obteniéndose una mezcla de isómeros α y β en relación 2,3 a 1 (figura 4.7).

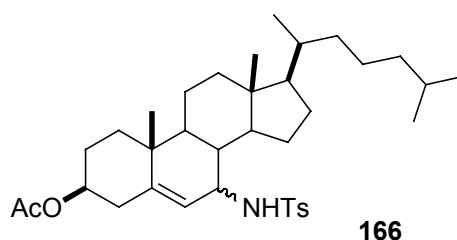


Figura 4.7

Como una primera aproximación a la búsqueda de análogos rígidos de neuroesteroides, del tipo de **minaxolona** (Marshall, 1997), los cuales presentan una mejor solubilidad en medios biológicos, se realizó en nuestro grupo de investigación la aziridinación intermolecular de **5β-H-preg-11-eno-3,20-diona**. Se ensayaron como fuente de nitrenos distintos iodinanos como PhI=NTs, PhI=NNs y PhI=NSes en presencia

de complejos de Cu^I, con resultados de moderados a buenos, obteniéndose en todos los casos completa diastereoselectividad facial (**167** a **169**), figura 4.8. A partir de la aziridina protegida con Ses, se obtuvo la amina libre **170** y su producto de metilación **171**. Al intentar la apertura del anillo de aziridina con tiofenol sobre un derivado reducido de **169** se obtuvo el producto **172** con un 44% de rendimiento, en el cual se observó la eliminación del grupo N-Ses (Di Chenna, 2000). Con estos resultados en vista se realizó la síntesis del análogo protegido **173**, que por desprotección selectiva llevó al intermedio **174** para la obtención de **175** el compuesto buscado (Di Chenna, 2003).

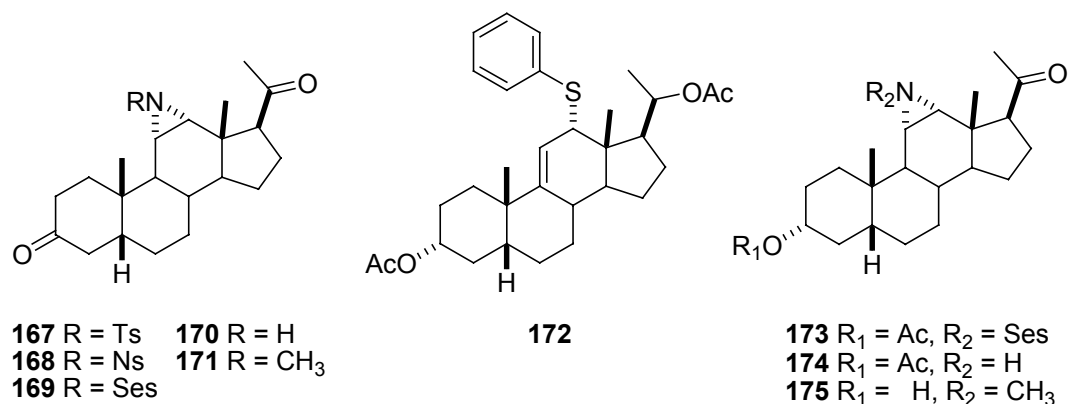


Figura 4.8

En este trabajo de tesis se aplicó la metodología desarrollada por nuestro grupo de investigación (capítulo 3), realizándose por primera vez la aziridinación intramolecular de un esteroide y la obtención de sulfamidoesteroides cíclicos por apertura del anillo de aziridina. En particular se utilizó por primera vez como nucleófilo oxigenado para la apertura acetato de cesio y se demostró que este tipo de aziridinas son estables en condiciones de Mitsunobu y básicas moderadas. A continuación se discute el trabajo realizado y los resultados obtenidos.

2. Funcionalización de C-19

Para la síntesis de aziridinoesteroides por vía intramolecular fueron necesarios intermediarios que contaran en su estructura con un hidroxilo en el carbono 19 y un doble enlace en posición Δ^5 ó Δ^2 . Para arribar a estos compuestos se debió realizar primero la funcionalización remota del carbono 19 mediante una de las metodologías existentes para realizar este proceso.

La funcionalización remota de carbonos no reactivos vía sustracción de hidrógeno por radicales alcoxilo o aminilo ha tenido un gran desarrollo en los últimos años generando numerosos trabajos de referencia (Wheless, 1995). Dentro de los métodos que generan este tipo de radicales se encuentran:

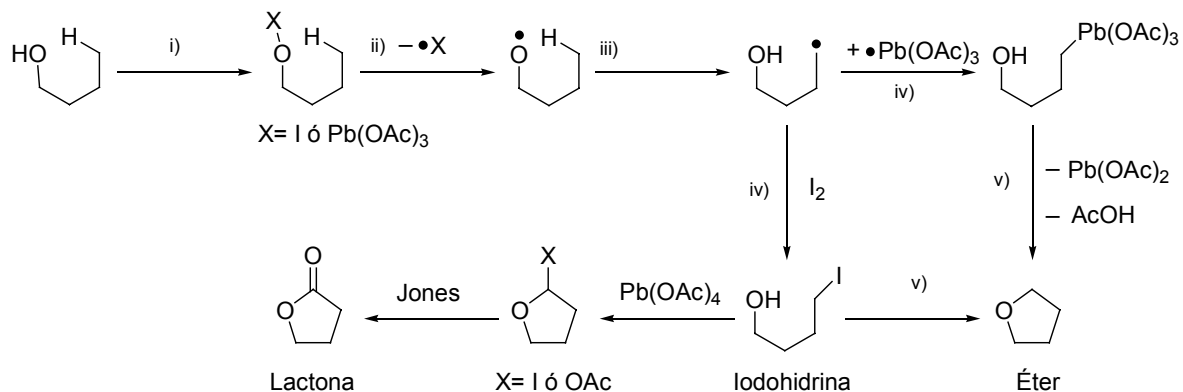
- Fotólisis de nitritos (reacción de Barton).
- Generación de hipioditos con yodo y un agente oxidante como HgO, Hg(OAc)₂, Ag(OAc)₂, Pb(OAc)₄, N-iodosuccinimida (NIS) ó diacetato de iodobenceno (DIB).
- Fotólisis de sulfenatos en presencia de hidruro de tributilestaño.

La generación de hipioditos por medio de reactivos de yodo hipervalente es el método preferido debido a sus resultados satisfactorios (ausencia de reacciones laterales) y a la baja toxicidad de los mismos y sus productos de reacción.

En el proceso de funcionalización se reconocen las siguientes etapas:

- formación de un compuesto generador de radicales alcoxilo ó aminilo,
- generación del radical propiamente dicho,
- sustracción de un hidrógeno cercano y formación del radical carbonado,
- formación del precursor para el desplazamiento nucleofílico intramolecular.
- ciclación intramolecular vía S_N2.

En el esquema 4.1 se resumen las distintas etapas de la funcionalización remota por la vía oxidativa para Pb(OAc)₄, HgO ó DIB en presencia de I₂.



Esquema 4.1 Proceso de funcionalización remota y ciclación.

El paso crucial en este proceso es la correcta sustracción intramolecular de hidrógeno, la cual está gobernada por factores geométricos (los termoquímicos

usualmente sólo determinan la factibilidad de la transferencia pero no su regioselectividad) (Denenmark, 1991). Se han descrito transferencias eficientes de átomos de hidrógeno en posiciones 1,4, 1,5, 1,6 y 1,7, pero el proceso 1,5 es por lejos el más común. Existen estudios teóricos en los cuales queda demostrado que la transferencia 1,5 de hidrógeno está más fuertemente influida por la entropía de activación de su estado de transición, que por su entalpía (Dorigo, 1987, 1990). El radical butoxilo en su estado de transición (figura 4.9) se asemeja a un anillo de cinco miembros con conformación sobre, como un ciclopentano pero con un enlace más largo (2,5 Å) entre el carbono que contiene al hidrógeno a sustraer y el oxígeno del radical alcoxilo; el enlace O-C-H presenta un ángulo de 153° muy lejano a los 109° que es lo esperado para el estado de transición silla que se asemejaría a un anillo de seis miembros. Cálculos *ab initio* han confirmado la estructura de este estado de transición.

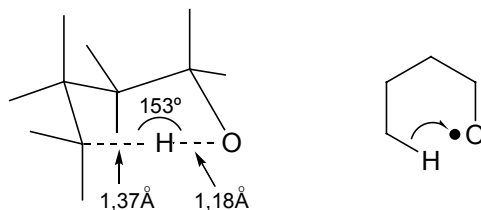


Figura 4.9 Estado de transición para la transferencia 1,5 de hidrógeno.

Pb(OAc)₄ y I₂ en presencia de radiación UV son reactivos muy eficientes para la formación de radicales alcoxilo; dependiendo de las condiciones de reacción, se pueden obtener diferentes compuestos. Si se usan cantidades estequiométricas se obtienen éteres cíclicos de 5 miembros (Ceccherelli, 1983), con exceso de reactivos y ulterior oxidación se obtienen lactonas en rendimientos del orden del 50% (Burden, 1983). También es posible aislar la iodohidrina intermediaria pero con rendimientos modestos utilizando tiempos de reacción cortos (Bogan, 1979), esquema 4.1.

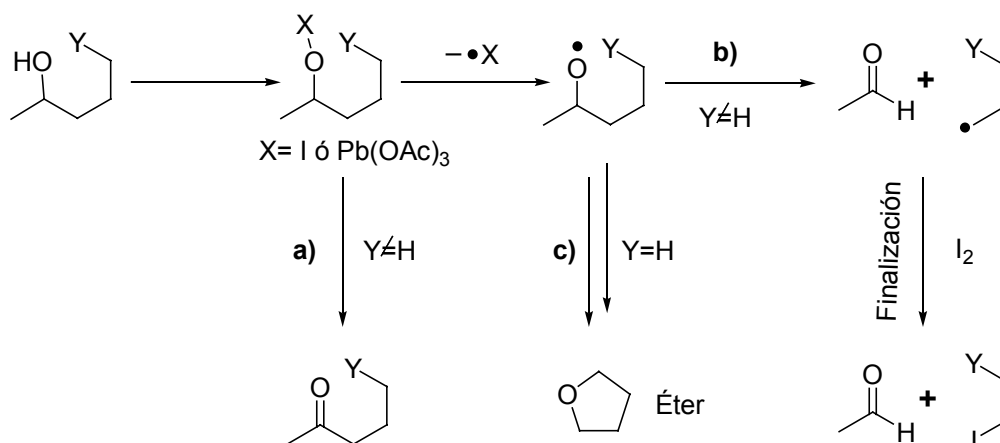
Suárez y col. (De Armas, 1989) utilizaron el diacetato de iodobenceno (DIB) en presencia de yodo para funcionalizaciones remotas, siendo esta metodología la que genera residuos menos dañinos para el medio ambiente, al no utilizar metales pesados. Recientemente Bols y col. (Madsen, 2000) desarrollaron un procedimiento para la desprotección selectiva de bencil éteres y la formación de acetales con N-iodosuccinimida (NIS).

Con reactivos de mercurio (II) como el óxido de mercurio (HgO) o el acetato de mercurio (Hg(OAc)₂) los resultados son similares a los obtenidos con reactivos de plomo;

junto con éstos presentan las reacciones laterales algunas de las cuales se usaron como base para la síntesis de secoesteroides y oxa (Nicoletti, 1995, 1996), tia (capítulo 6) y aza neuroesteroides.

Las reacciones competitivas a la formación del éter cíclico son la oxidación del alcohol (a) y la β -eliminación (b), esquema 4.2. Estas reacciones están favorecidas cuando la sustracción de hidrógeno está dificultada por factores estéricos, cuando el radical alcoxilo y el hidrógeno no llegan a la distancia mínima indispensable de 2,0 Å (2,9 ó 3,0 Å para C-O) y en los casos en que no hay hidrógenos en posición δ para la sustracción (Brachet-Cota, 1991; Burke, 1988).

Otra reacción lateral es la sustracción de hidrógenos del disolvente, para evitarlo se utilizan solventes que carecen de hidrógenos como CCl₄ ó con hidrógenos poco reactivos como benceno ó CH₂Cl₂.



a) Oxidación; b) β -eliminación; c) Formación de éter cíclico.

Esquema 4.2 Formación del éter cíclico y sus reacciones laterales.

Debido a la rigidez estructural de los pregnanos, los carbonos neopentílicos (C-18 y C-19) son blancos adecuados para las reacciones de funcionalización remota. En el caso del metilo angular del carbono 10 que es objeto de nuestro interés, puede ser funcionalizado desde varias posiciones que están estéricamente favorecidas, como los β -alcoholes de las posiciones 2, 4, 6, 8, y 11, las cuales se encuentran en relación 1,3 diaxial (figura 4.10).

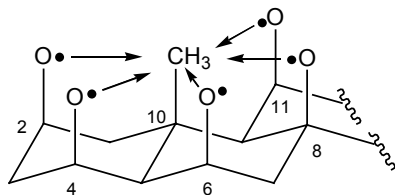
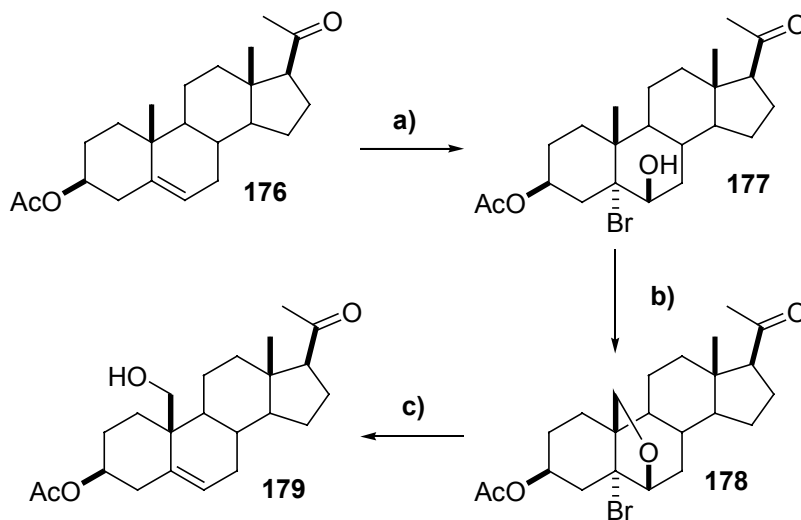


Figura 4.10 Radicales alcoxi en posición 1,3 diaxial con respecto al carbono 19.

3. Síntesis del precursor para la aziridinación

3.1 Síntesis del intermediario 179

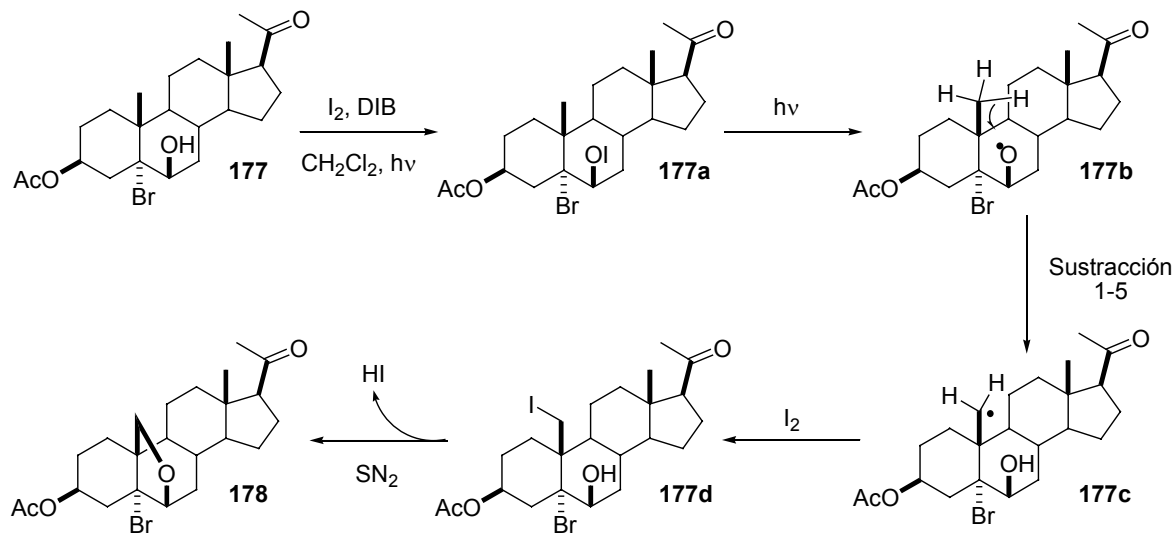
Para aplicar la metodología de aziridinación en Δ^5 -pregnanos se realizó la síntesis del intermediario **179** en tres etapas a partir de acetato de pregnenolona **176** (Joselevich, 2003; Eduardo, 2003), esquema 4.3.



a) NBA, Éter:THF, 0°C; b) I₂, DIB, CH₂Cl₂, hv; c) Zn, AcOH, iPrOH reflujo.

Esquema 4.3 Síntesis en tres etapas del precursor **179**.

Para la funcionalización del carbono 19 se utilizó DIB en presencia de I₂ disuelto en CH₂Cl₂ e irradiación con una lámpara de tungsteno de 300W de potencia (5000 lúmenes). El mecanismo de la transformación del compuesto **177** al **178** se presenta en el esquema 4.4.

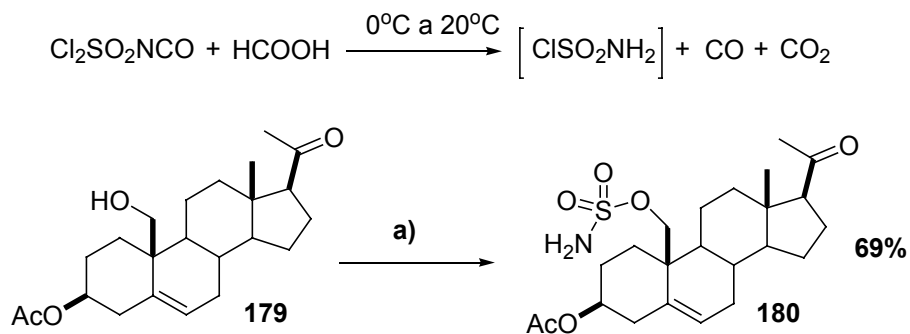


Esquema 4.4 Mecanismo de la formación de **178**.

La apertura del éter cíclico **178** se realizó con Zn en isopropanol anhidro, en presencia de ácido acético obteniéndose el precursor deseado **179**, con 50% de rendimiento desde acetato de pregnenolona (**176**).

3.2 Síntesis del sulfamidato precursor **180**

Del esteroide **179** con la funcionalización adecuada, se procedió a la síntesis del sulfamidato necesario para realizar la aziridinación intramolecular. La reacción de sulfamidación se realizó en condiciones similares a las descritas previamente (capítulo 3), utilizando dos equivalentes de cloruro de sulfamoilo, generado *in situ*, en DMA de 0°C a 20°C durante tres horas (esquema 4.5).



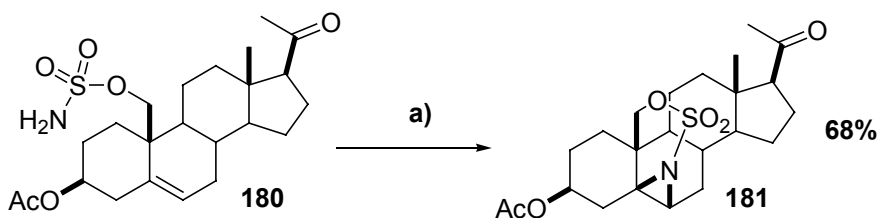
a) ClSO_2NH_2 , DMA, 0°C a 20°C, 3 hs.

Esquema 4.5 Síntesis del sulfamidato **180**.

En los primeros ensayos, el producto de la reacción se purificó en silica gel con rendimientos del orden del 45 al 50 %, cuando se cambió a Florisil como fase estacionaria el rendimiento subió al 69% recuperando el 10% de material de partida. La formación del sulfamidato se confirmó a partir de los espectros de RMN ^1H , ^{13}C y masa.

4. Síntesis del aziridinoesteroide 181

Un vez obtenido el compuesto **180** se lo sometió a las condiciones de aziridinación intramolecular desarrolladas en conjunto con el grupo del Dr. Dodd (capítulo 3). Para que la reacción concluyera se aumentó la cantidad de iodosilbenceno a 3 equivalentes y del complejo de cobre al 20%, esquema 4.6. Se corroboró la obtención del compuesto buscado mediante espectroscopía de RMN ^1H y ^{13}C mono y bidimensional. Los resultados se presentan en la tabla 4.1.



a) PhI=O, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$, CH_3CN , N_2 , 20°C , 20 hs.

Esquema 4.6 Síntesis del sulfamidato **181**.

Al comparar el espectro de RMN ^1H de **181** con el de **180** se observó la desaparición de la señal del hidrógeno en posición 6, a 5,67 ppm y la aparición de una señal de hidrógeno unido a carbono de sulfamidoaziridina a 2,62 ppm como un doblete de 6,1 Hz; el protón de la posición 3α se desplazó de 4,64 ppm a 5,12 ppm y los hidrógenos de posición 19 de 4,15 y 4,33 ppm a 4,31 y 4,68 ppm respectivamente. Es notoria también la aparición del hidrógeno de 7β a campos más bajos, 2,53 ppm, debido a la influencia de los ciclos formados en 6-19 sobre la cara β , figura 4.11.

Tabla 4.1 Asignación de espectros de RMN-¹H y ¹³C del compuesto **181**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	¹ H					
		α			β		
		δ [ppm]	m, J [Hz]	δ [ppm]	m, J [Hz]	δ [ppm]	m, J [Hz]
1	26,0	1,50	---	---	---	1,67	---
2	25,0	2,27	---	---	---	1,67	---
3	66,8	5,12	m	---	---	---	---
4	35,6	2,01*	dd, 14,9; 4,3	---	---	1,82*	dd, 14,9; 5,4
5	52,9	---	---	---	---	---	---
6	45,8	2,62	d, 6,1	---	---	---	---
7	24,2	1,55	---	---	---	2,53	dd, 16,3; 7,2
8	30,5	---	---	---	m	2,01	---
9	46,1	1,03	---	---	m	---	---
10	31,9	---	---	---	---	---	---
11	20,9	1,45	---	---	---	1,64	---
12	38,3	1,45	---	---	---	2,13	---
13	44,1	---	---	---	---	---	---
14	58,6	1,03	---	---	m	---	---
15	23,7	1,72	---	---	---	1,30	---
16	22,9	1,72	---	---	---	2,17	---
17	63,2	2,48	---	---	t, 9,1	---	---
18	13,4	---	---	0,66	s	---	---
19	72,8	4,31 ^(a)	d, 12,3	---	---	4,68 ^(b)	dd, 12,3; 1,1
20	209,7	---	---	---	---	---	---
21	31,2	---	---	2,12	s	---	---
CH₃CO₂	21,1	---	---	2,12	s	---	---
CH₃CO₂	171,5	---	---	---	---	---	---

* Asignaciones intercambiables

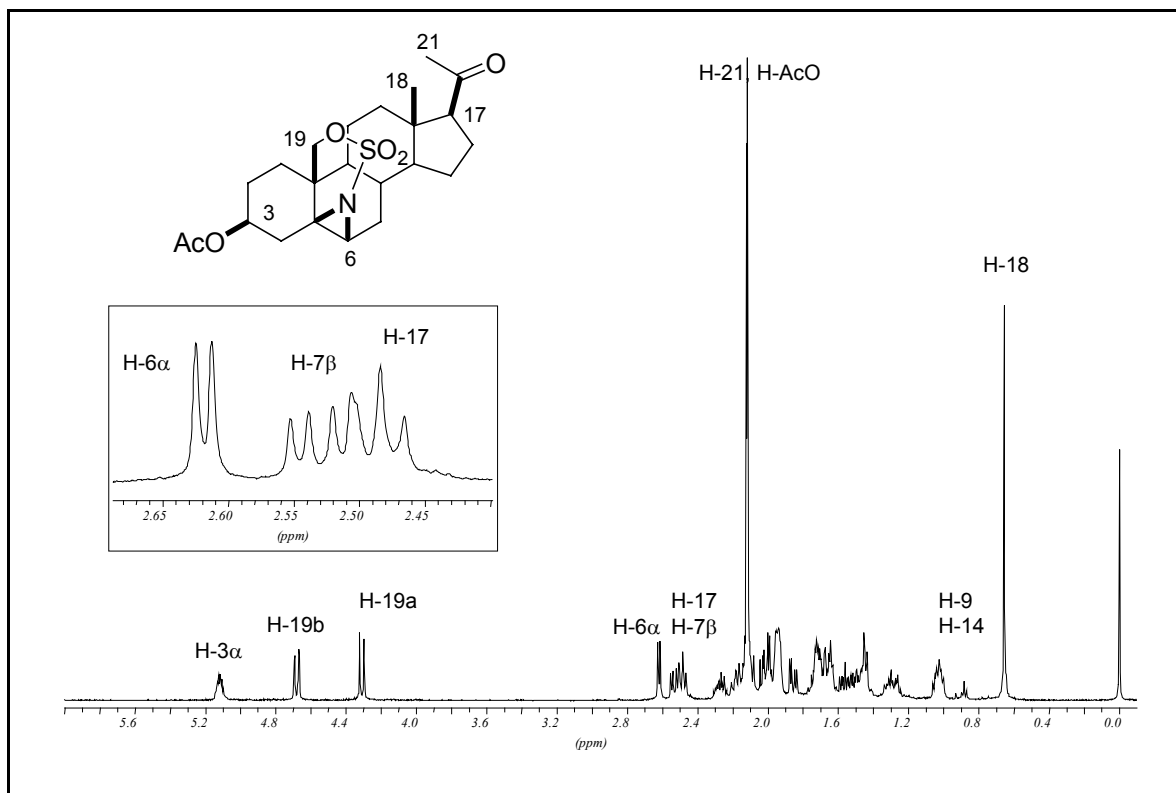


Figura 4.11. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **181**.

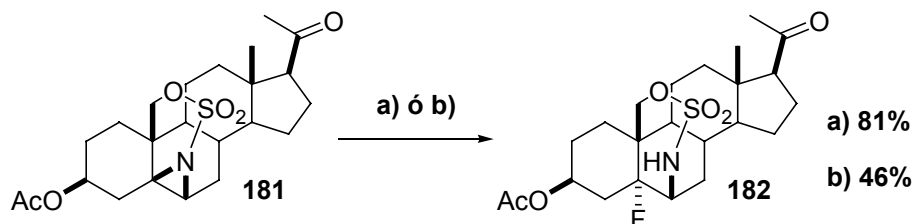
Al analizar el espectro de RMN ^{13}C se observó la ausencia de las señales de los carbonos del doble enlace a δ 133,6 (C-5) y 127,5 (C-6) de **180** y la presencia de dos señales de carbonos de aziridina protegida en δ 52,9 (C-5) y 45,8 (C-6) respectivamente para **181**. La espectrometría de masa se ajustó al resultado esperado, observándose en el análisis por EI un m/z 451 (1,5%) para M^+ y en ES un m/z 474 (100%) para $\text{M}+\text{Na}^+$.

5. Aperturas nucleofílicas del compuesto 181

Se realizaron aperturas del aziridino esteroide **181** con nucleófilos fluorados, carbonados y oxigenados obteniéndose resultados satisfactorios en todos los casos. Éstos ensayos fueron realizados como complemento de la metodología presentada en el capítulo 3.

5.1 Apertura nucleofílica con fluoruro

Sabiendo que los esteroides que contienen flúor en su estructura tienen una mejor solubilidad en medios acuosos y como complemento del desarrollo de la metodología detallada en el capítulo 3, se decidió realizar ensayos de apertura del compuesto **181** con ión fluoruro mediante dos técnicas diferentes. Utilizando fluoruro de tetrabutil amonio (TBAF) en THF anhidro bajo atmósfera de nitrógeno se obtuvo **182** con un rendimiento de 81% luego de su purificación por silica gel. Al utilizar fluoruro de cesio (previamente secado) en DMF anhidra a 100°C bajo atmósfera de nitrógeno, el rendimiento fue de sólo 46%, esquema 4.7.



a) TBAF, THF, N₂, 20°C, 6 hs; b) CsF, DMF, N₂, 100°C, 6 hs.

Esquema 4.7 Apertura con fluoruro de **181**.

Cuando se analizó el espectro de RMN ¹H del compuesto **182**, se observaron varias señales características: a 3,31 ppm la del hidrógeno 6 β (dd ancho, J_{H-H} de 4,3 Hz) y la señal del protón del NH a 4,80 ppm también como doblete con una constante de acoplamiento H-H de 4,6 Hz. Se observan también los corrimientos de las señales de los hidrógenos de C-19 a 4,27 y 4,65 ppm por apertura del anillo de aziridina, figura 4.12. En el espectro de RMN ¹³C se observó la aparición de un carbono cuaternario unido a flúor a 97,0 ppm, correspondiente a C-5 que presentó una J_{C-F} de 176,3 Hz, también se observaron los acoplamientos a dos y tres enlaces del flúor en C-5 con los carbonos de posiciones 3, 4, 6, 9, 10 y 19 (tabla 4.2). También se observó que la señal de C-6 pasó de 45,8 ppm en el compuesto **181** a 56,7 ppm en el compuesto fluorado, debido a reducción de la tensión por apertura del anillo de aziridina. Como experimentos adicionales para la confirmación de la asignación de los protones se realizaron experimentos de correlación COSY-45 y HETCOR.

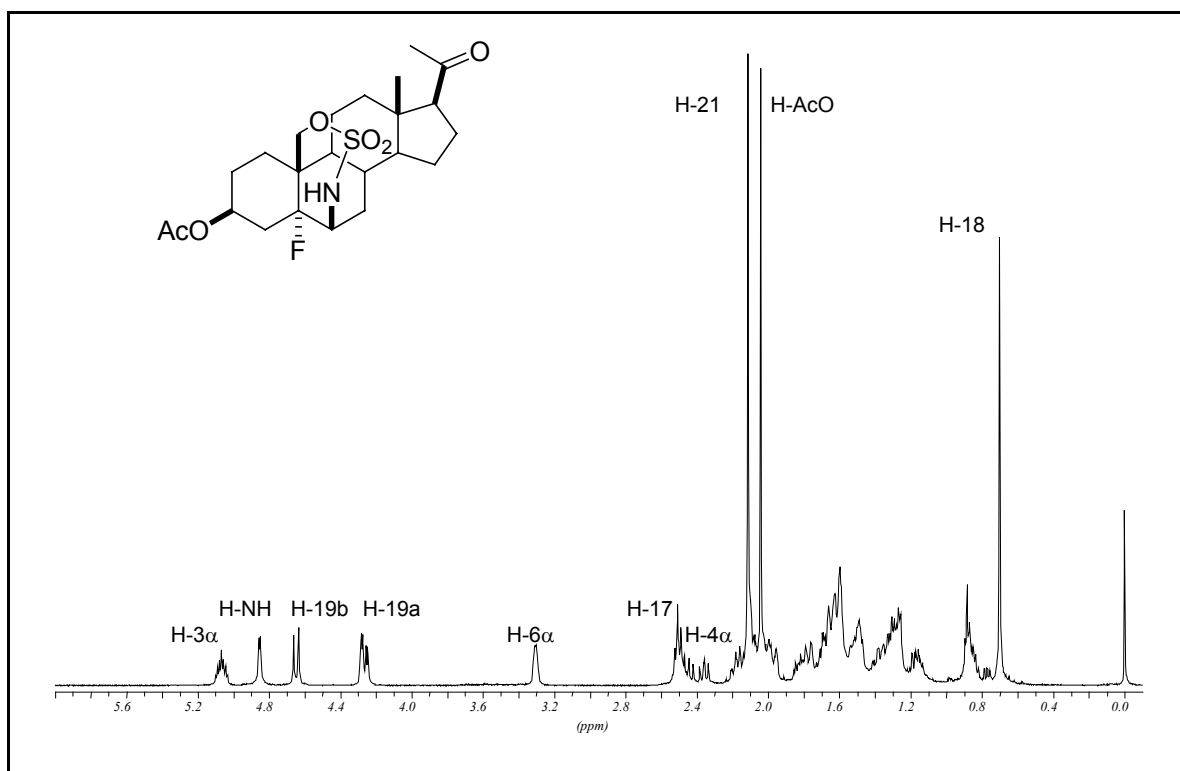


Figura 4.12. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **182**.

Se realizó además una irradiación selectiva del hidrógeno atribuido a la posición 6 y se observó el desacople del protón perteneciente al NH del sulfamidato, pasando de un doblete a singulete, figura 4.13.

Tabla 4.2 Desplazamientos químicos y $J_{\text{C-F}}$ de ^{13}C acoplados a ^{19}F en el compuesto **182**

Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$J_{\text{C-F}}$ [Hz]
3	69,0	3,4
4	35,9	22,0
5	97,0	176,3
6	56,7	32,2
9	46,3	3,4
10	42,3	19,5
19	71,9	5,9

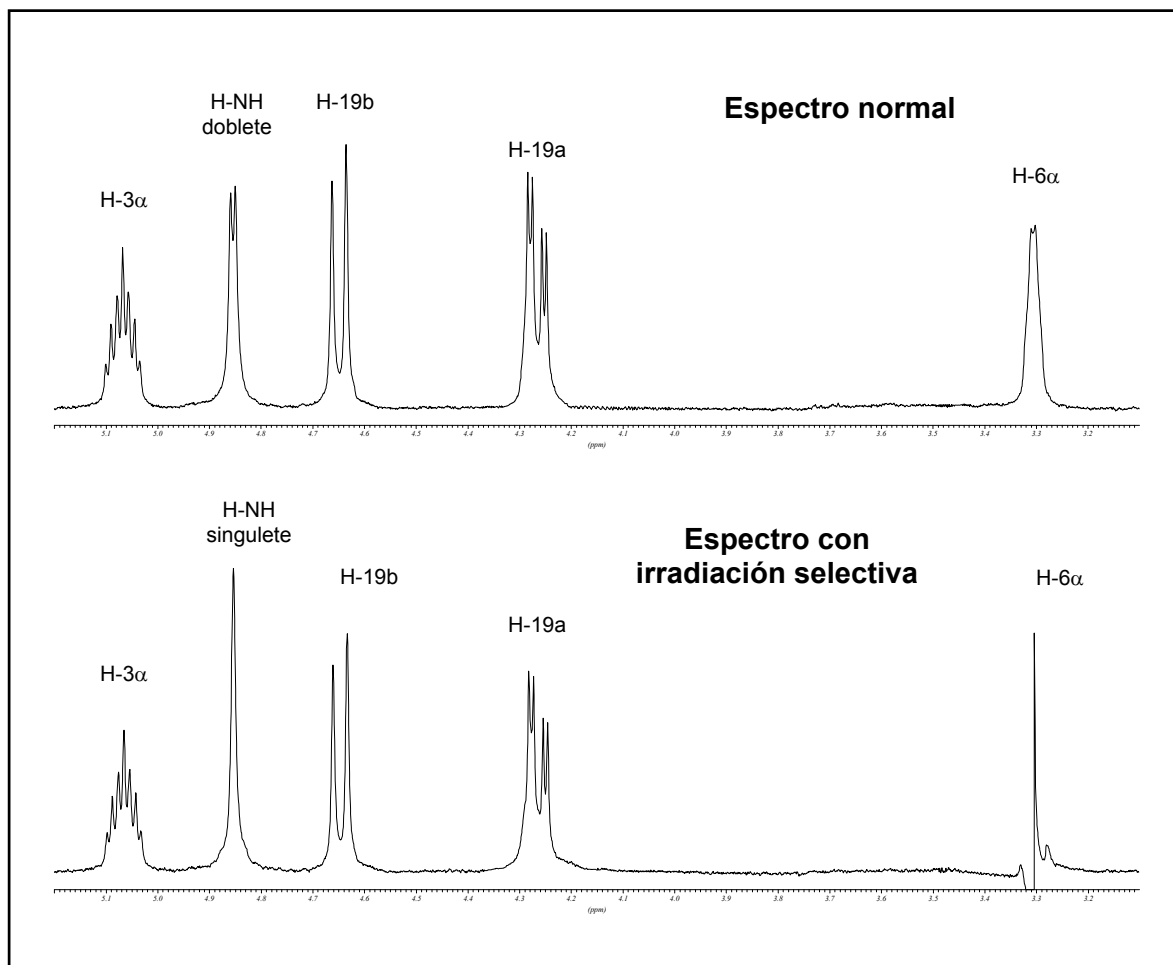
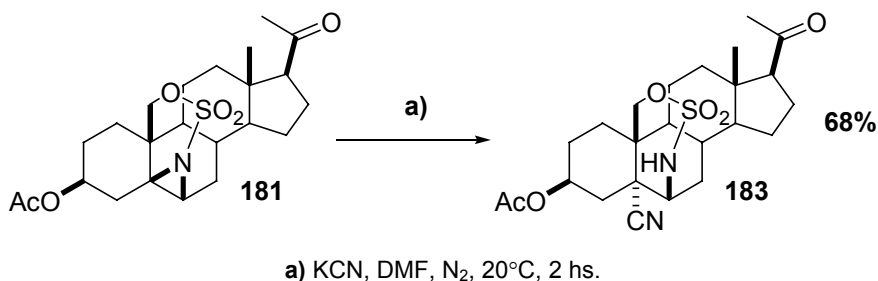


Figura 4.13 Irradiación selectiva de H-6 en el espectro de RMN ^1H (500 MHz) de **182**.

Se midió también el espectro de RMN ^{19}F obteniéndose un doblete ancho a $-157,48$ ppm con una constante de acoplamiento H-F de 41,7 Hz. Confirmaron la apertura y adición de flúor a la molécula los experimentos de espectrometría de masa, donde en IE se obtuvo un ión de m/z 471 (4,5%) para M^+ y en ES m/z 494 (100 %) para $\text{M}+\text{Na}^+$. De esta forma se pudo concluir que la metodología desarrollada es también útil para la síntesis de fluoroamino derivados. Siendo el flúor isómero de hidrógeno, los derivados 5 α -fluorados como **182** son isómeros de 5 α -H pregnanos y en consecuencia precursores de análogos de allopregnanolona.

5.2 Apertura nucleofílica con cianuro

Inspirados por el resultado positivo con flúor, se ensayó la apertura del anillo aziridínico de **181** con un nucleófilo carbonado como el cianuro. La misma se realizó en condiciones estándar de apertura con cianuro de potasio en DMF a temperatura ambiente, obteniéndose el 5 α -ciano derivado **183**, con idéntica regioquímica de apertura que **182** y un 68% de rendimiento luego de su purificación por columna de silica gel (esquema 4.8).



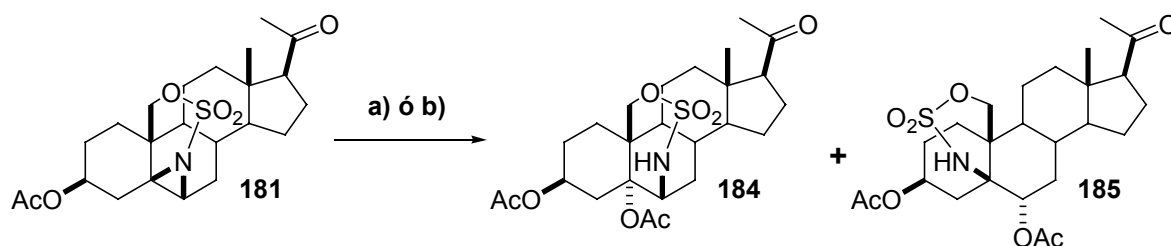
Esquema 4.8 Apertura con cianuro de **181**.

El éxito de la reacción de apertura de la aziridina en posición 5 α , se confirmó realizando experimentos de RMN ¹H, ¹³C y de espectrometría de masa. La asignación de las señales de los espectros de RMN ¹H y ¹³C del compuesto **183**, se muestran en el apéndice A de tablas. Como señales diagnósticas en el espectro de RMN ¹³C del compuesto **183**, se observaron la del carbono de CN a 120,1 ppm, la señal del carbono 6 unido al nitrógeno a 55,6 ppm y la señal del carbono cuaternario C-5 a 48,9 ppm. Cuando se realizaron los experimentos de espectrometría de masa los resultados confirmaron la apertura con cianuro, en EI se obtuvo un ión de *m/z* 478 (2,7%) para M⁺ y en ES *m/z* 501 (100 %) para M+Na⁺.

Este resultado también corrobora la aptitud de la metodología de aziridinación para las aperturas con nucleófilos carbonados como el cianuro, siendo de utilidad para su posterior conversión en β -amino ácidos. Nótese la diferencia en la reactividad de la sulfamido aziridina esteroideal **181** comparada con sus análogos más sencillos del capítulo 3 (pág. 66).

5.3 Apertura nucleofílica con acetato

Como paso siguiente al trabajo de apertura nucleofílica se decidió utilizar el ión acetato como su sal de cesio. Al no haber bibliografía sobre la utilización de acetato de cesio como reactivo para la apertura de aziridinas, se ensayo primero la apertura a altas temperaturas, como está descrito en bibliografía cuando se lo usa para sustituciones nucleofílicas. Al realizar esta experiencia a 100°C, se observó que reaccionaba en 15 minutos obteniendo, dentro de una mezcla compleja, los compuestos **184** y **185** en relación 1 a 3 (esquema 4.9).



a) CsAcO, DMF, N₂, 20°C, 6 hs; b) CsAcO, DMF, N₂, 100°C, 15 min.

Esquema 4.9 Apertura con acetato de **181**.

Al analizar los espectros de RMN de ¹H y ¹³C (mono y bidimensionales) y de masa de los compuestos **184** y **185**, se confirmó que eran isómeros, ya que diferían en la posición del acetato (5 en **184** y 6 en **185**) y la ubicación de la cabeza de puente en el extremo donde se encuentra el NH (6 en **184** y 5 en **185**).

En el compuesto **184** el espectro de RMN ¹H presenta señales para el hidrógeno del NH a 4,90 ppm (d, J= 5,3 Hz), el de 3α a 4,78 ppm, el protón de 6α a 4,44 ppm (m), el protón desplazado de 8β a 2,60 ppm y como señal de confirmación de la adición de acetato, la aparición los hidrógenos del metilo de acetato a 2,13 ppm correspondiente a la posición 5, (figura 4.14).

En el espectro de RMN ¹³C se observaron como señales importantes la correspondiente al carbono no protonado de C-5 unido a oxígeno a 86,0 ppm y la del metino C-6 a 52,0 ppm unido al nitrógeno de sulfamido (ver apéndice A de tablas).

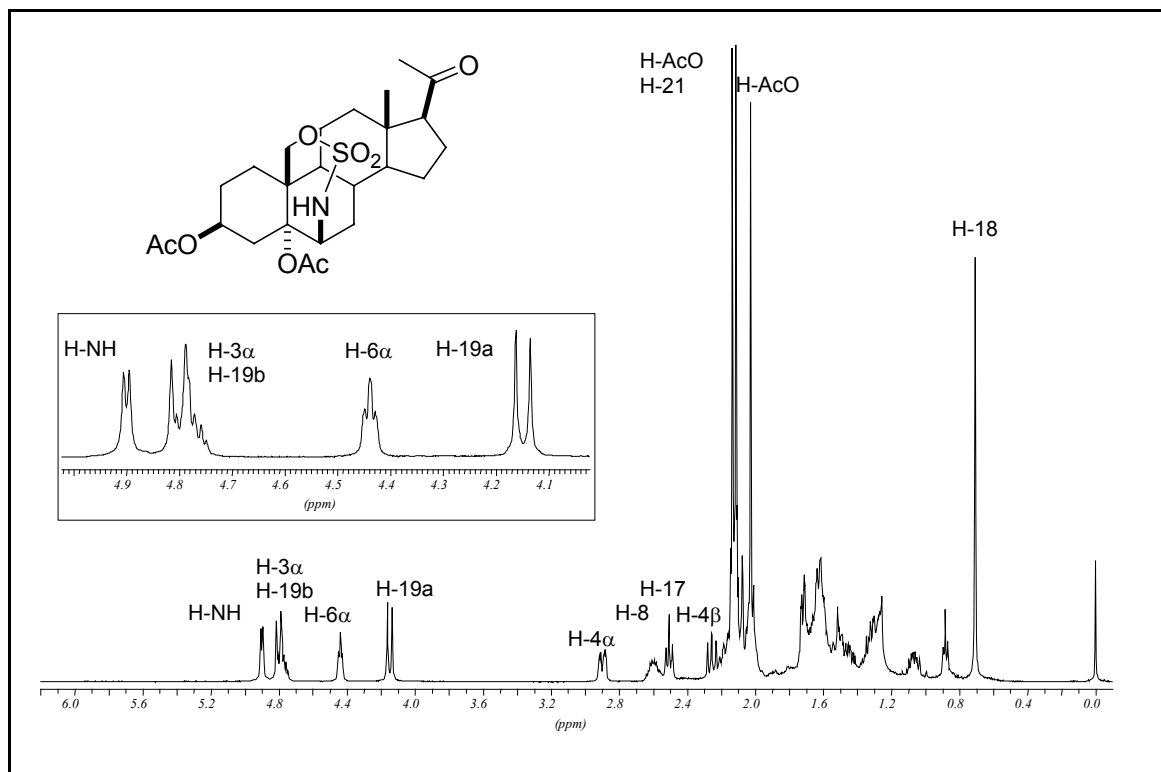


Figura 4.14 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **184**.

Para el compuesto **185** en el espectro de RMN ^1H se observaron las señales de hidrógeno de posición 6 β a 5,97 ppm (dd, $J = 12,1, 5,0$ Hz), del hidrógeno de NH a 5,47 ppm (s) y una señal como multiplete agudo para 3 α -H que evidencia la fusión *cis* de los anillos A y B. Otras señal importante es la del protón en posición 1 β que cambia mucho su desplazamiento debido a la influencia del anillo de sulfamido que ahora se encuentra sobre él (figura 4.15). En el espectro de RMN ^{13}C como señales distintivas se observaron la del carbono no protonado de posición 5 a δ 63,5 (unido a nitrógeno) y la del metino de posición 6 a δ 69,5. La asignación completa de carbonos e hidrógenos se encuentra en el apéndice A de tablas.

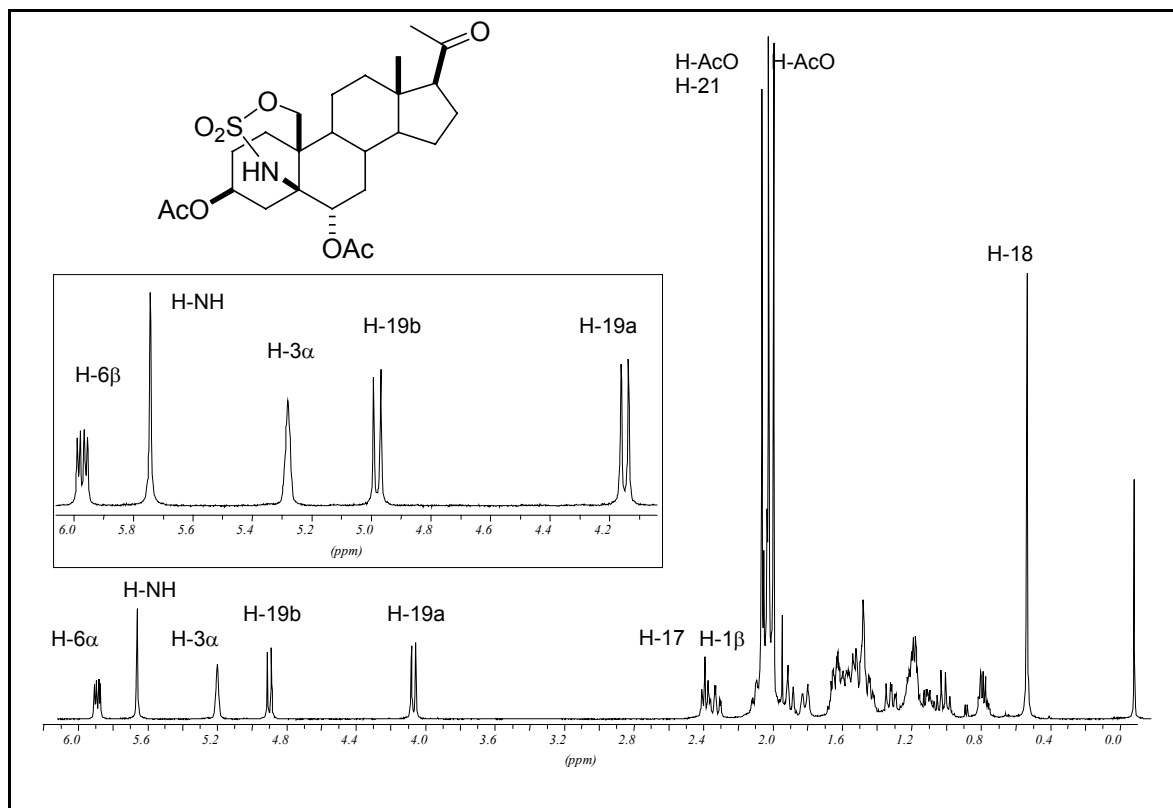


Figura 4.15 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **185**.

Teniendo en cuenta que la apertura de las aziridinas es similar a la de los epóxidos, de forma *trans diaxial*, por el tipo de conformación del aziridino esteroide **181** el único isómero posible para la apertura de la aziridina es el compuesto **184**, en donde encontramos al nucleófilo y al nitrógeno del sulfamidato axiales.

La obtención del isómero **185** a partir de **184**, sólo se puede explicar mediante un reordenamiento del acetato en posición 6 α y el NH en posición 5 β . Se sabe que los hidrógenos de sulfamidato presentan un importante carácter ácido (Posakony, 2002a, 2002b) haciéndolos sustratos útiles para alquilaciones vía halogenuros de alquilo en medio básico ó vía reacción de Mitsunobu con alcoholes de diferente estructura. Estas propiedades fueron explotadas para la síntesis de análogos de 2,19-sulfamido esteroides (ver capítulo 5).

Teniendo en cuenta estos antecedentes en sulfamidatos, el mecanismo probable para el reordenamiento comenzaría con la desprotonación del nitrógeno del sulfamidato por catálisis básica quedando el anión sulfamidato en posición adecuada para realizar una $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular oficiando el acetato como grupo saliente. El mismo acetato mediante el

oxígeno de su carbonilo puede atacar la posición 6 del sulfamidato, figura 4.16. El producto resultante no puede volver a reordenarse debido a que ahora los sustituyentes no se encuentran en una geometría que favorezca este tipo de reacción, ya que el NH tiene orientación ecuatorial con respecto al anillo B, al igual que el acetato en posición 6.

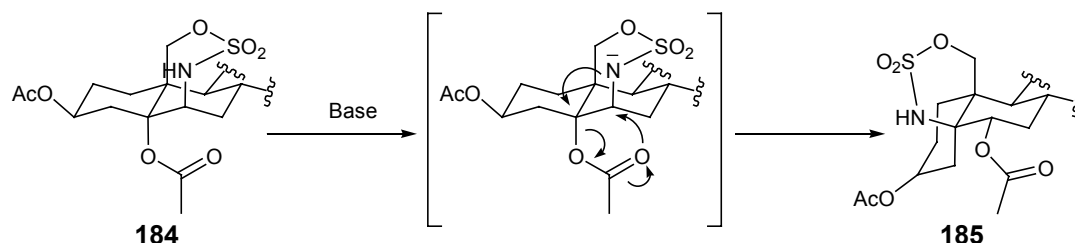
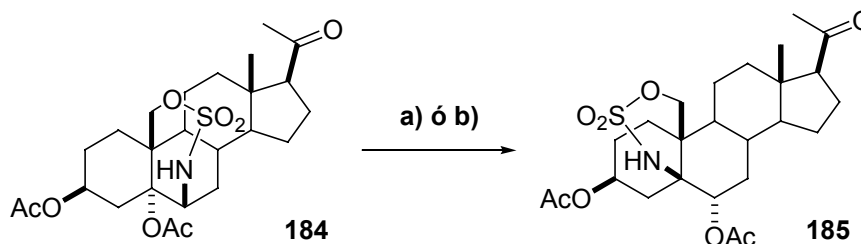


Figura 4.16 Mecanismo propuesto para el reordenamiento del compuesto **185**.

Para corroborar la hipótesis planteada se sometió a **184** a las condiciones de apertura de aziridina a 100°C en presencia de 5 y 0,2 de equivalentes de acetato de cesio, obteniendo **185** como único producto en ambos casos (esquema 4.10).



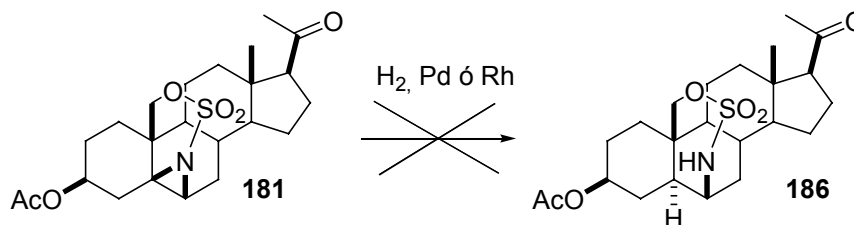
a) CsAcO 5 equiv., DMF, N₂, 100°C, 20 min; b) CsAcO 0,2 equiv., DMF, N₂, 100°C, 20 min.

Esquema 4.10 Reordenamiento de **185** con catálisis básica.

Como trabajo complementario se realizó el modelado molecular y el cálculo de estados de mínima energía de los compuestos **184** y **185**, tanto por métodos semiempíricos (AM1) como *ab initio*. En el caso de **184** la estructura de mínima energía tiene un ΔH_f de -352,29 Kcal/mol mientras que para **185** el ΔH_f es de -360,05 Kcal/mol, es decir -7,76 Kcal/mol más estable. Con los resultados experimentales obtenidos más la información adquirida por modelado molecular se puede afirmar que el compuesto **184** es el producto de reacción cinético y el compuesto **185** es el termodinámicamente más estable, sólo accesible por el reordenamiento de la figura 4.16. El detalle de los cálculos se muestra en el apéndice B.

5.4 Apertura por hidrogenación

Se realizaron ensayos de hidrogenación para intentar la apertura reductiva del anillo de aziridina (compuesto **186**), tanto a presión atmosférica como a 4 bar y con distintos catalizadores (Pd y Rh), no obteniéndose resultados satisfactorios. Este hecho aumenta la importancia del compuesto fluorado **182**, isómero de **186**.



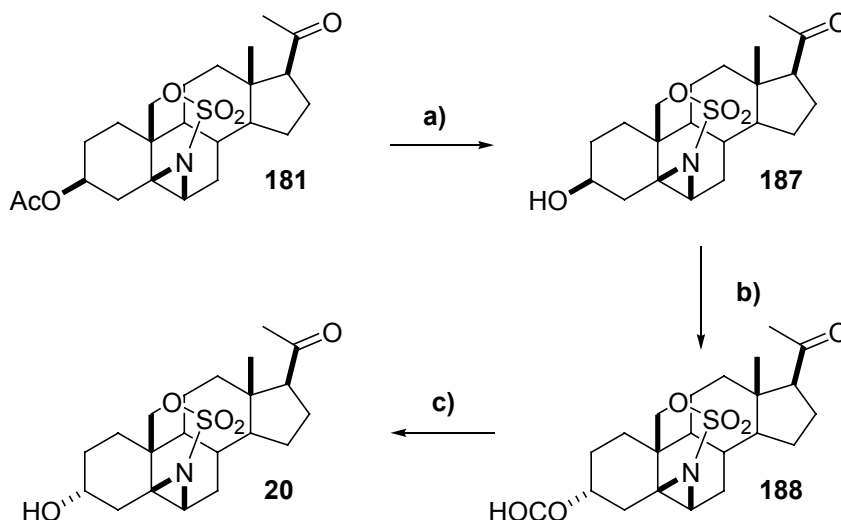
Esquema 4.11 Ensayos de hidrogenación sobre **181**.

6. Síntesis del aziridinoneuroesteroide 20

Dentro de los objetivos de esta tesis doctoral se encuentra la síntesis de esteroides neuroactivos, análogos de allopregnanolona. Con este blanco y con el éxito en la síntesis de **181**, se decidió sintetizar el análogo **20**, que cuenta en su estructura con el anillo de aziridina en 5 β ,6 β y unida a la posición 19 por un puente sulfamido. Para arribar a un análogo de allopregnanolona sólo bastaba con epimerizar el hidroxilo en posición 3 de **181** de β a α , formando un compuesto con mayor polaridad y mayor rigidez que el esteroide natural. Para realizar la epimerización en C-3 se eligió la reacción Mitsunobu, a pesar de no encontrarse antecedentes con respecto a la reactividad de las aziridinas bajo estas condiciones.

El primer paso fue la desprotección del acetato de posición 3 sin provocar la apertura del anillo aziridínico, esto se pudo realizar sin inconvenientes trabajando a bajas temperaturas con carbonato de potasio en metanol y tiempos cortos, obteniendo el aziridino alcohol **187**, con un rendimiento de 90% (esquema 4.12). El siguiente paso fue la reacción de Mitsunobu propiamente dicha, para la misma se buscó un ácido que generase un éster fácilmente hidrolizable como es el caso del ácido fórmico, obteniéndose el 3 α -formiloxi derivado **188** con un 83% de rendimiento. Finalmente se realizó la hidrólisis del formiato sin observar reacciones de apertura nucleofílica de la aziridina, en presencia de

hidróxido de potasio acuoso en acetonitrilo, obteniéndose el producto buscado con un rendimiento de 93%.



a) K_2CO_3 , MeOH, 0°C, 90%; b) Ph_3P , HCO_2H , DEAD, 83%; c) KOH, acetonitrilo, 0°C, 93%.

Esquema 4.12 Síntesis del neuroesteroide **20**.

El seguimiento de las reacciones para la síntesis de los intermediarios **187** y **188** se realizó por RMN 1H y ^{13}C . El compuesto **20** se caracterizó por RMN- 1H y ^{13}C (mono y bidimensional) y espectrometría de masa confirmando la estructura propuesta. La asignación completa de los hidrógenos y los carbonos se encuentra en la tabla 4.3 y su espectro de RMN 1H se muestra en la figura 4.17. Los resultados de espectrometría de masa confirmaron la estructura sintetizada en ES dando un ión de m/z 432 para $M+Na^+$.

Tabla 4.3 Asignación de espectros de RMN-¹H y ¹³C del compuesto **20**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	¹ H					
		α			β		
	δ [ppm]	m, J [Hz]	δ [ppm]	m, J [Hz]	δ [ppm]	m, J [Hz]	
1	26,0	1,39	---	---	---	1,71	---
2	27,8	2,17	---	---	---	1,66	---
3	63,6	---	---	---	---	4,38	m
4	39,6	1,88*	dd, 14, 1; 7, 6	---	---	1,82*	dd, 14, 1; 5, 2
5	54,5	---	---	---	---	---	---
6	47,6	2,69	d, 6, 6	---	---	---	---
7	23,9	1,62	---	---	---	2,51	dd, 16, 4; 7, 5
8	30,7	---	---	---	m	1,94	---
9	44,9	1,22	---	---	m	---	---
10	31,7	---	---	---	---	---	---
11	20,9	1,41	---	---	---	1,65	---
12	38,3	1,47	---	---	---	2,10	---
13	44,1	---	---	---	---	---	---
14	58,5	1,08	---	---	m	---	---
15	23,8	1,73	---	---	---	1,30	---
16	22,9	1,72	---	---	---	2,18	---
17	63,2	2,48	---	---	t, 10, 0	---	---
18	13,5	---	---	0,65	s	---	---
19	73,2	4,29*	dd, 12, 5; 1, 1	---	---	4,41*	d, 12, 5
20	209,8	---	---	---	---	---	---
21	31,3	---	---	2,12	s	---	---

* Asignaciones intercambiables

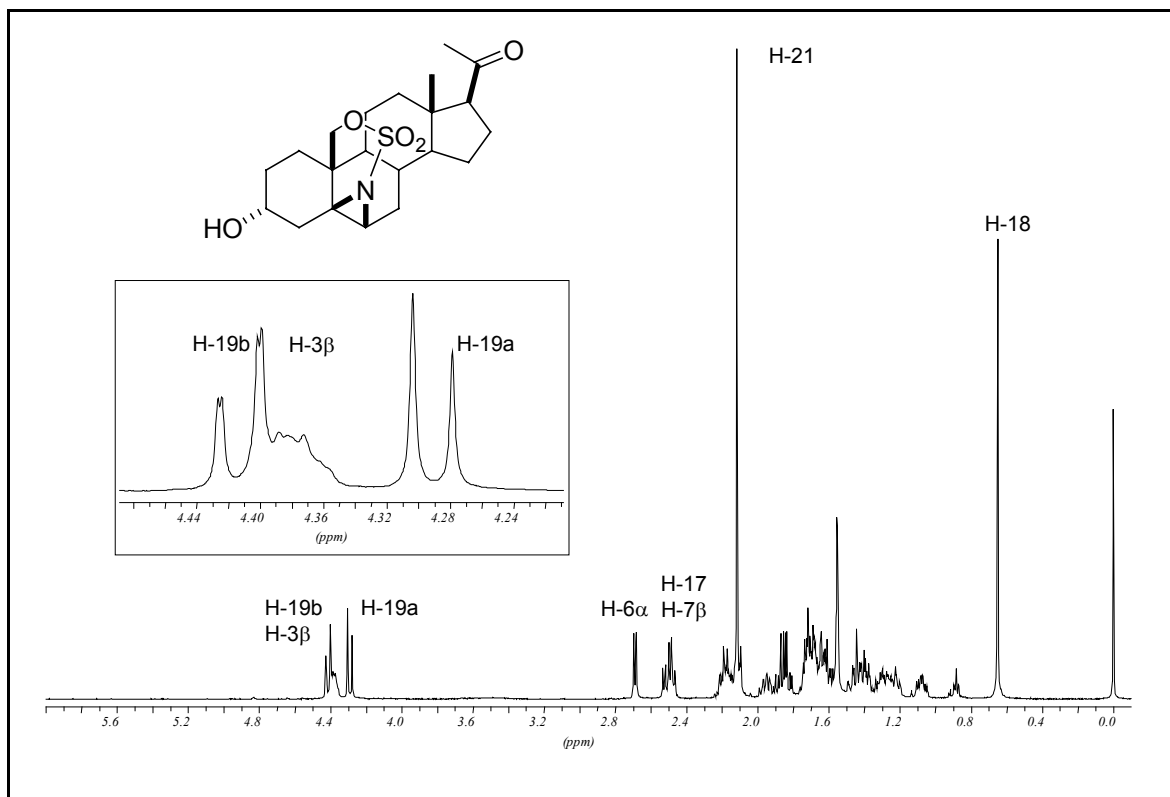


Figura 4.17 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **20**.

7. Doble sustitución sobre derivados de 183

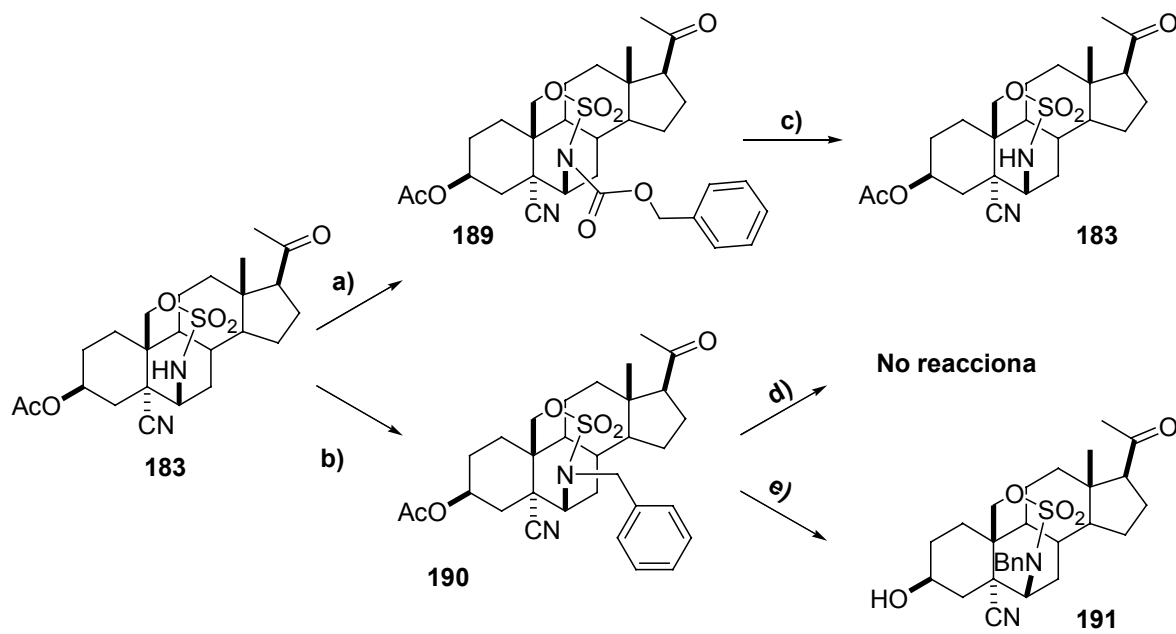
Habiendo demostrado la factibilidad de la doble sustitución en el desarrollo de la metodología (capítulo 3), resultó de gran interés la posibilidad de realizarlo en esteroides en el carbono 19, ya que los compuestos que presentan sustitución en el mismo son utilizados como sustratos suicidas en casos de cáncer asociados a hormonas.

Para realizar estos experimentos se trabajó con el compuesto **183**, previamente sustituido con un grupo activante para favorecer la sustitución. El primer derivado estudiado fue el protegido con carbobenzoxi (Cbz) **189**, que ya se había utilizado en el desarrollo de la metodología (capítulo 3, pág. 66). Al tratarlo con cianuro del potasio en DMF a temperatura ambiente no se observaron cambios y al calentar a 50°C se obtuvo el producto **183** nuevamente (esquema 4.13).

Para carbonos neopentílicos el grupo de Tweson (Posakony, 2002a) utilizó bencilo como grupo activante para sustitución en sulfamidatos. Para realizar la sustitución del

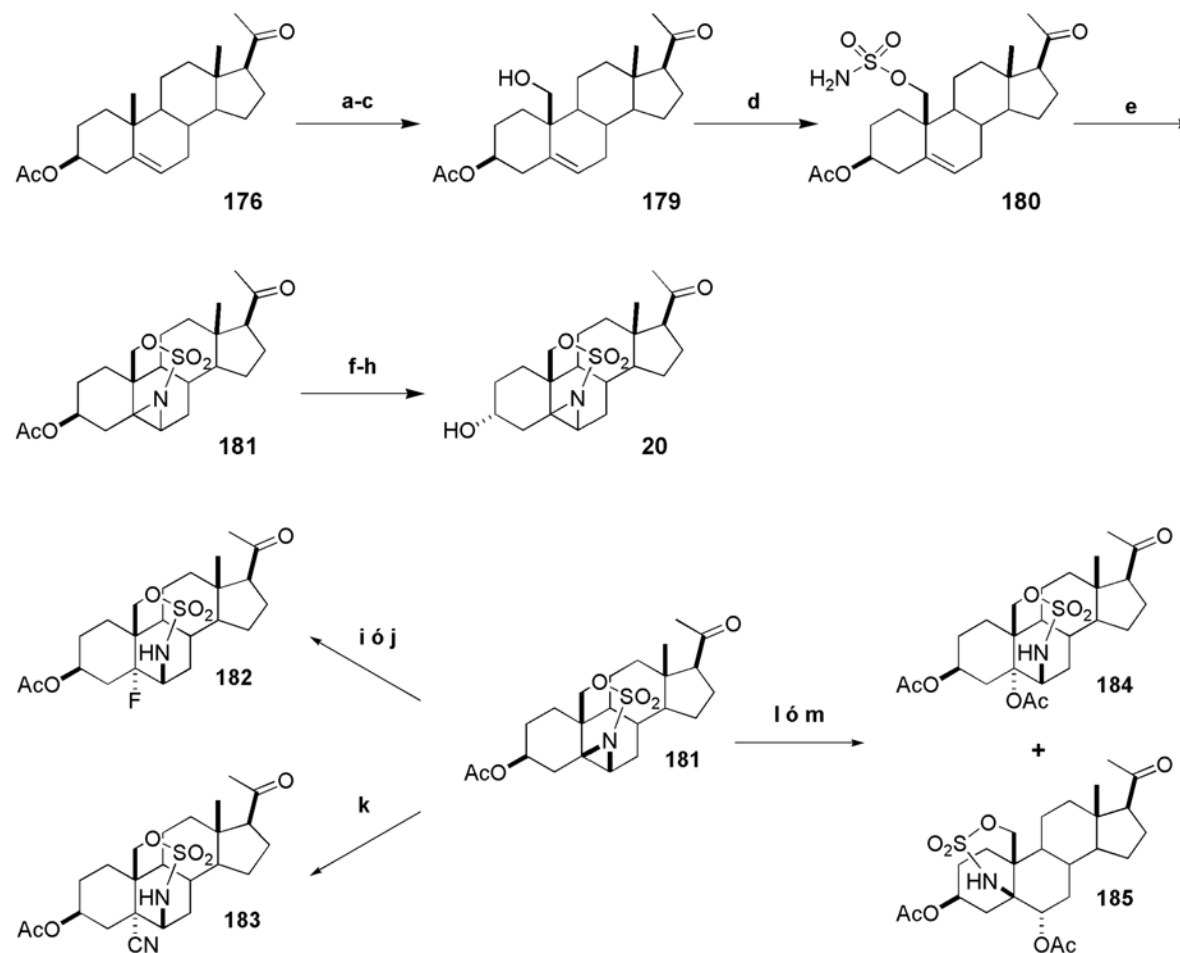
nitrógeno desarrollaron dos metodologías, una en base a transferencia de fase con sales de amonio cuaternario y la otra utilizando el sulfamidato como nucleófilo en la reacción de Mitsunobu (Posakony, 2002b).

Se activó el sulfamidato sintetizando el derivado bencílico **190**, utilizando bromuro de bencilo en cloruro de metileno, hidróxido de sodio concentrado y cloruro de bencil trietil amonio como reactivo de transferencia de fase con un rendimiento del 85%. El espectro de RMN ^1H evidenció la desaparición de la señal de NH a 5,16 ppm y la aparición de las señales del bencilo, de los hidrógenos del metileno unido al nitrógeno a 4,49 ppm (d, $J=15,2$ Hz) y 4,32 ppm ($J=15,2$ Hz) y los hidrógenos del anillo a 7,40 ppm. El primer intento de sustitución fue realizado con cianuro de potasio como fuente de nucleófilo a 115°C en DMF anhidra sin cambios en el compuesto de partida **183**. Esquema 4.13. Para el segundo ensayo se cambió el nucleófilo por metilmercaptano como sal sódica, a 100°C en DMF anhidra, obteniendo el compuesto de desacetilación **191** (esquema 4.13). Este resultado fue clave para la utilización del metiltiolato de sodio como agente para la desbenzoilación en la síntesis de 6-tia-neuroesteroides (capítulo 6). El esquema 4.14 resume las principales reacciones y síntesis desarrolladas en este capítulo.



- a) TEA, CH_2Cl_2 , CbzCl, 0°C; b) BrBn, CH_2Cl_2 , 40% NaOH, 85%;
 c) KCN, DMF, 115°C; d) KCN, DMF, 115°C; e) NaSCH $_3$, DMF, 100°C.

Esquema 4.13 Ensayos de doble sustitución sobre derivados de **183**.



Reactivos a) NBA, HClO₄, Ether/THF; **b)** DIB, I₂, hv, CH₂Cl₂; **c)** Zn/AcOH, i-PrOH; **d)** NH₂SO₂Cl, DMA, 0 a 20 °C; **e)** PhIO, Cu(ACN)₄PF₆, ACN; **f)** K₂CO₃ MeOH; **g)** PH₃P, DEAD, HCOOH, THF; **h)** KOH, ACN; **i)** TBAF, THF; **j)** CsF, DMF, 100°C; **k)** KCN, DMF; **l)** CsAcO, DMF, 20°C; **m)** CsAcO, DMF, 100°C.

Esquema 4.14 Síntesis de 5β,6β aziridino pregnanos y 6,19 y 5,19 sulfamido pregnanos

Capítulo 5

Síntesis de $2\beta,3\beta$ -aziridino y $2\beta,19$ sulfamido
pregnanos

Síntesis de 2 β ,3 β -aziridino y 2 β ,19 sulfamido pregnanos

1. Introducción

Como se describió en el capítulo 1, los neuroesteroides con estructura de pregnano contienen en su estructura un hidroxilo en posición 3 α y un grupo ceto en 20. Estudios farmacológicos demostraron que puede aumentarse la solubilidad en fluidos biológicos por incorporación de un grupo polar oxigenado o nitrogenado en posición 2 β sin afectar significativamente la actividad sobre el receptor GABA_A; ejemplo de este comportamiento son los compuestos **ORG20599** (Gasior, 1999), **bromuro de Vecuronio (ORG-NC-45)** (Savage, 1980) y **Minaxolona** (Gourlay, 1980), figura 5.1.

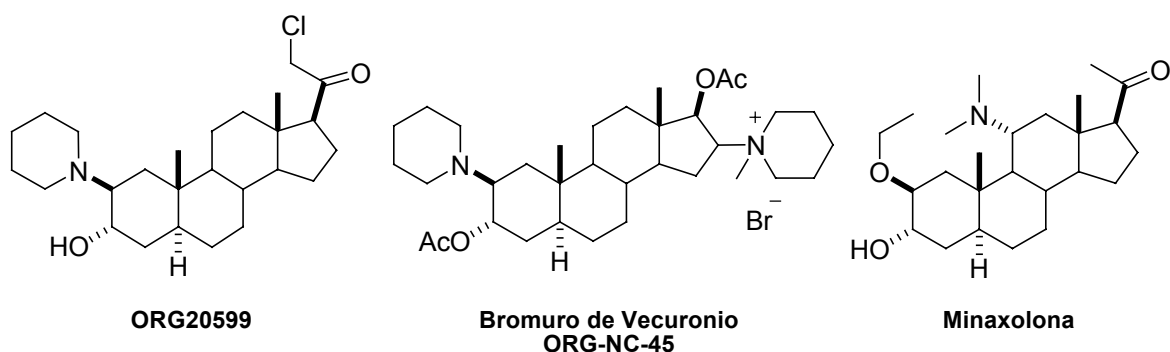


Figura 5.1

Dado que la metodología de aziridinación intramolecular fue exitosa en la síntesis de 5 β ,6 β -aziridino-19-sulfamidoesteroides, se encaró la aplicación de la misma a 19-hidroxi-pregnanos con un doble enlace en posición 2,3. La apertura del 2 β ,3 β -aziridino-19-sulfamidoesteroide así obtenido con nucleófilos oxigenados, daría lugar a análogos de allopregnanolona con un puente 2,19-sulfamidato. Como es habitual en estos casos, la regioselectividad de la apertura está gobernada por control cinético y transcurriría en forma trans-diaxial (Valls, 1961; Deslogchamps, 1983), figura 5.2.

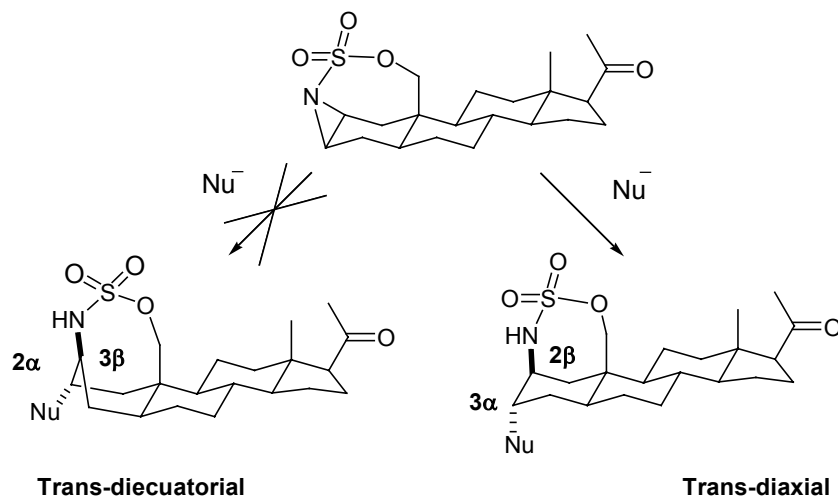
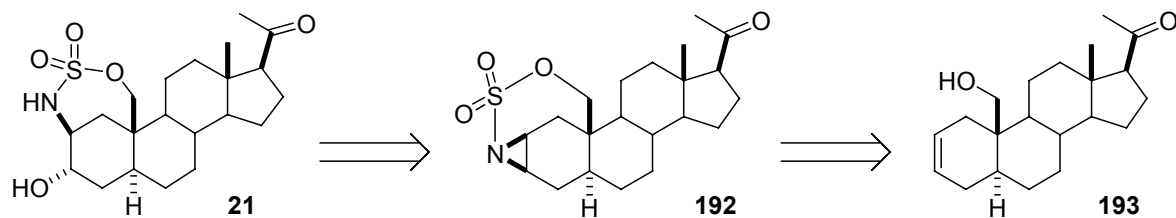


Figura 5.2

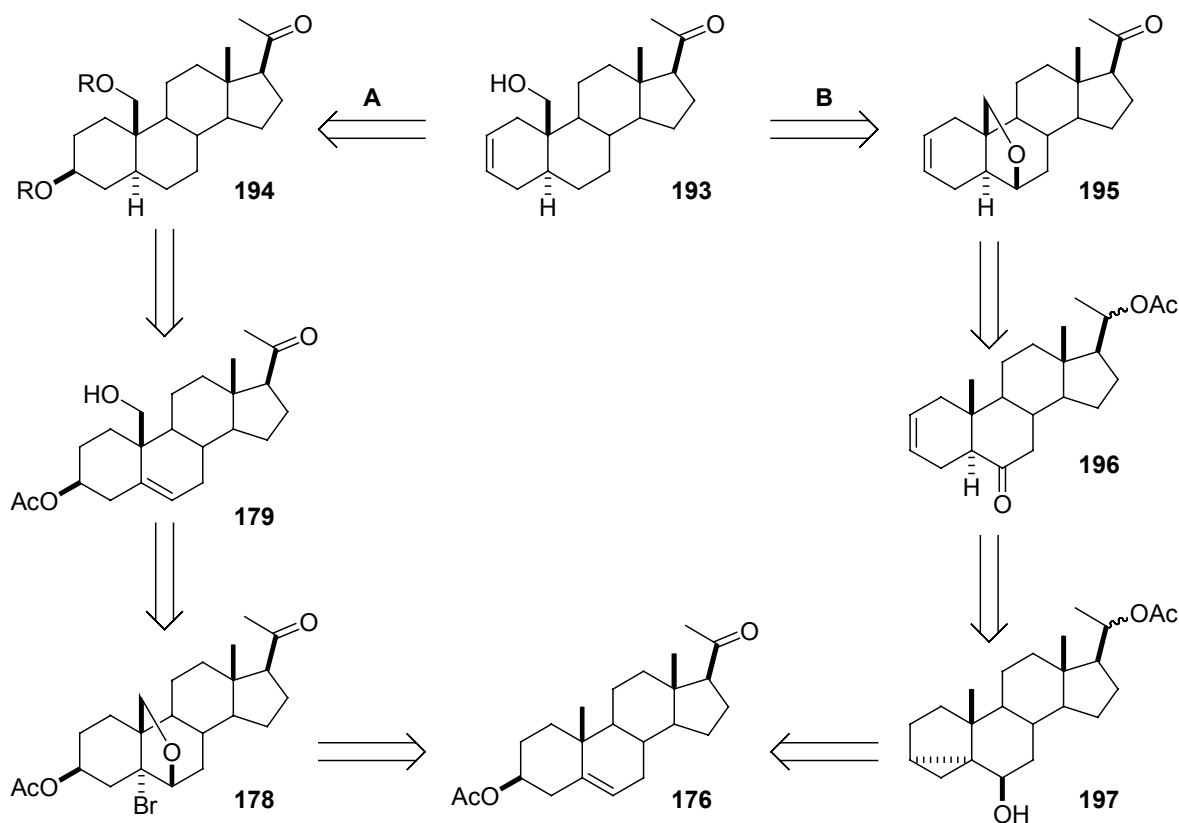
Teniendo en cuenta lo expresado anteriormente, al realizar el análisis retrosintético para la obtención del compuesto **21**, proveniente de la apertura nucleofílica de la aziridina **192**, resultó evidente para la aplicación de la metodología descrita en el capítulo 3 la inclusión del intermediario **193** como precursor, ya que presenta la funcionalización adecuada (esquema 5.1)



Esquema 5.1

Para la obtención de **193** se plantearon dos vías distintas: **A** y **B** (esquema 5.2). En la ruta **A**, **193** proviene de la eliminación de un hidroxilo de la posición 3 en un 19-hidroxipregnano adecuadamente protegido (**194**). Este compuesto puede obtenerse por reducción del intermediario **179**, el precursor utilizado en la síntesis de 6,19 sulfamidatos en el capítulo 4. Como se describió anteriormente (capítulo 4) el alcohol homoalílico **179** se sintetizó a partir de acetato de pregnenolona (**176**) vía el bromoéter **178**. Para la secuencia sintética **B** se consideró la posibilidad de obtener **193** mediante la apertura del éter cíclico **195**, el cual contiene el doble enlace requerido. Éste compuesto podría sintetizarse mediante reducción de **196** con un hidruro voluminoso y posterior funcionalización remota. La síntesis de esteroides análogos a **196** se encuentra descrita

en literatura partir de **197** (Aburatani,1987). Este ciclopropil alcohol también puede obtenerse a partir de **176** siguiendo procedimientos conocidos (esquema 5.2).



Esquema 5.2

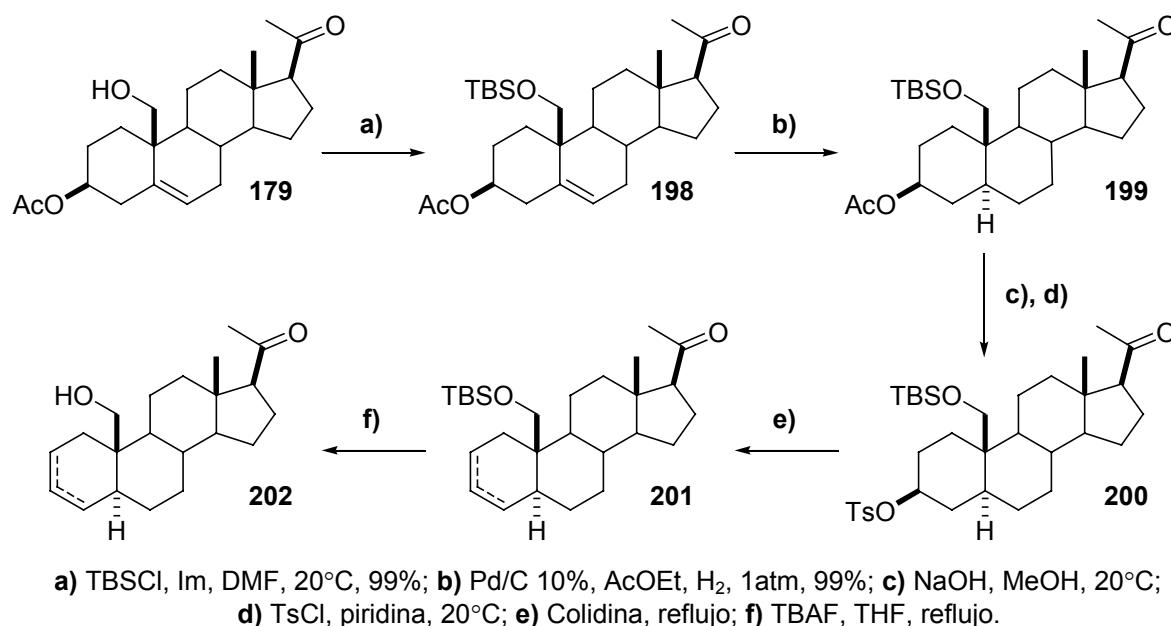
En este capítulo se describe la síntesis del compuesto **21** y sus productos de apertura en función de las vías sintéticas mencionadas.

2. Síntesis del intermediario 193 por la ruta A

Para probar la factibilidad de la ruta A para la síntesis del compuesto **193**, se sintetizó **179** a partir de acetato de pregnenolona (**176**) siguiendo la secuencia descrita en el capítulo 4, con un rendimiento global del 50% (Joselevich, 2003; Eduardo, 2003). Para realizar la reducción del doble enlace 5,6, primero se debió proteger el hidroxilo de 19, con un grupo protector que fuese ortogonal al acetato presente en la posición 3; para ello se utilizó cloruro de tert-butildimetilsililo, en condiciones estándar obteniéndose el producto **198**, con un rendimiento de 94%. La hidrogenación del doble enlace en 5,6 se

efectuó con 10% paladio sobre carbón como catalizador, a 1 atm de presión, obteniéndose **199** en forma cuantitativa.

El siguiente paso fue la formación del doble enlace 2,3, para lo cual se desprotegió el acetato en **3** y el alcohol obtenido fue tosilado para dar **200** con un rendimiento global del 86% luego de su purificación. La formación del doble enlace 2,3 se llevó a cabo en condiciones básicas, en colidina a alta temperatura, con un rendimiento del 60% obteniéndose la mezcla de isómeros Δ^2 y Δ^3 (**201**). Como corolario se realizó la desprotección del sililo con ión fluoruro; la misma se ensayó en un primer momento a temperatura ambiente, pero sólo ocurrió a temperaturas de reflujo, obteniéndose la mezcla de isómeros **202** con rendimiento moderado (47%) (esquema 5.3)



Esquema 5.3. Síntesis de la mezcla de isómeros **202**.

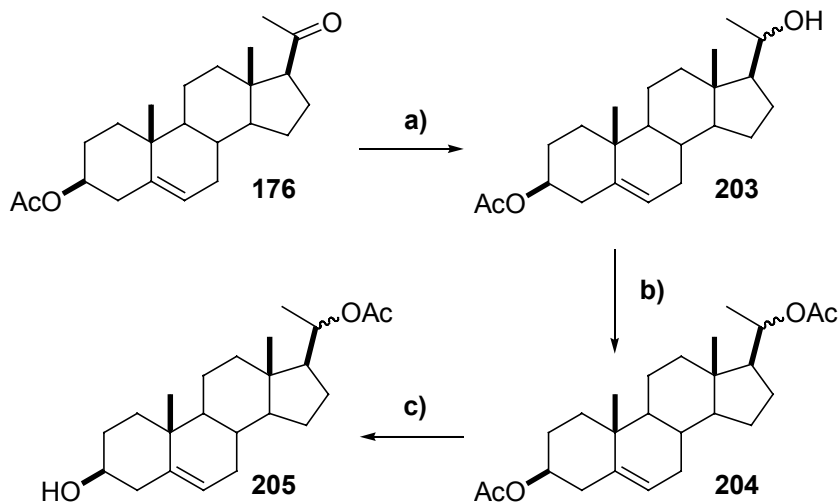
Debido a la obtención de una mezcla de isómeros de difícil separación y los bajos rendimientos de la reacción de eliminación y la ulterior desprotección del grupo sililo, se decidió ensayar la ruta **B** para la síntesis del precursor **193**. Cabe destacar que la metodología desarrollada se utilizó posteriormente como base para la síntesis de ciclos 2,19- y 4,19-oxigenados análogos de allopregnanolona (Eduardo,2003).

3. Síntesis del intermediario 193 por la ruta B

3.1 Síntesis de 196 mediante la ruta sintética de los brassinólidos

Esta vía sintética fue descrita en su primera etapa para compuestos similares a **196** para la síntesis de brassinólidos por Mori y col. (Aburatani,1987). La idea de esta tesis fue utilizar esta secuencia para desarrollar una nueva ruta para la síntesis de pregnanos con diferentes puentes 2,19, para lo cual se necesitaba un grupo hidroxilo en 6 β capaz de permitir la funcionalización del metilo-19.

Por esta razón partiendo de acetato de pregnenolona, se redujo inicialmente el grupo carbonilo en C-20 a alcohol y se lo protegió como acetato obteniendo los productos **203** y **204** respectivamente. Cabe aclarar que todas estas reacciones, así como la posterior regeneración de la cetona en C-20 transcurren con muy buenos rendimientos. Como paso siguiente se desacetiló el alcohol en C-3 selectivamente, con hidróxido de sodio en metanol para obtener **205**. La regioselectividad de esta reacción se debe al entorno estérico diferente de las posiciones 3 y 20 (esquema 5.4).

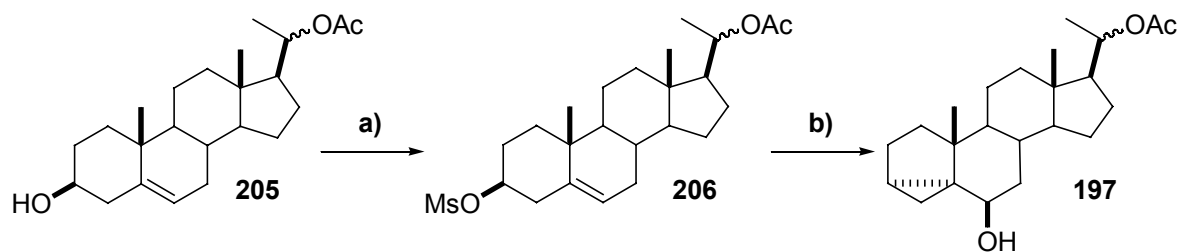


a) NaBH₄, MeOH:CH₂Cl₂ 1:1, 0°C; b) Ac₂O, Piridina, DMAP, 20°C; c) NaOH, MeOH, 20°C.

Esquema 5.4. Síntesis del compuesto **205**.

Se realizó entonces la mesilación de **205** con cloruro de mesilo en diclorometano en presencia de trietilamina obteniéndose el mesilato **206**, que fue sometido a condiciones

de eliminación en fase heterogénea, utilizando como base carbonato de potasio en una mezcla de butanona y agua a reflujo. Se obtuvo el 3 α ,5 α -ciclo-6 β -hidroxipregnano **197** con un 72% de rendimiento a partir de **204** (esquema 5.5)



a) MsCl, CH₂Cl₂, TEA, 20°C; b) Butanona, H₂O, K₂CO₃, reflujo, 72% desde **204**.

Esquema 5.5. Síntesis del compuesto **197**.

La formación del anillo de ciclopropano en estas condiciones, es una variante de la bien conocida reacción de formación de isometiléteres esteroidales. El mecanismo (la versión homoalílica de la S_N2) implica el desplazamiento concertado del mesilato en posición 3 por el doble enlace 5,6 iniciado por el ataque nucleofílico de hidróxido sobre C-6; la reacción es estereoespecífica ya que se obtiene sólo el isómero 6 β -hidroxi.

El producto obtenido presentó en sus espectros de RMN ¹H y ¹³C las señales características del ciclopropil alcohol esteroidal buscado. En el espectro de RMN ¹H las señales diagnósticas fueron las de H4 α a 0,53 ppm (t, J= 4,2 Hz) y H-4 β a 0,29 ppm (dd, J= 8,2, 4,9 Hz) (figura 5.3). En el espectro de RMN ¹³C las resonancias de C-3 a 24,1 ppm, C-4 a 11,5 ppm y C-5 a 38,8 ppm confirmaron la presencia del anillo ciclopropano. El espectro de masa (ES) corroboró el resultado esperado observándose el ion a m/z 383,3 (100 %) para M+Na⁺.

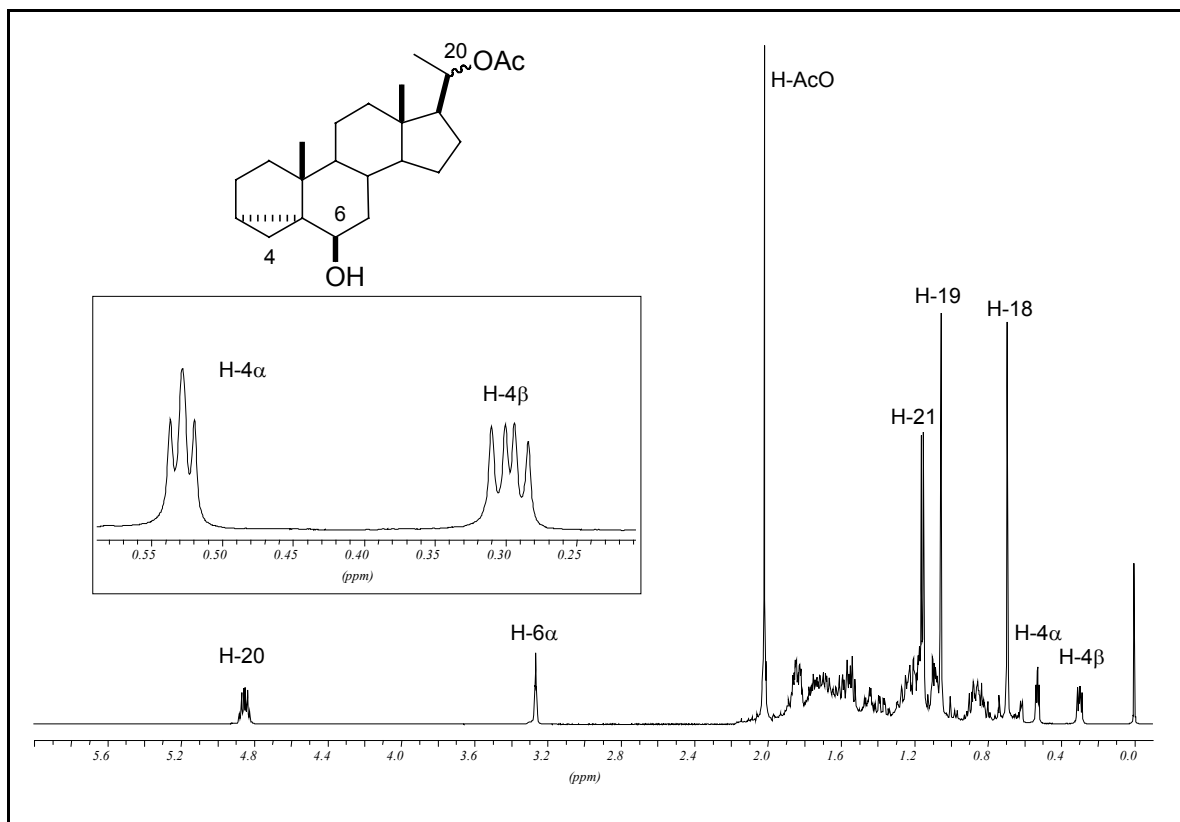
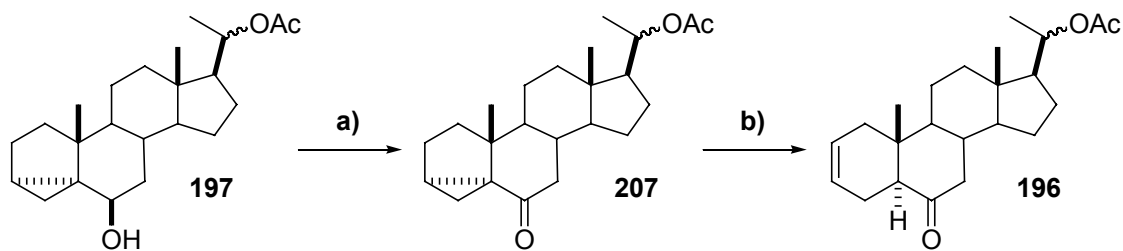


Figura 5.3 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **197**.

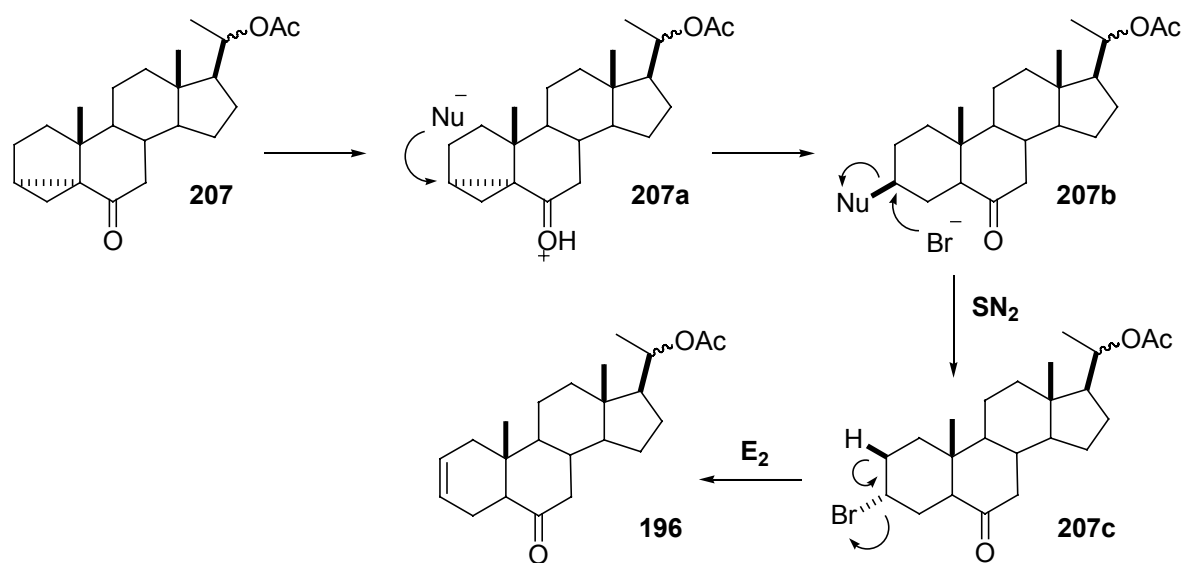
La oxidación del hidroxilo en 6 β de **197**, se realizó con dos reactivos diferentes: reactivo de Jones en acetona y clorocromato de piridonio (PCC) obteniéndose la ciclopropilcetona **207** con rendimientos de 95% y 90% respectivamente (esquema 5.6).



a) Jones, acetona, 0°C, ó PCC, BaCO₃, tamiz molecular 3Å, CH₂Cl₂, 20°C;
 b) TsOH, KBr, DMF, 165°C.

Esquema 5.6. Síntesis del compuesto **196**.

Como último paso común a la ruta de los brassinólidos se sintetizó el Δ^2 -6-cetoesteroide por tratamiento de **207** con ácido p-toluensulfónico y bromuro de potasio en DMF a reflujo, obteniéndose **196** con un 82% de rendimiento luego de su purificación. Éste reordenamiento se puede explicar mediante una serie de reacciones en dos etapas (esquema 5.7). En la primera ocurre la protonación del grupo carbonilo (**207a**) y la apertura del ciclopropano por el anión del ácido inorgánico u orgánico para dar el 3 β -halogenuro ó 3 β -sulfonato **207b** por vía catiónica. La segunda etapa consiste en la sustitución del grupo en 3 β por bromuro ó yoduro, el cual queda en posición 3 α (axial) en el anillo A del esteroide (producto **207c**). La eliminación del halogenuro a alta temperatura da **196**.

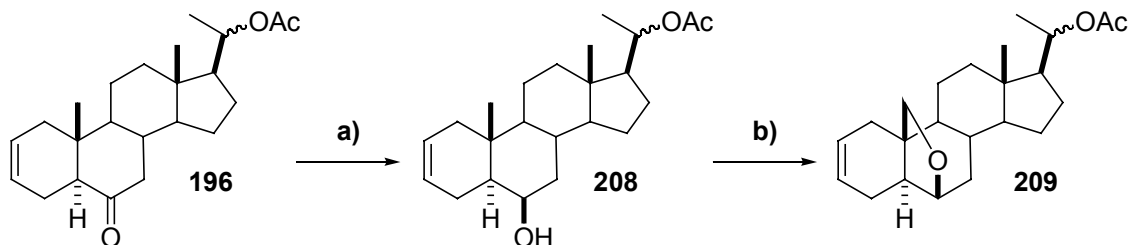


Esquema 5.7. Mecanismo de formación de **196**.

3.1.1 Funcionalización del carbono 19

Una vez obtenido el esteroide **196** con el doble enlace en posición 2,3 se intentó la funcionalización del carbono 19. Como se explicó en el capítulo 4, un hidroxilo en posición 1,3 diaxial con respecto al metilo en C-10, es un buen sustrato para la síntesis de ciclos tetrahidrofuránicos, vía generación de hipioditos en presencia de luz. Para obtener el derivado con un hidroxilo en posición 6 β a partir de la 20-acetiloxipregn-2-en-6-ona **196** se la redujo con hidruro de tri-tert-butiloxi aluminio y litio, que debido a su gran tamaño y al impedimento estérico que genera el metilo en C-10 sobre la cara β del esteroide, produjo

estéreo y regioselectivamente el alcohol 6 β **208** (sin afectar al acetato de posición 20) con un 95% de rendimiento. La ciclación radicalaria se realizó con DIB, en presencia de yodo en cloruro de metileno con una lámpara de 300 W como fuente de radiación visible. Se obtuvo el 20-acetiloxi-6,19-epoxipregn-2-eno (**209**) con un 75% de rendimiento (esquema 5.8). El espectro de RMN ^1H de **209** mostró señales características del éter cíclico correspondientes a los protones de C-19 a 3,53 y 3,78 ppm y la del H-6 α a 3,97 ppm.

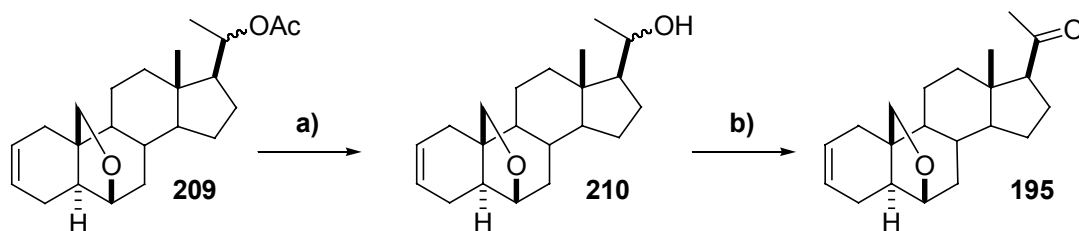


a) $\text{LiAl}[\text{OCMe}_3]_3\text{H}$, THF, de 0°C a 20°C ; b) DIB, I_2 , CH_2Cl_2 , hv, 20°C .

Esquema 5.8. Síntesis del compuesto **209**.

3.1.2 Apertura del éter cíclico y obtención de 193

Debido a que no se preveían reacciones con hidruros, en el resto de la ruta sintética, en este punto se regeneró el carbonilo de la posición 20 necesario para tener actividad como neuroesteroide. El primer paso consistió en la remoción del acetato de **209** mediante la reducción del carbonilo del éster con hidruro de aluminio y litio en THF, obteniéndose el alcohol **210** con un 87% de rendimiento. La oxidación con PCC dio el 20-cetopregnano **195** con un rendimiento de 83% luego de su purificación (esquema 5.9). El espectro RMN ^1H del **195** se muestra en la figura 5.4



a) LiAlH_4 , THF, 0°C a 20°C ; b) PCC, BaCO_3 , tamiz molecular 3 Å , CH_2Cl_2 , 20°C .

Esquema 5.9. Síntesis del compuesto **195**.

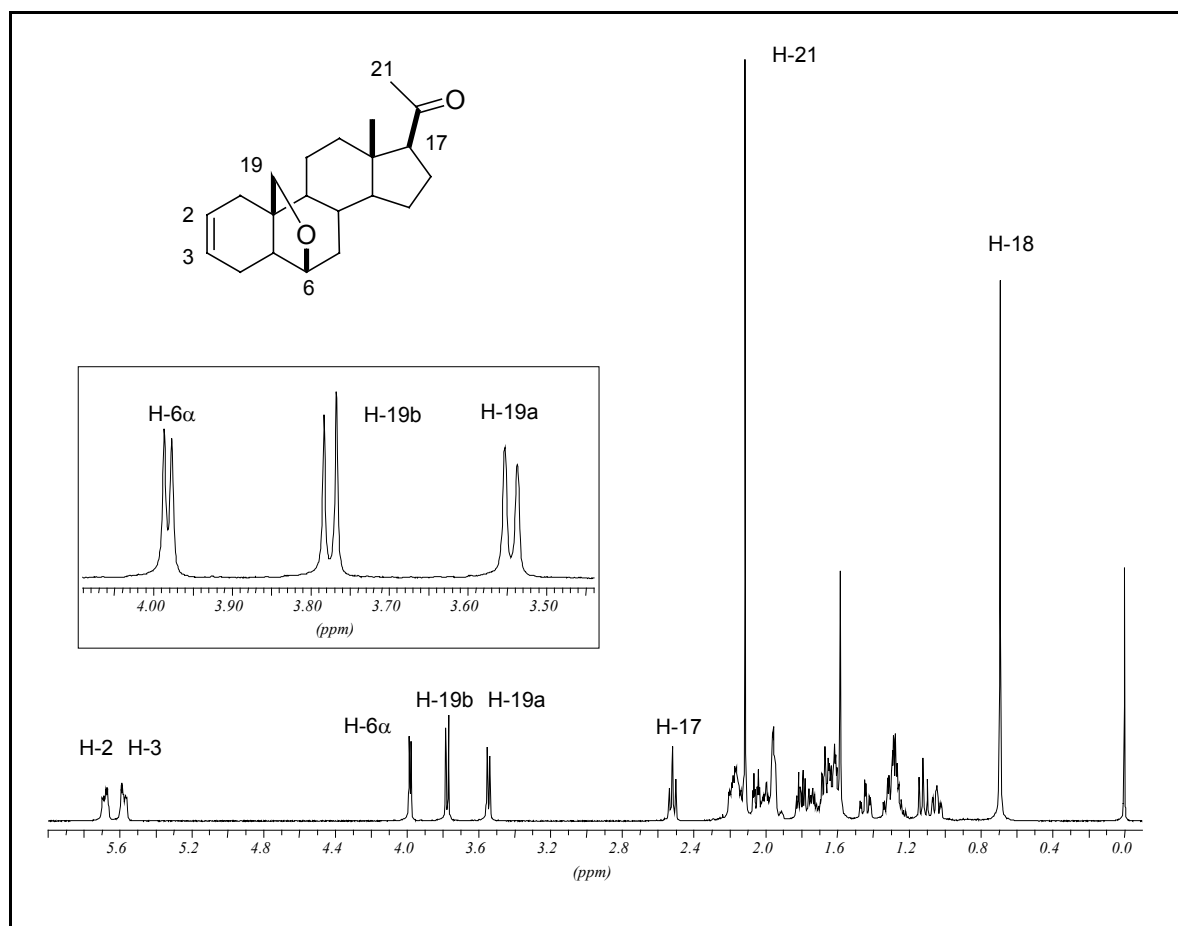
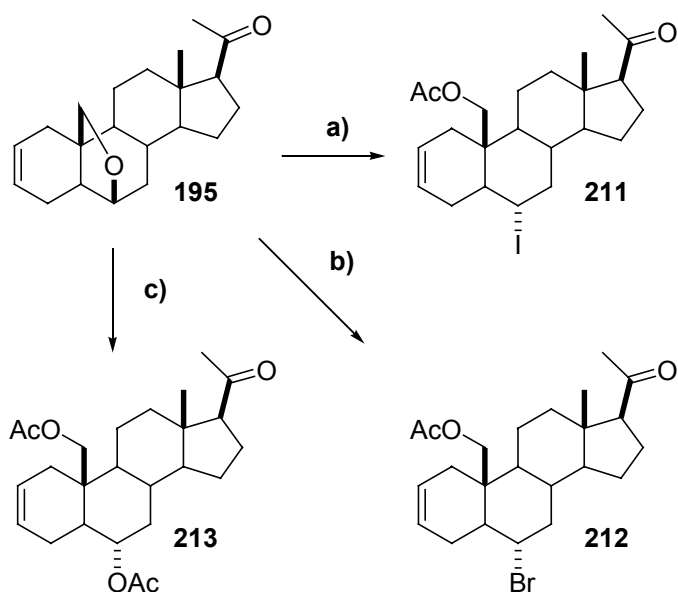


Figura 5.4 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **195**.

Para sintetizar el 19-hidroxiderivado **193** precursor de los sulfamidatos, se debió abrir el puente 6,19-epoxi en **195**. Para ello se utilizó la metodología desarrollada por Burton y col. (Benedetti, 1990) con yoduro de zinc y un halogenuro de acilo para la ruptura de éteres. Inicialmente, se utilizó yoduro de zinc y bromuro de acetilo obteniéndose después de la purificación con Florisil® un producto homogéneo por CCD. Sin embargo, al analizar el espectro de RMN ^{13}C se observó la presencia de dos compuestos muy similares. Se sospechó la presencia de los dos halogenuros de alquilo (bromuro y yoduro) y para confirmar esa hipótesis se realizaron dos experiencias de apertura diferentes. Por un lado se utilizó yoduro de zinc y anhídrido acético obteniéndose el 19-acetiloxi-6 α -yodopregnano **211** con un 74% de rendimiento, cuyo espectro de RMN ^{13}C coincidió con uno de los compuestos anteriormente observados (apéndice A de tablas).

La otra experiencia se realizó con bromuro de zinc y anhídrido acético, obteniéndose el 19-acetiloxi-6 α -bromuro **212** con un 75% de rendimiento. Este compuesto coincidió por RMN ^{13}C con el otro compuesto de la experiencia antes mencionada (ver apéndice A de tablas).

Como prueba adicional para la apertura del 6,19-éter, se dejó reaccionar al compuesto **195** con yoduro de zinc y anhídrido acético por más de 24 horas, obteniéndose 6,19-diacetiloxipregn-2-en-20-ona (**213**) con un 33% de rendimiento (esquema 5.10).

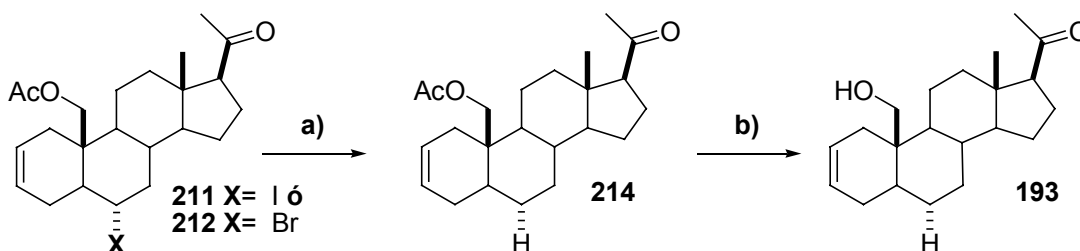


a) ZnI_2 , Ac_2O , 20°C ; **b)** ZnBr_2 , Ac_2O , CH_2Cl_2 , 20°C ; **c)** ZnI_2 , Ac_2O , 20°C , 24 hs.

Esquema 5.10. Reacciones de apertura de **195**.

El siguiente paso fue la deshalogenación de los derivados **211** y **212** y la desprotección del hidroxilo en C-19. Se decidió en un primer momento optar por el método de deshalogenación menos perjudicial para el medio ambiente, siendo la desbromación radicalaria con hidruros de silicio la más adecuada. Se realizó la desbromación de **212** según el protocolo de Barton y col. utilizando difenilsilano (Barton,1993), obteniéndose el producto reducido **214**. En esta etapa no se pudieron separar los subproductos derivados del difenilsilano (observados por RMN), por lo que se realizó la desprotección del acetato en medio alcalino sobre el producto sin purificar obteniéndose el Δ^2 -19-hidroxipregnano **193** buscado con un 40% de rendimiento (luego de la purificación) desde el bromuro (esquema 5.11).

Como el rendimiento de **193** por la vía de la desbromación con difenilsilano fue moderado, se decidió probar la ruta clásica de deshalogenación con hidruro de tributilestaño y luz sobre el 6β-yodopregnano **211**, se obtuvo así el compuesto **214** con un 92% de rendimiento; la posterior desprotección en medio básico dio lugar al precursor **193** con un 96% de rendimiento (esquema 5.11).

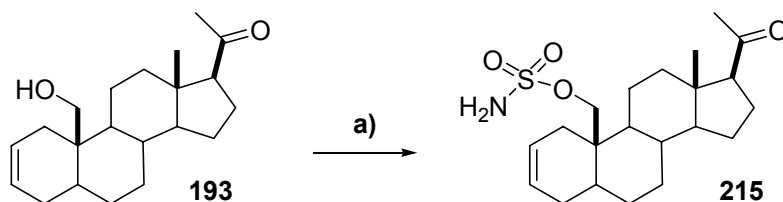
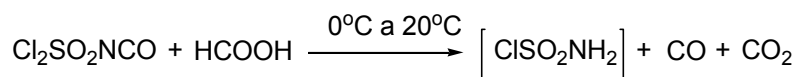


a) Ph_2SiH_2 , AIBN, Tolueno, N_2 , 115°C ó $n\text{-but}_3\text{SnH}$, $h\nu$, N_2 , 20°C ; b) NaOH , MeOH , 20°C .

Esquema 5.11. Síntesis del compuesto **193**.

4. Aplicación de las metodologías de sulfanilación y aziridinación

Una vez obtenido el compuesto **193**, se realizó la síntesis del sulfamidato **215**, el cual se obtuvo con un 66% de rendimiento. En este caso, para que la conversión fuese posible se debió aumentar al doble la cantidad de reactivo sulfanilante con respecto a la síntesis de Δ^5 -19-hidroxi derivados descrita en el capítulo 4 (esquema 5.12).

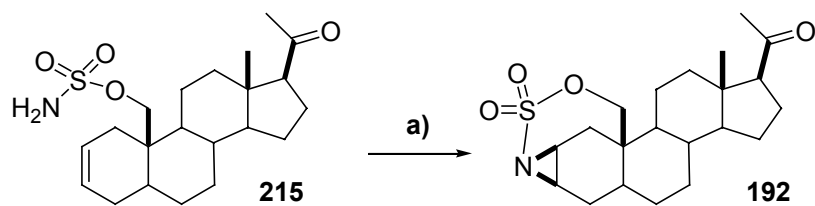


a) ClSO_2NH_2 , DMA, 0°C a 20°C , 3 hs.

Esquema 5.12. Síntesis del compuesto **215**.

La estructura de **215** se confirmó mediante su espectro de RMN ^1H por la presencia de los dos hidrógenos del grupo sulfamidato a 4,66 ppm (singulete ancho) y las señales de los H-19 a 4,18 ppm (d, $J=10,0$ Hz) y 4,41 ppm (d, $J=10,0$ Hz) (desplazados a campos menores con respecto al compuesto **193**).

Los mejores resultados para la reacción de aziridinación intramolecular del sulfamidoesteroide **215** se obtuvieron con 4 equivalentes de iodosilbenceno y 0,3 equivalentes del complejo de Cu^{II} . Se obtuvo en este caso un rendimiento de 75% (esquema 5.13). Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **192** se resumen en la tabla 4.1.



a) $\text{PhI}=\text{O}$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$, CH_3CN , N_2 , 20°C , 20 hs.

Esquema 5.13. Síntesis del compuesto **192**.

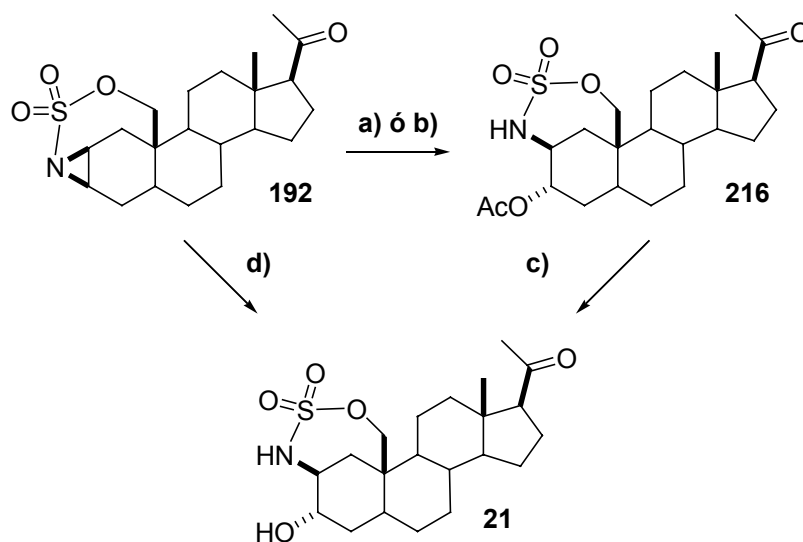
Tabla 4.1 Asignación de espectros de RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) de **192**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]							
		α	m, J [Hz]			β	m, J [Hz]		
1	35,5	1,87	ddd, 15,3, 3,2, 1,7			---	---	2,79	d, 15,3
2	38,0	---	---	---	2,97	m	---	---	
3	40,3	---	---	---	3,08	dd, 7,5, 5,5	---	---	
4	24,7	2,28	dd, 16,3, 11,8			---	---	2,07	---
5	40,4	1,40	---	---	---	---	---	---	
6	26,9	1,60	---	---	---	---	1,37	---	
7	30,9	0,98	---	---	---	---	1,80	---	
8	35,9	---	---	---	1,37	m	---	---	
9	53,9	---	---	---	0,87	td, 12,0, 3,7	---	---	
10	39,6	---	---	---	---	---	---	---	
11	20,7	1,73	---	---	---	---	1,18	---	
12	40,2	1,37	---	---	---	---	2,04	---	
13	43,7	---	---	---	---	---	---	---	
14	56,4	---	---	---	1,13	ddd, 12,5, 10,6, 6,6	---	---	
15	23,9	1,67	---	---	---	---	1,22	---	
16	22,6	1,66	---	---	---	---	2,14	---	
17	63,2	---	---	---	2,48	t, 8,8	---	---	
18	13,1	---	---	---	0,60	s	---	---	
19	73,3	4,19	d, 12,3			---	---	4,42	dd,, 12,4, 1,7
20	209,9	---	---	---	---	---	---	---	
21	31,1	---	---	---	2,11	s	---	---	

5. Síntesis del análogo 21

Como paso final para la obtención del compuesto objetivo **21**, análogo de allopregnanolona, se ensayaron dos rutas distintas. En una de ellas se lo obtuvo protegido como acetato, requiriéndose una etapa adicional de desprotección, mientras que en la otra se realizó directamente la apertura de la aziridina con ión hidróxido (esquema 5.14).

Para la primera opción se utilizó acetato de cesio en DMF como en la síntesis de 6,19-sulfamidatos 5 α -sustituídos (capítulo 4), obteniéndose el 3 α -acetiloxi derivado **216** con un 70% de rendimiento. Por otra parte y debido al buen resultado en la apertura de la aziridina **181** con fluoruro de tetrabutilamonio para dar **182** (capítulo 4) se decidió ensayar la apertura con acetato de tetrabutilamonio en condiciones anhidras usando THF como solvente, obteniendo **216** con un rendimiento de 79%. Una vez obtenido el análogo acetilado del neuroesteroide se lo sometió a condiciones de hidrólisis básica obteniéndose el compuesto **21**, con un 98% de rendimiento, su espectro de RMN ^1H (500 MHz) se muestra en la figura 5.5. Por otra parte, se ensayó la apertura de la aziridina **192** directamente con hidróxido de tetrabutilamonio; en este caso se debió agregar un exceso del reactivo obteniéndose el análogo **21** con un rendimiento de solo 60%.



a) CsAcO, DMF, N₂, 20°C; b) *n*-Bu₄NAcO, THF, N₂, 20°C; c) NaOH, MeOH, 20°C;
d) *n*-Bu₄NOH, THF, N₂, 20°C, 20 hs.

Esquema 5.14. Síntesis del compuesto **21**.

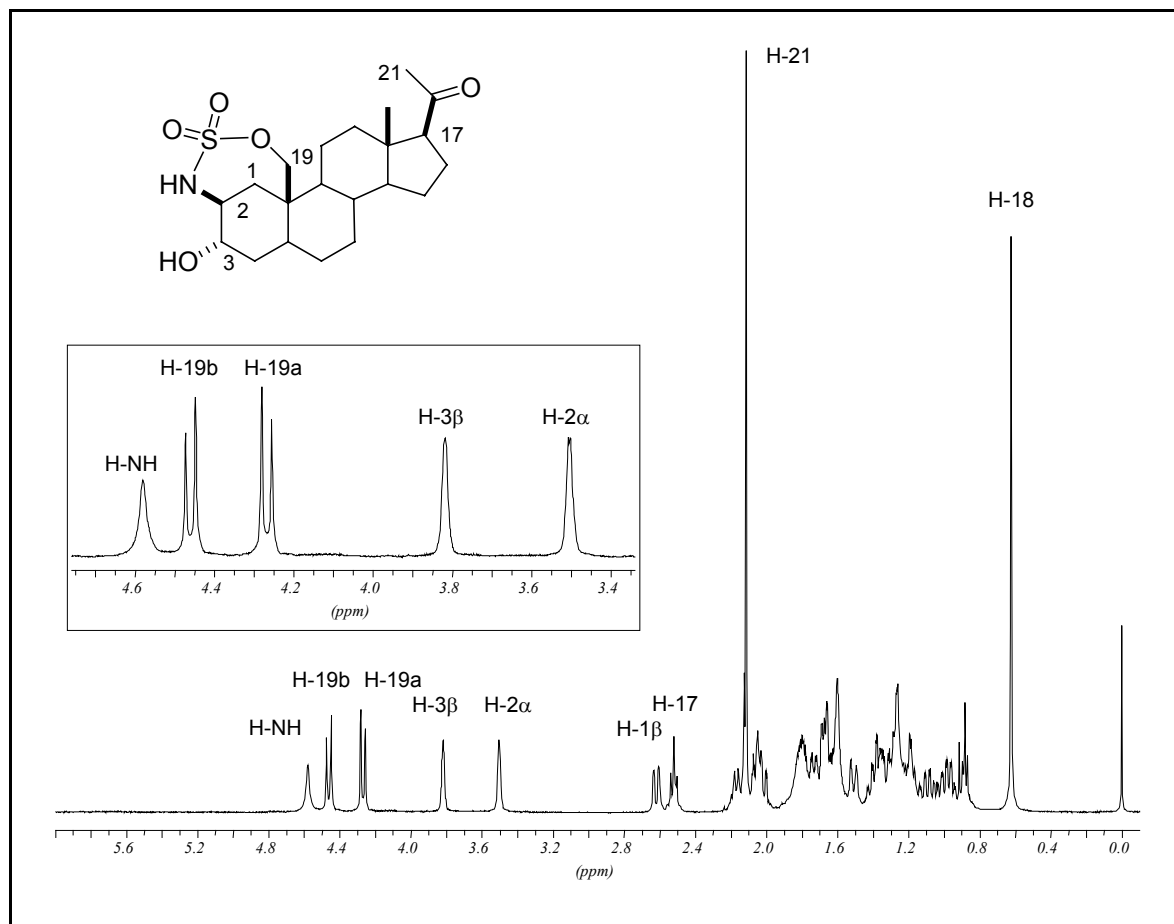
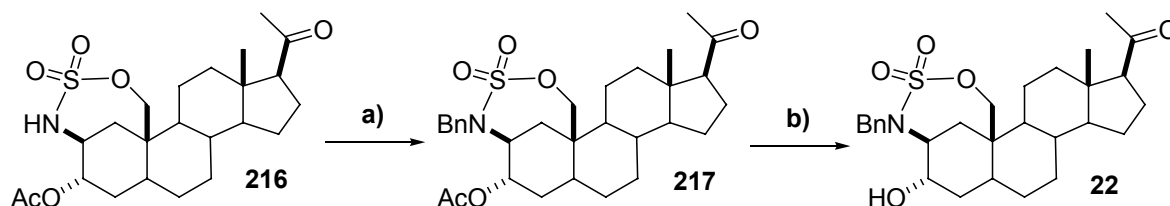


Figura 5.5 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **21**.

6. Síntesis del análogo 22

Con el fin de investigar en ensayos biológicos la incidencia de la sustitución en el nitrógeno del 2,19-sulfamido de **21**, se sometió a **216** a las condiciones de bencilación desarrolladas por Tewson y col. (Posakony, 2002a, 2002b) obteniéndose el derivado **217** (96%). Se corroboró la bencilación del nitrógeno en el espectro de RMN ^1H por la desaparición de la señal del hidrógeno del sulfamido, la aparición de los protones bencílicos a 4,44 ppm (d, $J=16,1$ Hz) y 4,83 ppm (d, $J=16,1$ Hz) y los hidrógenos del anillo aromático a 7,32, 7,36 y 7,44 ppm. En el espectro de RMN ^{13}C aparecen las señales de los distintos carbonos del grupo protector como se pueden observar en la tabla correspondiente al compuesto **217** del apéndice A de tablas. La hidrólisis alcalina del

compuesto **217** dio como resultado el análogo bencilado **22** con un 99% de rendimiento (esquema 5.15).



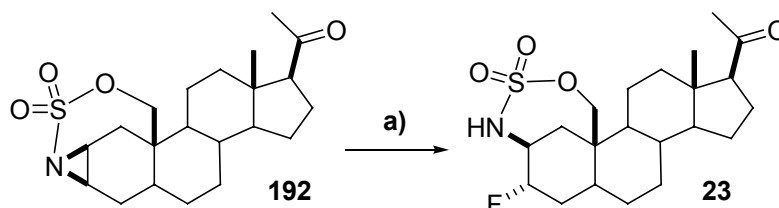
a) BrBn, BnEt₃NCl, CH₂Cl₂, 40% NaOH; b) NaOH, MeOH, 20°C;

Esquema 5.15. Síntesis del compuesto **22**.

7. Síntesis del análogo 23

En publicaciones recientes se ha presentado evidencia del aumento de actividad como neuroesteroides de los 3 α -fluoro derivados análogos de allopregnanolona como **9** (página 23 figura 1.11). Este comportamiento se atribuye a la imposibilidad de los análogos fluorados de ser afectados por las oxidasas endógenas, pero mantener las propiedades de solubilidad en medios biológicos (Slavikova,2001,2002).

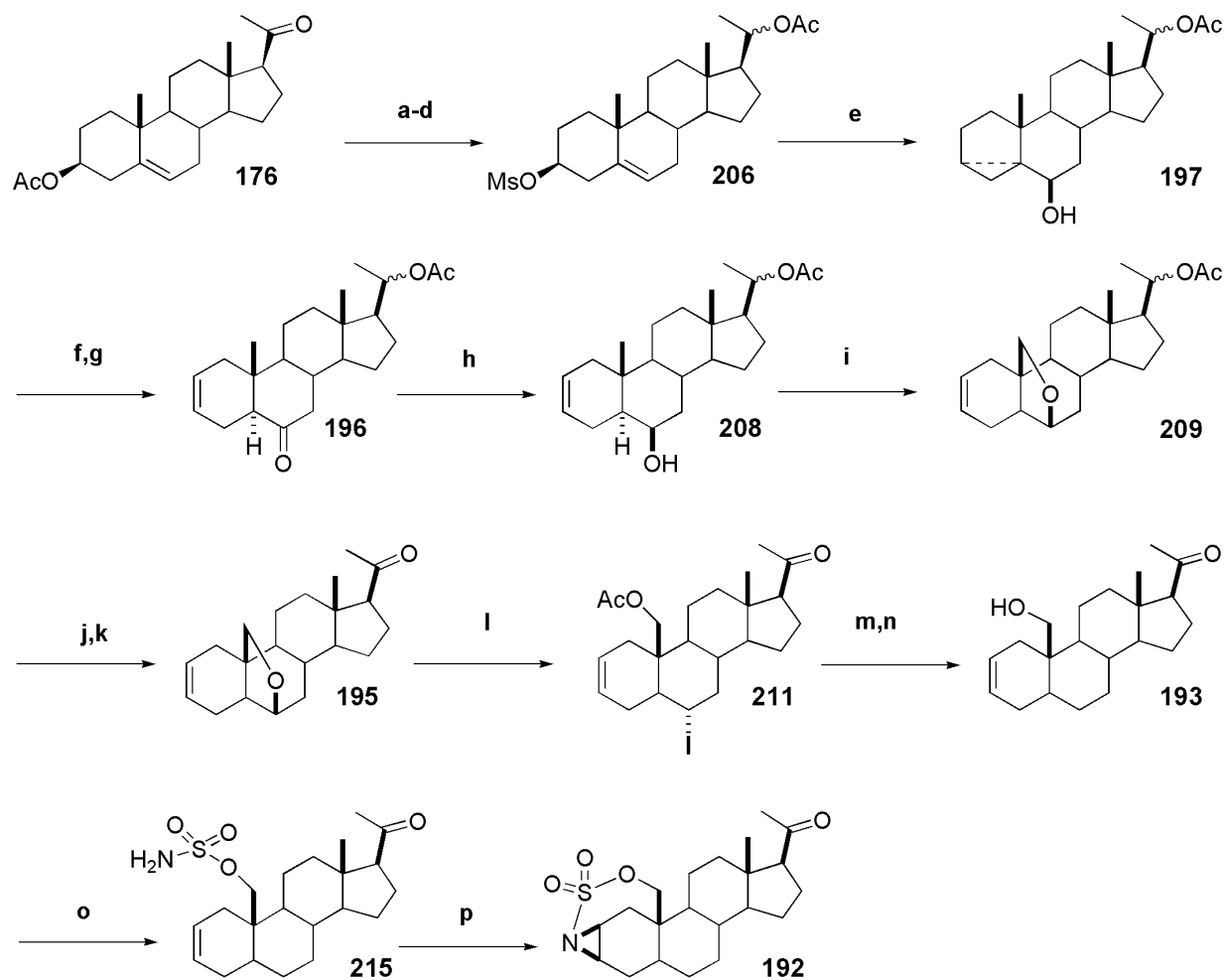
Considerando el éxito de la apertura de la aziridina **192** con nucleófilos oxigenados como sus sales de tetrabutilamonio y de la obtención de 5 α -fluoro-6,19-sulfamidatos con el mismo tipo de sales (capítulo 4), se realizó la apertura de **192** con TBAF en THF, obteniendo el 3 α -fluoro-2,19-sulfamido análogo de allopregnanolona **23** con un rendimiento de 84% luego de la purificación cromatográfica (esquema 5.16).



a) TBAF, THF, N₂, 20°C.

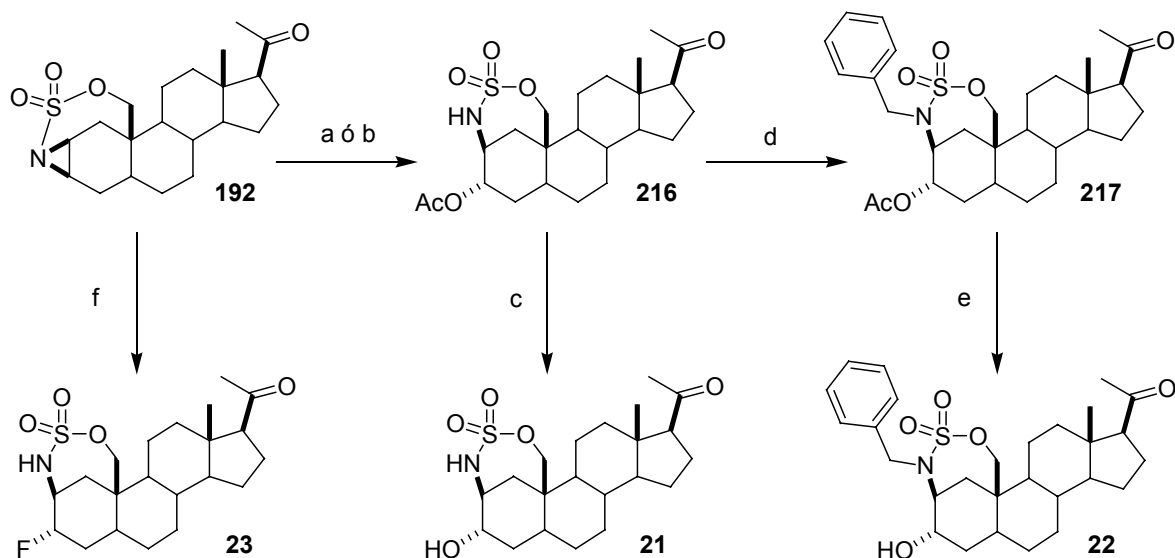
Esquema 5.16. Síntesis del compuesto **23**.

El esquema 5.17 resume la secuencia sintética para obtener la sulfamido aziridina **192** y el esquema 5.18 resume las reacciones de apertura utilizadas para obtener **21-23**.



Reactivos: a) NaBH_4 , MeOH; b) Ac_2O , py; c) MeOH, NaOH (25%); d) TEA, MsCl, CH_2Cl_2 ; e) H_2O , NaHCO_3 , MEK, Δ ; f) Jones, Acetona; g) NaBr, pTsOH, DMF; h) THF, $\text{LiAl}[\text{OCMe}_3]_3\text{H}$; i) DAIB, I_2 , hv, CH_2Cl_2 ; j) LiAlH_4 , THF; k) PCC, BaCO_3 , tamiz molecular 3 Å CH_2Cl_2 ; l) ZnI_2 , Ac_2O ; m) Bu_3SnH , hv, tolueno; n) KOH, MeOH; o) $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$, DMA; p) $\text{PhI}=\text{O}$, ACN, tamiz molecular, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$.

Esquema 5.17 Síntesis del 2β,3β-aziridino esteroide 192



Reactivos: a) CsAcO DMF; b) But₄NAcO, ACN ; c) KOH, MeOH; d) BnBr, CH₂Cl₂, BnEt₃NH₄Cl, 40% NaOH; e) KOH, MeOH; f) But₄NH₄F THF.

Esquema 5.18 Síntesis de análogos de neuroesteroides **21**, **22**, **23**.

Capítulo 6

Síntesis de 6-tia-pregnanos análogos de
allopregnanolona

Síntesis de 6-tia-pregnanos análogos de allopregnanolona

1. Introducción

En la última década la investigación y el desarrollo en síntesis de análogos de neuroesteroides estuvieron enfocados en la búsqueda de compuestos más solubles en medios biológicos y en lograr modificaciones estructurales respecto de los esteroides naturales que aumentaran o mantuviesen la actividad sobre los receptores de GABA_A. Como variante a la adición de sustituyentes polares descrita en los capítulos anteriores, se han sintetizado análogos por reemplazo isostérico de un átomo de carbono del esqueleto esteroidal por heteroátomos como oxígeno ó nitrógeno (Nicoletti, 2000; Kasal, 2005). Esta modificación produce cambios en la hidrofobicidad y la capacidad de formación de puentes de hidrógeno, sin generar una modificación apreciable en la conformación del núcleo esteroidal ó incrementar el impedimento estérico (figura 6.1).

Como ya se mencionó (capítulo 1), los resultados de los estudios in vitro realizados con análogos de allopregnanolona donde el metileno en posición 6 se reemplazó por oxígeno (**5** y **6**) y nitrógeno (**7**), mostraron una marcada disminución en la unión al receptor GABA_A. Éstos ensayos comprendían la estimulación de la unión de [³H]muscimol y [³H]flunitrazepam al receptor GABA_A y la inhibición de la unión de [³⁵S]tert-butilbicyclo-[2.2.2]-fosforotionato (TBPS). En el caso de los análogos oxigenados **5** y **6** la actividad se redujo cien veces respecto de allopregnanolona y pregnanolona respectivamente (Nicoletti, 2000), mientras que en el del análogo nitrogenado **7**, se perdió totalmente (Kasal, 2005). Esto indicaría que la capacidad donora de puentes de hidrógeno en el anillo B y en menor medida la capacidad aceptora, son desfavorables para la interacción con los sitios de unión a los receptores de GABA_A.

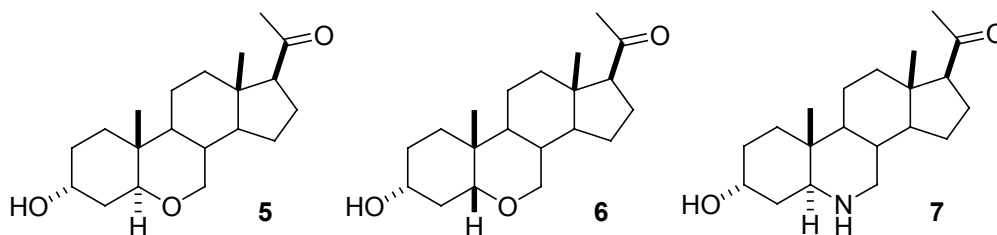


Figura 6.1 Isósteros de allopregnanolona y pregnanolona con la posición 6 modificada.

En los últimos años ha tomado importancia la síntesis y el estudio de la actividad biológica y farmacológica de compuestos azufrados debido a que el reemplazo de oxígeno por azufre suele traer aparejado un marcado cambio en la actividad biológica. Las propiedades diferenciales del azufre y el oxígeno, tanto biológicas como fisicoquímicas, son atribuidas a las diferentes propiedades electrónicas, como la electronegatividad (Witczak, 1999). Así, el mayor tamaño y polarizabilidad del átomo de azufre dan como resultado una mayor lipofilidad y una disminución en la capacidad de formación de puente hidrógeno. Si consideramos además que el enlace C-S presenta una distancia mayor (1,8 Å) y los ángulos de C-S-C (95 a 100°) son menores a los correspondientes de los compuestos oxigenados, es de esperar entonces que se observen cambios en la conformación y flexibilidad. Podemos añadir además que el azufre, al presentar otros estados de oxidación (sulfóxido ó sulfona) abre el camino a nuevos derivados con diferente momento dipolar e impedimento estérico. Estas consideraciones sumadas a los resultados previos de actividad de isómeros de allopregnanolona, hacían relevante la síntesis de isómeros de azufre de **5-7** y el estudio de su actividad biológica.

Existen en literatura dos antecedentes de síntesis de 6-tia-esteroides y en ambos casos se utilizan secoesteroides como material de partida. Speckamp y col. (Speckamp, 1974) sintetizaron las mezclas de isómeros 3-t-butiloxi-6-tia-5 α ,5 β -H-colestanos (**218**) y 3-t-butiloxi-6-tia-5 α ,5 β -H-androstanos (**219**). Suginome y col. (Suginome, 1990), sintetizaron el 6-tia-5 β -H-colestanano (**220**) a partir de colestano-6-ona mediante una secuencia que involucra la oxidación de Baeyer-Villiger.

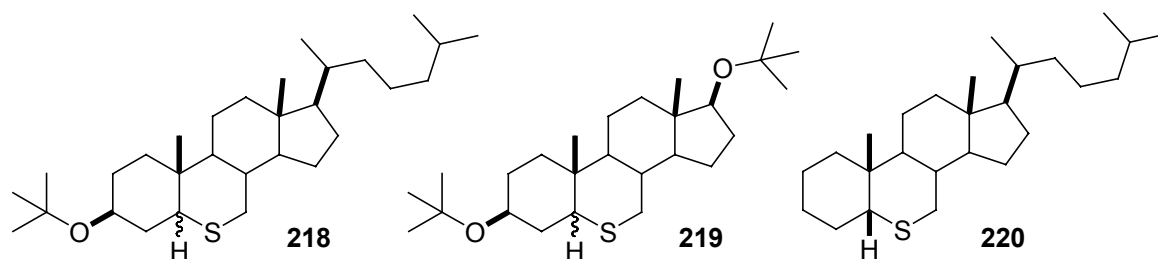


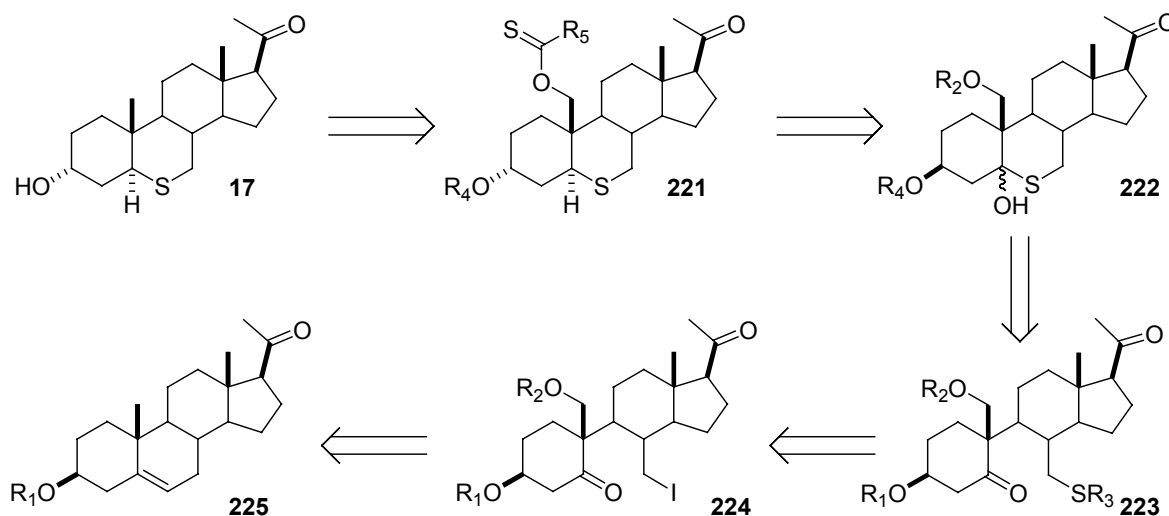
Figura 6.2 Antecedentes de 6-tia-esteroides.

Con estos antecedentes se decidió extender la metodología desarrollada en nuestro laboratorio por el Dr. Daniel Nicoletti en la síntesis de 6-oxa-análogos de

allopregnanolona (Nicoletti, 1995, 1996). En el presente capítulo se describe la síntesis de 6-tia-allopregnanolona (**17**) y sus productos de oxidación a sulfóxido (**18**) y sulfona (**19**).

2. Análisis retrosintético

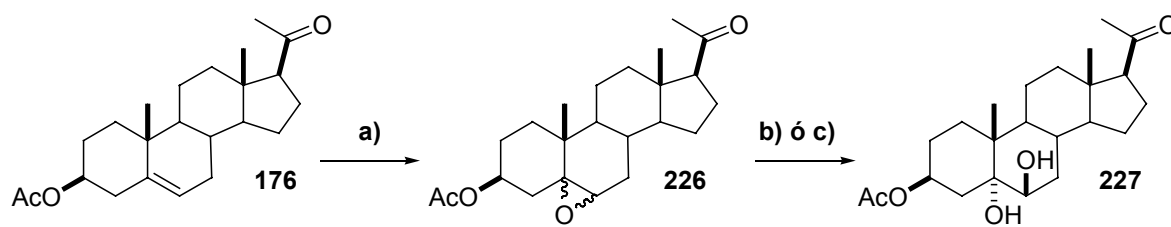
Para la obtención de 3 α -hidroxi-6-tia-5 α -H-pregnan-20-ona (**17**) se planteó que el mismo podría obtenerse de la desoxigenación radicalaria de Barton-McCombie del compuesto **221** y posterior desprotección en 3 para llegar al 3 α -hidroxiesteroide, esquema 6.1. Este compuesto se obtendría de la reducción del hemitiocetal **222** y la epimerización del alcohol en 3 β mediante una reacción de Mitsunobu. La síntesis del hemitiocetal provendría de la desprotección de un tioéster y subsiguiente adición al carbono de la cetona en 5 del compuesto **223**. Esta estructura se puede sintetizar a partir del seco esteroide **224** el cual presenta un yodo en posición 7 (adecuado para la reacción de SN₂ con un tio-carboxilato) y una cetona en 5. La síntesis de este tipo de secoesteroides esta descrita en los trabajo de Nicoletti y col. (Nicoletti, 1995, 1996) a partir de 5 α ,6 β dioles en presencia luz visible con óxido de mercurio y yodo. Estos precursores pueden sintetizarse a partir de derivados de pregnenolona ó acetato de pregnenolona (**225**).



Esquema 6.1 Retrosíntesis para el compuesto **17**.

3. Síntesis del secoesteroide 224

En un comienzo se partió de acetato de pregnenolona (**176**) para la síntesis del $5\alpha,6\beta$ diol precursor del secoesteroide **224**. Siguiendo la ruta empleada para los 6-oxa-pregnanos se sometió a **176** a la reacción de epoxidación en condiciones heterogéneas con ácido *m*-cloro-perbenzoico, obteniéndose la mezcla de epóxidos isómeros α y β (**226**) con un 98% de rendimiento. Para generar la 3β -acetiloxi- $5\alpha,6\beta$ -dihidroxi-pregnan-20-ona (**227**) se utilizaron dos reactivos diferentes, ácido sulfúrico en THF y ácido perclórico en dioxano, obteniéndose rendimientos del 75% y 95% respectivamente (esquema 6.2).

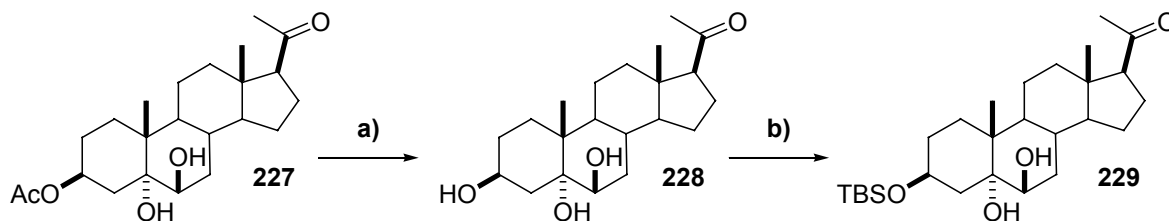


a) *m*-CPBA CH_2Cl_2 , NaHCO_3 , H_2O , 0°C , 98%; b) H_2SO_4 , THF, 75%; c) HClO_4 , dioxano, 95%.

Esquema 6.2 Síntesis del compuesto **227**.

Sabiendo que en reacciones posteriores se utilizaría tioacetato de potasio para la introducción del heteroátomo y luego se lo liberaría en medio básico, era necesario colocar en la posición 3 de **224** un grupo protector ortogonal al tioacetato en C-7 y al formiato en C-19. Ese protector debería ser a su vez resistente a las condiciones oxidativas de la reacción de ruptura. Los grupos protectores considerados en primera instancia fueron los silil éteres y los bencil éteres, pero éstos últimos se descartaron por ser susceptibles a reacciones radicalarias por la vía oxidativa. Se utilizó entonces cloruro de *t*-butildimetilsililo (TBDMSCl) que demostró ser efectivo en esa posición en esteroides similares (Back, 1994) y que por su gran tamaño, sólo reaccionaría con el hidroxilo ecuatorial de la posición 3β .

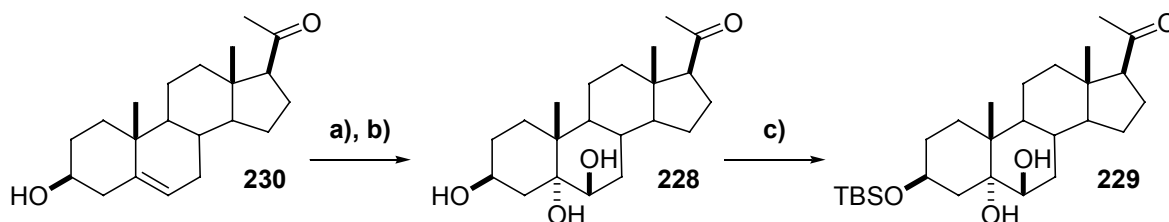
Se realizó la desprotección del acetato en condiciones básicas obteniéndose el triol **228** con un 99% de rendimiento. El mismo fue sometido a condiciones estándar de protección obteniéndose regioselectivamente el 3β -*t*-butildimetilsilil derivado **229** con un rendimiento de 93% (esquema 6.3).



a) NaOH, MeOH, 0°C (99%); b) TBSCl, 1m, DMF (93%).

Esquema 6.3 Síntesis del compuesto **229**.

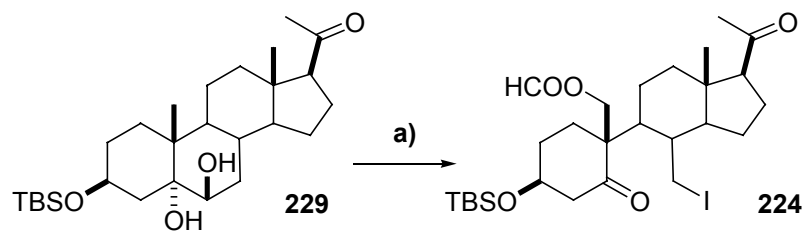
Luego de realizar una búsqueda bibliográfica sobre trioles esteroidales, se encontró que Fieser y col. (Fieser, 1949) habían descrito una metodología 'one pot' para obtener un triol análogo a **228** a partir de colesterol con buenos rendimientos, por lo cual la secuencia anterior se pudo reducir a dos etapas. Así, 3 β ,5 α ,6 β -trihidroxi-pregnan-20-ona (**228**) se obtuvo por reacción de pregnenolona (**230**) con ácido fórmico y agua oxigenada seguida de tratamiento in situ con hidróxido de sodio en metanol. El producto **228** sin purificar fue sometido a las condiciones de sililación empleadas anteriormente obteniéndose el compuesto **229** con un rendimiento de 78% desde pregnenolona (esquema 6.4).



a) HCO₂H 85%, H₂O₂ 30% v/v; b) NaOH, MeOH, 0°C; c) TBSCl, 1m, DMF.

Esquema 6.4 Síntesis alternativa de **229** en 2 etapas

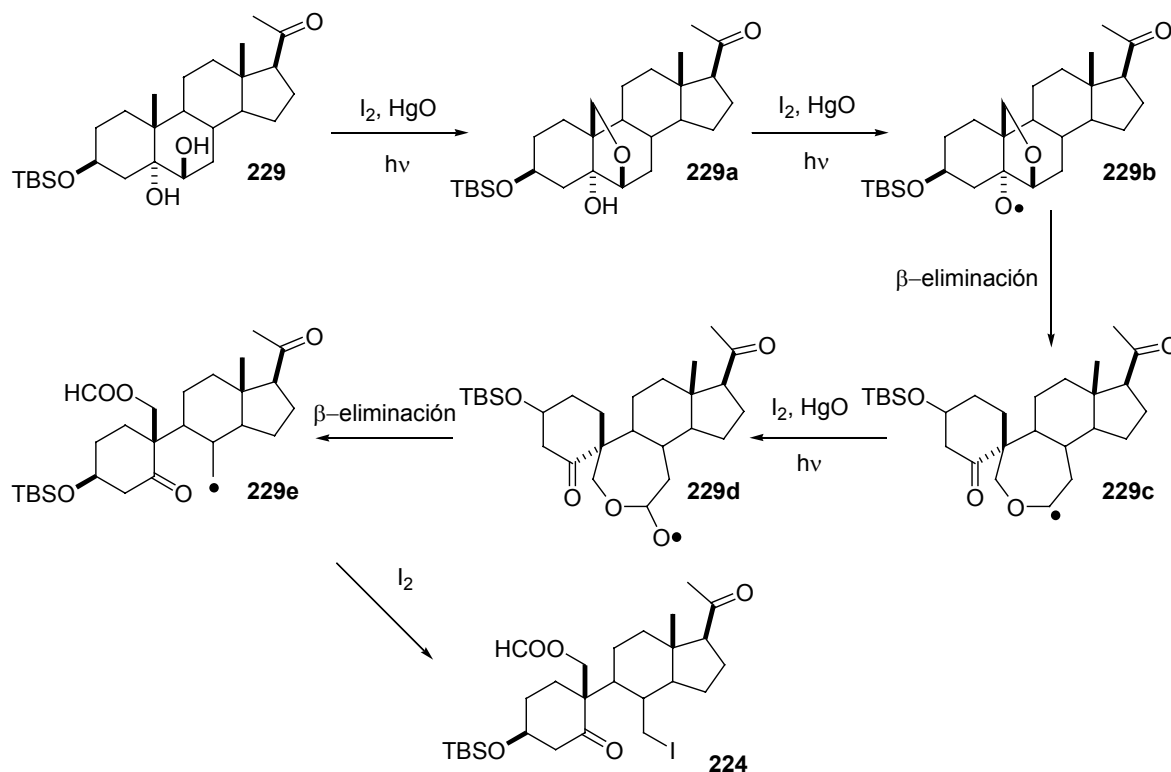
A continuación el compuesto **229** fue sometido a condiciones de ruptura oxidativa (HgO y I₂ en presencia de luz provista por dos lámparas de tungsteno de 300W de potencia); en estas condiciones se obtuvo el secoesteroide **224** con un 65% de rendimiento (esquema 6.5).



a) HgO, I₂, hv, CH₂Cl₂:CCl₄ 1:1, 65%.

Esquema 6.5 Síntesis de **224**.

Como se señaló en el capítulo 4 el óxido de mercurio y el yodo molecular son reactivos que se utilizan para realizar funcionalización remota de carbonos no reactivos; el primer producto que se forma en esta reacción es el puente oxigenado **6,19** (compuesto **229a**) como se muestra en el esquema 6.6.



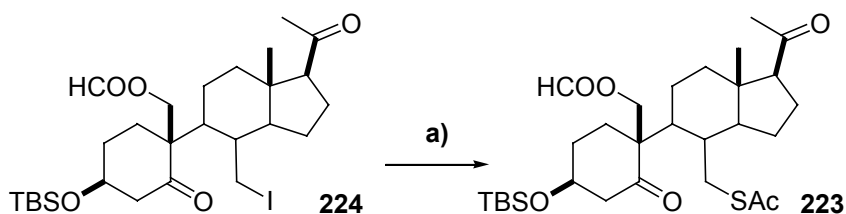
Esquema 6.6 Mecanismo de formación de **224**. (Nicoletti, 1995)

El compuesto **229a** al contar con otro grupo hidroxilo en posición 5α forma el radical alcóxido **229b** el cual ante la imposibilidad de sustraer un protón cercano sufre una reacción de β -eliminación del enlace 5,6 formando el radical **229c** estabilizado por la

presencia del oxígeno en α . En el medio oxidante de óxido de mercurio y yodo **229c** se oxida a **229d**, que vuelve a sufrir una reacción de β -eliminación, ahora del enlace 6,7. En este proceso el carbono de posición 6 queda como formiato unido al C-19 (**229e**). Este radical captura yodo del medio de reacción para formar el secoesteroide **224** (esquema 6.6). Este mecanismo fue demostrado por Nicoletti y col. para el análogo 3-acetilado. La asignación completa de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **224** se encuentra en el apéndice A.

4. Inserción del átomo de azufre

Tomando como base la experiencia de nuestro laboratorio en la síntesis de puentes azufrados 6,19 (Veleiro, 2005) se realizó la sustitución del yodo en posición 7 por el ión tioacetato como su sal potásica en acetona seca; se aisló el 7-tioacetiloxi derivado **223** con un 70% de rendimiento (esquema 6.7).



a) KSAc, acetona, 0°C a 20°C, 70%.

Esquema 6.7 Síntesis de **223**

Las señales de RMN ^1H que resultaron diagnósticas para corroborar la sustitución fueron las de los protones de C-7 que pasaron de 3,45 ppm (dd, $J= 10,8, 1,8$ Hz) y 3,14 ppm (dd, $J= 10,8, 2,8$) en el compuesto **224** a 3,05 ppm (dd, $J= 13,9, 2,8$ Hz) y 2,95 ppm (dd, $J= 13,9, 3,0$ Hz) en el compuesto **223**; la otra señal importante fue la del metilo del tioacetato observada como singulete a 2,30 ppm (figura 6.3). En el espectro de RMN ^{13}C el metileno de C-7 pasó de 17,4 ppm en el yodosecoesteroide **224** a 31,5 ppm en el tioacetato **223**.

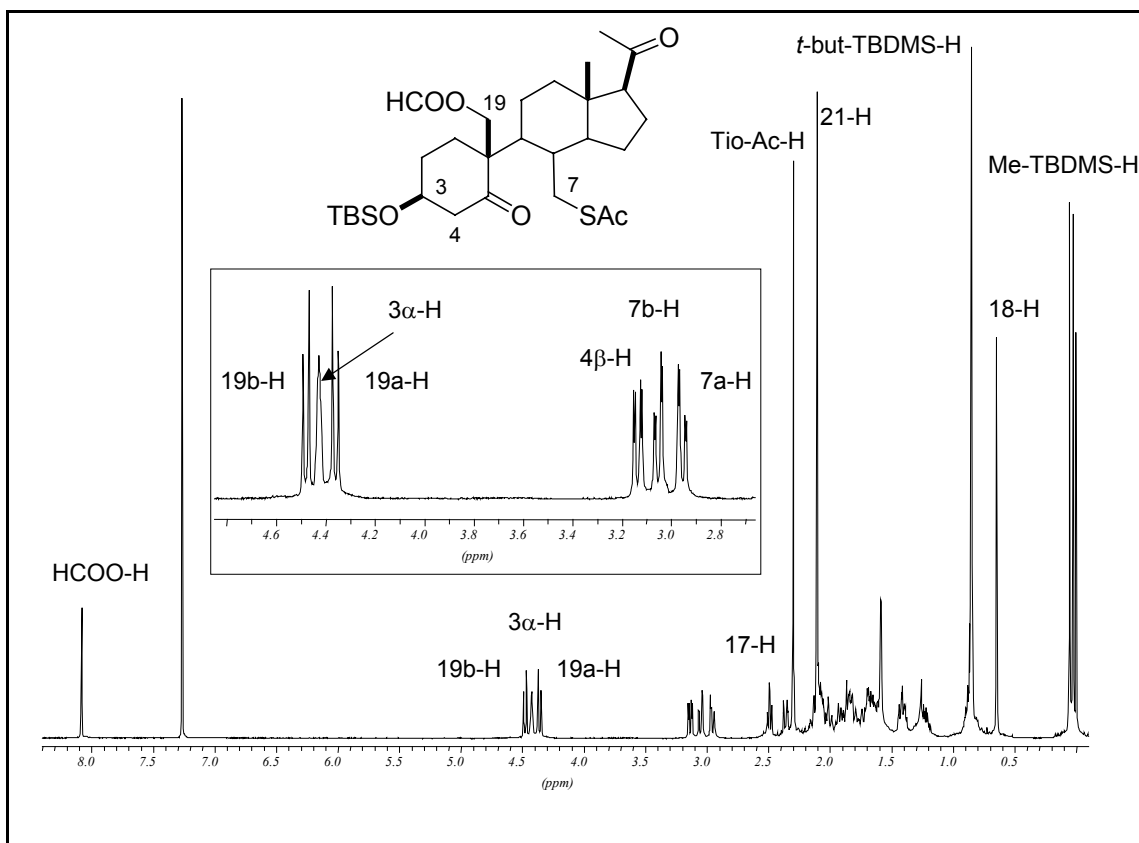
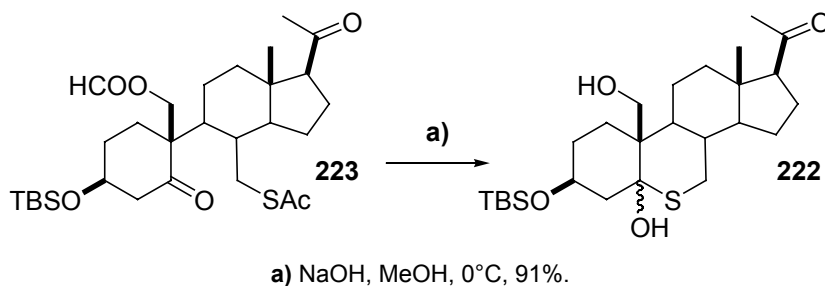


Figura 6.3 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **223**.

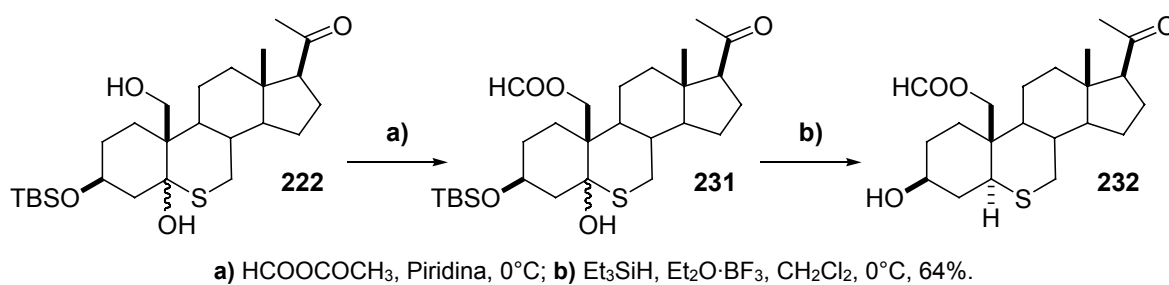
5. Síntesis del 6-tia-pregnano

Se liberó en medio básico el tiol protegido como acetato y simultáneamente también el hidroxilo de posición 19, obteniéndose así el 19-hidroxi hemitiocetal **222** como una mezcla de isómeros 5α y 5β en relación 9:1 (determinado por RMN ^1H) con un rendimiento de 91% (esquema 6.8). Intentos de separar los hemitiocetales derivaron en la formación de mezclas equimolares de los mismos.



Esquema 6.8 Síntesis de la mezcla de isómeros **222**.

Para poder reducir el hemitioacetal **222** se protegió el hidroxilo de 19 mediante una formilación, obteniéndose el derivado **231**; la reducción se realizó con trietilsilano en presencia de trifluoruro de boro eterato. En las primeras experiencias se obtuvieron mezclas de compuestos parcialmente desprotegidos en posición 3, manteniéndose el formiato en 19; este resultado se adjudicó a que el ión fluoruro, liberado en la reacción producía la ruptura del silil éter en posición 3. Para lograr la desprotección completa y regioselectiva del 3 β -hidroxilo, se optimizó el tratamiento final de la muestra para que se liberase el ión fluoruro necesario para obtener únicamente el compuesto **232** con un rendimiento de 64% (esquema 6.9).



Esquema 6.9. Reducción del hemitioacetal de **232**.

Al analizar el espectro de RMN ^1H del compuesto **232** se observó la desaparición de las señales del TBDMS y la aparición de una nueva señal de hidrógeno unido a carbono de azufre a 2,72 ppm (dd, $J = 13,4, 3,6$ Hz) como se puede observar en la figura 6.4.

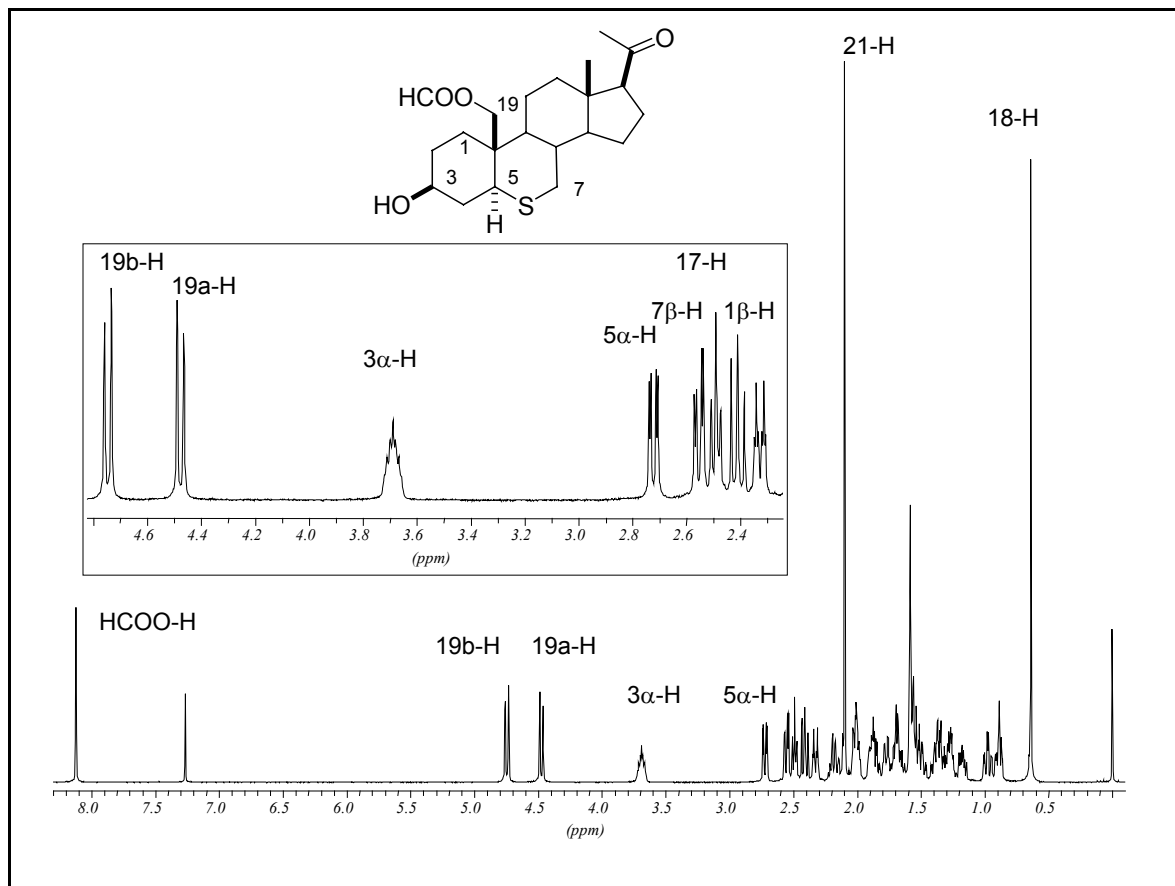


Figura 6.4 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **232**.

Debido a la diastereoespecificidad final de la reacción el isómero $5\alpha\text{-H}$ fue el único obtenido (compuesto **232**); este resultado se puede explicar considerando el mecanismo de la reacción, que implica la sustracción del hidroxilo hemitiocetálico por el trifluoruro de boro eterato y formación del ión tiocarbenio. Este ión debido al impedimento estérico sólo puede ser reducido por la cara α . Además, factores estereoelectrónicos favorecen el ataque axial (efecto anomérico). Un resultado análogo se ha observado en reacciones de los análogos oxigenados (Nicoletti, 1996). La confirmación de la estereoquímica del isómero obtenido se hizo mediante un experimento NOESY, donde se observó la correlación del hidrógeno 5α con los hidrógenos axiales de las posiciones 1α , 3α , 7α y 9α (figura 6.5).

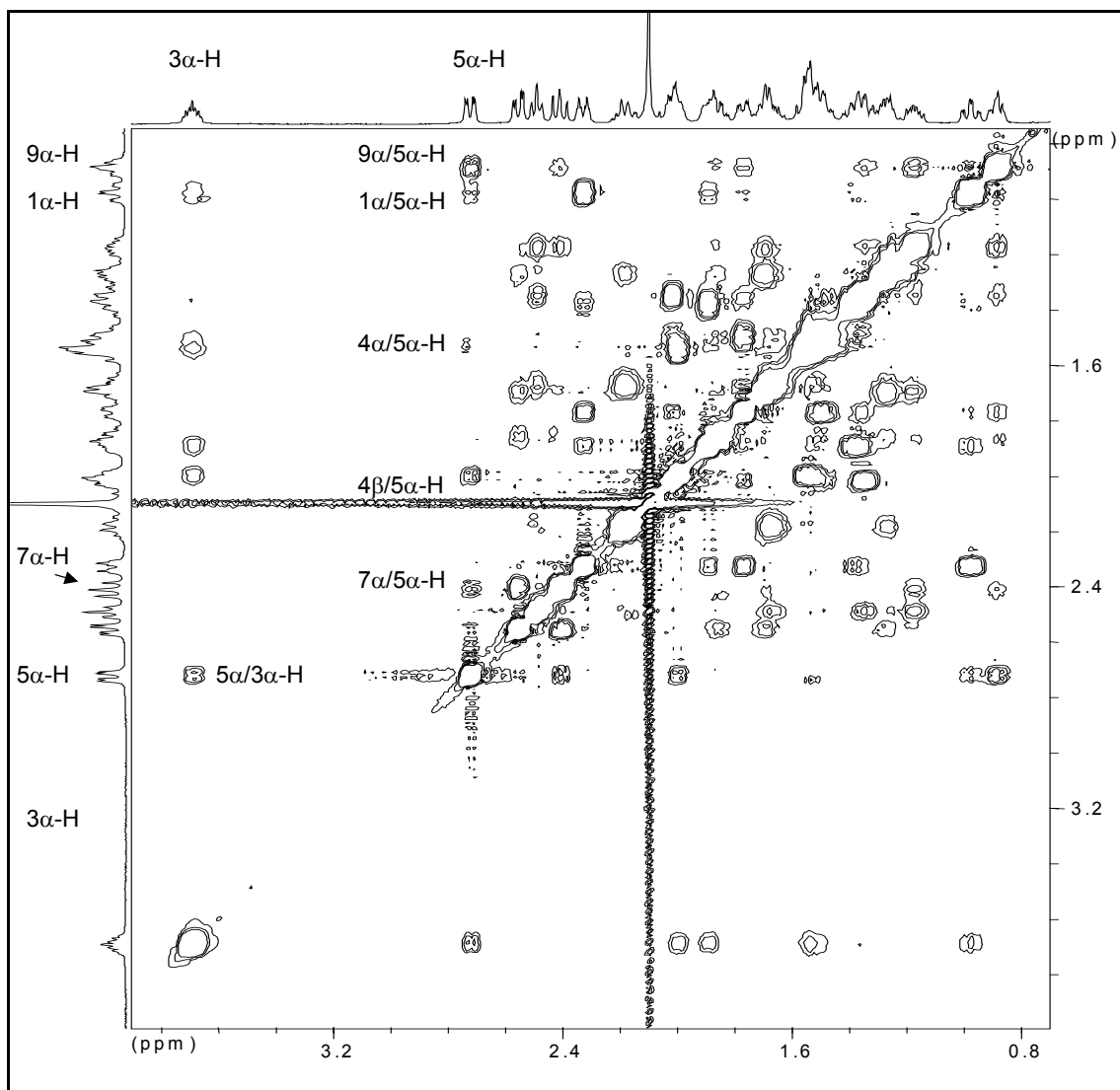
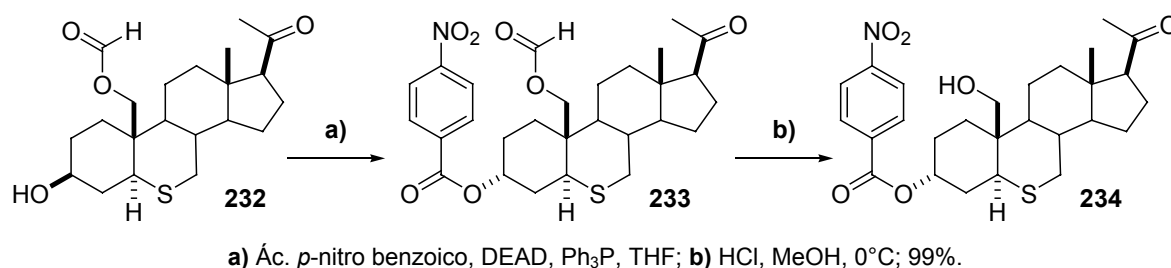


Figura 6.5 Espectro NOESY (500 MHz) del compuesto **232**.

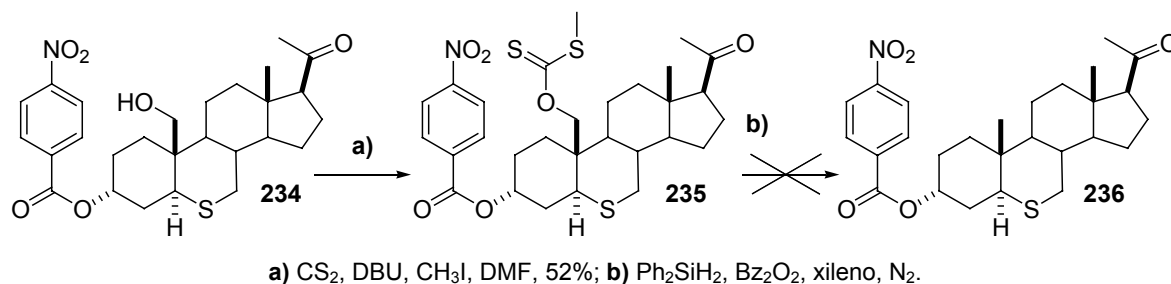
6. Síntesis del análogo 17

En este estamento se utilizó la diferencia de reactividad de los hidroxilos de las posiciones 3 y 19, que permitió invertir directamente y en un sólo paso la configuración de C-3 mediante una reacción de Mitsunobu (como se mencionó en el Capítulo 1, la presencia de un hidroxilo en 3 α es necesaria para que el esteroide se comporte como agonista de GABA_A). En esta etapa, resultaba muy importante la elección del ácido a utilizar, ya que el éster formado tendría configuración 3 α axial. Los acetatos y benzoatos en esa posición necesitan condiciones básicas relativamente drásticas de hidrólisis, por lo

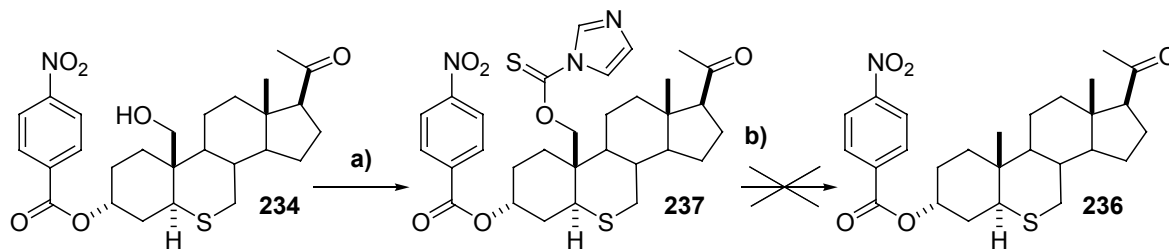
tanto cabría la posibilidad de provocar en esas condiciones la isomerización de la cadena lateral en 17β , generando el epímero 17α pseudoecuatorial, sin actividad biológica. Se decidió por lo tanto utilizar un ácido más fuerte como sustrato para la reacción de Mitsunobu, que permitiera la hidrólisis en condiciones suaves. El ácido *p*-nitrobenzoico resultó adecuado ya que está descrita su utilización en la reacción de Mitsunobu y no se encontraba en bibliografía antecedentes de incompatibilidad con reacciones radicalarias. Se realizó la reacción de inversión de configuración y el compuesto **233** sin purificar se sometió a la reacción de hidrólisis del formiato de C-19 obteniendo el compuesto **234** con un 92% de rendimiento desde **232**.

Esquema 6.10 Síntesis de **234**

El paso siguiente fue la síntesis del derivado tiocarbonílico para la desoxigenación de Barton-McCombie; para ello se sintetizó el xantato **235** con un rendimiento de 60% luego de su purificación por sílica gel (Barton, 1975). La desoxigenación se realizó utilizando difenilsilano como reductor y peróxido de benzoilo como iniciador en xileno a reflujo. En esas condiciones se obtuvo una mezcla compleja de compuestos entre los que no se pudo detectar el producto buscado. Se atribuyó este resultado a la alta temperatura de reacción, necesaria para la generación del radical neopentílico a partir del xantato (esquema 6.11).

Esquema 6.11 Síntesis de **236**

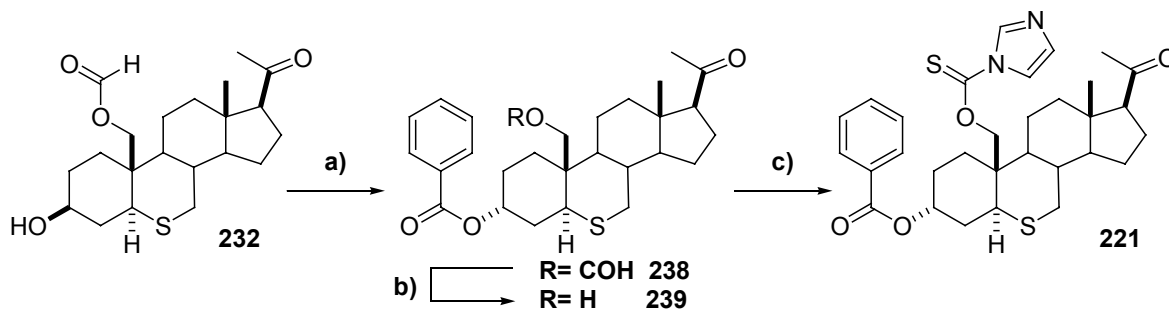
Con el fin de poder realizar la reacción a menor temperatura se cambió el grupo tiocarbónico como generador del radical en C-19, reemplazando el xantato por tiocarbonilimidazol mucho más reactivo. A partir del compuesto **234** se sintetizó el derivado **237** por reacción con tiocarbonildiimidazol en diclorometano a reflujo con un rendimiento de 76%. Sin embargo, al someter el mismo a la reacción de reducción con difenilsilano y AIBN en tolueno, se obtuvo un resultado similar al anterior (esquema 6.12)



a) TCDI, CH_2Cl_2 , reflujo, 76%; b) Ph_2SiH_2 , AIBN, tolueno, reflujo, N_2 .

Esquema 6.12. Síntesis alternativa de **236**

Como consecuencia de este resultado y a pesar de no haber encontrado antecedentes al respecto, se sospechó que la presencia del grupo nitro en el anillo aromático podría ser responsable del fracaso de la reacción de desoxigenación, posiblemente por formación de productos de reducción. Se decidió entonces cambiar el ácido p-nitro-benzoico por ácido benzoico en la reacción de Mitsunobu sobre **232**, obteniéndose **238** con un 93% de rendimiento. La hidrólisis ácida de **238** dio el compuesto deformilado **239** (99% de rendimiento), que se trató con tiocarbonildiimidazol para dar el compuesto **221**, con 85% de rendimiento (esquema 6.13).

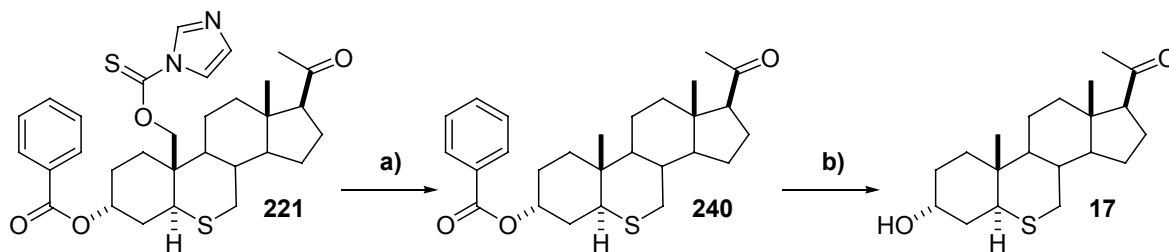


a) Ác. benzoico, DEAD, Ph_3P , THF; b) HCl, MeOH, 0°C ; 99%; c) TCDI, CH_2Cl_2 , reflujo, 85%.

Esquema 6.13 Síntesis de **221**.

La reacción del compuesto **221** con difenilsilano y AIBN en tolueno en las mismas condiciones que las usadas con el *p*-nitrobenzoato **237** dio como único producto (ccd) el proveniente de la desoxigenación radicalaria de C-19 (esquema 6.14). En el espectro de RMN ^1H de **240** se observó la desaparición de las señales de los H-19 del imidazoliltiocarbonato (dobletes a 5,34 y 4,89 ppm) y la aparición de un singulete a 1,09 ppm asignado al grupo metilo. El compuesto **240** no pudo ser separado de los subproductos provenientes del difenilsilano, ni por columna ni por recristalización, se decidió entonces proceder directamente a la hidrólisis del benzoato y purificar el producto final. Como se mencionó (pág. 131) el benzoato en posición 3α sólo es hidrolizable en condiciones drásticas, como por ejemplo metóxido de sodio en metanol, sin embargo estas condiciones provocarían la isomerización de la cadena en 17β .

Teniendo como antecedente la hidrólisis del acetato en 3β observada durante los intentos de sustitución en los 6,19-sulfamidatos cíclicos (capítulo 4) y la utilidad del metiltiolato de sodio para la hidrólisis de tioacetatos, se ensayó la hidrólisis del benzoato en 3α con éste reactivo. Pruebas preliminares con el benzoato de allopregnanolona, mostraron que la reacción de desprotección ocurría con buen rendimiento usando metiltiolato de sodio en DMF a 100°C . Al realizar la desprotección de **240**, se obtuvo con éxito el producto deseado **17** con un 71% de rendimiento desde el tiocarbonil derivado **221** (esquema 6.14)



a) Ph_2SiH_2 , AIBN, tolueno, reflujo, N_2 ; b) CH_3SNa , DMF, 100°C .

Esquema 6.14 Obtención del 6-tiapregnano **17**

En el espectro de RMN ^1H de **17** se corroboró la presencia de las señales de los protones adyacentes a carbono unido a azufre (posiciones 5 y 7), la señal del hidrógeno ecuatorial de 3β y el singulete del metilo 19 a 1,03 ppm (figura 6.6). La asignación completa de las señales de RMN ^1H y ^{13}C de **17** se muestran en la tabla 6.1.

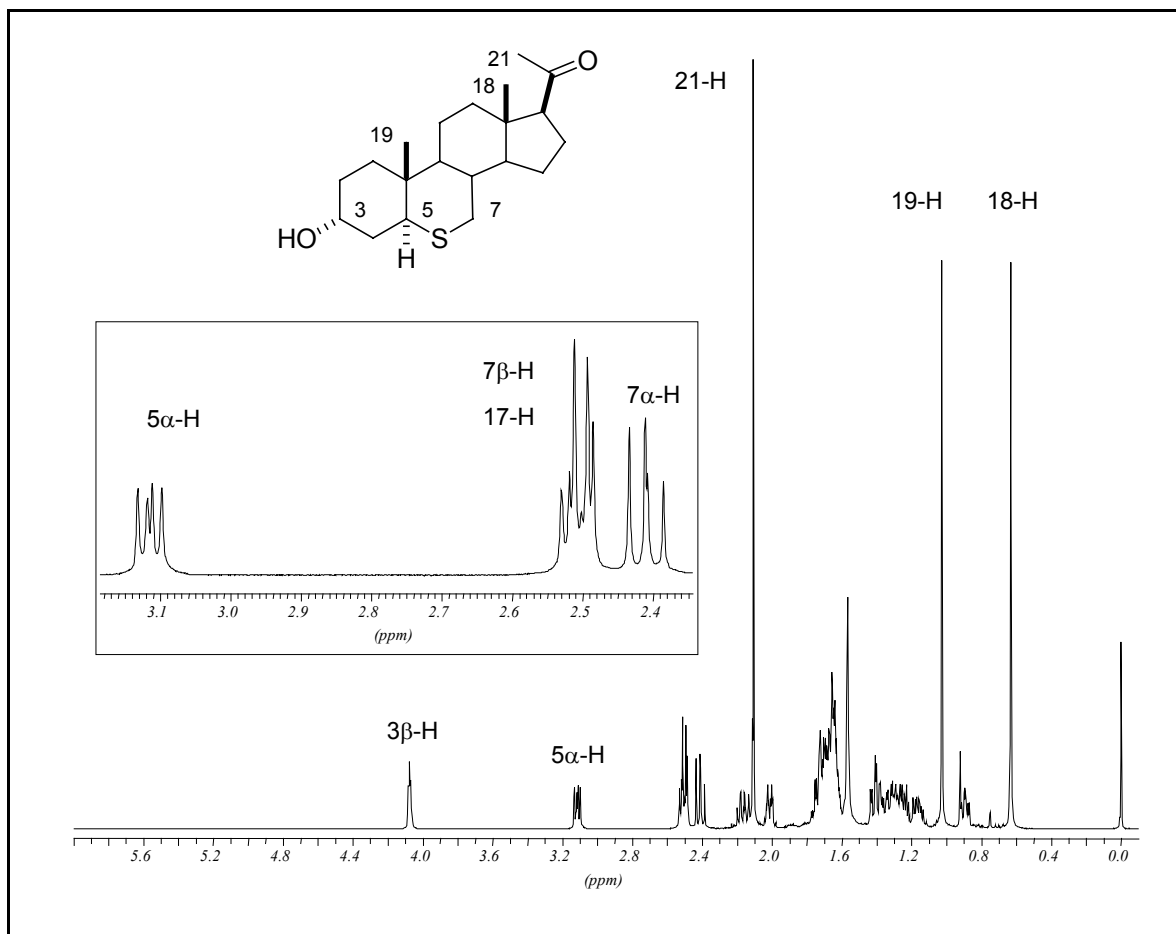


Figura 6.6 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **17**.

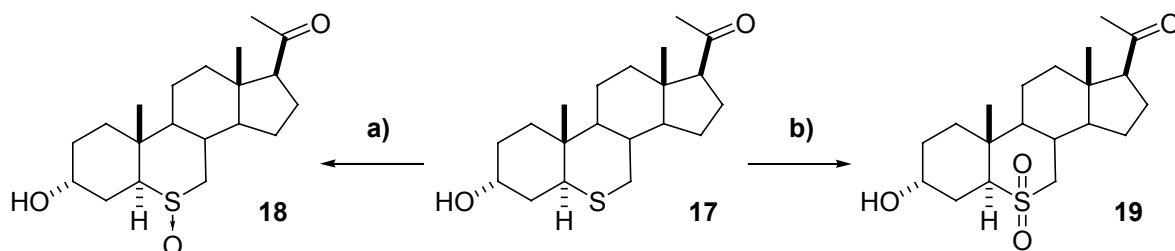
Tabla 6.1 Asignación de espectros de RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) de **17**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]					
		α	m, J [Hz]		β		m, J [Hz]
1	31,0	1,40	---	---	---	1,64	---
2	28,5	1,67	---	---	---	1,72	---
3	65,8	---	---	---	---	4,08	---
4	34,9	1,65	---	---	---	1,65	---
5	45,5	3,12	<i>dd</i> , 10,4; 6,7	---	---	---	---
7	34,3	2,45	<i>dd</i> , 13,1; 11,2	---	---	2,55	<i>dd</i> , 13,1; 3,8
8	36,9	---	---	---	---	1,74	---
9	54,1	0,90	---	---	---	---	---
10	37,1	---	---	---	---	---	---
11	21,0	1,72	---	---	---	1,33	---
12	38,8	1,40	---	---	---	2,06	<i>da</i> , 11,6
13	44,0	---	---	---	---	---	---
14	56,7	1,17	---	---	---	---	---
15	24,3	1,70	---	---	---	1,25	---
16	22,7	1,66	---	---	---	2,17	---
17	63,6	2,56	<i>t</i> , 9,3	---	---	---	---
18	13,2	---	---	0,63	<i>s</i>	---	---
19	11,4	---	---	1,03	<i>s</i>	---	---
20	209,2	---	---	---	---	---	---
21	31,4	---	---	2,11	<i>s</i>	---	---

7. Síntesis de los análogos oxidados

Una vez sintetizado el compuesto **17**, se procedió a la síntesis de los productos de oxidación del azufre en posición 6. Para ello se utilizó el protocolo de Trost y Curran donde el reactivo oxidante es oxone® (monoperoxisulfato de potasio) en una mezcla de metanol-agua; esta metodología presenta la ventaja de ser compatible con la presencia

de hidroxilos en la molécula (Trost, 1981). Del tratamiento a tiempos cortos y baja temperatura se obtuvo el sulfóxido **18** con un 87% de rendimiento (esquema 6.15). La asignación completa de las señales de RMN ^1H y ^{13}C se encuentra en la tabla 6.2 y el espectro RMN ^1H se muestra en la figura 6.7.



a) Oxone®, MeOH, 0°C, 5 min, 87%; b) Oxone®, MeOH, 20°C, 5 hs, 90%.

Esquema 6.15 Síntesis de los derivados oxidados de **17**.

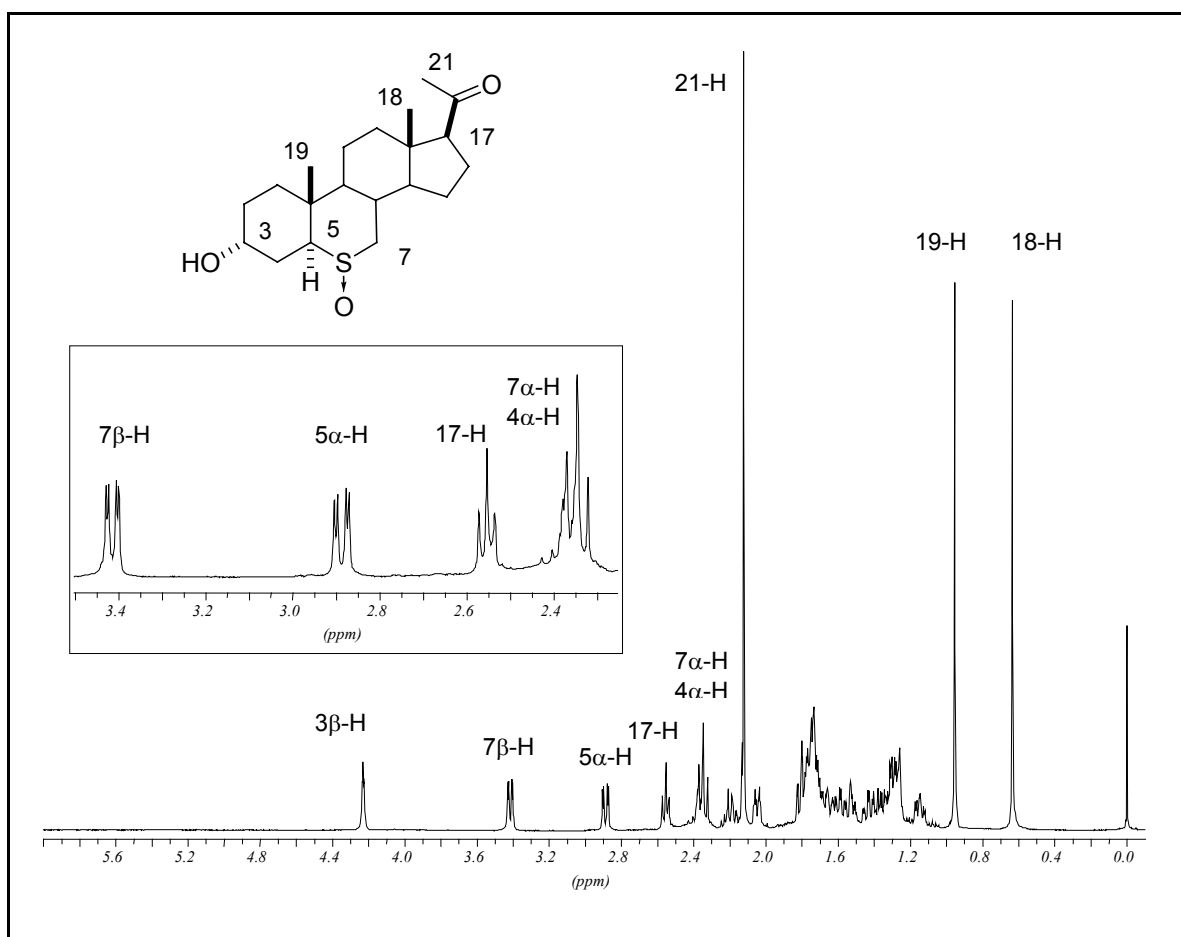


Figura 6.7 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **18**.

Tabla 6.2 Asignación de espectros de RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) de **18**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]					
		α	m, J [Hz]		m, J [Hz]	β	m, J [Hz]
1	32,0	1,50	---	---	---	1,57	dd, 13,1; 4,0
2	27,6	1,72	---	---	---	1,64	---
3	64,3	---	---	---	---	4,23	---
4	29,1	2,36	---	---	---	1,78	td, 13,4; 2,1
5	64,7	2,89	dd, 13,2; 3,7	---	---	---	---
7	56,4	2,35	ta, 12,2	---	---	3,41	dd, 11,6; 2,8
8	33,5	---	---	---	---	1,79	---
9	53,4	1,15	td, 11,4; 4,1	---	---	---	---
10	38,9	---	---	---	---	---	---
11	20,1	1,72	---	---	---	1,30	---
12	38,3	1,42	---	---	---	2,05	da, 12,2
13	43,9	---	---	---	---	---	---
14	55,4	1,39	---	---	---	---	---
15	24,5	1,74	---	---	---	1,31	---
16	22,7	1,73	---	---	---	2,19	---
17	63,3	2,55	t, 8,9	---	---	---	---
18	13,2	---	---	0,64	s	---	---
19	13,1	---	---	0,95	s	---	---
20	208,7	---	---	---	---	---	---
21	31,4	---	---	2,12	s	---	---

Para la síntesis de la sulfona **19** se utilizaron tiempos largos y temperatura ambiente, obteniéndose el producto buscado con un 90% de rendimiento (esquema 6.15). La asignación completa de las señales de RMN ¹H y ¹³C se encuentran en la tabla 6.3 y el espectro de RMN ¹H de **19** se muestra en la figura 6.8.

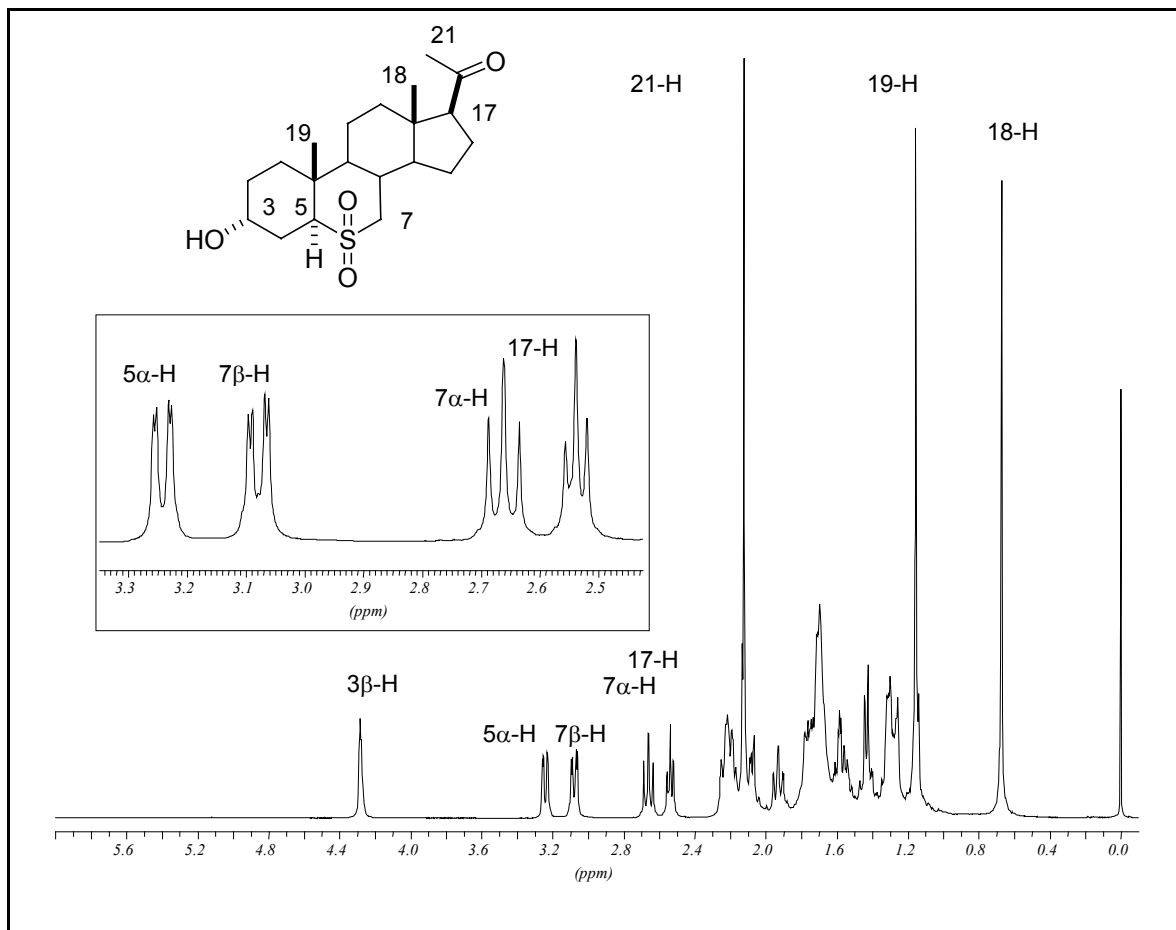
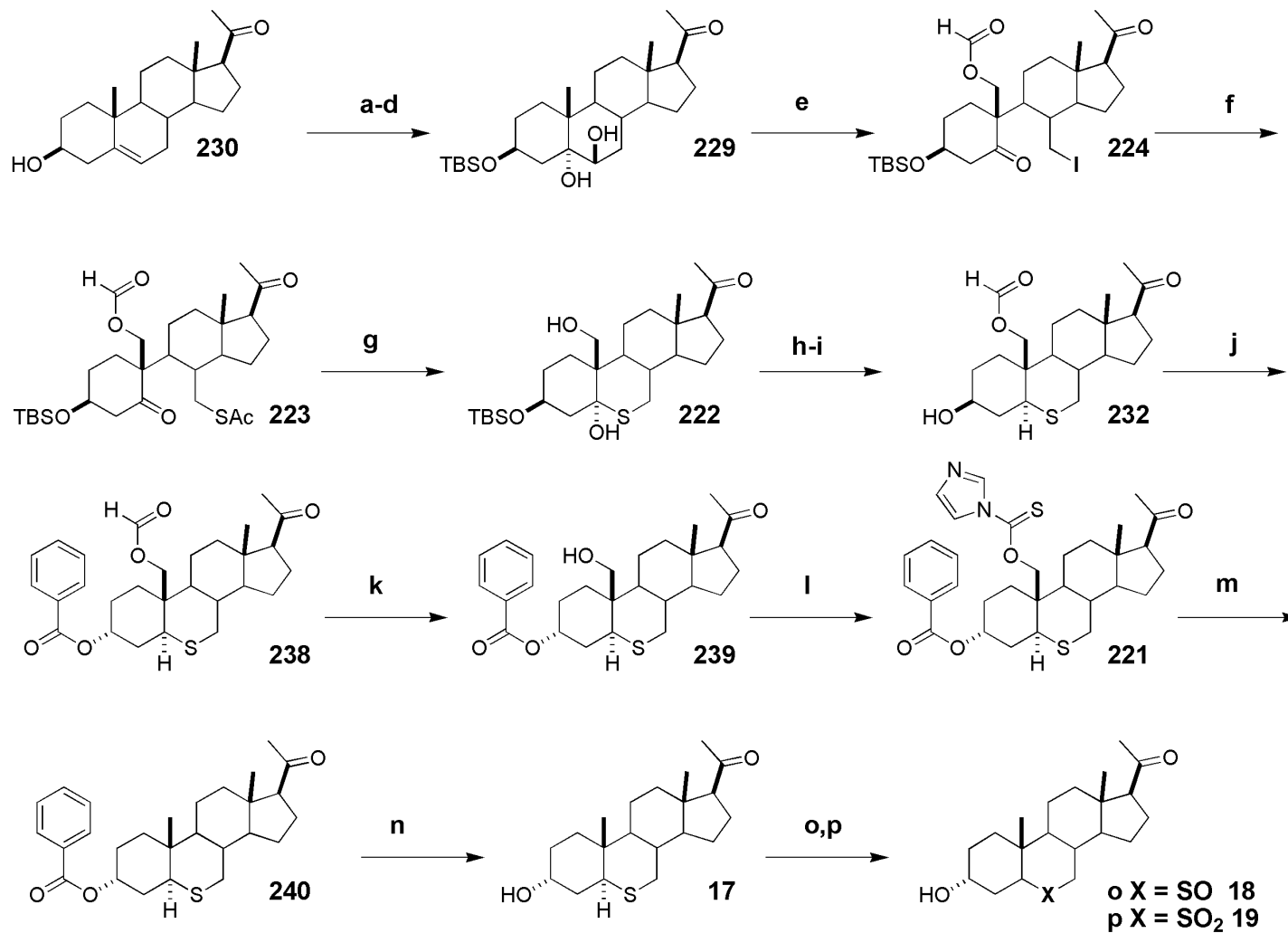


Figura 6.8 Espectro de RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **19**.

En el esquema 6.16 se resume la secuencia sintética seguida para obtener los 6-tia-derivados **17**, **18** y **19**.

Tabla 6.3 Asignación de espectros de RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) de **19**

	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]					
		α	m, J [Hz]		m, J [Hz]	β	m, J [Hz]
1	32,9	1,53	---	---	---	1,59	---
2	27,7	1,70	---	---	---	1,70	---
3	64,2	---	---	---	---	4,28	---
4	23,9	2,24	---	---	---	1,93	<i>td</i> , 13,4; 2,1
5	61,2	3,24	<i>dd</i> , 12,9; 2,6	---	---	---	---
7	56,2	2,66	<i>t</i> , 13,4	---	---	3,08	<i>dd</i> , 13,9; 3,4
8	34,2	---	---	---	---	2,20	---
9	52,5	1,15	---	---	---	---	---
10	39,4	---	---	---	---	---	---
11	20,8	1,77	---	---	---	1,43	---
12	38,2	1,43	---	---	---	2,07	---
13	43,8	---	---	---	---	---	---
14	54,8	1,31	---	---	---	---	---
15	24,1	1,67	---	---	---	1,32	---
16	22,6	1,73	---	---	---	2,20	---
17	63,2	2,54	<i>t</i> , 9,2	---	---	---	---
18	13,1	---	---	0,67	<i>s</i>	---	---
19	12,2	---	---	1,16	<i>s</i>	---	---
20	208,5	---	---	---	---	---	---
21	31,4	---	---	2,12	<i>s</i>	---	---



Reactivos a) HCOOH; **b)** H₂O₂ 30%; **c)** NaOH, MeOH; **d)** TBDMSCl, DMF, Im; **e)** I₂, HgO, Cl₄C: Cl₂CH₂, hvv; **f)** KSAc, acetona; **g)** NaOH, MeOH; **h)** HOCOCOCH₃, Py; **i)** Et₃SiH, BF₃.Et₂O, Cl₂CH₂; **j)** Acido benzoico, Ph₃P, DEAD, THF; **k)** HCl, MeOH; **l)** TCDI, Cl₂CH₂; **m)** Ph₂SiH₂, AIBN, Tolueno, Δ; **n)** NaSCH₃, DMF, Δ; **o)** Oxone, 1.3 eq, MeOH 0° C; **p)** Oxone, 3 eq, MeOH.

Esquema 6.16 Síntesis general de 6-tiapregnanos

Capítulo 7

Actividad biológica de 6-tia-pregnanos análogos
de allopregnanolona

Actividad biológica de 6-tia-pregnanos análogos de allopregnanolona

Como se mencionó en el capítulo 1, al reemplazar el metileno de posición 6 por oxígeno o nitrógeno, cuando se realizan los ensayos de inhibición de la unión del [³⁵S]-TBPS, potenciación de la unión de [³H]-flunitrazepam y [³H]-muscimol sobre el receptor GABA_A, se observó una disminución de la actividad en el caso del oxígeno y la pérdida de la misma en el caso del nitrógeno con respecto al neuroesteroide allopregnanolona. El reemplazo por azufre en esa posición ofrece la ventaja de presentar un elemento de mayor polaridad, mayor flexibilidad y una menor capacidad como aceptor de puente de hidrógeno. Además la posibilidad de tener distintos estados de oxidación permite obtener análogos con mayor solubilidad en medios acuosos.

Se realizaron los estudios de desplazamiento de [³⁵S]-TBPS y potenciación de la unión de [³H]-flunitrazepam al receptor GABA_A, sobre los compuestos **17**, **18** y **19** sintetizados (capítulo 6). Los ensayos fueron realizados por el Dr. Héctor Coirini (IBYME, CONICET).

Desplazamiento de [³⁵S]-TBPS

En la figura 7.1 se presentan las curvas de unión de [³⁵S]-TBPS en función de la concentración de allopregnanolona y los compuestos azufrados **17**, **18** y **19**. Se observa una ligera disminución de la actividad del 6-tia derivado **17** ($\pm C_{50}$ 171,2 ± 39,2 nM) respecto de allopregnanolona (93,8 ± 14,1 nM), una caída mayor para el sulfóxido **18** (241,1 ± 97,0 nM) y un valor intermedio para la sulfona **19** (200,3 ± 37,1 nM).

Potenciación de la unión de [³H]-flunitrazepam

Los resultados se presentan en la figura 7.2. En este caso se observa que el 6-tia derivado **17** produjo una potenciación similar a allopregnanolona del orden del 20%, el sulfóxido **18** produjo una potenciación mayor a bajas dosis pero que a concentraciones mayores muestra valores del orden de los de allopregnanolona y 6-tia allopregnanolona (60%) y la sulfona **19** presenta la máxima potencia con valores cercanos al 100% en todo el rango de concentraciones ensayado.

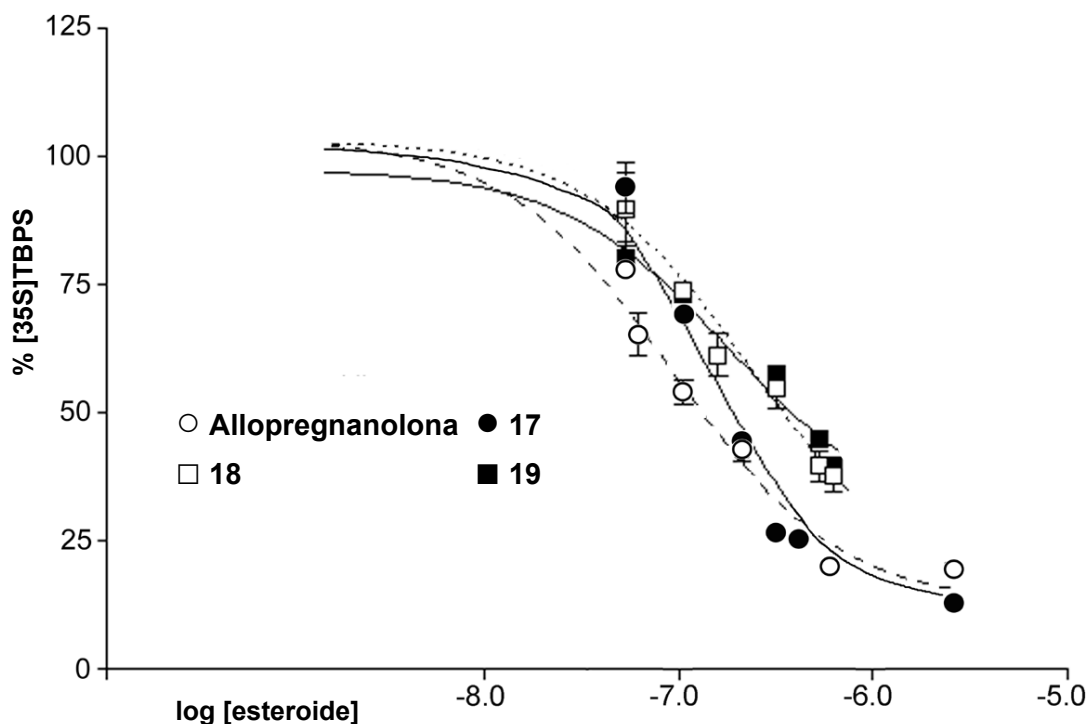


Figura 7.1 Desplazamiento de $[^{35}\text{S}]$ TBPS vs. Concentración de esteroide.

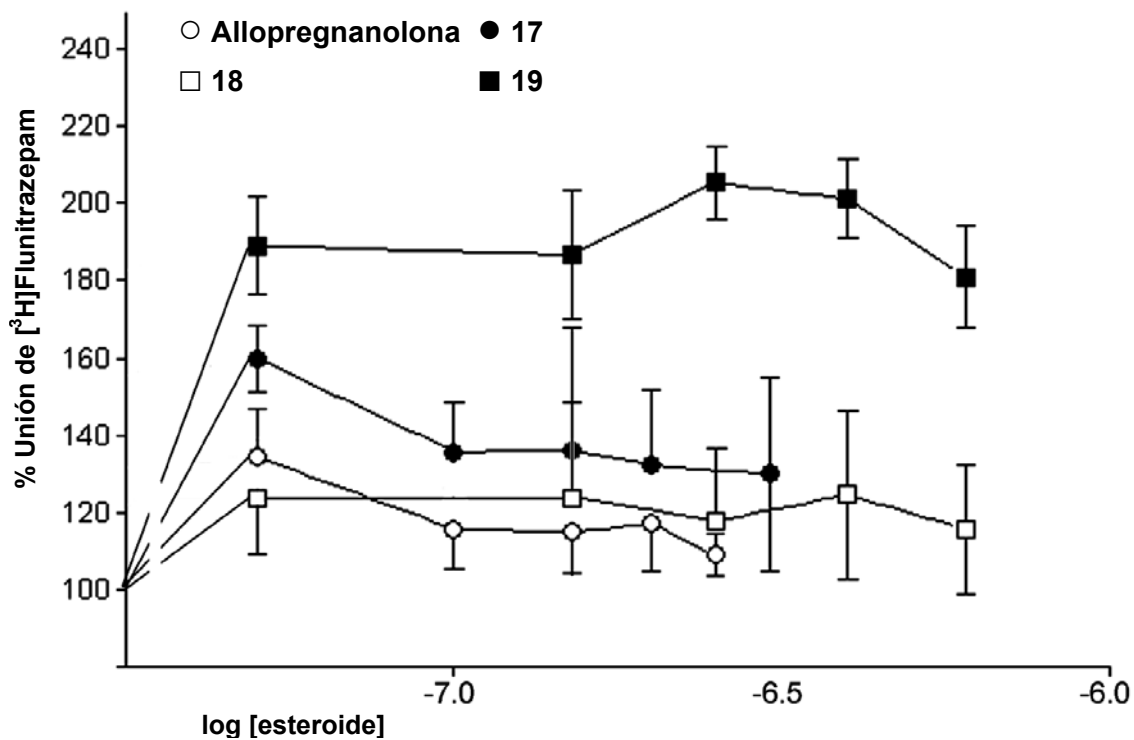


Figura 7.2 Porcentaje de unión de $[^3\text{H}]$ Flunitrazepam a GABA_A vs. Log [esteroide].

Conclusiones

Los esteroides **17**, **18** y **19** presentaron una IC₅₀ similar a allopregnanolona para la unión de [³⁵S]-TBDPS, diferenciándose de los compuestos oxigenados que presentaron una caída de 2 órdenes de magnitud y los nitrogenados que no presentaron actividad con respecto a los esteroides naturales.

Con respecto al ensayo de potenciación del [³H]-flunitrazepam se observó que con el aumento del estado de oxidación del azufre aumentaba la potencia del compuesto. Este resultado es especialmente interesante ya que la sulfona **19** podría en combinación con benzodiazepinas potenciar el efecto de las mismas logrando actividad farmacológica con dosis menores.

Capítulo 8

Parte Experimental

Generalidades

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

Los espectros IR se determinaron en discos de KBr en un espectrómetro Nicolet Magna 550. En este capítulo se listan las bandas de absorción más importantes y características para cada compuesto.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) se realizaron a 200,12 o 500,13 MHz en espectrómetros Bruker AC-200 y AM-500 respectivamente. Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono (RMN ^{13}C) se realizaron a 50,32 o 125,77 MHz en espectrómetros Bruker AC-200 y AM-500 respectivamente. Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) realizados en Francia (ICSN, CNRS) se realizaron a 250,00 o 300,00 MHz en espectrómetros Bruker AM-250 y AM-300 respectivamente. Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono (RMN ^{13}C) se realizaron a 62,50 o 75,00 MHz en espectrómetros Bruker AM-250 y AM-300 respectivamente. En todos los casos se utilizó cloroformo-d como solvente, a menos que se indique lo contrario, en tubos de 5 mm de diámetro. Los desplazamientos químicos para RMN ^1H se expresan en la escala δ , en partes por millón (ppm) respecto 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), triplete (t), cuarteto (c), quinteto (q), doble doblete (dd), multiplete (m) y doblete ancho (da). Los desplazamientos químicos RMN ^{13}C se expresan en ppm utilizando como referencia el pico central correspondiente a la señal del cloroformo-d (77,0 ppm). Los datos de RMN detallados en este capítulo se obtuvieron en el espectrómetro AC 200 a menos que se indique lo contrario.

Los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos descritos en este capítulo se encuentran detallados en el **Apéndice A** ó donde se indique en cada caso. La multiplicidad de las señales se determinó por la técnica de incremento libre de distorsión por transferencia de polarización (DEPT 135).

La asignación completa del espectro protónico de los compuestos descritos en este capítulo se realizó utilizando una combinación de técnicas mono y bidimensionales. La estrategia básica consistió en la medición de los espectros de RMN ^{13}C , ^1H y DEPT-135, asignando la mayor cantidad de señales posibles. El paso siguiente fue la medición de un espectro de correlación heteronuclear (HETCOSY) con desacople ^1H - ^1H para

obtener los desplazamientos químicos de cada uno de los protones en la región de mayor superposición de señales (0,8-2,4). La verificación de estas señales se realizó por comparación con espectros de correlación homonuclear (COSY-45) o (COSY-90). Cuando fue necesario determinar o confirmar la orientación espacial de algún grupo presente en la molécula se recurrió al espectro NOESY.

Los espectros de masa por introducción directa se realizaron en los espectrómetros de masa Trio-2 VG Masslab y Shimadzu QP-5000, ionizando por impacto electrónico a 70 eV (UMYMFOR, CONICET, FCEN-UBA). Los espectros de masa de ionización química se realizaron en un espectrómetro Kratos MS80 (ICSN-CNRS). Los espectros de masa de alta resolución (EMAR) se realizaron en un espectrómetro ZAB-SEQ BEQQ (VG analytical) (IE) (LANAIS-EMAR, CONICET-FCEN, UBA), o en un Kratos MS80 (IC) (ICSN, CNRS), o en un Finnegan Navigator Aqua Thermoquest (IES) (ICSN, CNRS). Los EM listados en este capítulo se realizaron por IE a no ser que se indique lo contrario.

Las cromatografías analíticas en capa delgada se realizaron utilizando la técnica ascendente en soporte de aluminio o vidrio (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck) salvo que se indique lo contrario. La detección se realizó por inmersión de las placas en una solución de ácido sulfúrico 10% en etanol o una solución de Ce(SO₄)₂ 0,1 % y Mo₇O₂₄(NH₄)₆ al 5 % p/v en H₂SO₄ 10 % y posterior calentamiento a 120°C, o por detección al UV ($\lambda=254\text{nm}$).

Las cromatografías en capa preparativa para muestras de hasta 25 mg se realizaron en cromatoplacas para CCD en soporte de aluminio o vidrio (Silicagel 60 F₂₅₄).

Las cromatografías flash (CF) en columna se realizaron según la referencia de Still y col. (Still, 1978), utilizando sílica gel (Silicagel 60, malla 230-400 Merck) y aplicando presión de nitrógeno para acelerar el paso del solvente de elución, que se indica en cada caso.

Las cromatografías flash en columna seca (CFCS) se realizaron según la referencia de Harwood y col. (Silicagel 60 G, Merck) empleando embudos con placa filtrante de vidrio sinterizado y haciendo vacío para acelerar el paso del solvente de elución, que se indica en cada caso (Harwood, 1985).

Los microanálisis fueron realizados por la Lic. María de las Mercedes Rivero (UMYMFOR, CONICET-FCEN) o en el laboratorio de microanálisis del ICSN, CNRS (Francia). Las muestras para microanálisis fueron secadas a 60°C, en vacío, durante dos horas en presencia de pentóxido de fósforo como agente desecante.

Purificación de Solventes

Todos los solventes utilizados en cromatografía (n-hexano, acetato de etilo, metanol) se purificaron por destilación fraccionada y los solventes anhidros se destilaron en atmósfera de nitrógeno.

Tolueno: se reflujo sobre cinta de sodio y benzofenona hasta coloración azul. Se destiló y se recogió sobre tamiz molecular 4Å

Éter etílico: se pasó por una columna de alúmina, se secó primero sobre hidruro de calcio durante 24 hs y luego se reflujo sobre cinta de sodio y benzofenona hasta color azul. Se destiló antes de usar.

Diclorometano: se seco sobre pentóxido de fósforo durante 24hs se destiló recogéndolo sobre tamices moleculares de 4Å.

Tetrahidrofurano: se secó inicialmente sobre hidruro de calcio durante 18 hs, se reflujo sobre cinta de sodio y benzofenona hasta color azul. Se destiló antes de usar.

Acetonitrilo: se reflujo sobre hidruro de calcio durante 5 hs y se destiló recogéndolo sobre tamiz molecular de 4Å.

Metil etil cetona: se secó inicialmente sobre carbonato de potasio seco durante una noche, luego se reflujo 2 hs y se destiló recogéndolo sobre carbonato de potasio seco.

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

Metanol: se destiló sobre hidruro de calcio y se recogió sobre tamiz molecular de 4Å.

Purificación y preparación de reactivos

Iodosilbenceno:

A 8,05 g (25,0 mmol) de Diacetato de yodo benceno (DIB) finamente dividido en un erlenmeyer de 250 ml se le agregaron 45 ml de hidróxido de sodio 3N durante un período de 10 minutos. La mezcla heterogénea resultante se dejó reaccionar durante 90 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregaron 40 ml de agua destilada y se dejó reaccionar durante una hora más. El sólido amarillo obtenido se filtró en un embudo de vidrio sinterizado de 7 cm de diámetro, se le realizaron dos lavados con 100 ml de agua y uno con 100 ml cloroformo. Se dejó secar superficialmente en el embudo, se trasvasó a un balon de 100 ml de boca ancha y se secó a 10 torr durante 6 horas. Se obtuvo

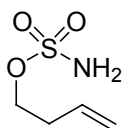
Iodosilbenceno como un sólido amarillo pulverulento (4,8g, 21,8 mmol, 87%). Pf 209-210°C (lit: 210°C).

Detalles Experimentales

Procedimiento general para la síntesis de sulfamidatos:

Sobre clorosulfonilisocianato (3,90 ml, 45 mmol, 1,5 equiv) se agregó gota a gota ácido fórmico (1,70 ml, 45 mmol, 1,5 equiv) a 0°C, durante este proceso se observó desprendimiento de gases. Se dejó agitando durante 18 hs a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se llevó nuevamente a 0°C, se agregó N,N-dimetilacetamida (DMA) (8 ml) y se dejó homogeneizar durante 5 minutos. Se disolvió el alcohol correspondiente (1,0 equiv) en DMA (16,0 ml) y se trasvasó gota a gota a la mezcla de reacción en baño de hielo. Una vez terminado el agregado, se dejó evolucionar hasta 20°C y reaccionar durante 3 ó 4 hs, hasta su finalización por ccd. Para cortar la reacción, se volcó la mezcla sobre una solución saturada de NaCl frío (20 ml) y acetato de etilo (40 ml). Luego se separó la fase orgánica, se volvió a agregar agua (30 ml) y se volvió a extraer con acetato de etilo (1 x 80 ml y 1 x 30 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró por destilación a presión reducida. El residuo, se purificó por cromatografía en columna flash (**CF**), utilizando silica gel como fase estacionaria y mezclas de heptano:acetato de etilo (7:3) para la obtención del sulfamidato correspondiente.

Sulfamato de but-3-en-1-ilo (124)



Fue preparado a partir de 3-buten-1-ol **117** (2,15 g, 2,60 ml, 29,8 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de but-3-en-1-ilo **124** (4,74 g, 28,3 mmol) como un aceite amarillento con un 95% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

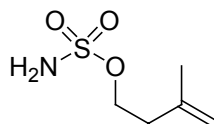
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3384, 3288, 3084, 2985, 2907, 1643, 1556, 1360, 1178, 920, 776.

EM-IES (m/z, %): 174 (M+Na⁺, 100), 152 (M+H⁺, 75).

Microanálisis: C₄H₉NO₃S calculado C 31,78%, H 6,00%, N 9,26%, S 21,21%, encontrado C 31,82%, H 6,06%, N 9,12%, S 20,83%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1.

Sulfamato de 3-metil-but-3-en-1-ilo (125)



Fue preparado a partir de 3-metil-3-buten-1-ol **118** (1,28 g, 1,50 ml, 14,9 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de but-3-en-1-ilo **125** (2,33 g, 14,2 mmol) como un aceite amarillento con un 95% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 4,95 (2H, s, NH₂), 4,87 (1H, s, 4b-H), 4,80 (1H, s, 4a-H), 4,32 (2H, t, J=6,8 Hz, 1-H), 2,47 (2H, t, J=6,8 Hz, 2-H), 1,78 (3H, s, 5-H)

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 140,6 (C-3), 113,0 (C-4), 69,3 (C-1), 36,3 (C-2), 22,5 (C-5)

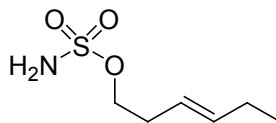
IR ν_{máx.} (film KBr)/cm⁻¹: 3376, 3287, 3081, 2973, 1614, 1557, 1366, 1180, 972, 925, 784.

EM-IES (m/z, %): 188 (M+Na⁺, 100).

Microanálisis: C₅H₁₁NO₃S calculado C 36,35%, H 6,71%, N 8,48%, S 19,41%, encontrado C 37,71%, H, 7,10%, N 9,00%, S 17,64%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Sulfamato de (E)-hex-3-en-1-ilo (126)



Fue preparado a partir de (E)-3-Hexen-1-ol **119** (1,49 g, 1,83 ml, 14,9 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de (E)-hex-3-en-1-ilo **126** (2,55 g, 14,2 mmol) como un aceite amarillento con un 95% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 5,63 (1H, dt, $J=15,6, 6,7$ Hz, 3-H), 5,38 (1H, dt, $J=15,6, 6,7$ Hz, 4-H), 4,78 (2H, s, NH₂), 4,21 (2H, t $J=7,1$ Hz, 1-H), 2,45 (2H, q, $J=7,1$ Hz, 2-H), 2,02 (2H, q, $J=7,1$ Hz, 5-H), 0,98 (3H, t, $J=7,3$ Hz, 6-H).

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 136,3 (C-3), 122,7 (C-4), 71,1 (C-3), 32,1 (C-2), 25,7 (C-5), 13,7 (C-6).

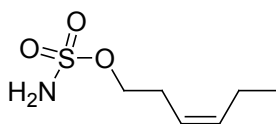
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3383, 3288, 2965, 2935, 1556, 1365, 1182, 970, 932, 814, 775.

EM-IES (m/z, %): 202 (M+Na⁺, 100), 181 (M+H⁺, 10).

Microanálisis: C₆H₁₃NO₃S calculado C 40,21%, H 7,31%, N 7,81%, S 17,89%, encontrado C 40,33%, H, 7,56%, N 7,61%, S 17,84%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Sulfamato de (Z)-hex-3-en-1-ilo (127)



Fue preparado a partir de (Z)-3-Hexen-1-ol **120** (0,33 g, 0,4 ml, 3,4 mmol) utilizando la metodología general descripta anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de (Z)-hex-3-en-1-ilo **127** (0,56 g, 3,2 mmol) como un aceite amarillento con un 93% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 5,57 (1H, m, 3-H), 5,33 (1H, m, 4-H), 4,86 (2H, s, NH₂), 4,20 (2H, t, $J=6,6$ Hz, 1-H), 2,51 (2H, q, $J=6,6$ Hz, 2-H), 2,07 (2H, q, $J=7,4$ Hz, 5-H), 0,99 (3H, t, $J=7,4$ Hz, 6-H).

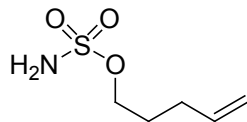
RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 135,6 (C-3), 122,4 (C-4), 70,8 (C-1), 26,9 (C-2), 20,7 (C-5), 14,1 (C-6).

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3383, 3288, 3014, 2966, 2935, 2876, 1555, 1465, 1364, 1181, 972, 929, 778.

EM-IES (m/z, %): 234 (M+MeOH+Na⁺, 100), 202 (M+Na⁺, 33).

Microanálisis: C₆H₁₃NO₃S calculado C 40,21%, H 7,31%, N 7,81%, S 17,89%, encontrado C 40,37%, H, 7,59%, N 7,65%, S 17,74%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Sulfamato de pent-4-en-1-ilo (128)

Fue preparado a partir de 4-penten-1-ol **121** (0,33 g, 0,4 ml, 3,9 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de pent-4-en-1-ilo **128** (0,25 g, 1,6 mmol) como un aceite amarillento con un 40% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 5,80 (1H, ddt, $J=16,9, 10,3, 6,6$ Hz, 4-H), 5,08 (1H, ddd, $J=16,9, 3,0, 1,5$ Hz, 5b-H), 5,01 (1H, m, 5a-H), 4,83 (2H, s, NH₂), 4,24 (2H, t, $J=6,3$ Hz, 1-H), 2,20 (2H, q, $J=7,4$ Hz, 2-H), 1,87 (2H, q, $J=6,6$ Hz, 3-H).

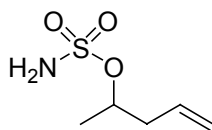
RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 136,8 (C-4), 116,0 (C-5), 70,8 (C-1), 29,5 (C-2), 27,9 (C-3).

IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3383, 3288, 3014, 2966, 2935, 2876, 1555, 1465, 1364, 1181, 972, 929, 778.

EM-IES (m/z, %): 188 (M+Na⁺, 100), 220 (M+MeOH+Na⁺, 30).

Microanálisis: C₅H₁₁NO₃S calculado C 36,35%, H 6,71%, N 8,48%, S 19,41%, encontrado C 36,18%, H, 6,95%, N 8,31%, S 18,49%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Sulfamato de pent-4-en-2-ilo (129)

Fue preparado a partir de 4-penten-2-ol **122** (1,28 g, 1,50 ml, 14,9 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de 4-penten-2-ilo **129** (2,25 g, 13,7 mmol) como un aceite amarillento con un 92% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 5,81 (1H, m, 4-H), 5,18 (1H, m, 5b-H), 5,13 (1H, m, 5a-H), 4,86 (2H, s, NH₂), 4,75 (1H, sexteto, $J=6,3$ Hz, 2-H), 2,46 (2H, m, 3-H), 1,43 (3H, d, $J=5,9$ Hz, 1-H).

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 132,6 (C-4), 118,9 (C-5), 80,3 (C-2), 40,6 (C-3), 20,1 (C-1).

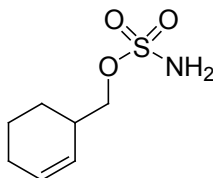
IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3381, 3286, 3082, 2983, 2939, 1558, 1358, 1182, 920, 793, 765.

EM-IES (m/z, %): 188 (M+Na⁺, 100), 220 (M+MeOH+Na⁺, 55).

Microanálisis: C₅H₁₁NO₃S calculado C 36,35%, H 6,71%, N 8,48%, S 19,41%, encontrado C 36,47%, H, 6,85%, N 8,42%, S 19,12%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Sulfamato de 3-ciclohexen-1-metanol (130)



Fue preparado a partir de 3-ciclohexen-1-metanol **123** (0,38 g, 0,4 ml, 3,4 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 7:3) obteniéndose el sulfamidato de 3-ciclohexen-1-metanol **130** (0,48 g, 2,5 mmol) como un aceite amarillento con un 74% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 5,68 (2H, m, 3-H y 4-H), 4,90 (2H, sa, NH₂), 4,11 (2H, d, J=10,5 Hz, 1-H), 2,12 (1H, m, 2-H), 2,09 (2H, m, 5-H), 1,85 (2H, m, 6-H), 1,36 (2H, m, 7-H).

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 127,0 (C-3), 125,0 (C-4), 75,2 (C-1), 33,0 (C-2), 27,5 (C-5), 24,7 (C-6), 24,0 (C-7).

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3381, 3283, 3022, 2918, 2840, 1542, 1437, 1358, 1164, 956.

EM-IES (m/z, %): 214 (M+Na⁺, 10).

Microanálisis: C₇H₁₃NO₃S·0,05 C₇H₁₆ calculado C 44,98%, H 7,05%, N 7,14%, S 16,34%, encontrado C 44,91%, H, 7,22%, N 6,93%, S 16,44%.

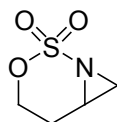
Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4.

Procedimiento general de aziridinación:

A una solución de **sulfamato de alqueno (124-130)**, 1,26 mmol) en acetonitrilo anhidro (7 ml) que contenía tamices moleculares activados de 3Å (0,7 g), fueron agregados a 20°C bajo argon, iodosilbenceno (415.5 mg, 1.89 mmol, 1.5 equiv) y Cu(CH₃CN)₄PF₆ (47.0 mg, 0.126 mmol, 0.1 equiv). La mezcla se dejó reaccionar a 20°C durante 20 hs, una vez finalizada la misma por ccd, los tamices moleculares fueron

removidos por filtración y el filtrado se evaporó hasta sequedad a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando como eluyente heptano: acetato de etilo 1:2, para dar la aziridina.

3-Oxa-2-tia-1-aza-biciclo[4.1.0]heptano-2,2-dióxido (131)



Fue preparado a partir de **124** (2,98 g, 19,7 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose la aziridina **131** (2,03 g, 13,6 mmol) como un aceite marrón con un 69% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

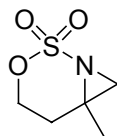
IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3293, 2936, 1723, 1361, 1182, 1035, 982, 952, 932, 786.

EM-IES (m/z, %): 150 (M+H⁺, 10).

Microanálisis: C₄H₇NO₃S calculado C 32,21%, H 4,73%, N 9,39%, S 21,50%, encontrado C 32,21%, H, 4,79%, N 9,22%, S 21,31%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1, R_f reactivo 0,60 R_f producto 0,37.

6-Metil-3-oxa-2-tia-1-aza-biciclo[4.1.0]heptano 2,2-dióxido (132)



Fue preparado a partir de **125** (0,24 g, 1,4 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose la aziridina **132** (0,13 g, 0,74 mmol) como un aceite marrón con un 53% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 4,58 (1H, ddd, *J*=11,7, 6,4, 5,4 Hz, 1b-H), 4,37 (1H, ddd, *J*=11,7, 8,3, 6,4 Hz, 1a-H), 2,85 (1H, d, *J*=1,5 Hz, 4b-H), 2,45 (1H, d, *J*=1,5 Hz, 4a-H), 2,36 (1H, m, 2b-H), 2,26 (1H, dt, *J*=15,1, 5,8, 5,4 Hz, 2a-H), 1,49 (3H, s, 5-H).

RMN ^{13}C 75 MHz (ppm): 67,8, 49,4, 40,3, 25,1, 24,4.

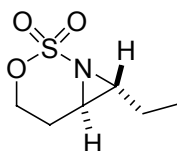
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2978, 2933, 1448, 1362, 1264, 1184, 1094, 1023, 961, 934, 778.

EM-IES (m/z, %): 164 ($\text{M}+\text{H}^+$, 40), 163 (M^+ , 15).

Microanálisis: $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$ calculado C 36,80%, H 5,56%, N 8,58%, S 19,65%, encontrado C 37,01%, H, 5,71%, N 8,38%, S 19,41%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 4:6, Rf reactivo 0,44 Rf producto 0,29.

(E)-7-Etil-3-oxa-2-tia-1-aza-biciclo[4.1.0]heptano-2,2-dióxido (133)



Fue preparado a partir de **126** (0,23 g, 1,30 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose la aziridina **133** (0,21 g, 1,22 mmol) como un aceite marrón con un 94% de rendimiento.

RMN ^1H 250 MHz (ppm): 4,66 (1H, dt, $J=11,7, 5,9$ Hz, 1b-H), 4,39 (1H, dt, $J=11,7, 6,6$ Hz, 1a-H), 3,03 (1H, m, 3-H), 2,84 (1H, dt, $J=7,4, 4,4$ Hz, 4-H), 2,41 (1H, ddd, $J=15,1, 6,6, 5,9$ Hz, 2b-H), 2,22 (1H, m, 2a-H), 1,70 (1H, m, 5b-H), 1,52 (1H, sexteto, $J=7,4$ Hz, 5a-H), 1,06 (3H, t, $J=7,4$ Hz, 6-H).

RMN ^{13}C 75 MHz (ppm): 68,7 (C-1), 48,5 (C-3), 47,9 (C-4), 24,6 (C-2), 19,0 (C-5), 10,3 (C-6).

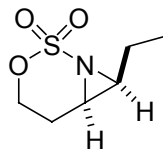
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2972, 2936, 2879, 1462, 1434, 1364, 1185, 1043, 1022, 965, 783.

EM-IES (m/z, %): 178 ($\text{M}+\text{H}^+$, 37).

Microanálisis: $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_3\text{S}$ calculado C 40,66%, H 6,26%, N 7,90%, S 18,09%, encontrado C 40,89%, H, 6,62%, N 7,50%, S 17,80%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 4:6, Rf reactivo 0,44 Rf producto 0,29.

(Z)-7-Etil-3-oxa-2-tia-1-aza-biciclo[4.1.0]heptano-2,2-dióxido (134)



Fue preparado a partir de **127** (0,22 g, 1,20 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose la aziridina **134** (0,17 g, 0,96 mmol) como un aceite marrón con un 80% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 4,83 (1H, ddd, $J=12,5, 11,7, 4,4$ Hz, 1b-H), 4,45 (1H, ddd, $J=11,7, 6,4, 1,5$ Hz, 1a-H), 3,37 (1H, dt, $J=8,3, 5,4$ Hz, 3-H), 2,70 (1H, dt, $J=8,4, 5,4$ Hz, 4-H), 2,10 (3H, m, 5b-H y 2-H), 1,75 (1H, sexteto, $J=7,3$ Hz, 5a-H), 1,12 (3H, t, $J=7,3$ Hz, 6-H).

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 70,5 (C-1), 47,0 (C-3), 43,2 (C-4), 17,0 (C-2), 16,0 (C-5), 10,9 (C-6).

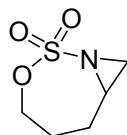
IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 2973, 2879, 1359, 1281, 1178, 1040, 962, 880, 789, 758.

EM-IES (m/z, %): 178 (M+H⁺, 27).

Microanálisis: C₆H₁₁NO₃S calculado C 40,66%, H 6,26%, N 7,90%, S 18,09%, encontrado C 40,88%, H, 6,43%, N 7,62%, S 17,85%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 4:6, R_f reactivo 0,43 R_f producto 0,30.

3-oxa-2-tia-1-aza-biciclo[5.1.0]octano-2,2-dióxido (135)



Fue preparado a partir de **128** (0,12 g, 0,71 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose la aziridina **135** (0,06 g, 0,35 mmol) como un aceite marrón con un 50% de rendimiento.

RMN ¹H 250 MHz (ppm): 4,23 (2H, m, 1-H), 2,85 (1H, m, 4-H), 2,75 (1H, d, $J=5,1$ Hz, 5b-H), 2,54 (1H, d, $J=5,1$ Hz, 5a-H), 2,50-2,40 (2H, m, 2-H), 1,93 (2H, m, 3-H).

RMN ^{13}C 75 MHz (ppm): 71,5 (C-1), 39,8 (C-4), 32,9 (C-5), 26,6 (C-2), 26,3 (C-3).

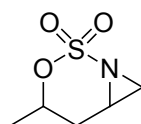
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2955, 2854, 1358, 1271, 1175, 1104, 1011, 951, 913, 841, 760.

EM-IES (m/z, %): 164 ($\text{M}+\text{H}^+$, 10).

Microanálisis: $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}\cdot 0.04 \text{C}_7\text{H}_{16}$ calculado C 37,93%, H 5,81%, N 8,38%, S 19,17%, encontrado C 37,75%, H, 5,69%, N 8,28%, S 18,94%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 4:6, Rf reactivo 0,46 Rf producto 0,32.

4-Metil-3-oxa-2-tia-1-aza-biciclo[4.1.0]heptano-2,2-dioxido (136)



Fue preparado a partir de **129** (0,24 g, 1,46 mmol) utilizando la metodología general descrita anteriormente y purificado por **CF** en silica gel (Heptano/AcOEt 1:2) obteniéndose una mezcla diastereoisomérica 1:1 de aziridinas **136** (0,17 g, 1,05 mmol) como un aceite marrón con un 72% de rendimiento.

RMN ^1H 250 MHz (ppm): 5,08 (1H, m, 2-H), 3,20 (1H, m, 4-H), 2,58 (1H, d, $J=5,1$ Hz, 5b-H), 2,43 (1H, d, $J=5,1$ Hz, 5a-H), 2,31 (1H, ddd, $J=14,7, 8,1, 4,4$ Hz, 3b-H), 1,94 (1H, ddd, $J=14,7, 3,7, 2,9$ Hz, 3a-H), 1,43 (3H, d, $J=6,6$ Hz, 1-H) y 4,62 (1H, dq, $J=6,2, 4,7$ Hz, 2-H), 3,15 (1H, m, 4-H), 2,88 (1H, dd, $J=4,9, 1,9$ Hz, 5b-H), 2,63 (1H, dd, $J=5,3, 1,9$ Hz, 5a-H), 2,41 (1H, ddd, $J=15,3, 11,2, 2,4$ Hz, 3b-H), 2,35 (1H, ddd, $J=15,3, 4,5, 1,5$ Hz, 3a-H), 1,47 (3H, d, $J=6,3$ Hz, 1-H).

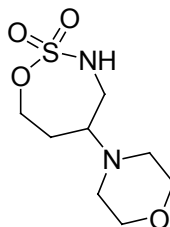
RMN ^{13}C 75 MHz (ppm): 79,9 (C-2), 41,0 (C-4), 36,0 (C-5), 26,3 (C-3), 21,4 (C-1) y 76,2 (C-2), 41,0 (C-4), 29,7 (C-5), 26,1 (C-3), 21,4 (C-1).

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2990, 2936, 1371, 1270, 1235, 1187, 971, 909, 865, 800.

EM-IES (m/z, %): 164 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

Microanálisis: $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}\cdot 0.05 \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ calculado C 37,27%, H 5,65%, N 8,36%, S 19,13%, encontrado C 37,23%, H, 5,46%, N 8,38%, S 18,91%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4, Rf reactivo 0,39 Rf producto 0,21.

5-Morfolin-4-ilo-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (137)

A una solución de la aziridina **131** (73.0 mg, 0.49 mmol) en 35 ml de CH₃CN, se agregó morfolina (220 μ l, 2,52 mmol, 5,2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a 75°C durante 4 hs, se enfrió a 20°C y se concentró a presión reducida. Al residuo le fue agregado una solución 1M de KH₂PO₄ (20 ml), se lo extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml), se secó la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. La mezcla obtenida se purificó por **CF** en silica gel (CH₂Cl₂-CH₃OH 95:5) obteniéndose el compuesto **137** (63.2 mg, 0,27 mmol) como un sólido blanco con un 55% de rendimiento.

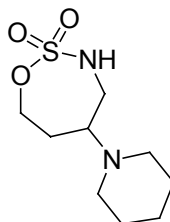
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3284, 2958, 2922, 2854, 1731, 1452, 1351, 1179, 1115, 917, 749.

EM-IES (m/z, %): 237 (M+H⁺, 100), 291 (M+MeOH+Na⁺, 15),.

EMAR (IES) (m/z): C₈H₁₆N₂O₄S (M+H⁺) calculado 237,0909, encontrado 237,0911.

Punto de Fusión: 140-142 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:2, Rf reactivo 0,30, Rf producto 0,05.

5-Piperidin-1-ilo-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (138)

A una solución de la aziridina **131** (83.2 mg, 0.558 mmol) en 0,55 ml de THF (1.0 M), se agregó piperidina (56 μ l, 0.643 mmol, 1.2 equiv) y TEA (15 μ l, 0.107 mmol, 0.2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla se dejó reaccionar durante 5 hs hasta su finalización por ccd y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en

silica gel (CH₂Cl₂:CH₃OH:TEA 99:1:0,5) obteniéndose el compuesto **138** (106,6 mg, 0,458 mmol) como un sólido amarillento con un 82% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3292, 2935, 2854, 2808, 1443, 1349, 1179, 1034, 948, 748.

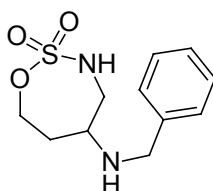
EM-IES (m/z, %): 235 (M+H⁺, 100), 257 (M+Na⁺, 5),.

Microanálisis: C₉H₁₈N₂O₃S calculado C 46,13%, H 7,74%, N 11,96%, S 13,68%, encontrado C 44,13%, H, 7,91%, N 11,81%, S 13,41%.

Punto de Fusión: 88-89 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente CH₂Cl₂:CH₃OH 9:1.

Bencil-(2,2-dioxo-2λ⁶-[1,2,3]oxatiazepan-5-ilo)amina (139)



A una solución de la aziridina **131** (80.2 mg, 0.536 mmol, 1.0 equiv) en 0,55 ml de THF (1.0 M), se agregó bencilamina (71 μL, 0.645 mmol, 1.2 equiv) y TEA (15 μl, 0.107 mmol, 0.2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla se dejó reaccionar durante 5 hs hasta su finalización por ccd y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (CH₂Cl₂:CH₃OH:TEA 99:0,5:0,5) obteniéndose el compuesto **139** (110.7 mg, 0,429 mmol) como un aceite amarillento con un 80% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

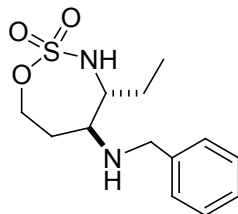
IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3301, 3029, 2851, 1453, 1423, 1348, 1178, 945, 747, 701.

EM-IES (m/z, %): 257 (M+H⁺, 100), 279 (M+Na⁺, 25),.

Microanálisis: C₁₁H₁₆N₂O₃S.0.08 C₄H₈O calculado C 52.53%, H 6.59%, N 10.60%, S 12.13%, encontrado C 52.30%, H, 6.55%, N 10.73%, S 11.64%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente CH₂Cl₂:CH₃OH 9:1.

Bencil-(4-etil-2,2-dioxo-2λ⁶-[1,2,3]oxatiazepan-5-ilo)amina (140)



A una solución de la aziridina **134** (50,0 mg, 0.282 mmol, 1.0 equiv) en 0,25 ml de THF (1.0 M), se agregó bencilamina (40 μL, 0.340 mmol, 1.2 equiv) y TEA (10 μl, 0.060 mmol, 0.2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla se dejó reaccionar durante 5 hs hasta su finalización por ccd y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (CH₂Cl₂:CH₃OH:TEA 99:0,5:0,5) obteniéndose el compuesto **140** (69,0 mg, 0,243 mmol) como un sólido blanco amarillento con un 86% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3295, 2967, 2933, 2877, 1454, 1429, 1347, 1178, 916, 751.

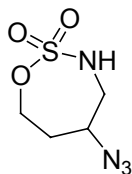
EM-IES (m/z, %): 285 (M+H⁺, 100), 307 (M+Na⁺, 25),.

Microanálisis: C₁₃H₂₀N₂O₃S calculado C 54.91%, H 7.09%, N 9.85%, S 11.28%, encontrado C 55.13%, H, 7.26%, N 9.88%, S 11.22%.

Punto de Fusión: 119-120 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente CH₂Cl₂:CH₃OH 9:1.

5-Azido-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (141)



Método A: A una solución de la aziridina **131** (76,1 mg, 0,510 mmol, 1,0 equiv) en 2,0 ml de DMF anhidra, se agregó azida de sodio (40,0 mg, 0,612 mmol, 1,2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla se dejó reaccionar durante 96 hs hasta su finalización por ccd, se volcó sobre una solución 1M de KH₂PO₄ (20 ml), se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml), se secó la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (CH₂Cl₂:CH₃OH 99:5) obteniéndose el compuesto **141** (27,1 mg, 0,143 mmol) como un sólido blanco con un 28% de rendimiento.

Método B: A una solución de la aziridina **131** (41,0 mg, 0,275 mmol, 1,0 equiv) en 1,0 ml de DMF, se agregó azida de sodio (21,0 mg, 0,330 mmol, 1,2 equiv) y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (41 μl , 0,330 mmol, 1,2 equiv) a 20°C bajo atmósfera de argón. La mezcla se dejó reaccionar durante 48 hs hasta su finalización por ccd, se volcó sobre una solución 1M de KH_2PO_4 (20 ml), se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml), se secó la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 99:5) obteniéndose el compuesto **141** (28,3 mg, 0,149 mmol) como un sólido blanco con un 54% de rendimiento.

Método C: A una solución de la aziridina **131** (72,0 mg, 0,503 mmol, 1,0 equiv) en 5,0 ml de THF, se agregó trimetilsilil azida (75 μL , 0,553 mmol, 1,1 equiv) y TBAF (50 μl , 0,1 equiv, 1,0 M en THF) a 0°C bajo atmósfera de argón. Se dejó a la mezcla evolucionar a 20°C y reaccionar durante 4 hs. Para finalizar la reacción se pasó por una columna pequeña de silica gel (1 cm diámetro y 2,5 cm de altura) y se lavó con acetato de etilo (25 ml), posteriormente el filtrado y los lavados se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (heptano:acetato de etilo:TEA 1:1:0,05) obteniéndose el compuesto **141** (69,0 mg, 0,243 mmol) como un sólido blanco 79% de rendimiento.

RMN ^1H y ^{13}C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2918, 2101, 1428, 1344, 1261, 1177, 996, 932, 745.

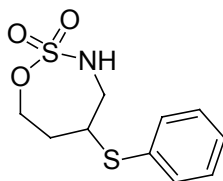
EM-IES (m/z, %): 247 (M+MeOH+ Na^+ , 100), 215 (M+ Na^+ , 65),.

EMAR (IES) (m/z): $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ (M+ Na^+) calculado 215,0211, encontrado 215,0206.

Punto de Fusión: 94-95 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1, Rf reactivo 0,21 Rf producto 0,42.

5-Fenilsulfanilo-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (142)



A una solución de la aziridina **131** (74,0 mg, 0,50 mmol, 1,0 equiv) en 2,5 ml de CHCl_3 a 0°C se agregó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (61 μl , 0,50 mmol, 1,0 equiv) y tiofenol (77 μl , 0,75 mmol, 1,5 equiv) bajo atmósfera de argón. La reacción se dejó evolucionar a 20°C y reaccionar

durante 1,5 hs. Una vez finalizada la reacción, se volcó sobre una mezcla de solución saturada de NaHCO₃ (6 ml) y acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se separó y la fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo (2 x 5 ml). Las fases orgánicas se lavaron con H₂O (5ml), se secaron con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (heptano:acetato de etilo 8:2) obteniéndose el compuesto **142** (67,1 mg, 0,26 mmol) como un sólido blanco con un 52% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3291, 2921, 2360, 1656, 1437, 1350, 1178, 1028, 946, 904, 745.

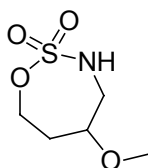
EM-IES (m/z, %): 259 (M⁺, 30), 260 (M+H⁺, 5),.

Microanálisis: C₁₀H₁₃NO₃S₂·0,3 C₄H₈O₂ calculado C 47.07%, H 5.43%, N 4.90%, S 22.44%, encontrado C 47.11%, H, 5.35%, N 4.73%, S 22.31%.

Punto de Fusión: 102-105 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 6:4, R_f reactivo 0,18 R_f producto 0,50.

5-Metoxi-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (143)



La aziridina **131** (79,0 mg, 0,53 mmol, 1,0 equiv) se disolvió en metanol (5,3 ml) a 0°C bajo atmósfera de argón, la solución se dejó reaccionar durante 24 hs a 20°C. Se evaporó el metanol a presión reducida y el residuo se purificó por **CF** en silica gel (heptano:acetato de etilo:TEA 50:50:0,5) obteniéndose el compuesto **143** (65.6 mg, 0,37 mmol) como un sólido blanco con un 69% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

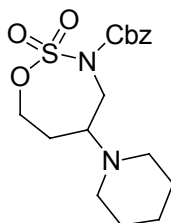
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3281, 2924, 1422, 1345, 1175, 1092, 993, 914, 742.

EM-IES (m/z, %): 182 (M+H⁺, 100), 214 (M+MeOH+H⁺, 15).

Microanálisis: C₅H₁₁NO₄S·0.09 C₇H₁₆ calculado C 35.55%, H 6.59%, N 7.36%, S 16.85%, encontrado C 35.61%, H, 6.23%, N 7.12%, S 16.49%.

Punto de Fusión: 84 °C (acetona-heptano).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1.

3-Benciloxicarbonil-5-piperidin-1-ilo-2λ⁶-[1,2,3]oxatiazepano-2,2-dióxido (144)

A una solución del compuesto **138** (150.0 mg, 0,640 mmol, 1,0 equiv) en 3,5 ml de THF a 0°C se agregó cloroformiato de bencilo (110 µl, 0,768 mmol, 1,2 equiv) y TEA (108 µl, 0,768 mmol, 1,2 equiv) bajo atmósfera de argón. La reacción se dejó evolucionar a 20°C y reaccionar durante por 1,5 hs. Se evaporó el solvente a presión reducida, se agregó H₂O (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). La fase orgánica se secaron con MgSO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida hasta sequedad. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (heptano:acetato de etilo 2:3) obteniéndose el compuesto **144** (108,5 mg, 0,294 mmol) como un aceite amarillo con un 46% de rendimiento.

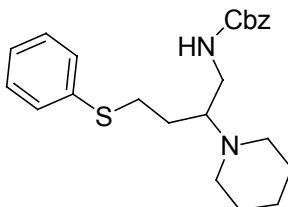
RMN ¹H 250 MHz (ppm): 7.38 (m, 5H), 5.31 (s, 2H), 4.54 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.58 (dd, 1H, J=14.6, 9.8 Hz), 2.85 (m, 1H), 2.50 (m, 4H), 2.40 (m, 1H), 1.93 (m, 1H) 1.52 (m, 4H), 1.43 (m, 2H).

RMN ¹³C 75 MHz (ppm): 152.4, 134.6, 128.6, 128.5, 128.0, 71.9, 69.5, 63.4, 50.0, 48.5, 29.2, 26.3, 24.5.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2923, 2841, 2790, 1736, 1451, 1393, 1275, 1184, 928, 785.

EM-IES (m/z, %): 369 (M+H⁺, 100).

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1.

1-Benciloxicarbonil-4-fenilsulfanil-2-(piperidin-1-ilo)-n-butilamina (145)

A una solución del compuesto **144** (105.0 mg, 0,285 mmol) en 1,5 ml de acetonitrilo a 20°C se agregó tiofenol (80 µl, 0,725 mmol, 2,5 equiv) y K₂CO₃ (100,0 mg,

0,725 mmol, 2,5 equiv) bajo atmósfera de argon. Inmediatamente aparece un precipitado blanco. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente a 20°C durante 3hs, luego se agregó acetato de etilo (5 ml) y HCl concentrado (2 ml) y se agitó 1 h más. El pH se ajustó a 10 con NaOH y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). Las fases orgánicas se mezclaron, se secó con MgSO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel (heptano:acetato de etilo 3:1 a 1:1) obteniéndose el compuesto **145** (103,0 mg, 0,259 mmol) como un aceite incoloro con un 91% de rendimiento.

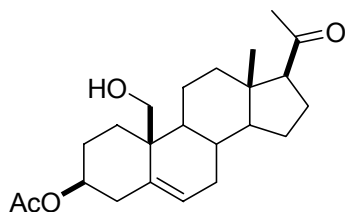
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2930, 2853, 1721, 1579, 1478, 1439, 1257, 1024.

EM-IES (m/z, %): 399 (M+H⁺, 100).

Microanálisis: C₂₃H₃₀N₂O₂S calculado C 69,31%, H 7,59%, N 7,03%, S 8,05%, encontrado C 69,16%, H, 7,84%, N 6,84%, S 7,86%.

Control por ccd: Soporte silicagel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1.

3β-Acetiloxi-19-hidroxi-5-pregnen-20-ona (179)



A una solución de acetato de pregnenolona **176** (6,00 g, 16,70 mmol) en éter etílico (70,0 ml) y THF (26 ml) a 0°C y protegido de la luz se agregó una solución de HClO₄ 7,5% (9,0 ml). Sobre esta mezcla se agregó NBA (3,55 g, 22,9 mmol) en 8 porciones durante 1 h. Pasados otros 25 minutos de agitación, se lavó la mezcla con solución saturada de Na₂S₂O₃ (25 ml), se separó la fase etérea y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida.

El producto crudo de reacción de la bromohidrina **177** (7,90 g) se disolvió sin purificación previa en CH₂Cl₂ (550,0 ml) recientemente destilado. A la mezcla se agregó DIB (5,81 g, 18,0 mmol) y yodo (4,40 g, 16,3 mmol) y se irradió con una lámpara de 300 W durante 1 h. La mezcla se lavó con solución saturada de Na₂S₂O₃ (100,0 ml), se decantó, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó el solvente. El residuo se purificó mediante **CFCS** obteniéndose el bromoéter **178** (6,16 g, 81,0% en dos pasos).

RMN ¹H 200 MHz (ppm): 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).

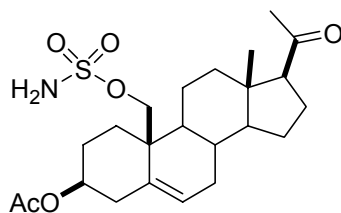
Control por CCD: Soporte silicagel, eluyente tolueno-acetato de etilo 5:2, R_f 0,68.

Se disolvió el producto anterior **178** sin purificar (obtenido a partir de 3,90 g de **176**) en isopropanol recientemente destilado (590 ml). Se agregó Zn en polvo (7,64 g, 117,0 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 75°C. Se agregó ácido acético (0,7 ml, 117,0 mmol), la mezcla se agitó vigorosamente por 80 min a reflujo, se filtró y se evaporó el solvente. El residuo resultante se tomó con CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (30 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. La purificación por cromatografía flash con hexano acetato de etilo (9:1) dio el 19-hidroxiesteroide **179** (2,04 g, 5,4 mmol, 50% tres pasos).

RMN ¹H 200 MHz (ppm): 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).

Control por CCD: Soporte silicagel, eluyente tolueno-acetato de etilo 5:2, R_f 0,55.

Sulfamato de 3β-acetiloxi-20-oxo-5-pregnen-19-ilo (180)



A clorosulfonilisocianato (0,200 ml, 2,300 mmol) se agregó gota a gota ácido fórmico (0,088 mL, 2,300 mmol) a 0°C con agitación vigorosa. Durante la adición se observó desprendimiento de gases. La suspensión viscosa resultante se agitó durante 18 h a 20°C. La mezcla de reacción se llevó nuevamente a 0°C, se agregó N,N-dimetilacetamida (DMA) (0,7 ml) y se dejó homogeneizar durante 5 minutos. Se disolvió el compuesto **179** (430 mg, 1.148 mmol) en DMA (0,7 ml) y se trasvasó gota a gota a la mezcla de reacción en baño de hielo. Una vez terminado el agregado, se dejó evolucionar hasta 20°C y reaccionar durante 3-4 hs, hasta su finalización por CCD. Para cortar la

reacción, se volcó la mezcla sobre una solución saturada de NaCl frío (5 ml) y acetato de etilo (10 ml). Luego se separó la fase orgánica, se volvió a agregar agua (10 ml) y se volvió a extraer con acetato de etilo (1 x 20 ml y 2 x 10 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró por destilación a presión reducida. El residuo, se purificó por cromatografía en columna flash (**CF**), utilizando Florisil® como fase estacionaria y un gradiente de hexano:acetato de etilo (7:3 a 3:7) para la obtención del sulfamato de 3β-acetiloxi-20-oxo-5-pregnen-19-ilo **180** (359,2 mg, 0,792 mmol, 69% rendimiento), recuperando 43,0 mg (10%) del esteroide de partida **179**.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3287, 2930, 2854, 1732, 1697, 1448, 1366, 1267, 825, 567

EM-IE (m/z, %): 453 (M+H⁺, 2,8), 355 (3,3).

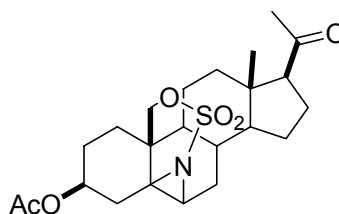
EM-IES (m/z, %): 476 (M+Na⁺, 33), 467 (7,5), 411 (3,1), 379 (100).

EMAR (IES) (m/z): C₈H₁₆N₂O₄S (M+H⁺) calculado 476,2083 encontrado 476,2083.

Punto de Fusión: 169-171 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,60.

3β-Acetiloxi-5β,6β-iminopregnan-20-ona N,19-Sultona (181)



A una solución de **180** (340,0 mg, 0,750 mmol) en acetonitrilo anhidro (4,0 ml) que contenía tamices moleculares activados de 3Å (0,2 g), se agregaron a 20°C bajo argón, iodosilbenceno (509,0 mg, 2,32 mmol) y Cu(CH₃CN)₄PF₆ (58,0 mg, 0,154 mmol). La mezcla se dejó reaccionar a 20°C durante 20 hs, una vez finalizada la misma por CCD, los tamices moleculares fueron removidos por filtración y el filtrado se evaporó hasta sequedad a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (6:4 a 3:7), obteniéndose la aziridina **181** (230,3 mg, 0,510 mmol) con un 68% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3447, 2944, 2875, 1732, 1700, 1364, 1242, 1181, 1026, 997, 788, 737.

EM-IE (m/z, %): 451 (M^+ , 1,5), 328, 310, 294, 251.

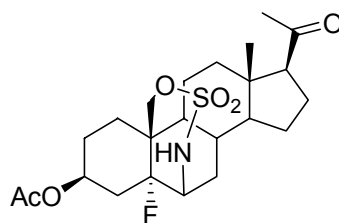
EM-IES (m/z, %): 474 ($M+\text{Na}^+$, 100), 475 (7,5).

EMAR (IES) (m/z): $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{SNa}$ calculado 474,1926 encontrado 474,1970.

Punto de Fusión: 147-149 °C (hexano-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,14.

3 β -Acetiloxi-5 α -fluoro-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (182)



Método A: A una solución de la aziridina **181** (25,0 mg, 0,055 mmol) en THF anhidro (0,75 ml), se agregó TBAF (29,0 mg, 0,111 mmol) a 20°C bajo argón y se dejó reaccionar la mezcla durante 6 hs. Se evaporó el THF a presión reducida y el residuo aceitoso se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (6:4), se obtuvo el fluoroesteroide **182** (21,0 mg, 0,046 mmol) con un 81% de rendimiento.

Método B: A una solución de la aziridina **181** (10,0 mg, 0,022 mmol) en DMF anhidra (0,30 ml), se agregó CsF (10,0 mg, 0,066 mmol) a 20°C bajo argón. La mezcla de reacción se dejó en baño de silicona a 100°C durante 6 hs, se enfrió a 20°C, se volcó sobre una solución saturada de NaCl (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (6:4), se obtuvo el fluoroesteroide **182** (4,8 mg, 0,010 mmol) con un 46% de rendimiento.

RMN ^1H y ^{13}C Apéndice de tablas **A**.

RMN ^{19}F $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 9:1, 475,00 MHz (ppm): -157,48 (da, $J=41.7$ Hz)

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3278, 2938, 2879, 1733, 1699, 1454, 1362, 1178, 1088, 1030, 987, 764, 741.

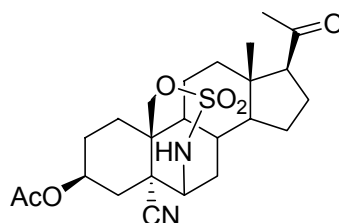
EM-IES (m/z, %): 494 ($M+\text{Na}^+$, 100), 582 (17,5), 495 (5,0), 474 (5,6).

EMAR (IES) (m/z): $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{FNO}_6\text{SNa}$ calculado 494,1989 encontrado 494,1983.

Punto de Fusión: 199-201 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 4:6, Rf 0,65.

3β-Acetiloxi-5α-ciano-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (183)



A una solución de la aziridina **181** (50,0 mg, 0,111 mmol) en DMF anhidra (1,50 ml), se agregó KCN (21,0 mg, 0,323 mmol) a 20°C bajo argón. Después de 2 horas de reacción, la mezcla se volcó cuidadosamente sobre una solución 20% de NaOH (15 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (10 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (9:1), obteniéndose el compuesto **183** (40,8 mg, 0,075 mmol) con un 68% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3271, 2942, 2877, 1736, 1699, 1444, 1366, 1340, 1238, 1178, 1070, 1027, 765, 740.

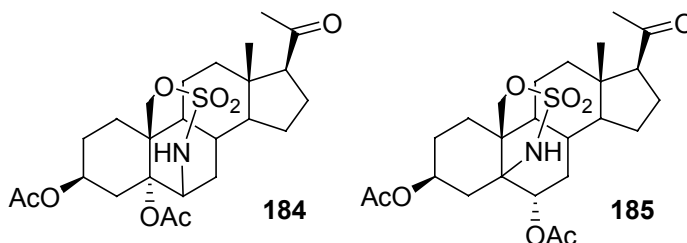
EM-IES (m/z, %): 501 (M+Na⁺, 100), 420 (25), 421 (8,8), 502 (3,1), 589 (8,1).

EMAR (IES) (m/z): C₂₄H₃₄N₂O₆SNa calculado 501,2035 encontrado 501,2067.

Punto de Fusión: 147-148 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,61.

3β,5α-Diacetiloxi-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (184) y 3β,6α-diacetiloxi-S,S-dioxo-19,5-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (185)



Método A: A una solución de la aziridina **181** (20,0 mg, 0,044 mmol) en DMF anhidra (0,30 ml), se agregó acetato de cesio (43,0 mg, 0,221 mmol) a 20°C bajo argón. La mezcla de reacción se dejó reaccionar durante 6 hs, luego se volcó sobre una solución saturada de NaCl (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (2 x 10 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvieron el compuesto **184** (18,0 mg, 0,035 mmol, 79%) y el compuesto **185** (1,80 mg, 0,004 mmol, 8%).

Método B: A una solución de la aziridina **181** (18,0 mg, 0,040 mmol) en DMF anhidra (0,30 ml), se agregó acetato de cesio (38,0 mg, 0,200 mmol) a 20°C bajo argón. La mezcla de reacción se dejó en baño de silicona a 100°C durante 15 min, se enfrió a 20°C, se volcó sobre una solución saturada de NaCl (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (2 x 10 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvieron el compuesto **184** (4,2 mg, 0,008 mmol, 19%) y el compuesto **185** (8,30 mg, 0,017 mmol, 42%).

Compuesto 184

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3323, 2954, 2878, 1743, 1701, 1431, 1374, 1359, 1238, 1185, 1028, 942, 779, 738.

EM-IES (m/z, %): 534 (M+Na⁺, 100), 622 (62,5).

EMAR (IES) (m/z): C₂₅H₃₇NO₈SNa calculado 534,2138 encontrado 538,2131.

Punto de Fusión: 142-143 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,44.

Compuesto 185

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 3288, 2941, 2879, 1735, 1703, 1435, 1367, 1335, 1240, 1177, 1028, 987, 737.

EM-IES (m/z, %): 534 (M+Na⁺, 25,6), 1046 (27,5), 1045 (2M+Na⁺, 100), 622 (11,9) .

EMAR (IES) (m/z): $C_{25}H_{37}NO_8SNa$ calculado 534,2138 encontrado 538,2131.

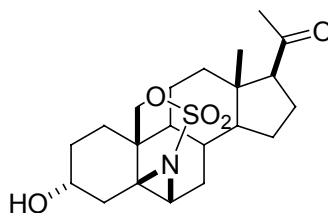
Punto de Fusión: 158-160 °C (hexano-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,30.

Isomerización de 184 a 185

A una solución de **184** (8,0 mg, 0,016 mmol) en DMF anhidra (0,20 ml), se agregó acetato de cesio (0,6 mg, 0,003 mmol) a 20°C bajo argón. La mezcla de reacción se dejó en baño de silicona a 100°C durante 20 min, se enfrió a 20°C, se volcó sobre una solución saturada de NaCl (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (2 x 10 ml), se secó con Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvo el compuesto **185** (5,2 mg, 0,010 mmol, 64%).

3 α -hidroxi-5 β ,6 β -iminopregnan-20-ona N,19-sultona (20)



A una solución de 3 β -acetiloxi-5 β ,6 β -iminopregnan-20-ona N,19-sultona **181** (25,0 mg, 0,055 mmol) en metanol (0,5 ml), se agregó una solución metanólica saturada de K_2CO_3 (2,0 ml) en atmósfera de nitrógeno a 0°C durante 30 min, hasta finalización por **CCD**. La mezcla se neutralizó con HCl 1N y se concentró a un quinto de su volumen a presión reducida a temperatura bajo 30°C, se diluyó con agua (2,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15,0 ml), la fase orgánica se lavó con agua (5,0 ml), se secó con Na_2SO_4 anhidro y evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en silica gel, utilizando un gradiente de hexano y acetato de etilo, obteniéndose 3 β -hidroxi-5 β ,6 β -iminopregnan-20-ona N,19-Sultona **187** (20,4 mg, 0,050 mmol) con un 90% de rendimiento, como sólido blanco.

RMN ¹H CDCl₃, 200,13 MHz (ppm): 0,65 (3H, s), 2,14 (3H, s), 2,52-2,53 (2H, m), 2,69 (1H, d, *J* = 5,9 Hz), 4,15 (1H, m), 4,35 (1H, d, *J* = 12,5 Hz), 4,70 (H, dd, *J* = 12,5, 1,1 Hz).

RMN ¹³C CDCl₃:CD₃OD 9:1, 50,03 MHz (ppm): 13,2, 20,8, 22,6, 23,5, 24,0, 25,7, 27,7, 30,3, 31,3, 31,7, 38,1, 39,2, 44,0, 45,2, 46,4, 53,7, 58,3, 63,0, 63,5, 73,3, 210,0.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente ciclohexano:acetato de etilo 2:8, Rf 0,18.

A una solución del compuesto **187** (19,0 mg, 0,046 mmol) en THF anhidro (2,0 ml), se agregaron Ph₃P (36,4 mg, 0,139 mmol), ácido fórmico (3,5 µl, 0,093 mmol) y DEAD (12,3 µl, 0,093 mmol) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 18 hs hasta desaparición de material de partida por **CCD**. El THF fue removido a presión reducida sin calentamiento, el residuo se purificó por **CF** en silica gel utilizando un gradiente de hexano y acetato de etilo, obteniéndose el compuesto **188** (17,1 mg, 0,039 mmol) con un 84% rendimiento.

RMN ¹H CDCl₃, 200,13 MHz (ppm): 0,66 (3H, s), 2,12 (3H, s), 2,49 (1H, t, *J* = 9,0 Hz), 2,53 (1H, dd, *J* = 16,2, 7,1 Hz), 2,67 (1H, d, *J* = 6,6 Hz), 4,31 (1H, d, *J* = 12,5 Hz), 4,42 (1H, dd, *J* = 12,5, 0,9 Hz), 5,36 (1H, m), 8,01 (1H, s).

RMN ¹³C CDCl₃:CD₃OD 9:1, 50,03 MHz (ppm): 13,5, 20,9, 23,0, 23,1, 23,8, 25,3, 25,4, 30,5, 31,3, 36,0, 38,3, 44,1, 44,3, 47,2, 52,6, 58,6, 63,1, 67,2, 73,1, 160,0, 208,8.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente ciclohexano:acetato de etilo 2:8, Rf 0,54.

A una solución de **188** (16,0 mg, 0,037 mmol) en acetonitrilo (1,5 ml) se agregó una solución al 10% de KOH (0,2 ml) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a 20°C durante 1 h y se neutralizó a pH 7 con HCl 1N, se concentró a un quinto de su volumen a presión reducida a temperatura menor de 30°C, se diluyó con agua (2,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10,0 ml), la fase orgánica se lavó solución saturada de NaCl (5,0 ml) y agua (5,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (2:8), se obtuvieron el compuesto **20** (13,9 mg, 0,034 mmol, 93% Rto).

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3387, 2944, 2874, 1699, 1361, 1178, 999, 798, 734, 595.

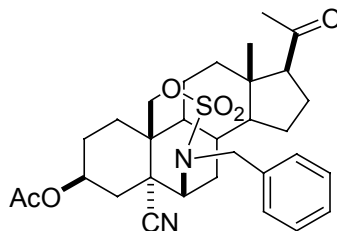
EM-IES (m/z, %): 432 (M+Na⁺, 9,4), 464 (6,9), 520 (100).

EMAR (IES) (m/z): C₂₁H₃₁NO₅SNa (M+Na⁺) calculado 432,1821 encontrado 432,1822.

Punto de Fusión: 172-173°C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente ciclohexano:acetato de etilo 2:8, Rf 0,21.

N-Bencil-3 β -acetiloxi-5 α -ciano-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (190)



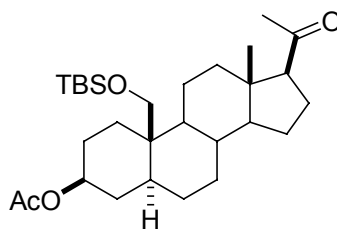
A una solución del compuesto **183** (15,0 mg, 0,031 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) se agregaron una solución de NaOH 40% (0,2 ml), Et₃BnNCl (0,4 mg) y BnBr (27,0 mg, 18,6 μ l, 0,157 mmol) a 20°C y con agitación vigorosa. Luego de 45 min, se agregaron CH₂Cl₂ (10,0 ml) y H₂O (3,0 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con solución saturada de NaCl (3,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** de sílica gel utilizando un gradiente de hexano:acetato, se obtuvo el compuesto **190** (15,1 mg, 0,026 mmol) con un 85% de rendimiento.

RMN ¹H CDCl₃, 200,13 MHz (ppm): 0,69 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,11 (3H, s), 2,51 (1H, t, *J*= 9,0 Hz), 3,42 (1H, m), 4,24 (1H, d, *J*= 13,4 Hz), 4,32 (1H, d, *J*= 15,6 Hz), 4,48 (1H, d, *J*= 15,6 Hz), 4,86 (1H, d, *J*= 13,4 Hz), 5,05 (1H, m) 7,40 (5H, m).

RMN ¹³C CDCl₃, 50,3 MHz (ppm): 14,1, 21,1, 21,5, 22,9, 23,4, 26,3, 26,9, 30,0, 31,3, 32,9, 33,4, 38,9, 39,5, 44,7, 48,3, 50,0, 55,6, 57,5, 60,7, 63,0, 69,1, 69,2, 120,5, 128,8, 128,9, 129,3, 134,7, 169,8, 208,9.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente ciclohexano:acetato de etilo 4:6, Rf 0,60.

3 β -Acetiloxi-19-(t-butildimetilsililoxi)-5 α -H-pregnan-20-ona (199)



A una solución de 3 β -acetiloxi-19-hidroxipregn-5-en-20-ona **179** (1,50 g, 4,00 mmol) en DMF seca (22,5 ml), se agregó imidazol (0,816 g, 12 mmol) y cloruro de *t*-butildimetilsililo (1,20 g, 7,95 mmol) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se dejó reaccionar durante 24 h a 20°C, la mezcla de reacción se volcó sobre solución de HCl 2N (50,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 30,0 ml). Se lavó la fase orgánica con solución saturada de NaCl (2 x 30,0 ml) y agua (30,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando como eluyente un gradiente de hexano:acetato de etilo (9:1 a 8:2), se obtuvo 3 β -acetiloxi-19-(*t*-butildimetilsililo)-pregn-5-en-20-ona **198** (1,80 g, 3,68 mmol) con un 92% de rendimiento. **RMN ¹H** ppm: 0,05 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,67 (s, 3H, H-18), 0,87 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,04 (s, 3H, H-acetato), 2,13 (s, 3H, H-21), 2,50 (1H, t, *J* = 9,1 Hz, 17-H), 3,59 (d, 1H, *J* = 10,4 Hz, 19a), 3,75 (d, 1H, *J* = 10,4 Hz, 19b), 4,64 (m, 1H, H-3 α), 5,57 (sa, H-6).

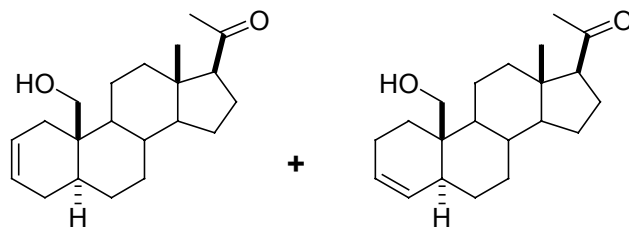
Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 7:3, R_f 0,60.

Una suspensión del compuesto **198** (1,75 g, 3,57 mmol) y Pd/C 10% (0,18 g) en etanol (218,0 ml) se dejó reaccionar 24 h bajo atmósfera de hidrógeno (1 bar) a 20°C. Se filtró el catalizador al vacío con un embudo (5 cm diámetro) que contenía un lecho de silica gel (4 cm de altura). Se obtuvo 3 β -acetiloxi-19-(*t*-butildimetilsililo)-5 α -H-pregnan-20-ona **199** (1,73 g, 3,53 mmol) con un 99% de rendimiento.

RMN ¹H ppm: 0,06 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,61 (s, 3H, H-18), 0,88 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,02 (s, 3H, H-acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,51 (1H, t, *J* = 8,9 Hz, 17-H), 3,68 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz, 19a), 3,83 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz, 19b), 4,73 (m, 1H, H-3 α).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 7:3, R_f 0,60.

19-hidroxi-5 α -H-pregn-2-en-20-ona y 19-hidroxi-5 α -H-pregn-3-en-20-ona (202)



A una solución del compuesto **199** (0,45 g, 0,92 mmol) en metanol (80,0 ml) se agregó una solución de NaOH 10% (1,9 ml) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se dejó reaccionar 2,5 h y luego se neutralizó con HCl 1N, se concentró a un quinto del volumen y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 40,0 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida, obteniéndose un sólido blanco (0,41 g) correspondiente a 3β-hidroxi-19-(t-butildimetilsililoxi)-5α-H-pregnan-20-ona.

RMN ¹H ppm: 0,05 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,62 (s, 3H, H-18), 0,88 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,49 (1H, t, *J* = 9,1 Hz, 17-H), 3,64 (m, 1H, H-3α), 3,66 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz, 19a), 3,83 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz, 19b).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 4:6, R_f 0,60.

Al producto de la reacción anterior (0,35 g) disuelto en piridina seca (4,5 ml), se agregó cloruro de tosilo (0,75 g, 3,90 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno a 20°C y se dejó reaccionar durante 18 h. La mezcla se volcó sobre hielo y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30,0 ml), se lavó con HCl 1N (2 x 20,0 ml) y agua (20,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando como eluyente un gradiente de hexano:acetato de etilo (9:1 a 8:2), se obtuvo 3β-tosiloxi-19-(t-butildimetilsililoxi)-5α-H-pregnan-20-ona **200** (0,42 g, 0,70 mmol) con un 90% de rendimiento desde **199**.

RMN ¹H ppm: 0,04 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,61 (s, 3H, H-18), 0,86 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,46 (s, 3H, CH₃-Ar), 2,53 (1H, t, *J* = 9,0 Hz, 17-H), 3,61 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz), 3,79 (d, 1H, *J* = 10,6 Hz), 4,46 (m, 1H, H-3α), 7,34 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz), 7,81 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 8:2, R_f 0,51.

Una solución del compuesto **200** (0,34 g, 0,57 mmol) en colidina (30,0 ml) se sometió a reflujo durante 3,5 h. La solución resultante se enfrió se volcó sobre HCl 2N (50,0 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30,0 ml). La fase orgánica se lavó con HCl 2N (2 x 20,0 ml), solución saturada de NaHCO₃ (20,0 ml) y agua (20,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando como eluyente un gradiente de hexano:acetato de etilo (9:1 a 7:3), se obtuvo la mezcla de isómeros de Δ² y Δ³ **201** (0,146 g, 0,19 mmol) con un 55% de rendimiento.

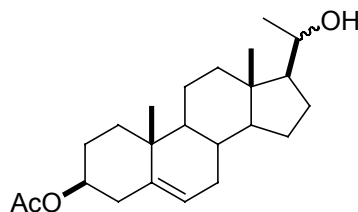
RMN ¹H ppm: 0,03 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,63 (s, 3H, H-18), 0,87 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 2,12 (s, 3H, H-21), 2,51 (1H, t, *J* = 9,0 Hz, 17-H), 3,53 (d, 1H, *J*= 10,6 Hz, 19a), 3,81 (d, 1H, *J*= 10,6 Hz, 19b), 5,60 (m, 1H, H-2 y H-3).

A una solución de la mezcla **201** (42,3 mg, 0,089 mmol) en THF (0,5 ml), se agregó una solución de TBAF 1N en THF (140 μl) y sometió a reflujo durante 20 h. La solución resultante se evaporó a presión reducida, se agregó agua (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (2 x 3,0 ml). La fase orgánica se lavó con solución saturada de NaCl (2,0 ml) y agua (2,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando como eluyente un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 6:4), se obtuvo la mezcla de isómeros de Δ² y Δ³ **202** (15,0 mg, 0,042 mmol) con un 47% de rendimiento.

RMN ¹H ppm: 0,65 (s, 3H, H-18), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,52 (1H, t, *J* = 9,1 Hz, 17-H), 3,73 (d, 1H, *J*= 11,5 Hz), 3,81 (d, 1H, *J*= 11,5 Hz), 5,70 (m, 1H, H-2 y H-3).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente heptano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,42.

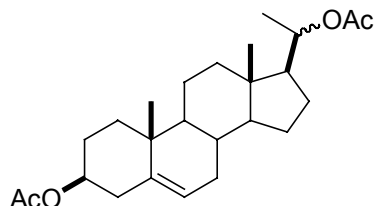
3β-Acetiloxi-20-hidroxipregn-5-eno (203)



A una solución de acetato de pregnenolona (**176**) (10,0 g, 27,8 mmol) en metanol (250 ml) y cloruro de metileno (250 ml), se agregó NaBH₄ (2,1 g, 56 mM) y se agitó en baño de hielo durante 1 h. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl 1N, se concentró a presión reducida a un quinto del volumen y se diluyó con una solución de NaCl saturada (50,0 ml); se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 75 ml), la fase orgánica se lavó con agua (25 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. Por evaporación del solvente se obtuvo 3β-acetoxi-20-hidroxi-5-pregneno (**203**) (10,0 g, 99,4%) como una mezcla de epímeros 20β/20α (9:1).

RMN ¹H (ppm) (epímero 20β): 0,78 (3H, s, 18-H), 1,04 (3H, s, 19-H), 1,14 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, 21-H), 2,04 (3H, s, acetato), 3,72 (1H, m, 20-H), 4,58 (1H, m, 3-H) y 5,38 (1H, da, *J* = 4,0 Hz, 6-H).

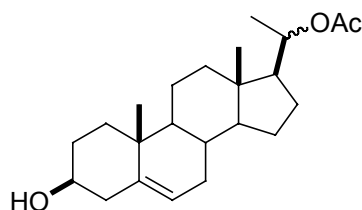
Datos de CCD: Silicagel, Hexano:Acetato 8:2, R_f 0,21.

3 β ,20-Diacetiloxipregn-5-eno (204)

Al compuesto **203** (10,0 g 27,7 mmol) se lo trató con anhídrido acético (80,0 ml, 840 mmol) y piridina seca (80,0 ml, 991 mmol) durante 18 h a 20°C. La mezcla se volcó sobre hielo, se extrajo con CH₂Cl₂ (300 ml) y la fase orgánica se lavó HCl 2N (2 x 100 ml), solución saturada de NaHCO₃ (100 ml) y luego con agua hasta neutralidad. Se secó con Na₂SO₄ anhidro. Por evaporación de la fase orgánica se obtuvieron 11,0 g de 3 β ,20-diacetiloxipregn-5-eno (**204**) con un rendimiento del 98%.

RMN ¹H (ppm) (epímero 20 β): 0,69 (3H, s, 18-H), 1,01 (3H, s, 19-H), 1,15 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, 21-H), 2,01 (3H, s, acetato), 2,02 (3H, s, acetato), 4,58 (1H, m, 3-H), 4,82 (1H, m, 20-H) y 5,85 (1H, da, *J* = 4,0 Hz, 6-H).

Datos de CCD: Silicagel, Hexano:Acetato 8:2, R_f 0,44.

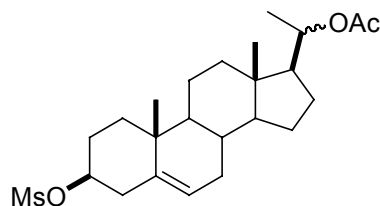
3 β -Hidroxi-20-acetiloxipregn-5-eno (205)

A una solución del 3 β ,20-diacetiloxipregn-5-eno (**204**) (10,8 g, 26,8 mmol) en metanol (200 ml), se agregó en atmósfera de nitrógeno y a 20°C una solución acuosa de NaOH 10 % (20 ml), se agitó durante 2 hs. Se neutralizó con HCl 1N y se concentró a un quinto de su volumen en rotavapor, se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (150 ml), la fase orgánica se lavó con agua (50 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y evaporó, obteniéndose 9,59 g (26,6 mmol) del 3 β -hidroxi-20-acetiloxipregn-5-eno (**205**) con un 99% de rendimiento.

RMN ¹H (ppm) (epímero 20β): 0,65 (3H, s, 18-H), 1,00 (3H, s, 19-H), 1,15 (3H, d, *J* = 6,2 Hz, 21-H), 2,02 (3H, s, acetato), 3,52 (1H, m, 3-H), 4,84 (1H, m, 20-H) y 5,35 (1H, da, *J* = 4,0 Hz, 6-H).

Datos de CCD: Silicagel, Hexano:Acetato 8:2, Rf 0,10.

3β-mesiloxi-20-acetiloxipregn-5-eno (206)



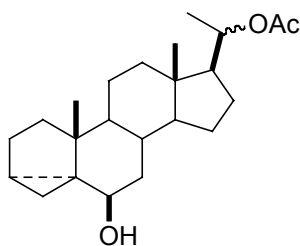
Al producto **205** sin purificar (9,0 g 24,9 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (230 ml) y trietilamina (6,5 ml), se le agregó cloruro de mesilo (5,0 g, 3,35 ml, 42,0 mmol) en baño de hielo con agitación durante 1 h. La mezcla de reacción se volcó en agua (50 ml), se extrajo con HCl 2N (2 x 50 ml), solución saturada de NaHCO₃ (50 ml) y luego con solución saturada de NaCl (50 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro. Por evaporación de la fase orgánica se obtuvieron 10,8 g (24,6 mmol) de 3β-mesiloxi-20-acetiloxipregn-5-eno (**206**) con un rendimiento del 99%.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,65 (3H, s, 18-H), 1,01 (3H, s, 19-H), 1,16 (3H, d, *J*=6,0 Hz, 21-H), 2,02 (3H, s, acetato), 3,01 (3H, s, mesilo), 4,52 (1H, m, 3α-H), 4,83 (1H, m, 20-H), 5,42 (1H, d, *J*=5,3 Hz, 6-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas **A**.

Datos de CCD: Soporte silicagel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,61.

6β-Hidroxi-20-acetiloxi-3α,5α-ciclopregnano (197)



Sobre una solución de 3 β -mesiloxi-20-acetiloxi-pregn-5-eno (**206**) (6,50 g 14,80 mmol) en metiletilcetona (140,0 ml) se agregaron NaHCO₃ (5,0 gr, 59,8 mmol) y agua (32,0 ml), se calentó a reflujo y con agitación durante 7 hs. Se evaporó la metiletilcetona, se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 25 ml), se lavó con solución saturada de NaCl (20 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 6:4), obteniéndose 6 β -hidroxi-20-acetoxi-3 α ,5 α -ciclopregnano **197** (3,85 g, 10,68 mmol) con un 72% de rendimiento.

RMN ¹H (isómero 20 β -acetiloxi) 200,13 MHz (ppm): 0,29 (1H, dd, *J*=8,2, 4,9 Hz, 4 α -H), 0,53 (1H, m, 4 β -H), 0,53 (3H, s, 18-H), 0,69 (3H, s, 19-H), 1,15 (3H, d, *J*=5,8 Hz, 21-H), 2,01 (3H, s, acetato-H), 3,26 (1H, t, *J*=2,7 Hz, 6 α -H), 4,85 (1H, m, 20-H).

RMN ¹³C apéndice de tablas **A**.

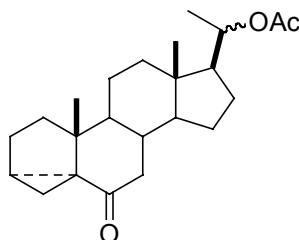
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3461, 2937, 2870, 1727, 1455, 1375, 1073, 1023, 967, 737.

EM-IES (m/z, %): 383 (M+Na⁺, 100), 283 (58).

Microanálisis: C₂₃H₃₆O₃·0,4 H₂O calculado C 75,05%, H 10,01%, encontrado C 75,12%, H, 9,77%.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,52.

20-Acetiloxi-3 α ,5 α -ciclopregnan-6-ona (207)



Método A: A una solución del compuesto **197** (2,0 g, 5,55 mmol) en acetona (55 ml) se agregó el reactivo de Jones (1,5 ml) a 0°C y se dejó con agitación vigorosa durante 1 h. Para eliminar el reactivo en exceso se adicionó isopropanol (10 ml) y luego se concentró el solvente a un quinto de su volumen. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ (50 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (2 x 20 ml), solución saturada de NaCl (20 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión. El crudo de reacción se purificó por **CF** en silica gel, utilizando un gradiente de ciclohexano:acetato de etilo (8:2), obteniéndose 20-acetiloxi-3 α ,5 α -ciclopregnan-6-ona **207** (1,89 g, 5,27 mmol) con un 95% de rendimiento.

Método B: En un balón de 500 ml se colocaron tamices moleculares de 3 Å activados, CH₂Cl₂ seco (70 ml), clorocromato de piridinio (**PCC**) (1,81 g, 11,1 mmol) y carbonato de bario (1,64 g 11,1 mM) bajo atmósfera de N₂. Se dejó en agitación 5 minutos, agregándose posteriormente el compuesto **197** (2,00 g, 5,5 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (70,0 ml) y se agitó durante 3 h. Para finalizar la reacción se agregó éter etílico (120 ml). La mezcla de reacción se purificó mediante CF en embudo de vidrio sinterizado con sílica gel, utilizando un gradiente de solventes hexano:acetato de etilo (8:2 a 7:3). Por evaporación de la fase orgánica se obtuvo el compuesto **207** (1,79 g, 5,0 mmol) con rendimiento de 90%.

RMN ¹H y ¹³C (isómero 20β-acetiloxi) Apéndice de tablas A.

IR ν_{máx.} (film KBr)/cm⁻¹: 2945, 2871, 1730, 1688, 1373, 1078, 1048, 1024.

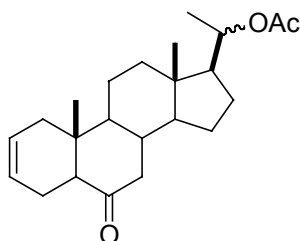
EM-IES (m/z, %): 381 (M+Na⁺, 100), 359 (M+H⁺, 20).

Microanálisis: C₂₃H₃₄O₃ calculado C 77,05%, H 9,56%, encontrado C 77,14%, H, 9,57%.

Punto de Fusión: 121-123 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,59; eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, R_f 0,51

20-Acetiloxipregn-2-en-6-ona (196)



A una solución de 20-acetiloxi-3α,5α-ciclopregnan-6-ona **207** (0,72 g, 2,0 mmol) en DMF (8,0 ml), se le agregaron p-TsOH (0,084 g, 4,4 mmol) y bromuro de sodio (0,103 g, 1,00 mmol) y se calentó a reflujo (165°C) con agitación durante 4 hs. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, se extrajo con éter etílico (70 ml) y se lavó con solución saturada de NaCl (3 x 25 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en sílica gel utilizando un gradiente de hexano: acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 20-acetiloxipregn-2-en-6-ona **196** (0,59 g, 1,64 mmol) con un 82% de rendimiento.

RMN ^1H (isómero 20 β -acetiloxi) 500,13 MHz (ppm): 0,65 (3H, s, 18-H), 0,71 (3H, s, 19-H), 1,16 (3H, d, $J=5,8$ Hz, 21-H), 2,02 (3H, s, acetato-H), 4,85 (1H, m, 20-H), 5,56 (1H, m, 2-H), 5,69 (1H, m, 3-H).

RMN ^{13}C apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 2942, 2906, 1730, 1708, 1433, 1373, 1075, 1024.

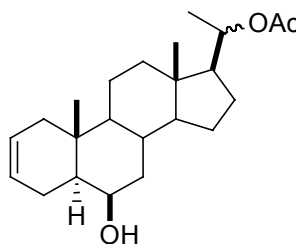
EM-IES (m/z, %): 381 (M+Na $^+$, 100), 359 (M+H $^+$, 10).

Microanálisis: C $_{23}$ H $_{34}$ O $_3$ ·0,1 H $_2$ O calculado C 76,60%, H 9,49%, encontrado C 76,60%, H, 9,30%.

Punto de Fusión: 159-161 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte sílica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,56.

6 β -Hidroxi-20-acetiloxipregn-2-eno (208)



A una solución de **196** (1,44 g, 4,02 mmol) en THF (76 ml) a 0°C, se agregó *tert*-butóxi hidruro de aluminio y litio (1,94 g, 7,63 mmol) y se agitó durante 1 h. A la mezcla de reacción se le agregó acetona (10 ml), se neutralizó con HCl 10% y se evaporó a presión reducida hasta un quinto de su volumen. Se extrajo con CH $_2$ Cl $_2$ (60,0 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO $_3$ (20 ml), solución saturada de NaCl (20 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se secó con Na $_2$ SO $_4$ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en sílica gel utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 6:4), se obtuvo 6 β -hidroxi-20-acetiloxipregn-2-eno **208** (1,38 g, 3,82 mmol) con un 95% de rendimiento.

RMN ^1H y ^{13}C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3502, 2937, 2872, 1724, 1454, 1375, 1075, 1047, 1022.

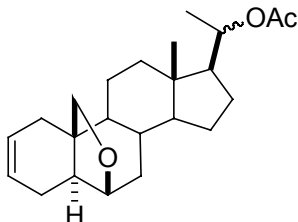
EM-IES (m/z, %): 383 (M+Na $^+$, 100), 283 (40), 243 (20), 401 (M+H $_2$ O+Na $^+$, 12).

Microanálisis: C $_{23}$ H $_{36}$ O $_3$ calculado C 76,62%, H 10,06%, encontrado C 76,22%, H, 10,04%.

Punto de Fusión: 150-152 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,32.

20-Acetiloxi-6,19-epoxipregn-2-eno (209)



En un reactor refrigerado, se trató una solución de **208** (1,0 g, 2,77 mmol) en CH₂Cl₂ bidestilado (330 ml) con DIB (1,34 g, 41,6 mmol) e iodo (1,31 g, 91,0 mmol) agregados en tres intervalos de 15 min. La mezcla de reacción se irradió con una lámpara de 300 W durante 2 hs a temperatura ambiente con agitación vigorosa. Una vez finalizada la reacción, controlada por **CCD**, se retiró la lámpara y se agregó solución saturada de tiosulfato de sodio (60 ml). Se separó la fase orgánica y se extrajo la acuosa con CH₂Cl₂ (15 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución saturada de NaCl (60 ml) y agua (60 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se purificó por CF en alúmina neutra, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 20-acetiloxi-6,19-epoxipregn-2-eno **209** (0,74 g, 2,08 mmol) con un 75% de rendimiento.

RMN ¹H (isómero 20β-acetiloxi) 200,13 MHz (ppm): 0,70 (3H, s, 18-H), 1,15 (3H, d, *J*=6,1 Hz, 21-H), 2,01 (3H, s, acetato-H), 3,53 (1H, d, *J*=8,0 Hz, 19a-H), 3,78 (1H, d, *J*=8,0 Hz, 19b-H), 3,97 (1H, d, *J*=4,8 Hz, 6α-H), 4,85 (1H, m, 20-H), 5,57 (1H, m, 2-H), 5,67 (1H, m, 3-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

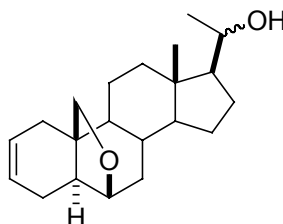
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3448, 2931, 2872, 1731, 1445, 1372, 1033, 1019, 943, 852.

EM-IES (m/z, %): 381 (M+Na⁺, 100), 299 (55), 399 (M+H₂O+Na⁺, 25), 395 (20), 281 (20).

Microanálisis: C₂₃H₃₄O₃·0,3 H₂O calculado C 75,84%, H 9,50%, encontrado C 75,87%, H, 9,33%.

Punto de Fusión: 147-149 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,41.

20-Hidroxi-6,19-epoxipregn-2-eno (210)

A una solución de 20-acetiloxi-6,19-epoxipregn-2-eno **209** (1,0 g, 2,79 mmol) en THF anhidro (22 ml) se agregó hidruro de aluminio y litio (0,524 g, 13,84 mmol) y se agitó durante 1 h. Para eliminar el exceso de reactivo se agregó acetona hasta el cese de la emisión de gases, se neutralizó con HCl 10% y adicionó tartrato de sodio y potasio (10 ml). El solvente se evaporó hasta un quinto de su volumen a presión reducida. Se extrajo con CH₂Cl₂ (40 ml), la fase orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (15 ml), solución saturada de NaCl (15 ml) y agua (15 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** en sílica gel utilizando un gradiente de ciclohexano:acetato de etilo (9:1 a 6:4), se obtuvo 20-hidroxi-6,19-óxidopregn-2-eno **210** (0,77 g, 2,43 mmol) con un 87% de rendimiento.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,82 (3H, s, 18-H), 1,14 (3H, d, *J*=6,1 Hz, 21-H), 3,54 (1H, d, *J*=7,9 Hz, 19a-H), 3,74 (1H, m, 20-H), 3,80 (1H, d, *J*=7,9 Hz, 19b-H), 3,98 (1H, d, *J*=4,6 Hz, 6 α -H), 2,56 (1H, m, 2-H), 5,68 (1H, m, 3-H).

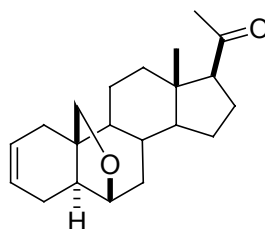
RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3427, 2929, 2869, 1453, 1374, 1494, 1033, 737, 656.

EM-IES (m/z, %): 633 (M₂+Na⁺, 100).

Microanálisis: C₂₁H₃₂O₂ calculado C 79,70%, H 10,19%, encontrado C 79,68%, H, 10,09%.

Control por CCD: Soporte sílica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, R_f 0,34.

6,19-Epoxi-2-pregnen-20-ona (195)

En un balón de 250 ml se colocaron tamices moleculares de 4 Å activados, CH₂Cl₂ seco (25 ml), clorocromato de piridinio (PCC) (0,95 g, 4,42 mmol) y carbonato de bario (0,65 g, 3,32 mmol) bajo atmósfera de N₂ a 20°C. Se dejó en agitación 5 minutos, agregándose posteriormente 20-hidroxi-6,19-epoxipregnen-2-eno **210** (0,70 g, 2,21 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ seco (25 ml). Se agitó durante 4 hs. Para finalizar la reacción se agregó éter etílico (45 ml). La mezcla de reacción se purificó mediante **CF** en embudo de vidrio fritado con sílica gel, utilizándose un gradiente de solventes hexano:acetato de etilo (8:2 a 7:3). Por evaporación de la fase orgánica se obtuvo el compuesto **195** (0,58 g, 1,83 mmol) con rendimiento de 83%.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2927, 2873, 1704, 1437, 1356, 1222, 1167, 1017, 850, 758.

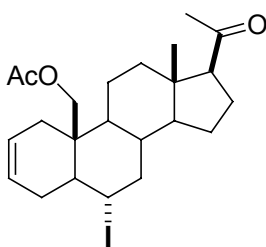
EM-IES (m/z, %): 369 (M+MeOH+Na⁺, 100), 383 (60), 385 (25).

Microanálisis: C₂₃H₃₄O₃·0,5 H₂O calculado C 77,89%, H 9,58%, encontrado C 77,77%, H, 9,40%.

Punto de Fusión: 105-107 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte sílica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, R_f 0,47.

6 α -Yodo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona (211)



Método A: Se agregó 6,19-epoxi-2-pregnen-20-ona **210** (0,70 g, 2,23 mmol) sobre una suspensión de ioduro de zinc (2,80 g, 17,8 mmol) y anhídrido acético (21,5 ml, 23,3g, 228 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a 20°C, luego se diluyó con CH₂Cl₂ (70 ml) y se agregó solución saturada de NaHCO₃ hasta que finalizó el desprendimiento de gases. La fase orgánica se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio (30 ml), solución saturada de NaCl (30 ml) y agua (30 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante **CF** con Florisil®,

se utilizó un gradiente de solventes ciclohexano:acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 6 α -yodo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **211** (0,69 g, 1,65 mmol) con rendimiento de 74%.

Método B: Se agregó 6,19-epoxi-2-pregnen-20-ona **210** (75,0 mg, 0,24 mmol) sobre una mezcla de ioduro de zinc (229,8 mg, 0,72 mmol) y anhídrido acético (1,0 ml, 1,08 g, 2,70 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5,0 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 3 hs a 20°C, luego se diluyó con CH₂Cl₂ (20 ml) y se agregó solución saturada de NaHCO₃ hasta que finalizó el desprendimiento de gases. La fase orgánica se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio (10 ml), solución saturada de NaCl (10 ml) y agua (10 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante **CF** con Florisil®, se utilizó un gradiente de solventes ciclohexano:acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 6 α -yodo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **211** (66,6 mg, 0,16 mmol) con rendimiento de 67%.

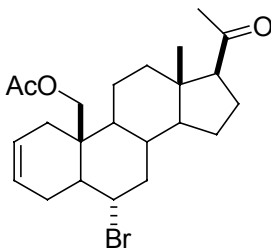
RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2940, 2880, 1742, 1703, 1439, 1364, 1039, 738, 672.

EM-IES (m/z, %): 357 (M-I⁺, 20), 485 (M+H⁺, 5), 297 (65).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,53.

6 α -Bromo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona (212)



Se agregó 6,19-epoxi-2-pregnen-20-ona **210** (10,0 mg, 0,32 mmol) sobre una mezcla de bromuro de zinc (358,0 mg, 1,60 mmol) y anhídrido acético (1,2 ml, 1,29 g, 2,70 mmol) en CH₂Cl₂ seco (10,0 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 3 hs a 20°C, luego se diluyó con CH₂Cl₂ (20 ml) y se agregó solución saturada de NaHCO₃ hasta que finalizó el desprendimiento de gases. La fase orgánica se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio (10 ml), solución saturada de NaCl (10 ml) y agua (10 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante **CF** con

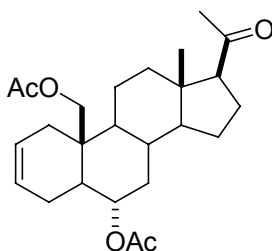
silica gel, se utilizó un gradiente de solventes ciclohexano:acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 6 α -bromo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **212** (104,9 mg, 0,24 mmol) con rendimiento de 75%.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,60 (3H, s, 18-H), 2,05 (3H, s, acetato-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,43 (1H, m, 7 β -H), 2,53 (1H, t, $J=9,0$ Hz, 17-H), 2,71 (1H, wd, $J=11,2$ Hz, 4 α -H), 4,13 (1H, d, $J=12,3$ Hz, 19a-H), 4,22 (1H, d, $J=12,3$ Hz, 19b-H), 4,34 (1H, td, $J=11,5, 4,4$ Hz, 6 β -H), 5,56 (1H, m, 2-H), 5,70 (1H, m, 3-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,53.

6 α ,19-Diacetiloxi-2-pregnen-20-ona (213)



Se agregó 6,19-epoxi-2-pregnen-20-ona **210** (23,0 g, 0,064 mmol) sobre una suspensión de ioduro de zinc (204,0 mg, 0,64 mmol) y anhídrido acético (2,1 ml, 2,27g, 22,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 hs a 20°C, luego se diluyó con CH₂Cl₂ (20 ml) y se agregó solución saturada de NaHCO₃ hasta que finalizó el desprendimiento de gases. La fase orgánica se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio (5,0 ml), solución saturada de NaCl (5,0 ml) y agua (5,0 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante **CF** con silica gel, se utilizó un gradiente de solventes hexano:acetato de etilo (9:1 a 7:3), se obtuvo 6 α ,19-diacetiloxi-2-pregnen-20-ona **213** (10,1 mg, 0,021 mmol) con rendimiento de 33%.

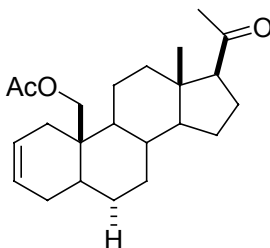
RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2938, 2852, 1740, 1704, 1439, 1367, 1033, 961, 904, 671.

EM-IES (m/z, %): 439 (M+Na⁺, 100), 471 (M+MeOH+Na⁺, 15), 440 (10).

EMAR (IES) (m/z): C₂₅H₃₆O₅Na calculado 439,2460 encontrado 439,2500.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, Rf 0,38.

19-Acetiloxi-2-pregnen-20-ona (214)

Se trató una solución de 6 α -yodo-19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **211** (600,0 g, 1,44 mmol) en tolueno seco (12,5 ml) con hidruro de tributilestaño (0,5 ml, 1,88 mmol) en presencia de luz, bajo atmósfera de nitrógeno a 20°C. Se agitó durante 5 hs a temperatura ambiente, se confirmó la finalización de la reacción por CCD. La solución resultante se evaporó a presión reducida y luego se agregó acetonitrilo (40,0 ml) y se extrajo con hexano (3 x 10,0 ml). El acetonitrilo se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por **CF** en sílica gel utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (95:5 a 8:2), se obtuvo 19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **214** (476,3 g, 1,33 mmol) con un 96% de rendimiento.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,61 (3H, s, 18-H), 2,02 (3H, s, acetato-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,52 (1H, t, $J=9,2$ Hz, 17-H), 4,06 (1H, d, $J=11,9$ Hz, 19a-H), 4,31 (1H, d, $J=11,9$ Hz, 19b-H), 5,61 (2H, m, 2-H and 3-H).

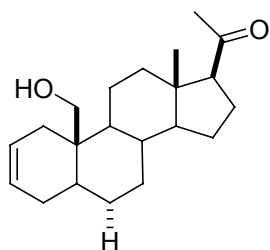
RMN ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 2932, 2880, 1738, 1704, 1231, 1365, 1121, 1040, 745, 701, 688.

EM-IES (m/z, %): 413 (M+MeOH+Na⁺, 100), 381 (M+Na⁺, 20), 399 (10).

EMAR (IES) (m/z): C₂₃H₃₄O₃Na calculado 381,2406 encontrado 381,2423.

Control por CCD: Soporte sílica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 7:3, R_f 0,65; eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1, R_f 0,51.

19-Hidroxi-2-pregnen-20-ona (193)

Método A: El compuesto **212** (67,7 g, 0,155 mmol) se disolvió en tolueno anhidro (10,0 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se calentó a 115°C, se agregó difenilsilano (0,202 ml, 1,10 mmol), seguido de alícuotas (8 x 0,06 ml) de una solución de peróxido de benzoilo en tolueno anhidro (0,133 g/ml) cada 15 min. Luego de finalizada la reacción se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (9:1) como eluyente. Se obtuvo el 19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona (**214**) como un sólido amorfo que contenía difenilsilano residual. Intentos de purificación por recristalización no fueron satisfactorios.

La mezcla que contenía a 19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona (**214**), se disolvió en metanol (10,0 ml), se agregó una solución de KOH 5N (5,0 ml) y se dejó reaccionar a 20°C durante 1,5 h bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se neutralizó con HCl 2N y se evaporó el solvente a un tercio de su volumen. Se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20,0 ml), lavó con solución saturada de NaHCO₃ (15,0 ml), solución saturada de NaCl (15,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El sólido se purificó por CF en columna de silica gel utilizando hexano:acetato de etilo (9:1 a 7:3), obteniéndose 19-hidroxi-2-pregnen-20-ona **193** (20,9 mg, 0,066 mmol) como un sólido blanco con un 41% de rendimiento desde **212**.

Método B: A una solución de 19-acetiloxi-2-pregnen-20-ona **214** (311,6 mg, 0,869 mM) en metanol (55,0 ml), se agregó en atmósfera de nitrógeno y a 0°C una solución acuosa de KOH 10 % en metanol (10 ml) y se dejó reaccionar durante 5 hs a 20°C. Se neutralizó con HCl 1N y se concentró a un quinto de su volumen a presión reducida, se diluyó con CH₂Cl₂ (50,0 ml), se extrajo solución saturada de NaCl (20,0 ml), con agua (20,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y evaporó. El residuo se purificó por **CF** en sílica gel utilizando hexano:acetato de etilo (8:2), obteniéndose 19-hidroxi-2-pregnen-20-ona **193** (265,0 mg, 0,837 mmol) con un 96% de rendimiento.

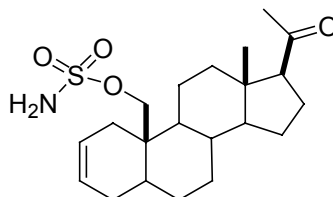
RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3477, 2911, 2845, 1701, 1447, 1357, 1216, 1043, 748, 668, 594.

EM-IES (m/z, %): 339 (M+Na⁺, 100), 295 (5).

Microanálisis: C₂₁H₃₄O₂·0,2 H₂O calculado C 78,73%, H 10,12%, encontrado C 78,66%, H, 10,05%.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 7:3, R_f 0,47; eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, R_f 0,60

Sulfamato de 20-oxo-2-pregnen-19-ilo (215)

Sobre clorosulfonilisocianato (330 μ l, 3,79 mmol) se agregó gota a gota ácido fórmico (143 μ l, 3,79 mmol) en baño de hielo (se observó el desprendimiento de gases durante el agregado) y se dejó agitando durante 18 hs a 20°C. La mezcla de reacción se llevó nuevamente a 0°C, se agregó N,N-dimetilacetamida (DMA) (0,8 ml) y se dejó homogeneizar durante 5 minutos. Se disolvió 19-hidroxi-2-pregnen-20-ona **193** (200 mg, 0,632 mmol) en N,N-dimetil acetamida (2,2 ml) y se trasvasó gota a gota a la mezcla de reacción en baño de hielo. Una vez terminado el agregado, se dejó evolucionar hasta 20°C y reaccionar durante 3 ó 4 hs, hasta su finalización por CCD. Para cortar la reacción, se volcó la mezcla sobre una solución saturada de NaCl frío (5 ml) y acetato de etilo (15 ml). Luego se separó la fase orgánica, se volvió a agregar agua (10 ml) y se volvió a extraer con acetato de etilo (1 x 30 ml y 2 x 10 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró por destilación a presión reducida. El residuo, se purificó por cromatografía en columna flash (**CF**), utilizando Florisil® como fase estacionaria y un gradiente de hexano:acetato de etilo (7:3 a 2:8) para la obtención del sulfamato de 20-oxo-2-pregnen-19-ilo **215** (165,3 mg, 0,417 mmol, 66% rendimiento).

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,66 (3H, s, 18-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,35 (1H, dd, $J=17.3$, 5.0 Hz, 1 β -H), 2,51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, 17-H), 4,18 (1H, d, $J=10.0$ Hz, 19a-H), 4,41 (1H, d, $J=10.0$ Hz, 19b-H), 4,66 (2H, ws, SO₂NH₂-H), 5,61 (1H, m, 2-H), 5,69 (1H, m, 3-H).

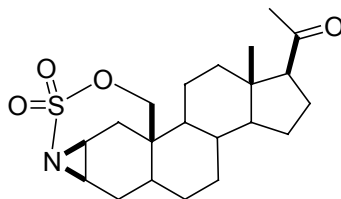
RMN ¹³C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3348, 3281, 2918, 2839, 1703, 1448, 1356, 1266, 1204, 985, 921, 744.

EM-IES (m/z, %): 450 (M+MeOH+Na⁺, 53), 813 (M₂+Na⁺, 60), 353 (100).

Microanálisis: C₂₁H₃₃NO₄S calculado C 63,76%, H 8,41%, N 3,54%, S 8,11% encontrado C 63,52%, H, 8,23%, N 3,41%, S 7,96%.

Control por CCD: Soporte sílica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, R_f 0,42.

2 β ,3 β -iminopregnan-20-ona-N,19-sultona (192)

A una solución de **215** (55,0 mg, 0,139 mmol) en acetonitrilo anhidro (2,0 ml) que contenía tamices moleculares activados de 3Å (0,1 g), se agregaron a 20°C bajo argón, iodosilbenceno (122,4 mg, 0,556 mmol) y $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ (15,5 mg, 0,042 mmol). La mezcla se dejó reaccionar a 20°C durante 18 hs, una vez finalizada la misma por CCD, los tamices moleculares fueron removidos por filtración y el filtrado se evaporó hasta sequedad a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (6:4 a 3:7), obteniéndose la aziridina **192** (41,0 mg, 0,104 mmol) con un 75% de rendimiento.

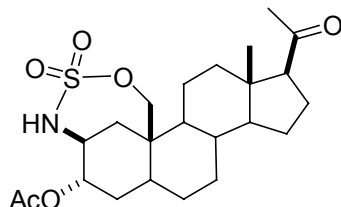
RMN ^1H y ^{13}C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 3393, 2937, 2874, 1699, 1366, 1174, 1003, 975, 837, 794, 960.

EM-IES (m/z, %): 504 (M+AcoEt+Na⁺, 100), 448 (15), 525 (10), 416 (10).

EMAR (IES) (m/z): $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{SNa}$ calculado 416,1872 encontrado 416,1854.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,22; eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,42.

3 α -Acetiloxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (216)

Método A: A una solución de la aziridina **192** (28,0 mg, 0,071 mmol) en DMF anhidra (1,0 ml), se agregó acetato de cesio (68,2 mg, 0,356 mmol) a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se dejó reaccionar durante 2 hs a 20°C, luego se volcó sobre una solución saturada de NaCl (5,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se

lavarón con solución saturada de NaCl (2 x 10 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvo 3 α -acetiloxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona **216** (23,0 mg, 0,051 mmol, 71%).

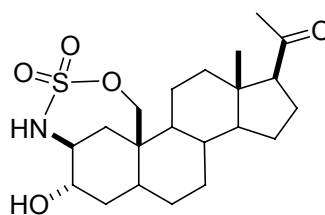
Método B: A una solución de la aziridina **192** (17,0 mg, 0,043 mmol) en acetonitrilo anhidro (1,0 ml), se agregó acetato de tetrabutilamonio (65,0 mg, 0,216 mmol) a 0°C bajo nitrógeno y se dejó reaccionar durante 1 h a 20°C. Se evaporó el THF a presión reducida y el residuo aceitoso se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvo el compuesto **216** (15,5 mg, 0,034 mmol) con un 79% de rendimiento.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,63 (3H, s, 18-H), 2,11 (1H, s, 21-H), 2,12 (3H, s, acetato-H), 2,52 (1H, t, *J*=9,0 Hz, 17-H), 2,71 (1H, d, *J*=14,8 Hz, 1 β -H), 3,55 (1H, m, 2 α -H), 4,30 (1H, d, *J*=12,6 Hz, 19a-H), 4,51 (1H, d, *J*=12,6 Hz, 19b-H), 4,59 (1H, ws, SO₂NH-H), 4,78 (1H, m, 3 β -H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,55.

3 α -Hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (21)



Método A: A una solución del compuesto **216** (21,0 mg, 0,046 mmol) en metanol (5,0 ml), se agregó KOH 2,5N en metanol (3,7 ml) a 0°C bajo nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 hs a 20°C. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl 2N y se evaporó el solvente a un quinto de su volumen a presión reducida. El remanente se diluyó con acetato de etilo (15,0 ml) y se lavó con solución saturada de NaCl (5,0 ml), agua (5,0 ml), secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (**CF**) en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (1:1), se obtuvo el compuesto **21** (19,0 mg, 0,046 mmol) con un 99% de rendimiento.

Método B: A una solución de la aziridina **192** (10,3 mg, 0,026 mmol) en acetonitrilo anhidro (0,75 ml), se agregó hidróxido de tetrabutilamonio 1,5N (87,0 μ l, 0,131 mmol) a 20°C bajo nitrógeno. A las 4 hs se volvió a agregar hidróxido de tetrabutilamonio 1,5N (87,0 μ l, 0,131 mmol) y se dejó reaccionar durante 16 hs más a 20°C. Se neutralizó la mezcla de reacción con HCl 2N y se evaporó el acetonitrilo a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (15,0 ml), se lavó con solución saturada de NaCl (5,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (4:6), obteniéndose el compuesto **21** (6,4 mg, 0,016 mmol) con un 60% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

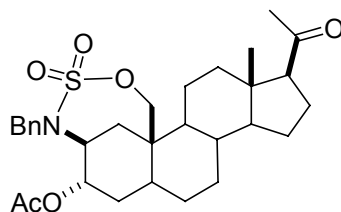
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3500, 3290, 2929, 2854, 1697, 1448, 1362, 1173, 1077, 963, 738.

EM-MALDI (m/z, %): 434 (M+Na⁺, 100).

EMAR (MALDI) (m/z): C₂₁H₃₃NO₅SNa calculado 434,1977 encontrado 434,1958.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, R_f 0,17.

N-Bencil-3 α -acetiloxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (217)



A una solución del compuesto **216** (13,0 mg, 0,029 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) se agregaron una solución de NaOH 40% (0,2 ml), Et₃BnNCl (1,0 mg, 0,004 mmol) y BnBr (17 μ l, 0,143 mmol) a 20°C y con agitación vigorosa. Luego de 45 min, se agregaron CH₂Cl₂ (10,0 ml) y H₂O (3,0 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con solución saturada de NaCl (3,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por **CF** de sílica gel utilizando un gradiente de hexano:acetato (7:3), se obtuvo el compuesto **217** (15,0 mg, 0,027 mmol) con un 96% de rendimiento.

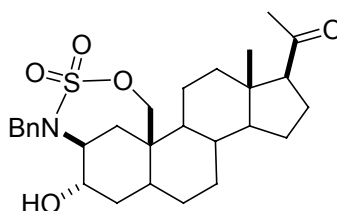
RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,59 (3H, s, 18-H), 2,04 (3H, s, acetato-H), 2,10 (3H, s, 21-H), 2,47 (1H, t, J=9.2 Hz, 17-H), 2,60 (1H, d, J=15.4 Hz, 1 β -H), 3,27 (1H, m, 2 α -H), 4,44 (1H, d, J=16.1 Hz, CH₂-Ph-H), 4,46 (1H, d, J=12.5 Hz, 19a-H), 4,61 (1H, d, J=12.5 Hz, 19b-H), 4,83 (1H, d, J=16.1 Hz, CH₂-Ph-H), 4,97 (1H, m, 3 β -H), 7,32-7,44 (5H, m, Ph-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 3500, 3290, 2929, 2854, 1697, 1448, 1362, 1173, 1077, 963, 738.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,83.

N-Bencil-3 α -hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (22)



A una solución del compuesto **217** (14,0 mg, 0,026 mmol) en metanol (6,4 ml), se agregó KOH 2,5N en metanol (1,1 ml) a 0°C bajo nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 hs a 20°C. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl 2N y se evaporó el solvente a un quinto de su volumen a presión reducida. El remanente se diluyó con CH₂Cl₂ (15,0 ml) y se lavó con solución saturada de NaCl (5,0 ml), agua (5,0 ml), secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (4:6), se obtuvo el compuesto **22** (12,6 mg, 0,025 mmol) con un 98% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

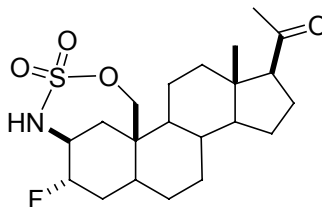
IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 3500, 3290, 2929, 2854, 1697, 1448, 1362, 1173, 1077, 963, 738.

EM-IES (m/z, %): 524 (M+Na⁺, 100), 612 (M+AcoEt+Na⁺, 60), 363 (10).

EMAR (IES) (m/z): C₂₈H₃₉NO₅SNa calculado 524,2447 encontrado 524,2451.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,47.

3 α -Fluoro-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (23)



A una solución de la aziridina **192** (20,0 mg, 0,051 mmol) en THF anhidro (1,0 ml), se agregó TBAF (29,0 mg, 0,127 mmol) a 0°C bajo argón y se dejó reaccionar la mezcla durante 1 h a 20°C. Se evaporó el THF a presión reducida y el residuo aceitoso se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (4:6), se obtuvo el fluoroesteroide **22** (17,7 mg, 0,043 mmol) con un 84% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

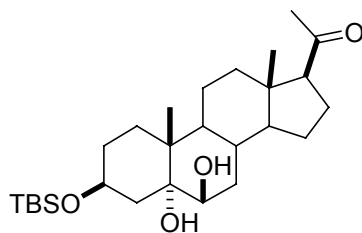
IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3553, 3276, 2934, 2877, 1697, 1448, 1362, 1176, 1059, 967, 738.

EM-IES (m/z, %): 524 (M+AcoEt+Na⁺, 100), 468 (50), 846 (M₂+Na⁺, 30), 642 (30), 436 (M+Na⁺, 20).

EMAR (IES) (m/z): C₂₁H₃₂FNO₄SNa calculado 436,1934 encontrado 436,1956.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 4:6, Rf 0,71.

3β-t-Butildimetilsililoxi-5α,6β-dihidroxipregnan-20-ona (229)



Método A: A una solución de acetato de pregnenolona **176** (4,02 g, 11,22 mmol) en CH₂Cl₂ (165,0 ml) se agregó carbonato de sodio (4,76 g, 44,9 mmol) en agua (164,0 ml). Sobre la mezcla de reacción agitada vigorosamente se agregó una solución de ácido *m*-cloroperbenzoico 55% (6,69 g, 21,32 mmol) en CH₂Cl₂ (71,0 ml) en un período de 5 min, continuándose la agitación por 3 h a 20°C. Se separó la fase orgánica, y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (2 x 25 ml). Las fases combinadas se lavaron con Na₂SO₃ 5% (50,0 ml), solución saturada de NaHCO₃ (50,0 ml) y agua (50,0 ml), luego se seco con Na₂SO₄ anhidro. Por evaporación de la fase orgánica se obtuvo una mezcla 1:1 de 3β-acetiloxi-5α,6α-epoxipregnan-20-ona y 3β-acetiloxi-5β,6β-epoxipregnan-20-ona **226** (4,13 g, 11,0 mmol) con un 98% de rendimiento

RMN ¹H (epóxido α) ppm: 0,58 (s, 3H, H-18), 1,09 (s, 3H, H-19), 2,01 (s, 3H, H-acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,89 (da, *J* = 4,0 Hz, H-6β), 4,97 (m, 1H, H-3α).

RMN ¹H (epóxido β) ppm: 0,60 (s, 3H, H-18), 1,01 (s, 3H, H-19), 2,01 (s, 3H, H-acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 3,10 (da, *J*= 2,0 Hz, H-6α), 4,78 (m, 1H, H-3α).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,44.

La mezcla de epóxidos **226** (4,11 g, 10,97 mmol) disuelta en dioxano (300,0 ml) se trató con HClO₄ 1N en dioxano (33 ml), la solución se agitó a 20°C durante 2 h, se neutralizó con solución saturada de KHCO₃. Se concentró a un quinto del volumen a presión reducida, se agregó agua (50,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 30,0 ml). La fase orgánica se lavó con agua (20,0 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. Por evaporación de la fase orgánica se obtuvo 3β-acetiloxi-5α,6β-dihidroxi-pregnan-20-ona **227** (4,09 g, 10,42 mmol) con un 95% de rendimiento.

RMN ¹H ppm: 0,65 (s, 3H, H-18), 1,18 (s, 3H, H-19), 2,01 (s, 3H, H-acetato), 2,11 (s, 3H, H-21), 3,56 (da, *J*= 4,0 Hz, H-6α), 5,10 (m, 1H, H-3α).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,22.

El compuesto anterior **227** (4,06 g, 11,34 mmol) se disolvió en metanol (250,0 ml) y se le agregó una solución de KOH 10% (23,0 ml), se continuó la agitación durante 2 h a 20°C. Una vez finalizada la misma, se neutralizó con HCl 2N y se evaporó a presión reducida a un tercio del volumen. El precipitado blanco que decantó, se filtró al vacío y se lavó con agua fría (2 x 75,0 ml). Se obtuvo 3β,5α,6β-trihidroxi-pregnan-20-ona **228** (3,61 g, 10,30 mmol) con un 99% de rendimiento.

RMN ¹H CDCl₃:CD₃OD 9:1 ppm: 0,64 (s, 3H, H-18), 1,16 (s, 3H, H-19), 2,11 (s, 3H, H-21), 2,53 (t, *J*= 8,9 Hz, 1H, H-17), 3,54 (m, 1H, H-6α), 4,11 (m, 1H, H-3α).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 2:8, Rf 0,06

El compuesto **228** (2,95 g, 8,43 ml) sin purificar, se disolvió en DMF anhidra (60,0 ml) y se agregaron cloruro de tert-butildimetilsililo (2,54 g, 16,9 mmol) e imidazol (1,73 g, 25,4 mmol) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se dejó reaccionar la mezcla durante 3 hs y luego se la volcó sobre una solución saturada de NaCl (75,0 ml), se extrajo con éter etílico (3 x 50,0 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 50,0 ml) y agua (50,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El sólido blanco obtenido se purificó por CF en silica gel, utilizando

hexano:acetato de etilo (90:10), se obtuvo 3 β -*t*-butildimetilsililoxi-5 α ,6 β -dihidroxi-pregnan-20-ona **229** (3,50 g, 7,55 mmol) con un rendimiento de 90% desde **227**.

Método B: Una suspensión de pregnenolona **210** (3,0 g, 9,48 mmol) en ácido fórmico 88% (33,0 ml) se calentó a 70-80°C con agitación, durante 5 min para formar el 3 β formiato y se enfrió a 20°C. La mezcla resultante se trató con peróxido de hidrógeno (3,4 ml) con agitación vigorosa. Se controló que la temperatura inicialmente no excediera los 40°C, mediante enfriamiento en baño de hielo. Luego de 20 minutos, el sólido se disolvió y la solución se tornó rosada, la temperatura se mantuvo a 20°C durante 4 h. Se dejó reaccionar la mezcla 16 horas más y luego se agregó agua a ebullición (50 ml), se agitó enérgicamente y se dejó enfriar 20°C. El sólido resultante se filtró al vacío y se secó. La mezcla de compuestos obtenida se disolvió en metanol (100 ml) y se trató con una solución de NaOH 40% (5,5 ml) a 0°C y se dejó evolucionar a 20°C. Luego de 45 min, la solución se neutralizó con HCl 2N y se agregó agua (50 ml). El sólido blanco precipitado se filtró al vacío a 0°C, se lavó con agua a 0°C y se secó con vacío.

El producto obtenido (3,34 g) se disolvió en DMF anhidra (45 ml). Se agregó imidazol (1,94 g, 28,50 mmol) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (2,87g, 19,03 mmol) a 0°C. Se dejó reaccionar a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno durante 2 h. Luego la solución se volcó sobre una solución saturada de NaCl (60 ml), se extrajo con éter etílico (3 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 15 ml) y agua (15 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El sólido blanco obtenido se purificó por CF en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (90:10), se obtuvo 3 β -*t*-butildimetilsililoxi-5 α ,6 β -dihidroxi-pregnan-20-ona **229** (3,17 g, 6,82 mmol) con un rendimiento de 72% desde pregnenolona **210**.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

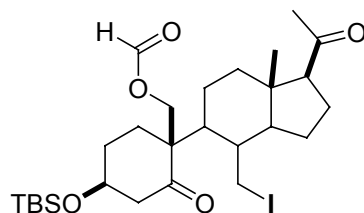
Microanálisis: C₂₇H₄₈O₄Si calculado C 69.78%, H 10.41%, encontrado C 69.87%, H 10.50%.

EM-IE (m/z, %): 465 (M+H⁺, 0,1), 477 (M+H-H₂O⁺, 0,2), 389 (2), 315 (24), 297 (30).

Punto de Fusión: 202-203°C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 2:8, R_f 0,65.

3β-t-Butildimetilsililoxi-19-formiloxi-7-yodo-5,7-seco-6-norpregnan-5,20-diona (224)



A una solución del compuesto **229** (1,00 g, 2,15 mmol) en CH₂Cl₂ seco (85,0 ml) en un recipiente refrigerado de vidrio, se agregó CCl₄ (85,0 ml) recientemente destilado, óxido de mercurio (II) (1,22, 4,73 mmol) y yodo (1,77 g, 7,00 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno. La suspensión se irradió con dos lámparas de 300 W (5000 lm) con agitación vigorosa. Se agregaron 3 alícuotas de óxido de mercurio (II) (1,22, 4,73 mmol) y yodo (1,77 g, 7,00 mmol) en intervalos de 1h. Luego de 4,5 hs se diluyó la mezcla con CH₂Cl₂ (85,0 ml) y se filtró por papel de filtro por gravedad. La fase orgánica se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio (60,0 ml) y agua (60,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo aceitoso se purificó por CF en fase reversa (C₁₈) utilizando mezclas de metanol:agua (70:30). Se obtuvo un sólido amarillo esponjoso inestable (0,85 g, 1,40 mmol) con un 65% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas **A**.

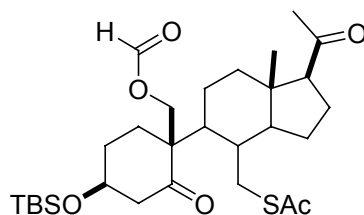
IR ν_{máx.} (film KBr)/cm⁻¹: 3488, 2950, 2887, 2858, 1726, 1700, 1467, 1360, 1179, 1052, 837, 778, 738, 700.

EM-FAB (m/z, %): 627 (M+Na⁺, 11), 477 (9), 461 (100), 329 (40).

EMAR (IES) (m/z): C₂₇H₄₅IO₅SiNa (M+Na⁺) calculado 627,1979 encontrado 627,1980.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 8:2 (x2), R_f 0,52.

3β-t-Butildimetilsililoxi-19-formiloxi-7-acetilsulfanil-5,7-seco-6-norpregnan-5,20-diona (223)



A una solución del seco esteroide **224** (0,65 g, 1,08 mmol) en acetona seca (33,0 ml) se agregó KSAc (0,37 g, 3,23 mmol) y se agitó a 20°C durante 3 h bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (70,0 ml), se filtró por gravedad y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (9:1 a 7:3), se obtuvo el compuesto **223** (0,42 g, 0,76 mmol) con 70% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

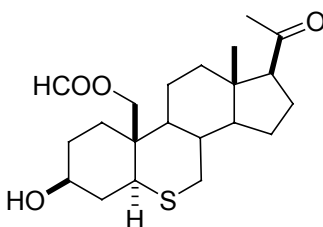
IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/cm⁻¹: 2955, 2932, 2894, 2857, 1725, 1700, 1464, 1357, 1174, 1128, 1041, 835.

EM-FAB (m/z, %): 575 (M+Na⁺, 100), 494 (30), 493 (83), 441 (9), 419 (35), 361 (26).

EMAR (IES) (m/z): C₂₉H₄₈O₆SSiNa (M+Na⁺) calculado 575.2839 encontrado 575.2810.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 8:2 (x2), Rf 0,39.

3β-Hidroxi-19-formiloxi-6-tia-5α-pregnan-20-ona (232)



Una solución del tioacetato **223** (0,40 g, 0,72 mmol) en metanol (40,0 ml) se agregó NaOH 10% (10,0 ml) a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se dejó evolucionar a 20°C y se dejó reaccionar durante 3 h. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl 1N (20,0 ml) y se evaporó hasta un quinto de su volumen original. Al remanente se le agregó CH₂Cl₂ (50,0 ml), se lavó solución saturada de NaCl (20,0 ml) y agua (20,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (7:3 a 4:6), se obtuvo una mezcla 1:1 de los hemitiocetales **222** (0,318 g, 0,67 mmol, 5α:5β 9:1) con 91% de rendimiento.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,05 (6H, s, TBDMS-H), 0,68 (3H, s, 18-H), 0,87 (9H, s, TBDMS-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,35 (1H, dd, *J*=12,8, 4,0 Hz, 7α-H), 2,53 (1H, t, *J*= 8,8 Hz, 2,84 (1H, t, *J*= 12,8 Hz, 7β-H), 3,71 (1H, d, *J*= 12,6 Hz, 19a), 4,10 (1H, m, 3α-H), 4,25 (1H, d, *J*= 12,6 Hz, 19a),

RMN ¹³C Isómero 5α ver Apéndice A de tablas.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente tolueno:acetato de etilo 6:1(x2), Rf 0,40.

A una solución del hemitiocetal **222** (0,318, 0,659 mmol) en piridina seca (14,2 ml), se agregó anhídrido fórmico acético (8,25 ml) a 20°C bajo atmósfera de nitrógeno (Zemlicka, 1962). Luego de 2 h, la solución se volcó sobre HCl 2N (50,0 ml), se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ seco (50,0 ml), se agregó trietilsilano (1,05 ml, 6,60 mmol) y BF₃·Et₂O (0,85 ml, 6,60 mmol) a -15°C bajo atmósfera de nitrógeno. Luego de 1 h de reacción se agregó agua (20,0 ml) y NaHCO₃ sólido hasta neutralización. La fase orgánica se decantó, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (20,0 ml) y solución saturada de NaCl (20,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 1:1), se obtuvo el 6-tia pregnano **232** (0,157 g, 0,413 mmol) con 64% de rendimiento desde **222**.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR ν_{máx.} (film KBr)/cm⁻¹: 3407, 2937, 2869, 1715, 1360, 1174, 1060.

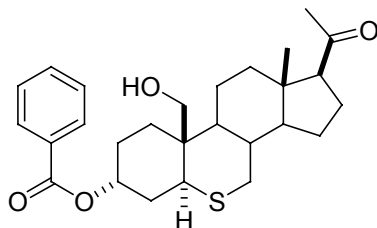
EM-IE (m/z, %): 380 (M⁺, 9,2), 335 (M-HCOOH⁺, 6,2), 321 (4), 251 (8), 93 (55).

EMAR (IES) (m/z): C₂₁H₃₂O₄S (M⁺) calculado 380,2021 encontrado 380,2035.

Punto de Fusión: 161-162 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 1:1, Rf 0,19.

3α-Benzoiloxi-19-hidroxi-6-tia-5α-pregnan-20-ona (239)



A una solución del 6-tia-pregnano **232** (0,125 g, 0,328 mmol) en THF anhidro (5,0 ml), se agregó trifenilfosfina (0,258 g, 0,984 mmol), ácido benzoico (0,094 g, 0,770 mmol) y DEAD (0,090 ml, 0,659 mmol) a 25°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 18 h, se evaporó el solvente a presión reducida. El producto se separó de los

derivados de trifenilfosfina y DEAD por CF en silica gel, se utilizó un gradiente de ciclohexano:acetato de etilo (8:2 a 6:4) obteniéndose el 3 α -benzoato **238**.

RMN ¹H 200,13 MHz (ppm): 0,66 (3H, s, 18-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,48 (1H, dd, J = 13,3, 11,2 Hz, 7 α -H), 2,50 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 2,58 (1H, dd, J = 13,3, 3,8 Hz, 7 β -H), 3,16 (1H, dd, J = 13,5, 4,0 Hz, 5 α -H), 4,54 (1H, d, J = 12,7 Hz, 19a-H), 4,79 (1H, d, J = 12,7 Hz, 19b-H), 5,33 (1H, m, 3-H), 7,48 (2H, m, Ar-H), 7,59 (1H, m, Ar-H), 8,06 (2H, m; Ar-H), 8,14 (1H, s, formiato-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 2947, 2875, 1720, 1450, 1355, 1275, 1173, 1112, 714.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,50.

Al producto de reacción **238** (0,162 g) obtenido, se lo disolvió en metanol (26,0 ml) y se agregó HCl 6N (5,9 ml, 35,8 mmol) a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se dejó reaccionar la mezcla a 20°C durante 1 h, para finalizar la reacción se agregó una solución saturada de KHCO₃ hasta neutralidad. El solvente se evaporó a presión reducida a un quinto de su volumen, se extrajo con CH₂Cl₂ (30,0 ml), la fase orgánica se lavó con solución saturada de NaCl (15,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El sólido se purificó por CF en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 1:1), se obtuvo el 3 α -benzoiloxi-19-hidroxi-6-tia-5 α -pregnan-20-ona **239** (0,140 g, 0,307 mmol) con 93% de rendimiento desde **232**.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/ cm^{-1} : 3496, 2945, 2873, 1707, 1449, 1353, 1112, 715.

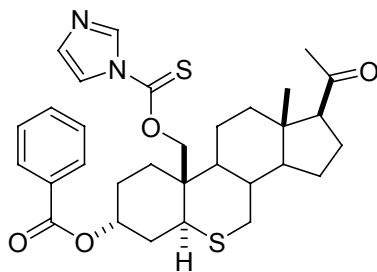
EM-IE (m/z, %): 456 (M⁺, 9,9), 334 (M-PhCOOH⁺, 60,7), 316 (5), 304 (25), 303 (24).

Microanálisis: C₂₇H₃₆O₄S calculado C 71,02%, H 7,95%, encontrado C 70,80%, H 8,20%.

Punto de Fusión: 86-88 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,40.

3 α -Benzoiloxi-19-imidazoiltionocarbonato-6-tia-5 α -pregnan-20-ona (221)



El compuesto **232** (0,133 g, 0,291 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ seco (6,7 ml), se agregó tiocarbonildiimidazol (0,254 g, 1,460 mmol) y 4-dimetilamino-piridina ((0,002 g, 0,015 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 5 h bajo atmósfera de nitrógeno. Se retiró del reflujo y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando un gradiente de hexano:acetato de etilo (8:2 a 1:1), se obtuvo el 19-imidazoiltionocarbonato **221** (0,142 g, 0,251 mmol) con 86% de rendimiento.

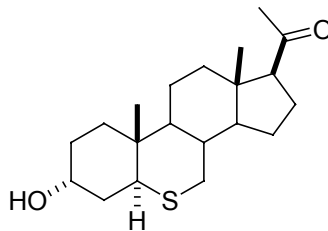
RMN ¹H 500,13 MHz (ppm): 0,62 (3H, s, 18-H), 2,10 (3H, s, 21-H), 2,50 (1H, t, *J*= 8,8 Hz, 17-H), 2,52 (1H, dd, *J*= 13,4, 11,5 Hz, 7 α -H), 2,62 (1H, dd, *J*= 13,4, 3,9 Hz, 7 β -H), 3,16 (1H, dd, *J*= 13,4, 3,8 Hz, 5 α -H), 4,89 (1H, d, *J*= 12,8 Hz, 19a-H), 5,34 (1H, d, *J*= 12,8 Hz, 19b-H), 5,36 (1H, m, 3-H), 7,07 (1H, s, Im-H), 7,49 (2H, m, Ar-H), 7,60 (1H, m, Ar-H), 7,61 (1H, sa, Im-H), 8,07 (2H, m; Ar-H), 8,30 (1H, s, Im-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 2944, 2876, 1710, 1388, 1330, 1280, 1108, 982, 748, 715.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,26.

3 α -Hidroxi-6-tia-5 α -pregnan-20-ona (17)



El compuesto tiocarbonílico **221** (0,136 g, 0,240 mmol) se disolvió en tolueno anhidro (6,6 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se calentó a 115°C, se agregó difenilsilano (0,265 ml, 1,450 mmol), seguido de alícuotas (18 x 0,05 ml) de una solución de AIBN en tolueno anhidro (0,158 g/ml, 1,8 equiv) cada 15 min. Luego de finalizada la

reacción se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo se purificó por CF en silica gel, utilizando hexano:acetato de etilo (9:1) como eluyente. Se obtuvo el 3 α -benzoiloxi-6-tia-pregnan-20-ona (**240**) como un aceite que contenía difenilsilano residual. Intentos de purificación por recristalización no fueron satisfactorios.

RMN ¹H 500,13 MHz (ppm): 0,65 (3H, s, 18-H), 1,09 (3H, s, 19-H), 2,11 (3H, s, 21-H), 2,44 (1H, dd, $J=13,2, 12,2$ Hz, 7 α -H), 2,51 (1H, t, $J=9,3$ Hz, 17-H), 2,53 (1H, dd, $J=13,2, 3,8$ Hz, 7 β -H), 3,09 (1H, dd, $J=13,4, 3,5$ Hz, 5 α -H), 5,29 (1H, m, 3-H), 7,47 (2H, m, Ar-H), 7,58 (1H, m, Ar-H), 8,06 (2H, m; Ar-H).

RMN ¹³C Apéndice de tablas A.

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,65.

La mezcla que contenía a 3 α -benzoiloxi-6-tia-pregnan-20-ona (**240**), se disolvió en DMF seca (5,0 ml), se agregó NaSCH₃ (0,254g, 3,63 mmol) y se calentó a 100°C durante 2 h bajo atmósfera de nitrógeno. La solución resultante se enfrió, se volcó sobre una solución saturada de NaCl (10,0 ml) y se extrajo con éter etílico (3 x 10,0 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (2 x 10,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El sólido amarillento se purificó por CF en columna de silica gel utilizando hexano:acetato de etilo (8:2 a 1:1), obteniéndose el 3 α -hidroxi-6-tia-5 α -pregnan-20-ona **17** (0,057 g, 0,169 mmol) como un sólido blanco con un 71% de rendimiento desde **221**.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3430, 2939, 2875, 1696, 1426, 1359, 1010, 752.

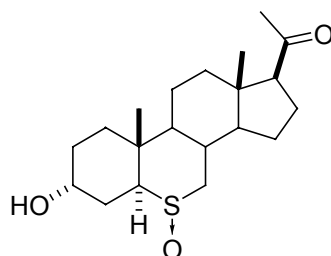
EM-IE (m/z, %): 336 (M+H⁺, 5,0), 318 (M-H₂O⁺, 10,0), 303 (2,0), 251 (2,0).

EMAR (IES) (m/z): C₂₀H₃₂O₂S (M⁺) calculado 336,2123 encontrado 336,2131.

Punto de Fusión: 174-175 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente hexano:acetato de etilo 6:4, Rf 0,32.

S-Oxo-3 α -hidroxi-6-tia-5 α -pregnan-20-ona (**18**)



A una solución del compuesto **17** (9,0 mg, 0,027 mmol) en metanol (1,0 ml), se agregó una suspensión de Oxone® (11,0 mg, 0,018 mmol) en agua (0,8 ml) a 0°C. Luego de 5 min, se agregó una solución saturada de bisulfito de sodio (1,0 ml). Se evaporó el solvente a presión reducida y se extrajo la fase acuosa remanente con éter etílico (2 x 5,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando como solvente CH₂Cl₂:CH₃OH (20:1), se obtuvo S-oxo-3α-hidroxi-6-tia-5α-pregnan-20-ona **18** (8,2 mg, 0,023 mmol) con un 87% de rendimiento.

RMN ¹H y ¹³C Apéndice de tablas A.

IR $\nu_{\text{máx}}$. (film KBr)/cm⁻¹: 3382, 2940, 2863, 1701, 1429, 1359, 1014, 756.

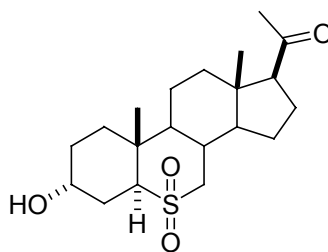
EM- IE (m/z, %): 352 (M⁺, 0,5), 318 (M⁺, 0,6).

EMAR (IES) (m/z): C₂₀H₃₂O₃S (M⁺) calculado 352,2072 encontrado 352,2070.

Punto de Fusión: 182-183°C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente CH₂Cl₂:CH₃OH (20:1), R_f 0,28.

S,S-Dioxo-3α-hidroxi-6-tia-5α-pregnan-20-ona (19)



A una solución del compuesto **17** (11,6 mg, 0,042 mmol) en metanol (1,3 ml), se agregó una suspensión de Oxone® (38,0 mg, 0,062 mmol) en agua (1,0 ml) a 0°C. Se dejó reaccionar la mezcla con agitación vigorosa durante 5 h a 25°C. Para finalizar la misma se agregó una solución saturada de bisulfito de sodio (1,3 ml). Se evaporó el solvente a presión reducida y se extrajo la fase acuosa remanente con éter etílico (2 x 5,0 ml), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa en silica gel, utilizando como solvente CH₂Cl₂:CH₃OH (20:1), se obtuvo S,S-dioxo-3α-hidroxi-6-tia-5α-pregnan-20-ona **19** (11,4 mg, 0,038 mmol) con un 90% de rendimiento

RMN ^1H y ^{13}C Apéndice de tablas **A**.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (film KBr)/ cm^{-1} : 3491, 2947, 2865, 1699, 1289, 1131, 1012, 903.

EM-IE (m/z, %): 368 (M^+ , 0,3), 350 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}^+$, 0,3).

EMAR (IES) (m/z): $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{S}$ (M^+) calculado 368,2021 encontrado 368,2016.

Punto de Fusión: 187-188 °C (hexanos-acetato de etilo).

Control por CCD: Soporte silica gel, eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (20:1), Rf 0,40.

Apéndice A

Desplazamientos Químicos de RMN ^1H y ^{13}C

Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C **Compuesto 20**

Carbono	^1H	$\delta \text{ } ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,39	---	---	26,0
	1- β	1,71	---	---	
2	2- α	2,17	---	---	27,8
	2- β	1,66	---	---	
3	3- α	4,38	<i>m</i>	---	63,6
	3- β	---	---	---	
4	4- α^*	1,88	<i>dd</i>	14,1; 7,6	39,6
	4- β^*	1,82	<i>dd</i>	14,1; 5,2	
5	5	---	---	---	54,5
6	6- α	2,69	<i>d</i>	6,6	47,6
	6- β	---	---	---	
7	7- α	1,62	---	---	23,9
	7- β	2,51	<i>dd</i>	16,4; 7,5	
8	8	1,94	<i>m</i>	---	30,7
9	9	1,22	<i>m</i>	---	44,9
10	10	---	---	---	31,7
11	11- α	1,65	---	---	20,9
	11- β	1,41	---	---	
12	12- α	1,47	---	---	38,3
	12- β	2,10	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,08	<i>m</i>	---	58,5
15	15- α	1,73	---	---	23,8
	15- β	1,3	---	---	
16	16- α	1,72	---	---	22,9
	16- β	2,18	---	---	
17	17	2,48	<i>t</i>	10,0	63,2
18	18	0,65	<i>s</i>	---	13,5
19	19- α	4,41	<i>dd</i>	12,5; 1,1	73,2
	19- β	4,29	<i>d</i>	12,5	
20	20	---	---	---	209,8
21	21	2,12	<i>s</i>	---	31,3

*Asignaciones intercambiables.

Compuesto 21

Carbono	^1H	$\delta ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,68	---	---	28,9
	1- β	2,62	<i>dd</i>	15,0; 2,2	
2	2- α	3,51	<i>sa</i>	---	52,3
3	3- β	3,82	<i>sa</i>	---	68,5
4	4- α	2,03	---	---	31,6
	4- β	1,51	<i>da</i>	14,7	
5	5	1,80	---	---	40,3
6	6- α	1,08	---	---	27,9
	6- β	1,36	---	---	
7	7- α	0,99	---	---	31,1
	7- β	1,71	---	---	
8	8	1,26	---	---	36,1
9	9	0,97	<i>td</i>	12,3; 3,3	52,8
10	10	---	---	---	40,3
11	11- α	1,80	---	---	21,4
	11- β	1,31	---	---	
12	12- α	1,40	---	---	38,7
	12- β	2,04	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,17	---	---	56,3
15	15- α	1,69	---	---	22,7
	15- β	1,22	---	---	
16	16- α	1,63	---	---	21,4
	16- β	2,16	---	---	
17	17	2,52	<i>t</i>	8,9	63,3
18	18	0,62	<i>s</i>	---	13,5
19	19-a	4,27	<i>d</i>	12,7	71,7
	19-b	4,46	<i>d</i>	12,7	
20	20	---	---	---	209,5
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,5
SO₂-NH	SO ₂ -NH	4,58	<i>sa</i>	---	---

Compuesto 22

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,77	---	---	31,0
	1- β	2,60	<i>d</i>	15,1	
2	2- α	3,22	---	---	57,8
3	3- β	3,83	---	---	66,9
4	4- α	2,11	---	---	32,9
	4- β	1,36	---	---	
5	5	1,73	---	---	38,5
6	6- α	1,40	---	---	27,4
	6- β	1,40	---	---	
7	7- α	0,99	---	---	31,6
	7- β	1,77	---	---	
8	8	1,23	---	---	35,9
9	9	0,94	---	---	52,8
10	10	---	---	---	40,0
11	11- α	1,74	---	---	21,0
	11- β	1,35	---	---	
12	12- α	1,36	---	---	38,7
	12- β	2,03	---	---	
13	13	---	---	---	43,9
14	14	1,07	---	---	57,0
15	15- α	1,67	---	---	24,2
	15- β	1,19	---	---	
16	16- α	1,65	---	---	22,7
	16- β	2,15	---	---	
17	17	2,48	<i>t</i>	9,0	63,5
18	18	0,59	<i>s</i>	---	13,4
19	19-a	4,46	<i>d</i>	12,1	72,1
	19-b	4,60	<i>d</i>	12,1	
20	20	---	---	---	209,2
21	21	2,10	<i>s</i>	---	31,4
CH₂-Ph	<u>CH₂</u> -Ph-a	4,45	<i>d</i>	15,9	53,5
CH₂-Ph	<u>CH₂</u> -Ph-b	4,63	<i>d</i>	15,9	
C (ipso)	<u>C</u> (ipso)	---	---	---	136,3
CH (meta)	<u>CH</u> (meta)	7,36	<i>m</i>	---	128,8
CH (para)	<u>CH</u> (para)	7,39	<i>m</i>	---	128,3
CH (orto)	<u>CH</u> (orto)	7,31	<i>m</i>	---	128,0

Compuesto 23

Carbono	^1H	$\delta ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta ^{13}\text{C}$ [ppm]	$J_{\text{C-F}}$ [Hz]
1	1- α	1,65	---	---	29,9	---
	1- β	2,72	<i>d</i>	15,7		15,7
2	2- α	3,70	<i>sa</i>	---	49,8	31,4
3	3- β	4,53	<i>d</i>	44,2	88,9	175,0
4	4- α	2,06	---	---	30,0	19,7
	4- β	1,77	---	---		---
5	5	1,74	---	---	39,2	---
6	6- α	1,19	---	---	27,5	---
	6- β	1,43	---	---		---
7	7- α	1,03	---	---	31,5	---
	7- β	1,76	---	---		---
8	8	1,27	---	---	36,0	---
9	9	0,97	---	---	52,9	---
10	10	---	---	---	40,4	---
11	11- α	1,79	---	---	21,3	---
	11- β	1,35	---	---		---
12	12- α	1,41	---	---	38,7	---
	12- β	2,07	---	---		---
13	13	---	---	---	44,0	---
14	14	1,16	---	---	56,5	---
15	15- α	1,69	---	---	24,2	---
	15- β	1,21	---	---		---
16	16- α	1,66	---	---	22,7	---
	16- β	2,17	---	---		---
17	17	2,51	<i>t</i>	8,9	63,5	---
18	18	0,62	<i>s</i>	---	13,5	---
19	19-a	4,33	<i>d</i>	12,5	71,8	---
	19-b	4,50	<i>d</i>	12,5		---
20	20	---	---	---	209,2	---
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,6	---
SO₂-NH	SO ₂ -NH	4,58	<i>sa</i>	---	---	---

Compuesto 139

Asignación	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 300 MHz)		
	Tipo	δ ppm	a	δ ppm	
				a	b
1	CH_2	65,7	4,48	---	4,07
2	CH_2	35,2	2,15	---	1,74
3	CH	53,9	---	3,00	---
4	CH_2	44,0	3,27	---	3,12
$\text{CH}_2\text{-Ph}$	CH_2	51,5	---	3,69	---
C-ipso	C	139,6	---	7,23	---
C-orto	CH	129,2	---	7,23	---
C-meta	CH	128,4	---	7,23	---
C-para	CH	128,0	---	7,23	---

Compuesto 140

Asignación	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 300 MHz)		
	Tipo	δ ppm	a	δ ppm	
				a	b
1	CH_2	66,9	4,33	---	4,11
2	CH_2	33,1	2,18	---	1,78
3	CH	60,2	---	2,72	---
4	CH	59,7	---	2,98	---
5	CH_2	24,3	1,78	---	1,60
6	CH_3	11,2	---	0,95	---
$\text{CH}_2\text{-Ph}$	CH_2	51,7	---	3,69	---
C-ipso	C	140,0	---	7,23	---
C-orto	CH	129,0	---	7,23	---
C-meta	CH	128,6	---	7,23	---
C-para	CH	127,8	---	7,23	---
NH	---	---	---	5,21	---
NH	---	---	---	1,23	---

Compuesto 141

Asignación	^{13}C (CD_3OD , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 250 MHz)		^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 250 MHz)			
	Tipo	δ ppm	δ ppm		δ ppm			
			a	b	a	B		
1	CH_2	68,2	4,51	---	4,25	4,34	---	4,29
2	CH_2	35,7	2,31	---	2,15	2,34	---	2,03
3	CH	61,5	---	3,97	---	---	3,98	---
4	CH_2	46,5	3,46	---	3,28	3,31	---	3,13
NH	---	---	---	5,05	---	---	8,34	---

Compuesto 142

Asignación	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 250 MHz)		
	Tipo	δ ppm	δ ppm		
			a	B	
1	CH_2	67,0	4,49	---	4,28
2	CH_2	29,7	2,43	---	2,13
3	CH	47,3	---	3,49	---
4	CH_2	44,2	3,49	---	3,16
c-ipso	C	131,5	---	---	---
c-orto	CH	133,3	---	7,44	---
c-meta	CH	129,6	---	7,35	---
c-para	CH	128,6	---	7,35	---
NH	---	---	---	5,23	---

Compuesto 143

Asignación	^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz)		^1H (CDCl_3 , 250 MHz)		
	Tipo	δ ppm	a	δ ppm	
1	CH_2	65,2	4,50	---	4,15
2	CH_2	32,9	2,11	---	2,05
3	CH	75,1	---	3,55	---
4	CH_2	44,4	---	3,35	---
OCH_3	CH_3	56,9	---	3,38	---
NH	---	---	---	5,25	---

Compuesto 180

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,64	---	---	32,7
	1- β	2,14	---	---	
2	2- α	1,91	---	---	27,6
	2- β	1,55	---	---	
3	3- α	4,64	<i>m</i>	---	73,2
	3- β	---	---	---	
4	4- α	2,45	<i>ddd</i>	13,3; 4,9; 2,0	37,9
	4- β	2,33	<i>bt</i>	13,2	
5	5	---	---	---	133,6
6	6- α	5,67	<i>m</i>	---	127,5
	6- β	---	---	---	
7	7- α	1,57	---	---	31,2
	7- β	2,06	---	---	
8	8	1,69	---	---	32,5
9	9	1,05	<i>dt</i>	11,8; 4,5	49,8
10	10	---	---	---	39,9
11	11- α	1,71	---	---	21,6
	11- β	1,65	---	---	
12	12- α	1,43	<i>dt</i>	12,6; 4,2	38,9
	12- β	2,08	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,11	---	---	57,3
15	15- α	1,67	---	---	24,3
	15- β	1,26	---	---	
16	16- α	1,66	---	---	22,8
	16- β	2,16	---	---	
17	17	2,53	<i>t</i>	8,9	63,6
18	18	0,68	<i>s</i>	---	13,2
19	19-a	4,15	<i>d</i>	10,2	70,0
	19-b	4,33	<i>d</i>	10,2	
20	20	---	---	---	210,3
21	21	2,13	<i>s</i>	---	31,4
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	2,03	<i>s</i>	---	21,3
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	---	---	---	170,9

Compuesto 181

Carbono	^1H	$\delta ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,50	---	---	26,0
	1- β	1,67	---	---	
2	2- β	1,67	---	---	25,0
	2- α	2,27	---	---	
3	3- α	5,12	<i>m</i>	---	66,8
	3- β	---	---	---	
4	4- β^*	1,85	<i>dd</i>	14,9; 5,4	35,6
	4- α^*	2,01	<i>dd</i>	14,9; 4,3	
5	5	---	---	---	52,9
6	6- α	2,62	<i>d</i>	6,1	45,8
	6- β	---	---	---	
7	7- α	1,55	---	---	24,2
	7- β	2,53	<i>dd</i>	16,3; 7,2	
8	8	2,01	<i>m</i>	---	30,5
9	9	1,03	<i>m</i>	---	46,1
10	10	---	---	---	31,9
11	11- α	1,45	---	---	20,9
	11- β	1,64	---	---	
12	12- α	1,45	---	---	38,3
	12- β	2,13	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,03	<i>m</i>	---	58,6
15	15- β	1,30	---	---	23,7
	15- α	1,72	---	---	
16	16- α	1,72	---	---	22,9
	16- β	2,17	---	---	
17	17	2,48	<i>t</i>	9,1	63,2
18	18	0,66	<i>s</i>	---	13,4
19	19-a	4,31	<i>d</i>	12,3	72,8
	19-b	4,68	<i>dd</i>	12,3; 1,1	
20	20	---	---	---	209,7
21	21	2,12	<i>s</i>	---	31,2
CH₃COO-	CH₃COO-	2,12	<i>s</i>	---	21,1
CH₃COO-	CH₃COO-	---	---	---	171,5

*Asignaciones intercambiables.

Compuesto 182

Carbono	^1H	$\delta \text{ } ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$ [ppm]	$J_{\text{F-C}}$ [Hz]
1	1- α	1,67	---	---	29,2	---
	1- β	1,76	---	---		---
2	2- α	2,00	---	---	26,8	---
	2- β	1,39	---	---		---
3	3- α	5,07	<i>m</i>	---	69,0	3,4
	3- β	---	---	---		3,4
4	4- α	2,09	<i>dd</i>	13,4; 8,7	35,9	22,0
	4- β	2,39	<i>ddd</i>	42,6; 13,4; 11,4		22,0
5	5	---	---	---	97,0	176,3
6	6- α	---	---	---	56,7	---
	6- β	3,31	<i>da</i>	4,3		32,2
7	7- α	1,83	---	---	28,8	---
	7- β	1,97	---	---		---
8	8	2,50	<i>m</i>	---	32,0	---
9	9	1,53	<i>m</i>	---	46,3	3,4
10	10	---	---	---	42,3	19,5
11	11- α	1,60	---	---	21,2	---
	11- β	1,53	---	---		---
12	12- α	1,48	---	---	39,2	---
	12- β	2,12	---	---		---
13	13	---	---	---	44,8	---
14	14	1,16	---	---	57,4	---
15	15- α	1,61	---	---	23,6	---
	15- β	1,34	---	---		---
16	16- α	1,70	---	---	23,0	---
	16- β	2,17	---	---		---
17	17	2,51	<i>t</i>	9,0	63,4	---
18	18	0,70	<i>s</i>	---	14,0	---
19	19-a	4,65	<i>d</i>	13,7	71,9	5,9
	19-b	4,27	<i>dd</i>	13,7; 4,6		5,9
20	20	---	---	---	209,2	---
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,3	---
$\underline{\text{CH}_3\text{COO-}}$	$\underline{\text{CH}_3\text{COO-}}$	2,04	<i>s</i>	---	21,2	---
$\text{CH}_3\underline{\text{COO-}}$	$\text{CH}_3\underline{\text{COO-}}$	---	---	---	170,3	---
$\text{SO}_2\text{-NH}$	$\text{SO}_2\text{-NH}$	4,80	<i>d</i>	4,6	---	---

Compuesto 183

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,67	---	---	31,5
	1- β	1,97	<i>td</i>	14,4; 3,4	
2	2- α	2,07	---	---	26,5
	2- β	1,34	---	---	
3	3- α	5,19	<i>m</i>	---	69,4
3	3- β	---	---	---	69,4
4	4- α	2,10	---	---	33,8
	4- β	2,32	<i>dd</i>	13,0; 11,6	
5	5	---	---	---	48,9
6	6- α	---	---	---	55,6
	6- β	3,47	<i>m</i>	---	
7	7- α	2,06	---	---	29,4
	7- β	2,26	<i>ddd</i>	15,3; 5,9; 1,6	
8	8	2,66	<i>m</i>	---	32,7
9	9	1,65	<i>m</i>	---	50,1
10	10	---	<i>m</i>	---	40,5
11	11- α	1,76	---	---	21,5
	11- β	1,53	---	---	
12	12- α	1,54	---	---	39,0
	12- β	2,12	---	---	
13	13	---	---	---	44,9
14	14	1,25	<i>m</i>	---	57,5
15	15- α	1,65	---	---	23,5
	15- β	1,33	---	---	
16	16- α	1,71	---	---	23,1
	16- β	2,17	---	---	
17	17	2,53	<i>t</i>	9,1	63,1
18	18	0,71	<i>s</i>	---	14,1
19	19-a	4,16	<i>d</i>	13,9	68,9
	19-b	4,77	<i>dd</i>	13,9; 1,0	
20	20	---	---	---	209,1
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,3
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	2,06	<i>s</i>	---	21,1
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	---	---	---	170,1
<u>CN-</u>	<u>CN-</u>	---	---	---	120,1
<u>SO₂-NH</u>	<u>SO₂-NH</u>	5,16	<i>d</i>	5,10	---

Compuesto 184

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,72	<i>m</i>	---	29,2
	1- β	1,72	<i>m</i>	---	
2	2- α	2,00	<i>t</i>	15,1	26,8
	2- β	1,30	<i>m</i>	---	
3	3- α	---	---	---	68,9
	3- β	4,78	<i>m</i>	---	
4	4- α	2,90	<i>ddd</i>	13,5; 4,5; 1,6	30,6
	4- β	2,26	<i>dd</i>	13,5; 11,8	
5	5	---	---	---	86,0
6	6- α	4,44	<i>bt</i>	5,2	52,0
	6- β	---	---	---	
7	7- α	1,46	<i>m</i>	---	27,2
	7- β	2,07	<i>d</i>	14,5	
8	8	2,60	<i>m</i>	---	31,9
9	9	1,61	<i>m</i>	---	46,1
10	10	---	---	---	42,5
11	11- α	1,70	---	---	21,4
	11- β	1,59	---	---	
12	12- α	1,89	---	---	39,4
	12- β	2,09	---	---	
13	13	---	---	---	45,1
14	14	1,07	<i>m</i>	---	58,3
15	15- α	1,64	---	---	23,5
	15- β	1,32	---	---	
16	16- α	1,93	---	---	23,0
	16- β	2,16	---	---	
17	17	2,51	<i>t</i>	9,2	63,3
18	18	0,71	<i>s</i>	---	14,2
19	19-a	4,15	<i>d</i>	13,7	71,2
	19-b	4,8	<i>d</i>	13,7	
20	20	---	---	---	209,2
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,3
CH₃COO-	CH₃COO-	2,03	<i>s</i>	---	21,2
CH₃COO-	CH₃COO-	2,13	<i>s</i>	---	22,1
CH₃COO-	CH₃COO-	---	---	---	169,6
CH₃COO-	CH₃COO-	---	---	---	170,3
SO₂-NH	SO₂-NH	4,9	<i>d</i>	5,3	---

Compuesto 185

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	J H-H [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,59	<i>da</i>	15,0	20,1
	1- β	2,41	<i>dt</i>	15,0; 3,9	
2	2- α	1,71	<i>bt</i>	14,8	24,1
	2- β	1,89	<i>da</i>	14,8	
3	3- α	5,28	<i>sa</i>	---	68,5
	3- β	---	---	---	
4	4- α	1,98	<i>da</i>	16,2	29,6
	4- β	2,09	<i>da</i>	16,2	
5	5	---	---	---	63,5
6	6- α	---	---	---	69,5
	6- β	5,97	<i>dd</i>	12,1; 5,0	
7	7- α	1,10	<i>q</i>	12,3	32,8
	7- β	2,12	<i>d</i>	12,3	
8	8	1,61	<i>m</i>	---	33,5
9	9	1,52	<i>dt</i>	13,6; 3,6	41,2
10	10	---	---	---	38,3
11	11- α	1,64	<i>m</i>	---	21,0
	11- β	1,27	<i>m</i>	---	
12	12- α	2,09	<i>m</i>	---	38,6
	12- β	1,40	<i>m</i>	---	
13	13	---	---	---	43,6
14	14	1,19	<i>m</i>	---	56,5
15	15- α	1,68	<i>m</i>	---	23,4
	15- β	1,26	<i>m</i>	---	
16	16- α	1,73	<i>m</i>	---	23,0
	16- β	2,16	<i>m</i>	---	
17	17	2,47	<i>ta</i>	---	63,2
18	18	0,62	<i>s</i>	---	13,2
19	19-a	4,98	<i>d</i>	12,1	74,0
	19-b	4,15	<i>d</i>	12,1	
20	20	---	---	---	208,7
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,3
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	2,08	<i>s</i>	---	21,1
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	2,14	<i>s</i>	---	21,4
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	---	---	---	169,0
<u>CH₃COO-</u>	<u>CH₃COO-</u>	---	---	---	169,7
SO ₂ -NH	SO ₂ -NH	5,74	<i>s</i>	---	---

Compuesto 192

Carbono	^1H	$\delta \text{ } ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,87	<i>ddd</i>	15,3; 3,2; 1,7	35,5
	1- β	2,79	<i>d</i>	15,3	
2	2	2,97	<i>m</i>	---	38,0
3	3	3,08	<i>dd</i>	7,5; 5,5	40,1
4	4- α	2,28	<i>dd</i>	16,3; 11,8	24,7
	4- β	2,07	---	---	
5	5	1,40	---	---	40,4
6	6- α	1,60	---	---	26,9
	6- β	1,37	---	---	
7	7- α	0,98	---	---	30,9
	7- β	1,80	---	12,6; 3,5	
8	8	1,37	<i>m</i>	---	35,9
9	9	0,87	<i>td</i>	12,0; 3,7	53,9
10	10	---	---	---	39,6
11	11- α	1,73	---	---	20,7
	11- β	1,18	---	---	
12	12- α	1,37	---	---	40,2
	12- β	2,04	---	---	
13	13	---	---	---	43,7
14	14	1,13	<i>ddd</i>	12,5; 10,6; 6,6	56,4
15	15- α	1,67	---	---	23,9
	15- β	1,22	---	---	
16	16- α	1,66	---	---	22,6
	16- β	2,14	---	---	
17	17	2,48	<i>t</i>	8,8	63,2
18	18	0,60	<i>s</i>	---	13,1
19	19-a	4,19	<i>d</i>	12,3	73,3
	19-b	4,42	<i>dd</i>	12,4; 1,7	
20	20	---	---	---	209,9
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,1

Compuesto 193

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,63	---	---	34,0
	1- β	2,40	<i>da</i>	16,4	
2	2	5,69	---	---	126,3
3	3	5,70	---	---	127,0
4	4- α	1,88	---	---	30,7
	4- β	2,00	---	---	
5	5	1,55	---	---	41,4
6	6- α	1,46	---	---	28,5
	6- β	1,32	<i>dd</i>	13,1; 3,9	
7	7- α	0,95	---	---	31,7
	7- β	1,63	<i>qd</i>	12,6; 4,5	
8	8	1,51	---	---	36,0
9	9	0,86	<i>td</i>	11,3; 5,0	54,1
10	10	---	---	---	38,8
11	11- α	1,65	---	---	21,9
	11- β	1,65	---	---	
12	12- α	1,37	<i>dd</i>	12,3; 5,1	39,3
	12- β	2,03	<i>td</i>	12,3; 3,4	
13	13	---	---	---	44,2
14	14	1,12	<i>dq</i>	12,5; 10,1; 6,8	57,1
15	15- α	1,69	---	---	24,3
	15- β	1,21	---	---	
16	16- α	1,62	---	---	22,6
	16- β	2,17	---	---	
17	17	2,52	<i>t</i>	9,1	63,8
18	18	0,65	<i>s</i>	---	13,3
19	19-a	3,73	<i>dd</i>	11,5; 3,5	61,8
	19-b	3,81	<i>dd</i>	11,4; 5,4	
20	20	---	---	---	209,6
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,5

Compuesto 195

Carbono	^1H	$\delta\ ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta\ ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,95	---	---	27,5
	1- β	1,95	---	---	
2	2	5,57	---	---	123,7
3	3	5,68	---	---	125,0
4	4- α	2,16	---	---	26,6
	4- β	1,99	---	---	
5	5	1,67	---	---	46,1
6	6- α	3,98	<i>d</i>	4,8	81,5
7	7- α	1,12	<i>t</i>	12,0	36,7
	7- β	1,80	<i>dt</i>	12,7; 5,2	
8	8	1,74	---	---	34,8
9	9	1,05	<i>td</i>	11,4; 2,7	53,8
10	10	---	---	---	42,9
11	11- α	1,63	---	---	22,3
	11- β	1,30	---	---	
12	12- α	1,44	<i>td</i>	12,7; 3,8	39,1
	12- β	2,05	<i>dt</i>	12,4; 3,2	
13	13	---	---	---	44,7
14	14	1,29	---	---	55,7
15	15- α	1,60	---	---	23,7
	15- β	1,27	---	---	
16	16- α	1,65	---	---	22,9
	16- β	2,17	---	---	
17	17	2,52	<i>t</i>	9,0	63,6
18	18	0,69	<i>s</i>	---	13,8
19	19-a	3,55	<i>d</i>	7,7	70,9
	19-b	3,78	<i>d</i>	8,0	
20	20	---	---	---	209,4
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,4

Compuesto 207

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,01	---	---	33,4
	1- β	1,81	---	---	
2	2- α	1,93	---	---	25,8
	2- β	1,70	---	---	
3	3- α	1,54	---	---	35,3
4	4- α	0,73	<i>t</i>	4,7	11,7
	4- β	1,69	---	---	
5	5	---	---	---	46,7*
6	6	---	---	---	209,3
7	7- α	1,92	---	---	44,7
	7- β	2,43	<i>da</i>	12,4	
8	8	1,94	---	---	34,6
9	9	1,29	---	---	46,1
10	10	---	---	---	46,3*
11	11- α	1,58	---	---	22,7
	11- β	1,46	<i>ddd</i>	13,3; 13,; 3,8	
12	12- α	1,30	---	---	39,1
	12- β	1,89	---	---	
13	13	---	---	---	42,5
14	14	1,23	---	---	56,3
15	15- α	1,66	---	---	24,0
	15- β	1,17	---	---	
16	16- α	1,28	---	---	25,3
	16- β	1,76	---	---	
17	17	1,64	---	---	54,9
18	18	0,69	<i>s</i>	---	12,5
19	19	1,00	<i>s</i>	---	19,6
20	20	4,86	<i>m</i>	---	72,6
21	21	1,17	<i>d</i>	6,2	19,8
CH₃C<u>OO</u>-	CH ₃ C <u>OO</u> -	---	---	---	170,3
<u>CH</u>₃COO-	<u>CH</u> ₃ COO-	2,02	<i>s</i>	---	21,4

*Asignaciones intercambiables.

Compuesto 208

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,78	---	---	41,7
	1- β	1,86	---	---	
2	2	5,57	<i>m</i>	---	125,6
3	3	5,68	<i>m</i>	---	125,6
4	4- α	2,31	<i>tq</i>	15,0; 2,3	26,4
	4- β	1,84	---	---	
5	5- α	1,43	---	---	44,5
6	6- α	3,85	<i>q</i>	2,8	70,3
	6- β	---	---	---	
7	7- α	1,17	---	---	39,7
	7- β	1,85	---	---	
8	8	1,71	---	---	30,0
9	9	0,77	---	---	54,2
10	10	---	---	---	34,6
11	11- α	1,46	---	---	20,7
	11- β	1,41	---	---	
12	12- α	1,20	---	---	39,3
	12- β	1,85	---	---	
13	13	---	---	---	42,4
14	14	1,08	---	---	55,5
15	15- α	1,67	---	---	24,2
	15- β	1,18	---	---	
16	16- α	1,25	---	---	25,4
	16- β	1,72	---	---	
17	17	1,60	---	---	55,1
18	18	0,67	<i>s</i>	---	12,5
19	19	0,76	<i>s</i>	---	15,1
20	20	4,85	<i>m</i>	---	72,8
21	21	1,15	<i>d</i>	6,2	19,9
CH₃COO-	CH ₃ COO-	---	---	---	170,4
CH₃COO-	CH ₃ COO-	2,02	<i>s</i>	---	21,5

Compuesto 211

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,81	---	---	36,1
	1- β	2,21	---	---	
2	2	5,55	<i>m</i>	---	124,7
3	3	5,67	<i>m</i>	---	126,5
4	4- α	2,67	<i>da</i>	16,2	32,9
	4- β	1,80	---	---	
5	5	1,92	---	---	50,3
6	6- β	4,49	<i>td</i>	12,0; 4,3	38,8
7	7- α	1,92	<i>m</i>	---	47,2
	7- β	2,60	<i>dt</i>	12,8; 3,9	
8	8	1,74	<i>m</i>	---	39,5
9	9	1,07	<i>td</i>	11,6; 3,7	53,2
10	10	---	---	---	41,3
11	11- α	1,64	---	---	21,5
	11- β	1,47	---	---	
12	12- α	1,39	---	---	38,7
	12- β	2,04	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,15	<i>m</i>	---	56,5
15	15- α	1,71	---	---	24,2
	15- β	1,21	---	---	
16	16- α	1,67	---	---	22,8
	16- β	2,17	---	---	
17	17	2,52	<i>t</i>	9,0	63,3
18	18	0,59	<i>s</i>	---	13,3
19	19-a	4,15	<i>d</i>	12,3	63,4
	19-b	4,23	<i>d</i>	12,1	
20	20	---	---	---	209,2
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,5
CH₃COO-	CH ₃ COO-	---	---	---	170,6

Compuesto 213

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,79	---	---	35,8
	1- β	2,19	---	---	
2	2	5,57	---	---	124,7
3	3	5,68	---	---	125,7
4	4- α	2,21	---	---	25,4
	4- β	1,78	---	---	
5	5	1,73	---	---	45,8
6	6- β	5,04	<i>td</i>	11,1; 4,7	73,0
7	7- α	0,99	<i>q</i>	11,6	37,1
	7- β	2,07	---	---	
8	8	1,76	<i>m</i>	---	35,0
9	9	0,93	<i>m</i>	11,6; 3,7	53,1
10	10	---	---	---	39,1
11	11- α	1,63	---	---	21,4
	11- β	1,47	---	---	
12	12- α	1,42	---	---	39,0
	12- β	2,06	---	---	
13	13	---	---	---	44,1
14	14	1,14	<i>m</i>	---	57,0
15	15- α	1,68	---	---	24,3
	15- β	1,25	---	---	
16	16- α	1,67	---	---	22,8
	16- β	2,16	---	---	
17	17	2,51	<i>t</i>	8,9	63,6
18	18	0,61	<i>s</i>	---	13,3
19	19-a	4,09	<i>d</i>	12,1	63,4
	19-b	4,24	<i>d</i>	12,1	
20	20	---	---	---	209,2
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,4
CH₃COO-	CH ₃ COO-	---	---	---	170,7
<u>CH</u>₃COO-	<u>CH</u> ₃ COO-	2,04	<i>s</i>	---	21,2
CH₃<u>COO</u>-	CH ₃ <u>COO</u> -	---	---	---	170,7
<u>CH</u>₃<u>COO</u>-	<u>CH</u> ₃ <u>COO</u> -	2,07	<i>s</i>	---	21,2

Compuesto 223

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	1,99	---	---	27,5
	1- β	2,08	---	---	
2	2- α	1,91	---	---	28,8
	2- β	1,67	---	---	
3	3- α	4,43	---	---	70,4
4	4- α	2,36	<i>dt</i>	14,0; 2,8	48,0
	4- β	3,14	<i>dd</i>	13,8; 3,5	
5	5	---	---	---	211,9
7	7-a	2,95	<i>dd</i>	14,0; 2,8	31,5
	7-b	3,05	<i>dd</i>	13,9; 3,0	
8	8	1,93	---	---	36,7
9	9	1,88	---	---	41,1
10	10	---	---	---	54,0
11	11- α	1,81	---	---	23,7
	11- β	1,69	---	---	
12	12- α	1,43	---	---	38,8
	12- β	2,08	---	---	
13	13	---	---	---	43,5
14	14	1,41	---	---	53,5
15	15- α	1,62	---	---	24,4
	15- β	1,23	---	---	
16	16- α	1,68	---	---	22,6
	16- β	2,12	---	---	
17	17	2,50	<i>t</i>	9,2	63,4
18	18	0,65	<i>s</i>	---	13,1
19	19-a	4,36	<i>d</i>	11,8	65,6
	19-b	4,48	<i>d</i>	11,8	
20	20	---	---	---	208,8
21	21	2,11	<i>s</i>	---	31,2
<u>CH₃COS-</u>	<u>CH₃COS-</u>	---	---	---	193,8
<u>CH₃COS-</u>	<u>CH₃COS-</u>	2,30	<i>s</i>	---	30,9
<u>HCOO-</u>	<u>HCOO-</u>	8,08	---	---	160,8
<u>CH₃SiO-</u>	<u>CH₃SiO-</u>	0,03	<i>s</i>	---	-4,9
<u>CH₃SiO-</u>	<u>CH₃SiO-</u>	0,05	<i>s</i>	---	-5,0
<u>(CH₃)₃CSi-</u>	<u>(CH₃)₃CSi-</u>	0,85	<i>s</i>	---	25,6
<u>(CH₃)₃CSi-</u>	<u>(CH₃)₃CSi-</u>	---	---	---	17,9

Compuesto 224

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	2,04	---	---	27,4
	1- β	2,11	---	---	
2	2- α	1,85	---	---	28,8
	2- β	1,69	---	---	
3	3- α	4,45	---	---	70,4
4	4- α	2,41	<i>dt</i>	13,9; 2,8	49,1
	4- β	3,49	<i>dd</i>	13,9; 3,5	
5	5	---	---	---	212,9
7	7-a	3,14	<i>dd</i>	10,8; 2,8	17,4
	7-b	3,45	<i>dd</i>	10,8; 1,8	
8	8	0,90	---	---	37,6
9	9	1,88	---	---	39,6
10	10	---	---	---	53,7
11	11- α	1,88	---	---	23,3
	11- β	1,81	---	---	
12	12- α	1,48	---	---	38,6
	12- β	2,09	---	---	
13	13	---	---	---	43,1
14	14	1,39	---	---	55,4
15	15- α	1,75	---	---	23,6
	15- β	1,13	---	---	
16	16- α	1,75	---	---	22,4
	16- β	2,15	---	---	
17	17	2,57	<i>t</i>	9,2	63,2
18	18	0,69	<i>s</i>	---	14,0
19	19-a	4,32	<i>d</i>	11,8	65,2
	19-b	4,45	<i>d</i>	11,8	
20	20	---	---	---	208,8
21	21	2,12	<i>s</i>	---	31,3
<u>H</u> COO-	<u>H</u> COO-	8,09	---	---	160,8
<u>CH</u> ₃ SiO-	<u>CH</u> ₃ SiO-	0,03	<i>s</i>	---	-4,9
<u>CH</u> ₃ SiO-	<u>CH</u> ₃ SiO-	0,06	<i>s</i>	---	-5,0
<u>(CH</u> ₃) ₃ CSi-	<u>(CH</u> ₃) ₃ CSi-	0,86	<i>s</i>	---	25,6
<u>(CH</u> ₃) ₃ CSi-	<u>(CH</u> ₃) ₃ CSi-	---	---	---	17,9

Compuesto 232

Carbono	^1H	δ ^1H [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	δ ^{13}C [ppm]
1	1- α	0,98	<i>td</i>	13,9; 3,6	31,2
	1- β	2,33	<i>dt</i>	14,0; 3,5	
2	2- α	1,88	---	---	31,3
	2- β	1,38	---	---	
3	3- α	3,69	---	---	69,9
4	4- α	1,55	---	---	37,3
	4- β	2,00	---	---	
5	5- α	2,72	<i>dd</i>	13,4; 3,6	48,8
7	7- α	2,41	<i>dd</i>	13,2; 11,3	34,5
	7- β	2,55	<i>dd</i>	13,2; 3,6	
8	8	1,86	---	---	37,3
9	9	0,89	<i>td</i>	11,4; 3,7	54,5
10	10	---	---	---	38,5
11	11- α	1,77	<i>ddd</i>	13,9; 7,0; 3,7	22,3
	11- β	1,50	---	---	
12	12- α	1,33	---	---	39,1
12	12- β	2,02	---	---	39,1
13	13	---	---	---	44,0
14	14	1,18	---	---	55,8
15	15- α	1,70	---	---	24,3
	15- β	1,26	---	---	
16	16- α	1,67	---	---	22,7
	16- β	2,19	---	---	
17	17	2,49	<i>t</i>	9,0	63,5
18	18	0,64	<i>s</i>	---	13,4
19	19-a	4,48	<i>d</i>	12,8	62,4
	19-b	4,75	<i>d</i>	12,8	
20	20	---	---	---	208,9
21	21	2,10	<i>s</i>	---	31,3
H$\underline{\text{C}}$OO-	H $\underline{\text{C}}$ OO-	8,12	<i>s</i>	---	160,9

Compuesto 239

Carbono	^1H	$\delta \text{ } ^1\text{H}$ [ppm]	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$ [Hz]	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$ [ppm]
1	1- α	1,93	---	---	29,3
	1- β	1,35	---	---	
2	2- α	1,93	---	---	26,3
	2- β	1,79	---	---	
3	3- β	5,35	---	---	69,5
4	4- α	2,11	---	---	32,1
	4- β	2,06	---	---	
5	5	3,16	<i>dd</i>	13,1; 4,1	45,8
7	7- α	2,50	---	13,1; 11,4	34,2
	7- β	2,61	<i>dd</i>	13,1; 3,8	
8	8	2,28	<i>qd</i>	10,9; 3,8	38,1
9	9	0,99	<i>td</i>	11,4; 3,7	54,7
10	10	---	---	---	39,5
11	11- α	1,82	---	---	21,6
	11- β	1,72	---	---	
12	12- α	1,43	<i>td</i>	12,8; 4,1	39,0
	12- β	2,07	---	---	
13	13	---	---	---	44,2
14	14	1,21	---	---	56,3
15	15- α	1,71	---	---	24,0
	15- β	1,28	---	---	
16	16- α	1,67	---	---	22,5
	16- β	2,20	---	---	
17	17	2,52	<i>t</i>	9,2	63,4
18	18	0,72	<i>s</i>	---	13,6
19	19-a	3,83	<i>dd</i>	12,2; 7,0	62,5
	19-b	4,34	<i>d</i>	12,2	
20	20	---	---	---	209,2
21	21	2,12	<i>s</i>	---	31,3
PhCOO-	PhCOO-	---	---	---	165,5
C (<i>ipso</i>)	C	---	---	---	130,5
CH (<i>orto</i>)	CH	8,06	<i>da</i>	8,2	129,4
CH (<i>meta</i>)	CH	7,46	<i>ta</i>	7,6	128,3
CH (<i>para</i>)	CH	7,59	<i>ta</i>	7,5	132,9

Desplazamientos químicos de ^{13}C

Carbono	187	188	196	197	206	209	210
1	25,7	25,4*	39,4*	33,4	36,8	27,5	27,5
2	27,7	25,3*	125,0	25,8	28,9	123,8	123,9
3	63,5	67,2	124,5	35,3	81,8	124,9	124,9
4	39,2	36,0	21,7	11,7	39,0*	26,6	26,6
5	53,7	52,6	53,5*	46,7*	138,7	46,1	46,1
6	45,2	47,2	211,6	209,3	123,5	81,5	81,6
7	24,0	23,1*	46,9	44,7	31,8	36,9	36,8
8	30,3	30,5	37,5	34,6	31,5	34,6	34,6
9	46,4	44,3	53,9*	46,1	49,9	53,9	53,9
10	31,7	31,8	40,0	46,3*	36,3	42,9	42,9
11	20,8	20,9	21,0	22,7	20,8	22,2	22,2
12	38,1	38,3	39,0*	39,1	39,1*	39,3	40,1
13	44,0	44,1	42,6	42,5	42,1	42,9	43,1
14	58,3	58,6	56,1	56,3	55,9	54,9	54,9
15	23,5	23,8	24,0	24,0	24,2	23,5	23,8
16	22,6	23,0*	25,2	25,3	25,3	25,4	25,7
17	63,0	63,1	54,9	54,9	54,9	54,8	58,4
18	13,2	13,5	12,4	12,5	12,3	12,9	12,9
19	73,3	73,1	13,5	19,6	19,1	70,9	70,9
20	210,0	208,8	72,7	72,6	72,7	72,8	70,4
21	31,3	31,3	19,9	19,8	19,8	19,9	23,6
<u>H</u> COO	---	160,0	---	---	---	---	---
CH ₃ <u>C</u> OO-	---	---	170,3	170,3	170,3	170,3	---
<u>C</u> H ₃ COO-	---	---	21,5	21,4	21,4	21,5	---
<u>C</u> H ₃ SO ₂ O-	---	---	---	---	38,7	---	---

*Asignaciones intercambiables.

Carbono	212	214	215	216	217
1	36,1	34,6	34,0	28,9	30,1
2	124,4	125,2	124,9	49,5	53,9
3	126,0	126,0	125,9	70,2	69,0
4	29,1	30,3	30,0	29,8	32,1
5	49,6	41,4	41,2	39,9	39,7
6	57,2	28,4	28,3	27,6	27,2
7	41,1	31,6	31,4	31,1	31,5
8	37,8	35,9	35,8	36,0	35,8
9	52,9	53,8	53,6	52,8	52,8
10	43,9	37,3	37,6	40,2	39,8
11	21,3	21,6	21,5	21,3	21,3
12	38,7	39,2	39,1	38,2	38,6
13	44,2	44,0	44,1	44,0	43,8
14	56,6	57,1	57,0	56,3	57,0
15	24,1	24,3	24,1	24,2	24,2
16	22,7	22,6	22,5	22,7	22,8
17	63,2	63,6	63,6	63,6	63,5
18	13,2	13,3	13,1	13,5	13,4
19	63,3	63,2	69,3	71,6	71,8
20	208,8	209,2	210,7	209,3	209,1
21	31,3	31,3	31,1	31,5	21,0
<u>CH₃COO-</u>	170,3	170,9	---	170,2	170,1
<u>CH₃COO-</u>	21,1	21,1	---	21,2	31,5
<u>CH₂-Ph</u>	---	---	---	---	52,9
C (ipso)	---	---	---	---	136,2
CH (meta)	---	---	---	---	128,6
CH (para)	---	---	---	---	128,6
CH (orto)	---	---	---	---	127,9

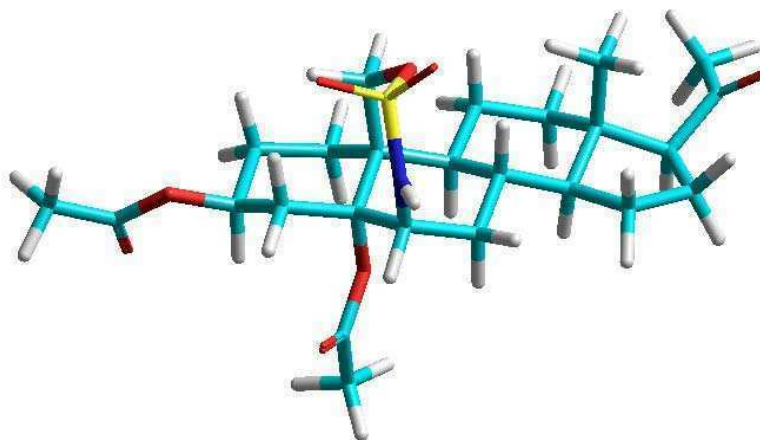
*Asignaciones intercambiables.

Carbono	221	222	228 (CD_3) $_2\text{SO}$	229	238	240
1	27,6	29,1	32,2*	32,4*	27,2	31,9
2	26,2	28,1	31,3*	31,1	26,1	25,9
3	68,8	67,0	65,9	68,1	69,3	69,7
4	32,2	45,8*	41,0	41,3	32,2	31,9
5	45,5	81,9	74,5	76,1	45,8	46,6
6	---	---	74,2	75,9	---	---
7	34,1	31,6	34,6*	34,3*	34,3	34,3
8	37,5	37,1	30,2	30,3	37,2	36,7
9	54,1	45,4*	44,7	45,7	54,4	54,1
10	39,8	44,5	38,0	38,3	38,9	36,9
11	22,1	22,1	20,9	21,1	21,9	21,0
12	38,8	39,4	38,7	39,0	38,9	38,8
13	43,8	43,5	43,9	44,3	44	43,9
14	55,6	56,2	56,0	56,1	55,7	55,5
15	24,0	24,2	24,3	24,2	24,2	24,2
16	22,6	22,1	22,4	22,8	22,6	22,7
17	63,3	63,6	63,0	63,7	63,4	63,5
18	13,4	13,8	13,4	13,5	13,4	13,2
19	71,9	64,1	16,5	16,8	61,9	11,5
20	208,4	209,2	208,8	209,6	208,9	209,0
21	31,2	31,4	31,4	31,5	31,3	31,3
<u>CH</u> $_3\text{SiO-}$	---	-4,7	---	-4,6	---	---
<u>CH</u> $_3\text{SiO-}$	---	-4,6	---	-4,5	---	---
<u>(CH</u> $_3$) $_3\text{CSi-}$	---	25,8	---	25,9	---	---
<u>(CH</u> $_3$) $_3\text{CSi-}$	---	18,1	---	18,1	---	---
<u>H</u> COO-	---	---	---	---	161,0	---
<u>Ph</u> COO-	165,4	---	---	---	165,5	165,6
<u>C</u> (<i>ipso</i>)	130,4	---	---	---	130,6	130,7
<u>CH</u> (<i>meta</i>)	128,4	---	---	---	128,4	128,3
<u>CH</u> (<i>para</i>)	133,0	---	---	---	133,0	132,8
<u>CH</u> (<i>orto</i>)	129,5	---	---	---	129,5	129,5
<u>Im</u> CSO-	183,8	---	---	---	---	---
<u>CH</u>	117,8	---	---	---	---	---
<u>CH</u>	131,0	---	---	---	---	---
<u>CH</u>	136,4	---	---	---	---	---

*Asignaciones intercambiables.

Apéndice B

Cálculos de modelado molecular

Modelado molecular**3 β ,5 α -diacetiloxi-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)pregnan-20-ona (184)**

H_f (AM1) = -352.2868 kcal/mol

de frecuencias imaginarias = 0

Modo normal 1 (frecuencia más baja) = 21.25 cm⁻¹

Test job not archived.

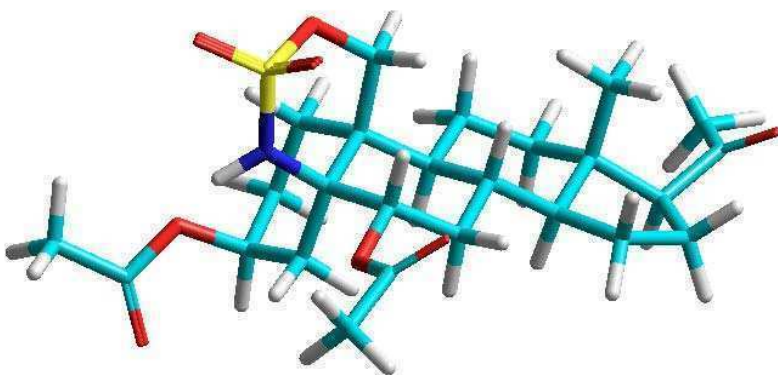
```

1|1|UNPC-UNK|FOpt|RAM1|ZDO|C25H37N1O8S1|PCUSER|26-May-2005|0||# RAM1 O
PT POP=(MINIMAL,) TEST||Untitled-3||0,1|C,-1.5053678806,1.3516987007,1
.4336864332|C,-1.5055858483,2.8652677635,1.4319889808|C,-0.0921225466,
3.429309521,1.4282734147|C,0.7602226677,2.8399285805,0.3081462765|C,0.
7772667017,1.316962444,0.4195631307|C,1.8080420675,0.6566509959,-0.545
7429093|C,1.7860398321,-0.8640662966,-0.3143353104|C,0.4038969342,-1.4
721936212,-0.4455313155|C,-0.5888421505,-0.7987525962,0.5175884334|C,-
0.6638508729,0.7257303402,0.3038931417|C,-1.957140737,-1.4711010628,0.
456811241|C,-1.9010710956,-2.9761166,0.6708172771|C,-0.9349797077,-3.6
186646605,-0.3104393366|C,0.4430146892,-2.9480109045,-0.0968007735|C,1.
4176964197,-3.8691876924,-0.8170417959|C,0.8337478564,-5.2714020645,-
0.6203156206|C,-0.5820884495,-5.1011036611,-0.0400849772|C,-1.45537147
36,-3.4923976249,-1.7334130193|C,-1.3714061396,1.108263872,-1.00699206
29|C,-1.5820465066,-6.0722557749,-0.6098673926|C,-2.8973535315,-6.1510
393734,0.1026849556|O,-1.3420822026,-6.7815433334,-1.5927203047|O,-0.8
03651428,0.5570148056,-2.164586931|O,-0.1437099551,4.8450151433,1.1718
086059|S,0.4908867628,1.3304294958,-2.9057267158|O,0.6384096639,0.6759
166489,-4.1202092448|O,0.1044253436,2.6638419435,-2.9028249665|N,1.732
6949033,1.0354894041,-1.9347349869|O,1.1728814511,0.929866327,1.765842
5689|C,2.3153387806,1.3872102706,2.3596933562|C,-0.2997094495,5.683683
0013,2.2410342981|O,-0.4125292796,5.1964547145,3.3681411797|C,-0.30709
45241,7.1196725985,1.846267904|C,2.3799082963,0.9931313738,3.798102665
1|O,3.1474297081,2.0291635916,1.7178911094|H,-2.5664580662,0.999913825
,1.3404049145|H,-1.1080570064,0.9824223757,2.4162264075|H,-2.066819214

```

5, 3.2627156666, 0.5462981427 | H, -2.0331299292, 3.2358037426, 2.3515143474 |
H, 0.3993823497, 3.243913735, 2.425128853 | H, 1.8050209423, 3.2420788179, 0.3
836932909 | H, 0.35404845, 3.1664280638, -0.685262317 | H, 2.8260539304, 1.0219
621079, -0.1885172628 | H, 2.1752592544, -1.0444761486, 0.7236619302 | H, 2.484
1891345, -1.3728344736, -1.0296977527 | H, 0.0470235207, -1.3490456733, -1.50
48551291 | H, -0.188204848, -0.9510229718, 1.5641534633 | H, -2.4343844986, -1.
2654492331, -0.5373498739 | H, -2.6186089277, -1.0323300973, 1.249669805 | H, -
2.9277130287, -3.4069206882, 0.5363447741 | H, -1.576029459, -3.1981891496, 1
.720929243 | H, 0.6833447099, -3.0202609797, 1.0060281125 | H, 2.4448220906, -3
.7909624424, -0.3855387836 | H, 1.4811772334, -3.6131958888, -1.9037409387 | H
, 1.4637737134, -5.8691524696, 0.0822842829 | H, 0.7915531828, -5.8196288381,
-1.5953719519 | H, -0.5472954231, -5.2661037719, 1.072089702 | H, -1.576527819
3, -2.4257812273, -2.0379856427 | H, -2.4513313356, -3.9940921788, -1.8158586
245 | H, -0.7515904849, -3.9873663119, -2.4466164157 | H, -2.424914278, 0.70871
37437, -0.9829617222 | H, -1.4214178337, 2.2290592199, -1.1159375316 | H, -3.62
94325659, -5.4783275293, -0.4106611451 | H, -2.8018639327, -5.8286511084, 1.1
665094148 | H, -3.2944186132, -7.1948605252, 0.06796104 | H, 2.6374742796, 0.95
67876089, -2.3491128893 | H, -0.2381488166, 7.2309645226, 0.7371459879 | H, 0.5
646659995, 7.6287952091, 2.3260385407 | H, -1.2522648549, 7.5905405544, 2.211
8584393 | H, 1.7654177098, 0.0811246751, 3.9901433875 | H, 1.981997788, 1.83785
96681, 4.4142216493 | H, 3.4441077177, 0.8011265067, 4.0772765106 | | Version=x
86-Win32-G03RevB.03 | State=1-A | HF=-0.5614047 | RMSD=0.000e+000 | RMSF=5.631
e-006 | Dipole=0.0737216, 0.377902, 2.3311572 | PG=C01 [X(C25H37N1O8S1)] | @

3 β ,6 α -diacetiloxi-S,S-dioxo-19,5-(epoxitioimino)pregnan-20-ona (185)



H_f (AM1) = -360.0461 kcal/mol

de frecuencias imaginarias = 0

Modo normal 1 (frecuencia más baja) = 4.72 cm⁻¹

Test job not archived.

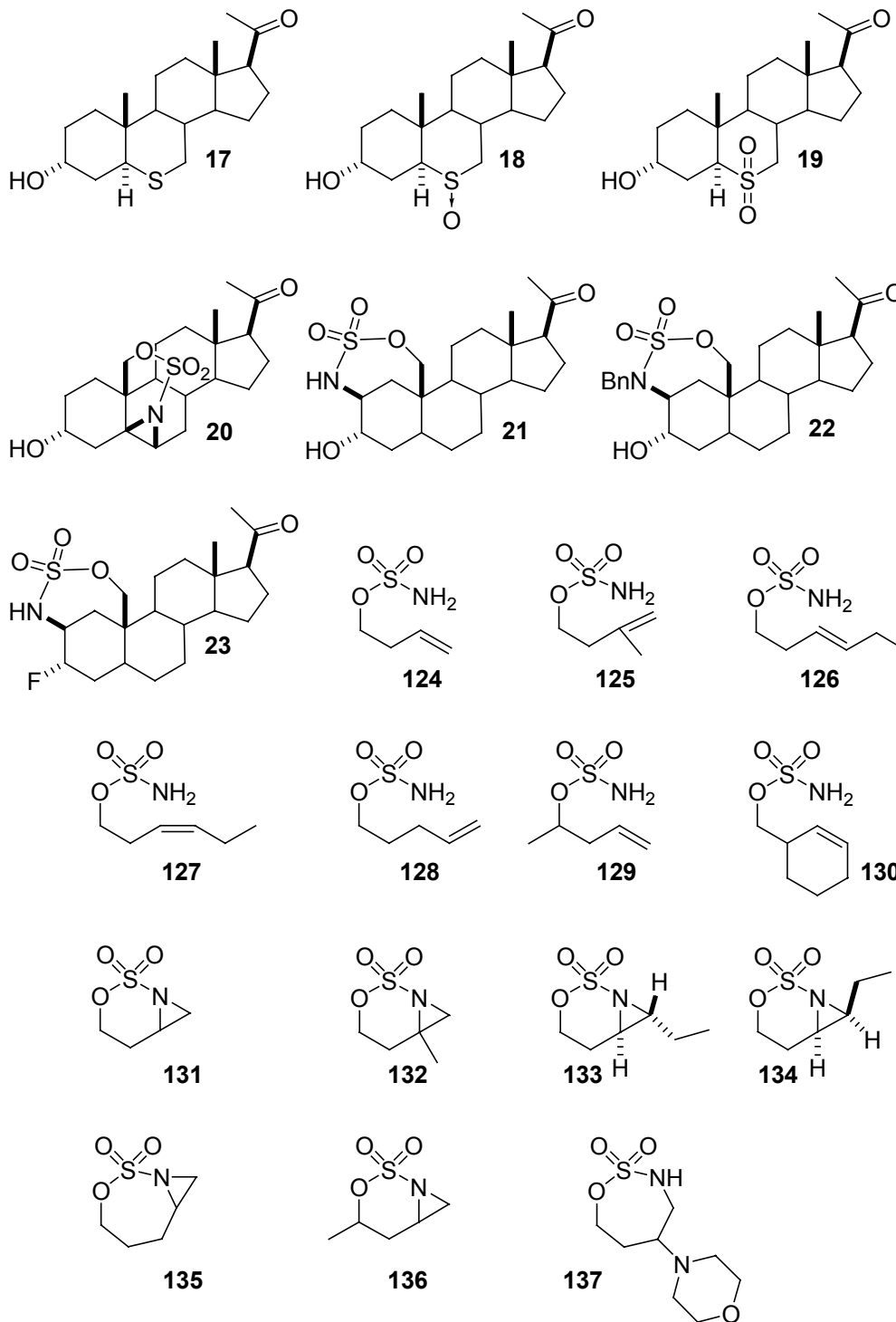
1 | 1 | UNPC-UNK | FOpt | RAM1 | ZDO | C25H37N1O8S1 | PCUSER | 26-May-2005 | 0 | # RAM1 O
PT POP=(MINIMAL,) TEST | | Untitled-2 | | 0, 1 | C, -1.4232753625, 0.4135211773, -
2.1746616694 | C, -1.4224466049, 1.9228804518, -2.1747090356 | C, -0.019966328
3, 2.5140728446, -2.1763584844 | C, 0.8903342414, 1.8592582267, -1.1506691811

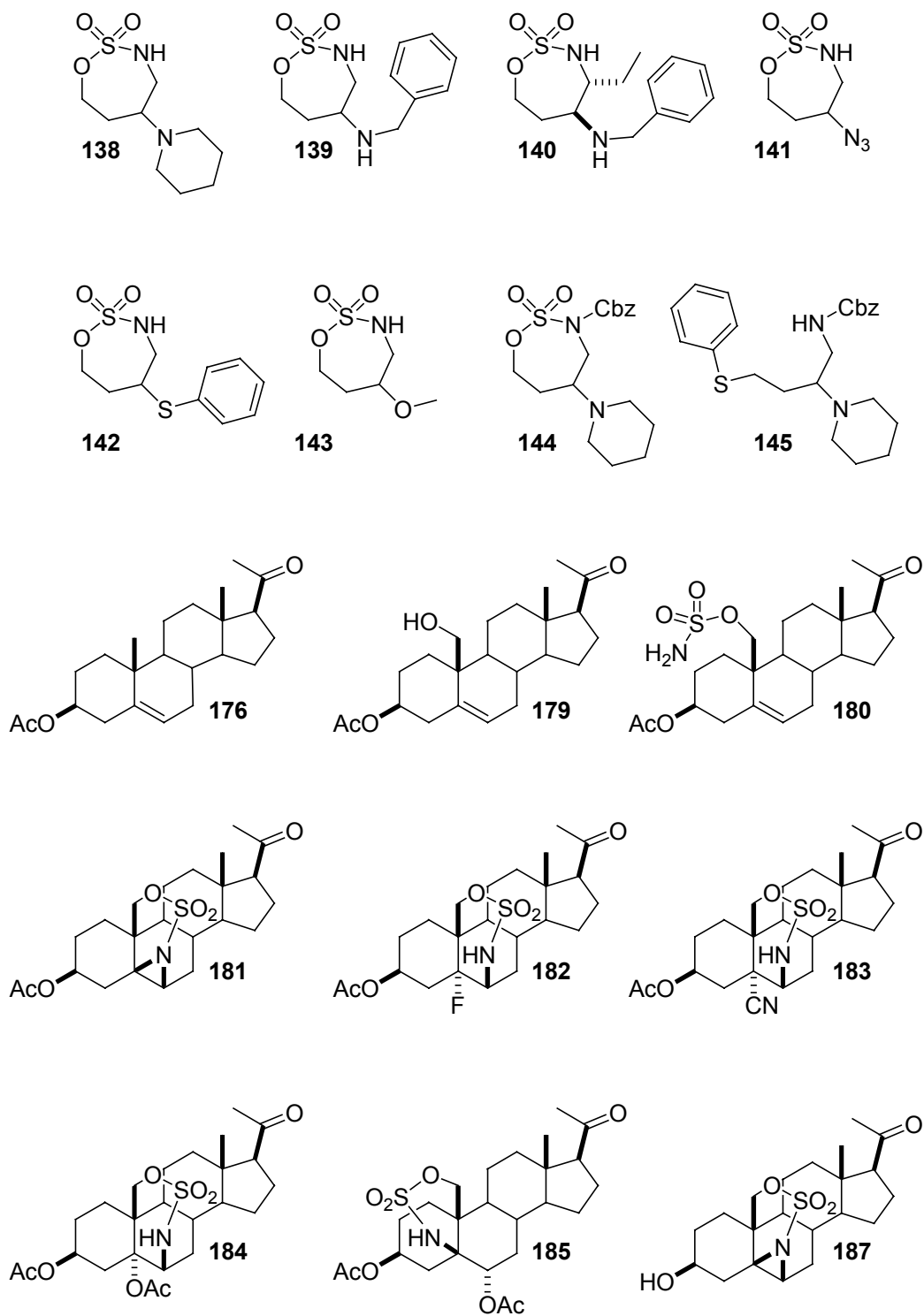
|C,0.8851220047,0.3139420883,-1.1674280005|C,1.7204372775,-0.1800579815,0.0653159499|C,1.0762779279,0.1443529873,1.4018939193|C,-0.3314301357,-0.4120879143,1.4800817378|C,-1.1874582197,0.1394510585,0.329575734|C,-0.5973386515,-0.216097783,-1.0466014257|C,-2.6533609526,-0.269683757,0.464529991|C,-3.2506783168,0.0130715348,1.8345091206|C,-2.3994848681,-0.6059789287,2.9293790174|C,-0.981249849,-0.0062154218,2.7876768293|C,-0.2973292614,-0.3530025767,4.1027821826|C,-1.4195149702,-0.2975954287,5.1433482535|C,-2.7508135354,-0.1892907801,4.377637857|C,-2.4276869959,-2.1230443689,2.8369897967|C,-0.6335331769,-1.7472932415,-1.2548995817|C,-3.8580979935,-1.0092699283,4.9864313079|C,-5.2408125758,-0.7092393685,4.4948299525|O,-3.6567690841,-1.8700307148,5.849485857|O,2.9869616232,0.5001166927,-0.0299000356|O,-0.1273939003,-2.1310499003,-2.5094520172|N,1.49201028,-0.1794954456,-2.3997447966|O,0.5054831438,2.3325069271,-3.5076126399|C,1.3457283734,3.2912593143,-4.008857425|S,1.4701958313,-1.7100106589,-2.8685364749|O,2.2060260736,-2.5507068075,-2.0487170156|O,1.5848450294,-1.8188710979,-4.2480438041|C,4.0545612908,-0.0411348332,0.6394199918|O,1.6550037707,4.2431369963,-3.2904984446|C,1.7647126941,3.0078929091,-5.4095468557|O,3.8653387203,-1.0091735982,1.375875141|C,5.3276632157,0.6780202732,0.3570387432|H,-1.0270570732,0.0523876161,-3.1628434965|H,-2.4797181886,0.0412378693,-2.1089309265|H,-1.9732168624,2.2862125957,-3.0826818321|H,-1.9594836801,2.3132235694,-1.2702592462|H,-0.0748219282,3.6202157353,-1.9568636595|H,0.5676977682,2.2068237041,-0.1355145738|H,1.9416602689,2.2252970318,-1.306831438|H,1.9023394703,-1.2927157159,-0.003120523|H,1.0729042487,1.2513972744,1.5766139557|H,1.7037113961,-0.3159153518,2.2141207291|H,-0.2793653804,-1.5336173648,1.4210935421|H,-1.1640400063,1.2655864769,0.4175020367|H,-2.7705841384,-1.361629132,0.2404390788|H,-3.2590853495,0.2967083683,-0.29245196|H,-4.2915932152,-0.4025698012,1.8750171031|H,-3.3235275377,1.1208006307,1.9947238449|H,-1.0935923926,1.1188885727,2.7651965988|H,0.5167330912,0.3739293856,4.3401214935|H,0.1575863367,-1.3737245238,4.0599887654|H,-1.2945336612,0.5856206474,5.8158746865|H,-1.4100621875,-1.2183231275,5.7800346299|H,-3.0865708011,0.884179255,4.3718952376|H,-2.0385515448,-2.4846831089,1.8562835023|H,-3.4783827671,-2.4886920936,2.9504492877|H,-1.8084042817,-2.5702515355,3.6528856508|H,-1.6960054668,-2.1145477563,-1.2494453021|H,-0.0496400668,-2.2750294894,-0.4517752994|H,-5.4790754688,-1.3926148316,3.6414941139|H,-5.3248347104,0.3456084244,4.1414402822|H,-5.9878939711,-0.8860381041,5.3067336393|H,1.7687239372,0.554813379,-3.0122876582|H,1.2349586827,3.7182273022,-6.0915936166|H,1.5096690421,1.9603035738,-5.7015653083|H,2.8667567228,3.1680594998,-5.5007179764|H,5.1355773663,1.6440878133,-0.1684219779|H,5.9684492764,0.0272849779,-0.2882441494|H,5.8579494346,0.8722855959,1.32108926| |Version=x86-Win32-G03RevB.03|State=1-A|HF=-0.5737699|RMSD=0.000e+000|RMSF=3.523e-006|Dipole=-0.8133732,2.4689657,-0.3428376|PG=C01 [X(C25H37N1O8S1)]|@

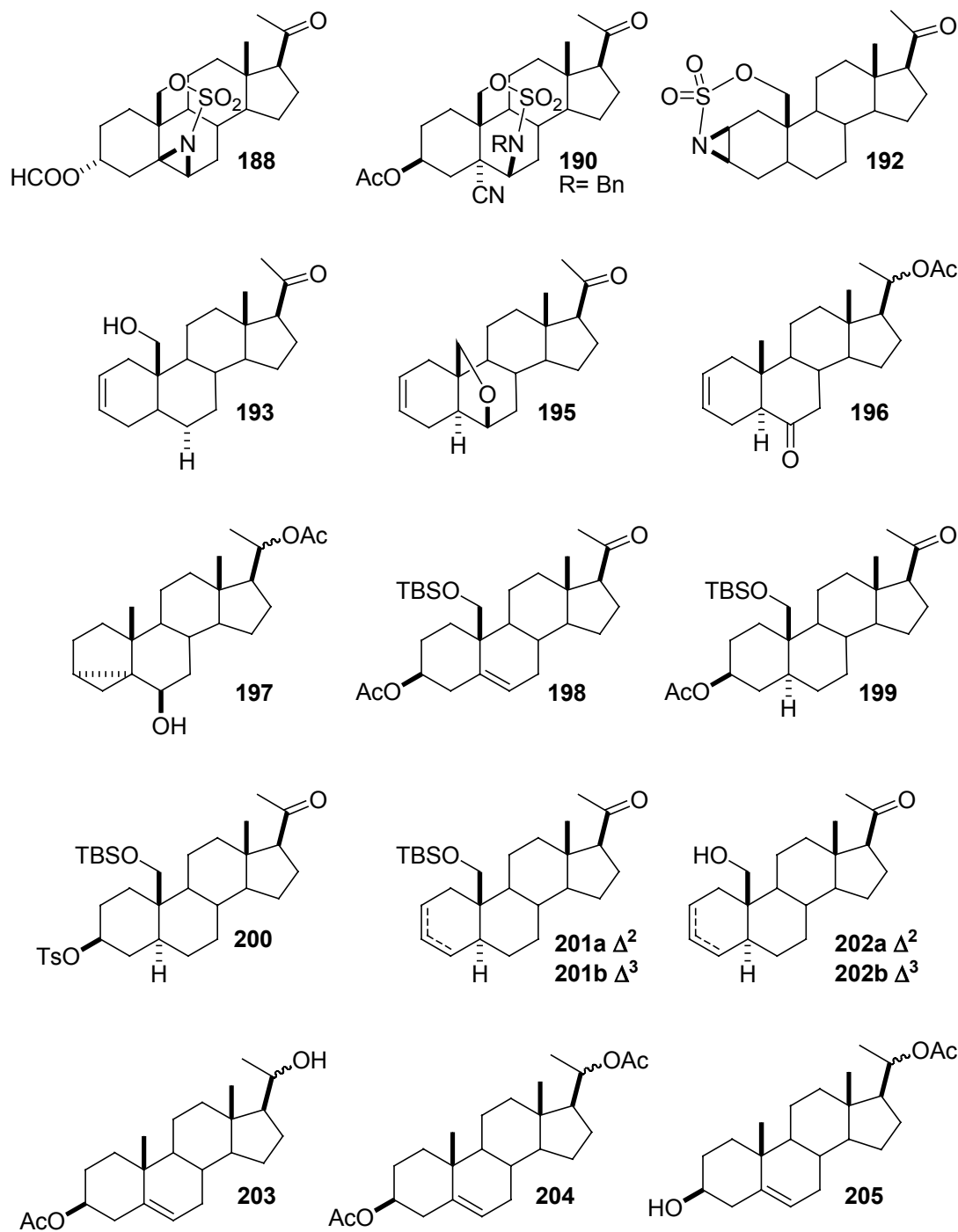
Apéndice C

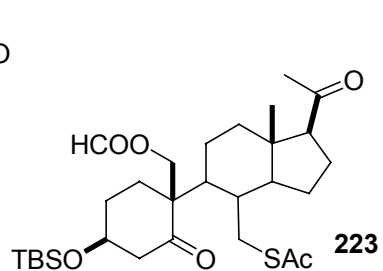
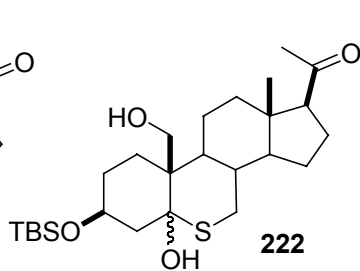
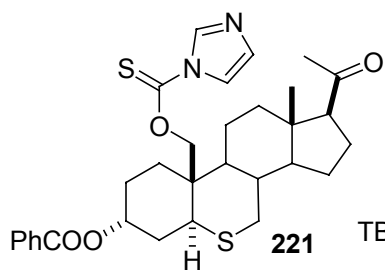
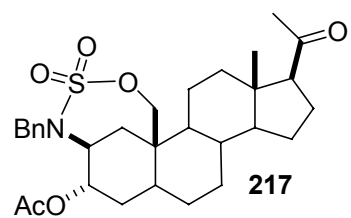
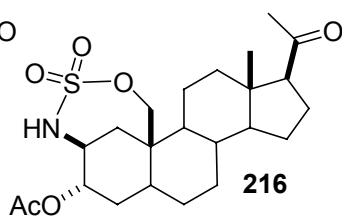
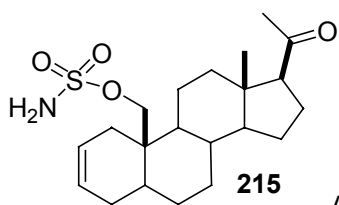
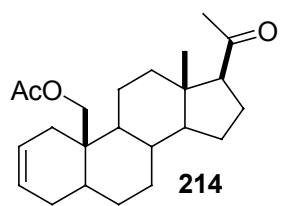
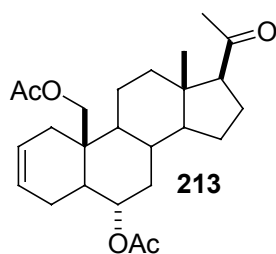
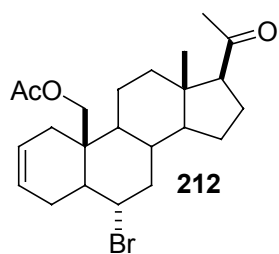
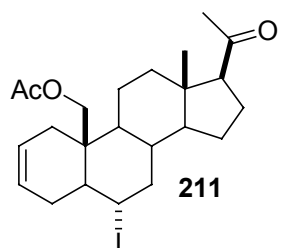
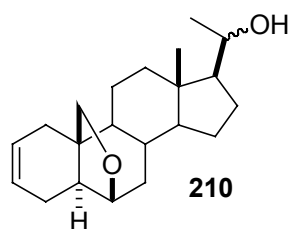
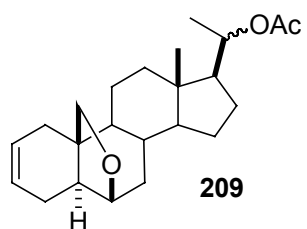
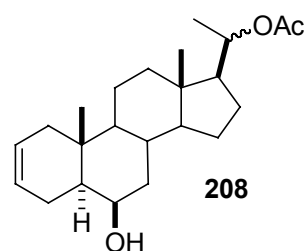
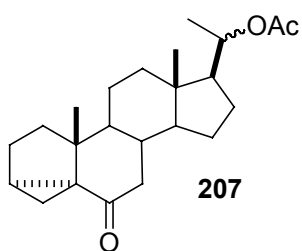
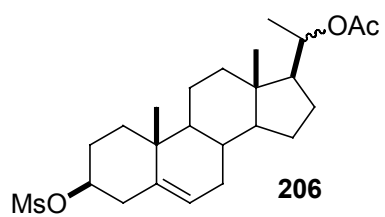
Resumen de Estructuras

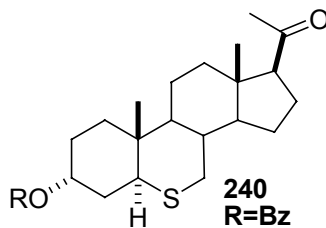
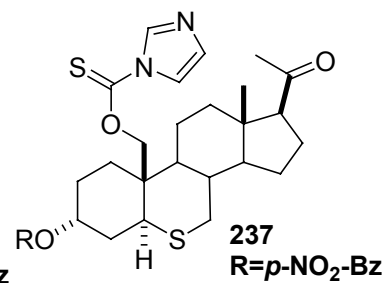
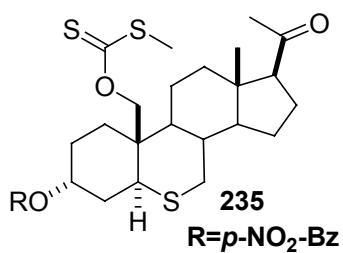
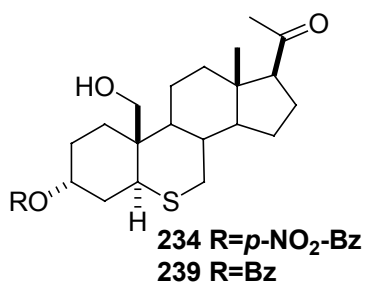
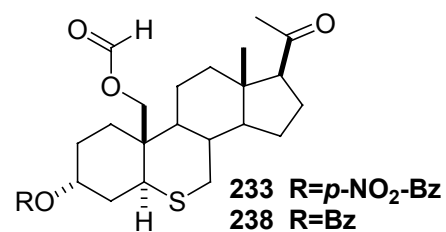
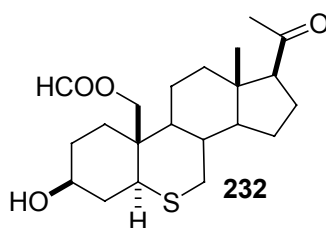
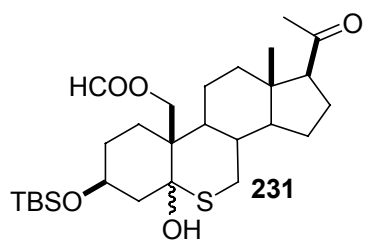
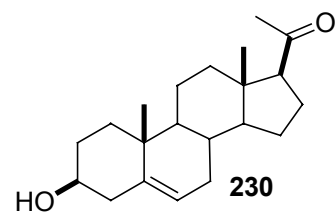
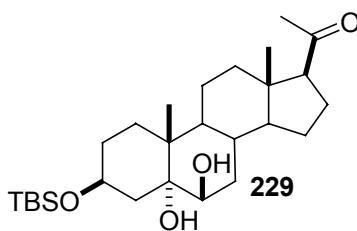
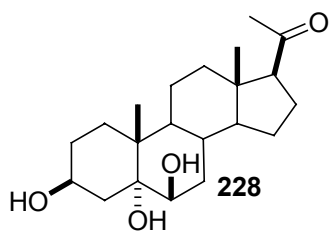
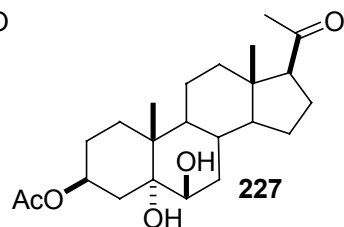
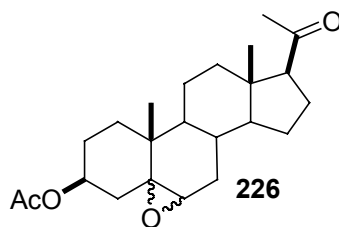
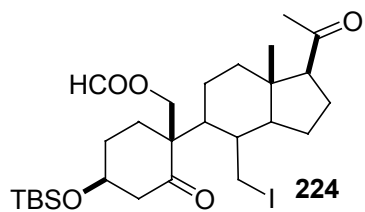
A continuación se encuentran las estructuras de los compuestos sintetizados en este trabajo de Tesis. También se incluyen otros esteroides mencionados en el presente trabajo.











Resumen

El objetivo del presente trabajo de tesis fue la obtención de análogos de esteroides neuroactivos a nivel del receptor GABA_A. En particular se prepararon 5β,6β-aziridino y 2β,19-sulfamido pregnanos mediante reacciones de aziridinación intramolecular, especialmente desarrollada en esta tesis doctoral. Estos análogos, al poseer el grupo sulfamido presentan mayor rigidez conformacional y mayor solubilidad en medios acuosos que los neuroesteroides. Por otro lado se preparó 6-tia-allopregnanolona, sus sulfóxido y sulfona, que presentan mayor potencial electrostático negativo en el anillo B, mayor solubilidad en medios acuosos que los esteroides neuroactivos naturales, pero con baja capacidad aceptora de puentes de hidrógeno en el anillo B.

En el **Capítulo 1** se realiza una introducción general a los esteroides neuroactivos, indicando el tipo de actividad fisiológica y farmacológica de los mismos y su acción en el sistema nervioso central a nivel del receptor GABA_A. Se analiza también brevemente la estructura del farmacóforo y la relación estructura-actividad haciendo una breve reseña de los distintos tipos de análogos preparados hasta el momento.

En el **Capítulo 2** se reseñan brevemente las principales características, métodos sintéticos y reacciones de apertura de aziridinas y sulfamidatos cíclicos, las unidades estructurales utilizadas en este trabajo de tesis.

En el **Capítulo 3** se presenta el desarrollo de la metodología de aziridinación intramolecular a partir de alcoholes homoalílicos para la síntesis de aziridinas y sulfamidatos cíclicos. También se describen las aperturas con nucleófilos nitrogenados, oxigenados y azufrados. Este trabajo se realizó en el Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Gif-Sur-Yvette, Francia, durante una Pasantía enmarcada en el convenio de cooperación Argentino-Francesa, proyecto: Síntesis de Análogos de Esteroides Neuroactivos. Código A97E06, ANPCyT-ECOS.

En el **Capítulo 4** se realiza una concisa introducción de las características generales de las reacciones de funcionalización remota de posiciones no activadas, en las distintas variantes utilizadas en esta tesis doctoral. Se describe la aplicación de la metodología de aziridinación intramolecular en esteroides que presentan en su estructura un doble enlace en 5,6 e hidroxilo en posición 19 para la síntesis regioespecífica de 3β-acetiloxi-5β,6β-iminopregnan-20-ona N,19-sultona (**181**). Se detallan las aperturas de **181** con iones fluoruro, cianuro y acetato, para la obtención de 3β-acetiloxi-5α-fluoro-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**182**), 3β-acetiloxi-5α-ciano-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**183**), 3β,5α-diacetiloxi-S,S-dioxo-19,6-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**184**) y 3β,6α-diacetiloxi-S,S-dioxo-19,5-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona

(**185**). Además se corrobora el reordenamiento con catálisis básica de **184** a **185**. Se describe también la síntesis de 3α -hidroxi- $5\beta,6\beta$ -iminopregnan-20-ona N,19-sultona (**20**), análogo de allopregnanolona.

En el **Capítulo 5**, se analizan los resultados del empleo de la metodología de aziridinación intramolecular en 19 hidroxí esteroides con doble enlace en posición 2,3. Se comparan las dos vías para la síntesis del alcohol (**193**), precursor de la aziridinación. Se detallan las aperturas nucleofílicas del aziridino esteroide (**192**) para la obtención de los análogos de neuroesteroides 3α -hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**21**), N,bencil- 3α -hidroxi-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**22**) y 3α -fluoro-S,S-dioxo-19,2-(epoxitioimino)-pregnan-20-ona (**23**).

En el **Capítulo 6**, se presenta la síntesis estereoselectiva de 5α -H-6-tiapregnanos, a partir de la sustitución nucleofílica con ión tioacetato del secoesteroide (**224**), proveniente de reacciones de β -fragmentación. Se describe la oxidación de 3α -hidroxi-6-tia- 5α -H-pregnan-20-ona (**17**) a S-oxo- 3α -hidroxi-6-tia- 5α -H-pregnan-20-ona (**18**) y S,S-dioxo- 3α -hidroxi-6-tia- 5α -pregnan-20-ona (**19**) análogos de esteroides neuroactivos.

En el **Capítulo 7**, se presentan los ensayos biológicos realizados con 3α -hidroxi-6-tia- 5α -H-pregnan-20-ona (**17**), S-oxo- 3α -hidroxi-6-tia- 5α -H-pregnan-20-ona (**18**) y S,S-dioxo- 3α -hidroxi-6-tia- 5α -H-pregnan-20-ona (**19**). Se estudió el desplazamiento de [35 S]TBPS y el porcentaje de unión de [3 H]flunitrazepam en función de la concentración de esteroide, utilizando como referencia allopregnanolona. Se encontró que los valores de IC_{50} de los esteroides sintetizados para el ensayo de desplazamiento de [35 S]TBPS en todos los casos eran del orden del esteroide natural. En el ensayo de unión de [3 H]flunitrazepam se halló que la sulfona **19** potenciaba la misma en un 100% con respecto a la referencia.

En el **Capítulo 8** se describe la parte experimental del trabajo realizado que incluye datos espectroscópicos y propiedades físicas de los compuestos descritos no incluidos en tablas.

En el **Apéndice A** se encuentran las asignaciones completas de RMN 1H y ^{13}C de los compuestos más significativos y las asignaciones completas de RMN ^{13}C de los restantes.

En el **Apéndice B** se hallan los detalles de los estudios de modelado molecular para los compuestos **184** y **185**.

En el **Apéndice C** se detallan las estructuras sintetizadas en esta tesis doctoral y otros esteroides mencionados en este trabajo.

Parte de este trabajo de tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

Synthesis of 6,19-Sulfamidate Bridged Pregnanes

Duran, F.J.; Ghini, A. A.; Dauban, P.H.; Dodd, R.H.; Burton, G.

J. Org. Chem. **2005**, 8613-8616.

Intramolecular PhI=O Mediated Copper-Catalyzed Aziridination of Unsaturated Sulfamates: A New Direct Access to Polysubstituted Amines from Simple Homoallylic Alcohols.

Duran, F.J.; Leman, L.; Ghini, A. A.; Dauban, P.H.; Burton, G.; Dodd, R.H.

Org. Lett. **2002**, 4, 2481-2483.

Citas Bibliográficas

- Aburatani, N.; Takeuchi, T.; Mori, K. *Synthesis*, **1987**, 181-183.
- Aguilera, B.; Fernandez-Mayoralas, A. *Chem. Commun.* **1996**, 127.
- Aguilera, B.; Fernandez-Mayoralas, A.; Jaramillo, C. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5863.
- Alker, D.; Doyle, K.J.; Harwood, L.M.; McGregor, A. *Tetrahedron Asymmetry*. **1990**, *1*, 877.
- Angelotti, T.P.; Uhler, M.D.; McDonald, R.L. *J. Neurosci.* **1993**, *13*, 1418.
- Atfani, M.; Wei, L.; Lubel, W. D. *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 2965-2968.
- Atkinson, R.S.; Gatrel, W.T.; Ayscough, A.P.; Rayner, T.M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, *16*, 1935-1936.
- Back, T.G.; Baron, D.L.; Morzyncki, J.W. *Heterocycles*, **1994**, *38*, 1053-1060.
- Backus, K. H. ; Arigoni, M. ; Drescher, U. ; Scheurer, L. ; Malherbe, P. ; Möhler, H.; Benson, J.A. *NeuroReport*. **1993**, *5*, 285.
- Baldwin, J.E.; Farthing, C.N.; Russel, A.T.; Schofield, C.J.; Spivey, A.C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3761-3764.
- Barnard, E. A. et al. *International Union of Pharmacology. XV. Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 291–313.
- Barton, D.H.R., McCombie, S.W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1975**, 1574.
- Barton, D.H.R.; Jang, D.O.; Jaszberenyi, J.C. *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 7193-7214.
- Baulieu, E.E.; Robel, P.; Schumacher, M. *Neurosteroids: A New Regulatory Function in the Nervous System*. Totowa, NJ: Humana Press, **1999**.
- Belelli, D.; Lambert, J.L. *Nature Reviews/Neuroscience*. **2005**, *6*, 565-575. Y citas dentro de la misma.
- Benedetti, M.O.V., Monteagudo, E.S.; Burton G. *J. Chem. Res. (S)* 1990, 248.
- Berry, M.B.; Craig, D. *Syn. Lett.* **1992**, 41.
- Bogan, P.; Gall, R.E. *Aust. J. Chem.*, **1979**, *32*, 2323-2326.
- Bonnert, T.P.; McKernan, R.M.; Farrar, S.; Le Bourdelles, B.; Heavaens, R.P.; Smith, D.W.; Hewson, L.; Rigby, M.R.; Sirinathsinghji, D.J.S. ; Brown, N. ; Wafford, K.A. ; Whiting, P.J. *Proc. Natl. Acad. Sci, Neurobiology*. **1999**, *96*, 9891.
- Bormann, J. *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 16–19.
- Bowery, N.G.; Hill, D.R.; Hudson, A.L.; Doble, A.; Middlemiss, D.N.; Shaw, J.; Turnbull, M. *Nature*. **1980**, *283*, 92.
- Brachet-Cota, A.L., Tesis doctoral, **1991**, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
- Brussaard, A. B. et al. *Neuron*. **1997**, *19*, 1103–1114.

-
- Burden, P.M.; Chueng, H.T.A.; Ai, H.T.; Watson, T.R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1983**, 83, 2669-2674.
- Burke, S.; Silks, III, L.A.; Strickland, M.S. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 2761.
- Burns, M.P.; Duff, K. *Nature Med.* **2005**, 10, 675-676.
- Burt, D.R.; Kamatchi, G.L. *FASEB J.* **1991**, 5, 2916.
- Byun, H.S.; He, L.; Bittman, R. *Tetrahedron.* **2000**, 56, 7051-7091.
- Ceccherelli, M.; Curini, M.; Marcotullio, M.C. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1505-1509.
- Chang, Y.; Wang, R.; Barot, S.; Weiss, D.S. *J. Neurosci.* **1996**, 16, 5416.
- Chodounska, H.; Kasal, A. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1998**, 63, 1543-1548.
- Cooper, E.J.; Johnston, G.A.; Edwards, F.A. *J. Physiol.* **1999**, 521, 437-449.
- Cromwell, N.H.; Bambury, R.E.; Adelfang, J.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4241.
- Curtis, D.R.; Duggan, A.W.; Felix, D.; Johnston, G.A.R. *Nature.* **1970**, 226, 1222.
- Dauban, P. H. *Tesis doctoral*, **1996**.
- Dauban, P.; Chiaroni, A.; Riche, C.; Dodd, R.H. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2488-2496.
- Dauban, P., Dodd, R.H. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 4277-4284.
- Dauban, P.; Dodd, R.H. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 5304-5307.
- Dauban, P., Dodd, R.H. *Org. Lett.*, **2000**, 2, 2327-2329.
- Dauban, P.; Saniere, L.; Tarrade, A.; Dodd, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7707-7708.
- De Armas, P.; Concepción, J.I.; Francisco, C.G.; Hernández, R.; Salazar, J.A.; Suarez, E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1989**, 83, 405-411.
- Denenmark, D.; Winkler, T.; Waldner, A.; De Mesmaeker, A. *Synlett*, **1991**, 621-624.
- Deslogchamps, P. *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, **1983**, 165-166.
- Dewar, M.J.S.; Ford, G.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 783-791.
- Di Chenna, P. H.; Dauban, P.; Ghini, A.A.; Burton, G.; Dodd, R.H. *Tett Lett.* **2000**, 41, 7041-7045.
- Di Chenna, P. H. *Tesis doctoral*, **2002**, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
- Di Chenna, P. H.; Dauban, P.; Ghini, A.A.; Baggio, R.; Garland, M.T.; Burton, G.; Dodd, R.H. *Tetrahedron.* **2003**, 59, 1009-1014.
- Di Chenna, P.H.; Peillard, F.R.; Dauban, P.; Dodd, R.H. *J. Org. Chem.* **2004**, 6, 4503 - 4505.
- Di Michele, F.; Longone, P.; Romeo, E.; Lucchetti, S.; Brusa, L.; Pierantozzi, M.; Bassi, A.; Bernardi, G.; Stanzione, P. *Neurol Sci.* **2003**, 24, 172-173.
-

- Dorigo, A.E.; Houk, K.N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 2195-2197.
- Dorigo, A.E.; McCarrick, M.A.; Loncharich, R.J.; Houk, K.N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 7508-7514.
- Edgar, D.L.; Seidel, W.F.; Gee, K.W.; Lan, N.C.; Field, G.; Xia, H.; Hawkinson, S.W.; Carter, R.B.; Wood, P.L. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *282*, 420-429.
- Eduardo, S. L.; Ghini, A. A.; Burton, G. *ARKIVOC* **2003**, Part X, 468-476.
- Espino, C. G.; Wehn, P. M.; Chow, J.; Du Bois, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 6935-6936.
- Evans R. M. *Science*. **1988**, *240*, 889-895.
- Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6744.
- Evans, D.A., Faul, M.M., Bilodeai, M.T., Anderson, B.A. y Barnes, D.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 5326-5327.
- Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 2742.
- Farrant, M.; Nusser, Z. *Nature Rev. Neurosci.* **2005**, *6*, 215–229.
- Fieser, L.F.; Rajagopalan, S. *J. Org. Chem.* **1949**, *71*, 3938-3941.
- Fioravanti, S.; Pellacani, L.; Tabanella, S.; Tardella, A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14105-14112.
- Fioravanti, S.; Morreale, A.; Pellacani, L.; Tardella, P. A. *Synlett*. **2004**, 1083.
- Gabriel, S. *Ver. Dtsch. Chem. Ges.* **1888**, *21*, 1049-1057.
- Garner, P.; Dogan, O.; Pilliai, S.; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1653-1655.
- Gasior, M.; Carter, R.B.; Witkin, J.F. *Trens Pham. Sciences.* **1999**, *20*, 107-112.
- Gee, K.W.; Lan, N.C. *Mol. Pharmacol.* **1991**, *40*, 995–999.
- Gee, K.W.; Bolger, M.B.; Brinton, R.E.; Coirini, H.; McEwen, B.S.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1988**, *246*, 803–812.
- Gourlay, G.K.; Mather, L.E.; Parkin, K.S. *Drug Metab Dispos.* **1980**, *8*, 452-455.
- Green, C.J.; Halsey, M.J.; Precious, S.; Wardley-Smith, B.; *Lab Anim.* **1978**, *12*, 85-89.
- Griffin, L.D.; Gong, W.; Verot, V.; Mellon, S.H. *Nature Med.* **2005**, *10*, 704-711.
- Grobin, A.C.; Morrow, A.L.; *Dev. Brain Res.* **2001**, *31*, 31–39.
- Guthikonda, K.; Du Bois, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13672.
- Gyermek, L.; Genter, G.; Fleming, N. *Int. J Neuropharmacol.* **1967**, *6*, 191-198.
- Gyermek, L.; Iriarte, J.; Crabbe, P. *J. Med. Chem.* **1968**, *11*, 117-125.
- Han, H.; Bae, I.; Yoo, E.J.; Lee, J.; Do, Y.; Chang, S. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4109.
- Harwood, L.M. *Aldr. Chim. Acta.* **1985**, *18*, 25-27.
- Herbison, A.E. *Progr Brain Res.* **2001**, *133*, 39–47.

- Higashi, T.; Daifu, Y.; Shimada, K. *Steroids*, **2001**, *66*, 865-874.
- Holland, K.D.; Bouley, M.G.; Covey, D.F.; Ferrendelli, J.A. *Brain Res.* **1993**, *615*, 170.
- Howarth, N.; Purohit, A.; Reed, M.J.; Potter, B.V.L. *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 219-221.
- Iyengar, B.S., Dorr, R.T., Alberts, D.S., Hersh, E.M., Salmon, S y Remers, W.A., *J. Med. Chem.*, 1999, *42*, 510-514.
- Jiang, X.; Manion, B.D.; Benz, A.; Rath, N.P.; Evers, A.S.; Zorumski, C.F. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5334-5348.
- Johnston, G.A.R.; Curtis, D.R.; Beart, P.M.; Game, C.J.A.; McCulloch, R.M.; Twitchin, B. *J. Neurochem.* **1975**, *24*, 157.
- Johnston, G.A.R.; *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, *17*, 319.
- Joselevich, M.; Ghini, A.A.; Burton, G. *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 939-943.
- Kapron, J.T., Santarsiero, V.D.; Vederas, J.C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1074.
- Kasal, A.; Matyas, L.; Budesinsky, M. *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 2269-2278.
- Kemp, J. E. G. *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B.M.; Fleming, I.; Lwowski, L.; Eds.; *Pergamon: Oxford.* **1991**, *7*, 469-512.
- Kim, S.B.; Martin, H.; Kwak, Y.T.; Hampl, R.; Jo, D.H.; Morfin, R. *J. Clin. End. & Met.* **2003**, *88*, 5199-5206.
- Koksma, J. J. et al. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 788-797.
- Lambert, J. J. et al. *Prog. Neurobiol.* **2003**, *71*, 67-80.
- Lambert, J.J.; Belelli, D.; Shepherd, S.E.; Pistis, M.; Peters, J.A. en Baulieu, E.E.; Robel, P.; Schumacher, M. *Neurosteroids: A New Regulatory Function in the Nervous System*. Totowa, NJ: *Humana Press*, **1999**, capítulo 7, 125-142.
- Lambert, J.L.; Belelli, D.; Hill-Venning, C.; Peters, J.A. *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16*, 295-303.
- Lancel, M.; Steiger, A.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *111*, 2852-2864.
- Leca, D.; Toussaint, A.; Mareau, C.; Fensterbank, L.; Lacôte, E.; Malacria, M. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3573-3575.
- Legters, J.; Thijs, J.; Zwanenburg, B. *Tetrahedron.* **1991**, *47*, 5287-5294.
- Leroy, C.; Poisbeau, P.; Keller, A.F.; Nehlig, A. *J. Physiol.* **2004**, *557*, 473-487.
- Li, A., Zhou, Y., Dai, X., Xia, L y Lin, L., *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4338-4348.
- Li, P.K.; Chu, G.H.; Gou, J.P.; Peters, A.; Selcer, K. *Steroids*, **1998**, *63*, 425-432.
- Liang, J.L.; Yu, X.; Chen, C. *Chem. Commun.*, **2002**, 124-125.

- Ling, Y.; Kato, K.; Liu, Y.; Wang, X.; Klus, G.T.; Marat Nnane, I.P.; Brodie, A.M. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1683-1687.
- Lohray, B. B.; Bhushan, V. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, **1997**, *68*, 89-169.
- Lyle, T. A.; Magill, C. A.; Pitzemberger, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7890.
- Madsen, J.; Viuf, C.; Bols, M. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1140-1146.
- Maligres, P. E.; Marjorie, M. S.; Askin, D.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 5253-5256.
- Manske, R.H.F. *Can J. Res.* **1932**, *7*, 265.
- Manske, R.H.F. *Can J. Res.* **1933**, *9*, 436.
- Marshall, F.H.; Stratton, S.C.; Mulling, J.; Ford, E.; Worton, S.P.; Oakley, N.R.; Hagan, R.M. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *58*, 1.
- Matyas, L.; Kasal, A.; Riera, Z. B.; Suñol, C. E. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2004**, *69*, 1506–1516.
- Mayer, M.F. y Hossain M., *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 6839-6844.
- McDonald, R.L.; Olsen, R.W. *Annu. Rev. Neurosci.* **1994**, *17*, 569-602.
- McKernan, R.M.; Whiting, P.J. *Trends Neurosci.* **1996**, *19*, 139.
- Melendez, R.E.; Lubell, W.D. *Tetrahedron.* **2003**, *59*, 2581-2616.
- Mellon, S.H.; Griffin, L.S. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *13*, 35-42. Y citas de la misma.
- Mennerick, S.; He, Y.; Jiang, X.; Manion, B.D.; Wang, M.; Shute, A.; Benz, A.; Evers, A.S.; Covey, D.F.; Zorumski, C.F. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 1191–1197.
- Minier, F.; Sigel, E. *Trends Pharmacol. Sci.* **2004**, *25*, 499–503.
- Mitsunobu, O. *Comprehensive organic synthesis*. Trost, B.M.; Fleming, I.; Winterfeldt, E., Eds. *Pergamon: Oxford*, **1990**, *7*, 65–101.
- Möhler, H.; Fritschy, J. M. *Trends Pharmacol. Sci.* **1999**, *20*, 87.
- Morris, K.D.; Moorefield, C.N.; Amin J. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 752–759.
- Müller, P.; Fruti, C. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2905-2919.
- Murphree, S. S.; Padwa, A. *Prog. Heterocycl. Chem.* **2001**, *13*, 52–70.
- Nadir, U. K.; Singh, A. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1337.
- Nayeem, M.; Green, T.P.; Martin, I.L.; Barnard, E.A. *J. Neurochem.* **1994**, *62*, 815.
- Nicolaou, K. C.; Huang, X.; Snyder, S. A.; Rao, P. B.; Bella, M.; Reddy, M. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 834.
- Nicoletti, D.; Ghini, A.A.; Brachet-Cota, A.L.; Burton, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1995**, 1089-1093.
- Nicoletti, D.; Ghini, A.A.; Burton, G. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6673-6677.

- Nicoletti, D.; Ghini, A.A.; Furtmüller, R.; Sieghart, P.; Dodd, H.R.; Burton, G. *Steroids*, **2000**, *65*, 349-356.
- Nielsen, I.M.B. *J. Phys. Chem. A*. **1998**, *102*, 3193-3201.
- Njar, V.C.O.; Hartman, H.M. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1447-1450.
- Njar, V.C.O.; Hartmann, R.W.; Robinson, C.H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*. **1995**, 985-991.
- Okada, M.; Iwashita, S.; Koizumi, N. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7047.
- Olsen, R.W.; Snowman, A.M. *J. Neurosci.* **1982**, *2*, 1812.
- Olsen, R.W.; Tobin, A.J. *FASEB J.* **1990**, *4*, 1469.
- Omura, K.; Uchida, T.; Irie, R.; Katsuki, T. *Chem. Commun.* **2004**, 2060.
- Osborn, H-M.I.; Sweeney J.B. *Tetrahedron Asymm.* **1997**, *8*, 1693-1715.
- Padwa, A.; Flick, A. C.; Leverett, C. A.; Stengel, T. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6377.
- Padwa, A.; Stengel, T. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2137.
- Paul, S.M.; Purdy, R.H. *FASEB J.* **1992**, *6*, 2311-2322.
- Pearson, W. H.; Lian, B. W.; Bergmeier, S. C. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry, II*; Katritzky, A. R., Ress, C. W., Scriver, E. F. V. Eds.; Pergamon: New York, 1996, 1A, 1-60.
- Peters, R.H.; Chao, W.R.; Sato, B.; Shigeno, K.; Zaveri, N.; Tanabe, M. *Steroids*. **2003**, *68*, 97-110.
- Plassart-Schiess, E.; Baulieu, E.E. *Brain Res. Rev.* **2001**, *37*, 133-140.
- Posakony, J. J.; Grierson, J. R.; Tewson, T. J. *J. Org. Chem.* **2002a**, *67*, 5164.
- Posakony, J. J.; Tewson, T. J. *Synthesis*. **2002b**, 859.
- Pritchett, D.B.; Sontheimer, H.; Shivers, B.D.; Ymer, S.; Kettenmann, H.; Schofield, P.R.; Seeburg, P.H. *Nature*. **1989**, *338*, 582.
- Still, W.C.; Khan y Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2927.
- Rai, K. M. L.; Hassner, A. *Adv. Strain. Interest. Org. Mol.* **2000**, *8*, 187-257.
- Reddy, D.S.; Rogawski, M.A. *J. Neurosci.* **2002**, *42*, 3795-3805.
- Rinner, U.; Adams, D.R.; Dos Santos, M.L.; Abboud, K.A.; Hudlicky, T. *Synlett*. **2003**, 1247-1252.
- Roberts, E. GABA: The road to neurotransmitter status, en *Benzodiazepine/GABA Receptors and Chloride Channels: Structural and Functional properties*, Olsen, R.W.; Wenter, J.C. Eds. Alan R. Liss: New York, . **1986**, 1.
- Rudolph, U.; Crestani, F.; Möhler, H. *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, *22*, 188-194.
- Savage, D.S.; Sleight, T.; Carlyle, I. *Br J Anaesth.* **1980**, *52*, 3S-9S.
- Schirmeister Tanja, J. *Med. Chem.*, **1999**, *42*, 560-572.

- Schofield, P.R.; Darlison, M.G.; Fujita, N.; Burt, D.R.; Stephenson, F.A.; Rodriguez, H.; Rhee, L.M.; Ramachandran, J.; Reale, V.; Glencorse, T.A.; Seeburg, P.H.; Barnard, E.A. *Nature*. **1987**, 328, 221.
- Schuring, V.Y.; Leyrer, U. *Tetrahedron Assymetry*. **1990**, 1, 865-868.
- Schwarz, S.; Thieme, I.; Richter, M.; Undeutsch, B.; Henkel, H.; Elger, W. *Steroids*, **1996**, 61, 710-717.
- Shingai, R.; Sutherland, M.L.; Barnard, E.A.; *Eur. J. Pharmacol.* **1991**, 206, 77–80.
- Shustov, G.V.; Krutius, V.N.; Vosnesensky, V.N.; Chervin, I.I.; Eremeev, A.V.; Krostyanovsky, R.G.; Polyac, F.D. *Tetrahedron*. **1990**, 46, 6741.
- Sieghart, W. *Pharmacological Reviews*. **1995**, 47, 181.
- Sieghart, W.; Sperk, G. *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, 2, 795–816 .
- Simon, J. et al. *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 41422–41435.
- Siu, T.; Yudin, A.K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 530-531.
- Slavikova, B.; Kasal, A.; Chodounska, H.; Kristofikova, Z. *Collect.Czech. Chem. Commun.*, **2002**, 67, 30-46.
- Slavikova, B.; Kasal, A.; Uhlrova, L.; Krsiakb, M.; Chodounska, H.; Kohouta, L. *Collect.Czech. Chem. Commun.*, **2001**, 66, 99-105.
- Smith, S.S. *Steroids*. **2002**, 67, 519–528..
- Spagnolo, P.; Zanitrato, P.; *J. Chem. Soc. Perkins Trans I*, **1988**, 3375-3380.
- Speckamp, W. N.; Kesselaar, H. *Tetrahedron Letters*, **1974**, 38, 3405-3408.
- Squires, R.F. ; Braestrup, C. *Nature*. **1977**, 266, 732.
- Staudinger, H; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta.* **1919**, 2, 635-646.
- Suginome, H.; Yamada, S.; Wang, J.B. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 2170-2176.
- Sweeney, J.B. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, 31, 247-258.
- Tanner, D. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 599-619.
- Teschemacher, A.; Zeise, M.L.; Holsboer, F.; Zieglgansberger, W. *J. Neuroendocrinol.* **1995**, 7, 233–240.
- Trost, B.M.; Curran, D.P. *Tetrahedron Letters*, **1981**, 22, 1287-1290.
- Turner, D.M.; Ransom, R.W.; Yang, J.S.J.; Olsen, E.W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1989**, 248, 960–966.
- Valls, J.; Toromanoff, E. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1961**, 758-764.
- Veleiro, A.S.; Rosenstein, R.E.; Jaliffa, C.O.; Grilli, M.L.; Speroni, F.; Burton, G.. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 343-346.

-
- Veleiro, A.S.; Pecci, A.; Monteserín, M.C.; Baggio, R.; Garland, M.T.; Lantos, C.P.; Burton, G.. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5675-5683.
- Wehn, P. M.; Du Bois, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4685-4688.
- Weill Engerer, S.; David, J.P.; Sazdovitch, V.; Liere, P.; Eychenne, B.; Pianos, A.; Schumacher, M.; Delacourte, A.; Baulieu, E.E.; Akwa, Y. *J. Clin. End. & Met.* **2002**, *87*, 5138-5143.
- Wetzel, C.H.; Vedder, H.; Holsboer, F.; Zieglgansberger, W.; Deisz, R.A. *Br. J. Pharmacol.* **1999**, *127*, 863-868.
- Wheless, K.; Majetich G. *Tetrahedron.* **1995**, *51*, 7095-7129.
- Windrove, P.B.; Wafford, K.A.; Bain, C.; Whiting, P.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1994**, *91*, 4569.
- Wisden, W.; Laurie, D.J.; Monyer, H.; Seeburg, P.H. *J. Neurosci.* **1992**, *12*, 1040.
- Witczak, Z.J. *Current. Med. Chem.* **1999**, *6*, 165-178.
- Wohlfarth, K.M.; Bianchi, M.T.; Macdonald, R.L.; *J. Neurosci.* **2002**, *22*, 1541-1549.
- Wu, J. W.; Hou, X.-L.; Dai, L.-X. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1344-1348.
- Zeng, C.; Manion, B.D.; Benz, A.; Rath, N.P.; Evers, A.S.; Zorumski, C.F.; Mennerick, S.; Covey, D.F. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3051-3059.
- Zhang, D.; Pan, Z.; Awobuluyi, M.; Lipton, S.A. *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, *22*, 121-132.
- Zhu, W.J.; Wang, J.F.; Krueger, K.E.; Vicini, S. *J Neurosci.* **1996**; *16*, 6648-6656.