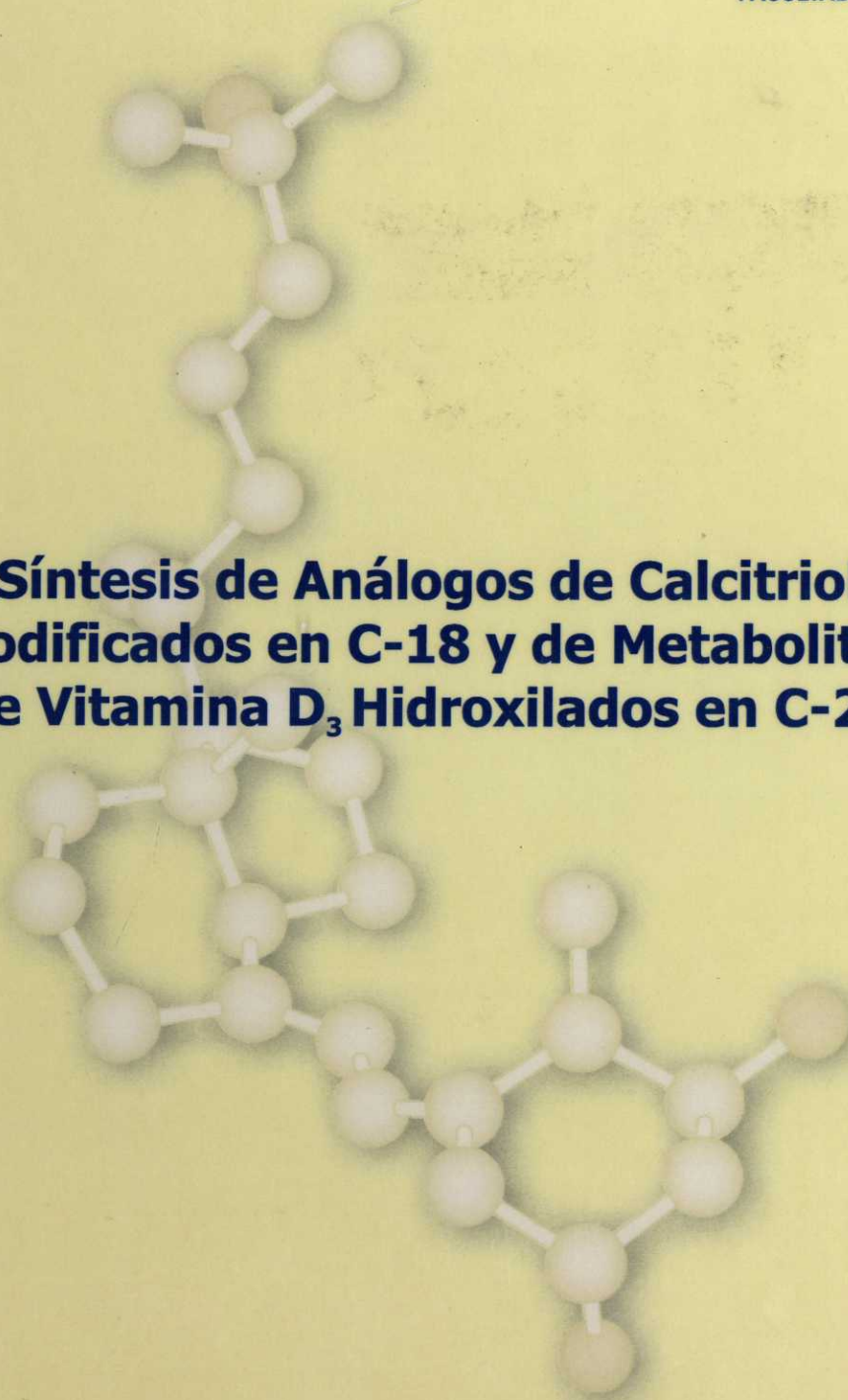




UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE
QUÍMICA FUNDAMENTAL
FACULTAD DE CIENCIAS



**Síntesis de Análogos de Calcitriol
Modificados en C-18 y de Metabolitos
de Vitamina D₃ Hidroxilados en C-24**

Iván Cornella Taracido



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE
QUÍMICA FUNDAMENTAL

FACULTAD DE CIENCIAS

**Síntesis de Análogos de Calcitriol
Modificados en C-18 y de Metabolitos de
Vitamina D₃ Hidroxilados en C-24**

Iván Cornella Taracido

A Coruña, octubre de 2001



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE
QUÍMICA FUNDAMENTAL

Facultade de Ciencias
Campus da Zapateira, s/n.
15071 A Coruña (España)
Teléfono 34 - 981 - 16 70 00
Fax 34 - 981 - 16 70 65

Síntesis de Análogos de Calcitriol Modificados en C-18 y de Metabolitos de Vitamina D₃ Hidroxilados en C-24

Memoria presentada por Iván
Cornella Taracido para optar al
grado de Doctor en Química por la
Universidade da Coruña

A Coruña, 10 de octubre de 2007

M^a Antonia Senaris R.

Fdo.: M^a Antonia Senaris Rodríguez
Directora del Departamento de Química Fundamental





UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL

Facultade de Ciencias
Campus da Zapateira, s/n.
15071 A Coruña (España)
Teléfono 34 - 981 - 16 70 00
Fax 34 - 981 - 16 70 65

Luis Alberto Sarandeses da Costa y José Pérez Sestelo, profesores del Departamento de Química Fundamental de la Universidade da Coruña

CERTIFICAN:

Que la memoria adjunta titulada "Síntesis de Análogos de Calcitriol Modificados en C-18 y de Metabolitos de Vitamina D₃ Hidroxilados en C-24", que para optar al Grado de Doctor en Química presenta D. Iván Cornella Taracido, ha sido realizada bajo su dirección en los laboratorios de Química Orgánica del Departamento de Química Fundamental, Facultad de Ciencias de la Universidade da Coruña.

Considerando que constituye trabajo de Tesis Doctoral, autorizan su presentación en la Universidade da Coruña.

Y para que así conste, y surta los efectos oportunos, firman el presente certificado en A Coruña a diez de octubre del año dos mil uno.

Fdo.: Luis A. Sarandeses da Costa

Fdo.: José Pérez Sestelo

*A mis padres, quienes antepusieron mis inquietudes a sus preferencias
y me lo dieron todo, con cariño, respeto y admiración.*

A Pilar, mi heroína, mi presente y mi futuro

*"No es porque las cosas son difíciles que no las intentamos,
es porque no las intentamos que nos parecen difíciles"*

L. A. Séneca

*"Yo no me asusto de nada,
¡soy un científico!"*

Dr. I. Jones

Agradecimientos

Deseo expresar mi sentida gratitud hacia los profesores D. Luis A. Sarandeses da Costa y D. José Pérez Sestelo, directores de este trabajo, por su dedicación, constante apoyo y las valiosas enseñanzas adquiridas a su lado.

A todos los profesores que me han ayudado a formarme transmitiéndome sus conocimientos, y en concreto a los del área de Química Orgánica, por sus consejos.

A Olga de Uña, por los precedentes estudios de reacciones de adición conjugada diastereoselectiva, y a mis otros compañeros de grupo: M^a del Mar, Paulina, Rosa, Miguel, David y, especialmente, a Nacho, por su amistad y ayuda siempre que la he necesitado.

A mis compañeros de laboratorio, por su paciencia en la penumbra y la presencia de su ánimo. También a Maricarmen, Rafa, Gerardo, Pablo, Vila, Barri, Vero, Paloma y, en especial a Daniel F. Mosquera "Mos", estudiosos del Sn, por compartir química.

Al Dr. Jan Zorgdrager y su grupo (Solvay Pharmaceuticals, Weesp, Holanda), por la cálida acogida y la agradable experiencia de trabajar con ellos durante unos meses. Y a Solvay Pharmaceuticals por la preparación de algunos compuestos de partida.

A los Dres. Arne Ptock y Kai U. Baldenius (B.A.S.F.-A.G., Ludwigshafen, Alemania), por su interés, el trato recibido y los medios dispuestos durante mi estancia en los laboratorios de la empresa.

A los profesores D. Antonio Mouriño (USC), por su colaboración y la generosa donación de algunos compuestos de partida, y D. Miguel Maestro, por su inestimable ayuda.

A los Servicios Xerais de Apoio á Investigación (SXAIn-UDC), el RIAIDT-Área de Estudio Estructural/Unidade de Rayos X (USC) y el Centro de Apoio Científico-Tecnológico a la Investigación (CACTI-UVI), por la diligente realización de los análisis que aparecen en este documento.

A la Universidade da Coruña, por la concesión de las becas de Tercer Ciclo y Predoctoral.

A la Universidade da Coruña y la Xunta de Galicia, por la financiación de este trabajo (XUGA10305A98 y PGIDT01PXI10307PR).

A Pablo Valencia, Rafael Ruiz de Valbuena y Diego Torres, "The Blue Bombay Team", por intentar entender la pasión por la síntesis y la jerga que me inculcaron los arriba citados, y por su valiosa amistad.

A mis padres, hermanos y abuelos, porque me lo han dado todo, complementos a la precariedad incluidos. Y a Pilar, por desterrar la soledad de mi vocabulario científico.

Y a ratones y pollos, por los ensayos biológicos. Porque está demostrado que la investigación les causa cáncer.

Índice

Abreviaturas	I
1. La Vitamina D. Estructura y Función	1
1.1. La Vitamina D. Estructura y nomenclatura	1
1.2. Metabolismo de la vitamina D ₃	4
1.2.1. Biosíntesis y anabolismo.....	4
1.2.2. Modo de acción del calcitriol	7
1.2.2.1. Mecanismo genómico	7
1.2.2.2. Mecanismo no genómico	9
1.2.3. Catabolismo.....	11
1.3. Funciones fisiológicas de los metabolitos activos de la vitamina D ₃	13
1.3.1. Metabolismo del calcio	13
1.3.2. Procesos de diferenciación celular	15
1.3.3. Regulación del sistema endocrino.....	16
1.3.4. Regulación del sistema inmunológico.....	17
1.3.5. Efectos específicos sobre diversos tejidos	18
1.4. Relación estructura-actividad biológica.....	20
1.4.1. Modificaciones estructurales	21
1.4.2. Conformación espacial y actividad biológica.....	24
1.4.3. Análogos del calcitriol con actividad biológica.....	29
1.5. Métodos de síntesis de metabolitos y análogos de la vitamina D ₃	30
1.5.1. Síntesis del sistema triénico	31
1.5.2. Síntesis del biciclo CD y del anillo A	33
1.5.3. Síntesis de la cadena lateral.....	37
2. Objetivos.....	41
3. Síntesis de análogos de calcitriol modificados en C-18	43
3.1. Antecedentes.....	43
3.2. Plan de trabajo	48
3.3. Preparación de la yodocetona 98	49

3.4.	Reactividad de la yodocetona 98	52
3.5.	Síntesis del análogo de calcitriol con cadena carbonada en C-18.....	61
3.6.	Síntesis del análogo de calcitriol un con oxaciclo entre C-18 y C-20.....	65
4.	Síntesis diastereoselectiva de metabolitos de vitamina D ₃ 24-hidroxiados	73
4.1.	Antecedentes	73
4.2.	Plan de trabajo	79
4.3.	Síntesis y reactividad de las dioxolanonas (+)- 69 y (-)- 69	81
4.4.	Síntesis de 24 <i>R</i> ,25-dihidroxitamina D ₃ y 1 <i>α</i> ,24 <i>R</i> ,25-trihidroxitamina D ₃	91
4.5.	Síntesis de 24 <i>S</i> ,25-dihidroxitamina D ₃	95
5.	Parte experimental.....	99
5.1.	General	99
5.2.	Síntesis de la yodocetona 98	101
5.2.1.	(8 <i>β</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -20-pregnanona (100)	101
5.2.2.	(8 <i>β</i> ,20 <i>ξ</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -pregnan-20-ol (101).....	102
5.2.3.	(8 <i>β</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18-yodopregnan-20-ona (98)	103
5.3.	Ensayos de reactividad de la yodocetona 98 y derivados	104
5.3.1.	(8 <i>β</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18-yodopregnan-20-eno (103)	104
5.3.2.	(8 <i>β</i> ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-ciclopregnan-20-ol (104).....	105
5.3.3.	(8 <i>β</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18-[2-(metoxicarbonil)etil]pregnan-20-ona (105)	106
5.3.4.	(8 <i>β</i> ,17 <i>S</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -17,18-ciclo-17 <i>α</i> -pregnan-20-ona (111).....	107
5.3.5.	(8 <i>β</i> ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-epoxipregnano (112b)	108

5.3.6. (8 β ,20 <i>S</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-epoxipregnano (112a).....	109
5.4. Síntesis del análogo de calcitriol con cadena carbonada en C-18 (116)	110
5.4.1. (8 β)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregneno (115).....	110
5.4.2. (8 β)-Des- <i>A,B</i> -20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregnen-8-ol (116)	111
5.4.3. Des- <i>A,B</i> -20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregnen-8-ona (117)	112
5.4.4. (1 α ,3 β ,5 <i>Z</i> ,7 <i>E</i>)-1,3-Di-[(<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi]-20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno (118).....	113
5.4.5. (1 α ,3 β ,5 <i>Z</i> ,7 <i>E</i>)-1,3-Di-[(<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi]-18-(3-hidroxi-3-metilbutil)-20-metil-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno (119).....	114
5.4.6. (1 α ,3 β ,5 <i>Z</i> ,7 <i>E</i>)-18-(3-Hidroxi-3-metilbutil)-20-metil-9,10-seco-pregna-5,7,10(19),20-tetraeno-1,3-diol (120).....	115
5.5. Síntesis del análogo de calcitriol un con oxaciclo entre C-18 y C-20 (117).....	116
5.5.1. (8 β)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -21-nor-18-yodocolest-24-en-20-ona (123).....	116
5.5.2. (8 β ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -21-nor-18-yodocolest-24-en-20-ol (124).....	117
5.5.3. (8 β ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-epoxi-21-norcolest-24-eno (125)	118
5.5.4. (8 β ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-epoxi-21-norcolestano-25-ol (126).....	119
5.5.5. (8 β ,20 <i>R</i>)-8-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]des- <i>A,B</i> -18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcolestano (127).....	120
5.5.6. (8 β ,20 <i>R</i>)-Des- <i>A,B</i> -18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcolestano-8-ol (128).....	121
5.5.7. (20 <i>R</i>)-Des- <i>A,B</i> -18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcolestano-8-ona (122).....	122

5.5.8. (20'R)-2-[Des-A,B-18',20'-epoxi-25'-hidroxi-21'-norcolest-8'-iliden]-hidrazinacarboxamida (129).....	123
5.5.9. (1 α ,3 β ,5Z,7E,20R)-1,3-Di[(<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi]-18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-nor-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trieno (130).....	124
5.5.10. (1 α ,3 β ,5Z,7E,20R)-18,20-epoxi-21-nor-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trien-1,3,25-triol (121).....	125
5.6. Síntesis de los trioles 165 y 167.....	126
5.6.1. (2S,5S)-2-(<i>terc</i> -Butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (162b).....	126
5.6.2. (2S,5 ξ)-5-Bromo-2-(<i>terc</i> -butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (163b).....	127
5.6.3. (2S)-2-(<i>terc</i> -Butil)-5-metilen-1,3-dioxolan-4-ona [(-)-69].....	127
5.6.4. (2R,5R)-2-(<i>terc</i> -Butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (162a).....	128
5.6.5. (2R,5 ξ)-5-Bromo-2-(<i>terc</i> -butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (163a).....	129
5.6.6. (2R)-2-(<i>terc</i> -Butil)-5-metilen-1,3-dioxolan-4-ona [(+)-69].....	129
5.6.7. Des-A,B-22-yodo-23,24-dinorcolan-8 β -ol (51).....	130
5.6.8. (2'S,5' ξ ,8 β)-23-[2'-(<i>terc</i> -Butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-A,B-24-norcolan-8-ol (164).....	131
5.6.9. (8 β ,24S)-Des-A,B-colestan-8,24,25-triol (165).....	132
5.6.10. (2'R,5' ξ ,8 β)-23-[2'-(<i>terc</i> -Butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-A,B-24-norcolan-8-ol (166).....	133
5.6.11. (8 β ,24R)-Des-A,B-colestan-8,24,25-triol (167).....	134
5.7. Síntesis de 24R,25-dihidroxivitamina D ₃ (66) y 1 α ,24R,25-trihidroxivitamina D ₃ (68).....	135
5.7.1. (4'R,8 β)-Des-A,B-24-nor-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanol (169).....	135
5.7.2. (4'R)-Des-A,B-24-nor-23-[2',2',5',5',-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanona (170).....	136

5.7.3. (3 β ,4' <i>R</i>)-3-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (171)	137
5.7.4. (3 β ,24 <i>R</i>)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-3,24,25-triol (66)	138
5.7.5. (1 α ,3 β ,4' <i>R</i>)-1,3-Di[(<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (173)	139
5.7.6. (1 α ,3 β ,24 <i>R</i>)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-1,3,24,25-tetraol (68)	140
5.8. Síntesis de 24 <i>S</i> ,25-dihidroxitamina D ₃ (67)	142
5.8.1. (4' <i>S</i> ,8 β)-Des- <i>A,B</i> -24-nor-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanol (175).....	142
5.8.2. (4' <i>S</i>)-Des- <i>A,B</i> -23-[2',2',5',5',-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-24-norcolan-8-ona (176).....	143
5.8.3. (3 β ,4' <i>S</i>)-3-[(<i>terc</i> -Butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (177).....	144
5.8.4. (3 β ,24 <i>S</i>)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-3,24,25-triol (67)	145
6. Conclusiones.....	147
7. Apéndice I. Espectros de RMN.....	149
8. Apéndice II. Datos de difracción de Rayos X	201

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIBN	α,α' -Aza- <i>iso</i> -butironitrilo
ARN-m	Ácido ribonucleico mensajero
ARN-n	Ácido ribonucleico nuclear
ATP	Adenosíntrifosfato
9-BBN-H	9-Borabicyclo-[3,3,1]-nonano
CCF	Cromatografía en capa fina
¹³ C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono
d	Doblete
dd	Doble doblete
DBD	Dominio de unión de la vitamina D al ADN
DBP	Lipoproteína de transporte específica para vitamina D
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
7-DCH	7-Deshidrocolesterol
dd	Doble doblete
DEPT	Incremento no distorsionado por transferencia de polarización
DIB	Diacetato de yodobenceno
DIBAL-H	Hidruro de di- <i>iso</i> -butilaluminio
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
dt	Doble triplete
E ⁺	Electrófilo
e. d.	Exceso diastereomérico
EI	Impacto electrónico
EM	Espectrometría de masas
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
equiv	Equivalente
FAB	Bombardeo de átomos rápidos
GPT	Glándula paratiroidea
HMPA	Triamida del ácido hexametilfosfórico
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
¹ H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protón

HPT	Hormona paratiroidea
h-VDR	Receptor de la vitamina D en humanos
Hz	Hercio
ICA	Absorción de calcio intestinal
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento expresada en hercios
LDA	Di- <i>iso</i> -propilamiduro de Litio
<i>m</i>	Multiplete
MCO	Movilidad del calcio óseo
MOMCl	Cloruro de metoximetilo
<i>m/z</i>	Relación carga/masa en espectrometría de masas
Un	Nucleófilo
ORTEP	Programa de elipsoides térmicas de Oak Ridge (<i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Program</i>)
PDC	Dicromato de piridinio
p. f.	Punto de fusión
pi	Piridina
PKC	Proteína quinasa C
PPTS	<i>para</i> -Toluensulfonato de piridinio
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
<i>R_f</i>	Factor de retención
RXR	Receptor del ácido 9- <i>cis</i> -retinóico
<i>s</i>	Singlete
SET	Transferencia monoeléctronica de electrones (<i>Single Electron Transfer</i>)
<i>t</i>	Triplete
t. a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
TBS	<i>terc</i> -Butildimetilsililo
TBSCl	Cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsililo
THF	Tetrahidrofurano
TR	Receptor de la hormona tiroidea
U. S.	Ultrasonidos
UV	Ultravioleta
VDRE	Elemento de respuesta de vitamina D
VDR _m	Receptor de membrana específico para vitamina D
VDR _n	Receptor citoplasmático nuclear específico para vitamina D

1

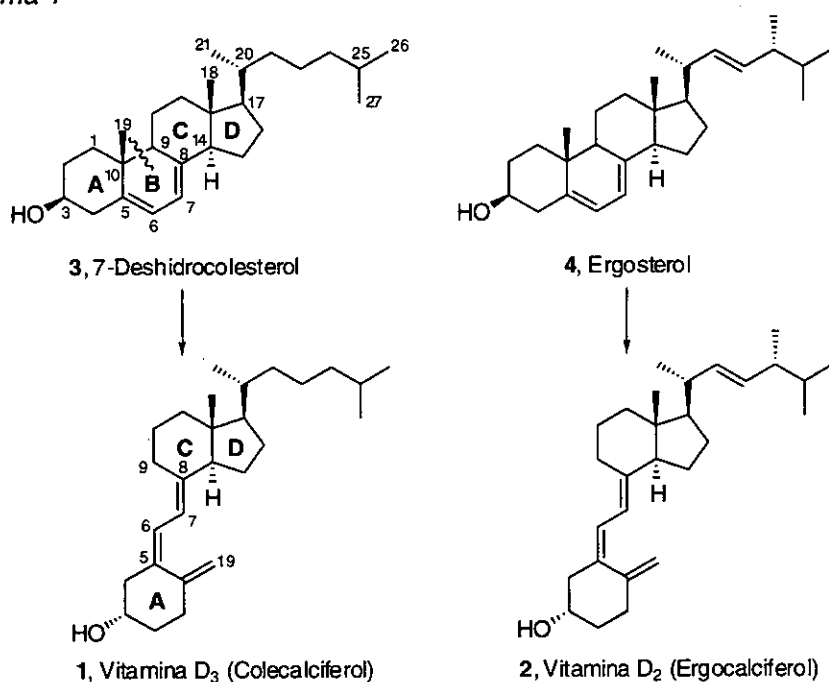
VITAMINA D. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

1. VITAMINA D. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

1.1. VITAMINA D. ESTRUCTURA Y NOMENCLATURA.

Hace más de 75 años se aisló del aceite de hígado de bacalao una sustancia activa contra el raquitismo que fue denominada vitamina D.¹ Estudios realizados posteriormente determinaron la extensión del término "vitamina D" a una familia de 9,10-secoesteroides caracterizados por un sistema triénico conjugado derivado de la apertura electrocíclica del anillo B del tetraciclo esteroidal. La diferencia entre los miembros constituyentes de la familia de la vitamina D deriva de la estructura de su cadena lateral, siendo los miembros más destacados la vitamina D₃ o colecalciferol (1, esquema 1), forma natural derivada del 7-deshidrocolesterol (3), y la vitamina D₂ o ergocalciferol (2), forma no natural de la vitamina D derivada del ergosterol (4).

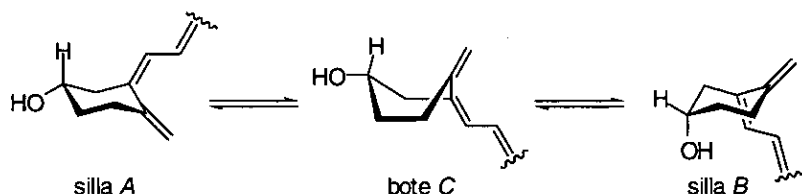
Esquema 1



(1) Windaus, A.; Linsert, O.; Luttringhaus, A.; Weidlich, G. Über das krystallisierte vitamin D₂. *Liebigs Ann. Chem.* 1932, 492, 226.

La vitamina D₃ se puede considerar estructuralmente formada por cuatro unidades: anillo A, sistema triénico, biciclo CD y cadena lateral. El anillo A es un ciclo de seis miembros funcionalizado con un hidroxilo en la posición C-3 y dos alquenos exocíclicos. Según estudios de RMN, el ciclohexano se encuentra en equilibrio dinámico entre dos posibles conformaciones silla A y B a través de una forma isomérica bote C (esquema 2).² Debido a la isomería conformacional, se postula la existencia en disolución de una cantidad significativa de la forma bote C, que podría ser de importancia en la actividad biológica.

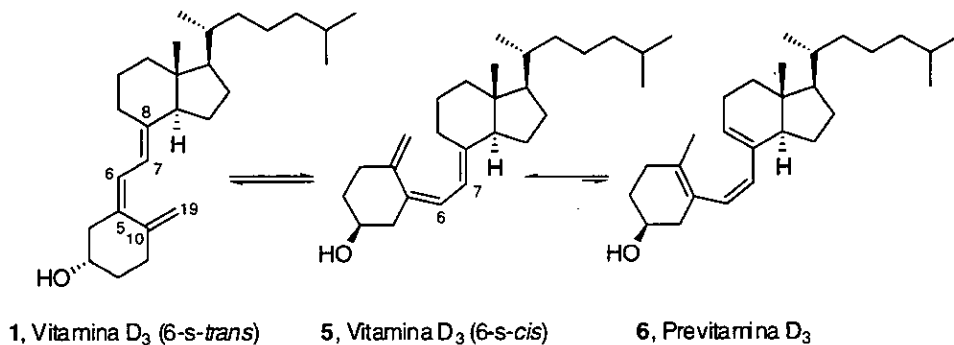
Esquema 2



El sistema triénico está formado por tres dobles enlaces conjugados entre los carbonos C-10(19), C-5(6) y C-7(8). Análisis cristalográficos y estudios de las constantes de acoplamiento de RMN de la vitamina D y derivados en disolución, indican que los dobles enlaces C-5(6) y C-7(8) son prácticamente coplanares y presentan una conformación 6-*s-trans*, con posible rotación entre las posiciones 6 y 7. El doble enlace exocíclico C-10(19) está orientado hacia arriba o hacia abajo del plano definido por el dieno intercíclico C-5(6),7(8), dependiendo de la conformación silla adoptada por el anillo A. Aunque las vitaminas D se encuentran preferentemente en la conformación 6-*s-trans* (1, esquema 3), esta conformación está en equilibrio con la 6-*s-cis* (5), que a su vez se equilibra con la correspondiente previtamina (6) mediante un desplazamiento sigmatrópico antarafacial [1,7] de hidrógeno.³

-
- (2) Wing, R. M.; Okamura, W. H.; Rego, A.; Pirio, M. R.; Norman, A. W. Vitamin D and its analogs. VII. Solution conformations of vitamin D₃ and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ by high-resolution proton magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 97, 4980.
- (3) Holick, M. F.; Schoes, H. K.; DeLuca, H. F.; Gray, R. W.; Boyle, I. T.; Suda, T. Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry* 1971, 10, 2799-2804.

Esquema 3



El *biciclo CD* está formado por dos carbociclos de 6 y 5 miembros fusionados, presentando estructura de un 7a-metil-*trans*-hidrindano. Debido a su comportamiento dinámico restringido se considera como la unidad rígida de las vitaminas, a la cual están unidas las partes flexibles: el sistema triénico y la cadena lateral.

La *cadena lateral* de la vitamina D₃ está formada por 8 átomos de carbono, al igual que el colesterol y al contrario de otras hormonas esteroidales clásicas que la presentan truncada (progesterona, cortisona, aldosterona) o carecen de ella (estradiol, testosterona). Presenta naturaleza alifática y gran flexibilidad, pudiendo adoptar un elevado número de conformaciones.

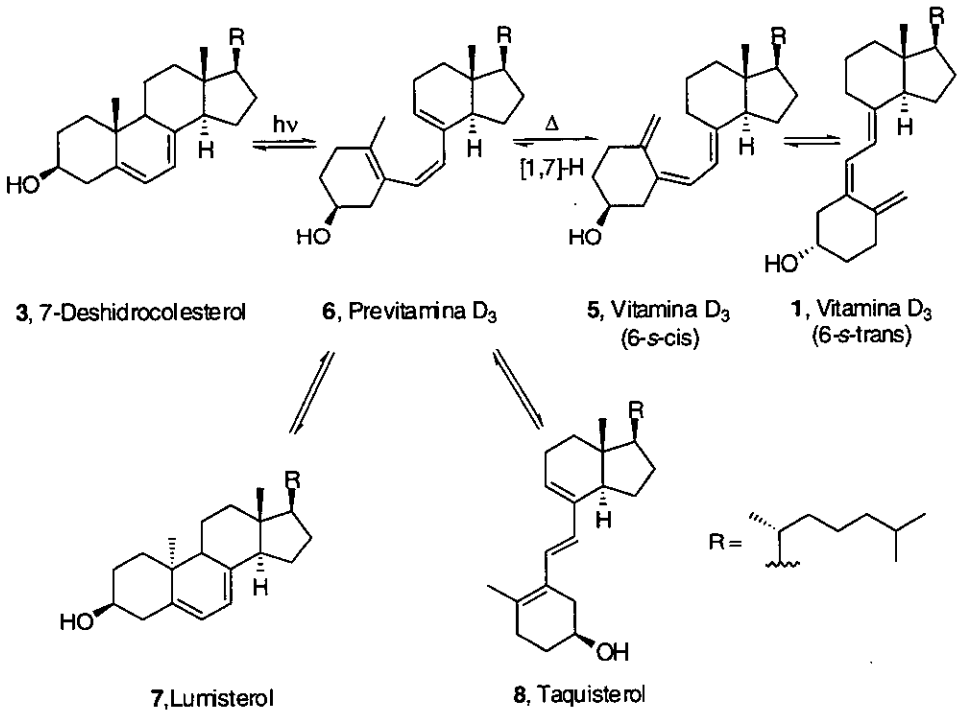
1.2. METABOLISMO DE LA VITAMINA D₃.

1.2.1. Biosíntesis y anabolismo.⁴

Aunque la vitamina D₃ se puede obtener a través de la dieta, se biosintetiza mayoritariamente a partir del 7-deshidrocolesterol (3, también denominado provitamina D₃, esquema 4) presente en la epidermis. Este compuesto sufre una apertura electrocíclica del anillo B esteroide por acción de la luz solar (radiación UV, $\lambda = 282$ nm), dando lugar a la previtamina D₃ (6), que se transforma en vitamina mediante un desplazamiento sigmatrópico antarafacial [1,7] de hidrógeno. Esta isomerización está marcadamente acelerada en medios como la piel humana, bicapas fosfolipídicas o en disolución acuosa de β -ciclodextrina, frente a las 36 h aproximadas que requiere en hexano a 37 °C. Se cree que este es un proceso puramente fotoquímico, y por lo tanto no precisa la intervención de enzimas ni proteínas.⁵ El nivel máximo de producción se alcanza en cuestión de horas y si la exposición a la radiación UV persiste, la previtamina se transforma en lumisterol (7) y taquisterol (8), evitando la toxicidad que derivaría de un exceso de vitamina D₃.⁶ La transformación en lumisterol es reversible y contribuye al almacenado y suministro continuo de previtamina cuando el organismo lo requiere.

-
- (4) Revisiones sobre la bioquímica de la vitamina D: (a) Jones, G. Side-chain hydroxylation of vitamin D₃ and its physiological implications. *Steroids* 1987, 49, 29–53. (b) Ostream, V. K.; DeLuca, H. F. The vitamin D-induced differentiation of HL-60 cells: structural requirements. *Steroids* 1987, 49, 73–102. (c) Minghetti, P. P.; Norman, A. W. 1,25(OH)₂-vitamin D₃ receptors: gene regulation and genetic circuitry. *FASEB J.* 1988, 2, 3043–3053. (d) DeLuca, H. F. Newly discovered actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and osteoporosis: basis and treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1989, 191, 211–213. (e) Manolagas, S. C.; Hustmyer, F. G.; Yu, X. P. Immunomodulating properties of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Kidney Int.* 1990, 38, S9–S16. (f) Reichel, H.; Koeffler, H. P.; Norman, A. W. The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 1989, 320, 980–991. (g) Walters, M. R. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr. Rev.* 1992, 13, 719–764.
- (5) (a) Holick, M. F. The cutaneous photosynthesis of previtamin D₃: a unique photoendocrine system. *J. Invest. Dermatol.* 1981, 76, 51–58. (b) Holick, M. F. McCollum Award Lecture, 1994: Vitamin D-new horizons for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994, 60, 619–630. (c) Holick, M. F.; Tian, X. Q.; Allen, M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995, 92, 3124–3126.
- (6) MacLaughlin, J. A.; Anderson, R. R.; Holick, M. F. Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D₃ and its photoisomers in human skin. *Science* 1982, 216, 1001–1003.

Esquema 4



La vitamina D₃ carece como tal de actividad biológica por lo que, antes de llevar a cabo sus funciones biológicas, es transportada desde la piel hasta el hígado mediante una lipoproteína de transporte específica (DBP, *vitamin D Binding Protein*). Una vez en el hígado, la vitamina D₃ sufre una hidroxilación enzimática mediante una 25-hidroxilasa mitocondrial o una monooxigenasa mitocondrial dependiente del citocromo P-450, transformándose en 25-hidroxivitamina D₃ (25-OH-D₃, 9, esquema 5), metabolito circulante en el torrente sanguíneo.⁷

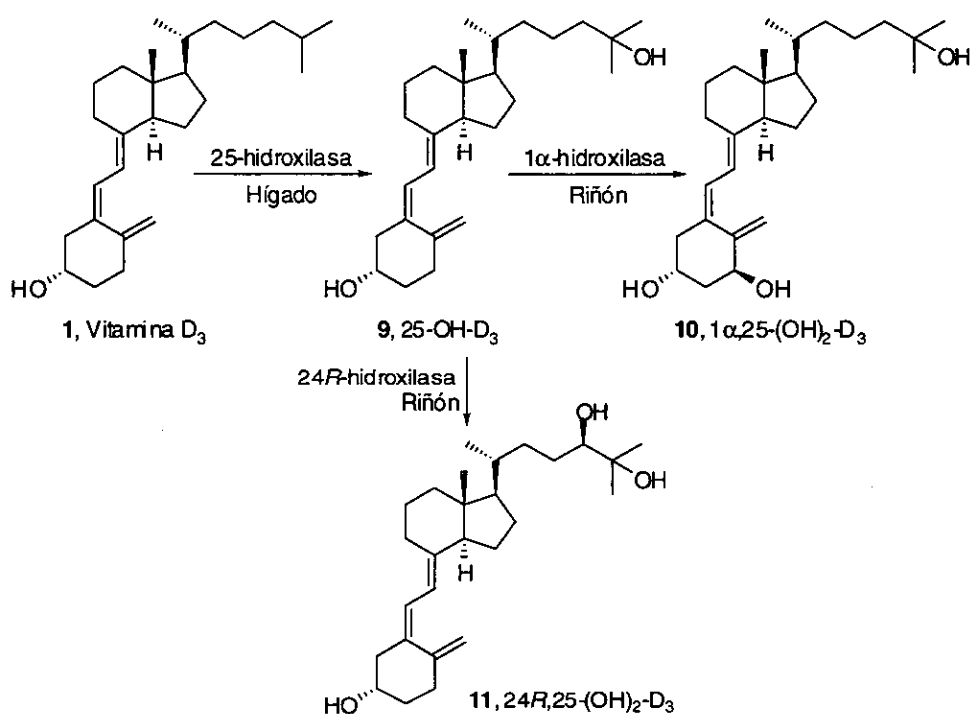
Este proceso de hidroxilación es limitado por la concentración del propio metabolito 25-OH-D₃, que ejerce una acción reguladora en las reacciones de conversión, efecto de gran importancia para mantener una concentración plasmática adecuada. Cuando la cantidad de vitamina D₃ supera en mil veces la concentración requerida por el organismo, la concentración de 25-OH-D₃ apenas se eleva al triple. Esta conversión controlada preserva vitamina D₃ para su futuro empleo, almacenada incluso varios meses en el hígado, ya que

(7) Horsting, M.; DeLuca, H. F. In vitro production of 25-hydroxycholecalciferol. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1969, 36, 251-256.

una vez realizada la hidroxilación el metabolito persiste muy poco tiempo en el organismo.

El metabolito 25-OH-D₃ es transportado por la sangre hasta el riñón, donde tiene lugar una hidroxilación enzimática diastereoespecífica⁸ en la posición C-1 ó en la C-24, dando lugar al metabolito 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ o calcitriol (1 α ,25-(OH)₂-D₃, 10) y al metabolito 24*R*,25-dihidroxitamina D₃ (24*R*,25-(OH)₂-D₃, 11).

Esquema 5



Estos dos metabolitos son los principales responsables de las respuestas biológicas asociadas a la vitamina D₃ y deben ser considerados, por similitud estructural y funcional, como hormonas y no como vitaminas.

Las características funcionales comunes de las hormonas esteroidales son su producción en glándulas endocrinas, su interacción con receptores intracelulares en los tejidos diana (estos receptores se unen a las hormonas con alto grado de afinidad y especificidad) y la interacción con el ADN de

(8) La mono-oxigenasa mitocondrial dependiente del citocromo P450 renal, conocida como CYP27, parece ser la hidroxilasa mayoritaria en el riñón.

ciertos genes en las células diana, provocando la síntesis de proteínas intracelulares que estimulan o inhiben determinadas características de la actividad bioquímica de dichas células.

En los años 70, DeLuca,⁹ Norman¹⁰ y Kodicek¹¹ demostraron que los metabolitos activos de la vitamina D₃ se producen en el riñón, órgano que debe ser considerado como glándula endocrina, y son transportados para interactuar con tejidos diana que poseen receptores específicos. La actividad fisiológica característica de las células diana es la regulación de la homeostasis del calcio y fósforo, así como la estimulación de la diferenciación y la inhibición de la proliferación celular e inducción de la diferenciación y maduración de células del sistema inmunológico.

1.2.2. Modo de acción del calcitriol.

Después de ser sintetizado en el riñón en respuesta a un determinado estímulo, el calcitriol se enlaza con una proteína transportadora DBP, y es conducido por el plasma hasta los tejidos diana. Allí ejerce sus funciones biológicas por interacción con receptores específicos (VDR, *Vitamin D Receptor*), de los que hoy en día se conoce su presencia en más de 30 tejidos diferentes y en varias líneas de células tumorales. Actualmente se considera que, una vez en el interior de la célula diana, la hormona puede dar lugar a respuestas biológicas mediante un mecanismo clásico o genómico o un mecanismo no genómico.

1.2.2.1. Mecanismo genómico

Según el mecanismo denominado clásico o genómico, similar al de hormonas esteroidales, la 1 α ,25-(OH)₂-D₃ entra en el núcleo celular, atravesando la membrana mediante difusión pasiva a través de la bicapa lipídica, y se une a un receptor citoplasmático nuclear específico (nVDR, *nuclear Vitamin D Receptor*). El complejo hormona-receptor activa los genes

-
- (9) DeLuca, H. F. Recent advances in our understanding of the vitamin D endocrine system. *J. Lab. Clin. Med.* **1976**, *87*, 7-26.
- (10) Norman, A. W.; Procsal, D. A.; Okamura, W. H.; Wing, R. M. Structure-function studies of the interaction of the hormonally active form of vitamin D₃, 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, with the intestine. *J. Steroid Biochem.* **1975**, *6*, 461-467.
- (11) Kodicek, E. Story of vitamin D. From vitamin to hormone. *Lancet* **1974**, *1*, 325-329.

de las células diana, produciendo la transcripción de proteínas que son las causantes de las distintas acciones biológicas de la vitamina D.

De los datos conocidos sobre el calcitriol y el nVDR, y por analogía con los receptores de la hormona tiroidea (TR) y del ácido 9-*cis*-retinoico (RXR), se ha propuesto el siguiente mecanismo para la compleja acción del receptor.¹²

El nVDR está débilmente asociado como monómero al ADN. El extremo carboxílico terminal del nVDR se pliega, alejando al receptor de la cavidad del ADN denominada AF-2 (por analogía con otros receptores de la misma familia), región de unión con la hormona que comprende a los residuos de los aminoácidos entre las posiciones 416 y 423.¹³ Al mismo tiempo, el nVDR está asociado a un factor represor, mediante una unión que el calcitriol puede romper. Una vez rota la unión receptor-represor, el calcitriol se une al nVDR y éste adquiere una conformación activa, en la que el extremo carboxílico terminal está situado de modo que no sólo retiene a la hormona, sino que además interacciona con un coactivador que participa en los procesos de transcripción. Además, el calcitriol facilita la unión del nVDR con el receptor RXR del ácido 9-*cis*-retinoico, ya que provoca la repulsión del correspondiente represor del RXR.

Cuando el complejo nVDR/hormona se une al receptor RXR, provoca la desactivación del RXR para unirse a su ligando, el ácido 9-*cis*-retinoico. Por el contrario, si el ácido 9-*cis*-retinoico se une al RXR libre o bien forma un heterodímero con el nVDR (cuando no está unido al calcitriol), entonces estimula la formación de homodímeros del nVDR, impidiendo la unión del nVDR con la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ y, por tanto, bloqueando la transcripción de los genes inducidos por la hormona de la vitamina D.

En el siguiente paso, el complejo nVDR/calcitriol/RXR reconoce y se une a los genes diana. La transcripción es controlada mediante la asociación del complejo con una zona del ADN, en la región promotora del gen, denominada elemento de respuesta de la vitamina D (VDRE, *Vitamin D Response*

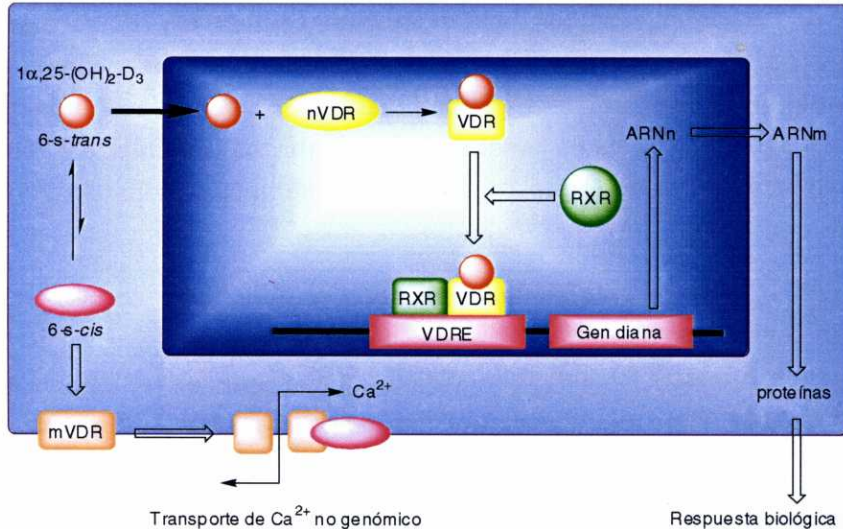
(12) Ray, R.; Swamy, N.; MacDonald, P. N.; Ray, S.; Haussler, M. R.; Holick, M. F. Affinity labeling of the $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ receptor. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 2012–2017.

(13) Whitfield, G. K.; Hsieh, J.-C.; Nakajima, S.; MacDonald, P. N.; Thompson, P. D.; Jurutka, P. W.; Haussler, C. A.; Haussler, M. R. A highly conserved region in the hormone-binding domain of the human vitamin D receptor contains residues vital for heterodimerization with retinoid X receptor and for transcriptional activation. *Mol. Endocrinol.* **1995**, *9*, 1166–1179.

Element, secuencia específica que, en los casos más sencillos, está formada por dos regiones hexaméricas comúnmente constituidas por la repetición de tres nucleótidos espaciadores), produciendo la transcripción genética de un ARN nuclear (ARNn) que codifica un ARN mensajero (ARNm), responsable de la síntesis de las proteínas que inducirán la expresión de respuestas biológicas (Fig. 1).¹⁴

El mecanismo descrito es coherente con la autorregulación en la producción de calcitriol ya que, además de la síntesis de proteínas relacionadas y expresión de respuestas biológicas, induce la acción de la enzima 24-hidroxilasa, conduciendo a derivados de la hormona más polares, implicados en los procesos de desactivación catabólica.

Figura 1



1.2.2.2. Mecanismo no genómico

El segundo mecanismo de acción del calcitriol hoy en día aceptado es el denominado mecanismo de respuesta rápida o no genómico, así llamado por no involucrar la unión de la hormona activa con un receptor nuclear (nVDR) y no tener lugar la interacción con los ácidos nucleicos. Las acciones

(14) (a) Carson-Jurica, M. A.; Schrader, W. T.; O'Malley, B. W. Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.* **1990**, *11*, 201–220. (b) Sone, T.; Kerner, S.; Pike, J. W. Vitamin D receptor interaction with specific DNA. Association as a 1,25-dihydroxyvitamin D_3 -modulated heterodimer. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 23296–23305. (c) Freedman, L. P. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocr. Rev.* **1992**, *13*, 129–145.

derivadas se caracterizan por la rapidez de respuesta y la brevedad de su duración, siendo además insensibles a los inhibidores de la síntesis de ARN y proteínas.¹⁵

Este modo de acción se pone de manifiesto tanto a nivel celular, para el transporte rápido de calcio a través de tejidos (transporte de calcio intestinal o transcaltiquia), como a nivel subcelular (transporte de los iones Ca^{2+} a través de la membrana celular), implicando a la hormona en la regulación de los canales de calcio.¹⁶

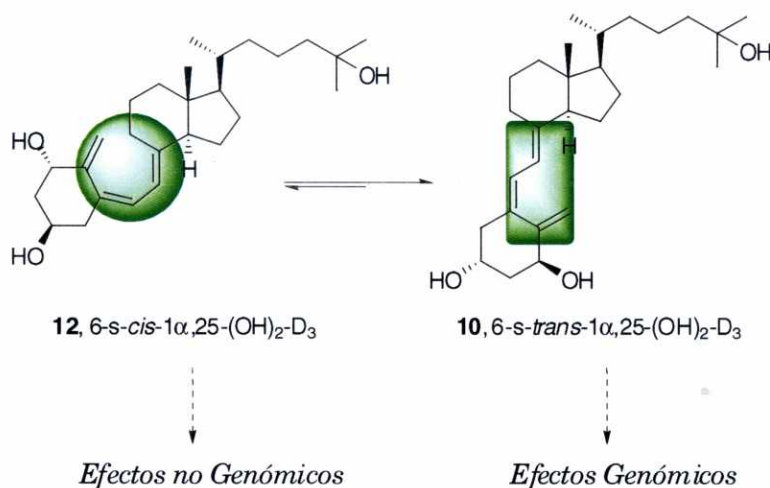
Se han propuesto dos rutas para explicar las respuestas no genómicas.¹⁷ La primera implica el transporte vesicular de calcio como consecuencia de la inserción de la hormona en la bicapa lipídica de la membrana celular, mientras que la segunda, más ampliamente aceptada, postula la unión de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ con un receptor de la membrana celular (mVDR) formando un complejo hormona-receptor, distinto del anteriormente mencionado, responsable de las respuestas no genómicas, tales como la estimulación del flujo de iones Ca^{2+} a través de canales de la membrana sensibles a diferencias de voltaje, la producción de prostaglandina y fosfolipasa C o la activación de la proteína quinasa C (PKC).

Se cree que los receptores de la hormona en el núcleo y en la membrana presentan centros activos diferentes. Así, el mVDR se enlaza al calcitriol con conformación 6-s-cis (**12**, esquema 6), mientras que el nVDR se enlaza exclusivamente con el confórmero 6-s-trans (**10**).¹⁸ Los cambios

-
- (15) De Boland, A. R.; Nemere, I. Rapid actions of vitamin D compounds. *J. Cell. Biochem.* 1992, 49, 32-36.
- (16) Baran, D. T. Nongenomic actions of the steroid hormone $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$. *J. Cell. Biochem.* 1994, 56, 303-306.
- (17) (a) Norman, A. W.; Ross, F. P. Vitamin D seco-steroids: unique molecules with both hormone and possible membranophilic properties. *Life Sci.* 1979, 24, 759-769. (b) Nemere, I.; Szego, C. M. Early actions of parathyroid hormone and $1,25\text{-dihydroxycholecalciferol}$ on isolated epithelial cells from rat intestine: I. Limited lysosomal enzyme release and calcium uptake. *Endocrinology* 1981, 108, 1450-1462. (c) Nemere, I.; Zhou, L.-X.; Norman, A. W. Vesicular calcium transport across the intestine and its initiation by $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ during transcaltachia. en *Vitamin D. Gene regulation, structure-function analysis and clinical applications*; Norman, A. W.; Bouillon, R.; Thomasset, M., Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1991, 360-367.
- (18) Norman, A. W.; Okamura, W. H.; Farach-Carson, M. C.; Allewaert, K.; Branisteanu, D.; Nemere, I.; Muralidharan, R. K.; Bouillon, R. Structure-function studies of $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ and the vitamin D endocrine system. $1,25\text{-Dihydroxy-pentadeuterio-previtamin D}_3$ (as a 6-s-cis analog) stimulates nongenomic but not genomic biological responses. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 13811-13819.

conformacionales derivados del enlace hormona-receptor son considerados cruciales en la activación del complejo, y se traducen en la capacidad de dar lugar a respuestas fisiológicas.

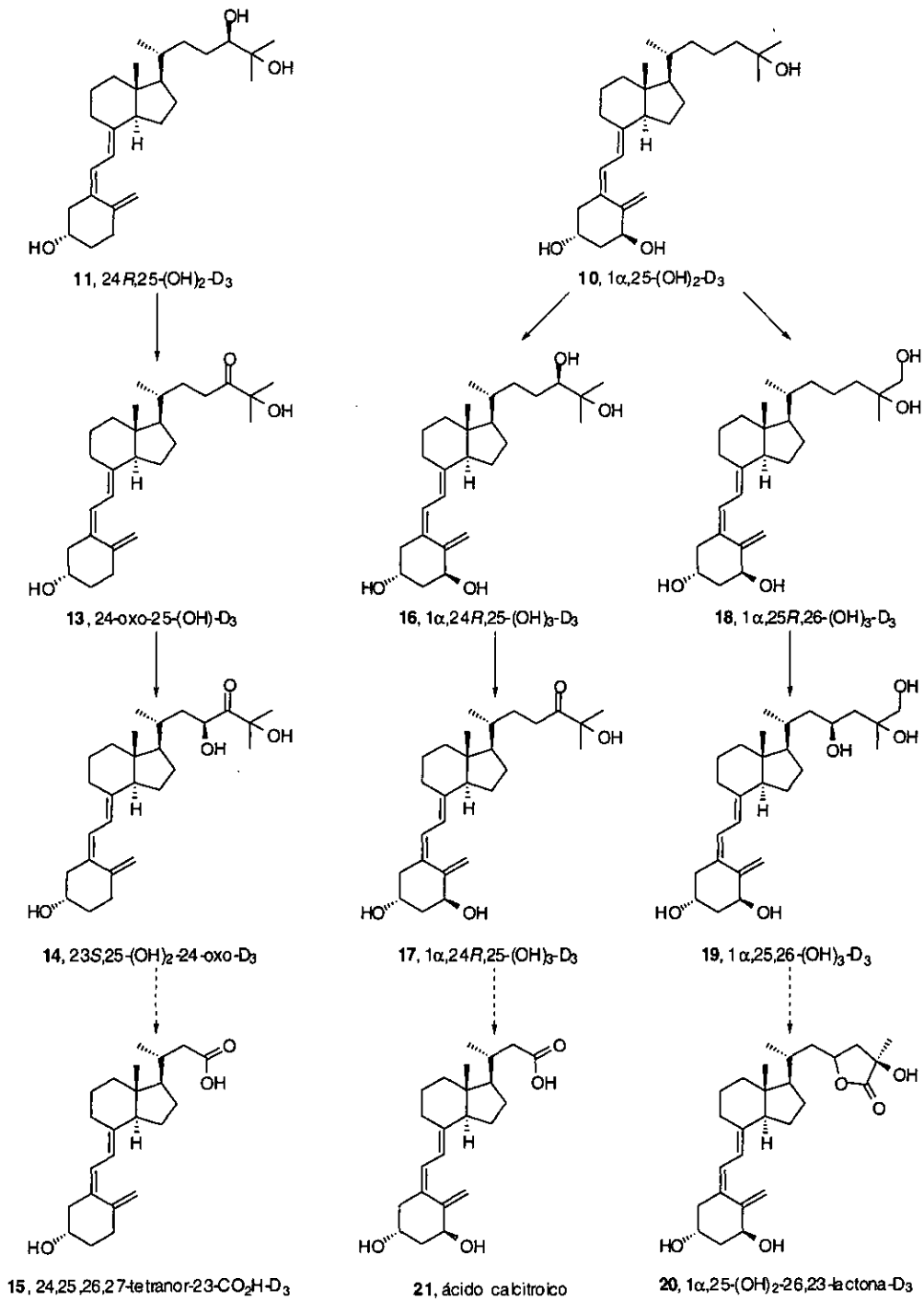
Esquema 6



1.2.3. Catabolismo.¹⁹

Una vez producida la respuesta biológica, los metabolitos activos de la vitamina D₃ se desactivan mediante una ruta catabólica (esquema 7). Los primeros pasos de desactivación catabólica tienen lugar en el riñón y en las células diana. El calcitriol sufre una oxidación en C-24, hidroxilación en C-23 o C-26, seguida de lactonización entre C-23 y C-26, y ruptura de la cadena lateral en C-23,24, teniendo como punto final la formación de ácido calcitroico (**21**). En el caso de la 24R,25-(OH)₂-D₃ el proceso general es similar, obteniéndose finalmente la 24,25,26,27-tetranor-23-CO₂H-D₃ (**15**). Del estudio de los diferentes metabolitos de la vitamina D₃ se concluye que cuanto mayor es su polaridad menor es la actividad, en lo que respecta a la homeostasis del fósforo y del calcio. Los compuestos finales son metabolitos biológicamente inactivos y solubles en agua.

(19) (a) Fraser, D. R. Regulation of the metabolism of vitamin D. *Physiol. Rev.* **1980**, *60*, 551-613. (b) Henry, H. L.; Norman, A. W. Vitamin D: metabolism and biological actions. *Ann. Rev. Nutr.* **1984**, *4*, 493-520. (c) DeLuca, H. F. The metabolism and functions of vitamin D. *Adv. Exp. Med.* **1986**, *196*, 361-375.

Esquema 7. Ruta catabólica de los metabolitos activos de la vitamina D₃.

1.3. FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LOS METABOLITOS ACTIVOS DE LA VITAMINA D₃.

1.3.1. Metabolismo del calcio.⁴

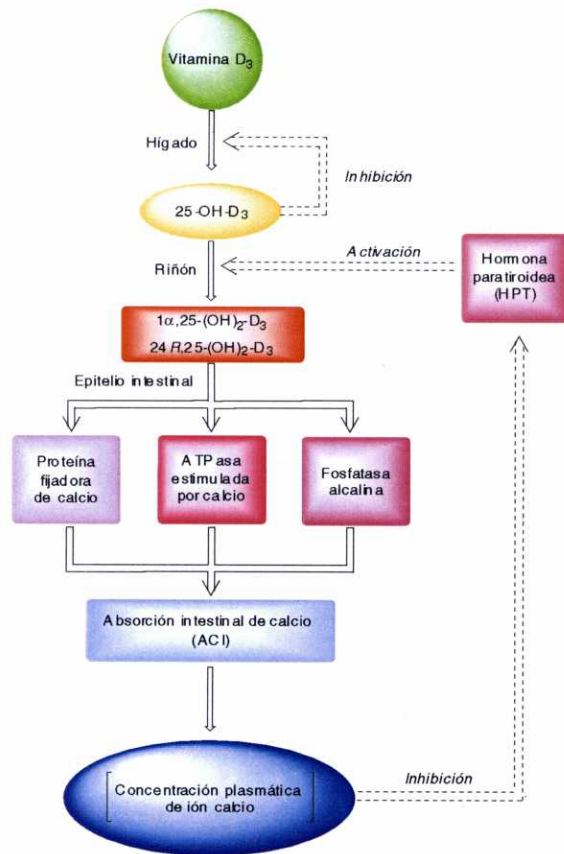
El efecto neto de la acción de los metabolitos activos de la vitamina D₃ sobre los órganos diana clásicos (intestino, riñón y tejido óseo) es la regulación de los niveles de calcio en el plasma. El calcitriol regula la transcripción de los genes que codifican las proteínas responsables de la absorción del calcio intestinal (ACI) y de la movilización del calcio óseo (MCO). Cuando se produce un descenso en el nivel de calcio sérico, la glándula paratiroidea (GPT) segrega la hormona paratiroidea (HPT, polipéptido formado por 84 aminoácidos) que, además de mejorar la reabsorción renal, inhibe la producción de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ en el riñón.

La actividad biológica del metabolito $24R,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ es todavía desconocida en algunos aspectos, pero se ha comprobado que ejerce una acción complementaria al calcitriol. Estos resultados sugieren la necesidad de una acción combinada de los dos metabolitos sintetizados en el riñón (esquema 8). Otros estudios sobre actividad biológica proponen acciones únicas del derivado 24-hidroxilado sobre el tejido óseo y sugieren una contribución única en el correcto desarrollo de la osificación intramembranosa durante el proceso de embriogénesis. El metabolito 24-hidroxilado resulta esencial para el normal crecimiento del hueso y la prevención del raquitismo, parece tener un efecto de inhibición específico sobre la formación y función de las células osteoclasticas, contrario a la estimulación producida por el calcitriol y la HPT. Su administración a animales de laboratorio raquícticos produce incremento de masa ósea (mineralización) y, por estudios realizados con derivados tritiados, se conoce su acumulación en el cartílago, donde se supone la existencia de receptor VDR específico para el metabolito.²⁰ Todas estas observaciones apoyan la importante contribución de la $24R,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ al metabolismo óseo. Además,

(20) (a) Somjen, D.; Somjen, G. J.; Weisman, Y.; Binderman, I. Evidence for 24,25-dihydroxycholecalciferol receptors in long bones of new-born rats. *Biochemistry* **1982**, *204*, 31–36.
(b) Kato, A.; Seo, E. G.; Einhorn, T. A.; Bishop, J. E.; Norman, A. W. Studies on $24R,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$; evidence for a nonnuclear membrane receptor in the chick tibial fracture-healing callus. *Bone* **1998**, *23*, 141–146.

el metabolito podría producir otras acciones como la regulación de la secreción de la HPT o la estimulación de la actividad de la creatina kinasa BB, pero su modo de acción e importancia aún no ha sido determinado con claridad.

Esquema 8



La presencia de calcio es necesaria para el correcto funcionamiento de numerosos procesos intra- y extracelulares, entre los que se incluyen la contracción muscular, la conducción nerviosa, el correcto acoplamiento entre excitación y contracción del músculo cardíaco, la secreción de hormonas y la coagulación de la sangre. Adicionalmente, el ión Ca^{2+} juega un papel único en los procesos de transmisión de señales intracelulares (por interacción con otros mensajeros intracelulares como el adenosín monofosfato cíclico, AMPc, o el 1,4,5-trifosfato de inositol) y está involucrado en la regulación de

numerosos enzimas (activa proteinquinasas y fosforilaciones enzimáticas). Por todo ello, la homeostasis del calcio es vital en el organismo.

Las concentraciones de calcio intracelular y extracelular son reguladas por el transporte bidireccional a través de la membrana celular y de las membranas de orgánulos intracelulares como las mitocondrias, el retículo endoplasmático y el retículo sarcoplasmático de las células musculares. El transporte de calcio fuera del citoplasma celular y dentro de los citados espacios celulares, así como el alto grado de afinidad con ciertas proteínas de enlace, mantienen la concentración de iones calcio en el citoplasma dentro del rango micromolar (menos de la milésima parte de la concentración plasmática de calcio). Aproximadamente el 99% del calcio en el organismo se encuentra formando parte del tejido óseo, principalmente complejo con otros iones en forma de cristales de hidroxiapatito, y sólo un 1% del calcio óseo es movilizable para contribuir a la amortiguación y regulación de los balances corporales de calcio. A pesar de las bajas concentraciones de calcio presentes en el citosol, por lo que es considerado como mensajero intracelular secundario, sus funciones intracelulares son de incuestionable importancia.

La sinergia descrita se complementa con la interrelación entre los metabolismos del calcio y del fósforo que, a su vez, está también influenciada por la concentración de hormona HPT circulante y, en menor medida, por la calcitonina (hormona polipeptídica formada por 32 aminoácidos y segregada por células del tiroides, que disminuye la concentración plasmática de calcio mediante absorción celular, secreción renal y formación de tejido óseo).

1.3.2. Procesos de diferenciación celular.

La presencia de receptores celulares del calcitriol en gran cantidad de tejidos no relacionados con el metabolismo del calcio, así como la creencia de que muchas de las funciones bioquímicas de la hormona ocurren después de la interacción con dichos receptores, han ampliado el campo de aplicaciones clínicas del calcitriol. Además de las funciones biológicas asociadas al metabolismo del calcio y fósforo, a principios de la década de los 80 se descubrió que la hormona es capaz de inducir la diferenciación y detener la proliferación de diversos tipos de células leucémicas.²¹ Este descubrimiento

(21) (a) Koeffler, H. P.; Amatruda, T.; Ikekawa, N.; Kobayashi, Y.; DeLuca, H. F. Induction of macrophage differentiation of human normal and leukemic myeloid stem cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its

impulsó el interés hacia el calcitriol y sus análogos, así como el desarrollo de fármacos con utilidad en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas como el cáncer, la psoriasis, etc. Experimentos *in vitro* demostraron que el calcitriol, en concentraciones superiores a 10^{-9} M inhibe el crecimiento de células tumorales de colon, pulmón, próstata, mama y otras.^{22,23} Unido a estos hechos, el descubrimiento reciente de receptores VDR en, aproximadamente, un 60% de las líneas celulares tumorales,²⁴ ha conducido a un incremento de la investigación y desarrollo de nuevos análogos con potencial actividad antitumoral.

Aunque se han obtenido resultados similares *in vivo*, las dosis de calcitriol requeridas son superiores a las biológicamente permitidas originando hipercalcemia. Por ello, desde hace años se persigue el desarrollo de análogos que presenten propiedades biológicas selectivas, como una elevada actividad antitumoral sin efectos sobre el metabolismo del calcio.

1.3.3. Regulación del sistema endocrino.

El calcitriol realiza en algunos casos una función reguladora de los niveles de su receptor.²⁵ Además puede estimular en numerosos tejidos la actividad de un enzima relacionado con el metabolismo de la vitamina D₃, la

fluorinated analogs. *Cancer Res.* **1984**, *44*, 5624–5628. (b) Zhou, J. Y.; Norman, A. W.; Lubbert, M.; Collins, E. D.; Uskokovic, M. R.; Koeffler, H. P. Novel vitamin D analogs that modulate leukemic cell growth and differentiation with little effect on either intestinal calcium absorption or bone calcium mobilization. *Blood* **1989**, *74*, 82–93.

- (22) Revisiones acerca de terapias anticáncer: (a) Knobf, M. K.; Fischer, D. S.; Welch-McCaffrey, D. *Cancer Chemotherapy*, Year Book Medical Pub., 1984. (b) Hellstrom, K. E.; Hellstrom, I. *Biologic Therapy of Cancer: Principles and Practice*; Devita, V. T., Hellman, S. A., Roserberg, S. A., Eds.; Lippincot, 1991; p. 35. (c) Waring, M. J.; Ponder, B. A. J. *The Search for New Anticancer Drugs*, Kluwer Academic, 1992.
- (23) Utilización del calcitriol o análogos en terapias anticáncer: (a) Koeffler, H. P.; Hirji, K.; Itri, L. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃: in vivo and in vitro effects on human preleukemic and leukemic cells. *Cancer Treat. Rep.* **1985**, *69*, 1399–1407. (b) Eisman, J. A.; Barkla, D. H.; Tutton, P. J. M. Suppression of in vivo growth of human cancer solid tumor xenografts by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Cancer Res.* **1987**, *47*, 21–25. (c) Newmark, H. L.; Lipkin, M. Calcium, vitamin D, and colon cancer. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 2067s–2070s. (d) Calverley, M. R.; Jones, G. *Antitumor Steroids*; Blickstaff, R. T., Ed.; Academic Press: New York, 1992. (e) Palmer, H. G.; Gonzalez-Sancho, J. M.; Espada, J.; Berciano, M. T.; Puig, I.; Baulida, J.; Quintanilla, M.; Cano, A.; García de Herreros, A.; Lafarga, M.; Muñoz, A. Vitamin D₃ promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of β -catenin signaling. *J. Cell Biol.* **2001**, *154*, 369–387.
- (24) Vitamin D; Feldman, D.; Glorieux, F. H.; Pike, J. W., Eds.; Academic Press: New York, 1997.
- (25) Costa, E. M.; Hirst, M. A.; Feldman, D. Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors by vitamin D analogs in cultured mammalian cells. *Endocrinology* **1985**, *117*, 2203–2210.

24-hidroxilasa. Este efecto ocurre bajo la mediación del nVDR, puesto que depende de la síntesis de un ARNm y de proteínas específicas. De la misma forma, la hormona puede inhibir la actividad de la 1α -hidroxilasa.²⁶

El calcitriol desarrolla además un papel importante en el proceso de secreción de otras hormonas. Así, se ha demostrado que afecta a la secreción de la hormona paratiroidea (HPT), calcitonina (hormona de acción rápida secretada en respuesta a la hipercalcemia), insulina, prolactina, y hormona tirotrópica. En los últimos años se ha descubierto que el calcitriol y algunos de sus análogos regulan la transcripción genética de la HPT.²⁷ Aunque se desconoce el mecanismo de acción, es posible que se trate de una combinación de acciones genómicas y no genómicas.

1.3.4. Regulación del sistema inmunológico.

Las funciones fisiológicas desarrolladas por el calcitriol en la modulación de respuestas del sistema inmunológico no están claramente definidas, si bien se sabe que ciertas macromoléculas involucradas en las acciones inmunes son complejos dependientes de los iones calcio.

La hormona $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ y ciertos análogos presentan potentes efectos inmunomodulatorios *in vitro* e *in vivo*, previniendo enfermedades autoinmunes. Se han observado efectos aditivos y sinérgicos entre el calcitriol, o análogos, y ciertos inmunomoduladores clásicos, en el estudio de varios modelos de autoinmunidad y trasplantes, que proponen una posible función del calcitriol y sus análogos como agentes reductores de la concentración de otros agentes inmunomoduladores en humanos.

En general, las respuestas inmunes pueden asociarse con la proliferación y diferenciación de linfocitos, así como con la secreción de varias citoquinas. Una vez terminada su acción, se detiene la secreción de citoquinas y los linfocitos son eliminados por un proceso de muerte celular programada denominada apoptosis. Este proceso de "suicidio celular" activo involucra la inducción de varias moléculas y mecanismos, y se caracteriza por cambios en la morfología celular que producen condensación de la cromatina,

(26) Kumar, R. Metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Physiol. Rev.* 1984, 64, 478-504.

(27) Naveh-Many, T.; Silver, J. Effects of calcitriol, 22-oxacalcitriol, and calcipotriol on serum calcium and parathyroid hormone gene expression. *Endocrinology* 1993, 133, 2724-2728.

ruptura del núcleo colapsado en pequeños fragmentos y zeiosis (ruptura de la membrana plasmática). Esto se interpreta como señal para que los macrófagos presentes lleven a cabo la fagocitosis. De esta manera, no se produce derrame de material celular en el tejido circundante, evitando el desarrollo de inflamación.

El mecanismo de acción de la hormona en el sistema inmunológico, y las bases de la sinergia con otros compuestos implicados en las respuestas inmunes, sigue siendo objeto de estudio en la actualidad. Hoy en día se conocen los efectos clave del calcitriol y análogos sobre la inhibición de la presencia de antígenos de células dendríticas y macrófagos, así como la inhibición de la secreción de citoquina. La evidencia de esta función *in vivo* se ha comprobado para modelos de prevención primaria de diabetes autoinmune y de recurrencia de diabetes después de transplantes.

1.3.5. Efectos específicos sobre diversos tejidos.

(a) Sistema cardiovascular.

Desde hace años se conoce la existencia del receptor VDR en las células del tejido cardíaco y del músculo liso del sistema vascular. El calcitriol estimula el flujo de calcio en las células cardíacas²⁸ necesario para llevar a cabo la contracción muscular.

El incremento de la concentración de calcio en el organismo se asocia con un aumento de dicha concentración en el tejido vascular y cardíaco, y por lo tanto con una mayor contractilidad. Este efecto debería traducirse en un incremento de la presión sanguínea (hipertensión), sin embargo se ha encontrado que es la deficiencia de calcio en el organismo, y no el exceso, la causante de hipertensión. Esto se debe, paradójicamente, a un aumento de la concentración de calcio en los tejidos cardíaco y vascular cuando tiene lugar la disminución del nivel de calcio sérico. Por ello, la deficiencia de vitamina D

(28) (a) Walters, M. R.; Wicker, D. C.; Riggle, P. C. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ receptors identified in the rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **1986**, *18*, 67–72. (b) Merke, J.; Hofmann, W.; Goldschmidt, G., Ritz, E. Demonstration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors and actions in vascular smooth muscle cells in vitro. *Calcif. Tissue Int.* **1987**, *41*, 112–114. (c) Walters, M. R.; Ilenchuk, T. T.; Claycomb, W. C. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ stimulates calcium-45 ion uptake by cultured adult rat ventricular cardiac muscle cells. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 2536–2541.

ocasiona un aumento de la contractilidad de dichos tejidos y la consiguiente elevación de la presión sanguínea.

(b) *Páncreas.*

Las denominadas células β pancreáticas poseen receptores VDR, lo que sugiere posibles efectos del calcitriol sobre la secreción de insulina, el control de la tolerancia a la glucosa y la diabetes.²⁹

(c) *Órganos reproductores.*

Se han encontrado cambios importantes en los niveles de la hormona y en el metabolismo del calcio durante el desarrollo y la reproducción. Estudios realizados con ratas pusieron de manifiesto que la vitamina D es necesaria para una normal función reproductora, tanto en los machos como en las hembras. Así, en el caso de machos con deficiencia de vitamina D se han observado cambios degenerativos en los órganos reproductores, que dan lugar a una espermatogénesis incompleta.³⁰

(d) *Pituitaria.*

Las hormonas segregadas por la hipófisis o pituitaria desempeñan papeles importantes en el control de múltiples funciones metabólicas del organismo. Aunque el calcitriol actúa primordialmente sobre la tirotropina (hormona que estimula a la glándula tiroides), se ha encontrado también que afecta a la producción y secreción hormonal de somatotropina (hormona del crecimiento) y lactotropina (hormona promotora de la secreción de leche durante la lactancia). Todos estos efectos ocurren bajo control genómico, puesto que es necesaria la síntesis de proteínas.³¹

-
- (29) Bouillon, R.; Verhaeghe, J.; Nyomba, B. L.; Visser, W. J.; van Baelen, H.; Thomasset, M. Interaction between vitamin D, insulin and diabetes mellitus. En *Vitamin D: Molecular, cellular and clinical endocrinology*. Norman, A. W.; Schaefer, K.; Grigoleit, H. G. Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1988; p. 875-884.
- (30) (a) Kwiecinski, G. G.; Petrie, G. I.; DeLuca, H. F. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat. *J. Nutr.* **1989**, *119*, 741-744. (b) Kwiecinski, G. G.; Petrie, G. I.; DeLuca, H. F. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ restores fertility of vitamin D-deficient female rats. *Am. J. Physiol.* **1989**, *256*, E483-E487.
- (31) Stumpf, W. E. The heliogenic steroid hormone: somatotropic activator and modulator. Discoveries from histochemical studies lead to new concepts. *Histochemistry* **1988**, *89*, 209-219.

(e) *Hígado.*

La $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$, con otros compuestos involucrados en la homeostasis cálcica, desempeña una función importante en el proceso de regeneración hepática. En animales de laboratorio hepactomizados se encontró que la hormona es imprescindible para llevar a cabo la síntesis de ADN y la mitosis de células hepáticas, además de inducir a determinadas enzimas replicantes como la ADN- α -polimerasa y la ribonucleótido-reductasa.³²

1.4. RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD BIOLÓGICA.³³

La vitamina D_3 y sus metabolitos son estructuralmente dinámicos, poseyendo gran cantidad de conformeros que posibilitan la interacción con diferentes tipos de proteínas, tales como receptores (nVDR ó mVDR), proteínas de transporte en el suero (DBP) o enzimas involucrados en su producción metabólica o en su catabolismo. El conocimiento de la topología y el comportamiento dinámico de las hormonas libres, o de sus análogos, en el enlace con el receptor o con otras proteínas, es muy importante para establecer parámetros de correlación estructura-actividad. Esta información es esencial para el óptimo diseño de análogos efectivos con propósitos terapéuticos.

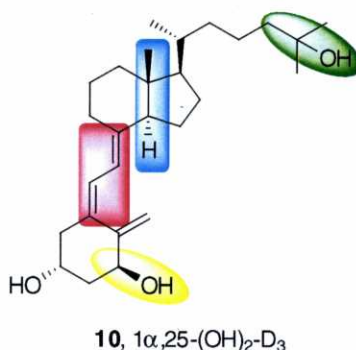
-
- (32) Rixon, R. H.; Whitfield, J. F. The control of liver regeneration by parathyroid hormone and calcium. *J. Cell. Physiol.* **1976**, *87*, 147-155.
- (33) Revisiones sobre la relación estructura-actividad biológica en vitamina D: (a) Okamura, W. H.; Midland, M. M.; Hammond, M. W.; AbdRahman, N.; Dormanen, M. C.; Nemere, I.; Norman, A. W. Chemistry and conformation of vitamin D molecules. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **1995**, *53*, 603-613. (b) Bouillon, R.; Okamura, W. H.; Norman, A. W. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocr. Rev.* **1995**, *16*, 200-257. (c) Norman, A. W.; Henry, H. L.; Bishop, J. E.; Song, X.-D.; Bula, C.; Okamura, W. H. Different shapes of the steroid hormone $1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{-vitamin D}_3$ act as agonists for two different receptors in the vitamin D endocrine system to mediate genomic and rapid responses. *Steroids* **2001**, *66*, 147-158.

1.4.1. Modificaciones estructurales.

Los estudios de actividad biológica llevados a cabo con análogos del calcitriol relacionan las modificaciones estructurales con las afinidades de enlace al VDR y a la DBP, las capacidades de promover la diferenciación celular y con el índice calcémico relativo. Clasificando los análogos según la unidad estructural modificada, podemos extraer algunas conclusiones.

Modificaciones en el anillo A: El hidroxilo en la posición C-1, con estereoquímica 1α , parece ser fundamental para la actividad biológica de muchos análogos de calcitriol. La inversión de la configuración del hidroxilo en C-1 conduce a la inhibición de respuestas no genómicas y su ausencia incrementa la afinidad por la DBP, al tiempo que disminuye la efectividad de unión con el nVDR.³⁴ El hidroxilo en 3β no parece imprescindible para la actividad biológica (su ausencia provoca una disminución de un orden en la actividad calcémica). Asimismo, el metileno C-19 no es imprescindible a la hora de producir ciertas respuestas biológicas.³⁵

Figura 2. Zonas topológicas de importancia para la actividad biológica.



Modificaciones en el sistema triénico: Para que exista actividad biológica, es necesario que el dieno conjugado C-5(6),7(8) se encuentre en

- (34) Norman, A. W.; Bouillon, R.; Farach-Carson, M. C.; Bishop, J. E.; Zhou, L.-X.; Nemere, I.; Zhao, J.; Muralidharan, R. K.; Okamura, W. H. Demonstration that $1\beta,25$ -dihydroxyvitamin D₃ is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and biological profile of the three A-ring diastereomers of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 20022–20030.
- (35) (a) Perlman, K. L.; Sicinski, R. R.; Schnoes, H. K.; DeLuca, H. F. $1\alpha,25$ -Dihydroxy-19-norvitamin D₃, a novel vitamin D-related compound with potential therapeutic activity. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1823–1824. (b) Huang, P.; Sabbe, K.; Pottie, M.; Vandewalle, M. A novel synthesis of 19-nor- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ and related analogs. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *45*, 8299–8302.

forma vitamínica (*cis* o *trans*), y no previtamínica, ya que la hormona realiza sus funciones en esa conformación.³⁶

Modificaciones en el biciclo CD: Se conoce la importancia de la fusión *trans* entre ambos anillos. Los análogos con fusión *cis* presentan una afinidad por el VDR y por la DBP muy baja, así como una notoria disminución de sus efectos calcémicos y diferenciadores. Este efecto es atribuido a la tendencia a isomerizar a la forma previtamínica.³⁷

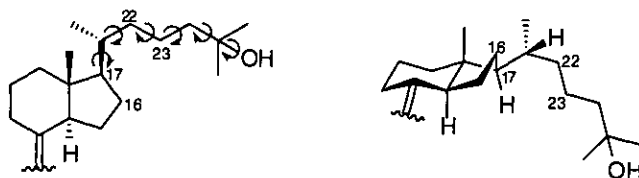
En el entorno del biciclo CD, la posición C-11 ha sido la más estudiada, observándose que el tamaño, la polaridad y la orientación (α ó β) de los sustituyentes en esta posición afectan a la afinidad de enlace por el VDR y las respuestas biológicas. Algunos análogos modificados en esta posición presentan una actividad biológica selectiva, con una proporción en la relación diferenciación—actividad calcémica hasta diez veces superior a la hormona.³⁸ Análogos con un doble enlace entre los carbonos C-16(17) presentan incremento en la inducción de diferenciación celular, manteniendo o disminuyendo los efectos calcémicos.³⁹ También se han estudiado análogos la estructura bicíclica alterada e incluso eliminada⁴⁰ o sin metilo C-18.⁴¹

-
- (36) Bouillon, R.; Sarandeses, L. A.; Allewaert, K.; Zhao, J.; Mascareñas, J. L.; Mouríño, A.; Vrielynck, S.; De Clercq, P.; Vandewalle, M. Biologic activity of dihydroxylated 19-nor-(pre)vitamin D₃. *J. Bone Miner. Res.* 1993, 8, 1009–1015.
- (37) Jeganathan, S.; Johnston, A. D.; Kuenzel, E. A.; Norman, A. W.; Okamura, W. H. Thermal rearrangement of vinylallenes: synthesis of 3-deoxy-1 α -hydroxy-14-epiprevitamin D₃. *J. Org. Chem.* 1984, 49, 2152–2158.
- (38) Bouillon, R. y otros. Structure function analysis of vitamin D analogs with C-ring modifications. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 3044–3051.
- (39) Uskokovic, M. R.; Baggiolini, E.; Shiuey, S. J.; Iacobelli, J.; Hennessy, B.; Kiegiel, J.; Daniewski, A. R.; Pizzolato, G.; Coustney, L. F.; Horst, R. L. The 16-ene-analogs of 1,25-dihydroxycholecalciferol synthesis and biological activity. En *Vitamin D. Gene Regulation, Structure—Function Analysis and Clinical Application*; Norman, A. W.; Bouillon, R.; Thomasset, M., Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1991; p. 139–145.
- (40) (a) De Clercq, P.; D'Halleweyn, C.; Gabriëls, S.; Linclau, B.; Sabbe, K.; Sas, B.; Sebastián, S.; Van Dingenen, H.; Van Haver, D.; Chen, Y.; Ling, S.; Xu, X.; Wu, Y.; Bouillon, R.; Verstuyf, A. Development of CD-ring modified non-steroidal 1 α ,25(OH)₂-vitamin D analogs. En *Vitamin D. Chemistry, Biology and Clinical Applications of the Steroid Hormone*; Norman, A. W.; Bouillon, R.; Thomasset, M., Eds.; Printing & Repro. Univ. of California, Riverside (CA, U.S.A.), 1997; p. 3–10. (b) Zhou, X.; Zhu, G.-D.; Van Haver, D.; Vandewalle, M.; De Clercq, P. J.; Verstuyf, A.; Bouillon, R. Synthesis, Biological Activity, and Conformational Analysis of Four *seco*-D-15,19-bisnor-1 α ,25-Dihydroxyvitamin D Analogues, Diastereomeric at C17 and C20. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 3539–3556. (c) Gabriëls, S.; Van Haver, D.; Vandewalle, M.; De Clercq, P.; Verstuyf, A.; Bouillon, R. Development of analogues of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ with biased side chain orientation: methylated des-C,D-homo analogues. *Chem. Eur. J.* 2001, 7, 520–532.

Modificaciones en la cadena lateral: Más del 80% de las modificaciones estructurales realizadas en análogos del calcitriol se localizan en la cadena lateral. Se ha observado que los cambios estructurales en esta zona afectan directamente a la respuesta biológica. Así, se conoce la importancia de la presencia del hidroxilo en C-25 ó C-24 y la posición que pueda ocupar en el espacio para el enlace con el receptor.⁴² La inversión de configuración en C-20 conlleva la reorientación de la cadena lateral sin cambiar la afinidad por el nVDR, pero incrementando la actividad de diferenciación celular.⁴³ La combinación de varias modificaciones en la cadena lateral hace variar totalmente la actividad biológica.

Estudios de mecánica molecular llevados a cabo por el Prof. Okamura (Riverside, California, EE. UU.) para el calcitriol mostraron 729 posibles isómeros rotacionales (considerando sólo las conformaciones alternadas de energía similar, 3^6 para rotaciones de 120°),⁴⁴ de los cuales 393 confórmeros no superan 4 kcal/mol de diferencia respecto al mínimo global. Para los confórmeros de menor energía, la cadena lateral se aleja del anillo CD y rota por el enlace 22-23, minimizando así las repulsiones entre las posiciones C-16 y C-23.

Esquema 9



Recientemente se ha conseguido cristalizar el complejo formado por el calcitriol y el VDR mutado, encontrando que cuando la vitamina D se une su

-
- (41) Sas, B.; De Clercq, P.; Vandewalle, M. Total synthesis of $1\alpha,25$ -dihydroxy-18-norvitamin D_3 . *Synlett* 1997, 1167–1170.
- (42) Norman, A. W.; Roth, J.; Orci, L. The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors, and biological response (calcium binding proteins) *Endocr. Rev.* 1982, 3, 331–366.
- (43) Binderup, L.; Latini, S.; Binderup, E.; Bretting, C.; Calverley, M.; Hansen, K. 20-Epi-vitamin D_3 analogues: A novel class of potent regulators of cell growth and immune responses. *Biochem. Pharmacol.* 1991, 42, 1569–1575.
- (44) Okamura, W. H.; Palenzuela, J. A.; Plumet, J.; Midland, M. M. Vitamin D: structure-function analyses and the design of analogs. *J. Cell. Biochem.* 1992, 49, 10–18.

receptor nuclear VDR (en una zona denominada dominio de unión al ligando o LBD, *Ligand Binding Domain*), previamente modificado, la cadena lateral de la vitamina D adopta una conformación extendida y el hidroxilo en C-25 en la parte superior del biciclo CD.⁴⁵

1.4.2. Conformación espacial y actividad biológica.

La amplia actividad biológica del calcitriol y los efectos tan variados de sus análogos, ha llevado a pensar que la disposición espacial de los centros activos del calcitriol son fundamentales en la actividad biológica. Por esta razón, en los últimos años se han realizado estudios conformacionales. En este sentido, dos grupos de investigación han estudiado las conformaciones del calcitriol y análogos de calcitriol en su unión con el VDR: la Prof.^a Yamada (Tokio, Japón) ha llevado a cabo estudios teóricos de las conformaciones de la cadena lateral para diferentes análogos,⁴⁶ y el Prof. Moras (Estrasburgo, Francia) ha estudiado las conformaciones de los

Figura 3. Conformación del calcitriol cristalizado unido al LBD mutado.

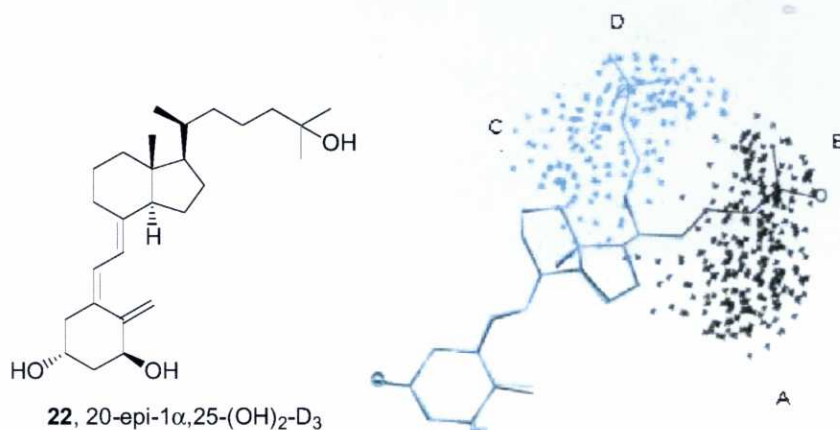


- (45) Rochel, N.; Wurtz, J. M.; Mitschler, A.; Klaholz, B.; Moras, D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol. Cell* **2000**, *5*, 173–179.
- (46) (a) Yamamoto, K.; Ohta, M.; DeLuca, H. F.; Yamada, S. On the side chain conformation of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 responsible for binding to the receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 979–984. (b) Yamamoto, K.; Sun, W. Y.; Ohta, M.; Hamada, K.; DeLuca, H. F.; Yamada, S. Conformationally Restricted Analogs of $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D_3 and Its 20-Epimer: Compounds for Study of the Three-Dimensional Structure of Vitamin D Responsible for Binding to the Receptor. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2727–2737. (c) Yamamoto, K.; Oozumi, H.; Umesonon, K.; Verstuuf, A.; Bouillon, R.; DeLuca, H. F.; Shinki, T.; Suda, T.; Yamada, S. Three-dimensional structure-function relationship of vitamin D: side chain location and various activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1041–1046. (d) Yamada, S.; Yamamoto, K.; Masuno, H.; Choi, M. Three-dimensional structure-function relationship of vitamin D and vitamin D receptor model. *Steroids* **2001**, *66*, 177–187.

complejos receptor-calcitriol (y análogos) en estado cristalino.^{45,47}

Mediante estudios de mecánica molecular, la Prof.^a Yamada analizó las conformaciones más estables del calcitriol y las regiones donde se puede situar el hidroxilo en C-25 del calcitriol y su análogo 20-epi-1 α ,25-(OH)₂-D₃ (**22**, Fig. 4). Estos estudios se representan mediante diagramas de puntos. Cada punto representa la posición del hidroxilo en C-25, después de rotar todos los enlaces y eliminar las conformaciones de alta energía, dejando aquellas que se encuentran dentro de un intervalo de 5 kcal/mol. Yamada definió cuatro regiones principales en las que podría situarse el hidroxilo, **A** y **B** para el calcitriol y **C** y **D** para su análogo 20-epi (**22**).

Figura 4. Diagrama de puntos para el calcitriol (puntos negros, zonas A y B) y su análogo 20-epi (**22**, puntos azules, zonas C y D).

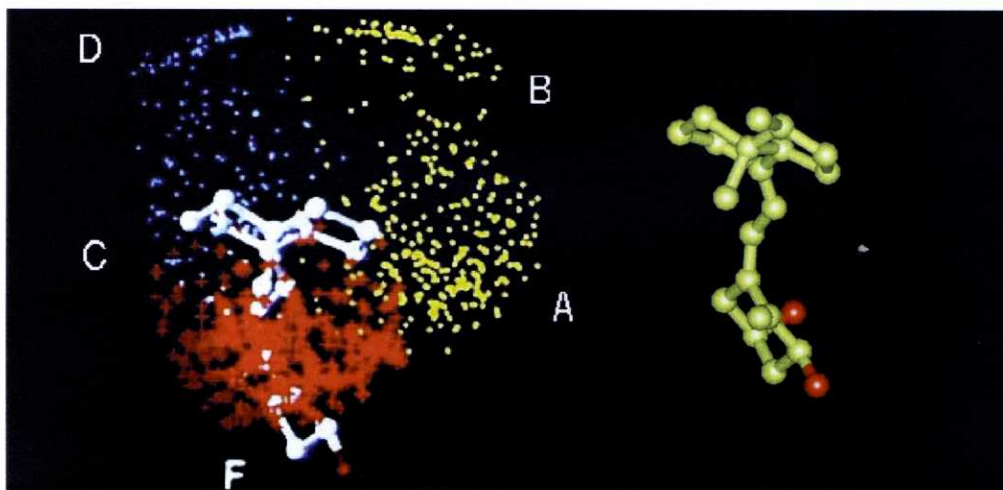


Yamada y col. estudiaron las regiones de localización del hidroxilo en C-25 en más de 40 análogos de calcitriol, comparando la posición de dicho hidroxilo con la capacidad de inducción de diferenciación celular. En la mayoría de los casos se observó una buena correlación de los datos, concluyéndose que existen cinco zonas topológicas de localización del hidroxilo en C-25. Los análogos más activos biológicamente resultaron ser

(47) Tocchini-Valentini, G.; Rochel, N.; Wurtz, J. M.; Mitschler, A.; Moras, D. Crystal structures of the vitamin D receptor complexed to superagonist 20-epi ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *10*, 5491-5496.

aquellos en los que el hidroxilo está situado en las zonas **A** o **C**, o en una nueva zona denominada **F**, situada frente a la zona **C**.

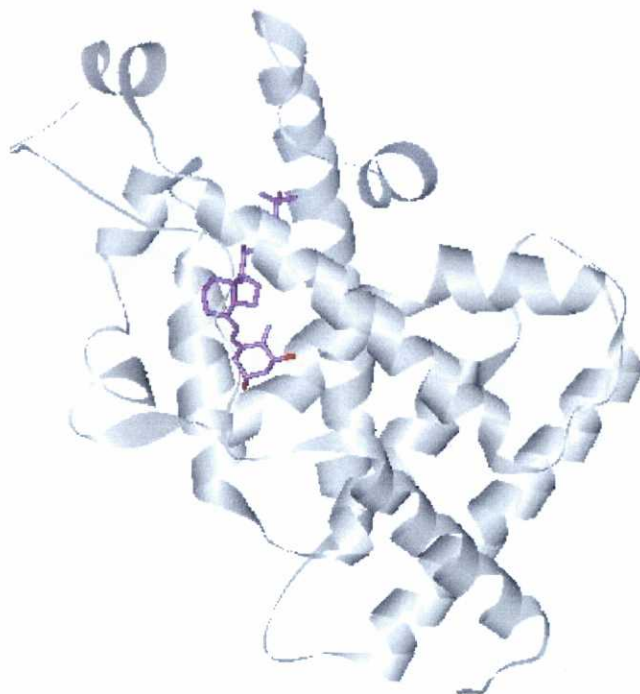
Figura 5: Mapa de puntos para las posibles localizaciones del hidroxilo 25 en el espacio. Las zonas A y B se representan en amarillo, las zonas C y D en azul y la zona F en rojo.



Estos autores concluyen que la afinidad por el receptor varía en el orden $C > A > F > B > D$ y que esta relación podría servir para predecir la afinidad de otros análogos de calcitriol por el receptor VDR por comparación de sus mapas de puntos con las regiones estudiadas.

Recientemente, el Prof. Moras y col. han analizado por difracción de Rayos X un complejo formado por el dominio de unión a la hormona del VDR (LBD) con el calcitriol (Fig. 6) y otros análogos activos. Si se asume que la conformación activa del complejo es la misma que la que se presenta en estado cristalino, se puede concluir que la posición del hidroxilo en C-25 del calcitriol queda situada en la zona **A** de los diagramas de puntos de Yamada.

Figura 6. Conformación del calcitriol en su unión con el LBD mutado obtenida por Rayos X.



Cuando se estudió por difracción de Rayos X el complejo formado por el LBD y la 20-epi-1 α ,25-(OH) $_2$ -D $_3$ (**22**), se comprobó que la conformación era prácticamente similar a la adoptada por la hormona (Fig. 7). Este hecho (la similitud en la conformación de los complejos receptor-ligando, para varios ligandos activos) ya había sido observado en ácidos retinoicos y otros receptores nucleares, que se enlazan a diferentes ligandos en conformaciones similares.

Figura 7. Comparación de estructuras obtenidas por difracción de Rayos X para calcitriol (**10**, superior) y su análogo 20-epi (**22**, inferior) en su unión con el LBD mutado.



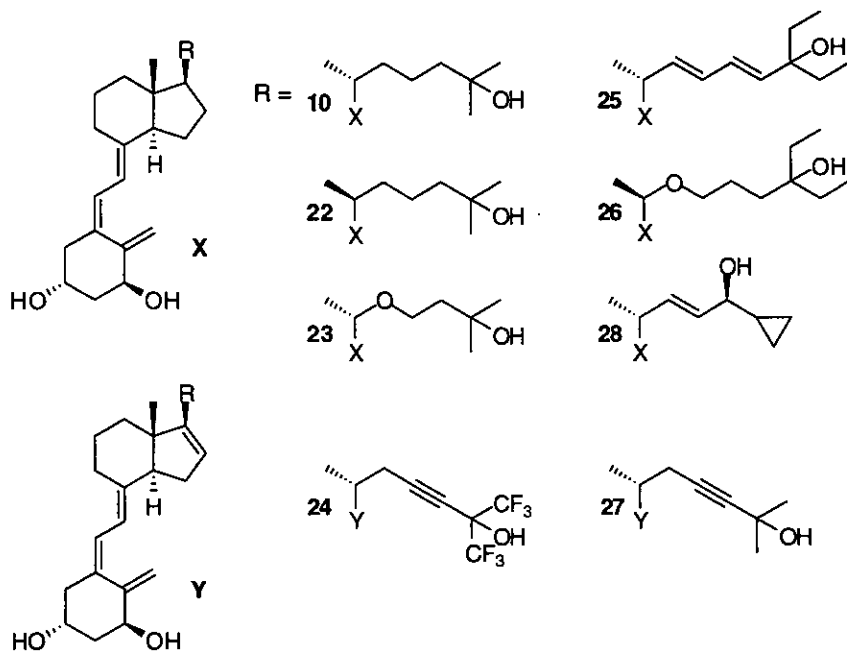
Ante la cuestión de correlacionar y explicar la similar conformación de **10** y **22**, en su unión con el receptor, y la actividad específica de los compuestos 20-epi frente a las acciones biológicas del calcitriol, el Prof. Moras justifica las diferencias de actividad mediante la capacidad de los diferentes compuestos de “entrar” en el sitio activo del LBD. Los ligandos 20-epi dan lugar a nuevos contactos con la proteína, como consecuencia de las diferentes conformaciones adoptadas por la cadena alifática. Asimismo, la velocidad de metabolización del calcitriol y análogos puede influir en la actividad, pues la vida activa de un compuesto puede tener relación con las respuestas biológicas específicas que induce.

1.4.3. Análogos del calcitriol con actividad biológica.

El interés que presenta la actividad biológica del calcitriol ha llevado a sintetizar hasta la fecha más de 500 análogos para estudiar la relación entre las modificaciones estructurales realizadas y los cambios en la actividad biológica derivados de ellas. Como se ha indicado anteriormente, la mayor parte de los análogos han sido modificados en la cadena lateral. De entre todos cabe destacar los 20-epi [como el 20-epi-1 α ,25-(OH)₂-D₃, MC1288, **22**], que muestran una actividad hasta 30 veces superior a la hormona en procesos de diferenciación celular. Otros análogos con actividad biológica interesante son el 22-oxacalcitriol [OCT, **23**],⁴⁸ cuya actividad en la diferenciación celular es 10 veces superior a la hormona. Análogos como **24** [1 α ,25-(OH)₂-16-eno-23-ino-26,27-F₆-D₃],⁴⁹ **25** [24a,26a,27a-trihomo-22,24-dieno-1 α ,25-(OH)₂-D₃]⁵⁰, ó **26** [KH1060, 20-epi-22-oxa-24a,26a,27a-trihomo-1 α ,25-(OH)₂-D₃]⁴⁴ también muestran actividad en el tratamiento del cáncer de mama; el compuesto **27** [1 α ,25-(OH)₂-16-eno-23-ino-D₃]⁴⁹ se ha mostrado útil en el tratamiento de la leucemia y el **28** [MC903, 1 α ,24S-(OH)₂-22-eno-26,27-dehidrovitamina D₃]⁵¹ se ha comercializado con el nombre de Calcipotriol® para el tratamiento tópico de la psoriasis.

-
- (48) (a) Miyamoto, K.; Murayama, E.; Kubodera, N.; Mori, T. Síntesis of 22-oxa and 20-oxa-analogues of vitamin D₃. En *Vitamin D: Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology*. Norman, A. W.; Schaefer, K.; Grigoleit, H. G. Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1988; p. 76–77. (b) Abe, J.; Morikawa, M.; Takita, Y.; Miyamoto, K.; Kaiho, S.; Fukushima, M.; Miyaura, C.; Abe, E.; Suda, T.; Nishii, Y. 1 α ,25-Dihydroxy-22-oxavitamin D₃: a new synthetic analogue of vitamin D₃ having potent differentiation-inducing activity without inducing hypercalcemia *in vivo* and *in vitro*. En *Vitamin D: Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology*. Norman, A. W.; Schaefer, K.; Grigoleit, H. G. Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1988; p. 310–319.
- (49) Zhou, J. Y.; Norman, A. W.; Akashi, M.; Chen, D. L.; Uskokovic, M. R.; Aurrecochea, J. M.; Dauben, W. G.; Okamura, W. H.; Koefler, H. P. Development of a novel 1 α ,25-(OH)₂-D₃ analog with potent ability to induce HL-60 cell differentiation without modulating calcium metabolism. *Blood*, **1991**, *78*, 75–82.
- (50) Bishop, J. E.; Collins, E. D.; Okamura, W. H.; Norman, A. W. Profile of ligand specificity of the vitamin D binding protein for 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs. *J. Bone Miner. Res.* **1994**, *9*, 1277–1288.
- (51) Binderup, L. MC 903: a novel vitamin D analogue with potent effects on cell proliferation and cell differentiation. En *Vitamin D: Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology*. Norman, A. W.; Schaefer, K.; Grigoleit, H. G. Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1988; p. 300–309.

Esquema 10



1.5. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE METABOLITOS Y ANÁLOGOS DE LA VITAMINA D₃.⁵²

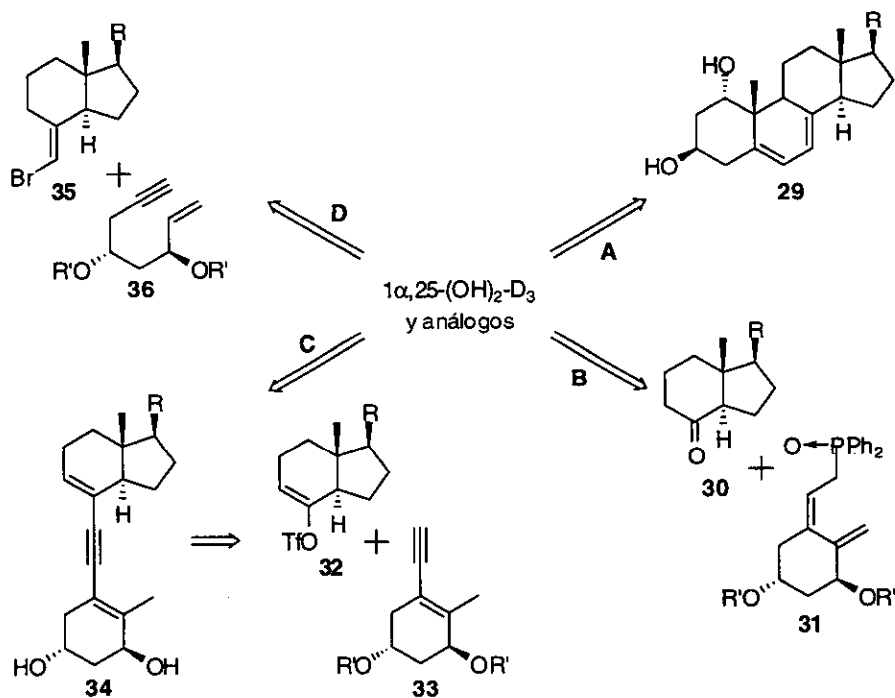
La importancia biológica de la vitamina D₃ y sus metabolitos, así como la necesidad de obtener análogos de forma rápida, selectiva y versátil es fundamental para poder profundizar en los estudios de las relaciones estructura-actividad biológica de dichos compuestos y ensayar su utilidad terapéutica. A continuación veremos los métodos de síntesis más importantes, clasificados por unidades estructurales.

(52) Revisiones sobre las síntesis de metabolitos y análogos de vitamina D: (a) Dickson, I. New approaches to vitamin D. *Nature* 1987, 325, 18. (b) Dai, H.; Posner, G. H. Synthetic approaches to vitamin D. *Synthesis* 1994, 1383-1398. (c) Schmalz, H.-G. Palladium-catalyzed syntheses of vitamin D-active compounds. *Nachr. Chem., Tech. Lab.* 1994, 42, 394-399. (d) Zhu, G.-D.; Okamura, W. H. Synthesis of Vitamin D (Calciferol). *Chem. Rev.* 1995, 95, 1877-1952.

1.5.1. Síntesis del sistema triénico.

La formación del sistema triénico es un paso clave en la preparación de los metabolitos de la vitamina D y análogos, que se puede llevar a cabo siguiendo una estrategia lineal o convergente. A continuación se describen las rutas más importantes.

Esquema 11



La ruta biomimética o clásica (A), es la estrategia lineal de síntesis de análogos y metabolitos de la vitamina D. Está basada en la apertura fotoquímica de un derivado esteroideamente convenientemente funcionalizado (29) y sigue la misma secuencia que la biosíntesis de la vitamina D, con posterior isomerización térmica de la previtamina obtenida. Los principales inconvenientes de este método son la propia linealidad del proceso, el elevado número de etapas y los bajos rendimientos obtenidos en la apertura electrocíclica del ciclo B en análogos 1-hidroxilados.⁵³

(53) (a) Barton, D. H. R.; Hesse, R. H.; Pechet, M. M.; Rizzardo, E. Convenient synthesis of α -hydroxyvitamin D₃. *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 75, 2748–2749. (b) Okabe, M.; Sun, R. C.; Scalone, M.; Jibilian,

La *ruta de Lythgoe (B)*, de entre todas las estrategias convergentes, es la más utilizada. Se basa en una reacción de Wittig-Horner entre el anión del óxido de fosfina **31**, precursor del anillo A, y una cetona del tipo **30** que contiene el biciclo CD y la cadena lateral previamente funcionalizada.⁵⁴ Esta es la metodología empleada para la síntesis del sistema triénico de análogos de calcitriol y metabolitos de la vitamina D₃ objeto de este trabajo de Tesis Doctoral.

La *ruta dienínica (C)* parte de un compuesto dienínico y se basa en la preparación del sistema previtamínico a partir de un compuesto dienínico mediante hidrogenación parcial, seguida de isomerización térmica para obtener el correspondiente análogo de la vitamina.⁵⁵ Esta ruta fue inicialmente desarrollada por el Prof. Lythgoe y posteriormente el Prof. Mouriño de la Universidad de Santiago ha descrito una nueva aproximación a los dieninos, donde el paso clave es un acoplamiento catalizado por paladio entre un triflato vinílico correspondiente al biciclo CD y cadena lateral (**32**), y un enino precursor del anillo A (**33**).

Por último, cabe destacar la *ruta de Trost (D)*.⁵⁶ Es la más reciente de las estrategias de formación del sistema triénico y se basa en el acoplamiento

C. H.; Hutchings, S. D. Synthesis of 25-Hydroxycholecalciferol-16-en-23-ynol: A Potential Antipsoriatic Agent. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 767–771.

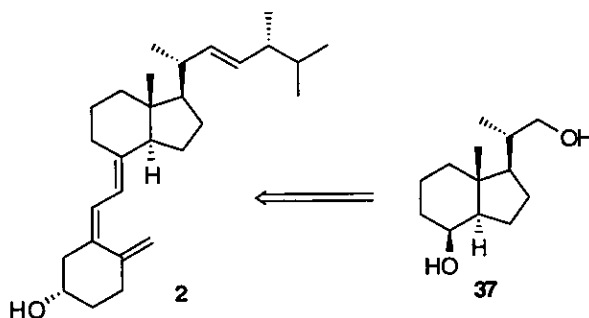
- (54) (a) Lythgoe, B.; Moran, T. A.; Namburidy, M. E. N.; Ruston, S.; Tideswell, J. T.; Wright, P. W. Allylic phosphines oxides as precursors of dienes of defined geometry. Synthesis of 3-deoxyvitamin D₂. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 3863–3866. (b) Lythgoe, B.; Moran, T. A.; Namburidy, M. E. N.; Tideswell, J. T.; Wright, P. W. Calciferol and its relatives. Part 22. A direct total synthesis of vitamin D₂ and vitamin D₃. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1978**, 590–595. (c) Toh, H. T.; Okamura, W. H. Studies on vitamin D (calciferol) and its analogs. 25. Studies on a convergent route to side-chain analogues of vitamin D: 25-hydroxy-23-oxavitamin D₃. *J. Org. Chem.* **1983**, *42*, 1414–1417. (d) Baggolini, E. G.; Iacobelli, J. A.; Hennessy, B. M.; Batcho, A. D.; Sereno, J. F.; Uskokovic, M. R. Stereocontrolled total synthesis of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol and 1 α ,25-dihydroxyergocalciferol. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3098–3108. (e) Stork, G.; Hutchinson, D.; Okabe, M.; Parker, D.; Ra, C.; Ribèreau, F.; Suzuki, T.; Zebovitz, T. A. *Pure Appl. Chem.* **1992**, *64*, 1809.
- (55) (a) Harrison, R. G.; Lythgoe, B.; Wright, P. W. Calciferol and its relatives. XVIII. Total synthesis of 1 α -hydroxy vitamin D₃. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 2654–2657. (b) Castedo, L.; Mouriño, A.; Sarandeses, L. A. Palladium-Catalyzed Synthesis of Dienynes to Vitamin D From Enol Triflates. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1523–1526. (c) Castedo, L.; Mascareñas, J. L.; Mouriño, A.; Sarandeses, L. A. Palladium-catalyzed synthesis of dienynes related to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1203–1206. (d) Mascareñas, J. L.; Sarandeses, L. A.; Castedo, L.; Mouriño, A. Palladium-catalyzed coupling of vinyl triflates with enynes and its application to the synthesis of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 3485–3498.
- (56) (a) Trost, B. M.; Dumas, J. New strategy for the total synthesis of 1 α -hydroxyvitamin D derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1924–1925. (b) Trost, B. M.; Dumas, J.; Villa, M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via palladium-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836–9845.

catalizado por paladio entre un bromuro vinílico, portador del fragmento CD-cadena lateral (35), y un enino acíclico, precursor del anillo A (36). La ruta permite formar el sistema triénico y el anillo A en una misma etapa con buenos rendimientos, pero la necesidad de utilizar temperaturas elevadas limita su uso a la hora de preparar análogos de la vitamina D sensibles al calor y cuyo equilibrio vitamina-previtamina esté desplazado hacia esta última.

1.5.2. Síntesis del bicyclo CD y del anillo A.

El bicyclo CD es quizás el fragmento más difícil de sintetizar de la molécula de vitamina D₃ y análogos. Ello es debido a varios problemas: la fusión *trans*-hidrindánica, termodinámicamente menos estable que la *cis*; la configuración relativa en C-20, la estereoquímica en C-17 y la necesidad de una funcionalidad adecuada en C-8 para permitir el acoplamiento del sistema triénico. Estos factores asociados a la síntesis conllevan un elevado número de etapas y, aunque hay algunas síntesis totales descritas para este fragmento,⁵⁷ en general las diferentes síntesis de análogos de vitamina D parten de un bicyclo CD esteroidal *trans*-hidrindánico. Uno de los bicyclos CD más empleados es el diol de Inhoffen-Lythgoe (37), que puede ser obtenido por degradación oxidativa de esteroides o de vitamina D₂ (2).⁵⁸

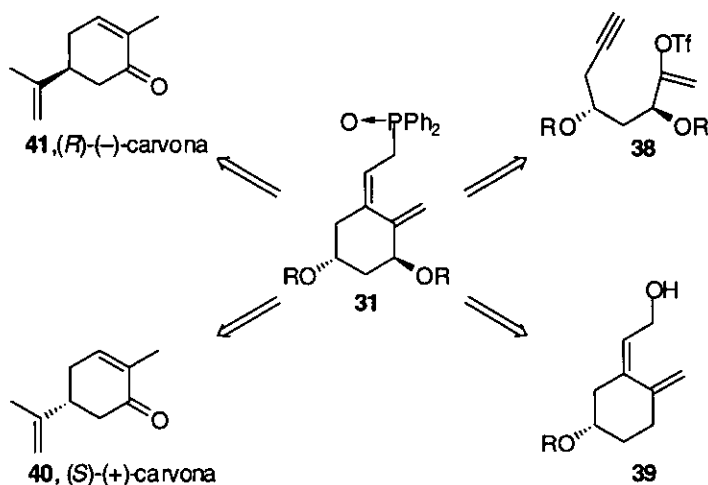
Esquema 12



- (57) Jankowski, P.; Marczak, S.; Wicha, J. Methods for the construction of *trans*-hydrindane rings and their origins in steroid chemistry. Vitamin D total synthesis. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 12071–12150.
- (58) Sardina, F. J.; Mouriño, A.; Castedo, L. Studies on the synthesis of side-chain hydroxylated metabolites of vitamin D. 2. Stereocontrolled synthesis of 25-hydroxyvitamin D₂. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1264–1269.

El anillo A de los metabolitos de la vitamina D₃ y análogos se puede incorporar de formas diferentes, según la ruta de formación del sistema triénico. Como se indicó en el anterior apartado, la ruta de Lythgoe (B) es quizás la más utilizada y emplea como portador del anillo A un óxido de fosfina para el que han sido descritas varias rutas. A continuación se mencionan las más relevantes.

Esquema 13



El Prof. Lythgoe⁵⁹ en 1974 y posteriormente el Prof. Okamura^{54c} en 1983 publicaron la obtención del óxido de fosfina sin el hidroxilo en C-1 por degradación de la vitamina D₃ ó la D₂. Esta aproximación permite obtener por ruptura oxidativa del sistema triénico el fragmento del bicyclo CD y un alcohol correspondiente al anillo A de la vitamina que posteriormente puede ser transformado en el óxido de fosfina con el hidroxilo 1 α (31, 9 etapas, 10%) o sin él (39, 2 etapas, 47%).

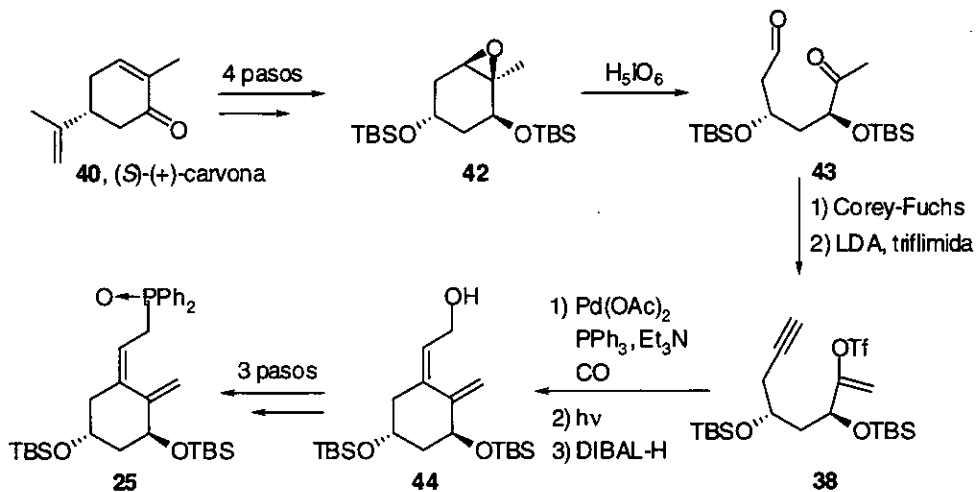
En 1986 el grupo del Dr. Uskokovic (Laboratorios Hoffmann-La Roche, New Jersey, EE. UU.) preparó el óxido de fosfina 1 α -hidroxilado 31 a partir de la (S)-(+)-carvona (40) en 14 etapas (20%).^{54d} Este óxido de fosfina ha sido

(59) Frosch, J. V.; Harrison, I. T.; Lythgoe, B.; Saksena, A. K. Calciferol and its relatives: Part XVII. Ring A components for synthetic work on vitamin D₃ and on model compounds. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1974, 2005–2009.

el objetivo de numerosas rutas sintéticas.⁶⁰ Entre ellas, la que ha sido utilizada en este trabajo de Tesis Doctoral para la preparación de los precursores del anillo A 1 α -hidroxilado de análogos de calcitriol, fue desarrollada en el grupo del Prof. Mouriño partiendo de la (S)-(+)-carvona (esquema 14).⁶¹ La apertura de ciclo del epóxido **42** por ruptura oxidativa condujo a un cetoaldehído acíclico, que después de reacción de Corey-Fuchs y posterior tratamiento con LDA y un agente triflante proporcionó un triflato vinílico acíclico (**38**). Ciclación intramolecular catalizada por paladio, para la construcción del sistema diénico conjugado, reacción fotoquímica y reducción rindieron el alcohol **44** que es un precursor óxido de fosfina **31**. Los rendimientos globales son similares a los obtenidos por el grupo de Hoffmann-La Roche (14 etapas, 21%).

-
- (60) (a) Posner, G. H.; Kinter, C. M. Asymmetric total synthesis of an A-ring precursor to hormonally active 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3967–3969. (b) Mascareñas, J. L.; García, A. M.; Castedo, L.; Mouriño, A. A short, efficient route to 1-hydroxylated vitamin D ring A fragments. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4365–4368. (c) Nagasawa, K.; Ishihara, H.; Zako, Y.; Shimizu, I. An efficient asymmetric synthesis of 1 α ,25-(OH)₂ vitamin D₃ A-ring synthon. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2523–2529. (d) De Schrijver, J.; De Clercq, P. J. A novel synthesis of an A-ring precursor to 1 α -hydroxyvitamin D. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4369–4372. (e) Posner, G. H.; Eydoux, F.; Lee, J. K.; Bull, D. S. Binaphthol-titanium-promoted, highly enantiocontrolled, Diels-Alder cycloadditions of electronically matched 2-pyrones and vinyl ethers: streamlined asymmetric synthesis of an A-ring precursor to physiologically active 1 α -hydroxyvitamin D₃ steroids. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7541–7544. (f) Anné, S.; Yong, W.; Vandewalle, M. Enantioselective syntheses of key A-ring precursors of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and analogues. *Synlett* **1999**, 1435–1437. (g) Koiwa, M.; Hareau, G. P. J.; Sato, F. An efficient enantioselective synthesis of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ A-ring synthon. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2389–2390. (h) Hiyamizu, H.; Ooi, H.; Inomoto, Y.; Esumi, T.; Iwabuchi, Y.; Hatakeyama, S. A concise enantioselective synthesis of a key A-ring synthon for 1 α -hydroxyvitamin D₃ Compounds. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 473–475.
- (61) Mouriño, A.; Torneiro, M.; Vitale, C.; Fernández, S.; Pérez-Sestelo, J.; Anné, S.; Gregorio, C. Efficient and versatile synthesis of A-ring precursors of 1 α ,25-dihydroxy-vitamin D₃ and analogs. Application to the synthesis of Lythgoe-Roche phosphine oxide. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4713–4716.

Esquema 14

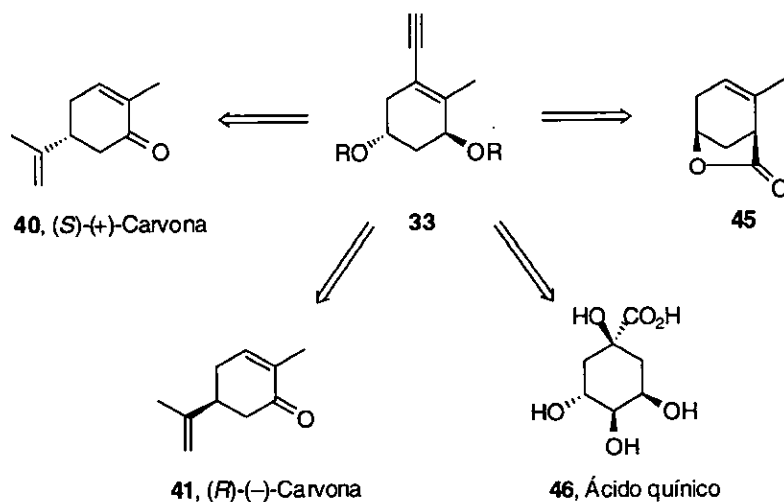


Se han descrito varias rutas de síntesis del enino **33** empleado en la ruta dienínica para la construcción del sistema triénico (C, esquema 11). Generalmente, en ellas se parte de (S)-(+)- ó (R)-(-)-carvona (**40** ó **41**), ácido quínico (**46**) o de la lactona **45** (esquema 15).^{54c-d,62} Esta ruta se ha mostrado como una de las rutas convergentes más importantes de síntesis de

- (62) (a) Harrison, R. G.; Lythgoe, B.; Wright, P. W. Total synthesis of 1α -hydroxy-vitamin D₃. *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3649–3652. (b) Kocienski, P. J.; Lythgoe, B.; Roberts, D. A. Calciferol and its relatives. Part 26. A conversion of cholesterol into 8-hydroxymethyl-des-A,B-cholest-8-ene. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 897–901. (c) Desmaele, D.; Tanier, S. Nouvelle synthèse du cycle A du 1S-hydroxycholecalciferol a partir de l'acide quínique. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4941–4914. (d) Baggiolini, E. G.; Hennessy, B. M.; Iacobelli, J. A.; Uskokovic, M. R. Stereospecific synthesis of Lythgoe's ring A aldehyde for the preparation of 1α -hydroxylated tachysterols and calciferols. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2095–2098. (e) Castedo, L.; Mascareñas, J. L.; Mourino, A.. Improved synthesis of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D A synthons. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2099–2102. (f) Aurrecoechea, J. M.; Okamura, W. H. A short, enantiospecific synthesis of the 1α -hydroxyvitamin D enyne A-ring synthon. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4947–4950. (g) Okamura, W. H.; Aurrecoechea, J. M.; Gibbs, R. A.; Norman, A. W. Studies of vitamin D (calciferol) and its analogs. 35. Synthesis and biological activity of 9,11-dehydrovitamin D₃ analogs: stereoselective preparation of 6β -vitamin D vinylallenes and a concise enynol synthesis for preparing the A-ring. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4072–4083. (h) Nagasawa, K.; Ishihara, H.; Zako, Y.; Shimizu, I. An efficient asymmetric synthesis of $1\alpha,25$ -(OH)₂ vitamin D₃ A-ring synthon. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2523–2529. (i) De Schrijver, J.; De Clercq, P. J. A novel synthesis of an A-ring precursor to 1α -hydroxyvitamin D. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4369–4372. (j) Knoelker, H.-J.; Ecker, A.; Struwe, P.; Steinmeyer, A.; Mueller, G.; Neef, G. Enantioselective synthesis of calcitriol A-ring fragments. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 91–108. (k) Parker, K. A.; Dermatakis, A. Enantioselective Synthesis of the Enyne A-Ring Synthon of the 1α -Hydroxy Vitamins D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6692–6696. (l) Srikrishna, A.; Gharpure, S. J.; Kumar, P. P. A simple, enantiospecific approach to both enantiomers of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ A-ring precursors from R-carvone. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3177–3180.

metabolitos y análogos de vitamina D, por su convergencia y posibilidad de introducción de modificaciones en el anillo A, biciclo CD y cadena lateral.

Esquema 15



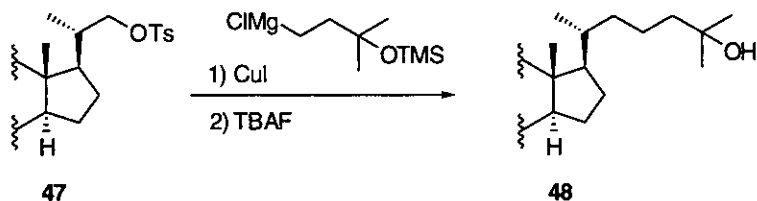
1.5.3. Síntesis de la cadena lateral.

Como ya se ha comentado anteriormente, más del 80% de los análogos de vitamina D₃ sintetizados hasta la fecha están modificados en la cadena lateral. La cantidad y diversidad de los cambios, ha implicado el desarrollo de numerosas rutas sintéticas. De entre todas ellas, resumimos ahora algunas de las síntesis más representativas para la obtención de cadenas laterales 25-hidroxiladas.

Uno de los métodos más directos, y más empleados, para la construcción de cadenas laterales 25-hidroxiladas consiste en el ataque nucleofílico de organometálicos de Li, Na o Mg a tosilatos o yoduros. Probablemente, la ruta más corta sea aquella en la que se produce el acoplamiento directo de un tosilato (47, esquema 16) con un reactivo de Grignard, en presencia de CuI, en buen rendimiento.⁶³

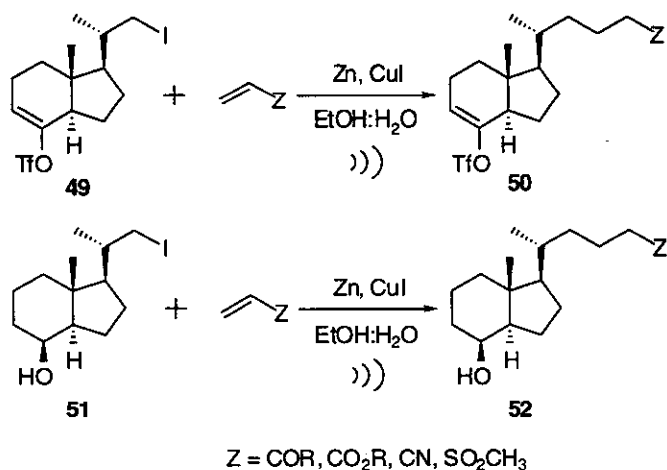
(63) Schönecker, B.; Prousa, R.; Schrötter, E.; Schick, H.; Droescher, P.; Fischer, R.; Walther, D.; Reichenbacher, M.; Gliessing, S. En *Vitamin D. Gene Regulation, Structure-Function Analysis and Clinical Application*; Norman, A. W.; Bouillon, R.; Thomasset, M., Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, 1991, 212.

Esquema 16



El Prof. Mouriño y col. desarrollaron hace años un método para sintetizar cadenas laterales funcionalizadas en C-25 basado en la adición conjugada de un yoduro a olefinas deficientes en electrones en presencia de ultrasonidos (7 pasos, 41%). Este método, que entre otras ventajas presenta su gran versatilidad y la suavidad de sus condiciones, es compatible con la presencia de hidroxilos libres y otros grupos funcionales (esquema 17).^{55c-d,64}

Esquema 17

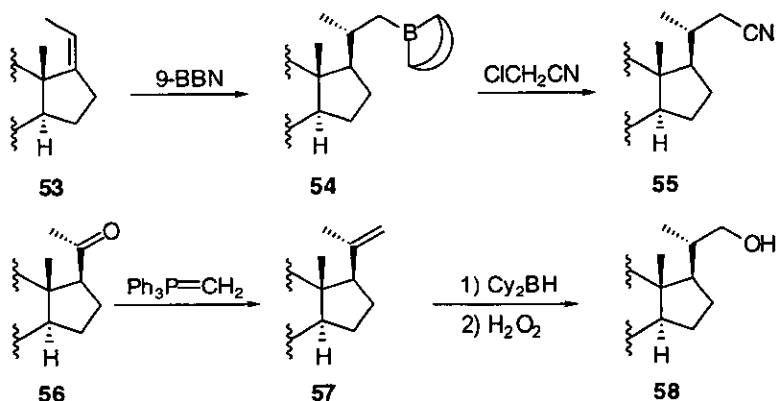


La cadena lateral también se puede construir mediante una secuencia de hidrobromación/oxidación empleando otros precursores que contengan el

- (64) (a) Mascareñas, J. L.; Pérez-Sestelo, J.; Castedo, L.; Mouriño, A. A short, flexible route to vitamin D metabolites and their side chain analogs. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2813–2816. (b) Pérez-Sestelo, J.; Mascareñas, J. L.; Castedo, L.; Mouriño, A. Ultrasonically induced conjugate addition of iodides to electron-deficient olefins and its application to the synthesis of side-chain analogs of the hormone 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 118–123. (c) Pérez-Sestelo, J.; Mascareñas, J. L.; Castedo, L.; Mouriño, A. A short, flexible approach to vitamin D₃ analogs with modified side chains. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 275–278.

biciclo CD. Partiendo de **53**, el tratamiento con 9-BBN proporcionó estereoselectivamente el borano **54** que se transformó en **55** después de reacción con cloroacetonitrilo. Este compuesto puede convertirse fácilmente en la cadena lateral de las vitaminas (6 pasos, 58%).⁶⁵ La química de los boranos también sirvió para preparar el precursor de la cadena lateral/biciclo-CD **58** a partir del alqueno **57**.⁶⁶

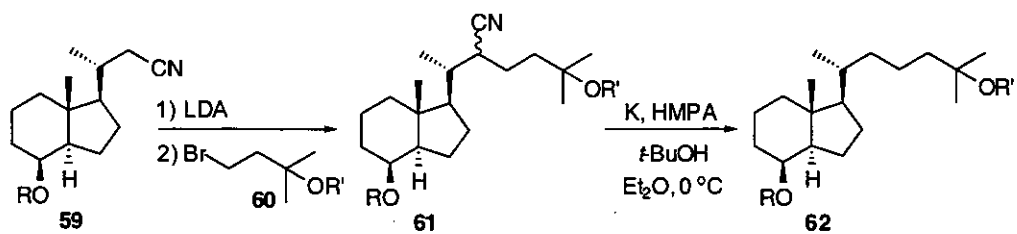
Esquema 18



Otro método para la construcción de la cadena lateral 25-hidroxilada, se basa en la adición de un nitrilo (**59**, esquema 19), que contiene el biciclo CD de las vitaminas, sobre un bromuro que contenga la cadena lateral (**60**).⁶⁷ El nitrilo es tratado con LDA para formar un anión en α , que reacciona con el bromuro obteniéndose el producto de alquilación (**61**). El posterior tratamiento de **61** con una mezcla de K/HMPA, en presencia de *t*-BuOH, permite la eliminación del grupo nitrilo.

- (65) (a) Midland, M. M.; Kwon, Y. C. Stereocontrolled synthesis of a steroid side chain. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 229–230. (b) Midland, M. M.; Kwon, Y. C. Stereocontrolled synthesis of steroid side chains via organoboranes. Stereospecific synthesis of 20*R*- and 20*S*-25-hydroxycholesterol. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 2077–2080.
- (66) (a) Midland, M. M.; Kwon, Y. C. Stereochemistry of hydroboration of α -chiral olefins and reduction of α -chiral ketones. An unusual anti-Cram selectivity with dialkylboranes. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3725–3727. (b) Sas, B.; De Clercq, P.; Vandewalle, M. Total synthesis of 1 α ,25-dihydroxy-18-norvitamin D₃. *Synlett* **1997**, 1167–1170.
- (67) Fall, Y.; Torneiro, M.; Castedo, L.; Mourifo, A. A nitrile approach to the synthesis of the side chain of vitamin D metabolites and analogs. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6683–6686.

Esquema 19



2

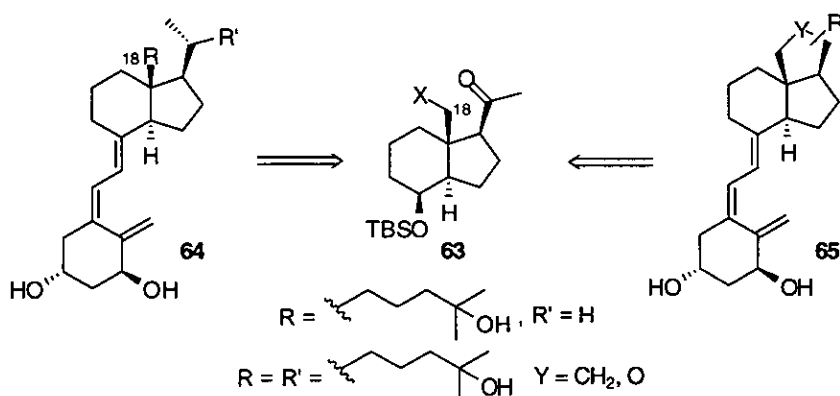
OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

La importante actividad biológica de la vitamina D_3 , metabolitos y análogos ha motivado el desarrollo de diferentes rutas de síntesis. En la actualidad esta búsqueda se ha centrado no sólo en la síntesis de metabolitos activos, sino también en la de análogos que posean actividad selectiva en procesos de diferenciación y proliferación celular. Por estas razones, el presente trabajo de Tesis Doctoral se ha dirigido hacia dos objetivos principales:

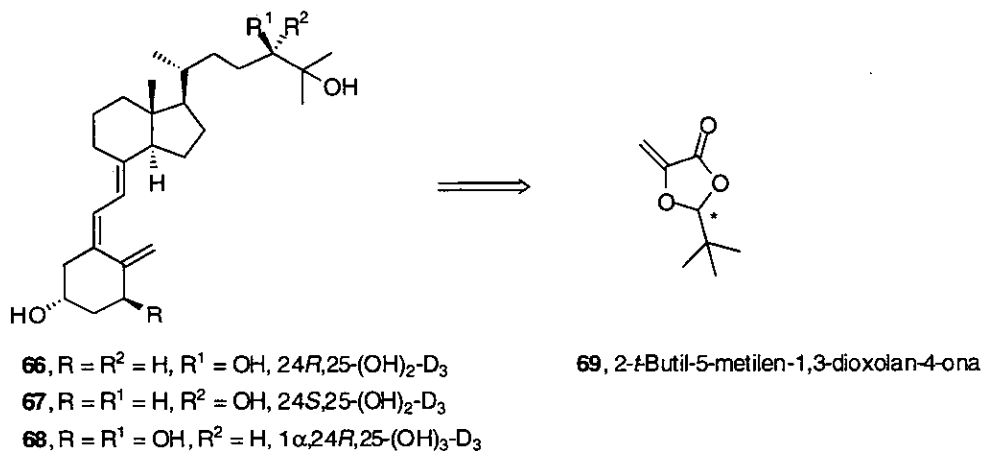
- (1) *Síntesis de análogos de calcitriol modificados en la posición C-18*. Esta posición, en el entorno del biciclo CD no ha sido explorada con profundidad debido a su difícil funcionalización. Recientemente se ha descubierto que los análogos modificados en este entorno pueden ser de gran interés. Para su síntesis nos proponemos la funcionalización fotoquímica remota del metilo C-18 (**63**, esquema 20), y como consecuencia la síntesis de dos tipos de análogos modificados en C-18: (a) aquellos que incorporan una cadena hidroxílica análoga a la cadena natural del calcitriol en C-18 (**64**) y (b) análogos con rotación restringida en la cadena lateral mediante la construcción de un ciclo adicional entre las posiciones C-18 y C-21 (**65**). Estos serían de interés para estudiar la relación entre la disposición espacial del hidroxilo en C-25 y la actividad biológica.

Esquema 20



(2) *Síntesis de metabolitos de vitamina D₃ hidroxilados en la posición C-24.* Además del metabolito calcitriol [$1\alpha,25-(OH)_2$ -vitamina D₃], el $24R,25-(OH)_2$ -vitamina D₃ es un metabolito activo de la vitamina D₃ cuya actividad biológica no es conocida totalmente. En la actualidad las rutas de síntesis requieren de un gran número de etapas y son de bajo rendimiento. Por ello su disponibilidad es limitada y su precio elevado (>75.000 ptas/ μ g ó 450,00 €/ μ g). En este trabajo de tesis, nos planteamos desarrollar un nuevo método de síntesis de este metabolito. En nuestro grupo de investigación hemos aplicado a la síntesis de calcitriol y derivados una reacción adición conjugada de yoduros inducida por ultrasonidos sobre compuestos α,β -insaturados. Ahora nos proponemos la síntesis del metabolito el $24R,25-(OH)_2$ -vitamina D₃, mediante el uso de un sistema carbonilo α,β -insaturado quiral, las dioxolanonas de Seebach (**69**), sistemas de gran utilidad en síntesis asimétrica (esquema 21).

Esquema 21



3

SINTESIS DE ANÁLOGOS DE CALCITRIOL MODIFICADOS EN C-18

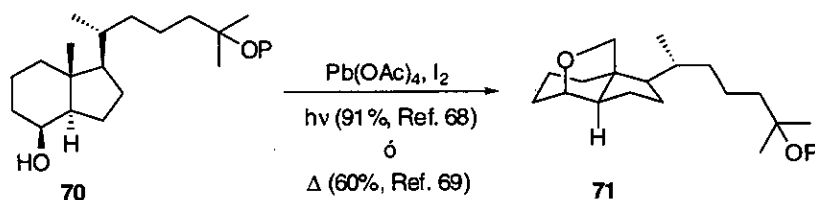
3. SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE CALCITRIOL MODIFICADOS EN C-18

El primer objetivo del presente trabajo de investigación fue la síntesis de análogos de calcitriol modificados en la posición C-18, posición que corresponde al metilo axial unido al biciclo CD. Hasta la fecha, esta posición ha sido funcionalizada mediante la incorporación de un hidroxilo que ha permitido la síntesis de 18-oxaderivados de calcitriol.

3.1. ANTECEDENTES

En 1992, de forma independiente y prácticamente simultánea, los grupos del Prof. Okamura en Riverside (California, EE. UU.)⁶⁸ y del Prof. Mouriño en Santiago de Compostela,⁶⁹ llevaron a cabo la funcionalización del metilo C-18 mediante oxidación radicalaria con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, dirigida por el hidroxilo 8β para formar un éter cíclico (**71**, esquema 22).

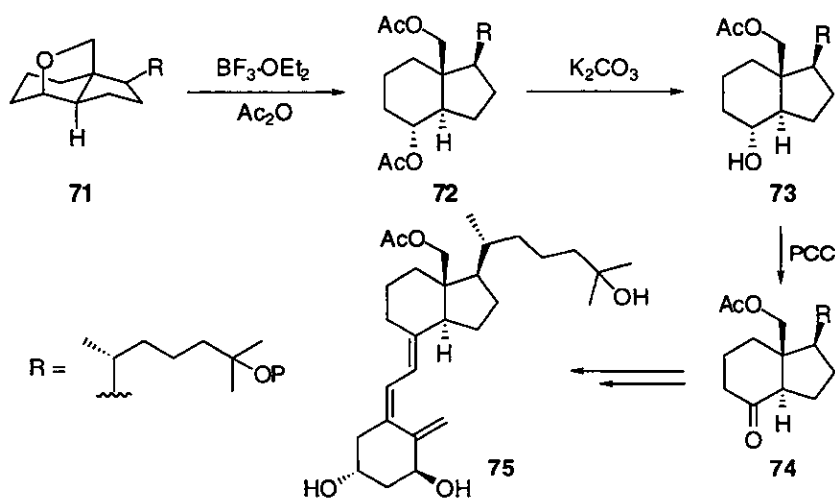
Esquema 22



- (68) Maynard, D. F.; Norman, A. W.; Okamura, W. H. Studies of vitamin D (calciferol) and its analogs. 41. 18-Substituted derivatives of vitamin D: 18-acetoxy-1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and related analogs. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3214–3217.
- (69) (a) Vallés, M. J.; Castedo, L.; Mouriño, A. Functionalization of vitamin D metabolites at C-18 and application to the synthesis of 1 α ,18,25-trihydroxyvitamin D₃ and 18,25-dihydroxyvitamin D₃. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *11*, 1503–1506. (b) Nilsson, K.; Vallés, M. J.; Castedo, L.; Mouriño, A.; Haikes, S. J.; van de Velde, J. P. Synthesis and biological evaluation of 18-substituted analogs of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1855–1858.

La ruta sintética desarrollada por el Prof. Okamura, utiliza una oxidación radicalaria fotoquímica de C-18 para obtener el éter cíclico **71** (esquema 23) seguida de la apertura del éter por tratamiento con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en Ac_2O . De esta forma se obtiene un acetato en la posición C-18 (**72**). El tratamiento con K_2CO_3 condujo a la hidrólisis regioselectiva del acetato secundario (**73**), poniendo de manifiesto la baja reactividad de los sustituyentes en la posición C-18, probablemente debido a factores estéricos. La oxidación de **73**, y posterior reacción de Wittig-Horner con el óxido de fosfina precursor de anillo A 1α -hidroxilado (**31**), condujo al 18-acetoxicalcitrilol **75**.

Esquema 23

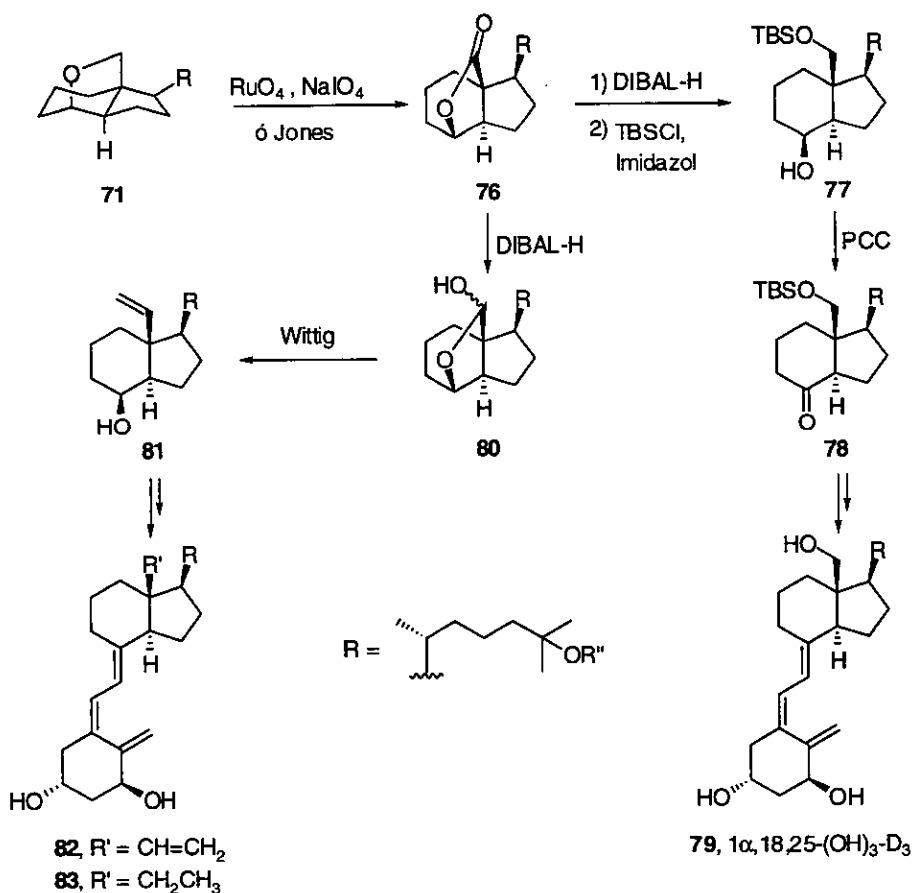


En la ruta desarrollada por el Prof. Mouriño (esquema 24), el éter cíclico **71** se obtuvo mediante oxidación radicalaria térmica y a continuación se oxidó para obtener la lactona **76**. Esta lactona se redujo con DIBAL y el diol resultante se protegió selectivamente para dar **77**. El alcohol **77** se oxidó a la cetona **78** con PDC, que se transformó en el análogo de calcitriol $1\alpha,18,25$ -trihidroxivitamina D_3 (**79**) utilizando la ruta dienínica.

Alternativamente, la reducción parcial de la lactona **76** condujo al hemiacetal **80** que permitió la inserción de un grupo vinílico en la posición C-18 mediante reacción de Wittig (**81**). Este grupo también se redujo

mediante hidrogenación. Después de la construcción del sistema triénico se obtuvieron los análogos de calcitriol C-18 metiliden (**82**) y C-18 metil (**83**).

Esquema 24

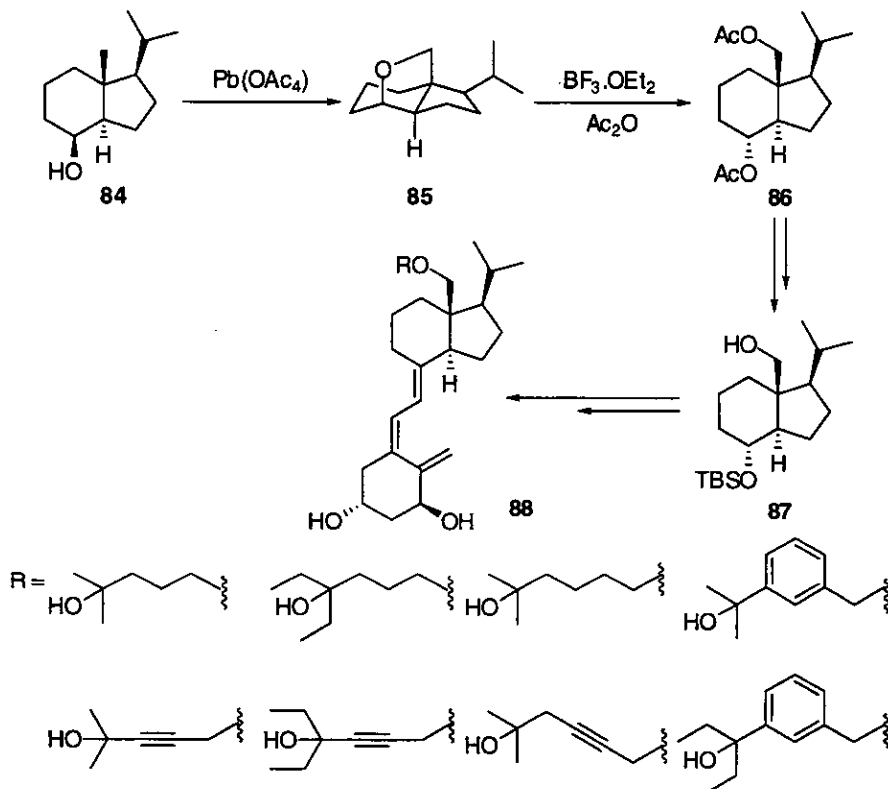


Más recientemente, en la compañía farmacéutica Leo (Dinamarca) se ha preparado, siguiendo las condiciones de Okamura, una familia de C-18 hidroxialquil derivados de calcitriol (**88**, esquema 25).⁷⁰ Estos análogos carecen de la cadena lateral natural 25-hidroxilada del calcitriol, y en su lugar se encuentra un grupo isopropílico. Los autores proponen, de acuerdo con los estudios de la Prof^a. Yamada, que este grupo serviría para

(70) Grue-Sorensen, G.; Mork-Hansen, C. New $1\alpha, 25$ -dihydroxy vitamin D_3 analogues with side chains attached to C-18: synthesis and biological activity. *Bioorg. Med. Chem.* 1998, 6, 2029–2039.

dirigir el hidroxilo de la cadena en C-18 hacia zonas activas de unión con el VDR. Los análogos se obtienen por reacción de Williamson entre el alcohol **87** y bromuros alquílicos.

Esquema 25



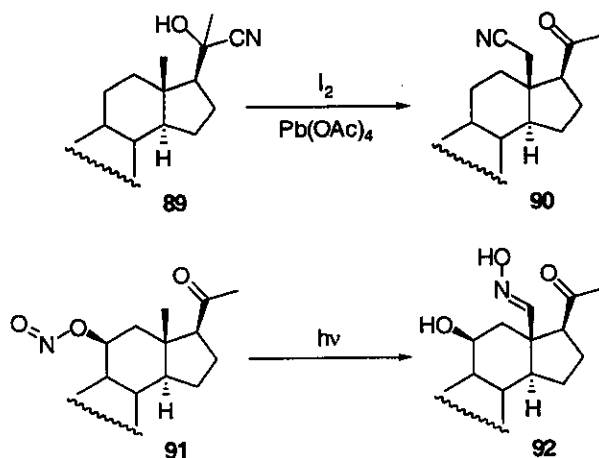
La posición C-18 también ha sido funcionalizada en esteroides utilizando condiciones térmicas, radicalarias o fotoquímicas. Estas reacciones de funcionalización son intramoleculares y requieren la presencia de un grupo activante próximo en el espacio. Las reacciones asistidas intramolecularmente por grupos situados a distancia se denominan funcionalizaciones remotas.

Dos de los primeros ejemplos de funcionalización remota en esteroides son la reacción de Heusler-Kalvoda de cianhidrinas,⁷¹ con el hidroxilo en la

(71) Meystre, C.; Heusler, K.; Kalvoda, J.; Wieland, P.; Anner, G.; Wettstein, A. New substitution reactions in steroids. *Experientia* 1961, 17, 475-480.

posición C-20 como grupo activante, y la reacción de Barton de formación de oximas por fotólisis de nitrosocompuestos,⁷² activada desde la posición C-11.

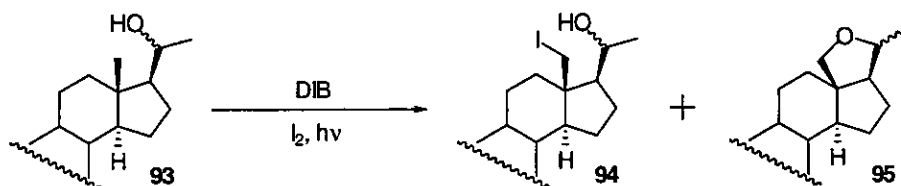
Esquema 26



El metilo C-18 en esteroides también ha sido funcionalizado por el grupo del Dr. Suárez (C.S.I.C., La Laguna, Tenerife) introduciendo un átomo de yodo en esta posición, mediante la asistencia de un hidroxilo en C-20 empleando diacetato de yodobenceno (DIB) y yodo en condiciones fotoquímicas.⁷³ El DIB es un reactivo con gran potencial oxidante ya que permite realizar reacciones perfectamente reproducibles.

- (72) Barton, D. H. R.; Basu, N. K.; Day, M. J.; Hesse, R. H.; Pechet, M. M.; Starratt, A. N. Improved syntheses of aldosterone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, 2243–2251.
- (73) (a) Concepción, J. I.; Francisco, C. G.; Hernández, R.; Salazar, J. A.; Suárez, E. Intramolecular hydrogen abstraction. Iodosobenzene diacetate, an efficient and convenient reagent for alkoxy radical generation. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 1953–1956. (b) de Armas, P.; Concepción, J. I.; Francisco, C. G.; Hernández, R.; Salazar, J. A.; Suárez, E. Intramolecular hydrogen abstraction. Hypervalent organoiodine compounds, convenient reagents for alkoxy radical generation. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 405–411. (c) Boto, A.; Freire, R.; Hernández, R.; Suárez, E. Tandem β -fragmentation-hydrogen abstraction reaction of alkoxy radicals in steroidal systems. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2975–2981.

Esquema 27



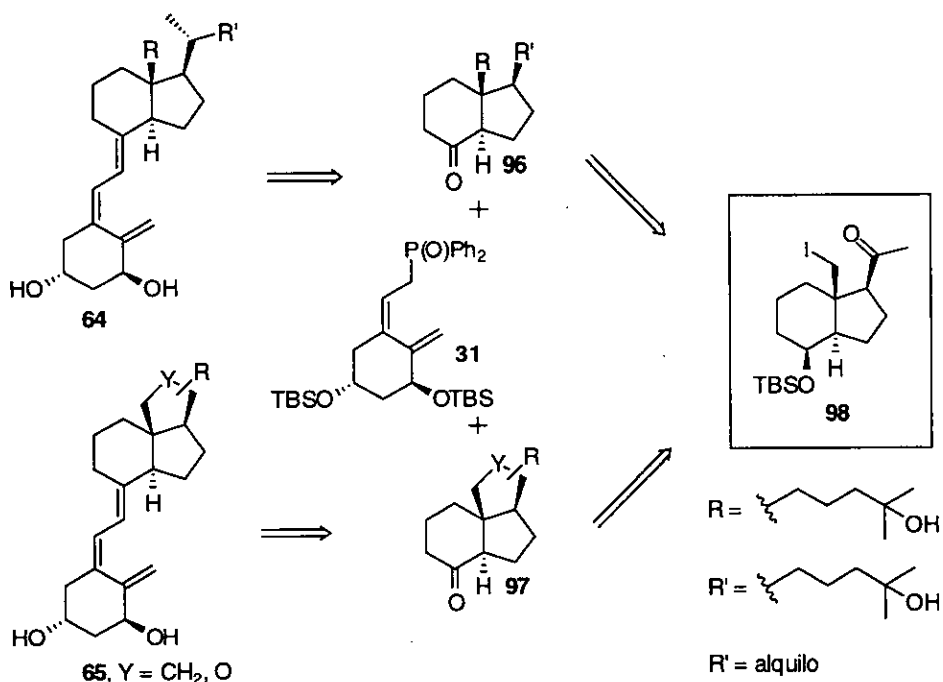
3.2. PLAN DE TRABAJO.

Conociendo estos precedentes, nos planteamos la funcionalización del metilo C-18 mediante la introducción de un átomo de yodo en el bicyclo CD de la vitamina. La incorporación de un átomo de yodo en esa posición nos podría permitir la síntesis de una amplia variedad de análogos modificados en el entorno de la posición C-18.

Inicialmente, nos propusimos como objetivos dos tipos de análogos funcionalizados en C-18: unos que incorporasen una cadena alquílica en C-18 semejante a la cadena natural del calcitriol (64, esquema 28), y otros con un ciclo adicional entre las posiciones C-18 y C-21 (65). Estos últimos tendrían restringidos los grados de libertad en la rotación de la cadena lateral y serían de interés para el estudio de las conformaciones activas de la cadena lateral.

En el esquema 28 se muestra el análisis retrosintético propuesto. El sistema triénico se obtendría por reacción de Wittig-Horner entre la cetona precursora del bicyclo CD (96 ó 97) y el óxido de fosfina α -hidroxilado 31. En ambos casos, las cetonas funcionalizadas conteniendo el bicyclo CD, se prepararían a partir de un intermedio común, la yodocetona 98.

Esquema 28



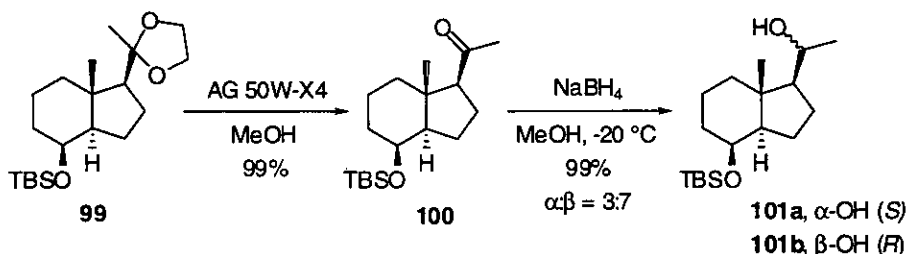
3.3. PREPARACIÓN DE LA YODOCETONA 98.

Para preparar la yodocetona **98** utilizamos como compuesto de partida el cetal **99** (esquema 29). Este compuesto puede obtenerse por degradación de la vitamina en 4 etapas (45% rto. global).⁷⁴ En nuestro caso, fue generosamente cedido por el Prof. Mouriño y preparado en la compañía Solvay Pharmaceuticals B. V. (Weesp, Holanda). El tratamiento del cetal **99** con resina catiónica AG[®] 50W-X4 en metanol desoxigenado proporcionó la cetona **100** de forma cuantitativa. La cetona **100** se redujo con NaBH₄ proporcionando una mezcla de diastereómeros **101b:101a** en una relación 3:7 ($\alpha:\beta$) y un rendimiento del 99%. La estereoquímica de los alcoholes **101a** y **101b** se asignó de acuerdo con precedentes bibliográficos

(74) Fernández, B.; Martínez Pérez, J. A.; Granja, J. R.; Castedo, L.; Mouriño, A. Synthesis of hydrindan derivatives related to vitamin D. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 3173-3178.

sobre la reducción de metilcetonas esteroideas.⁷⁵ El alcohol mayoritario **101b** presenta como señales características en ¹H-RMN un singlete a $\delta = 1.00$ ppm debido al metilo C-18, un doblete a $\delta = 1.12$ ppm ($J = 6.1$ Hz) correspondiente al metilo C-21, y una señal ancha a $\delta = 4.01$ ppm correspondiente al hidrógeno unido a C-8. Para el alcohol minoritario **101a** el metilo C-18 aparece a $\delta = 0.91$ ppm, el metilo C-21 como doblete a $\delta = 1.20$ ppm y, en el caso del hidrógeno unido a C-8, igualmente a $\delta = 4.01$ ppm.

Esquema 29



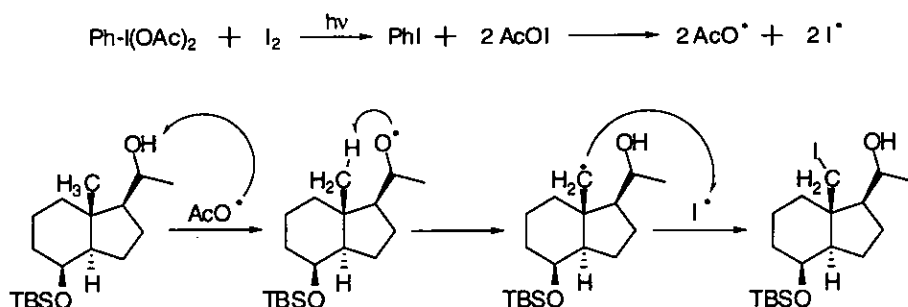
Obtenidos los alcoholes **101a** y **101b**, decidimos ensayar la funcionalización fotoquímica remota de la posición C-18. Para ello, la mezcla de diastereómeros se sometió a las condiciones fotoquímicas de funcionalización del metilo C-18 descritas por Suárez (esquema 31): una disolución de **101a:101b** en ciclohexano con DIB (1.1 equiv.) y I_2 (1 equiv.), se irradió durante 70 min (300 W), observándose la aparición de un nuevo compuesto visible al UV. Este compuesto se aisló en un rendimiento del 53% y se identificó por ¹H-RMN como el yodoalcohol **102**. El espectro de ¹H-RMN del yodoalcohol **102** presenta como principales características la aparición de dos señales a $\delta = 3.1$ y 4.6 ppm (sistema AB, $J = 10.8$ Hz) correspondientes al metileno C-18 al que está unido el átomo de yodo y la consiguiente desaparición del singlete a $\delta = 1.00$ ppm correspondiente al metilo C-18 del alcohol. Mediante un estudio experimental exhaustivo comprobamos que a alta dilución (80–100 mL/mmol) los rendimientos eran mejores, disminuyendo la formación de productos secundarios. Durante el

- (75) (a) Mijares, A.; Cargill, D. I.; Glasel, J. A.; Lieberman, S. Studies on the C-20 epimers of 20-hydroxycholesterol. *J. Org. Chem.* **1967**, *3*, 810–812. (b) Kirk, D. N.; Mudd, A. Stereochemistry of reduction of pregnan-20-ones with alkali metals. *J. Chem. Soc. C* **1969**, 968–974. (c) Wilson, S. R.; Zhao, H.; Dewan, J. Chemistry of the new immunosuppressant KH-1060: new synthons and X-ray evidence for unique side-chain geometry. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *2*, 341–344. (d) Fall, Y. A new approach to the synthesis of the 25-hydroxy-22-oxa-vitamin D_3 side chain. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *27*, 4909–4912.

proceso de optimización, se probaron distintos disolventes, como tetracloruro de carbono y ciclohexano obteniéndose en ambos casos rendimientos similares. Dada la elevada toxicidad del CCl_4 se optó por emplear ciclohexano como disolvente.

El mecanismo propuesto para esta reacción de yodación se expone en el esquema 30: (a) En la reacción fotoquímica de DIB con I_2 se produce hipoyodito de acetilo, que se puede descomponer en radicales yodo y acetilo; (b) el radical acetilo reacciona con el alcohol, conduciendo a un radical alcóxido y ácido acético; (c) el radical alcóxido intercambia intramolecularmente un hidrógeno con un metilo próximo, conduciendo a un radical alquílico y (d) el radical alquílico reacciona con el radical yodo para dar lugar al producto esperado.

Esquema 30

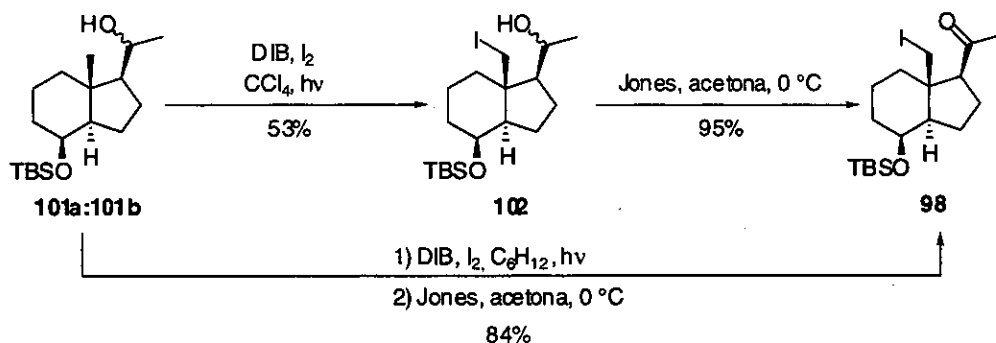


A continuación, el yodoalcohol **102** se oxidó con reactivo de Jones ($\text{CrO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}$)⁷⁶ para obtener la yodocetona **98** con un 95% de rendimiento (esquema 31). La yodocetona se identificó fácilmente por el espectro de $^1\text{H-RMN}$ que muestra la aparición de un singlete a $\delta = 2.28$ ppm correspondiente al metilo C-21. El espectro de IR muestra también la aparición de una banda a 1706 cm^{-1} correspondiente al carbonilo.

Debido a la inestabilidad del yodoalcohol **102** decidimos llevar a cabo la reacción fotoquímica y la oxidación en un único paso, sin aislar el alcohol intermedio, obteniéndose la transformación de **101a:101b** en **98** un rendimiento global del 84%.

(76) Meinwald, J.; Crandall, J.; Hymans, W. E. *Organic Synthesis*; Wiley: New York, 1973; Coll. Vol. V, p. 866.

Esquema 31

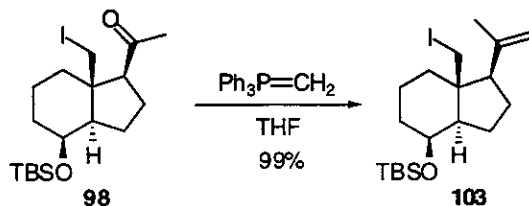


3.4. REACTIVIDAD DE LA YODOCETONA **98**.

Una vez preparada la yodocetona **98** procedimos a estudiar su reactividad con el propósito de utilizarla en la síntesis de análogos de calcitriol. El átomo de yodo en la posición C-18 presenta interesantes posibilidades sintéticas para su transformación en otras funcionalidades: reacciones de sustitución nucleófila, intercambio halógeno-metal, así como reacciones radicalarias o reacciones promovidas por metales de transición (p. e. reacción de Heck).

Inicialmente estudiamos la reactividad de la yodocetona como electrófilo utilizando nucleófilos blandos, como los cupratos, que no se adicionan al grupo carbonilo de la cetona. Para ello, elegimos la adición de cupratos de Gilman sencillos, como Me_2CuLi o $n-Bu_2CuLi$, pero desafortunadamente no se apreció reacción, recuperándose la yodocetona intacta. Probablemente, tiene lugar una reacción ácido-base, debido a los hidrógenos ácidos del carbonilo. Por esta razón nos planteamos la transformación del grupo metilcetona en isopropileno mediante reacción de Wittig.

Esquema 32



El tratamiento de la metilcetona **98** con el iluro de la sal de metiltrifenilfosfonio, generado por tratamiento con *n*-BuLi a 0 °C, dio lugar al yodoalqueno **103** en un 99% de rendimiento. El producto se identificó mediante ¹H-RMN por las señales correspondientes al metilideno en C-20 que aparecen a $\delta = 4.89$ y 4.96 ppm, el sistema AB del metileno C-18, a $\delta = 3.18$ y 4.45 ($J = 10.8$ Hz) y la asignada al metilo C-21 a $\delta = 1.89$ ppm. Su estructura se confirmó por ¹³C-RMN, en el espectro de masas se observa la aparición de un pico en EM a 434 *m/z* coincidente con el ión molecular. Desafortunadamente, la reacción de **103** con el cuprato de metilo, en Et₂O a 0 °C, tampoco condujo en este caso al producto de sustitución nucleófila deseado.

Ante estas experiencias, decidimos explorar la reactividad de la yodocetona como nucleófilo, donde el número de posibilidades es mucho mayor. Para empezar, intentamos un intercambio halógeno-metal con un agente metalante fuerte (organolítico), esperando que esta reacción sea más rápida que la reacción ácido-base. Para esto, pensamos en el tratamiento de la yodocetona **98** con organolíticos a -80 °C y la adición de distintos electrófilos, como halogenuros de alquilo (MeI) o compuestos carbonílicos muy reactivos, como aldehídos (benzaldehído).

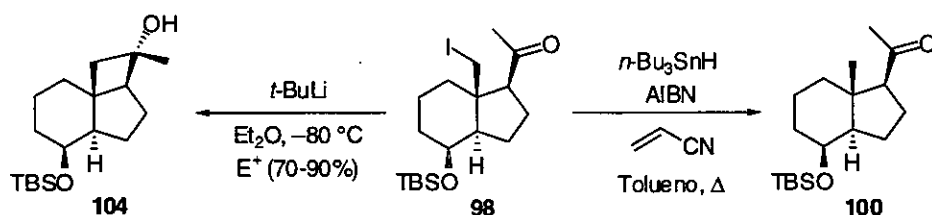
El tratamiento de **98** con *t*-BuLi (1.2 equiv.) a -80 °C seguido de adición de MeI (2.5 equiv.) condujo, sorprendentemente, al ciclobutanol **104** en buen rendimiento (esquema 33). En este caso, observamos que la reacción intramolecular está más favorecida que la intermolecular. La utilización de otros electrófilos como benzaldehído condujo a similares resultados. El ciclobutanol **104** se identificó por ¹H-RMN, donde se observó como pico característico un único singlete a $\delta = 1.36$ ppm correspondiente al metilo C-21, y se corroboró por ¹³C-RMN y EM, por aparición de un pico a 310 *m/z*, coincidente con el ión molecular. La stereoquímica del compuesto **104** se asignó como 20 α (20*S*) por comparación con los datos de ciclobutanoles esteroidales previamente descritos en la bibliografía.⁷⁷ Este compuesto puede ser de interés para la preparación de oxaderivados del calcitriol que, como se mencionó en la introducción, tienen un gran interés

(77) Suginome, H.; Nakayama, Y. Photoinduced molecular transformations. Part 132. A two-step intramolecular transposition of the 17 β -acetyl group of pregnan-20-one to C-18 through the formation of cyclobutanoles by the reaction of the excited carbonyl, followed by a selective β -scission of alkoxy radicals generated from them. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1843-1848.

farmacológico,⁷⁸ aunque nosotros en ese momento decidimos seguir explorando la reactividad de la yodocetona **98**.

La interferencia del grupo metilcetona de **98** en reacciones de intercambio halógeno-metal nos llevó a intentar la misma reacción con el yodoalqueno **103**. En este caso, la adición de *t*-BuLi a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posterior adición de MeI dió lugar al producto de deshalogenación, identificado por su espectro de $^1\text{H-RMN}$ con un singlete a $\delta = 0.81$ ppm asignado al metilo C-18 y dos singletes a $\delta = 4.7$ y 4.86 ppm correspondientes al metilideno en C-20.

Esquema 33



Ante estos resultados decidimos probar la metalación del yoduro en C-18 con metales más blandos, como pueden ser el cinc o el cobre, y también reacciones radicalarias. Estudios iniciales de la reacción de adición conjugada de la yodocetona **98** en condiciones puramente radicalarias, con $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ (1.2 equiv.) y cantidades catalíticas de AIBN, en presencia de acrilonitrilo en exceso condujo mayoritariamente al producto de protonación **100**, si bien las condiciones de reacción no fueron estudiadas con detalle.

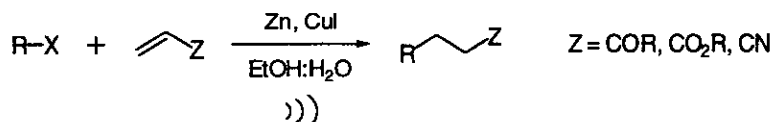
En este momento nos planteamos la utilización de una reacción de adición conjugada muy bien conocida en este grupo y que ya ha sido

(78) Los análogos 22-oxa son de gran interés y alguno se encuentra en fase avanzada de ensayo clínico para el tratamiento de cánceres humanos: (a) Murayama, E.; Miyamoto, K.; Kubodera, N.; Mori, T.; Matsunaga, I. Synthetic studies of vitamin D_3 analogs. VIII. Synthesis of 11-oxavitamin D_3 analogs. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 4410–4413. (b) Oikawa, T.; Yoshida, Y.; Shimamura, M.; Ashino-Fuse, H.; Iwaguchi, T.; Tomimaga, T. Antitumor effect of 22-oxa- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 , a potent angiogenesis inhibitor, on rat mammary tumors induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Anti-Cancer Drugs* **1991**, *2*, 475–480. (c) Abe-Hashimoto, J.; Kikuchi, T.; Matsumoto, T.; Nishii, Y.; Ogata, E.; Ikeda, K. Antitumor effect of 22-oxa-calcitriol, a noncalcemic analog of calcitriol, in athymic mice implanted with human breast carcinoma and its synergism with tamoxifen. *Cancer Res.* **1993**, *53*, 2534–2537.

empleada para la síntesis de análogos de vitamina D₃ y metabolitos, la reacción de adición de halogenuros alquílicos sobre olefinas deficientes en electrones promovida por ultrasonidos con Zn y Cu en medio acuoso. Esta reacción fue desarrollada por el Dr. Luche (Grenoble, Francia) en la década de los 80⁷⁹ y ha sido aplicada por el Prof. Mouriño y miembros de este grupo de investigación a la síntesis de análogos de vitamina D.^{55c-d, 64,80}

En 1985 el grupo del Dr. Luche utilizó los ultrasonidos para promover reacciones de adición 1,2 sobre aldehídos o cetonas α,β -insaturados, en condiciones Barbier con compuestos organometálicos de Zn en medio acuoso. Cuando llevó a cabo esta reacción en presencia de CuI observó que los productos obtenidos eran los correspondientes a una adición conjugada-1,4.

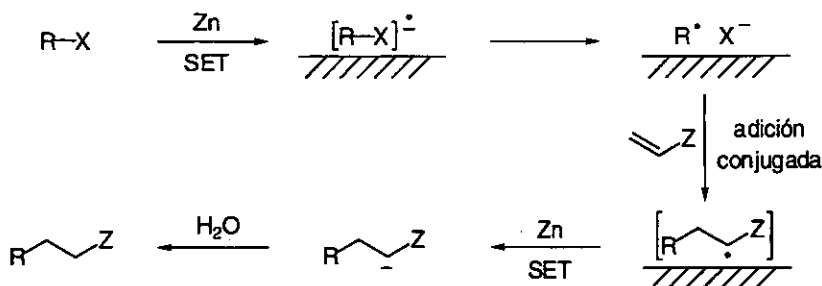
Esquema 34



La reacción de adición conjugada de halogenuros alquílicos sobre olefinas deficientes en electrones en presencia del par Zn(Cu) y ultrasonidos presenta grandes atractivos: es una reacción que se lleva a cabo en etanol acuoso, con las consiguientes ventajas desde un punto de vista medioambiental, y es compatible con otras funcionalidades presentes en la molécula, incluso grupos hidroxilo, que no necesitan protección previa. El mecanismo que se propone para la reacción de adición conjugada en presencia de ultrasonidos se representa en la esquema 35.

- (79) (a) Petrier, C.; Dupuy, C.; Luche, J. L. Conjugate additions to α,β -unsaturated carbonyl compounds in aqueous media. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3149–3152. (b) Luche, J. L.; Allavena, C. Ultrasound in organic synthesis. 16. Optimization of the conjugate additions to α,β -unsaturated carbonyl compounds in aqueous media. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5369–5372. (c) Luche, J. L.; Allavena, C.; Petrier, C.; Dupuy, C. Ultrasound in organic synthesis. 17. Mechanistic aspects of the conjugate additions to α -enones in aqueous media. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5373–5374. (d) Dupuy, C.; Petrier, C.; Sarandeses, L. A.; Luche, J. L. Ultrasound in organic syntheses. 19. Further studies on the conjugate additions to electron deficient olefins in aqueous media. *Synth. Commun.*, **1991**, *21*, 643–651. (e) Sarandeses, L. A.; Mouriño, A.; Luche, J. L. Sonochemistry of epoxyalkyl halides in the presence of a zinc-copper couple. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 798–799.
- (80) Pérez Sestelo, J. "Nuevas Estrategias de Síntesis de Análogos de la Vitamina D Modificados en la Cadena Lateral" *Tesis Doctoral*, Universidade de Santiago de Compostela, 1994.

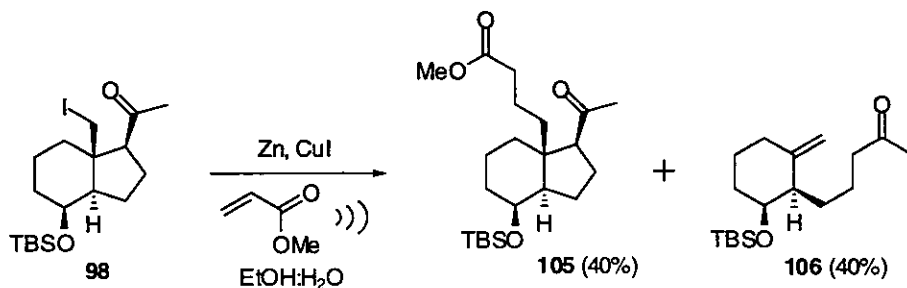
Esquema 35



El primer paso es la transferencia, inducida por ultrasonidos, de un electrón del metal al halogenuro (transferencia monoeléctrica, *Single Electron Transfer*), formándose un radical-anión ligado a la superficie del metal. El radical-anión se desproporciona, conduciendo al radical y al halogenuro. Posteriormente se produce la adición conjugada del radical a la olefina deficiente en electrones, conduciendo a un radical en α al carbonilo. Este compuesto, que se encuentra en la vecindad de la superficie metálica, sufre una nueva transferencia monoeléctrica a un enolato que se protona rápidamente por la acción del medio acuoso.

Con estos precedentes, intentamos la adición conjugada de la yodocetona **98** sobre acrilato de metilo en presencia de par Zn(Cu), por irradiación ultrasónica en etanol acuoso (70%). Después de 4 horas de reacción, se obtuvieron tres productos de reacción que correspondieron al compuesto de adición conjugada (**105**, 40%, esquema 36), el compuesto de reducción del halogenuro (**100**, 10%) y a un producto de β -fragmentación con apertura del anillo D (**106**, 40%).

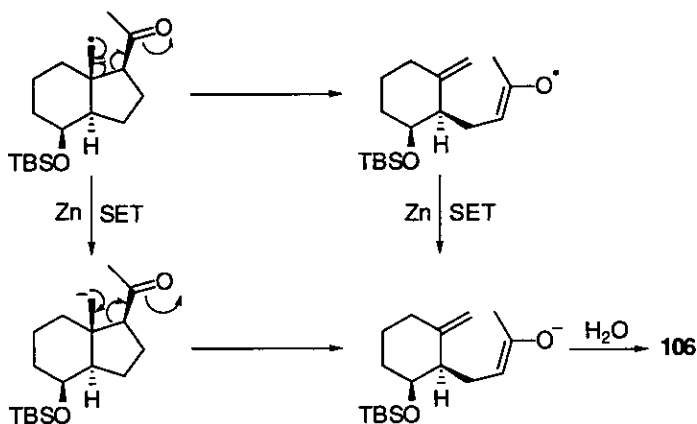
Esquema 36



El producto de adición conjugada **105** se identificó por $^1\text{H-RMN}$. Su espectro muestra un singlete a $\delta = 2.20$ ppm correspondiente al metilo C-21, otro nuevo a $\delta = 3.64$ ppm para el metoxilo y un doblete a $\delta = 4.05$ ppm para el H-8; en el caso del producto de β -fragmentación, **106**, se observa el metilo en α al carbonilo como un singlete a $\delta = 2.13$ ppm, el hidrógeno en α al oxígeno del éter silícico como un multiplete a $\delta = 3.75$ ppm y el metileno exocíclico como dos dobletes a $\delta = 4.64$ y 4.73 ppm ($J = 2.3$ Hz).

El producto de reducción del yoduro (**100**) se obtiene si una vez formado el radical éste sufre una nueva transferencia monolectrónica por parte del Zn, transformándose en un anión que se protonaría con el agua del medio. El mecanismo propuesto para la formación de **106** es una reacción de β -fragmentación que puede explicarse tanto a partir del radical como del anión en C-18 (esquema 37), aunque en principio, en base a resultados obtenidos previamente en esteroides,^{77,81} la apertura del ciclo parece ser un proceso radicalario.

Esquema 37



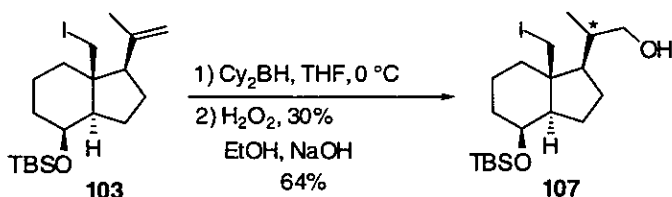
La competencia entre los mecanismos de adición conjugada y apertura de ciclo se estudió variando condiciones de reacción, observándose siempre la formación de producto de β -escisión. Cuando se

(81) Suginome, H.; Nakayama, Y.; Senboku, H. Photoinduced molecular transformations. Part 131. Synthesis of 18-norsteroids, deoxofukujusonorone and the related steroids, based on a selective β -scission of alkoxy radicals as the key step. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1837–1842.

realizó la reacción de adición conjugada promovida por ultrasonidos sobre el yodoalqueno **103** no se obtuvieron los productos de adición y β -escisión, sino mayoritariamente el de deshalogenación.

Uno de los problemas experimentales de esta reacción es la solubilidad del compuesto orgánico en agua. En nuestro caso la solubilidad de la yodocetona **98** es baja, por lo que nos planteamos realizar la reacción de adición conjugada ultrasónica con un compuesto más polar. Para ello, el yodoalqueno **103** previamente preparado (esquema 38), se transformó en el alcohol **107** por hidroboración con diciclohexilborano seguida de oxidación del borano con peróxido de hidrógeno acuoso. El alcohol **107** se obtuvo como mezcla de diastereómeros en un 64% de rendimiento. Cuando se llevó a cabo la reacción de adición conjugada con ultrasonidos de **107** sobre acrilato de metilo, se obtuvo mayoritariamente el producto de deshalogenación, si bien las condiciones de reacción no fueron estudiadas en detalle.

Esquema 38

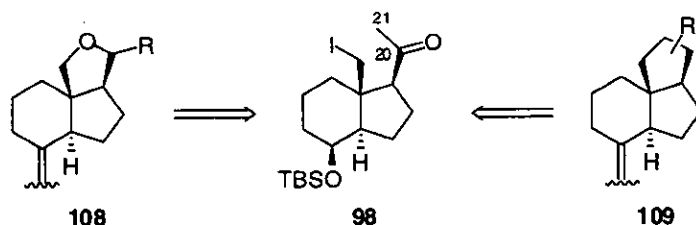


Con todas estas experiencias podemos afirmar que la posición C-18 de la yodocetona **98** y el yodoalqueno **103** es poco reactiva en reacciones intermoleculares de sustitución o adición. Este hecho puede ser debido, además de todas las razones numeradas a lo largo de esta sección, a la presencia del grupo protector *t*-butildimetilsililo en la posición C-8 β . Un grupo voluminoso en la cercanía puede producir impedimentos estéricos elevados que limiten la reactividad del metilo C-18.

Continuando con el estudio de reactividad de la yodocetona **98**, de forma alternativa, nos planteamos estudiar su reactividad en reacciones intramoleculares, con el objeto de formar un ciclo entre las posiciones C-18 y C-20 ó C-21. Estos compuestos serían de interés para la construcción de un análogo de calcitriol de conformación restringida en la cadena lateral.

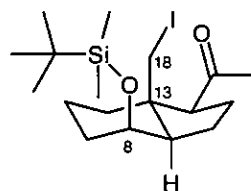
Consideramos dos posibilidades, por un lado la formación de un carbociclo de cinco miembros mediante desplazamiento nucleófilo del enolato cinético de **98** sobre el yodo (**109**, esquema 39) y por otro, la formación de un éter cíclico mediante reducción de la cetona y posterior reacción de Williamson intramolecular (**108**).

Esquema 39



Cuando la yodocetona **98** se trató con LDA a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la mezcla de reacción se llevó a t. a. no se observó reacción. La adición de sales de plata (AgOTf) para favorecer la salida del ión yoduro no tuvo éxito. Este resultado puede ser atribuido a la rotación restringida que presenta el enlace C-13(18) que impide la aproximación eficaz del enolato.

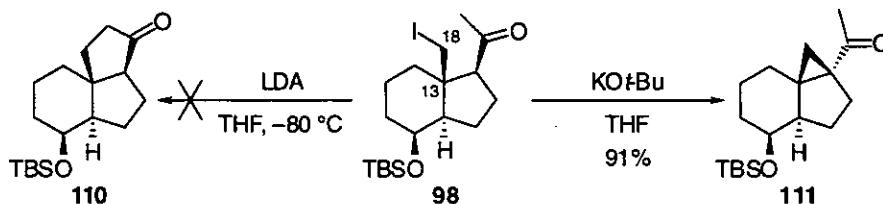
Esquema 40



Una vez comprobada que la alquilación intramolecular del enolato en condiciones cinéticas no transcurría satisfactoriamente, procedimos a probar las condiciones termodinámicas a la espera que el enolato termodinámico de **98** no reaccionase intramolecularmente. Para ello, se trató la yodocetona **98** con $\text{KO}t\text{-Bu}$ a reflujo, obteniéndose el compuesto **111**, con un anillo ciclopropánico adicional. Comprobando la alquilación intramolecular del enolato termodinámico. El compuesto **111**, se obtuvo en un excelente rendimiento (91%), y fue identificado por sus datos de $^1\text{H-RMN}$, con una señal correspondiente al metileno ciclopropílico a $\delta = 1.25\text{ ppm}$ y un singlete a $\delta = 2.14\text{ ppm}$ correspondiente al metilo en

C-21. Estos datos coinciden con los valores publicados en la bibliografía para derivados esteroidales similares.⁸²

Esquema 41



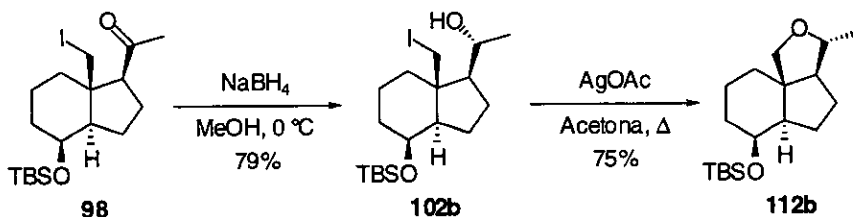
Estos resultados negativos nos llevaron a ensayar otro tipo de reacciones de ciclación dirigidas hacia la formación de un oxaciclo, como la formación de un éter cíclico de cinco miembros que ha sido descrita en esteroides.^{73,83} La reducción de la yodocetona **98** con NaBH_4 dio lugar al yodoalcohol **102b** como un solo estereoisómero por ^1H -RMN en un rendimiento del 79%. La estereoquímica se asignó por comparación de la reacción de reducción de **98** con las llevadas a cabo para otras metilcetonas similares sin átomo de yodo en C-18, en las mismas condiciones, con las que se obtiene una proporción 7:3 (20*R*/20*S*). Posiblemente el yodo en C-18 crea un entorno con gran impedimento estérico que induce la elevada estereoselectividad.

Una vez obtenido el yodoalcohol **102b**, la reacción de ciclación se llevó a cabo por adición de AgOAc (3 equiv.) y calentamiento a reflujo, obteniéndose un producto mayoritario (75%) que se identificó como el éter **112b** por estudio de sus datos espectroscópicos y comparación con los de sus análogos esteroidales.⁸³ Su ^1H -RMN presenta un sistema AB correspondiente al metileno C-18 a $\delta = 3.58$ y 3.78 ppm ($J = 10.0$ Hz) y el hidrógeno en C-20 a $\delta = 3.60$ ppm como un doble triplete ($J = 6.2$ y 3.9 Hz). De esta forma hemos podido obtener un compuesto con un ciclo entre las posiciones C-18 y C-20, que puede ser de interés para la síntesis de análogos de calcitriol con rotación restringida en la cadena lateral.

(82) Kirk, D. N.; Rajagopalan, M. S. Synthesis of 18-substituted steroids. Part III. Reactions of 18-substituted pregnan-20-ones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1976, 1064-1068.

(83) Choay, P.; Monneret, C.; Khuong-Huu, Q. Alcaloïdes stéroïdiques. CLVI. Préparation d'iodo-18 stéroïdes et leur utilisation dans la synthèse de l'holantogénine. Synthèse stéréospécifique des oxiranes 18, (20*R*) et 18, (20*S*) stéroïdiques. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1971, 1456-1459.

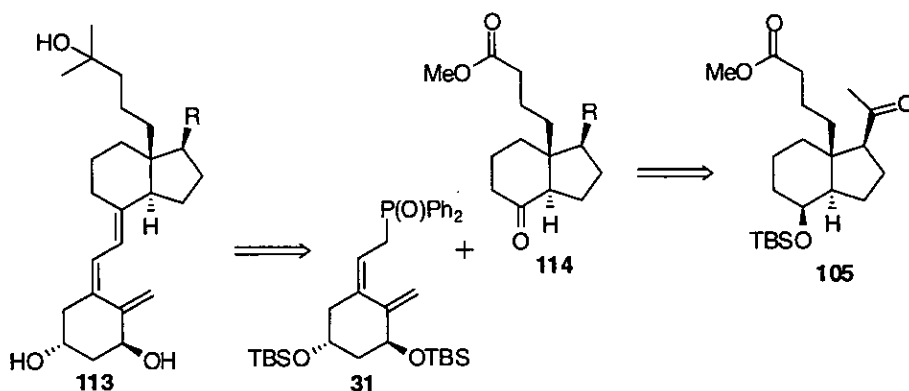
Esquema 42



3.5. SÍNTESIS DEL ANÁLOGO DE CALCITRIOL CON CADENA CARBONADA EN C-18.

Después de conocer la reactividad de la yodocetona **98** frente a distintas clases de nucleófilos y electrófilos, abordamos su utilización en la síntesis de análogos modificados en el entorno de la posición C-18. El primer análogo que planteamos fue **113**, un compuesto que posee una cadena alifática hidroxilada unida a la posición C-18 y análoga a la presente en el calcitriol. Para su síntesis decidimos utilizar el cetoéster **105**, obtenido por adición conjugada de la yodocetona sobre acrilato de metilo. El sistema triénico se formará por reacción de Wittig-Horner con el óxido de fosfina **31**, precursor del anillo A.

Esquema 43

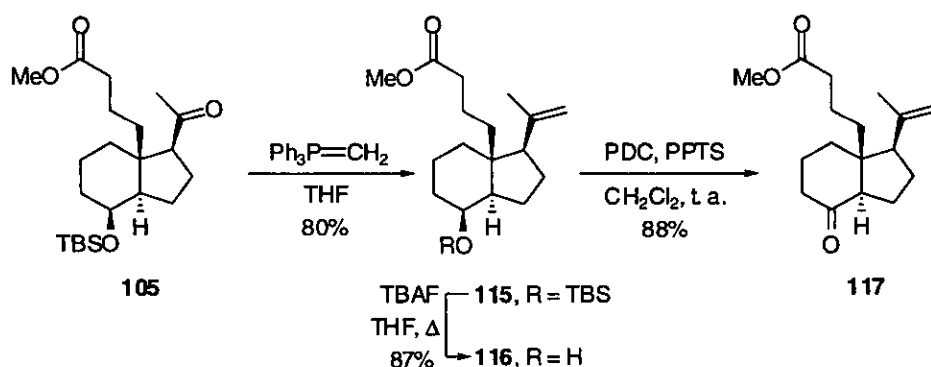


Para evitar reacciones secundarias en la construcción del sistema triénico, nos planteamos la transformación del grupo metilcetona de **105**

en isopropilideno. Aunque este grupo se puede transformar en la cadena lateral natural del calcitriol (véase esquema 18, pág. 39),⁶⁶ nuestro primer objetivo fue la síntesis del análogo con un isopropilideno en C-17 [113, R = CH(CH₃)=CH₂].

El iluro del bromuro de metiltrifenilfosfonio (2 equiv.) generado por tratamiento con *n*-BuLi (2 equiv.) se hizo reaccionar con el cetoéster 105, obteniéndose el alqueno 115 (esquema 44) en un 80% de rendimiento y recuperándose compuesto de partida (15%). El alqueno 115 se identificó mediante ¹H-RMN por las señales vinílicas a $\delta = 4.78$ y 4.83 ppm, y los singletes correspondientes al metilo C-21 a $\delta = 1.82$ ppm y al metoxilo a $\delta = 3.65$ ppm. En el espectro de masas aparece una señal a 394 *m/z* (23%) coincidente con el ión molecular y en el espectro de IR un pico a 1742 cm⁻¹ correspondiente al carbonilo del grupo éster.

Esquema 44



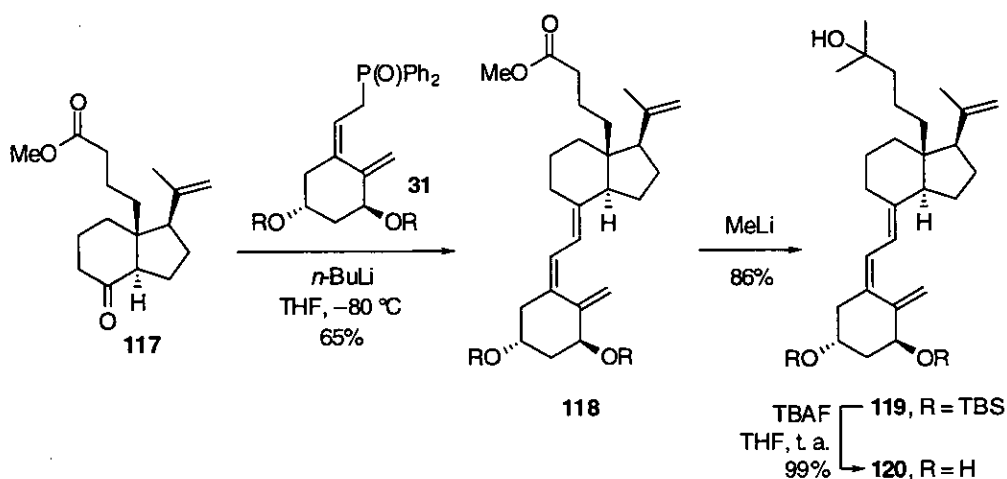
El tratamiento de 115 con *n*-Bu₄NF (3 equiv.) en THF a reflujo proporcionó el alcohol 116 en un 87% de rendimiento. El alcohol se identificó mediante ¹H-RMN, por desaparición de las señales correspondientes al grupo protector y el desplazamiento de la señal correspondiente al hidrógeno H-8 de $\delta = 4.03$ a 4.12 ppm. El espectro de masas muestra un pico a 280 *m/z* (18%) de igual masa que el ión molecular.

El alcohol 116 se oxidó con PDC (3 equiv.) y una cantidad catalítica de PPTS, obteniéndose la cetona 117 en un 88% de rendimiento después de 14 h. El espectro de ¹H-RMN de 117 muestra la desaparición de la señal

correspondiente al hidrógeno H-8. El espectro de IR muestra la banda característica de la cetona a 1716 cm^{-1} .

Una vez obtenida la cetona **117** procedimos a formar el sistema triénico mediante reacción de Wittig-Horner con el óxido de fosfina **31**, portador del anillo A del calcitriol.⁶¹ El iluro se preparó por adición de *n*-BuLi (2.2 equiv.) sobre una disolución de **31** (2.3 equiv.) a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, y sobre la disolución resultante se adicionó la cetona **117**. Después de 2.5 h, ($-80\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow -50\text{ }^{\circ}\text{C}$), se aisló **118** (esquema 45) en un 65% de rendimiento, y se recuperó cetona de partida **117** (35%). El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de **118** muestra la aparición de la señales correspondientes al sistema triénico a $\delta = 6.37$ y 6.53 ppm (sistema AB, $J = 11.2$ Hz), así como las señales características de los dos fragmentos acoplados, el metilo C-21 a $\delta = 1.78$ ppm, el metoxilo a $\delta = 3.39$ ppm, las señales vinílicas del metileno C-20 a $\delta = 4.88$ y 4.91 ppm y las del C-19 a $\delta = 5.20$ y 5.43 ppm. El espectro de masas muestra un pico coincidente con el ión molecular a $642\text{ } m/z$ (8%).

Esquema 45



La transformación del éster metílico de la cadena lateral en C-18 en la agrupación dimetilalcohol, característica de las vitaminas 25-hidroxiladas, se llevó a cabo por tratamiento del éster **118** con MeLi (6 equiv.) a baja temperatura obteniéndose el alcohol terciario **119** en un 86% de rendimiento. La estructura del alcohol **119** se asignó por $^1\text{H-RMN}$, en base a las señales correspondientes a los dos nuevos metilos como un

singlete a $\delta = 1.1$ ppm, ^{13}C -RMN y espectrometría de masas, con una señal a 643 m/z asignable al $\text{M}^+ + 1$. En el espectro de IR aparece una banda ancha asignada al grupom hidroxilo a 3428 cm^{-1} así como otra intensa a 1642 cm^{-1} coherente con la presencia de dobles enlaces carbono—carbono.

El análogo de calcitriol modificado en C-18 y protegido con TBS en las posiciones C-1 y C-3 se desprotegió mediante tratamiento con $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ (4 equiv.) en THF durante 20 h, obteniéndose el análogo de calcitriol en un rendimiento cuantitativo (99%). El análogo de calcitriol **120** se caracterizó por ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, espectrometría de masas de baja y alta resolución e IR. El espectro de ^1H -RMN muestra las señales características del sistema triénico vitamínico a $\delta = 6.14$ y 6.37 ppm (sistema AB, $J = 11.2$ Hz), los hidrógenos del metilideno C-19 a $\delta = 4.95$ y 5.34 ppm, los del metilideno C-20 a $\delta = 4.83$ y 4.89 ppm, los metilos de la cadena en C-18 a $\delta = 1.13$, 1.15 ppm, el metilo del grupo isopropilideno en C-17 a $\delta = 1.88$ ppm respectivamente, y el desplazamiento de las señales correspondientes a los hidrógenos H-1 α , de $\delta = 4.55$ a 4.40 ppm, y para el H-3 de $\delta = 4.29$ a 4.16 ppm. El espectro de ^{13}C -RMN concuerda con la estructura propuesta y el espectro de masas presenta un pico a 414 m/z (5%) que corresponde al ión molecular.

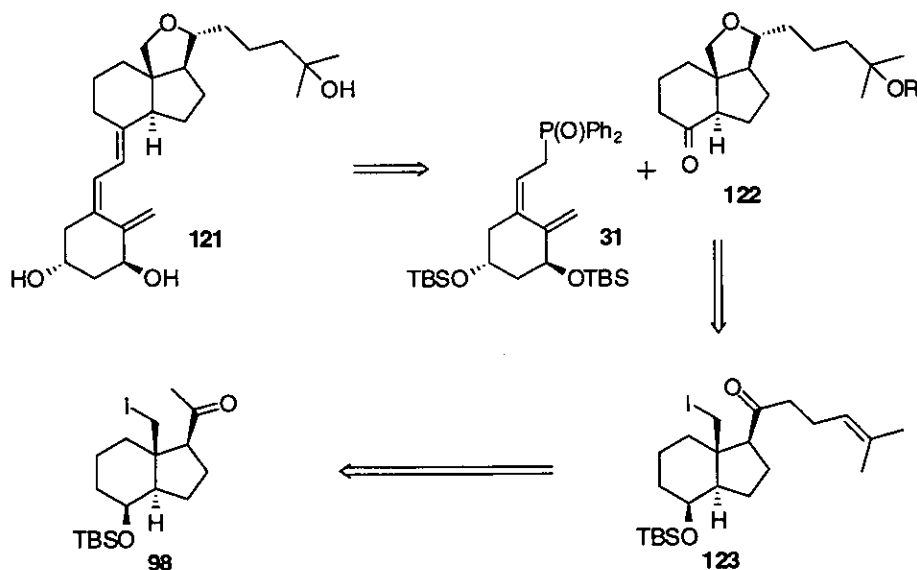
Con la preparación de **120** hemos completado la síntesis del primer análogo de calcitriol modificado en C-18 con una cadena alifática hidroxilada (9 etapas desde la cetona **100**, 11%). La ruta sintética utilizada es suficientemente versátil para permitir la introducción de diferentes grupos en la etapa de adición al grupo éster, así como la introducción de cadenas laterales "naturales" a partir del isopropilideno en C-17. El compuesto **120** ha sido enviado para la evaluación de su actividad biológica a la compañía farmacéutica Solvay Pharmaceuticals B.V. (Weesp, Holanda), no disponiendo todavía de los resultados de dichos ensayos.

3.6. SÍNTESIS DEL ANÁLOGO DE CALCITRIOL CON UN OXACICLO ENTRE C-18 Y C-20.

La posibilidad de formar un éter cíclico ente las posiciones C-18 y C-20 mediante reacción de Williamson (esquema 42) nos llevó a proponer la síntesis de un análogo de calcitriol con esta funcionalidad. El análogo así formado presentaría una cadena lateral con sus grados de libertad restringidos, conjugando dicha restricción conformacional con la presencia de un átomo de oxígeno próximo a la cadena lateral, y el interés desde el punto de vista biológico que de ello deriva.^{78,84}

Para la síntesis del análogo **121** (esquema 46) propusimos un análisis retrosintético en el que el sistema triénico se formaría mediante reacción de Wittig-Horner entre la cetona **122**, conteniendo el éter cíclico C-18(20), y el óxido de fosfina **31**. El oxaciclo en **122** se prepararía a partir de la yodocetona **123** por reducción seguida de reacción de Williamson intramolecular y, a su vez, **123** por alquilación del enolato cinético del precursor común, la yodocetona **98**.

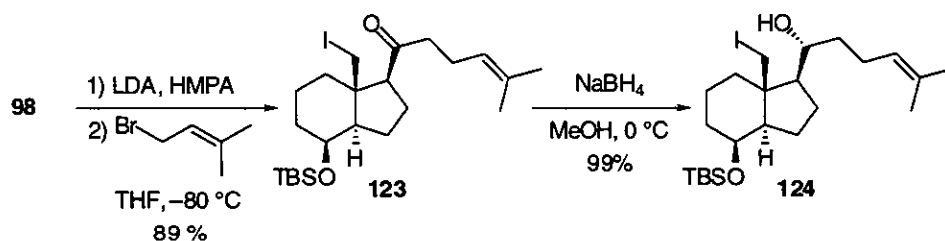
Esquema 46



(84) Análogos de calcitriol con átomos de oxígeno en la cadena lateral han mostrado interesantes propiedades biológicas, veáanse: (a) Análogos 20-oxa sustituidos: Kubodera, N.; Miyamoto, K.; Ochi, K.; Matsunaga, I. Synthetic studies of vitamin D analogs. VII. Synthesis of 20-oxa-21-

El tratamiento de la yodocetona **98** con LDA (1.1 equiv.) a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bromuro de 3,3-dimetilalilo (3 equiv.) utilizando como aditivo HMPA dio lugar a la yodocetona **123** (esquema 47) en un rendimiento del 81%. Esta yodocetona incorpora un precursor de la cadena lateral 25-hidroxilada del calcitriol. La cetona **123** se identificó por $^1\text{H-RMN}$, por el sistema AB a $\delta = 3.15$ y 4.46 ppm ($J = 10.7$ Hz) correspondiente al metileno C-18, los metilos C-26 y C-27 a $\delta = 1.62$ y 1.68 ppm y la señal del hidrógeno vinílico a $\delta = 5.12$ ppm. Los datos de $^{13}\text{C-RMN}$ corroboran la estructura propuesta y en el espectro de masas de se observa un pico coincidente con el ión molecular a $503\text{ }m/z$ (5%). En el espectro de IR se observa la banda característica del carbonilo a 1705 cm^{-1} .

Esquema 47



La yodocetona **123** se trató con NaBH₄ a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, obteniéndose el alcohol **124** con elevada estereoselectividad (sólo se observa un isómero en $^1\text{H-RMN}$ del crudo), y con un rendimiento cuantitativo. Los datos de $^1\text{H-RMN}$ de **124** confirman la estructura propuesta, presentando el sistema AB característico del metileno C-18 a $\delta = 3.11$ y 4.62 ppm ($J = 11.0$ Hz), el hidrógeno H-20 a $\delta = 3.90$ ppm y el hidrógeno vinílico a $\delta = 5.12$ ppm.

La estereoquímica de C-20 (20*R*) se asignó en base a precedentes bibliográficos sobre la reactividad de 21-norcolestano-20-onas con

norvitamin D₃ analogs. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 2286–2289. (b) Análogos 22-oxa sustituidos: Kubodera, N.; Watanabe, H.; Kawanishi, T.; Matsumoto, M. Synthetic studies of vitamin D analogues. XI. Synthesis and differentiation-inducing activity of 1 α ,25-dihydroxy-22-oxavitamin D₃ analogues. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 1494. (c) Análogos 23-oxa sustituidos: Kubodera, N.; Miyamoto, K.; Akiyama, M.; Matsumoto, M.; Mori, T. Synthetic studies of vitamin D analogues. IX. Synthesis and differentiation-inducing activity of 1 α ,25-dihydroxy-23-oxa-, thia-, and azavitamin D₃. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 3221–3224. (d) Análogos 24-oxa sustituidos: Allewaert, K.; Sarandeses, L. A.; Mouriño, A.; Convents, R.; Tan, B.-K.; Zhao, J.; Bouillon, R. Antagonistic activity of 24-oxa-analogs of vitamin D. *Steroids* **1995**, *60*, 484–490.

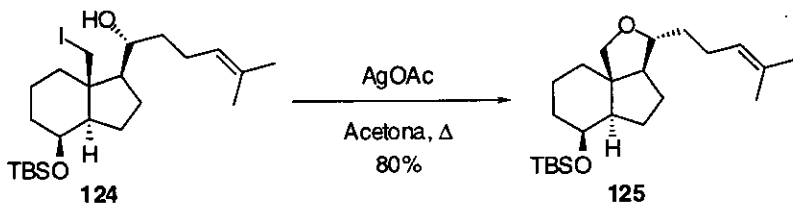
nucleófilos de pequeño tamaño (MeMgBr).^{75a,85} En estas reacciones se obtiene mayoritariamente el compuesto (20R). Los autores justifican la estereoquímica proponiendo la conformación expuesta en la figura 18 para el ataque del nucleófilo. En nuestro caso, por similitud en la estructura y asumiendo que aumenta la voluminosidad del grupo en C-18, por aplicación del modelo Felkin-Ahn,⁸⁶ se justifica la estereoquímica (20R) obtenida.

Esquema 48



Una vez obtenido el compuesto **124**, procedimos a ensayar la reacción de ciclación de Williamson. Se calentó una mezcla de **124** y AgOAc en acetona a reflujo durante 40 h, obteniéndose un producto mayoritario (80%) que se identificó como el éter **125**. Su ^1H -RMN presenta un sistema AB correspondiente al metileno C-18 a $\delta = 3.57$ y 3.79 ppm ($J = 9.8$ Hz), el hidrógeno en C-20 a $\delta = 3.44$ ppm como un doble triplete ($J = 6.6$ y 3.7 Hz) y el hidrógeno vinílico a $\delta = 5.13$ ppm como triplete ($J = 7.0$ Hz). Los datos de ^{13}C -RMN y de EM, con una señal a 378 m/z coincidente con el ión molecular, corroboraron la estructura propuesta.

Esquema 49

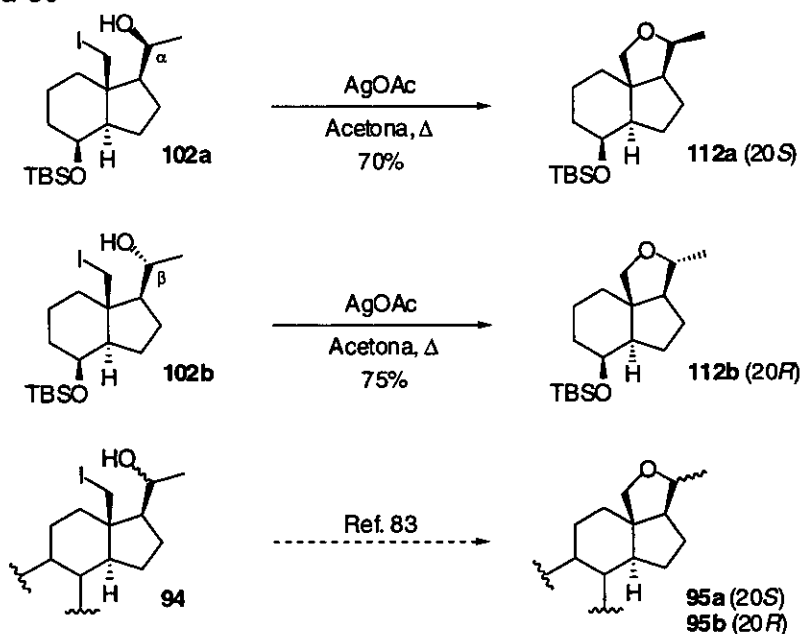


(85) (a) Chaudhuri, N. K.; Williams, J. G.; Nickolson, R.; Gut, M. Stereochemistry of the addition reactions of Grignard reagents to 20-keto steroids. Synthesis of $17\alpha,20\alpha$ -dihydroxycholesterol. *J. Org. Chem.* **1969**, *12*, 3759–3766. (b) Piatak, D. M.; Wicha, J. Various approaches to the construction of aliphatic side chains of steroids and related compounds. *Chem. Rev.* **1978**, *78*, 199–241.

(86) Eliel, E. L.; Wilen, S. H. *Stereochemistry of Organic Compounds*; Wiley: New York, 1994; p. 876–880.

Para corroborar la estereoquímica en C-20, a lo largo de la síntesis tratamos de obtener un derivado cristalino que pudiese ser analizado por difracción de Rayos X. Asimismo, se compararon los desplazamientos de 125 en $^1\text{H-RMN}$ con análogos (20*R*) y (20*S*) esteroidales publicados anteriormente⁸³ y con los éteres cíclicos 112a (20*S*) y 112b (20*R*) preparados por ciclación intramolecular (AgOAc, acetona) de los productos de yodación de 101a y 101b.

Esquema 50



La comparación de los desplazamientos para los compuestos 20*R*:20*S* parecen corroborar la estereoquímica propuesta para 125 (20*R*). En la tabla 1 se resumen los desplazamientos químicos (δ) para las señales más significativas de los experimentos de $^1\text{H-RMN}$.

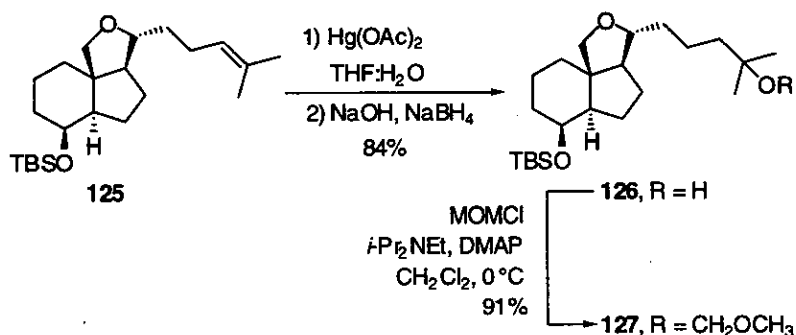
Tabla 1

	δ H-18 (ppm)	J_{AB} (Hz)	δ H-20 (ppm)	J (Hz)
125	3.57 y 3.79	9.8	3.44	6.6 y 3.7
112b (20 <i>R</i>)	3.58 y 3.78	10.0	3.60	6.2 y 3.9
112a (20 <i>S</i>)	3.46 y 4.17	9.6	4.03	6.5 y 3.9
95b (20 <i>R</i>)	3.42 y 3.72	9.0	-3.42	—
95a (20 <i>S</i>)	3.38 y 3.69	9.0	3.98	6.0 y 3.5

Una vez sintetizado el éter cíclico **125**, procedimos a incorporar el grupo hidroxilo en la posición C-25 mediante una reacción de hidroximercuriación-desmercuriación.⁸⁷ El tratamiento de **125** con $\text{Hg}(\text{OAc})_2$, seguido de NaBH_4 en NaOH , proporcionó el alcohol terciario **126** (esquema 51) en buen rendimiento (84%). En el espectro de ^1H -RMN del compuesto se pueden observar, además de las señales correspondientes al ciclo oxigenado a $\delta = 3.58$ (dd, $J = 9.8$ y 2.0 Hz) y 3.79 (d, $J = 9.8$ Hz), los metilos C-26 y C-27 como un singlete a $\delta = 1.21$ ppm. También se observa la desaparición de la señal correspondiente al hidrógeno vinílico. En el espectro de masas aparece una señal a 396 m/z (10%) coincidente con el ión molecular, y en el IR se observa la banda del hidroxilo a 2930 cm^{-1} .

Para llevar a cabo la posterior desprotección selectiva del hidroxilo en C-8, el hidroxilo en C-25 de **126** se protegió como metoximetil éter por tratamiento con clorometil metil éter en presencia de di-*iso*-propiletilamina y cantidades catalíticas de 4-dimetilaminopiridina, obteniéndose **127** en un 91% de rendimiento. El producto muestra en el espectro de ^1H -RMN las señales características del grupo protector, un metileno a $\delta = 4.70$ ppm y el metoxilo a $\delta = 3.36$ ppm.

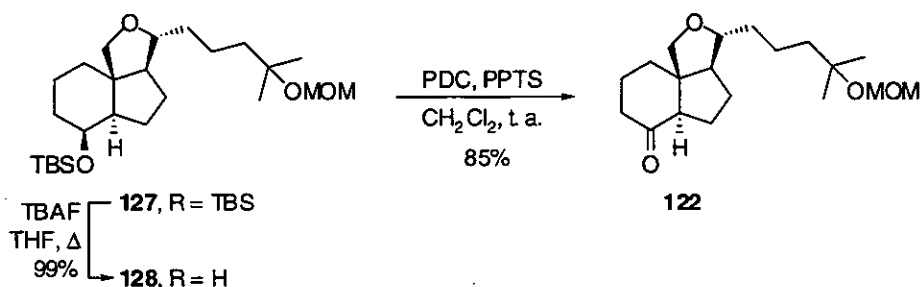
Esquema 51



(87) Lythgoe, B.; Roberts, D. A.; Waterhouse, I. Calciferol and its relatives. Part 20. A synthesis of Windaus and Grundmann's C19 ketone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1977, 2608-2612.

La desprotección del *t*-butildimetil silil éter de **127** se llevó a cabo por reacción con $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ (3 equiv.) en THF a reflujo, obteniéndose el alcohol **128** de forma cuantitativa (esquema 52). El alcohol **128** se identificó mediante $^1\text{H-RMN}$, por desaparición de las señales correspondientes al grupo protector y por las señales correspondientes al hidrógeno H-8, a $\delta = 4.12$ ppm, y al metileno C-18, a $\delta = 3.55$ y 3.83 ppm respectivamente. El espectro de masas muestra un pico a $326 m/z$ que corresponde al ión molecular esperado.

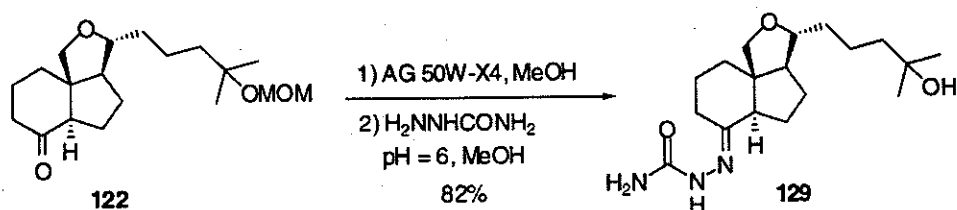
Esquema 52



El alcohol **128** se oxidó con PDC (3 equiv.) y una cantidad catalítica de PPTS obteniéndose la cetona **122** en un rendimiento del 85%. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de **122** muestra las señales correspondientes al metileno C-18 a $\delta = 3.19$ y 3.51 ppm. En su espectro de masas aparece un pico a $323 m/z$ asignado al $\text{M}^+ - 1$, y en el IR se observa la banda característica del carbonilo a 1707 cm^{-1} .

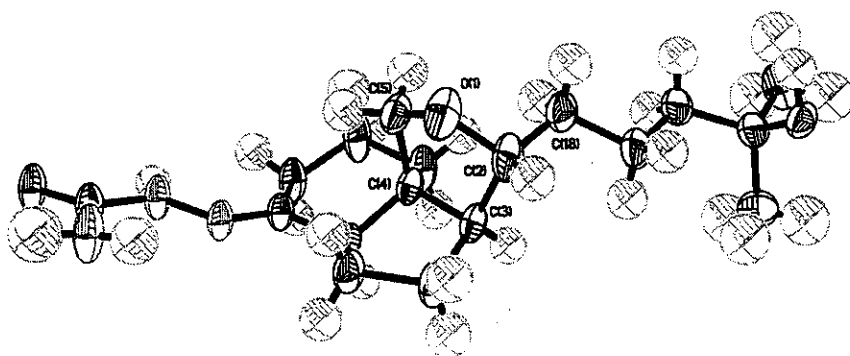
La cetona **122** permitió la cristalización de un derivado para el análisis por difracción de Rayos X, al objeto de confirmar la estereoquímica propuesta para C-20. La desprotección del hidroxilo terciario en C-25 (AG[®] 50W-X4, MeOH) y posterior reacción con hidrocloreuro de semicarbazida, condujeron en buen rendimiento a la obtención de la semicarbazona **129**, que fue identificada mediante sus espectros de $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$, así como por espectrometría de masas, con una señal a $338 m/z$.

Esquema 53



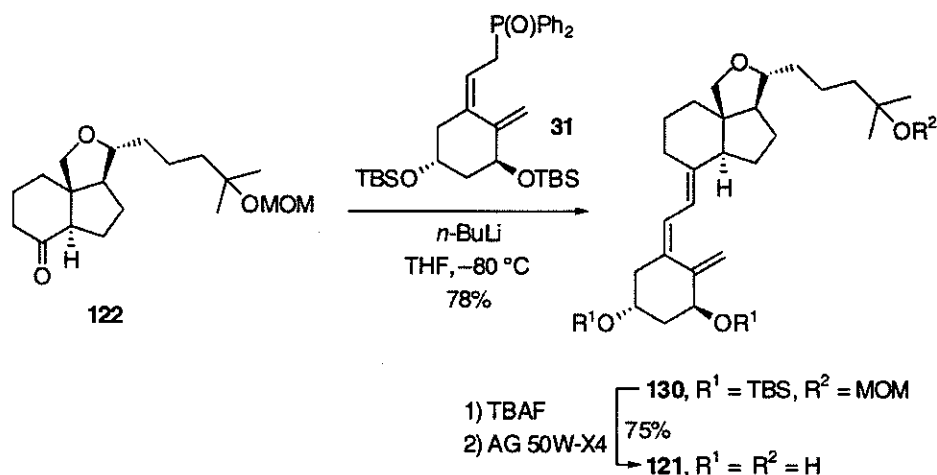
La cristalización de **129** desde MeOH permitió el análisis por difracción de Rayos X, y la confirmación de la estereoquímica propuesta (20*R*). En la figura 8 se representa el ORTEP correspondiente a **129** (en el Apéndice II de esta memoria se recogen los datos cristalográficos de **129**).

Figura 8. Estructura de Rayos X (ORTEP) de **129** (elipsoides al 30%).



La reacción de Wittig-Horner entre la cetona **122** con el anión del óxido de fosfina **31**, preparado por adición de *n*-BuLi a $-80\text{ }^\circ\text{C}$, dio lugar después de 2 h al análogo de calcitriol protegido **130** en un rendimiento del 78% (esquema 54). El espectro de ^1H -RMN de **130** muestra la aparición de la señales correspondientes al sistema triénico vitamínico a $\delta = 6.07$ y 6.18 ppm (sistema AB, $J = 11.2$ Hz), así como las señales correspondientes a los hidrógenos H-1 y H-3, a $\delta = 4.39$ y 4.20 ppm respectivamente, y a los hidrógenos en C-19, a $\delta = 4.85$ y 5.21 ppm. El espectro de ^{13}C -RMN corresponde con la estructura propuesta y en el espectro de masas se observa un pico a $688\text{ } m/z$ (28%) que corresponde con el ión molecular.

Esquema 54



Finalmente se abordó la desprotección de la vitamina **130** en dos pasos consecutivos sin aislar el producto intermedio. El tratamiento con $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ (4 equiv.), a t. a. seguido de resina catiónica AG[®] 50W-X4 en metanol desoxigenado y en ausencia de luz durante 22 h, dio lugar al análogo de calcitriol **121** (75%, 2 etapas). En el espectro de ^1H -RMN del producto se observa la ausencia de las señales correspondientes a los grupos *t*-butildimetilsililo y las señales correspondientes a los hidrógenos H-1 α a $\delta = 4.37$ ppm y para el H-3 a $\delta = 4.16$ ppm. La estructura se confirmó mediante ^{13}C -RMN y espectrometría de masas, con un pico coincidente con el ión molecular a 416 m/z (4) y una señal a 398 m/z (9%) correspondiente a la pérdida de H_2O .

De esta manera hemos conseguido la síntesis de **121**, el segundo análogo de calcitriol modificado en el entorno de C-18. La estrategia sintética convergente consta de 11 etapas desde la cetona **100**, con un rendimiento global del 22%. En este caso presenta una cadena lateral de rotación restringida y un átomo de oxígeno en las proximidades de la cadena lateral, aspectos que, por similitud con otros análogos de interés, constituyen un buen punto de partida a la hora de abordar los ensayos biológicos. Éstos se encuentran en curso de realización en la empresa Solvay Pharmaceuticals B.V. y serán públicos en breve tiempo.

4

SÍNTESIS DIASTEREOSELECTIVA DE METABOLITOS DE VITAMINA D₃ HIDROXILADOS EN C-24

4. SÍNTESIS DIASTEREOSELECTIVA DE METABOLITOS DE VITAMINA D₃ HIDROXILADOS EN C-24.

Como se explicó en la introducción de este trabajo, el 24*R*,25-(OH)₂-D₃ es un metabolito activo de la vitamina D₃, aunque sus respuestas biológicas asociadas no se conocen con exactitud. Dado que las rutas de síntesis de los metabolitos hidroxilados en C-24 son limitadas y poco versátiles, y teniendo en cuenta el creciente interés en los mismos, el segundo objetivo de este trabajo de investigación se dirigió hacia el desarrollo de un estrategia estereoselectiva de síntesis de metabolitos de vitamina D₃ hidroxilados en la posición C-24.

4.1. ANTECEDENTES

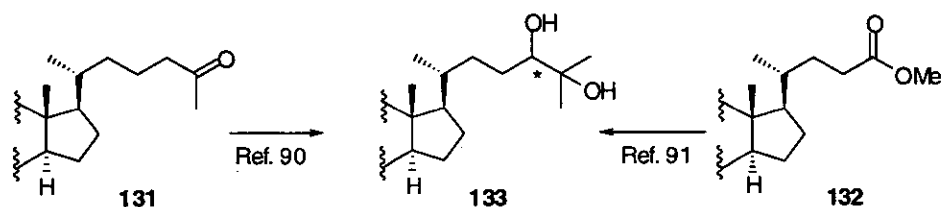
Mientras que los métodos de obtención de cadenas laterales hidroxiladas de vitamina D₃ en la posición C-25 son numerosos, existen pocas rutas sintéticas dirigidas a la preparación de derivados 24,25-dihidroxilados. La mayor parte de ellas siguen la ruta biomimética de apertura del ciclo B de un esteroide. En algunos casos, las síntesis se detienen en los esteroides con la cadena lateral funcionalizada. A continuación, se describen algunos de los métodos de síntesis de cadenas laterales esteroidales 24,25-dihidroxiladas.

De un modo general, la síntesis estereoselectiva de cadenas laterales hidroxiladas en C-24 se ha abordado pocas veces. Normalmente, los compuestos diastereoméricamente puros se obtienen por separación de una mezcla de los epímeros (24*R*) y (24*S*), o por acoplamiento de un fragmento portador del C-24 de forma enantioméricamente pura con otro fragmento esteroidal, en una reacción donde no se vea afectado el centro C-24.

Una de las primeras síntesis de la cadena lateral 24,25-dihidroxiada de esteroides fue llevada a cabo por el Prof. Ikekawa (Tokyo, Japón) a partir de una cadena lateral insaturada en C-24. La dihidroxilación con OsO_4 ⁸⁸ o la epoxidación, separación e hidrólisis en medio ácido⁸⁹ condujo a los compuestos 24,25-dihidroxiados.

El Prof. DeLuca (Wisconsin, EE. UU.) ha desarrollado varias síntesis de 24,25-dihidroxitamina D_3 , en las cuales se separan los epímeros en C-24 en las etapas finales. En una de estas síntesis se introdujo el hidroxilo en C-24 mediante la hidroxilación del acetato del enol termodinámico de **131**.⁹⁰ Otra síntesis parte del éster **132**, obteniéndose el hidroxilo en C-24 a través de una transposición de Pummerer. En ambos casos se construyó el sistema triénico propio de las vitaminas por la ruta biomimética de apertura del ciclo B esteroidal.⁹¹

Esquema 55

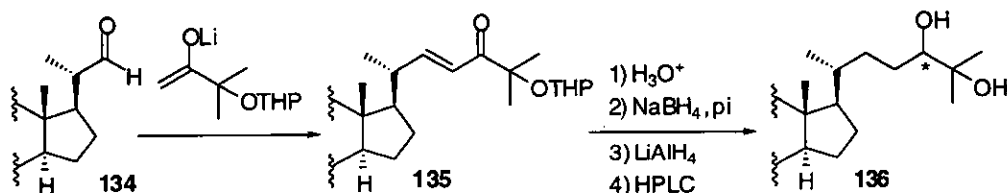


En 1976 el Prof. D. H. Williams (The Chemical Labs., Cambridge, R. U.) publicó otra síntesis de 24,25-(OH)₂-provitamina D_3 (el producto final es el 7-deshidroesteroide), donde el paso clave es una condensación aldólica de un enolato de una cetona con un aldehído esteroidal (**134**, esquema 56). La

- (88) Seki, M.; Rubio-Lightbourn, J.; Morisaki, M.; Ikekawa, N. Synthesis of active forms of vitamin D. IV. Synthesis of 24,25- and 25,26-dihydroxycholesterols. *Chem. Pharm. Bull.* **1973**, *21*, 2783–2785.
- (89) Seki, M.; Koizumi, N.; Morisaki, M.; Ikekawa, N. Synthesis of active forms of vitamin D. VI. Synthesis of (24*R*)- and (24*S*)-24,25-dihydroxyvitamin D_3 . *Tetrahedron Lett.* **1975**, 15–18.
- (90) Lam, H.-Y.; Schnoes, H. K.; DeLuca, H. F.; Chen, T. C. 24,25-Dihydroxyvitamin D_3 . Synthesis and biological activity. *Biochemistry* **1973**, *12*, 4851–4855.
- (91) Perlman, K.; Schnoes, H. K.; Tanaka, Y.; DeLuca, H. F.; Kobayashi, Y.; Taguchi, T. Chemical synthesis of (24*R*)-24,25-dihydroxy[26,27-³H]vitamin D_3 of high specific activity. *Biochemistry* **1984**, *23*, 5041–5048.

posterior reducción y separación de los diastereómeros en C-24 proporcionó la provitaminas, 24*R*,25-(OH)₂-proD₃ y 24*S*,25-(OH)₂-proD₃.⁹²

Esquema 56

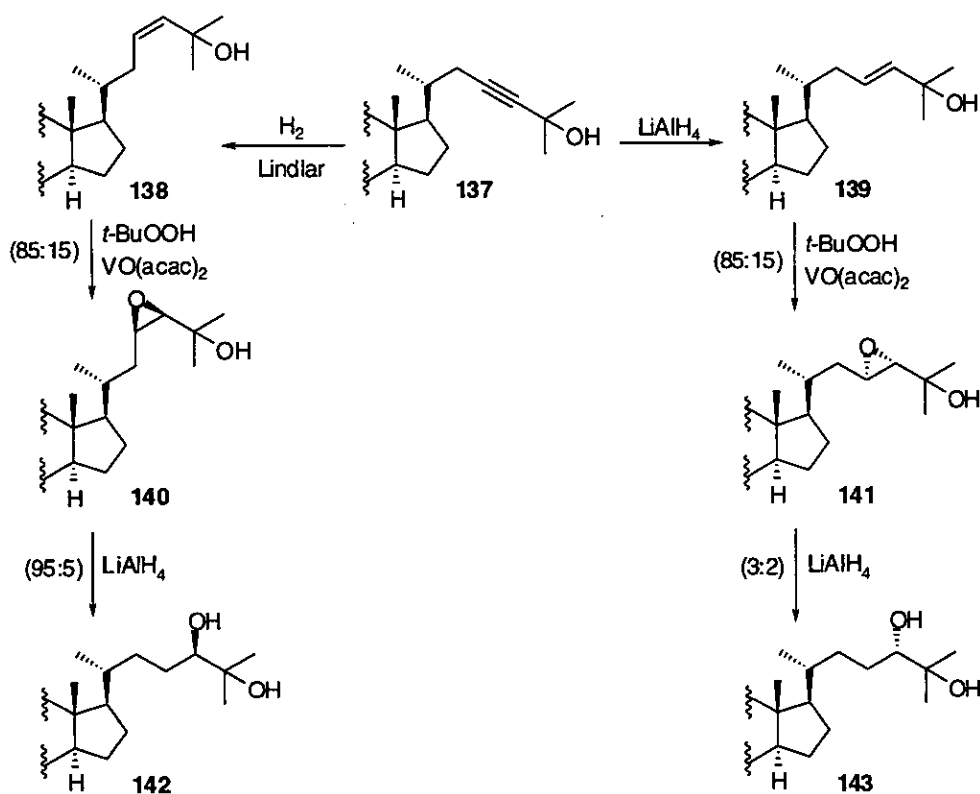


Una síntesis estereoselectiva de 24*R*,25- y de 24*S*,25-dihidroxicolesterol fue llevada a cabo por el grupo del Dr. J. J. Partidge (Hoffmann-La Roche, EE. UU.). En ella, se parte del esteroide acetilénico 137 (esquema 57), que fue hidrogenado estereoselectivamente para obtener los alquenos *cis* y *trans* (138 y 139). Estos alquenos se sometieron por separado a una epoxidación de Sharpless, obteniéndose los epóxidos 140 y 141 respectivamente, en cada caso con una relación diastereomérica 85:15. Los epóxidos mayoritarios se separaron por cristalización y su apertura regioselectiva con LiAlH₄ condujo, respectivamente, a 24*R*,25- y 24*S*,25-dihidroxicolesterol (142 y 143).⁹³

(92) Eyley, S. C.; Williams, D. H. Synthesis of 24*ξ*,25-dihydroxyprovitamin D₃. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1976, 727-731.

(93) Partidge, J. J.; Toome, V.; Uskokovic, M. R. A stereoselective synthesis of the 24(*R*),25-dihydroxycholesterol side chain. *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 3739-3741.

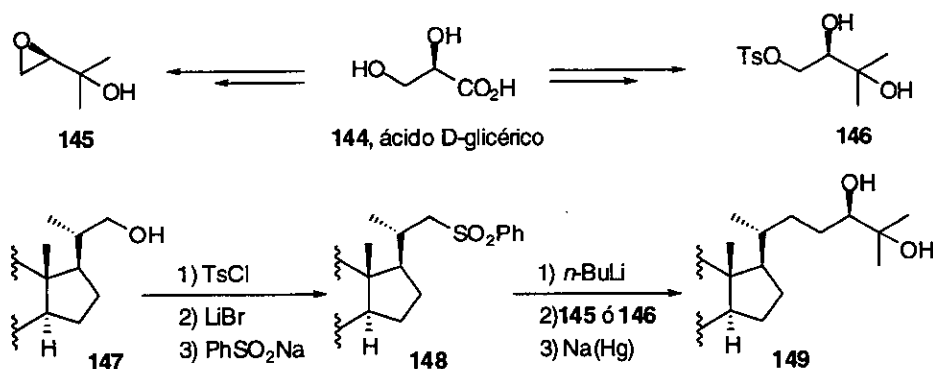
Esquema 57



El carbono quiral del ácido D-glicérico (144, esquema 58) sirvió como precursor del centro C-24 en la síntesis de $24R,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$. El Prof. Takayama transformó el ácido D-glicérico en el epóxido 145. Este compuesto se trató con el anión de la sulfona esteroidal 148, que por posterior reducción proporcionó la cadena lateral $24R,25$ -dihidroxilada.⁹⁴ El empleo del tosilato 146 en la reacción con 148 llevó a resultados similares.⁹⁵

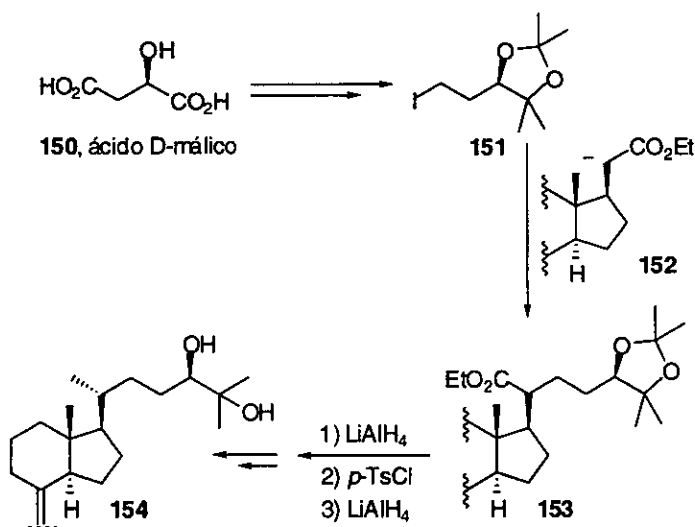
- (94) Takayama, H.; Ohmori, M.; Yamada, S. Facile, stereoselective synthesis of $(24R)$ - $24,25$ -dihydroxyvitamin D_3 using D-glyceric acid as a chiral synthon. *Tetrahedron Lett.* 1980, 21, 5027–5028.
- (95) (a) Schrötter, E.; Schönecker, B.; Hauschild, U.; Droscher, P.; Schick, H. An improved synthesis of $(24R)$ - $24,25$ -dihydroxyprovitamin D_3 . *Synthesis* 1990, 193–195. (b) Schroetter, E.; Luong, T. T.; Schick, H. 3-Alkylated (R)-2,3-dihydroxyalkyl p-toluenesulfonates. Homochiral building blocks for modified steroid side chains. *J. Prakt. Chem.* 1990, 332, 191–197.

Esquema 58



Más recientemente, se ha utilizado el carbono quiral del ácido málico como precursor del centro quiral en C-24 de 24*R*,25-(OH)₂-D₃. En esta síntesis, el Dr. Sterling transformó el ácido D-málico (150, esquema 59) en el yodocetal 151, que se hizo reaccionar con el enolato del éster 152, obteniéndose el éster 153. La posterior reducción del éster, desprotección y transformación del esteroide en la correspondiente vitamina siguiendo la ruta biomimética, condujo a 24*R*,25-(OH)₂-D₃.⁹⁶

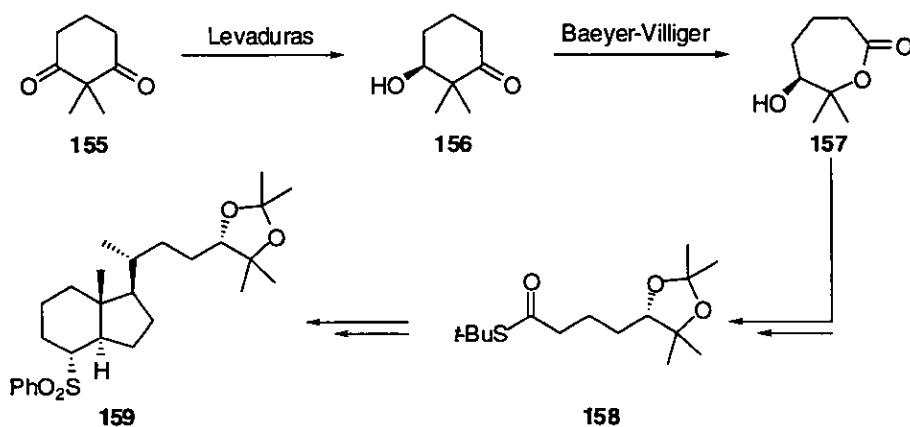
Esquema 59



(96) Sterling, J.; Slovín, E.; Barasch, D. Use of malic acid as a chiral synthon. 24,25-dihydroxycholecalciferol. *Tetrahedron Lett.* 1987, 28, 1685-1688.

En una aproximación a la síntesis de $24S,25(OH)_2-D_3$ por una ruta convergente, el Prof. Wicha (Varsovia, Polonia) ha descrito recientemente la síntesis total del biciclo CD y cadena lateral de esa molécula. La cadena lateral dihidroxilada se preparó a partir de la dicetona **155**. La reducción enzimática de un solo carbonilo por la cara *Re* proporcionó la hidroxicetona **156** que fue transformada en el tioéster **158**. Con ese compuesto se continuó la síntesis para obtener finalmente **159**, compuesto que contiene el biciclo CD y la cadena lateral del metabolito de la vitamina D indicado.⁹⁷

Esquema 60

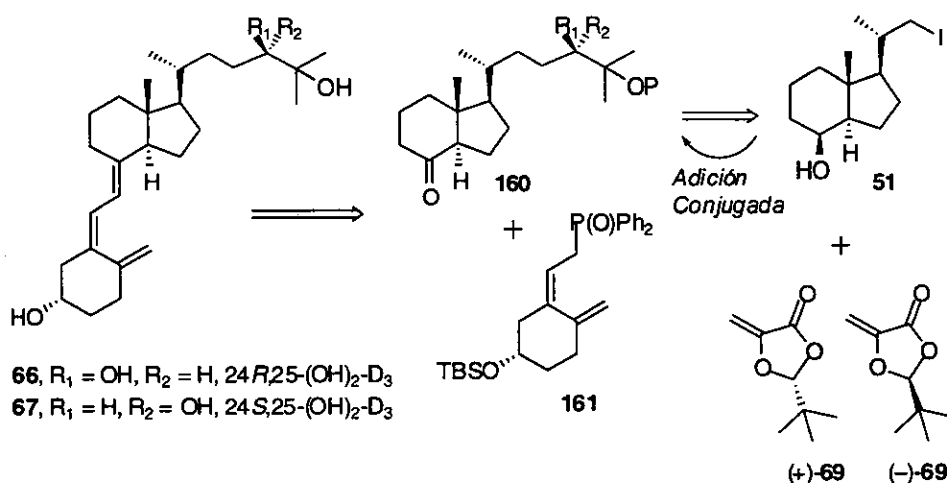


(97) Stepanenko, W.; Wicha, J. Enantioselective synthesis of $24S,25$ -dihydroxy vitamin D_3 northern portion from (*S*)-3-hydroxy-2,2-dimethylcyclohexane-1-one. Remote asymmetric induction in an acid-catalyzed conjugate addition. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 885–888.

4.2. PLAN DE TRABAJO.

Como ya se ha comentado anteriormente, una de las reacciones más conocidas para este grupo de investigación es la adición conjugada en medio acuoso, inducida por ultrasonidos en presencia de par $Zn(Cu)$. Hasta la fecha, en esta reacción se han empleado solamente compuestos α,β -insaturados aquirales, por lo que su estereoselectividad es desconocida. En este trabajo nos hemos planteado la posibilidad de llevar a cabo esta reacción de forma diastereoselectiva mediante el empleo de un sustrato α,β -insaturado quiral y su utilización en la síntesis de metabolitos de vitamina D_3 24-hidroxilados. El plan de trabajo se muestra en el siguiente análisis retrosintético.

Esquema 61.

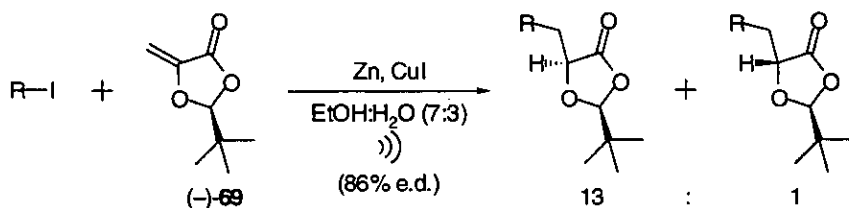


Para la síntesis de metabolitos 24-hidroxilados nos propusimos preparar el sistema triénico mediante reacción de Wittig-Horner entre una cetona con la cadena lateral hidroxilada en C-24 de forma estereoselectiva (160) y el óxido de fosfina portador del anillo A (161). La cetona 160 se prepararía mediante adición conjugada del yoduro que contiene el anillo CD (51) sobre una dioxolanona enantioméricamente pura [(+)-69 ó (-)-69]. El óxido de fosfina 161 se obtiene por degradación de la vitamina D_3 (5 etapas, 17%).

El auxiliar quiral dioxolanona **69**, ha sido desarrollado por el Prof. Seebach (ETH, Zürich, Suiza)⁹⁸ y utilizado en reacciones de alquilación de enolatos de forma diastereoselectiva. Estos compuestos presentan una serie de ventajas que las hacen muy interesantes en síntesis, y en concreto como sustratos en las reacciones de adición conjugada anteriormente citadas: (a) se pueden preparar los dos enantiómeros fácilmente a partir de ácido láctico (D ó L), (b) poseen un centro quiral cercano a la parte reactiva de la molécula que va a favorecer la diastereoselectividad de la reacción, (c) el auxiliar quiral puede ser eliminado fácilmente y (d) la posición β no presenta sustitución, lo que aumenta la reactividad en reacciones de adición conjugada.

Estas dioxolanonas ya han sido utilizadas anteriormente en reacciones de adición conjugada radicalaria (su reactividad con los cupratos clásicos es baja) obteniéndose diastereoselectividades moderadas.⁹⁹ En nuestro grupo de investigación, Dña. Olga de Uña estudió la diastereoselectividad de las adiciones de yoduros alquílicos sobre la dioxolanona (-)-**69** (esquema 62), obteniendo los compuestos de adición conjugada correspondientes en una relación 13:1 (86% de exceso diastereomérico).¹⁰⁰

Esquema 62



Con estos precedentes, nos decidimos a aplicar esta reacción a la síntesis de análogos de vitamina D₃ hidroxilados de C-24 mediante la

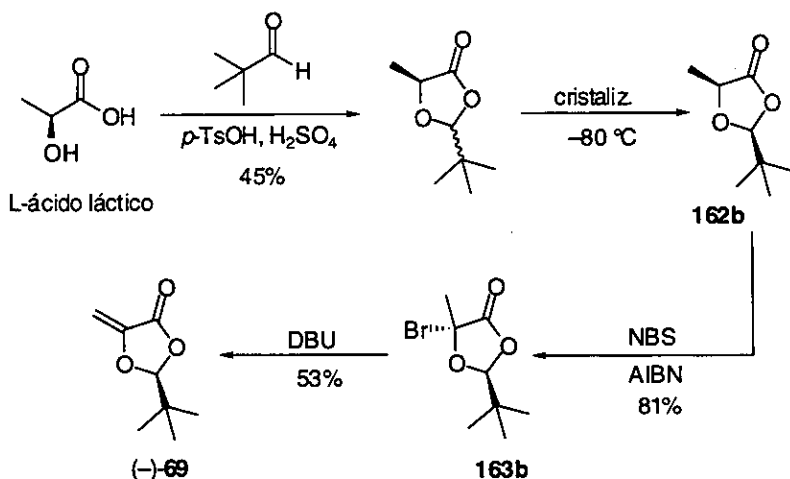
- (98) (a) Seebach, D.; Naef, R.; Calderari, G. α -Alkylation of α -heterosubstituted carboxylic acids without racemization. EPC-syntheses of tertiary alcohols and thiols. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1313–1324. (b) Seebach, D.; Fadel, A. *N,O*-Acetals from pivalaldehyde and amino acids for the α -alkylation with self-reproduction of the center of chirality. Enolates of 3-benzoyl-2-(*tert*-butyl)-1,3-oxazolidin-5-ones. *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1243–1250. (c) Zimmermann, J.; Seebach, D. Brominations of cyclic acetals from α -amino acids and α - or β -hydroxy acids with *N*-bromosuccinimide. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1104–1114.
- (99) Beckwith, A. L. J.; Chai, C. L. L. Diastereoselective radical addition to derivatives of dehydroalanine and of dehydrolactic acid. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1087–1088.
- (100) De Uña, O. *Tesis de Licenciatura*; Universidade da Coruña, 1999.

utilización de las correspondientes dioxolanonas y un yoduro precursor del biciclo CD de la vitamina D₃.

4.3. SÍNTESIS Y REACTIVIDAD DE LAS DIOXOLANONAS (+)-69 Y (-)-69.

Nuestros primeros pasos se dirigieron hacia la síntesis de los dos enantiómeros de la dioxolanona **69** [(+)-**69** y (-)-**69**] con el propósito de disponer de los dos derivados hidroxilados (epímeros) en la posición C-24. Siguiendo la metodología descrita por el Prof. Seebach,⁹⁸ El L-ácido láctico se hizo reaccionar con pivalaldehído en hexano, en presencia de una cantidad catalítica de *p*-TsOH y H₂SO₄ conc. Se obtuvo la dioxolanona **162** como una mezcla de diastereómeros en una relación *cis:trans* 4:1. La cristalización en Et₂O:hexanos a -80 °C de la mezcla de diastereómeros condujo al isómero *cis* mayoritario (**162b**) en un rendimiento global del 45%. Los datos espectrocópicos de la dioxolanona **161** así como su rotación óptica coinciden con los valores publicados. En el espectro de ¹H-RMN de **162b** se observan la señal correspondiente a los hidrógenos del *t*-butilo a $\delta = 0.96$ ppm como singlete, el doblete correspondiente a los hidrógenos del metilo en C-2 a $\delta = 1.46$ ppm ($J = 6.5$ Hz), el hidrógeno cetálico a $\delta = 4.34$ ppm como doblete cuadruplete ($J = 6.7$ y 1.0 Hz) y el hidrógeno en α al carbonilo a $\delta = 5.13$ ppm como un doblete ($J = 1.0$ Hz). La rotación óptica medida del compuesto obtenido fue $[\alpha]_D^{21} = +45.40$ (c 2.15, CHCl₃), muy similar a la publicada $[\alpha]_D^{25} = +44.8$ (c 1.83, CHCl₃).

Esquema 63

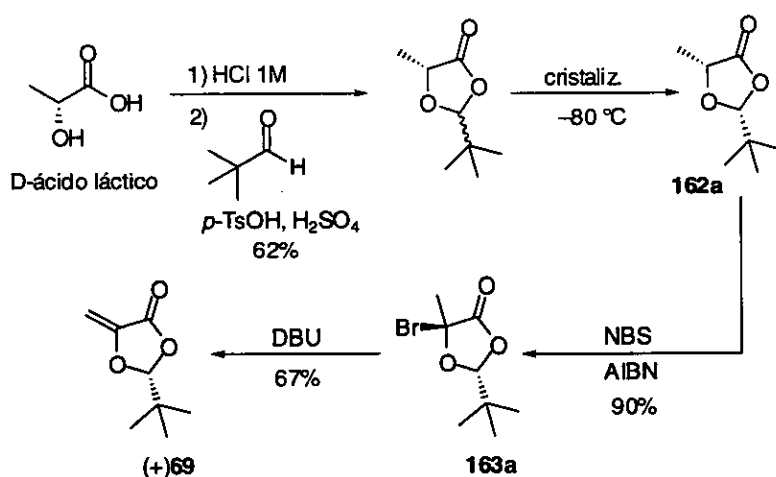


La bromación radicalaria de **162b** con NBS/AIBN condujo al bromuro **163b** en un rendimiento del 81%, compuesto que se identificó por su espectro de $^1\text{H-RMN}$ y cuyos datos espectrocópicos coinciden con los publicados.⁹⁸ El espectro de $^1\text{H-RMN}$ muestra un singlete a $\delta = 1.01$ ppm de los hidrógenos del *t*-butilo, los hidrógenos del metilo a $\delta = 2.22$ ppm como un singlete y otro singlete que integra por un hidrógeno $\delta = 5.22$ ppm correspondiente al hidrógeno del C-2. La deshidrobromación de **163b** con DBU proporcionó la dioxolanona α,β -insaturada (**(-)-69**) deseada en un rendimiento del 53%, similar al publicado. En el $^1\text{H-RMN}$ se observa un solo singlete a $\delta = 0.98$ ppm de los hidrógenos del *t*-butilo, los hidrógenos vinílicos a $\delta = 4.86$ y 5.13 ppm como dobletes ($J = 2.9$ Hz) y una única señal correspondiente al hidrógeno acetálico a $\delta = 5.44$ ppm. La rotación óptica observada fue $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -11.11$ (c 2.44, CHCl_3) mientras que la publicada en la bibliografía es $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.9$ (c 1.16, CHCl_3).

La preparación de (+)-**69**, enantiómero de (**(-)-69**), se realizó a partir de D-lactato sódico, siguiendo la metodología descrita anteriormente.⁹⁸ El D-lactato sódico se transformó en D-ácido láctico por tratamiento con HCl 1 M y se trató con pivalaldehído, *p*-TsOH y H_2SO_4 concentrado en hexano, en presencia de tamices moleculares 4Å. Después de la elaboración y purificación se obtuvo una mezcla de diastereómeros en una relación 4:1 *cis:trans* de la que se separó por cristalización en $\text{Et}_2\text{O}:\text{hexanos}$ (1:1) a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ el isómero mayoritario *cis* (**162a**) de elevada pureza óptica (e. d.: 98%) en un rendimiento del 62%. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ coincide con el de su

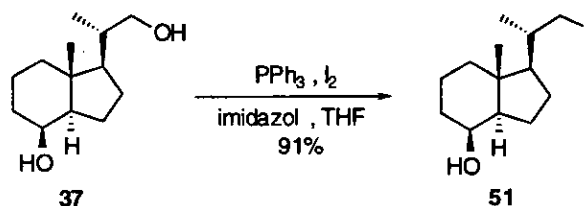
enantiómero. La bromación de **162a**, según condiciones experimentales descritas, con NBS y AIBN a reflujo proporcionó **163a** en un 90% de rendimiento. En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ se observa un singlete a $\delta = 1.01$ ppm de los hidrógenos del *t*-butilo, los hidrógenos del metilo en C-5 como un singlete a $\delta = 2.21$ ppm y el hidrógeno del C-2 a $\delta = 5.22$ ppm. La posterior deshidrobromación con DBU dio lugar a la dioxolanona α,β -insaturada (+)-**69** deseada en un rendimiento del 67%. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ coincide con el de su enantiómero (-)-**69** y la rotación óptica, $[\alpha]_D^{27} = +21.62$ (c 1.50, CHCl_3), está de acuerdo con la publicada.

Esquema 64



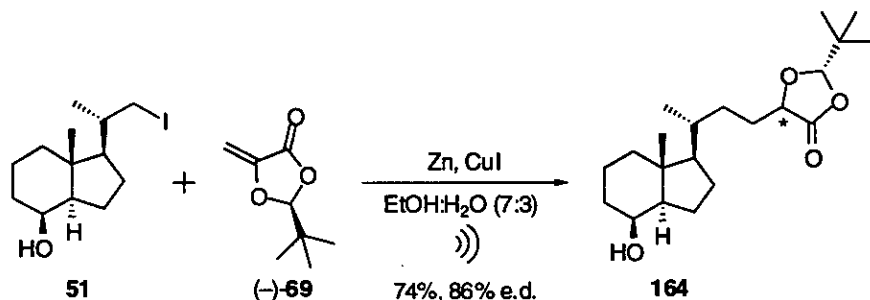
Una vez sintetizados los dos enantiómeros de la dioxolanona **69** procedimos a estudiar su utilidad en la síntesis de metabolitos y análogos de la vitamina D_3 . Para ello nos propusimos estudiar la estereoselectividad frente al yoduro **51** que contiene el biciclo CD de la vitamina y que se obtiene a partir del diol de Inhoffen-Lythgoe **37** en una sola etapa.^{64b}

Esquema 65



Los primeros ensayos de adición conjugada se realizaron con la dioxolanona (–)-**69**, que se obtiene a partir del L-ácido láctico. Para ello, sobre una disolución de la dioxolanona (–)-**69** y el yoduro **51** en EtOH acuoso (7:3) se añadió Zn y CuI y se irradió con ultrasonidos, observándose, después de 90 min, la desaparición de los compuestos de partida. Elaboración y purificación proporcionaron un producto que se identificó como el de adición conjugada **164**, en un rendimiento del 74%, como una mezcla de diastereómeros en una relación 13:1 (86% e. d.). El espectro de ^1H -RMN muestra las señales características del bicyclo CD y de la dioxolanona, el metilo de C-18 como un singlete a $\delta = 0.93$ ppm, el metilo de C-21 como un doblete ($J = 4.4$ Hz) a $\delta = 0.92$ ppm y el hidrógeno de C-8 como un doblete ($J = 2.9$ Hz) a $\delta = 4.08$ ppm, así como la señal correspondiente a los nueve hidrógenos del *t*-butilo a $\delta = 0.98$ ppm como un singlete. En el espectro de masas aparece una señal a 353 m/z coincidente con el ión molecular, y en el de IR la señal del carbonilo a 1749 cm^{-1} .

Esquema 66



Una vez conseguido el producto de adición conjugada **164** con un excelente exceso diastereómero, nuestros objetivos se centraron en la determinación de la estereoquímica de la posición C-24, la purificación y separación de los diastereómeros y la introducción de los metilos C-26 y C-27 para su posterior utilización en la síntesis de metabolitos de la vitamina D. La aproximación más versátil sería la formación del sistema triénico a partir de **164** y posterior funcionalización de la cadena lateral. Sin embargo los ensayos de reacción de Wittig-Horner entre la cetona, obtenida por oxidación del alcohol **164**, con el óxido de fosfina precursor del anillo A **161** no

condujeron a resultados satisfactorios, obteniéndose productos de descomposición de la oxazolidinona.

En consecuencia decidimos romper el cetal que enmascara al α -hidroxiácido antes de formar el sistema triénico. Aunque se han descrito diferentes métodos de desprotección (HCl 4 M, para obtener el α -hidroxiácido, o AG[®] 50W-X4 para obtener el α -hidroxiéster de metilo) decidimos introducir directamente los metilos C-26 y 27 por reacción de adición de MeMgBr sobre el carbonilo en C-25, de esta forma probablemente nos ahorraríamos varias etapas en la síntesis.

La reacción de la dioxolanona **164** con exceso de MeMgBr (10 equiv) condujo al triol **165** en un rendimiento del 86%, como mezcla de diastereómeros en una relación 13:1 (e. d.: 87%). El triol **165** se identificó por ¹H-RMN por las señales características de H-8 (doblete a 4.06 ppm, $J = 2.0$ Hz), C-18 (singlete a 0.93 ppm), C-21 (doblete 0.91 ppm, $J = 5.9$ Hz), dos singletes correspondientes a los metilos C-26 y C-27 a $\delta = 1.18$ y 1.20 ppm y un doblete ($J = 9.8$ y 2.0 Hz) a $\delta = 3.26$ y 3.33 ppm correspondiente al metino de C-24. La estructura de **165** se confirmó también de forma inequívoca mediante análisis de difracción de Rayos X, mostrando que la estereoquímica en C-24 es *S*.

Esquema 67

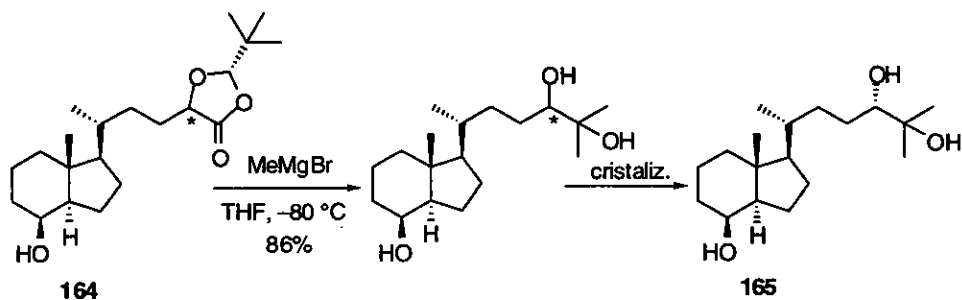
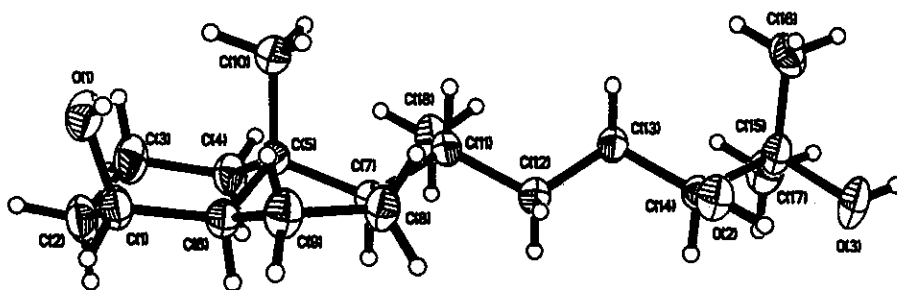
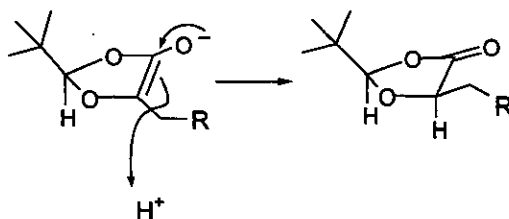


Figura 9. Estructura de Rayos X (ORTEP) de **165** (elipsoides al 30%).



Una vez establecida la estereoquímica en C-24 podemos concluir que durante la adición conjugada la protonación del enolato resultante ocurre *anti* al grupo *t*-butilo, grupo con mayor impedimento estérico, resultado consistente con precedentes bibliográficos de este sustrato en reacciones de α -alquilación.¹⁰¹

Esquema 68



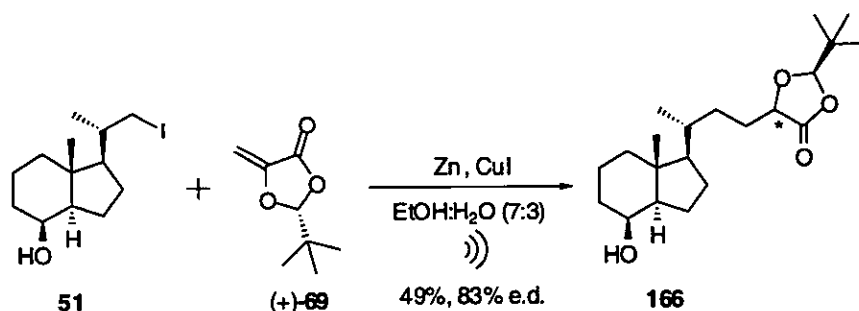
Una vez realizada la adición conjugada del yoduro **51** sobre la dioxolanona (–)-**69**, y determinada la estereoquímica de C-24, procedimos a realizar la adición conjugada sobre la dioxolanona (+)-**69**, enantiómero de (–)-**69**, con objeto de determinar si la diastereoselectividad de la reacción provenía exclusivamente de la dioxolanona o del yoduro y la dioxolanona (doble diastereoselectividad).

Cuando la dioxolanona (+)-**69** se sometió a las condiciones de adición conjugada inducida por ultrasonidos con el yoduro **51**, de la misma forma que

(101) Seebach, D. y col. Structure and reactivity of five- and six-ring *N,N*, *N,O*, and *O,O*-acetals: a lesson in allylic 1,3-strain ($A^{1,3}$ strain). *Helv. Chim. Acta*, 1992, 75, 913–934.

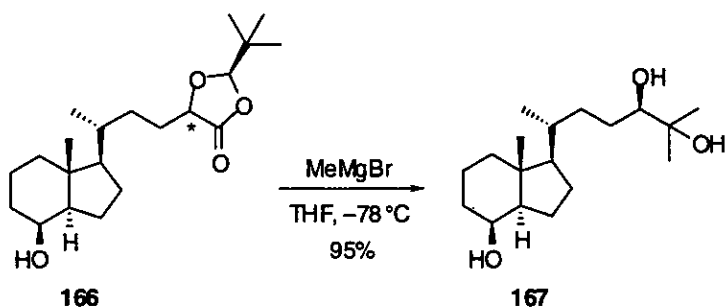
con su enantiómero, se obtuvo el producto de adición conjugada **166**, en un rendimiento del 49% y una relación diastereomérica 1:11 (e. d. 83%). También se obtuvo el producto de protonación del yoduro y se recuperó parte de la dioxolanona α,β -insaturada. En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ se observan los metilos C-21 y C-18 a $\delta = 0.93$ (d, $J = 4.5$ Hz) y 0.95 ppm respectivamente, así como un singlete correspondiente a los nueve H del grupo *t*-butilo a $\delta = 0.98$ ppm, un multiplete correspondiente al H-20 a $\delta = 4.25$ ppm y el doblete a $\delta = 5.12$ ppm ($J = 1.1$ Hz) correspondiente al metino C-24. En el espectro de IR aparece la banda característica del carbonilo a 1796 cm^{-1} , y en EM una señal a 352 m/z (4%) coincidente con el $\text{M}^+ - \text{H}$.

Esquema 69



De manera análoga a su epímero **164**, el alcohol-dioxolanona **166** se transformó en el triol **167** por tratamiento con exceso de MeMgBr (8.0 equiv) a $-80\text{ }^\circ\text{C}$, en un rendimiento del 95%, como una mezcla de diastereómeros en una relación 1:11 (e. d.: 83%). El producto se identificó mediante $^1\text{H-RMN}$, por la presencia de tres singletes a $\delta = 0.94$, 1.18 y 1.20 ppm, correspondientes a los metilos C-18, C-26 y C-27 respectivamente, así como un doblete a $\delta = 0.92$ ppm ($J = 6.5$ Hz) del metilo C-21 y dos singletes anchos a $\delta = 3.33$ y 4.08 ppm, debidos a los hidrógenos H-24 y H-8. En el espectro de masas aparece una señal a 298 m/z (25%), coincidente con la esperada para el ión molecular, y en el de IR una banda ancha a 3186 cm^{-1} debida a los grupos hidroxilo.

Esquema 70



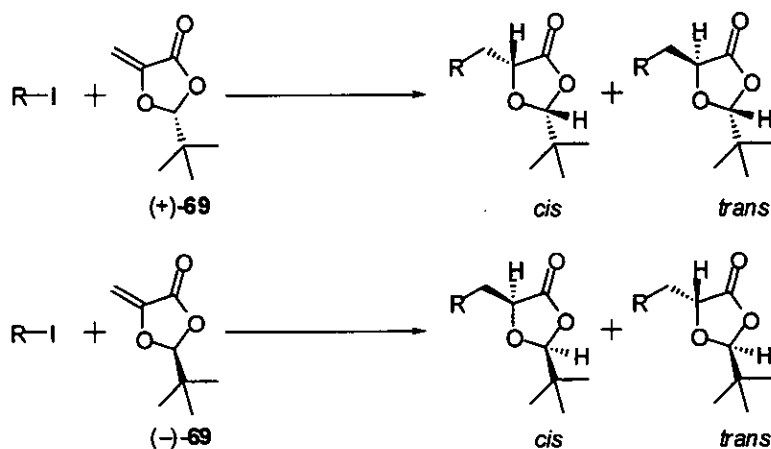
El triol **167**, epímero de **165** en C-24, no se pudo cristalizar, por lo que la estereoquímica (*24R*) se asignó en base a los estudios de adición conjugada, que muestran la exclusiva influencia del compuesto α,β -insaturado, en este caso la dioxolanona **69**, sobre la estereoquímica del nuevo centro quiral formado en la reacción. Después de la purificación de **167** por cromatografía en columna su espectro de $^1\text{H-RMN}$ no muestra trazas de su epímero **165**. Comparando los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de **165** (*24S*) y **167** (*24R*) se observan significativas diferencias entre las señales correspondientes a los hidrógenos H-24 [δ (**165**) = 3.27 ppm (dd, $J = 9.8$ y 2.0 Hz) y δ (**167**) = 3.33 ppm (s ancho)] y H-8 [δ (**165**) = 4.06 ppm (d, $J = 1.96$ Hz) y δ (**167**) = 4.08 (s ancho)].

Los excesos diastereoméricos para la reacción de **51** con (+)-**69** y con (-)-**69** son del mismo orden, al igual que los obtenidos previamente en reacciones con un yoduro aquiral. Según estos resultados, podemos afirmar que nos encontramos ante un caso de diastereoselección simple únicamente inducida por el grupo *t*-butilo de la dioxolanona, sin que parezca existir influencia del bicyclo esteroidal en la diastereoselectividad de la reacción.¹⁰²

Los resultados obtenidos en las reacciones de adición conjugada se resumen en la tabla 2.

(102) Resultados previos, obtenidos por miembros de este grupo de investigación, parecen indicar que en las adiciones de **46** a otros sustratos α,β -insaturados quirales existe doble diastereoselección (ref. 64).

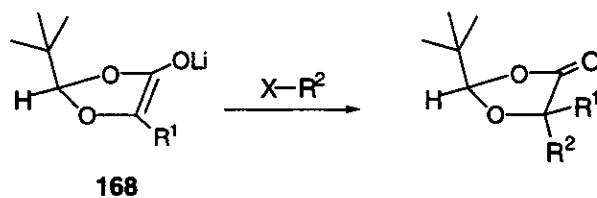
Tabla 2



R-I	dioxolanona	cis/trans
C ₉ H ₁₁ -I	(-)-69 (S)	13:1
51	(-)-69 (S)	13:1
51	(+)-69 (R)	11:1

Además, una comparación de las diastereoselectividades obtenidas en esta reacción, y las obtenidas por el Prof. Seebach en las alquilaciones de enolatos de dioxolanonas del mismo tipo, muestran excesos diastereoméricos similares (tabla 3).¹⁰¹ Podemos afirmar que el tamaño del electrófilo (H⁺ en nuestro caso, grupos alquilo y bencilo en el caso de Seebach) no es clave en la diastereoselectividad de la reacción.

Tabla 3



enolato	R ¹	R ² -X	%	e. d.
168	CH ₃	C ₇ H ₁₅ I	84	96
168	CH ₃	CH ₂ CHCH ₂ Br	77	98
168	C ₆ H ₅	C ₃ H ₇ I	84	95
168	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃ I	30	> 95
168	CH ₂ CO ₂ H	CH ₃ I	79	> 95
168	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅ Br	81	96

Obtenidos los trioles **165** y **167** hidroxilados en la posición C-24 diastereoméricamente puros, decidimos llevar a cabo la síntesis de los metabolitos **24R** y **24S**-hidroxilados de la vitamina D₃. El interés de preparar los dos diastereómeros reside en su utilización en estudios sobre el metabolismo de la vitamina D₃ y su actividad biológica pues, como ya se indicó en la introducción, las respuestas biológicas asociadas a los metabolitos 24-hidroxilados no están claras. Por esta misma razón preparamos también la $1\alpha,24R,25-(OH)_3-D_3$, metabolito producto de la 24-hidroxilación del calcitriol al que se han atribuido acciones biológicas.^{88,103}

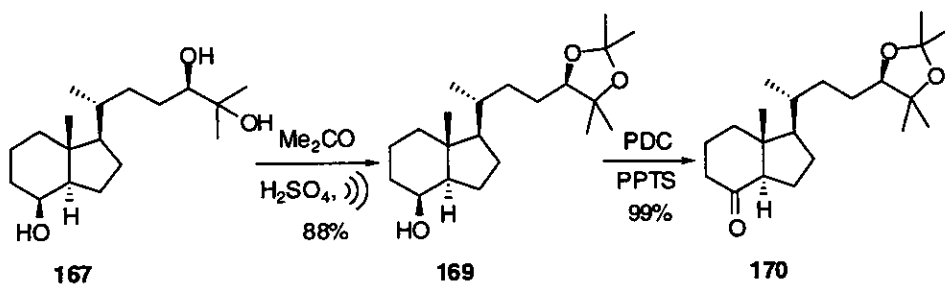
(103) Holick, M. F.; Kleiner-Bossaller, A.; Schnoes, H. K.; Kasten, P. M.; Boyle, I. T.; DeLuca, H. F. 1,24,25-Trihydroxyvitamin D₃. Metabolite of vitamin D₃ effective on intestine. *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 6691-6696

4.4. SÍNTESIS DE 24R,25-DIHIDROXIVITAMINA D₃ Y 1 α ,24R,25-TRIHIDROXIVITAMINA D₃.

Una vez preparados los trioles **165** y **167**, epímeros en la C-24 nos planteamos la síntesis de los metabolitos de vitamina D₃ con configuración 24R y 24S. Dada la importancia biológica del metabolito 24R,25-(OH)₂-D₃, fue éste nuestro primer objetivo. También abordamos la síntesis del compuesto análogo hidroxilado en la posición C-1 α por su interés para el estudio de la ruta catabólica de la vitamina D₃.

Para llevar a cabo la síntesis de los metabolitos 24R-y 1 α ,24R-hidroxilados, en el triol **167** se protegieron los hidroxilos en las posiciones C-24 y C-25 mediante la formación de un cetal. El triol **167** se trató con acetona y una cantidad catalítica de H₂SO₄ conc., y bajo la acción de los ultrasonidos,¹⁰⁴ obteniéndose después de 90 min, el cetal **169** en un rendimiento del 88%. El espectro de ¹H-RMN muestra cuatro singletes a δ = 1.11, 1.26, 1.37 y 1.42 ppm correspondientes a los metilos cetálicos y a los metilos en posición C-26 y C-27, un doblete (J = 5.6 Hz) a δ = 0.93 ppm correspondiente al metilo C-21 y un singlete ancho a δ = 4.08 ppm debido al hidrógeno de C-8. Como era esperado, la reacción de cetalización permitió la diferenciación de los hidroxilos C-24,25 del hidroxilo situado en C-8.

Esquema 71



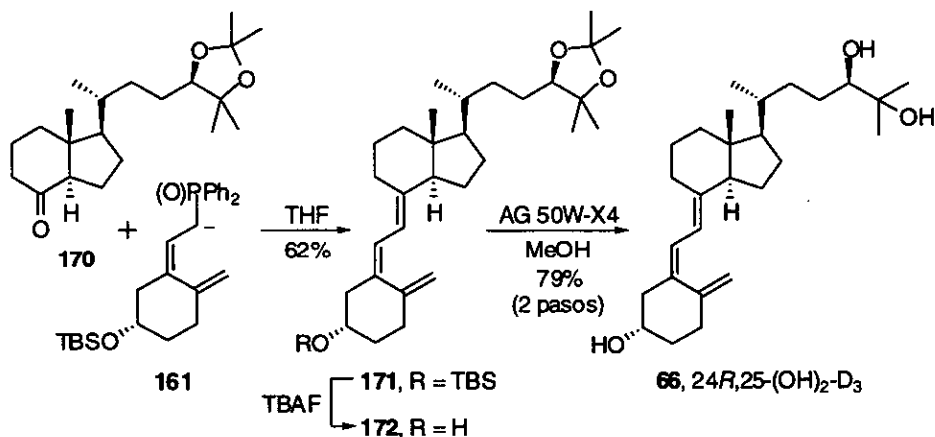
El tratamiento de **169** con PDC y una cantidad catalítica de PPTS durante 90 min proporcionó la cetona **170** en un rendimiento del 99%. En el espectro de ¹H-RMN se observaron las señales características de los

(104) Einhorn, C.; Luche, J. L. Ultrasound in organic synthesis. Part 8. Ready preparation of sugar acetals under ultrasonic irradiation. *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, 258–261.

hidrógenos de C-18 y C-21 y la señal debida a los hidrógenos del metilo en C-18 sensiblemente desplazada a campo alto, como es habitual en las hidrindanonas. El espectro de masas, con un pico a $337 m/z$ ($M^+ + 1, 22$), y el ^{13}C -RMN confirmaron la estructura propuesta.

La construcción del sistema triénico del metabolito $24R,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ se llevó a cabo por reacción de Wittig-Horner entre la cetona **170** y el anión del óxido de fosfina **161** correspondiente al anillo A generado por tratamiento con *n*-BuLi a baja temperatura. Después de 5 h de reacción se obtuvo como producto mayoritario la vitamina **171** en un rendimiento del 62%. La estructura de vitamina protegida **171** se asignó por las señales de ^1H -RMN, dos singletes a $\delta = 0.06$ y 0.07 ppm correspondientes a los dos metilos del grupo protector TBS, una señal asignable a los hidrógenos del metilo C-18 como un singlete a $\delta = 0.56$ ppm, un singlete debido al *t*-butilo del grupo TBS a $\delta = 0.87$ ppm, un doblete ($J = 5.9$ Hz) a $\delta = 0.95$ ppm de los hidrógenos del metilo C-21, dos singletes anchos a $\delta = 4.76$ y 5.00 ppm respectivamente, debidas a los hidrógenos del C-19 y dos dobletes ($J = 11.2$ Hz) a $\delta = 6.01$ y 6.18 ppm debidos a los hidrógenos del sistema triénico.

Esquema 72



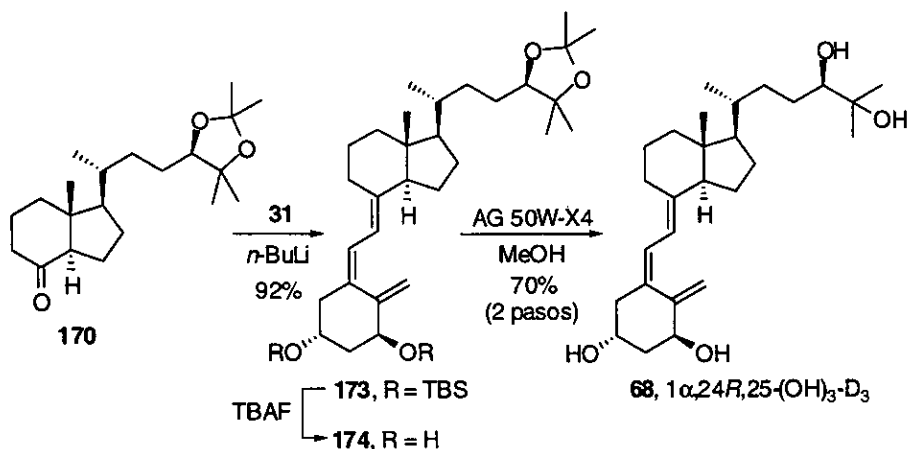
La vitamina **171** se transformó en el metabolito deseado (**66**) en dos etapas, sin purificación intermedia del crudo de reacción. En primer lugar se trató con TBAF (2.2 equiv) y a continuación, el crudo de reacción se disolvió en MeOH y se añadió resina catiónica AG[®] 50W-X4. Después de 24 h se aisló un nuevo compuesto muy polar en un rendimiento de un 79% en dos etapas.

El espectro $^1\text{H-RMN}$ presenta las señales características del sistema vitamínico (sistema AB a $\delta = 6.02$ y 6.21 ppm, $J = 11.2$ Hz), el metilideno C-19 dos singletes a 4.74 ppm y 5.02 ppm, el metilo C-18 como un singlete a $\delta = 0.56$ ppm, el metilo C-21 a $\delta = 0.95$ (d, $J = 5.9$ Hz). El espectro de masas muestra un pico a 416 m/z (11%) que coincide con el ión molecular. Estos datos coinciden con los ya publicados.

De esta manera se ha desarrollado una síntesis estereoselectiva del metabolito $24R,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ (**66**) a partir del yoduro **51**, que contiene el bicyclo CD, el óxido de fosfina **161**, conteniendo el anillo A, y empleando como auxiliar quiral la dioxolanona de Seebach **69**. La estrategia sintética convergente, que consta de 6 etapas desde el yoduro y un rendimiento global de 20%, es sin duda uno de los métodos más eficaces de síntesis de este metabolito, muestra de ello es el hecho que varias empresas farmacéuticas han mostrado su interés en patentarlo.

Paralelamente a la síntesis de $24R,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$, también nos hemos planteado llevar a cabo la síntesis del derivado 1α -hidroxilado. Este compuesto es de interés para el análisis de la ruta catabólica de su metabolito precursor, el $24R,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$. Utilizando como compuesto de partida el la cetona **170**, dónde los hidroxilos en C-24 y C-25 están protegidos como un cetal, nos propusimos la formación del sistema triénico con el óxido de fosfina 1α -hidroxilado **31**. Con este objeto, la cetona **170** se trató con el anión del óxido de fosfina **31** a baja temperatura y en ausencia de luz. Después de 2 h 30 min de reacción, se obtuvo como producto mayoritario la vitamina protegida **173** en un rendimiento del 92%. El compuesto se identificó por $^1\text{H-RMN}$, observándose un singlete a $\delta = 0.06$ ppm correspondiente a los dos metilos unidos al silicio, una señal asignable a los hidrógenos del metilo C-18 como un singlete a $\delta = 0.53$ ppm, un singlete debido al *t*-butilo a $\delta = 0.87$ ppm, un doblete ($J = 5.9$ Hz) a $\delta = 0.95$ ppm asignable a los hidrógenos del metilo C-21, dos dobletes ($J = 2.4$ y 2.0 Hz) a $\delta = 4.84$ y 5.18 ppm respectivamente, debidas a los hidrógenos del C-19 y dos dobletes ($J = 11.2$ Hz) a $\delta = 6.02$ y 6.26 ppm debidos a los hidrógenos vinílicos de C-6 y C-7.

Esquema 73



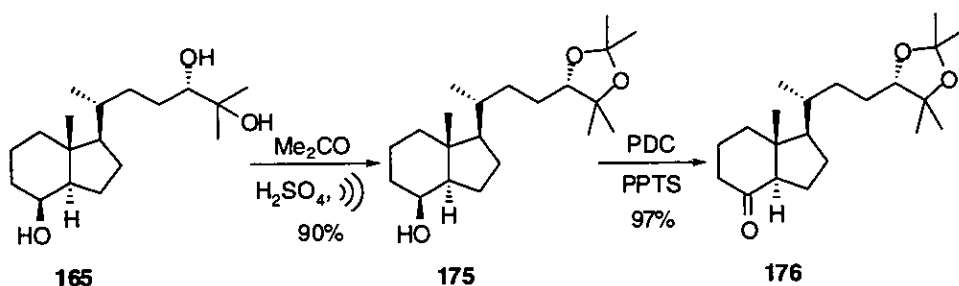
La vitamina **173** se desprotegió en dos etapas. En primer lugar se trató una disolución de **173** con $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ a t. a. en ausencia de luz. Al crudo de reacción se añadió resina catiónica AG[®] 50W-X4 y, después de 22 h, se aislaron dos compuestos: un compuesto intermedio de semidesprotección, asignado por RMN como **174**, y otro muy polar cuyo $^1\text{H-RMN}$ presenta las señales características de la estructura de la vitamina 1α -hidroxilada, y la ausencia del grupo protector. Por otro lado, se observan dos singletes a $\delta = 1.12$ y 1.15 ppm que integran por tres hidrógenos cada uno, correspondientes a los metilos C-26 y C-27. De esta manera se preparó el metabolito $1\alpha,24R,25$ -trihidroxivitamina D_3 (**68**), precursor del ácido calcitroico (**21**), compuesto final en la desactivación catabólica de la vitamina. Estos resultados demuestran la utilidad de la ruta sintética para la obtención de derivados 1α -hidroxilados.

4.5. SÍNTESIS DE 24S,25-DIHIIDROXIVITAMINA D₃.

Una vez sintetizados los metabolitos de la vitamina D con configuración (24R), y teniendo en cuenta, que mediante reacción de adición conjugada estereoselectiva sobre la dioxolanona (-)-69 hemos obtenido el triol 165 diastereoméricamente puro de configuración (24S), nos planteamos la síntesis del metabolito 24S,25-(OH)₂-D₃. Aunque este metabolito parece ser inactivo para las funciones clásicas de la vitamina D₃, la cadena lateral 24S,25-dihidroxilada está presente en diferentes esteroides por lo que su síntesis es de interés.¹⁰⁵

La síntesis comenzó utilizando el triol 165 previamente preparado. La primera etapa fue la protección de los hidroxilos en C-24 y C-25 como un cetal, mediante procedimiento análogo al desarrollado para el triol 167, obteniéndose después de 90 min el cetal 175 en un rendimiento del 90%.¹⁰⁴ El compuesto identificó por su espectro de ¹H-RMN, en el que se observó a $\delta = 0.93$ ppm el singlete correspondiente al metilo C-18 y, al mismo δ , el doblete ($J = 5.4$ Hz) correspondiente al metilo C-21, se observaron también un doblete ($J = 2.4$ Hz) a $\delta = 4.08$ ppm debido al hidrógeno de C-8, y cuatro señales singlete a $\delta = 1.10, 1.25, 1.33$ y 1.41 ppm asignadas a los dos metilos cetálicos y a los metilos en posición C-26 y C-27.

Esquema 74

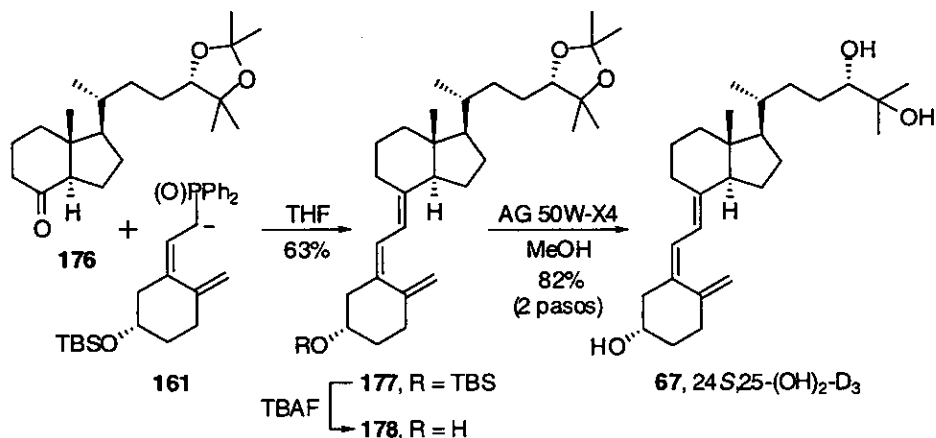


(105) (a) Ercoli, A.; De Ruggieri, P. The constitution of cerebrosterol, a hydroxycholesterol isolated from horse brain. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75* 3284. (b) Moore, K. S.; Wehrli, S.; Roder, H.; Rogers, M.; Forrest, J. N., Jr.; McCrimmon, D.; Zasloff, M. Squalamine: An aminosterol antibiotic from the shark. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, *90*, 1354-1358.

La oxidación de **175** con PDC y una cantidad catalítica de PPTS condujo a la cetona **176** en un rendimiento del 97%. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ muestra las señales características de los hidrógenos de C-18 y C-21 a $\delta = 0.64$ y 0.98 (d, $J = 5.8$ Hz) ppm respectivamente, la del hidrógeno H-24 a $\delta = 3.60$ ppm como un doblete (d, $J = 6.1$ y 1.0 Hz), y la ausencia del hidrógeno de C-8, como cabía esperar. Además presenta el singlete debido a los hidrógenos del metilo en C-18 sensiblemente desplazado a campo alto, como es habitual en las *trans*-hidrindanonas, así para el alcohol el singlete aparecía a $\delta = 0.93$ ppm y para la cetona se desplaza hasta $\delta = 0.64$ ppm. El espectro de IR muestra la señal del carbonilo a 1720 cm^{-1} . La estructura se corroboró por EM, con un pico a 321 m/z (100%) coincidente con el $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, y por $^{13}\text{C-RMN}$.

La síntesis del sistema triénico se llevó a cabo por reacción de Wittig-Horner entre la cetona **176** y el anión del óxido de fosfina **161** correspondiente al anillo A,^{54c} a baja temperatura, obteniéndose después de 5 h la vitamina protegida **177** en un rendimiento del 63%. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ muestra un singlete a $\delta = 0.06$ ppm correspondiente a los dos metilos del grupo protector TBS, una señal asignable a los hidrógenos del metilo C-18 como un singlete a $\delta = 0.54$ ppm, un singlete debido al *t*-butilo del grupo TBS a $\delta = 0.88$ ppm, un doblete ($J = 5.9$ Hz) a $\delta = 0.95$ ppm asignable a los hidrógenos del metilo C-21, dos dobletes ($J = 1.9$ y 1.0 Hz) a $\delta = 4.76$ y 5.01 ppm respectivamente, debidas a los hidrógenos del C-19 y dos dobletes ($J = 11.2$ Hz) a $\delta = 6.01$ y 6.18 ppm debidos a los hidrógenos vinílicos de C-6 y C-7.

Esquema 75



La vitamina se desprotegió en dos etapas, sin purificación intermedia del crudo de reacción. Se trató **177** con $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ (2 equiv.) y a continuación con resina catiónica AG[®] 50W-X4 aislando, después de 24 h, un producto de reacción muy polar. El compuesto **67** se identificó como 24S,25-dihidroxitamina D₃ (82%, 2 etapas). El espectro de ¹H-RMN del triol **67** presenta las señales características del sistema triénico de la vitamina a $\delta = 6.02$ y 6.22 (sistema AB, $J = 11.2$ Hz), una señal a $\delta = 3.21$ (d, $J = 9.3$ Hz) asignada al H-24 y dos singletes a $\delta = 1.12$ y 1.15 ppm que integran por tres hidrógenos cada uno. El espectro de ¹³C-RMN es coherente con la estructura propuesta y en EM aparece un pico a 416 m/z (18%), coincidente con el ión molecular.

De este modo hemos finalizado la preparación diastereoselectiva de metabolitos 24-hidroxilados de la vitamina D₃. Esta ruta sintética muestra una elevada diastereoselectividad y es lo suficientemente versátil como para permitir la preparación de otros análogos hidroxilados en C-24. Además, es la primera en la que la inducción asimétrica se lleva a cabo en medio acuoso.

5

PARTE EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. GENERAL.

Las reacciones en disolventes apróticos se realizaron en atmósfera de argón seco. Los disolventes se purificaron según las indicaciones de Brown¹⁰⁶ y se secaron inmediatamente antes de su uso por calentamiento a reflujo en atmósfera inerte seguido de destilación desde un agente desecante adecuado. Los agentes desecantes de los disolventes más comunes fueron: Na/benzofenona para THF, Et₂O, benceno y tolueno; CaH₂ para CH₂Cl₂, ciclohexano, piridina (se almacenó sobre KOH), *i*-Pr₂NH y Et₃N; Mg/I₂ para MeOH y EtOH; P₂O₅ para CH₃CN y K₂CO₃ para acetona. El agua empleada como disolvente en disoluciones y reacciones, fue desionizada en un aparato Millipore®. El Zn se purificó mediante sucesivos tratamientos (agitación, decantación y eliminación del disolvente por gravedad) con HCl 2%, H₂O destilada y NH₄Cl;¹⁰⁷ el sólido se filtró, lavó con EtOH, Et₂O y DMF y se secó sobre P₂O₅ a vacío 24 h. El CuI se purificó por tratamiento con disolución de KI y carbón activo a reflujo; filtrado a gravedad de la suspensión resultante, precipitación por adición de agua destilada y filtrado a presión reducida.¹⁰⁸ El CuI precipitado se lavó sucesivamente con H₂O destilada, EtOAc y Et₂O, y se secó sobre P₂O₅ a vacío durante 24 h protegido de la luz. El reactivo de Jones se preparó según las indicaciones de Meinwald¹⁰⁹ por adición de H₂SO₄ sobre una disolución de CrO₃ en agua a 0 °C, y disolución del precipitado rojo formado por adición de agua. Esta disolución se almacenó en el frigorífico (4 °C) para su utilización en reacciones de oxidación. Salvo indicación contraria, los demás reactivos y disolventes son comerciales y se utilizaron sin purificar.

Las reacciones a baja temperatura se realizaron empleando baños de N₂ líquido con un disolvente apropiado, o empleando una sonda de refrigeración

(106) Brown, H. C. *Organic Synthesis via Boranes*; Wiley: New York, 1975.

(107) Fieser, L. F.; Fieser, M. *Reagents for Organic Sintesis*, John Wiley & Sons: New York, 1967; Vol. 1, p. 1292.

(108) Kauffman, G. B.; Teter, L. A. Tetrakis[iodo(tributylphosphine)copper(I)] and iodo(2,2'-bipyridine)(tributylphosphine)copper(I). *Inorg. Synth.* 1963, 7, 9-12.

(109) Meinwald, J.; Crandall, J.; Hymans, W. E. *Organic Syntheses*, John Wiley & Sons: New York, 1973; Coll. Vol. 5, p. 866.

Cryocool-Immersion Cooler CC-100 II de Neslab. Las reacciones fotoquímicas fueron llevadas a cabo con una lámpara de luz visible Philips Reflector R125 (300 W). Las reacciones sonoquímicas se realizaron en un baño de ultrasonidos Kerry Pulsatron (50 kHz). La temperatura del baño se mantuvo constante (18–20 °C) durante la irradiación ultrasónica por medio de un refrigerante de acero inoxidable en la periferia del baño, sin que interfiriese con la emisión de los transductores del aparato. Las reacciones fueron realizadas bajo atmósfera de argón empleando tubos de reacción de fondo redondo de 16 cm de largo y 2.7 cm de diámetro.

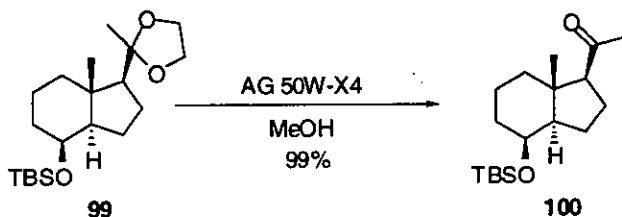
Para la cromatografía en capa fina (CCF) se utilizó gel de sílice Merck 60 F₂₅₄, las manchas se visualizaron bajo luz UV (254 nm) o por revelado al calor tras la inmersión de la capa fina en una disolución de ácido fosfomolibdico o de *p*-anisaldehido. Para la cromatografía en columna a presión se utilizó gel de sílice Merck 60 (230-400 Mesh), los disolventes empleados fueron previamente destilados y el dispositivo empleado fue construido según las indicaciones de Still.¹¹⁰

Los espectros de RMN fueron realizados por los Servicios Generales de Apoyo a la Investigación de la Universidad de A Coruña (SXAIN), y se registraron en un espectrómetro Bruker AC 200F (200 MHz para ¹H y 50 MHz para ¹³C). Salvo indicación contraria, se empleó como disolvente CDCl₃ y como referencia interna las trazas de CHCl₃ que contiene el disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en ppm, y las constantes de acoplamiento (*J*) están expresadas en hercios (Hz). Para la asignación de los datos espectroscópicos se utilizó la numeración esteroideal, con el fin de facilitar su estudio comparativo. Los espectros de masas de baja resolución (EM) fueron realizados por el SXAIN, en un espectrómetro Fisons VG-Quattro y los de alta resolución (EMAR) fueron realizados por el Centro de Apoyo Científico-Tecnológico a la Investigación (CACTI) de la Universidad de Vigo. Los espectros de infrarrojo se realizaron en espectrofotómetro Matson FTIR y las señales están expresadas en cm⁻¹. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Bibby SMP3. Los análisis por difracción de rayos X y la determinación estructural se llevaron a cabo en el SXAIN (UDC) o en el RIAIDT-Área de Estudio Estructural/Unidade de Rayos X (USC).

(110) Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 2923–2925.

5.2. SINTESIS DE LA YODOCETONA 98.

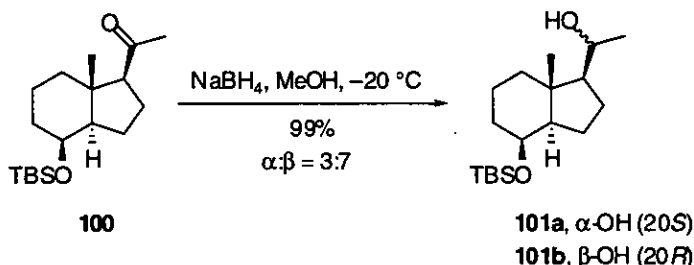
5.2.1. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-20-pregnanona (100).⁷⁴



Una suspensión de **99** (4.00 g, 11.28 mmol) y resina catiónica AG[®] 50W-X4 (27 g, previamente lavada con MeOH, 4 × 30 mL) en 100 mL de MeOH seco, se agitó vigorosamente a t. a. durante 40 minutos y posteriormente se filtró en placa n° 3, realizando lavados con EtOAc (5 × 25 mL). Después de concentrar a pequeño volumen, el residuo amarillento se redisolvió en EtOAc (70 mL), se lavó con disolución saturada de NaCl (2 × 60 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro, filtró y concentró a presión reducida, dando lugar a un sólido amarillento que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 20 cm, 5% EtOAc/hexanos). Concentrado y secado a alto vacío proporcionaron 3.47 g de **100** (99%) como un aceite transparente.

CCF R_f = 0.47 (5% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.00 (s, 3 H, CH₃Si), 0.01 (s, 3 H, CH₃Si), 0.85 (s, 3 H, CH₃-18), 0.87 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 2.09 (s, 3 H, CH₃-21), 4.04 (m, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ -5.3, -4.9, 15.5, 17.6, 17.9, 21.7, 23.1, 25.7, 31.5, 34.1, 39.7, 43.7, 53.1, 64.4, 68.9, 209.5; EM (EI) m/z 311 (M⁺ + 1, 5), 310 (M⁺, 8), 253 (M⁺ - C₄H₉, 49).

5.2.2. (8 β ,20 ξ)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-pregnan-20-ol
(101).^{75c-d}

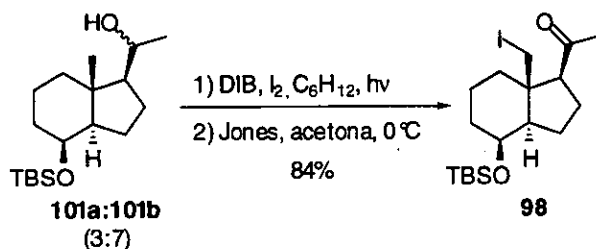


Se añadió NaBH_4 sobre una disolución de **100** (1580 mg, 5.09 mmol) en MeOH (50 mL) a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y, una vez comprobada la desaparición del compuesto de partida por CCF, se dejó llegar hasta t.a. y se añadió disolución de HCl 5% (30 mL). Se concentró a presión reducida hasta residuo acuoso al que se añadieron CH_2Cl_2 (40 mL) y HCl 5% (30 mL). La mezcla resultante se transfirió a un embudo de decantación donde se separaron las fases, extrayendo de nuevo la fase acuosa con CH_2Cl_2 (2×20 mL). La fase orgánica reunida se lavó con disolución saturada de NaHCO_3 (70 mL), secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró en rotavapor proporcionando un residuo que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2×19 cm, 5–20% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 1145 mg de **101b** (72%) como aceite transparente y 430 mg de su epímero **101a** (27%) como sólido blanco.

101a (20S): CCF $R_f = 0.20$ (10% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.02 (s, 3 H, CH_3Si), 0.88 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 0.91 (s, 3 H, CH_3 -18), 1.20 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 3.69 (dd, $J = 8.4$ y 6.2 Hz, 1 H, H-20), 4.01 (m, 1 H, H-8); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ -5.2, -4.8, 14.4, 17.4, 18.0, 23.0, 23.3, 25.0, 25.8, 34.3, 39.7, 41.4, 52.9, 59.0, 69.2, 70.2.

101b (20R): CCF $R_f = 0.31$ (10% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.00 (s, 3 H, CH_3Si), 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.00 (s, 3 H, CH_3 -18), 1.12 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 3.74 (s ancho, 1 H, H-20), 4.01 (m, 1 H, H-8); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ -5.2, -4.8, 14.4, 17.5, 18.0, 23.2, 23.3, 24.7, 25.8, 34.4, 40.9, 42.0, 52.6, 59.1, 69.1, 70.2.

5.2.3. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18-yodopregnan-20-ona (98).

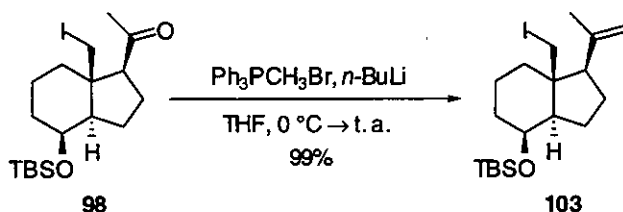


Una disolución de **101a:101b** (580 mg, 1.85 mmol), DIB (655 mg, 2.03 mmol) y I_2 (469 mg, 1.85 mmol) en ciclohexano seco (150 mL), desoxigenada por burbujeo de argón durante 10 minutos, se irradió con luz (300 W) procedente de una lámpara situada a 40 cm del matraz de reacción durante 10 horas. Se pasó a un embudo de decantación, lavando con disolución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5%, 70 mL). La fase orgánica se secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró en el rotavapor. El residuo se disolvió en acetona (150 mL) y se desoxigenó por burbujeo de argón. Sobre la disolución resultante, enfriada en baño de agua-hielo, se añadió reactivo de Jones (1.30 mL, 2.59 mmol). Después de 2 h de agitación, a la suspensión naranja obtenida se añadió *i*-PrOH (12 mL), proporcionando una suspensión verduzca a la que se añadió disolución saturada de NaHCO_3 (30 mL) hasta pH neutro. Se filtró en placa con Celita®, lavando con acetona (3 \times 30 mL). El filtrado se concentró a pequeño volumen y se extrajo con Et_2O (3 \times 70 mL). La fase orgánica reunida se lavó con disolución saturada de NaCl (50 mL), secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose un aceite marrón que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 \times 19 cm, 5% EtOAc/hexanos). Concentrado y secado a alto vacío habituales condujeron a 676 mg de **98** (84%) como un aceite amarillo.

CCF R_f = 0.45 (10% EtOAc/hexanos); IR (película) 2951, 2934, 2884, 2858, 1706, 1018, 837, 775 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.03 (s, 3 H, CH_3Si), 0.87 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 2.28 (s, 3 H, CH_3 -21), 3.18 y 4.45 (2 d, sistema AB, J = 10.8 Hz, 1 H, CH_2 -18), 4.06 (m, 1 H, H-8); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ -5.5, -4.9, 11.7, 17.1, 17.9, 22.1, 23.1, 25.7, 33.7, 33.9, 40.5, 46.5, 53.4, 63.1, 69.0, 208.8; EM (EI) m/z 437 ($\text{M}^+ + 1$, 1), 379 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$, 39), 309 ($\text{M}^+ - \text{I}$, 7), 133 (100); EMAR (EI) calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Si}$ 379.0590 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$), encontrado 379.0589.

5.3. REACTIVIDAD DE LA YODOCETONA 98 Y DERIVADOS.

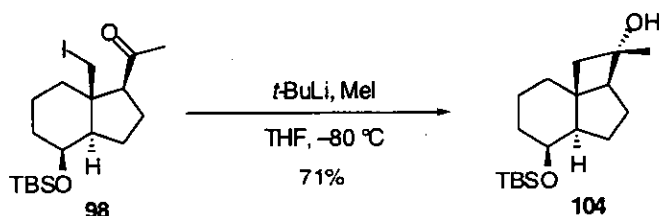
5.3.1. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18-yodopregnan-20-eno (103).



A una suspensión de bromuro de metiltrifenilfosfonio (688 mg, 1.92 mmol) en THF seco (20 mL) a 0 °C, se añadió una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.84 mL, 1.9 mmol, 2.3 M) y la suspensión amarilla resultante se agitó 15 min a la misma temperatura. Se retiró del baño y se añadió una disolución de **98** (405 mg, 0.93 mmol) en THF seco (9 mL) lentamente vía cánula. La mezcla resultante se agitó durante 20 h, se añadió disolución saturada de NH_4Cl (20 mL) y se concentró a presión reducida. El crudo se extrajo con EtOAc (4 \times 8 mL) y la fase orgánica reunida se secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró proporcionando un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (2 \times 15 cm, hexanos), obteniéndose después de concentrar y secar a alto vacío 402 mg de **103** (99%) como un aceite transparente incoloro.

CCF R_f = 0.70 (10% Et_2O /hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.02 (s, 3 H, CH_3Si), 0.04 (s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.89 (s, 3 H, CH_3 -21), 3.05 y 4.45 (2 d, sistema AB, J = 10.7 Hz, 1 H, CH_2 -18), 4.04 (m, 1 H, H-8), 4.89 (s ancho, 1 H, H-20), 4.93 (s ancho, 1 H, H-20); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ -5.2, -4.8, 11.8, 17.4, 17.9, 22.9, 24.3, 25.76, 25.81, 26.0, 31.3, 34.0, 40.9, 44.0, 52.9, 57.1, 69.4, 112.8, 143.9; EM (FAB) m/z 435 ($\text{M}^+ + 1$, 3), 416 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 6), 307 ($\text{M}^+ - \text{I}$, 11), 175 (100).

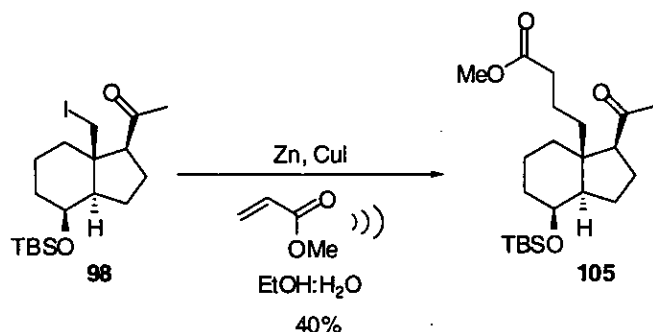
5.3.2. (8 β ,20S)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-ciclo pregnan-20-ol (104).



A una disolución de **98** (97 mg, 0.22 mmol) y *t*-BuLi (0.16 mL, 0.27 mmol, 1.7 M) en THF seco (10 mL) a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ se añadió MeI (79 mg, 0.035 mL, 0.56 mmol). Se dejó alcanzar lentamente t. a. durante 15 h en la oscuridad, se añadieron gotas de MeOH y se concentró a pequeño volumen. El residuo se transfirió a un embudo de decantación con Et₂O (20 mL) y la disolución resultante se lavó sucesivamente con disolución saturada de NaHCO₃ (10 mL) y de NaCl (10 mL), se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró a presión reducida. El aceite resultante se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 17 cm, 5–10% EtOAc/hexanos). Tras concentrado en rotavapor y secado a alto vacío, se obtuvieron 49 mg de **104** (71%) como un aceite amarillo pálido transparente.

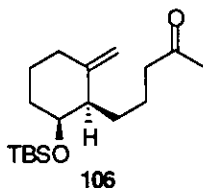
CCF $R_f = 0.36$ (10% EtOAc/hexanos); IR (película) 3400, 2920, 2850, 1240, 1085, 1060, 825 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.01 (s, 3 H, CH₃-Si), 0.03 (s, 3 H, CH₃-Si), 0.88 (s, 9 H, (CH₃)₃C-Si), 1.36 (s, 3 H, CH₃-21), 1.71 y 2.36 (2 d, sistema AB, $J = 13.5$ Hz, 1 H, CH₂-18), 4.13 (dd, $J = 2.5$ y 4.8 Hz, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ -5.0, -4.9, 17.7, 18.0, 24.1, 25.9, 27.2, 30.5, 34.5, 36.5, 39.3, 43.1, 50.9, 52.6, 68.8, 69.3; EM (FAB) m/z 310 (M⁺, 1), 309 (M⁺ - 1, 5), 295 (M⁺ - H₂O, 1), 293 (M⁺ - OH, 12), 265 (M⁺ - (CH₃)₃, 2), 253 (M⁺ - (CH₃)₃C, 2).

5.3.3. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18-[2-(metoxicarbonil)etil]pregnan-20-ona (105).



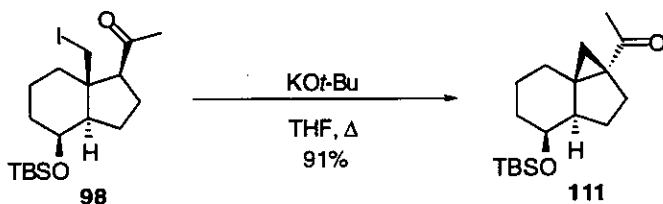
Una suspensión de Zn (59 mg, 0.90 mmol) y CuI (58 mg, 0.30 mmol) en EtOH acuoso (2.5 mL, 70%), desoxigenada bajo corriente de argón, se sometió a irradiación ultrasónica hasta coloración negra, y a continuación se añadió lentamente una disolución de **98** (120 mg, 0.27 mmol) y acrilato de metilo (0.5 mL, 5.8 mmol) en EtOH (0.8 mL). Después de 3 h se añadieron más Zn (29 mg, 0.44 mmol) y CuI (28 mg, 0.15 mmol) y se mantuvo la irradiación ultrasónica durante 1 h más. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (8 mL) y se filtró en placa n° 3 a través de una capa de Celita® lavando los sólidos con EtOAc (3 \times 10 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se disolvió en EtOAc (10 mL), se lavó con disolución saturada de NaCl (10 mL) se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 \times 20 cm, 0–20%EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 44 mg de **105** como aceite transparente (40%), 34 mg de **106** (40%) y 11 mg de **100** (12%).

105: CCF R_f = 0.33 (30% EtOAc/hexanos); IR (película) 2951, 2931, 2883, 2857, 1741, 1704, 1165, 837, 774 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.00 (s, 3 H, CH₃Si), 0.02 (s, 3 H, CH₃Si), 0.87 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 2.20 (s, 3 H, CH₃-21), 3.64 (s, 3 H, CH₃O), 4.05 (s ancho, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ -5.3, -4.8, 17.6, 18.0, 20.0, 22.3, 22.7, 25.8, 25.9, 32.4, 34.3, 34.7, 35.9, 47.9, 51.3, 54.9, 63.7, 69.2, 174.0, 210.2; EM (EI) m/z 397 (M⁺ + 1, 9), 339 (M⁺ - C₄H₉, 100), 265 (M⁺ - C₆H₁₅OSi, 26), 173 (22); EMAR (EI) calculado para C₂₂H₄₀O₄Si 396.2696 (M⁺), encontrado 396.2689.



(1*R*,2*S*)-5-[2'-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]-6'-metilidenciclohexil]-2-pentanona (106). CCF $R_f = 0.65$ (30% EtOAc/hexanos); IR (película) 2936, 2887, 2858, 1719, 1254, 1092, 836, 775 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.04 (s, 6 H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0.88 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 2.13 (s, 3 H, CH_3 -21), 3.75 (m, 1 H, H-2'), 4.64 (s ancho, 1 H, =CH), 4.73 (s ancho, 1 H, =CH); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ -4.9 (CH_3), -4.6 (CH_3), 18.1 (C), 21.9 (CH_2), 24.2 (CH_2), 24.7 (CH_2), 25.7 (CH_3), 25.8 (CH_3), 25.9 (CH_3), 29.7 (CH), 31.0 (CH_2), 31.2 (CH_2), 44.0 (CH_2), 50.8 (CH), 73.1 (CH_3), 109.3 (CH_2), 149.3 (C), 209.2 (C); EM (EI) m/z 311 ($\text{M}^+ + 1$, 6), 293 ($\text{M}^+ - \text{OH}$, 24), 179 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_{15}\text{OSi}$, 27), 161 (100).

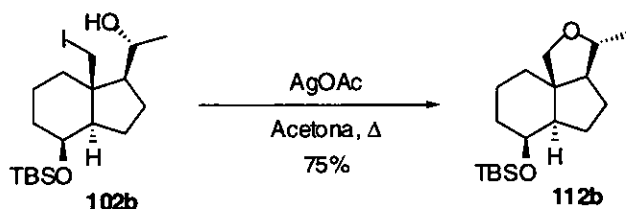
5.3.4. (8 β ,17*S*)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-17,18-ciclo-17 α -pregnan-20-ona (111).



Una mezcla de **98** (48 mg, 0.11 mmol) y KOt-Bu (26 mg, 0.23 mmol) en THF seco (10 mL) se calentó a reflujo durante 3.5 h. Se añadieron gotas de agua y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en Et₂O (50 mL) y se lavó sucesivamente con disolución saturada de NaHCO₃ (70 mL) y de NaCl (80 mL), se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró en el rotavapor. El aceite amarillento obtenido se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1 × 16 cm, 5% EtOAc/hexanos) proporcionando, después de concentrar a presión reducida y secar a alto vacío, 31 mg de **111** (91%) como un aceite transparente.

CCF $R_f = 0.54$ (10% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.00 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-Si}$), 0.04 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-Si}$), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{C-Si}$), 1.25 (s ancho, 2 H, $\text{CH}_2\text{-18}$), 2.14 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-21}$), 4.06 (s ancho, 1 H, H-8); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ -5.14, -4.71, 17.96, 20.26, 21.19, 21.90, 25.76, 28.44, 28.70, 30.46, 34.27, 41.01, 42.46, 47.64, 68.78, 208.69; **EM** (EI) m/z 308 (M^+ , 7), 195 ($\text{M}^+ - \text{TBSO}$, 5), 118 (100).

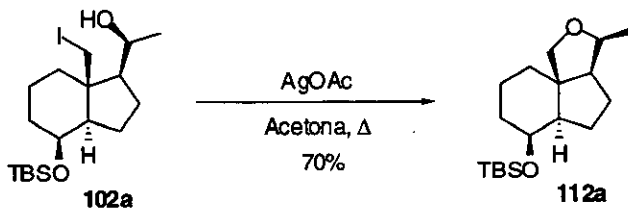
5.3.5. (8 β ,20*R*)-8-[(*terc*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-epoxi-pregnano (**112b**).



Una mezcla de **102b** (234 mg, 0.53 mmol, preparado por reacción de **101b** con DIB, I_2) y AgOAc (267 mg, 1.60 mmol) en acetona seca (19 mL) se calentó a reflujo en ausencia de la luz durante 10 h. Se filtró en placa n° 3 con Celita[®], lavando los sólidos con acetona (3×15 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2×17 cm, 5–10% EtOAc/hexanos) proporcionando, después de concentrado y secado a alto vacío, 124 mg de **112b** (75%) como aceite amarillo.

CCF $R_f = 0.56$ (20% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.02 (s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.24 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{-21}$), 3.60 (dq, $J = 6.2$ y 3.9 Hz, 1 H, H-20), 3.58 (dd, $J = 10.1$ y 2.0 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{-18}$), 3.78 (d, $J = 9.8$ Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{-18}$), 4.08 (s ancho, 1 H, H-8).

5.3.6. (8 β ,20S)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-epoxipregnano (**112a**).

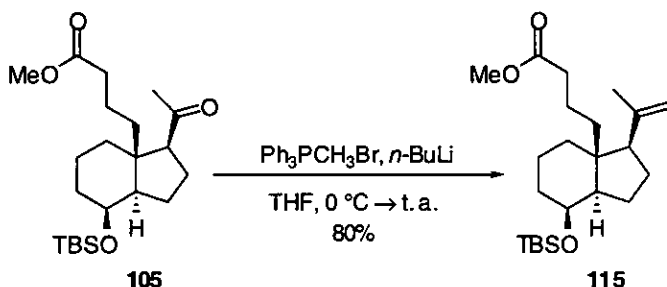


Una mezcla de **102a** (350 mg, 0.80 mmol, preparado por reacción de **101a** con DIB, I_2) y AgOAc (400 mg, 2.40 mmol) en acetona seca (19 mL) se calentó a reflujo en ausencia de la luz durante 10 h. Se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con acetona (3×15 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2×17 cm, 5–10% EtOAc/hexanos) proporcionando, después de concentrado y secado a alto vacío, 175 mg de **112a** (70%) como aceite amarillo.

CCF $R_f = 0.53$ (20% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.02 (2 s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.19 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 3.46 (d, $J = 9.6$ Hz, 1 H, CH_2 -18), 4.03 (dq, $J = 6.5$ y 3.9 Hz, 1 H, H-20), 4.07 (s ancho, 1 H, H-8), 4.17 (dd, $J = 9.6$ y 1.4 Hz, 1 H, CH_2 -18).

5.4. SÍNTESIS DEL ANÁLOGO DE CALCITRIOL CON CADENA CARBONADA EN C-18 (120)

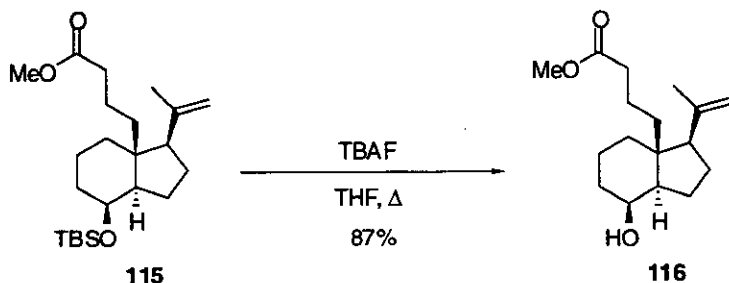
5.4.1. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregнено (115).



A una suspensión de bromuro de metiltrifenilfosfonio (65 mg, 0.18 mmol) en THF (20 mL) a 0 °C, se añadió una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.11 mL, 0.18 mmol, 1.64 M) y la suspensión amarilla resultante se agitó 15 min a la misma temperatura. Se retiró del baño y se añadió una disolución de **105** (32 mg, 0.08 mmol) en THF (9 mL) lentamente vía cánula. La mezcla resultante se agitó durante 20 h, se añadió disolución saturada de NH₄Cl (5 mL) y se concentró a presión reducida. El crudo se extrajo con EtOAc (4 \times 8 mL) y la fase orgánica reunida se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró proporcionando un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 \times 19 cm, 5–10% EtOAc/hexanos), obteniéndose después de concentrar y secar a alto vacío 57 mg de **115** (80%) como un aceite transparente y recuperando 6 mg de **105**.

CCF R_f = 0.61 (20% EtOAc/hexanos); IR (película) 2951, 2929, 2857, 1742, 1252, 1026, 836, 773 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.01 (s, 3 H, CH₃Si), 0.02 (s, 3 H, CH₃Si), 0.89 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.82 (s, 3 H, CH₃-21), 3.65 (s, 3 H, CH₃O), 4.03 (m, 1 H, H-8), 4.78 (s ancho, 1 H, H-20), 4.83 (s ancho, 1 H, H-20); ¹³C RMN (CDCl₃) δ -5.2, -4.8, 17.8, 18.0, 19.9, 22.5, 24.5, 25.1, 25.8, 26.1, 34.6, 35.3, 36.1, 45.8, 51.3, 54.4, 57.7, 69.6, 110.3, 146.4, 174.4; EM (EI) m/z 394 (M⁺, 23), 379 (M⁺ - CH₃, 47), 363 (M⁺ - CH₃O, 3), 337 (M⁺ - C₄H₉, 100); EMAR (EI) calculado para C₂₃H₄₂O₃Si 394.2903 (M⁺), encontrado 394.2891.

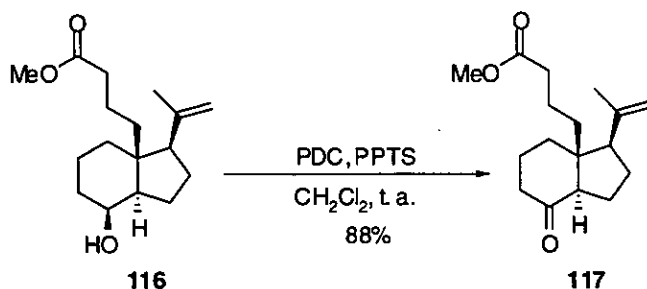
5.4.2. (8β)-Des-A,B-20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregnen-8-ol (116).



A una disolución de **115** (40 mg, 0.10 mmol) en THF seco (12 mL) se añadió una disolución de *n*-Bu₄NF en THF (0.31 mL, 0.31 mmol, 1 M) y se calentó a refluxo hasta desaparición de **115** en CCF. Se concentró el disolvente a presión reducida y el residuo se transfirió a un embudo de decantación con HCl (3%, 12 mL). Se extrajo con Et₂O (4 × 10 mL) y la fase orgánica reunida se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NaHCO₃ (20 mL) y de NaCl (20 mL). Secado, filtrado y concentración a presión reducida habituales proporcionaron un crudo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 × 19 cm, 15–50% EtOAc/hexanos), para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 24 mg de **116** (87%) como un aceite transparente y recuperando 4 mg de **115**.

CCF R_f = 0.14 (20% EtOAc/hexanos); IR (película) 2953, 2925, 2856, 2361, 2342, 1757, 1290, 1081 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 1.83 (s, 3 H, CH₃-21), 3.65 (s, 3 H, CH₃O), 4.12 (m, 1 H, H-8), 4.80 (s ancho, 1 H, H-20), 4.84 (s ancho, 1 H, H-20); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 17.7, 20.0, 22.0, 24.5, 25.1, 26.3, 33.9, 35.1, 36.0, 45.5, 51.3, 54.0, 57.5, 69.4, 110.5, 146.1, 174.4; EM (EI) *m/z* 280 (M⁺, 18), 262 (M⁺ - H₂O, 42), 179 (M⁺ - C₅H₉O₂, 48), 119 (100); EMAR (EI) calculado para C₁₇H₂₈O₃ 280.2038 (M⁺), encontrado 280.2037.

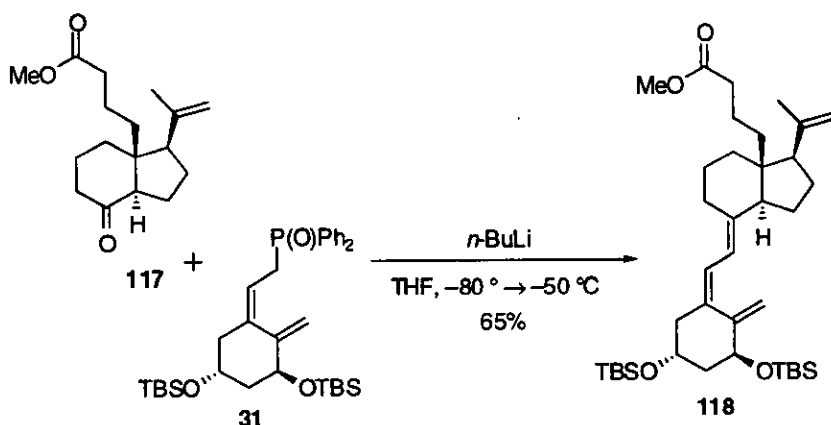
5.4.3. Des-A,B-20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-20-pregnen-8-ona (117).



Una mezcla de **116** (16 mg, 0.06 mmol), PDC (64 mg, 0.17 mmol) y una punta de espátula de PPTS en CH_2Cl_2 seco (5 mL) se agitó vigorosamente durante 6 horas. Se añadió Et_2O (8 mL), se agitó 5 min más y se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con Et_2O (8 × 8 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1 × 19 cm, 15–20% EtOAc /hexanos) proporcionando, después de concentrar y secar a alto vacío, 14 mg de **117** (88%).

CCF $R_f = 0.19$ (20% EtOAc /hexanos); **IR** (película) 2954, 2929, 2360, 2342, 1716, 1079 cm^{-1} ; **^1H RMN** (CDCl_3) δ 1.86 (s, 3 H, CH_3 -21), 3.64 (s, 3 H, CH_3O), 4.88 (s, 2 H, CH_2 -20); **^{13}C RMN** (CDCl_3) δ 18.5, 18.8, 23.9, 24.65, 24.70, 26.4, 34.5, 34.6, 41.0, 51.4, 52.3, 57.4, 63.1, 111.9, 144.8, 173.8, 211.5; **EM** (EI) m/z 278 (M^+ , 17), 260 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 18), 247 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{O}$, 6), 177 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2$, 88); **EMAR** (EI) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 278.1882 (M^+), encontrado 278.1893.

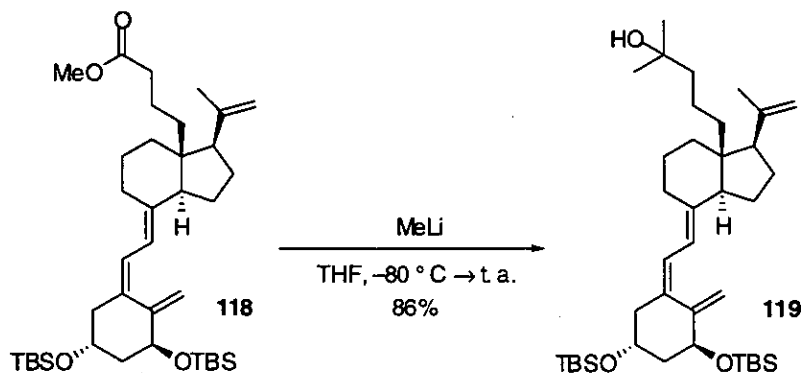
5.4.4. (1 α ,3 β ,5Z,7E)-1,3-Di-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-20-metil-18-[2-(metoxicarbonil)etil]-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno (118).



A una disolución de **31** (69 mg, 0.12 mmol) en THF seco (3 mL), a -80 °C, se añadió lentamente una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.075 mL, 0.11 mmol, 1.47 M). La disolución de color rojo resultante se dejó llegar a 0 °C y se volvió a enfriar a -80 °C. Se añadió una disolución de **117** (14 mg, 0.05 mmol) en THF seco (3 mL) vía cánula, se dejó llegar a -50 °C en ausencia de luz y se paró la reacción por adición de gotas de MeOH. Se concentró a pequeño volumen y se añadió Et₂O (8 mL). La fase orgánica se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NH₄Cl (10 mL) y NaCl (10 mL), se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 × 20 cm, 20–50% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 21 mg de **118** (65%) como aceite transparente.

CCF $R_f = 0.73$ (50% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CD₂Cl₂) δ 0.14 (s, 6 H, (CH₃)₂Si), 0.21 (s, 3 H, CH₃Si), 0.22 (s, 3 H, CH₃Si), 1.02 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.08 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.78 (s, 3 H, CH₃-21), 3.39 (s, 3 H, CH₃O), 4.28 (m, 1 H, H-3), 4.56 (m, 1 H, H-1), 4.88 (s, 1 H, H-20), 4.91 (s, 1 H, H-20), 5.20 (s ancho, 1 H, H-19), 5.43 (s ancho, 1 H, H-19), 6.37 y 6.53 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CD₂Cl₂) δ -4.7, -4.4, 19.6, 22.0, 23.9, 25.0, 25.1, 25.7, 26.0, 26.1, 29.1, 30.2, 30.4, 35.0, 35.9, 45.4, 46.5, 48.7, 50.8, 57.8, 57.9, 68.0, 72.4, 119.3, 123.7, 128.3, 135.8, 140.9, 145.9, 149.0; **EM** (FAB) m/z 642 (M⁺, 8), 525 (M⁺ - C₆H₁₇Si, 100), 393 (57); **EMAR** (EI) calculado para C₃₈H₆₆O₄Si₂ 642.4500 (M⁺), encontrado 642.4491.

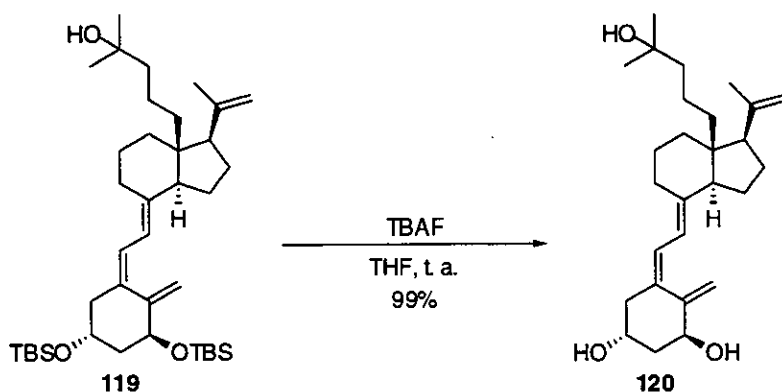
5.4.5. (1 α ,3 β ,5Z,7E)-1,3-Di-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-18-(3-hidroxi-3-metilbutil)-20-metil-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno (119).



Sobre una disolución de **118** (19 mg, 0.03 mmol) en THF seco (3 mL) a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ se añadió lentamente una disolución de MeLi en hexano (0.18 mL, 0.22 mmol, 1.22 M) y la mezcla resultante se dejó llegar lentamente a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ comprobándose la desaparición de **118** en CCF. Se añadieron de gotas de MeOH, se concentró a pequeño volumen y el residuo se transfirió a un embudo de decantación con CH_2Cl_2 (8 mL) y disolución saturada de NH_4Cl (10 mL). La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (4×6 mL) y la fase orgánica reunida se secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró a presión reducida proporcionando un crudo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1×19 cm, 15–30% EtOAc/hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 16 mg de **119** (86%).

CCF $R_f = 0.70$ (50% EtOAc/hexanos); IR (película) 3447, 3428, 3415, 2918, 2356, 2231, 1642, 1159, 1046 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.12 (s, 3 H, CH_3Si), 0.13 (s, 3 H, CH_3Si), 0.21 (s, 3 H, CH_3Si), 0.23 (s, 3 H, CH_3Si), 1.02 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.09 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.10 (s, 6 H, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 1.82 (s, 3 H, CH_3 -21), 4.29 (m, 1 H, H-3), 4.55 (m, 1 H, H-1), 4.90 (s ancho, 1 H, H-20), 4.94 (s ancho, 1 H, H-20), 5.23 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H, H-19), 5.43 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H, H-19), 6.43 y 6.57 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ -4.6, 18.3, 18.4, 18.5, 22.1, 24.0, 24.9, 25.1, 26.0, 26.2, 26.5, 28.9, 29.2, 29.9, 36.1, 45.38, 45.42, 46.6, 49.2, 57.88, 57.93, 67.9, 72.5, 110.8, 111.7, 119.2, 123.8, 128.3, 135.7, 146.3; EM (FAB) m/z 643 ($\text{M}^+ + 1$, 3), 511 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_{15}\text{OSi}$, 7), 316 (76), 288 (100); EMAR (EI) calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{O}_3\text{Si}_2$ 642.4863 (M^+), encontrado 642.4872.

5.4.6. (1 α ,3 β ,5 Z ,7 E)-18-(3-Hidroxi-3-metilbutil)-20-metil-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno-1,3-diol (120).

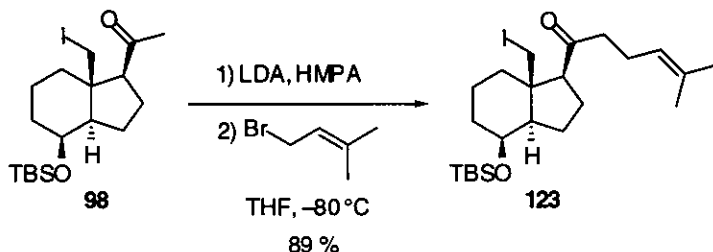


Una disolución de **119** (15 mg, 0.02 mmol) y $n\text{-Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (30 mg, 0.09 mmol) en THF seco (5 mL) se agitó en ausencia de luz hasta desaparición de **119** en CCF (20 h). Se concentró a pequeño volumen y se disolvió en EtOAc (8 mL). La fase orgánica se lavó con disolución saturada de NH_4Cl (10 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida proporcionando un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 \times 21 cm, 0–30% MeOH/EtOAc) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 13 mg de **120** (99%) como un aceite transparente.

CCF $R_f = 0.2$ (EtOAc); $^1\text{H RMN}$ (CD_3OD) δ 1.13 y 1.15 (2 s, 6 H, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 1.88 (s, 3 H, CH_3 -21), 4.17 (m, 1 H, H-3), 4.40 (m, 1 H, H-1), 4.83 (s, 1 H, H-20), 4.89 (s, 1 H, H-20), 4.95 (s ancho, 1 H, H-19), 5.34 (s ancho, 1 H, H-19), 6.14 y 6.37 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7); $^{13}\text{C RMN}$ (CD_3OD) δ 20.4, 23.8, 24.7, 26.0, 26.2, 26.9, 28.3, 29.4, 30.7, 31.9, 44.7, 47.0, 47.2, 58.7, 59.0, 60.0, 68.4, 72.4, 112.1, 113.2, 120.7, 125.8, 137.0, 143.4, 148.4, 150.8; EM (EI) m/z 414 (M^+ , 5), 396 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 10), 219 (36), 97 (72), 69 (100); EMAR (EI) calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_3$ 414.3134 (M^+), encontrado 414.3131.

5.5. SÍNTESIS DEL ANÁLOGO DE CALCITRIOL CON UN OXACICLO ENTRE C-18 Y C-20 (121)

5.5.1. (8 β)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-*A,B*-21-nor-18-yodocolest-24-en-20-ona (123).



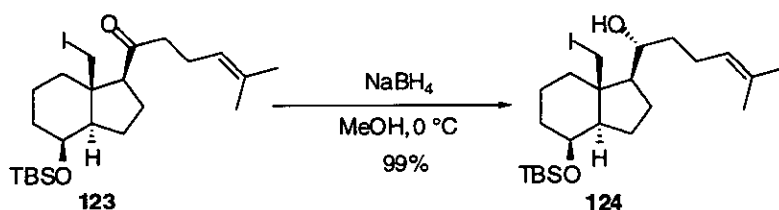
Se preparó LDA¹¹¹ por adición de *i*-Pr₂NH (0.07 mL, 0.55 mmol) sobre una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.33 mL, 0.53 mmol, 1.61 M) a -80 °C. A continuación se añadió THF seco (5 mL) y sobre la disolución resultante se adicionó, vía cánula, una disolución de **98** (190 mg, 0.43 mmol) en THF seco (5 mL). Transcurridos 45 minutos a la misma temperatura, se añadió HMPA (0.24 mL, 1.37 mmol, previamente destilado a vacío desde CaH₂). Se agitó 15 minutos, se añadió bromuro de 3,3-dimetilalilo (0.16 mL, 1.37 mmol) y se dejó alcanzar lentamente t.a. durante 4 horas. Se concentró el disolvente a presión reducida y el residuo aceitoso se disolvió en Et₂O (15 mL). La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua (15 mL) y disolución saturada de NaCl (15 mL), secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró en rotavapor, proporcionando un residuo que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 17 cm, 2-10% EtOAc/hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 193 mg de **123** (89%).

CCF R_f = 0.54 (10% EtOAc/hexanos); IR (película) 2951, 2930, 2884, 2857, 1705, 1254, 1022, 837, 775 cm⁻¹ ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.01 (s, 3 H, CH₃Si), 0.03 (s, 3 H, CH₃Si), 0.87 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.62 y 1.68 (2 s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.15 y 4.46 (2 d, sistema AB, J = 10.7 Hz, 2 H, CH₂-18), 4.07 (s ancho, 1 H, H-8), 5.12 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, H-24); ¹³C RMN (CDCl₃) δ -5.2,

(111) Vedejs, E.; Engler, D. A.; Telschow, J. E. Transition-metal peroxide reactions. Synthesis of α -hydroxycarbonyl compounds from enolates. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 188-196.

–4.8, 11.6, 17.1, 17.7, 17.9, 22.3, 22.9, 23.3, 25.7, 33.8, 40.7, 46.3, 46.7, 53.5, 61.9, 69.1, 123.1, 132.4, 210.1; **EM** (FAB) m/z 503 ($M^+ - 1$, 5), 447 ($M^+ - C_4H_9$, 6), 377 ($M^+ - I$, 29); **EMAR** (EI) calculado para $C_{23}H_{41}O_2Si$ 504.1921 (M^+), encontrado 504.1929.

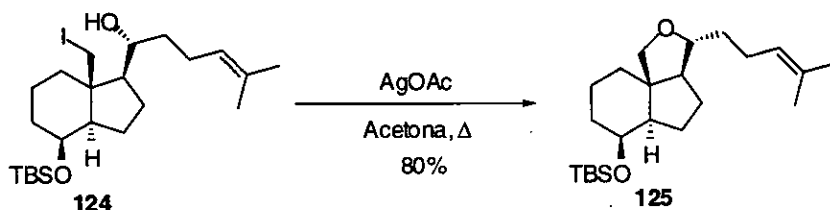
5.5.2. (8 β ,20R)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-*A,B*-21-nor-18-yodocolest-24-en-20-ol (124).



Se añadió NaBH_4 (20 mg, 0.53 mmol) en porciones a una disolución de **123** (94 mg, 0.19 mmol) en MeOH (20 mL) a 0 °C, hasta desaparición de la cetona de partida en CCF (50 min). Se añadió agua (10 mL) y se concentró a presión reducida. El residuo acuoso resultante se vertió en un embudo de decantación con agua (10 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 \times 15 mL). La fase orgánica reunida se lavó con disolución saturada de NaHCO_3 (15 mL), secó (Na_2SO_4 anh.) y filtró. Concentrado a presión reducida y secado a alto vacío proporcionaron 94 mg de **124** (99%) como aceite transparente.

CCF R_f = 0.31 (5% EtOAc/hexanos); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.04 (s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.64 y 1.70 (2 s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 3.11 y 4.61 (2 d, sistema AB, J = 11.0 Hz, 2 H, CH_2 -18), 3.90 (m, 1 H, H-20), 4.04 (s ancho, 1 H, H-8), 5.12 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, H-24); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ –5.2, –4.8, 12.7, 16.7, 17.7, 17.9, 23.0, 23.9, 24.3, 25.8, 33.9, 35.3, 41.2, 44.7, 52.8, 57.4, 69.2, 71.0, 124.4, 131.8; **EM** (EI) m/z 505 ($M^+ - 1$, 4), 488 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$, 7), 449 (7), 379 ($M^+ - I$, 29), 229 (98), 135 (100); **EMAR** (EI) calculado para $C_{23}H_{43}O_2Si$ 506.2077 (M^+), encontrado 506.2064.

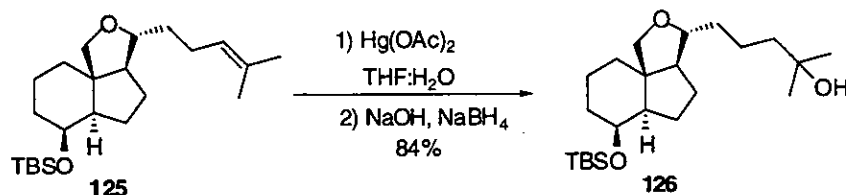
5.5.3. (8 β ,20R)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-epoxi-21-norcolest-24-eno (125).



Una mezcla de **124** (230 mg, 0.45 mmol) y AgOAc (227 mg, 1.36 mmol) en acetona seca (19 mL) se calentó a reflujo en ausencia de luz durante 5 h. Se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con acetona (3 \times 15 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 \times 17 cm, 5–10% EtOAc/hexanos) proporcionando, después de concentrar y secar a alto vacío, 136 mg de **125** (80%) como un aceite amarillo.

CCF R_f = 0.65 (10% EtOAc/hexanos); **IR** (película) 2950, 2930, 2857, 1461, 1253, 1021, 837, 773 cm^{-1} ; **^1H RMN** (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.02 (s, 3 H, CH_3Si), 0.89 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.61 y 1.69 (2 s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 3.44 (dt, J = 6.6 y 3.7 Hz, 1 H, H-20), 3.57 (dd, J = 9.8 y 2.0 Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.79 (d, J = 9.8 Hz, 1 H, CH_2 -18), 4.08 (s ancho, 1 H, H-8), 5.13 (t, J = 7.0 Hz, 1 H, H-24); **^{13}C RMN** (CDCl_3) δ -5.1, -4.8, 17.7, 18.0, 18.7, 25.0, 25.2, 25.7, 25.8, 29.7, 30.8, 34.4, 36.4, 36.8, 51.4, 53.9, 54.4, 68.6, 72.3, 87.3, 124.2, 131.5; **EM** (EI) m/z 378 (M^+ , 11), 321 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$, 46), 291 (6), 75 (100); **EMAR** (EI) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{42}\text{O}_2\text{Si}$ 378.2954 (M^+), encontrado 378.2957.

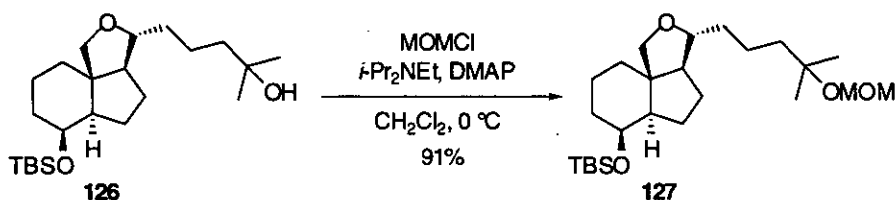
5.5.4. (8 β ,20R)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-epoxi-21-norcoleston-25-ol (126).



Una mezcla de **125** (130 mg, 0.34 mmol) y Hg(OAc)_2 (120 mg, 0.37 mmol) en $\text{THF:H}_2\text{O}$ (20 mL, 1:1) se agitó en ausencia de luz durante 7 días. Una vez comprobada la desaparición de **125** en CCF, se añadió una disolución de NaOH 3 M (8 mL) y una disolución de NaBH_4 en NaOH 3 M (3.4 mL, 1.7 mmol, 0.5 M) observándose la aparición de una suspensión de color negro. Se añadió disolución saturada de NaCl (15 mL), y se extrajo con Et_2O (3×15 mL). La fase orgánica reunida se secó (Na_2SO_4 anh.), filtró y concentró a presión reducida proporcionando un aceite amarillento que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2.5×16 cm, 20% EtOAc /hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 114 mg de **126** (84%) como un aceite transparente.

CCF $R_f = 0.57$ (50% EtOAc /hexanos); **IR** (película) 2930, 2856, 2360, 2342, 1462, 1254, 1021, 837, 773 cm^{-1} ; **^1H RMN** (CDCl_3) δ 0.01 (s, 3 H, CH_3Si), 0.02 (s, 3 H, CH_3Si), 0.88 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1.21 (s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 3.45 (m, 1 H, H-20), 3.58 (dd, $J = 9.8$ y 2.0 Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.79 (d, $J = 9.8$ Hz, 1 H, CH_2 -18), 4.08 (s ancho, 1 H, H-8); **^{13}C RMN** (CDCl_3) δ -5.1 (CH_3), -4.9 (CH_3), 18.0 (C), 18.7 (CH_2), 21.4 (CH_2), 25.2 (CH_2), 25.8 (CH_3), 29.0 (CH_3), 29.3 (CH_3), 30.8 (CH_2), 34.4 (CH_2), 36.4 (CH_2), 37.1 (CH_2), 43.9 (CH_2), 51.4 (CH), 53.9 (C), 54.5 (CH), 68.6 (CH), 71.0 (C), 72.3 (CH_2), 87.6 (CH); **EM** (EI) m/z 396 (M^+ , 10), 381 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 19), 378 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 19), 339 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$, 40), 321 (59), 295 (100); **EMAR** (EI) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Si}$ 396.3059 (M^+), encontrado 396.3047.

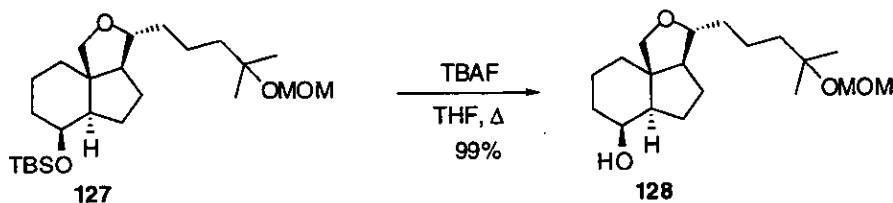
5.5.5. (8 β ,20R)-8-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcolestano (127).



A una mezcla de **126** (42 mg, 0.11 mmol) y DMAP (5 mg, 0.04 mmol) en CH_2Cl_2 seco (5 mL) a 0 °C, se añadió sucesivamente *i*-Pr₂NEt (0.08 mL, 0.44 mmol, recién destilada desde CaH₂) y MOMCl (0.04 mL, 0.50 mmol). Se dejó llegar lentamente a t.a. y se agitó durante 30 horas. Se añadió de agua (5 mL) y se separaron las fases en un embudo de decantación. La fase orgánica se lavó sucesivamente con HCl (3%, 15 mL) y disolución saturada de NaHCO₃ (15 mL), Secado, filtrado y concentración a presión reducida proporcionaron un crudo que se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 17 cm, 10–25% EtOAc/hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 44 mg de **127** (91%) como un aceite transparente.

CCF $R_f = 0.73$ (50% EtOAc/hexanos); **¹H RMN** (CDCl₃) δ 0.01 (s, 3 H, CH₃Si), 0.02 (s, 3 H, CH₃Si), 0.88 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.21 (s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.36 (s, 3 H, CH₃O), 3.43 (m, 1 H, H-20), 3.57 (dd, $J = 9.8$ y 2.0 Hz, 1 H, CH₂-18), 3.79 (d, $J = 9.8$ Hz, 1 H, CH₂-18), 4.07 (s ancho, 1 H, H-8), 4.70 (s, 2 H, OCH₂O); **¹³C RMN** (CDCl₃) δ -5.1, 18.0, 18.7, 21.1, 25.2, 25.8, 26.1, 26.3, 30.8, 34.4, 36.4, 37.2, 42.0, 51.4, 53.9, 54.4, 55.1, 68.6, 72.3, 87.7, 91.0; **EM** (EI) m/z 439 ($M^+ - 1$, 6), 425 ($M^+ - \text{CH}_3$, 10), 379 ($M^+ - \text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2$, 45), 321 (100); **EMAR** (EI) calculado para C₂₅H₄₈O₄Si 440.3322 (M^+), encontrado 440.3308.

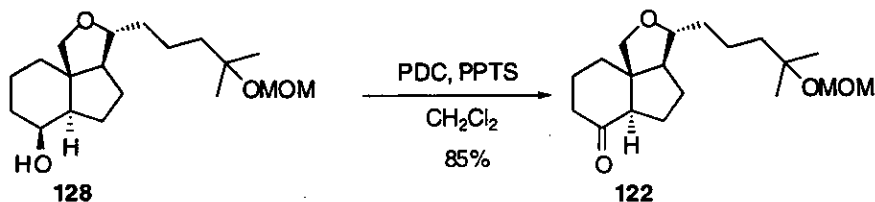
5.5.6. (8 β ,20R)-Des-A,B-18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcoleston-8-ol (128).



Una disolución de **127** (44 mg, 0.10 mmol) y $n\text{-Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (100 mg, 0.30 mmol) en THF seco (5 mL) se calentó a reflujo hasta desaparición de **127** en CCF (27 h). Se concentró el disolvente a presión reducida y el residuo se transfirió a un embudo de decantación con HCl (3%, 10 mL). Se extrajo con Et_2O (3 \times 10 mL) y la fase orgánica reunida se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NaHCO_3 (20 mL) y de NaCl (20 mL). Secado, filtrado y concentración a presión reducida habituales proporcionaron un crudo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1.5 \times 15 cm, 15–30% EtOAc/hexanos), para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 33 mg de **128** (99%) como un aceite transparente.

CCF R_f = 0.30 (50% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 1.21 (s, 6 H, $\text{CH}_3\text{-26}$ y $\text{CH}_3\text{-27}$), 3.36 (s, 3 H, CH_3O), 3.45 (m, 1 H, H-20), 3.56 (dd, J = 9.8 y 2.0 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{-18}$), 3.83 (d, J = 9.8 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{-18}$), 4.17 (s ancho, 1 H, H-8), 4.70 (s, 2 H, OCH_2O); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 18.6, 21.0, 24.8, 26.1, 26.3, 30.8, 33.9, 36.3, 37.0, 42.0, 51.0, 53.7, 54.3, 55.1, 68.1, 71.9, 76.3, 87.7, 91.0; EM (EI) m/z 311 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 6), 265 ($\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2$, 16), 181 (100).

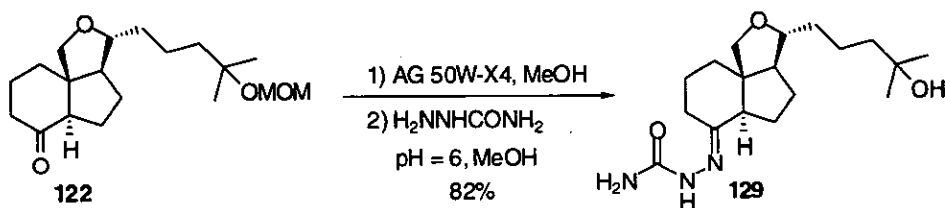
5.5.7. (20*R*)-Des-A,B-18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-norcolestano-8-ona (122).



Una mezcla de **128** (33 mg, 0.10 mmol), PDC (115 mg, 0.31 mmol) y una punta de espátula de PPTS en CH_2Cl_2 seco (5 mL), se agitó vigorosamente durante 6 horas. Se añadió Et_2O (10 mL), se agitó 5 min más y se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con Et_2O (8 × 8 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1.5 × 16 cm, 20–25% EtOAc/hexanos) proporcionando, después de concentrar y secar a alto vacío, 28 mg de **122** (85%) como aceite transparente.

CCF $R_f = 0.40$ (50% EtOAc/hexanos); IR (película) 2933, 2867, 1707, 1461, 1253, 1040, 915, 837, 777 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CD_2Cl_2) δ 1.17 (s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 2.60 (m, 1 H, H-14), 3.19 (dd, $J = 9.8$ y 2.0 Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.30 (s, 3 H, CH_3O), 3.51 (d, $J = 9.8$ Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.57 (m, 1 H, H-20), 4.64 (s, 2 H, OCH_2O); $^{13}\text{C RMN}$ (CD_2Cl_2) δ 21.1, 22.8, 25.7, 26.36, 26.39, 31.7, 35.8, 36.2, 41.1, 42.2, 54.1, 55.1, 60.6, 60.8, 71.3, 76.2, 88.8, 91.3, 210.4; EM (EI) m/z 323 ($\text{M}^+ - 1$, 12), 309 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 6), 293 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{O}$, 7), 263 ($\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2$, 53), 179 (85), 83 (100); EMAR (EI) calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_4$ 324.2301 (M^+), encontrado 324.2308.

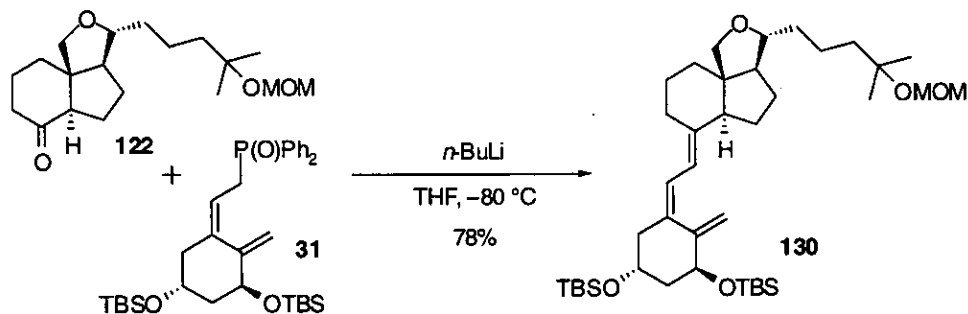
5.5.8. (20'R)-2-[Des-A,B-18',20'-epoxi-25'-hidroxi-21'-norcolest-8'-iliden]-hidrazinacarboxamida (**129**).



A una disolución de **122** (13 mg, 0.04 mmol) en MeOH seco y desoxigenado (5 mL), se añadió resina AG[®]50W-X4 (150 mg) y la suspensión resultante se agitó durante 20 h. Se filtró en placa n° 3, lavando los sólidos con MeOH (4 × 5 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El aceite obtenido se disolvió en MeOH (0.1 mL) y se añadió sobre la semicarbazida, preparada por disolución de hidrocloreuro de semicarbazida (6 mg, 0.05 mmol) en agua (0.1 mL) y adición de disolución acuosa saturada de NaOAc hasta pH = 6. Se observó la aparición de un precipitado blanco que se filtró en placa n° 3, realizando lavados con agua (3 × 2 mL), y se secó a alto vacío sobre P₂O₅ proporcionando 10 mg de **129** (82%), como un sólido blanco que se cristalizó desde MeOH.

p.f. 205–207 °C; ¹H RMN (CDCl₃) δ 1.21 (s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 2.30 (m, 1 H), 2.56 (m, 1 H), 3.36 y 3.49 (2 d, sistema AB, *J* = 9.4 Hz, 2 H, CH₂-18), 3.64 (m, 1 H, H-20), 7.87 (s ancho, 1 H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 21.1, 23.7, 24.0, 25.3, 29.1, 29.3, 31.8, 35.4, 36.2, 43.7, 53.6, 54.0, 57.9, 70.9, 71.6, 88.8, 152.4, 157.7; **EM** (EI) *m/z* 338 (M⁺ + 1, 11), 320 (M⁺ - OH, 49), 149 (55), 133 (100).

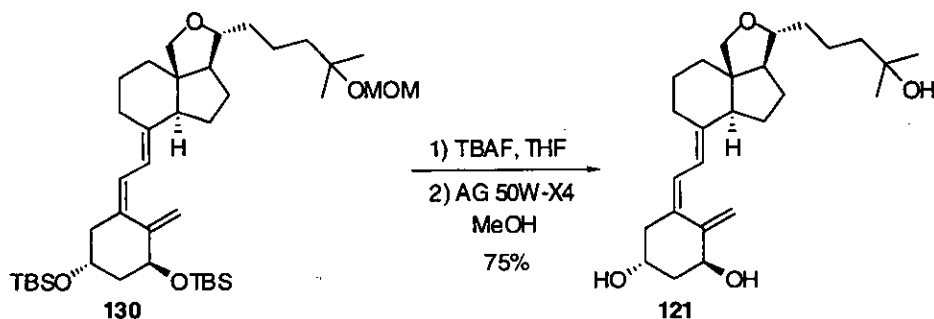
5.5.9. (1 α ,3 β ,5 Z ,7 E ,20 R)-1,3-Di[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-18,20-epoxi-25-[(metoximetil)oxi]-21-nor-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trieno (130).



A una disolución de **31** (78 mg, 0.13 mmol) en THF seco (4 mL), a -80 °C, se añadió lentamente una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.06 mL, 0.13 mmol, 2.17 M). La disolución de color rojo resultante se dejó llegar a 0 °C y se volvió a enfriar a -80 °C. Se añadió una disolución de **122** (17 mg, 0.05 mmol) en THF seco vía cánula, se dejó llegar a -50 °C en ausencia de luz y se paró la reacción por adición de gotas de MeOH. Se concentró a pequeño volumen y se añadió Et₂O (10 mL). La fase orgánica se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NH₄Cl (10 mL) y NaCl (10 mL), se secó (Na₂SO₄ anh.), filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1 × 15 cm, 20–50% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 28 mg de **130** (78%) como un aceite transparente.

CCF R_f = 0.72 (50% EtOAc/hexanos); IR (película) 2955, 2937, 2853, 1731, 1463, 1253, 1085, 1042, 908, 835, 776 cm⁻¹; ¹H RMN (CD₂Cl₂) δ 0.05 (s, 6 H, (CH₃)₂Si), 0.07 (s, 6 H, (CH₃)₂Si), 0.86 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 0.89 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 1.17 (s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.20 (dd, J = 9.8 y 2.0 Hz, 1 H, CH₂-18), 3.42 (d, J = 9.8 Hz, 1 H, CH₂-18), 3.30 (s, 3 H, CH₃O), 3.55 (m, 1 H, H-20), 4.20 (m, 1 H, H-3), 4.39 (m, 1 H, H-1), 4.64 (s, 2 H, OCH₂O), 4.85 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, H-19), 5.21 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, H-19), 6.07 y 6.18 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CD₂Cl₂) δ -5.0, -4.9, -4.72, -4.68, 21.1, 25.4, 25.9, 26.0, 26.37, 26.42, 32.3, 36.1, 37.7, 42.2, 54.1, 55.1, 55.4, 55.5, 57.9, 67.9, 70.8, 71.8, 76.3, 89.2, 91.3, 115.7, 117.2, 143.4, 153.9; EM (EI) m/z 688 (M⁺, 28), 627 (M⁺ - C₂H₅O₂, 6), 556 (M⁺ - C₆H₁₅OSi, 85), 248 (100); EMAR (EI) calculado para C₄₀H₇₂O₅Si₂ 688.4918 (M⁺), encontrado 688.4921.

5.5.10. (1 α ,3 β ,5 Z ,7 E ,20 R)-18,20-epoxi-21-nor-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trien-1,3,25-triol (121).

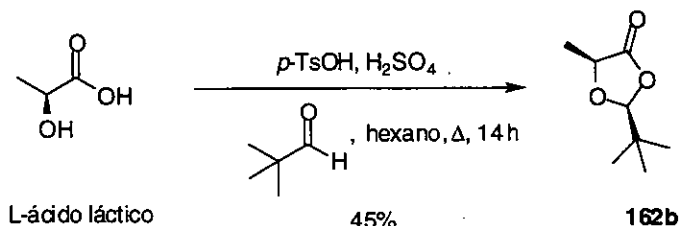


Una disolución de **130** (22 mg, 0.03 mmol) y $n\text{-Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (40 mg, 0.13 mmol) en THF seco (5 mL) se agitó en ausencia de luz hasta desaparición de **130** en CCF (22 h). Se concentró a pequeño volumen y se disolvió en EtOAc (10 mL). La fase orgánica se lavó con disolución saturada de NH_4Cl (10 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en MeOH seco y desoxigenado (5 mL), se añadió resina AG[®]50W-X4 (150 mg) y la suspensión resultante se agitó en ausencia de luz durante 22 h. Se filtró en placa n° 3, lavando los sólidos con MeOH (4 \times 5 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El aceite obtenido se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (0.8 \times 7 cm, 0–5% MeOH/EtOAc) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 10 mg de **121** (75%) como aceite transparente.

CCF R_f = 0.20 (EtOAc); $^1\text{H RMN}$ (CD_2Cl_2) δ 1.16 (s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 3.22 (dd, J = 9.3 y 1.5 Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.42 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, CH_2 -18), 3.56 (m, 1 H, H-20), 4.16 (m, 1 H, H-3), 4.37 (m, 1 H, H-1), 4.95 (s ancho, 1 H, H-19), 5.30 (s ancho, 1 H, H-19), 6.08 y 6.28 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7); $^{13}\text{C RMN}$ (CD_2Cl_2) δ 21.4, 25.4, 26.1, 29.0, 29.3, 29.4, 32.3, 35.9, 37.4, 43.4, 44.2, 45.6, 54.3, 55.5, 57.9, 67.1, 70.4, 71.9, 89.2, 111.7, 116.5, 124.4, 134.7, 142.7, 148.5; EM (FAB) m/z 417 ($\text{M}^+ + 1$, 8), 416 (M^+ , 4), 399 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 9), 316 (29), 307 (100); EMAR (EI) calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_4$ 416.2927 (M^+), encontrado 416.2921.

5.6. SÍNTESIS DE LOS TRIOLES 165 y 167

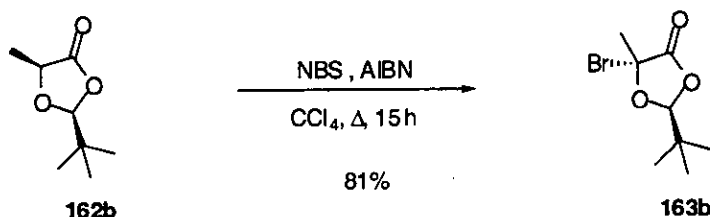
5.6.1. (2*S*,5*S*)-2-(*terc*-Butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (162b).



Se disolvió ácido L-láctico (4 g, 45.01 mmol, previamente destilado en horno de bolas a 170 °C, 1 mmHg), en hexanos (30 mL). Se añadió pivalaldehído (10 mL, 90.03 mmol), *p*-TsOH (90 mg) y unas gotas de H₂SO₄ concentrado. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 14 h, en un aparato Dean Stark con el objeto de separar el agua del medio por destilación azeotrópica. La mezcla de reacción se lavó con dos porciones de agua (20 mL), se secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose el compuesto **162** como una mezcla de diastereómeros (4:1) *cis:trans*. Cristalizaciones sucesivas desde Et₂O/hexanos (1:1) a -80 °C, proporcionaron 3.22 g del isómero *cis*, **162b** (45%) como un líquido transparente.

CCF $R_f = 0.62$ (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{21} = +45.40$ (c 2.15, CHCl₃); IR (película) 1740, 1150 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.96 (s, 9 H), 1.46 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H), 4.34 (dq, $J = 6.7$ y 1.0 Hz, 1 H), 5.13 (d, $J = 1$ Hz, 1 H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 16.1 (CH₃), 23.3 (CH₃), 34.1 (C), 71.4 (CH), 109.2 (CH), 173.9 (C); EM (EI) m/z 157 (M⁺ - H, 12), 85 (M⁺ - C₅H₁₂, 100), 129 (M⁺ - CHO, 25).

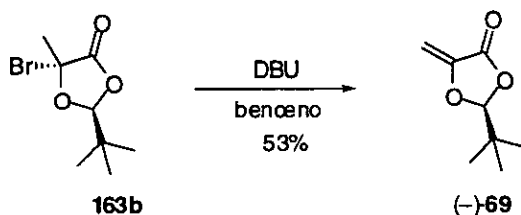
5.6.2. (2*S*,5*ξ*)-5-Bromo-2-(*terc*-butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (**163b**).



Una disolución de **162b** (3.27 g, 20.68 mmol), *N*-bromosuccinimida (5.98 g, 33.09 mmol) y AIBN (punta de espátula) en CCl_4 seco (60 mL) se calentó a reflujo 15 h. Se dejó enfriar, se filtró y se concentró a pequeño volumen en el rotavapor. El residuo se purificó por destilación en horno de bolas (100 °C, 3 mmHg), obteniéndose 3.92 g de **163b** (81%).

CCF $R_f = 0.63$ (30% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 1.01 (s, 9 H), 2.22 (s, 3 H), 5.22 (s, 1 H); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 23.2 (CH_3), 27.0 (CH), 33.5 (C), 89.1 (C), 107.9 (CH_3), 167.2 (C); **EM** (EI) m/z 157 ($\text{M}^+ - \text{HBr}$, 7).

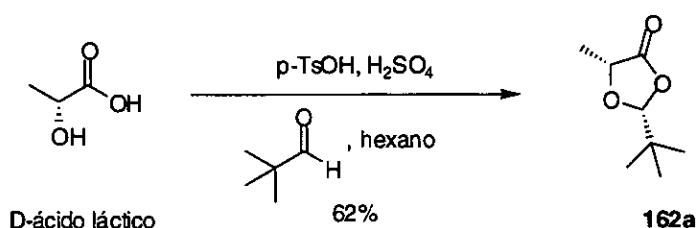
5.6.3. (2*S*)-2-(*terc*-Butil)-5-metilen-1,3-dioxolan-4-ona [(-)-**69**].



Sobre una disolución de **163b** (3.96 g, 16.72 mmol) en benceno seco (50 mL) se añadió DBU (2.75 mL, 18.39 mmol) y la mezcla resultante se agitó 4 h, observándose coloración marrón y aparición de sólidos. Se filtró a vacío y se concentró a pequeño volumen. El crudo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (3 × 18 cm, 10–20% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 1.4 g de (-)-**69** (53%).

CCF $R_f = 0.64$ (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{23} = -11.11$ (c 2.44, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.98 (s, 9 H), 4.86 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H), 5.13 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H), 5.44 (s, 1 H); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 22.7 (CH_3), 35.8 (C), 90.8 (CH_2), 109.4 (CH), 144.4 (C), 162.6 (C); **EM** (EI) m/z 155 ($\text{M}^+ - \text{H}$, 8), 118 ($\text{M}^+ - \text{CO}$, 100), 99 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$, 25).

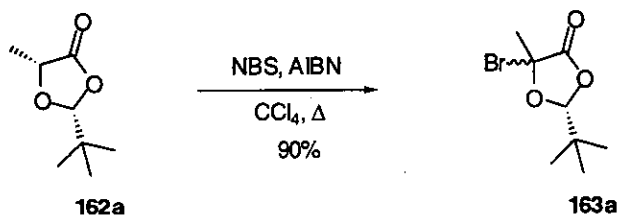
5.6.4. (2*R*,5*R*)-2-(*terc*-Butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (162a).



Se disolvió la sal sódica del D-ácido láctico (1 g, 8.92 mmol) en HCl 1 M (10 mL), se concentró a presión reducida y el residuo se destiló en el horno de bolas (170 °C, 1 mmHg). El ácido láctico así obtenido se disolvió en hexanos (10 mL), se añadió pivalaldehído (2.2 mL, 17.85 mmol), *p*-TsOH (punta de espátula) y una gota de H_2SO_4 concentrado. La mezcla resultante se calentó a reflujo 14 h, en un aparato Dean Stark con el objeto de separar el agua del medio por destilación azeotrópica. La mezcla de reacción se lavó con dos porciones de agua (10 mL), se secó (Na_2SO_4 anh), filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose el compuesto **162** como mezcla de diastereoisómeros *cis* y *trans* (4:1). El isómero *cis* se obtuvo mediante dos cristalizaciones sucesivas desde Et_2O /hexanos (1:1) a -80 °C, proporcionando 0.88 g de **162a** (62%) como un líquido transparente.

CCF $R_f = 0.55$ (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{24} = -42.04$ (c 1.84, CHCl_3); **IR** (película) 1740, 1150 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.96 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 1.46 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, CH_3-5), 4.34 (dq, $J = 6.7$ y 1.0 Hz, 1 H, H-5), 5.13 (d, $J = 1$ Hz, 1 H, H-2); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 16.1 (CH_3), 23.3 (CH_3), 34.1 (C), 71.4 (CH), 109.2 (CH), 173.9 (C); **EM** (EI) m/z 157 ($\text{M}^+ - \text{H}$, 12), 85 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_{12}$, 100), 129 ($\text{M}^+ - \text{CHO}$, 25).

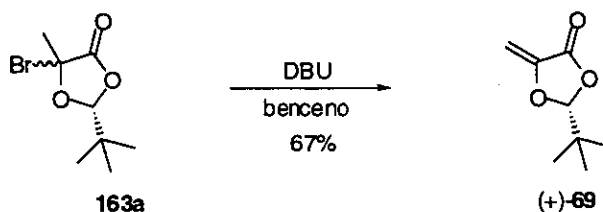
5.6.5. (2*R*,5*ξ*)-5-Bromo-2-(*terc*-butil)-5-metil-1,3-dioxolan-4-ona (163a).



Una disolución de **162a** (0.23 g, 1.45 mmol), *N*-bromosuccinimida (0.41 g, 2.33 mmol) y AIBN (punta de espátula) en CCl_4 seco (20 mL) se calentó a reflujo 15 h. Se dejó enfriar, se filtró y se concentró a pequeño volumen en el rotavapor. El residuo se purificó por destilación en horno de bolas (100 °C, 3 mmHg), obteniéndose 0.31 g del compuesto **163a** (90%).

CCF $R_f = 0.63$ (30% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 1.01 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 2.21 (s, 3 H, CH_3 -5), 5.22 (s, 1 H, H-2); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 23.2 (CH_3), 27.0 (CH), 33.5 (C), 89.1 (C), 107.9 (CH_3), 167.2 (C); **EM** (EI) m/z 157 ($\text{M}^+ - \text{HBr}$, 7).

5.6.6. (2*R*)-2-(*terc*-Butil)-5-metilen-1,3-dioxolan-4-ona [(+)-69].

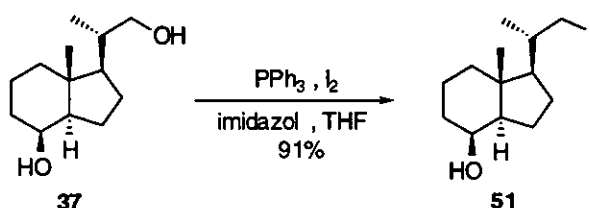


Sobre una disolución de **163a** (0.70 g, 2.95 mmol) en benceno seco (10 mL) se añadió DBU (0.57 mL, 3.84 mmol) y la mezcla resultante se agitó 14 h, observándose coloración marrón y aparición de sólidos. Se filtró a vacío y se concentró a pequeño volumen. El crudo se cromatografió en columna de gel

de sílice a presión (2×18 cm, 10–15% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 0.31 g de (+)-**69** (67%) como un líquido transparente.

CCF $R_f = 0.64$ (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{27} = +21.62$ (c 1.50, CHCl_3); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.99 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 4.86 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H), 5.14 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H), 5.44 (s, 1 H, H-2); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 22.8 (CH_3), 35.8 (C), 91.0 (CH_2), 109.6 (CH), 144.4 (C), 162.6 (C); EM (EI) m/z 155 ($\text{M}^+ - \text{H}$, 8), 118 ($\text{M}^+ - \text{CO}$, 100), 99 ($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$, 25).

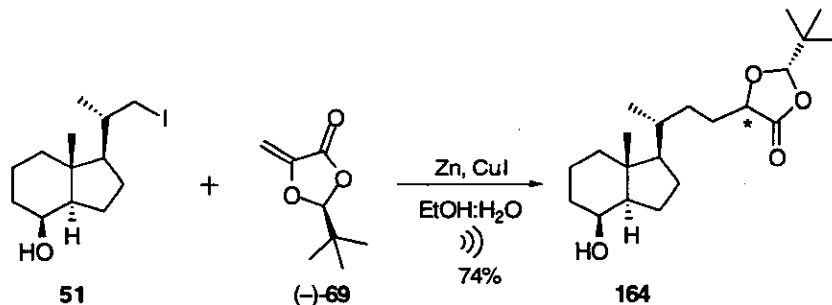
5.6.7. Des-A,B-22-yodo-23,24-dinorcolan-8 β -ol (**51**).^{64b}



Sobre una disolución del diol **37** (1.32 g, 6.24 mmol) en THF seco (30 mL) se añadieron sucesivamente PPh_3 (1.94 g, 7.40 mmol) e imidazol (1.28 g, 18.80 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió lentamente I_2 (1.70 g, 6.70 mmol) en porciones. Después de 15 min se retiró el baño y se agitó 1 h a temperatura ambiente. Se añadió NaHCO_3 (30 mL) y se extrajo con Et_2O (4×20 mL). Se separaron las fases y la orgánica se lavó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (40 mL, 10%). se secó, filtró y concentró a presión reducida proporcionando un aceite amarillento que se cromatógrafió en columna de gel de sílice a presión (2.5×18 cm, 0–25% EtOAc/hexanos), obteniéndose después de concentrar y secar a alto vacío 1.83 g de **51** (91%).

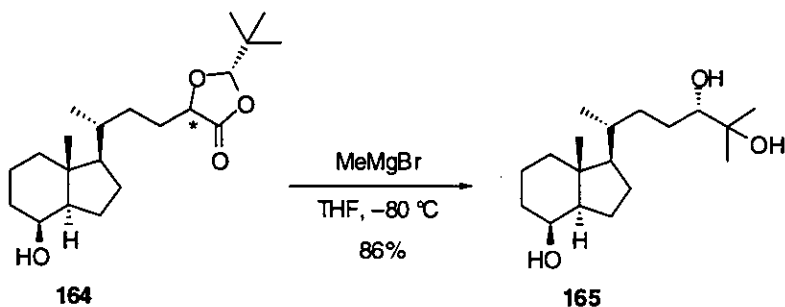
CCF $R_f = 0.65$ (30% EtOAc/hexanos); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.97 (s, 3 H, CH_3 -18), 1.00 (d, $J = 5.5$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 3.18 (dd, $J = 9.5$ y 4.8 Hz, 1 H, H-22), 3.32 (dd, $J = 9.5$ y 2.1 Hz, 1 H, H-22), 4.09 (m, 1 H, H-8).

5.6.8. (2'S,5'ξ,8β)-23-[2'-(*terc*-Butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-A,B-24-norcolan-8-ol (164).



A una disolución de (-)-69 (101 mg, 0.65 mmol) y 51 (419 mg, 1.30 mmol) en EtOH acuoso (5 mL, 70%) se añadió CuI (493 mg, 2.59 mmol) y Zn (509 mg, 7.77 mmol). La suspensión negra resultante se irradió con ultrasonidos, situando el tubo de reacción en el baño de forma que se obtuviese la máxima intensidad sonora durante 1 h 30 min, comprobándose la desaparición de 51 por CCF. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (8 mL) y se filtró en placa n° 3 sobre Celita®, lavando los sólidos con EtOAc (3 × 15 mL). La fase orgánica se lavó con disoluciones saturadas de NH₄Cl (30 mL) y NaCl (30 mL), secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (2.5 × 20 cm, 10–30% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 168 mg de 164 (74%) como un sólido blanco.

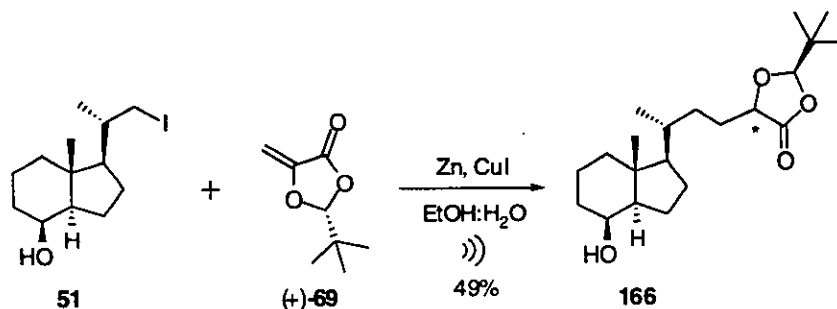
CCF R_f = 0.36 (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{26} = +42.73$ (c 1.29, CHCl₃); IR (película) 2973, 2946, 2890, 1749, 1194, 966, 737 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.92 (d, J = 4.4 Hz, 3 H, CH₃-21), 0.94 (s, 3 H, CH₃-18), 0.98 (s, 9 H, (CH₃)₃C), 4.08 (d, J = 2.9 Hz, 1 H, H-8), 4.22 (m, 1 H, H-20), 5.12 (s, 1 H, H-24), diastereómero: 5.24 (s, 1 H, H-24); ¹³C RMN δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.3 (CH₃), 22.5 (CH₂), 23.4 (CH₃), 27.0 (CH₂), 27.2 (CH₂), 30.9 (CH₂), 33.5 (CH₂), 34.2 (C), 43.9 (CH), 40.3 (CH₂), 41.8 (C), 52.5 (CH), 56.1 (CH), 69.2 (CH), 75.6 (CH), 109.2 (CH), 173.7 (C); EM (EI) m/z 353 (M⁺, 1), 352 (M⁺ - H, 5), 335 (M⁺ - H₂O, 38).

5.6.9. (8 β ,24 S)-Des-A,B-colestan-8,24,25-triol (165).

A una disolución de **164** (120 mg, 0.35 mmol), en THF seco (10 mL) a $-80\text{ }^\circ\text{C}$, se añadió una disolución MeMgBr en Et₂O (1.14 mL, 3.47 mmol, 3 M). Se dejó llegar lentamente a temperatura ambiente y se agitó 5 h más. Se detuvo la reacción por adición de gotas de MeOH, se concentró la mezcla a pequeño volumen y el residuo se disolvió en EtOAc (25 mL). Se lavó con disoluciones saturadas de NaHCO₃ (20 mL) y de NaCl (20 mL), secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró en el rotavapor. El residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 18 cm, 50–85% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 94 mg de **165** (86%) como un sólido blanco, que se cristalizó desde Et₂O: hexanos.

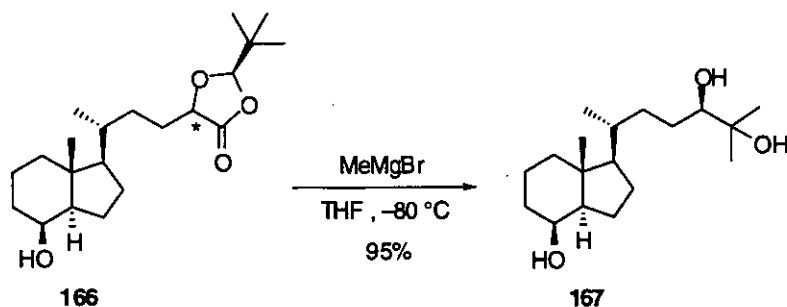
CCF R_f = 0.40 (70% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{21} = +19.28$ (c 0.47, CHCl₃); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.91 (d, J = 5.9 Hz, 3 H, CH₃-21), 0.93 (s, 3 H, CH₃-18), 1.18 y 1.20 (2 s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.27 (dd, J = 9.8 y 2.0 Hz, 1 H, H-24), 4.06 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.7 (CH₃), 22.5 (CH₂), 23.1 (CH₃), 26.5 (CH₃), 27.1 (CH₂), 28.3 (CH₂), 33.1 (CH₂), 33.5 (CH₂), 35.5 (CH), 40.4 (CH₂), 41.8 (C), 52.5 (CH₂), 56.6 (CH), 69.3 (CH), 73.2 (C), 79.5 (CH); EM (EI) m/z 298 (M⁺, 1), 270 (M⁺ - C₂H₄, 2), 256 (M⁺ - C₃H₆, 12).

5.6.10. (2'R,5'ξ,8β)-23-[2'-(*terc*-Butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-A,B-24-norcolan-8-ol (166).



A una disolución de (+)-**69** (100 mg, 0.64 mmol) y **51** (600 mg, 1.86 mmol) en EtOH acuoso (5 mL, 70%) se añadió CuI (200 mg, 1.05 mmol) y Zn (310 mg, 4.74 mmol). La suspensión negra resultante se irradió con ultrasonidos, situando el tubo de reacción en el baño de forma que se obtuviese la máxima intensidad sonora. durante 1 h 30 min, comprobándose la desaparición de **46** por CCF. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (8 mL) y se filtró en placa n° 3 sobre Celita®, lavando los sólidos con EtOAc (3 × 15 mL). La fase orgánica se lavó con disoluciones saturadas de NH₄Cl (30 mL) y NaCl (30 mL), secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (2.5 × 20 cm, 10–30% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 112 mg de **166** (49%) como un sólido blanco.

CCF $R_f = 0.34$ (30% EtOAc/hexanos); $[\alpha]_D^{28} = +26.97$ (c 1.20, CHCl₃); IR (película) 2949, 2936, 2874, 1796, 1197, 964, 738 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.93 (d, $J = 4.5$ Hz, 3 H, CH₃-21), 0.95 (s, 3 H, CH₃-18), 0.98 (s, 9 H, (CH₃)₃C), 4.07 (s ancho, 1 H, H-8), 4.25 (m, 1 H, H-20), 5.12 (d, $J = 1.1$ Hz, 1 H, H-24), diastereómero: 5.26 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-24); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.3 (CH₃), 22.5 (CH₂), 23.5 (CH₃), 27.0 (CH₂), 27.1 (CH₂), 30.5 (CH₂), 33.6 (CH₂), 34.3 (C), 34.7 (CH), 40.3 (CH₂), 41.8 (C), 52.6 (CH), 56.1 (CH), 69.3 (CH), 75.2 (CH), 109.2 (CH), 173.6 (C); EM (FAB) m/z 352 (M⁺ - H, 4), 335 (M⁺ - H₂O, 62); EMAR (EI) calculado para C₂₁H₃₆O₄ 352.2614 (M⁺), encontrado 352.2618.

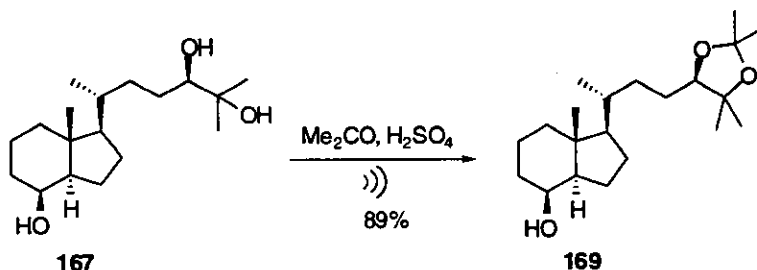
5.6.11. (8 β ,24 R)-Des-A,B-colestan-8,24,25-triol (167).

A una disolución de **166** (178 mg, 0.50 mmol), en THF seco (10 mL) a -80°C , se añadió una disolución MeMgBr en Et₂O (1.40 mL, 4.20 mmol, 3 M). Se dejó llegar lentamente a temperatura ambiente y se agitó 5 h más. Se detuvo la reacción por adición de gotas de MeOH, se concentró la mezcla a pequeño volumen y el residuo se disolvió en EtOAc (15 mL). Se lavó con disoluciones saturadas de NaHCO₃ (15 mL) y de NaCl (15 mL), secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró en el rotavapor. El residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1 × 15 cm, 30–50% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 142 mg de **167** (95%).

CCF R_f = 0.10 (30% EtOAc/hexanos); IR (película) 3186, 2922, 2361, 2342, 1377, 1071 cm^{-1} ; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.92 (d, J = 6.5 Hz, 3 H, CH₃-21), 0.94 (s, 3 H, CH₃-18), 1.18 y 1.20 (2 s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.33 (s ancho, 1 H, H-24), 4.08 (s ancho, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.4 (CH₃), 22.5 (CH₂), 23.2 (CH₃), 26.6 (CH₃), 27.2 (CH₂), 28.1 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.5 (CH₂), 35.1 (CH), 40.4 (CH₂), 41.9 (C), 52.6 (CH), 56.6 (CH), 69.4 (CH), 73.2 (C), 78.8 (CH); EM (FAB) m/z 298 (M⁺, 25), 281 (M⁺ – OH, 32), 270 (M⁺ – C₂H₄, 12), 256 (M⁺ – C₃H₆, 13); EMAR (EI) calculado para C₁₈H₃₄O₃ 298.2508 (M⁺), encontrado 298.2516.

5.7. SÍNTESIS DE 24R,25-DIHIIDROXIVITAMINA D₃ Y 1 α ,24R,25-TRIHIDROXIVITAMINA D₃.

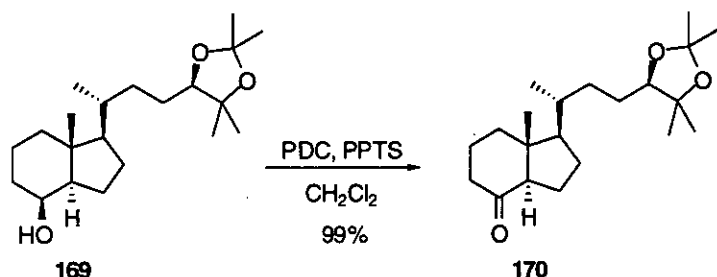
5.7.1. (4'R,8 β)-Des-A,B-24-nor-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanol (169).



Una disolución de **167** (100 mg, 0.33 mmol) en acetona (10 mL) y una gota de H₂SO₄ concentrado, se sometió a irradiación ultrasónica durante 2.5 h. Se concentró la mezcla a pequeño volumen y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL). La fase orgánica resultante se lavó con agua (15 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose 100 mg de **169** (89%).

CCF $R_f = 0.70$ (70% EtOAc/hexanos); **¹H RMN** (CDCl₃) δ 0.93 (s, 3 H, CH₃-18), 0.93 (d, $J = 5.6$ Hz, 3 H, CH₃-21), 1.11 (s, 3 H), 1.26 (s, 3 H), 1.37 (s, 3 H), 1.42 (s, 3 H), 3.64 (dd, $J = 8.6$ y 3.5 Hz, 1 H, H-24), 4.09 (s ancho, 1 H, H-8); **¹³C RMN** (CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.4 (CH₃), 22.5 (CH₂), 22.8 (CH₃), 25.9 (CH₂), 26.2 (CH₃), 26.8 (CH₃), 27.2 (CH₂), 28.6 (CH₃), 32.7 (CH₂), 33.6 (CH₂), 35.4 (CH), 40.4 (CH₂), 41.8 (C), 52.6 (CH), 56.4 (CH), 69.3 (CH), 80.2 (C), 83.7 (CH), 106.3 (C); **EM** (FAB, tioglicerol) m/z 339 ($M^+ + 1$, 4), 337 ($M^+ - H$, 12), 323 ($M^+ - H_2O$, 42); **EMAR** (EI) calculado para C₂₁H₃₈O₃ 338.2821 (M^+), encontrado 338.2831.

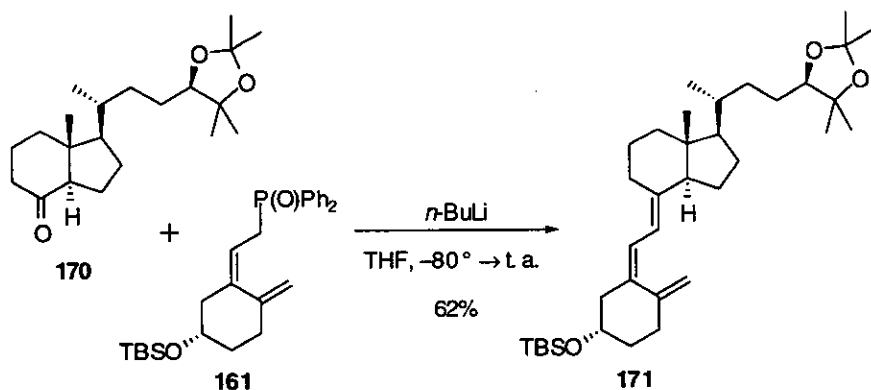
5.7.2. (4'R)-Des-A,B-24-nor-23-[2',2',5',5',-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanona (170).



Una mezcla de **169** (96 mg, 0.28 mmol), PDC (319 mg, 0.85 mmol) y una punta de espátula de PPTS en CH_2Cl_2 seco (17 mL), se agitó vigorosamente durante 6 h. Se añadió Et_2O (10 mL), se agitó 15 min más y se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con Et_2O (5×10 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1.5×8 cm, 30% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 94 mg de **170** (99%).

CCF $R_f = 0.70$ (50% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0.65 (s, 3 H, CH_3 -18), 0.99 (d, $J = 5.4$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 1.10 (s, 3 H), 1.25 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.42 (s, 3 H), 3.63 (dd, $J = 8.4$ y 3.4 Hz, 1 H, H-24); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 12.5 (CH_3), 18.6 (CH_3), 19.0 (CH_2), 22.9 (CH_3), 24.0 (CH_2), 26.0 (CH_2), 26.2 (CH_3), 26.8 (CH_3), 27.5 (CH_2), 28.5 (CH_3), 32.7 (CH_2), 35.6 (CH), 39.0 (CH_2), 40.9 (CH_2), 49.9 (C), 56.5 (CH), 61.9 (CH), 80.1 (C), 83.6 (CH), 106.4 (C), 211.9 (C); **EM (FAB)** m/z 337 ($\text{M}^+ + 1$, 22), 321 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 89); **EMAR (EI)** calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_3$ 336.2664 (M^+), encontrado 336.2653.

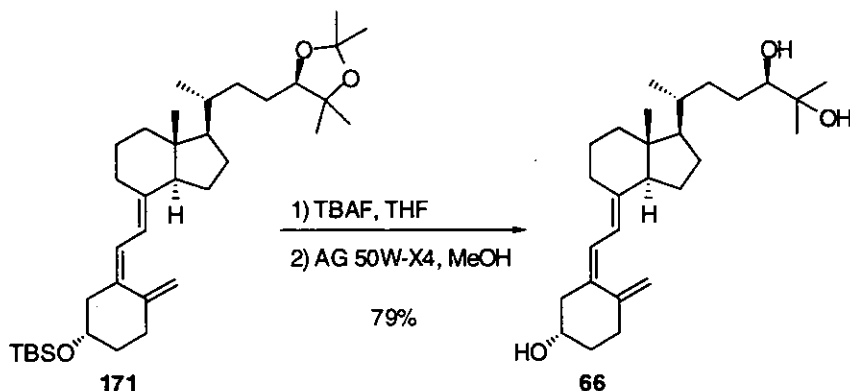
5.7.3. (3 β ,4'R)-3-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (171).



A una disolución de **161** (142 mg, 0.31 mmol) en THF seco (7 mL), a -80°C , se añadió lentamente una disolución de $n\text{-BuLi}$ en hexano (0.125 mL, 0.30 mmol, 2.39 M). La disolución de color rojo resultante se agitó 20 min a 0°C y se enfrió nuevamente a -80°C . Se añadió lentamente una disolución de la cetona **170** (43 mg, 0.13 mmol) en THF seco (3 mL) y se agitó durante 5 h en ausencia de luz permitiendo llegar hasta temperatura ambiente. La reacción se detuvo por adición de gotas de MeOH, se concentró a presión reducida y el residuo, disuelto en Et_2O (20 mL), se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NH_4Cl (10 mL) y NaCl (10 mL). Se separó la fase orgánica, se secó (Na_2SO_4 anh), filtró y concentró en el rotavapor. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (1.5 \times 15 cm, 20–60% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 46 mg de **171** (62%).

CCF $R_f = 0.65$ (50% EtOAc/hexanos); $^1\text{H RMN}$ (CD_2Cl_2) δ 0.06 (s, 3 H, CH_3Si), 0.07 (s, 3 H, CH_3Si), 0.56 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.87 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 0.95 (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{-21}$), 1.05 (s, 3 H), 1.20 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.35 (s, 3 H), 3.61 (m, 1 H, H-24), 3.86 (m, 1 H, H-3), 4.76 (s ancho, 1 H, H-19), 5.00 (s ancho, 1 H, H-19), 6.01 y 6.18 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7).

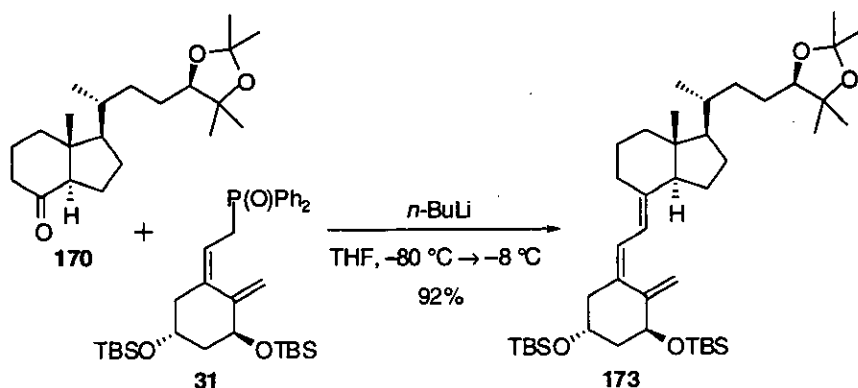
**5.7.4. (3 β ,24R)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-3,24,25-triol.
[24R,25-Dihidroxivitamina D₃] (66).**



Una disolución de **171** (33 mg, 0.06 mmol) y $n\text{-Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (45 mg, 0.14 mmol) en THF seco (10 mL) se agitó en ausencia de luz hasta desaparición de **171** en CCF (23 h). Se concentró a pequeño volumen y se disolvió en EtOAc (10 mL). La fase orgánica se lavó con disolución saturada de NH_4Cl (10 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en MeOH seco y desoxigenado (10 mL), se añadió resina AG[®]50W-X4 (175 mg) y la suspensión resultante se agitó en ausencia de luz durante 24 h. Se filtró en placa n° 3, lavando los sólidos con MeOH (4 \times 5 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1 \times 16 cm, 60–100% EtOAc/hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 20 mg de **66** (79%) como un sólido blanco.

CCF R_f = 0.5 (EtOAc); $^1\text{H RMN}$ (CD_3OD) δ 0.56 (s, 3 H, CH_3 -18), 0.95 (d, J = 5.9 Hz, 3 H, CH_3 -21), 1.12 y 1.15 (2 s, 6 H, CH_3 -26 y CH_3 -27), 3.21 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, H-24), 3.75 (m, 1 H, H-3), 4.74 (s ancho, 1 H, H-19), 5.02 (s ancho, 1 H, H-19), 6.02 y 6.21 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7); $^{13}\text{C RMN}$ (CD_3OD) δ 12.3 (CH_3), 19.2 (CH_3), 23.2 (CH_3), 24.5 (CH_2), 24.9 (CH_3), 25.6 (CH), 28.7 (CH_2), 29.9 (CH_2), 30.7 (CH_2), 30.9 (CH_2), 33.6 (CH_2), 34.2 (CH_2), 36.6 (CH_2), 37.2 (CH), 41.9 (CH_2), 46.9 (C), 47.0 (CH_2), 58.0 (CH), 70.5 (CH), 73.8 (C), 79.7 (CH), 112.6 (CH_2), 118.9 (CH), 122.6 (CH), 137.3 (C), 142.5 (C), 147.0 (C); EM (EI) m/z 416 (M^+ , 11), 383 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, - H_2O , 3), 357 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7\text{O}$, 2), 136 (89), 118 (100).

5.7.5. (1 α ,3 β ,4' R)-1,3-Di[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (173).

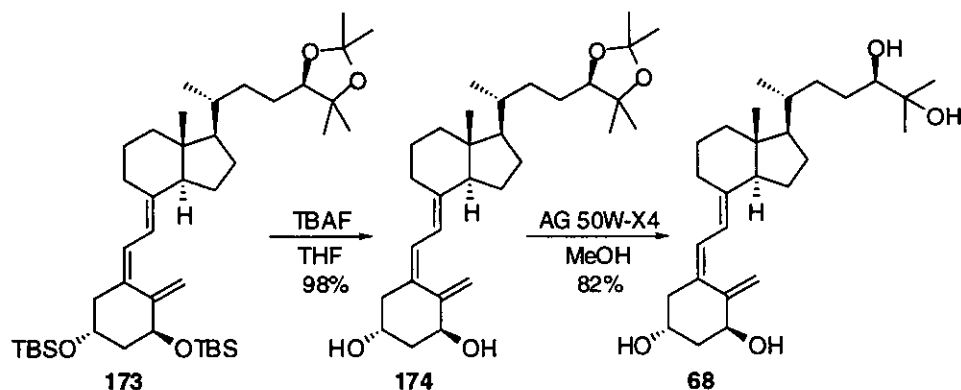


Sobre una disolución de **31** (128 mg, 0.22 mmol) en THF seco (7 mL) a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ se añadió una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.10 mL, 0.21 mmol, 2.13 M). La disolución de color rojo intenso resultante se agitó 20 min a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se enfrió nuevamente a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadió lentamente una disolución de la cetona **170** (50 mg, 0.15 mmol) en THF seco (3 mL). Se agitó durante 2.5 h en ausencia de luz permitiendo llegar hasta $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. La reacción se detuvo por adición de gotas de MeOH. Se concentró a presión reducida y el residuo disuelto en Et₂O (15 mL) se lavó con disoluciones saturadas de NH₄Cl y NaCl (15 mL respect.). Se separó la fase orgánica, se secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró en el rotavapor. El crudo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1.5 × 15 cm, 20–50% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 96 mg de **173** (92%).

CCF R_f = 0.76 (50% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CD₂Cl₂) δ 0.06 (s, 12 H, CH₃Si), 0.53 (s, 3 H, CH₃-18), 0.87 (s, 18 H, (CH₃)₃CSi), 0.95 (d, J = 5.9 Hz, 3 H, CH₃-21), 1.05 (s, 3 H), 1.20 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.35 (s, 3 H), 3.61 (dd, J = 8.8 y 2.9 Hz, 1 H, H-24), 4.18 (m, 1 H, H-3), 4.38 (t, J = 5.4 Hz, 1 H, H-1), 4.84 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, H-19), 5.18 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, H-19), 6.02 y 6.26 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CD₂Cl₂) δ -4.9 (CH₃), -4.7 (CH₃), -4.64 (CH₃), -4.61 (CH₃), 11.1 (CH₃), 12.1 (CH₃), 18.4 (C), 18.9 (CH₃), 22.5 (CH₂), 23.1 (CH₃), 23.9 (CH₂), 26.0 (CH₃), 26.4 (CH), 27.0 (CH₃),

28.0 (CH₂), 28.8 (CH₃), 29.2 (CH₂), 33.3 (CH₂), 36.6 (CH), 39.15 (C), 40.9 (CH₂), 45.2 (CH₂), 46.1 (C), 46.3 (CH₂), 56.7 (CH), 67.9 (CH), 72.3 (CH₃), 80.4 (C), 84.0 (CH), 106.5 (C), 111.4 (CH₂), 118.2 (CH), 123.4 (CH), 135.5 (C), 141.5 (C), 148.8 (C); **EM** (FAB) *m/z* 702 (M⁺ + 1, 6), 701 (M⁺, 16), 699 (M⁺ - 2H, 9); **EMAR** (EI) calculado para C₄₂H₇₆O₄Si₂ 700.5282 (M⁺), encontrado 700.5292.

5.7.6. (1 α ,3 β ,24*R*)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-1,3,24,25-tetraol. [1 α ,24*R*,25-Trihidroxivitamina D₃] (68).



Una disolución de **173** (95 mg, 0.13 mmol) y *n*-Bu₄NF·3H₂O (171 mg, 0.54 mmol) en THF seco (10 mL) se agitó en ausencia de luz hasta desaparición de **173** en CCF (22 h). Se concentró a pequeño volumen y se disolvió en EtOAc (10 mL). La fase orgánica se lavó con disolución saturada de NH₄Cl (10 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose 62 mg de **174** (98%). Se disolvió en MeOH seco y desoxigenado (10 mL), se añadió resina AG®50W-X4 (370 mg) y la suspensión resultante se agitó en ausencia de luz durante 22 h. Se filtró en placa n° 3, lavando los sólidos con MeOH (4 × 6 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (1.5 × 15 cm, 0–10% MeOH/EtOAc) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 45 mg de **68** (80%, dos pasos) como un sólido blanco.

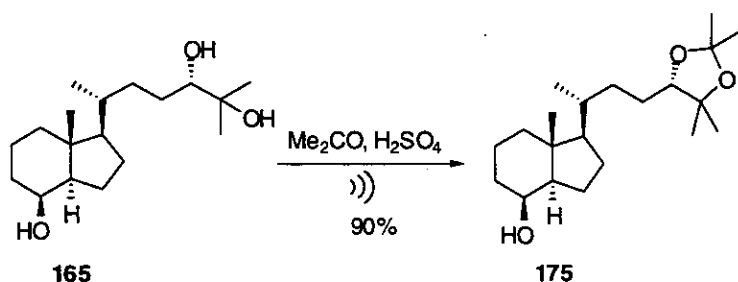
174: CCF *R_f* = 0.47 (EtOAc); **IR** (película) 3408, 2979, 2874, 1643, 1371, 1217, 1055, 738 cm⁻¹; **¹H RMN** (CD₃OD) δ 0.57 (s, 3 H, C-18), 0.97 (d, *J* = 5.9

Hz, 3 H, CH₃-21), 1.07 (s, 3 H), 1.22 (s, 3 H), 1.29 (s, 3 H), 1.36 (s, 3 H), 3.66 (d ancho, $J = 8.8$ Hz, 1 H, H-24), 4.11 (m, 1 H, H-3), 4.35 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H, H-1), 4.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, H-19), 5.29 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-19), 6.08 y 6.32 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CD₃OD) δ 12.4 (CH₃), 19.3 (CH₃), 23.3 (CH₃), 24.6 (CH₂), 26.4 (CH), 26.9 (CH₃), 27.1 (CH₃), 28.7 (CH₂), 28.9 (CH₂), 30.0 (CH₂), 30.8 (CH₂), 34.1 (CH₂), 37.3 (CH), 41.9 (CH₂), 43.7 (CH₂), 46.1 (CH₂), 46.9 (C), 57.5 (CH), 57.8 (CH), 67.4 (CH), 71.4 (CH₃), 81.6 (C), 84.9 (CH), 107.6 (C), 112.0 (CH₂), 119.0 (CH), 124.8 (CH), 135.7 (C), 142.4 (C), 149.8 (C); **EM** (EI) m/z 472 (M⁺, 12), 457 (M⁺ - CH₃, 64), 414 (M⁺ - C₃H₆O, 16); **EMAR** (EI) calculado para C₃₀H₄₈O₄ 472.3553 (M⁺), encontrado 472.3558.

17: CCF $R_f = 0.3$ (EtOAc); **IR** (película) 3426, 3412, 2924, 2853, 1736, 1639, 1364, 1208, 1046 cm⁻¹; ¹H RMN (CD₃OD) δ 0.57 (s, 3 H, C-18), 0.96 (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, CH₃-21), 1.12 y 1.15 (2 s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.21 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H, H-24), 4.11 (m, 1 H, H-3), 4.35 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H, H-1), 4.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, H-19), 5.28 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-19), 6.08 y 6.32 (2 d, sistema AB, $J = 11.2$ Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CD₃OD) δ 12.4 (CH₃), 14.4 (CH₃), 19.3 (CH₃), 23.3 (CH₂), 24.6 (CH₂), 25.0 (CH), 25.6 (CH), 28.7 (CH₂), 30.0 (CH₂), 30.7 (CH₂), 34.2 (CH₂), 37.2 (CH), 41.9 (CH₂), 43.7 (CH₂), 46.1 (CH₂), 46.7 (C), 58.1 (CH), 67.4 (CH), 71.4 (CH₃), 73.9 (C), 79.7 (CH), 112.0 (CH₂), 119.0 (CH), 124.9 (CH), 135.6 (C), 142.5 (C), 149.8 (C); **EM** (EI) m/z 432 (M⁺, 9), 415 (M⁺ - OH, 32), 414 (M⁺ - H₂O, 100); **EMAR** (EI) calculado para C₂₇H₄₄O₄ 432.3240 (M⁺), encontrado 432.3240.

5.8. SÍNTESIS DE 24S,25-DIHIDROXIVITAMINA D₃

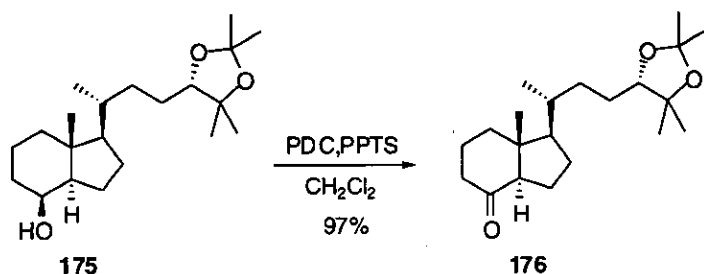
5.8.1. (4'S,8β)-Des-A,B-24-nor-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-8-colanol (175).



Una disolución de **165** (62 mg, 0.21 mmol) en acetona (12 mL) y una gota de H₂SO₄ concentrado, se sometió a irradiación ultrasónica durante 5 h. Se concentró la mezcla a pequeño volumen y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL). La fase orgánica resultante se lavó con agua (15 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida, obteniéndose 63 mg de **175** (90%).

CCF $R_f = 0.75$ (70% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.93 (s, 3 H, CH₃-18), 0.93 (d, $J = 5.4$ Hz, 3 H, CH₃-21), 1.10 (s, 3 H), 1.25 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.41 (s, 3 H), 3.61 (dd, $J = 6.3$ Hz, 1 H, H-24), 4.08 (d, $J = 2.4$ Hz, 1 H, H-8); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 17.4 (CH₂), 18.6 (CH₃), 22.5 (CH₂), 22.8 (CH₃), 25.9 (CH₂), 26.3 (CH₃), 26.8 (CH₃), 27.1 (CH₂), 28.6 (CH₃), 32.7 (CH₂), 33.5 (CH₂), 35.3 (CH), 40.4 (CH₂), 41.8 (C), 52.6 (CH), 56.4 (CH), 69.3 (CH), 80.1 (C), 84.0 (CH), 106.3 (C); EM (EI) m/z 337 (M⁺ - H, 1), 323 (M⁺ - H₂O, 58).

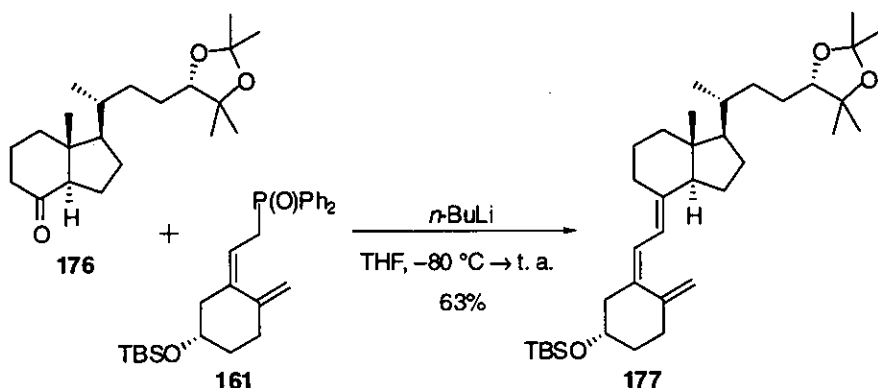
5.8.2. (4'S)-Des-A,B-23-[2',2',5',5',-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-24-norcolan-8-ona (176).



Una mezcla de **175** (111 mg, 0.33 mmol), PDC (371 mg, 0.98 mmol) y una punta de espátula de PPTS en CH_2Cl_2 seco, se agitó vigorosamente durante 6 horas. Se añadió Et_2O (10 mL), se agitó 15 min más y se filtró en placa n° 3 con Celita®, lavando los sólidos con Et_2O (5×8 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2.5×18 cm, 30% EtOAc/hexanos) obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 107 mg de **176** (97%).

CCF $R_f = 0.70$ (50% EtOAc/hexanos); IR (película) 1720, 1120 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.64 (s, 3 H, CH_3 -18), 0.98 (d, $J = 5.8$ Hz, 3 H, CH_3 -21), 1.08 (s, 3 H), 1.24 (s, 3 H), 1.31 (s, 3 H), 1.40 (s, 3 H), 3.60 (dd, $J = 6.1$ y 1.0 Hz, 1 H, H-24); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 12.5 (CH_3), 18.6 (CH_3), 19.0 (CH_2), 22.8 (CH_3), 24.0 (CH_2), 25.9 (CH_2), 26.2 (CH_3), 26.8 (CH_3), 27.5 (CH_2), 28.5 (CH_3), 32.8 (CH_2), 35.6 (CH), 39.0 (CH_2), 40.9 (CH_2), 49.9 (C), 56.5 (CH), 61.9 (CH), 80.1 (C), 83.9 (CH), 106.3 (C), 211.9 (C); EM (EI) m/z 321 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 100).

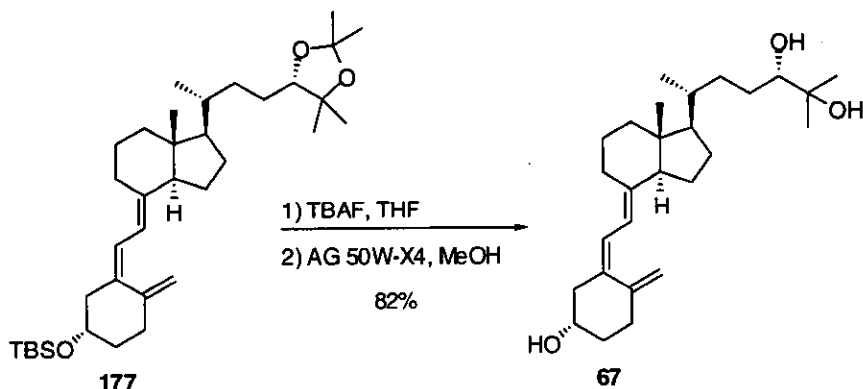
5.8.3. (3 β ,4'S)-3-[(*tert*-Butildimetilsilil)oxi]-24-nor-9,10-seco-23-[2',2',5',5'-tetrametil-1',3'-dioxolan-4'-il]-5,7,10(19)-colatrieno (177).



A una disolución de **161** (81 mg, 0.18 mmol) en THF seco (7 mL), a -80 °C, se añadió lentamente una disolución de *n*-BuLi en hexano (0.092 mL, 0.20 mmol, 2.24 M). La disolución de color rojo resultante se agitó 20 min a 0 °C y se enfrió nuevamente a -80 °C. Se añadió lentamente una disolución de la cetona **176** (46 mg, 0.14 mmol) en THF seco (4 mL) y se agitó durante 5 h en ausencia de luz permitiendo llegar hasta temperatura ambiente. La reacción se detuvo por adición de gotas de MeOH, se concentró a presión reducida y el residuo, disuelto en Et₂O (25 mL), se lavó sucesivamente con disoluciones saturadas de NH₄Cl (15 mL) y NaCl (10 mL). Se separó la fase orgánica, se secó (Na₂SO₄ anh), filtró y concentró en el rotavapor. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice a presión (2.5 × 14 cm, 10–60% EtOAc/hexanos), obteniéndose, después de concentrar y secar a alto vacío, 54 mg de **177** (63%).

CCF R_f = 0.74 (30% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.06 (s, 6 H, (CH₃)₂Si), 0.54 (s, 3 H, CH₃-18), 0.88 (s, 9 H, (CH₃)₃CSi), 0.95 (d, J = 5.9 Hz, 3 H, CH₃-21), 1.05 (s, 3 H), 1.20 (s, 3 H), 1.27 (s, 3 H), 1.35 (s, 3 H), 3.59 (m, 1 H, H-24), 3.84 (m, 1 H, H-3), 4.76 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, H-19), 5.01 (d, J = 1.0 Hz, 1 H, H-19), 6.01 y 6.18 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7).

5.8.4. (3 β ,24S)-9,10-Secocolesta-5,7,10(19)-trien-3,24,25-triol.
[24S,25-Dihidroxivitamina D₃] (67).



Una disolución de **177** (40 mg, 0.07 mmol) y *n*-Bu₄NF·3H₂O (45 mg, 0.14 mmol) en THF seco (8 mL) se agitó en ausencia de luz hasta desaparición de **177** en CCF (14 h). Se concentró a pequeño volumen y se disolvió en EtOAc (20 mL). La fase orgánica se lavó con disolución saturada de NH₄Cl (10 mL), secó, filtró y concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en MeOH seco y desoxigenado (7 mL), se añadió resina AG[®]50W-X4 (175 mg) y la suspensión resultante se agitó en ausencia de luz durante 24 h. Se filtró en placa n° 3, lavando los sólidos con MeOH (4 × 5 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna de gel de sílice a presión (2 × 12 cm, 75–100% EtOAc/hexanos) para obtener, después de concentrar y secar a alto vacío, 24 mg de **67** (82%) como un sólido blanco.

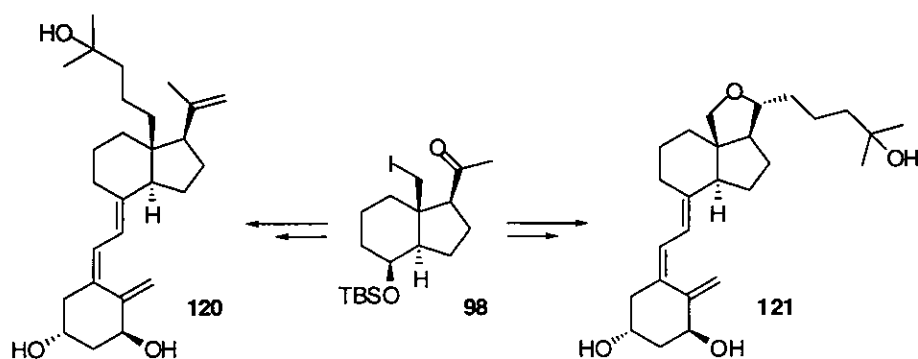
CCF R_f = 0.46 (70% EtOAc/hexanos); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.55 (s, 3 H, CH₃-18), 0.94 (d, J = 5.9 Hz, 3 H, CH₃-21), 1.11 y 1.16 (2 s, 6 H, CH₃-26 y CH₃-27), 3.21 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, H-24), 3.87 (m, 1 H, H-3), 4.78 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, H-19), 5.03 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, H-19), 6.02 y 6.22 (2 d, sistema AB, J = 11.2 Hz, 2 H, H-6 y H-7); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 12.1 (CH₃), 19.1 (CH₃), 22.6 (CH₂), 23.4 (CH₃), 23.9 (CH₂), 26.6 (CH), 27.9 (CH₂), 28.7 (CH₂), 29.3 (CH₂), 30.0 (CH₂), 32.4 (CH₂), 33.6 (CH₂), 35.7 (CH₂), 36.7 (CH), 40.9 (CH₂), 46.3 (CH₂), 56.8 (CH), 69.5 (CH), 73.3 (C), 79.9 (CH), 112.4 (CH₂), 117.9 (CH), 122.5 (CH), 135.8 (C), 142.4 (C), 145.8 (C); EM (EI) m/z 416 (M⁺, 18), 398 (M⁺ - H₂O, 3), 383 (M⁺ - CH₃, - H₂O, 22), 357 (M⁺ - C₃H₇O, 7).

6

CONCLUSIONES

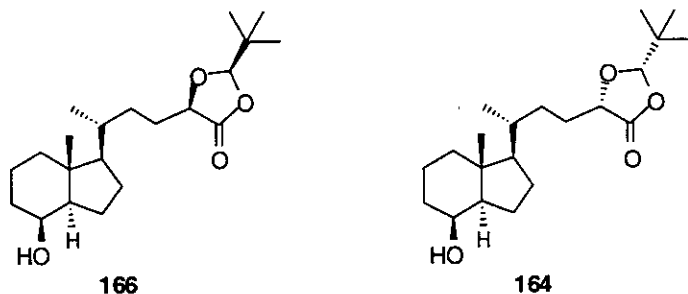
6. CONCLUSIONES.

- Mediante una reacción de funcionalización remota fotoquímica de la posición C-18 de un biciclo CD esteroidal, asistida por un hidroxilo en la posición C-20, se ha sintetizado la (8 β)-8-[(*terc*-butildimetilsilil)oxi]des-A,B-18-yodo-pregnan-20-ona (**98**). Este compuesto representa un valioso intermedio para la obtención de análogos de vitamina D₃ y calcitriol modificados en el entorno de la posición C-18.
- Se ha sintetizado, a partir de la yodocetona **98** mediante una reacción de adición conjugada en presencia de par Zn(Cu) y con radiación ultrasónica, el (1 α ,3 β ,5Z,7E)-18-(3-hidroxi-3-metilbutil)-20-metil-9,10-secopregna-5,7,10(19),20-tetraeno-1,3-diol (**120**) en 9 etapas y un rendimiento global del 11% desde la cetona **100**. Este compuesto es el primer análogo de calcitriol con una cadena carbonada hidroxilada, similar a la natural, unida a la posición C-18.

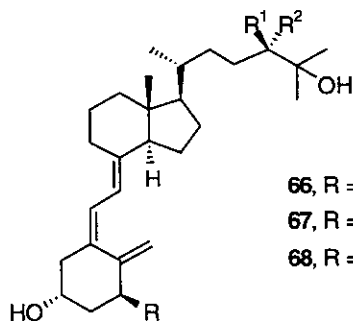


- Se ha sintetizado el primer análogo de calcitriol que presenta un puente éter entre las posiciones C-18 y C-20 [(1 α ,3 β ,5Z,7E,20R)-18,20-epoxi-21-nor-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trien-1,3,25-triol (**121**)], en 11 etapas y un rendimiento global del 22% desde la cetona **100**, limitando los grados de libertad de la cadena lateral y, al mismo tiempo, situando un átomo de oxígeno próximo a dicha cadena lateral.

- Mediante reacción de adición conjugada inducida por ultrasonidos del yoduro **51** sobre la *R*-dioxolanona (+)-**69**, se ha obtenido el compuesto de adición conjugada (2'*R*,5'*R*,8β)-23-[2'-(*terc*-butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-*A,B*-24-norcolan-8-ol (**166**) en un exceso diastereomérico del 83%.



- Mediante reacción de adición conjugada inducida por ultrasonidos del yoduro **51** sobre la *S*-dioxolanona (–)-**69**, se ha obtenido el compuesto de adición conjugada (2'*S*,5'*S*,8β)-23-[2'-(*terc*-butil)-4'-oxo-1',3'-dioxolan-5'-il]-des-*A,B*-24-norcolan-8-ol (**164**) en un exceso diastereomérico del 86%.
- Se han sintetizado los metabolitos de la vitamina D₃ 24-hidroxilados: 24*R*,25-dihidroxivitamina D₃ (**66**), en 6 etapas desde el yoduro **51** y un rendimiento global del 20%; 24*S*,25-dihidroxivitamina D₃ (**67**), en 6 etapas desde el yoduro **51** y un rendimiento global del 29%, y 1α,24*R*,25-trihidroxivitamina D₃ (**68**), en 6 etapas desde el yoduro **51** y un rendimiento global del 26%. Esta ruta sintética permite la introducción de diferentes grupos en el entorno de C-25 obteniéndose el hidroxilo en C-24 con elevadas diastereoselectividades.



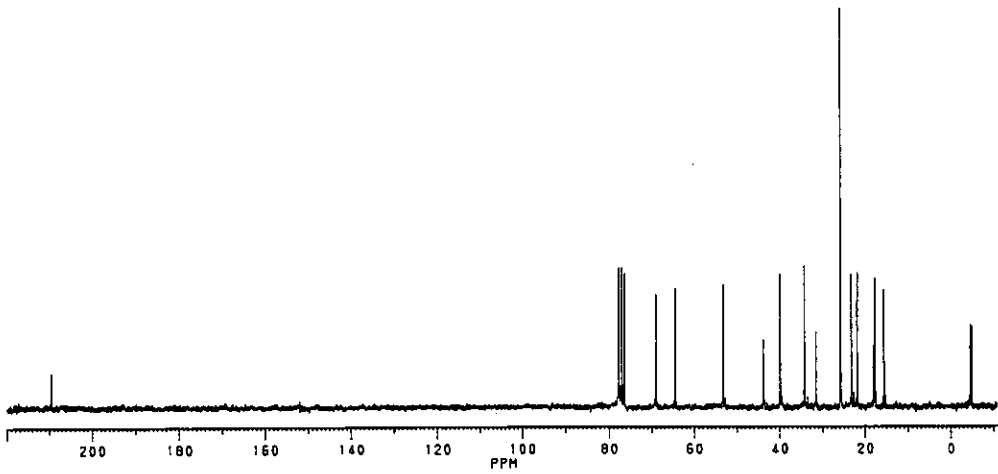
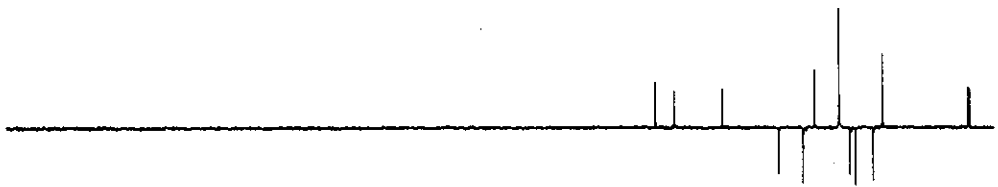
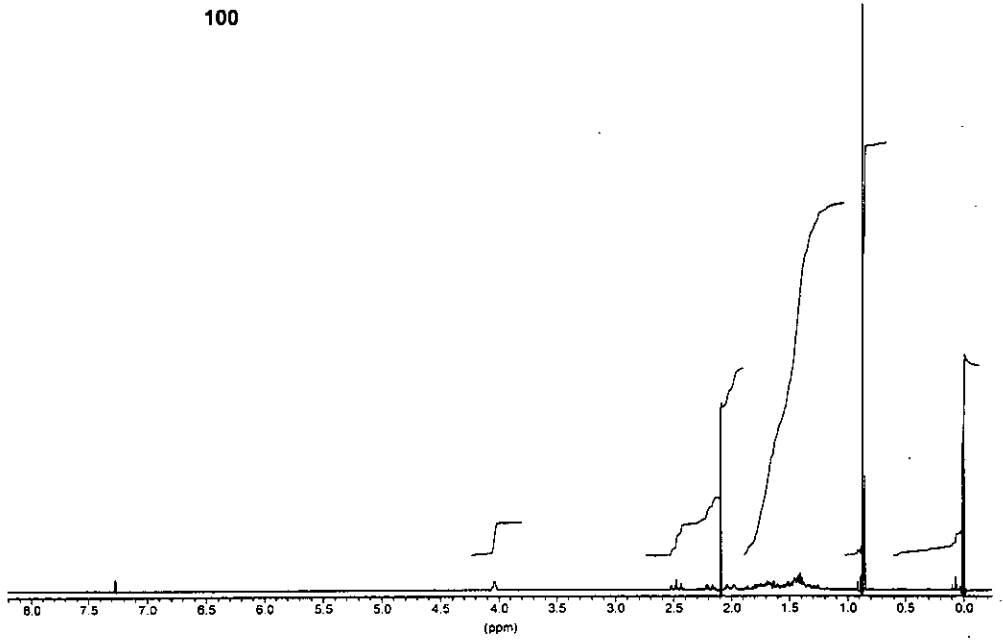
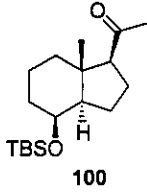
66, R = R² = H, R¹ = OH, 24*R*,25-(OH)₂-D₃

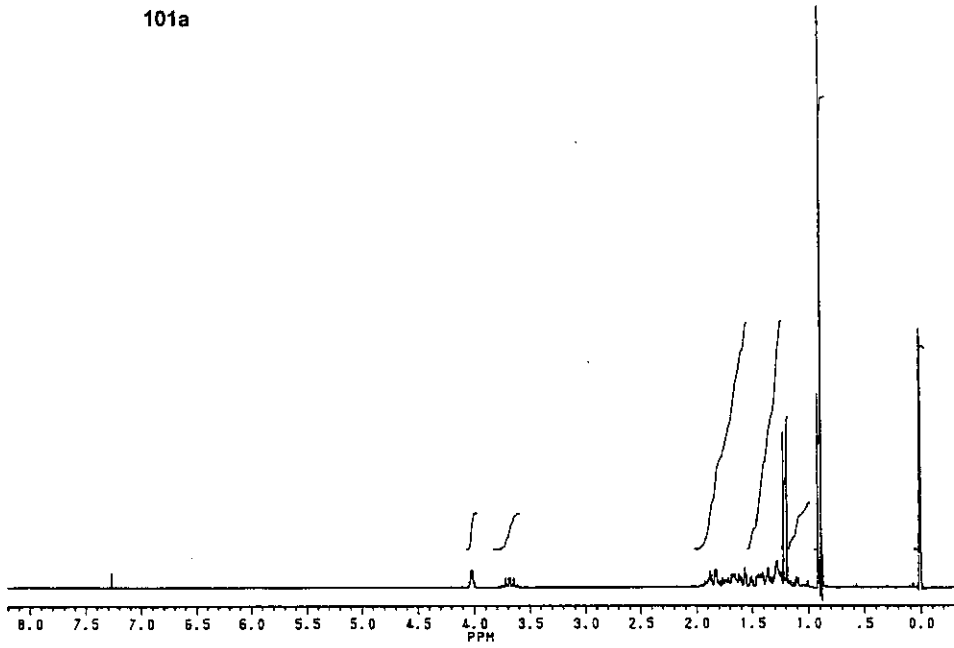
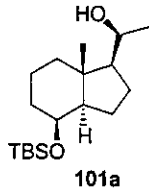
67, R = R¹ = H, R² = OH, 24*S*,25-(OH)₂-D₃

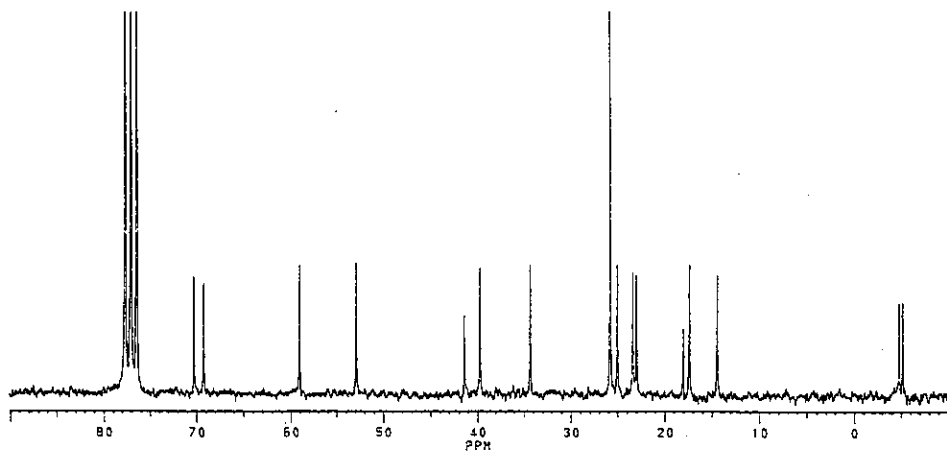
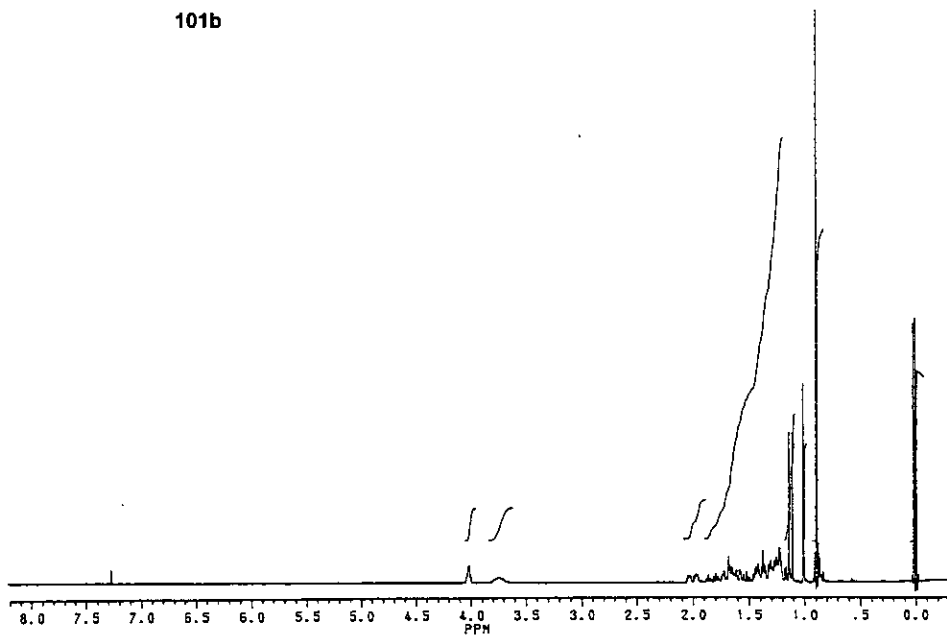
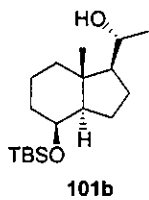
68, R = R¹ = OH, R² = H, 1α,24*R*,25-(OH)₃-D₃

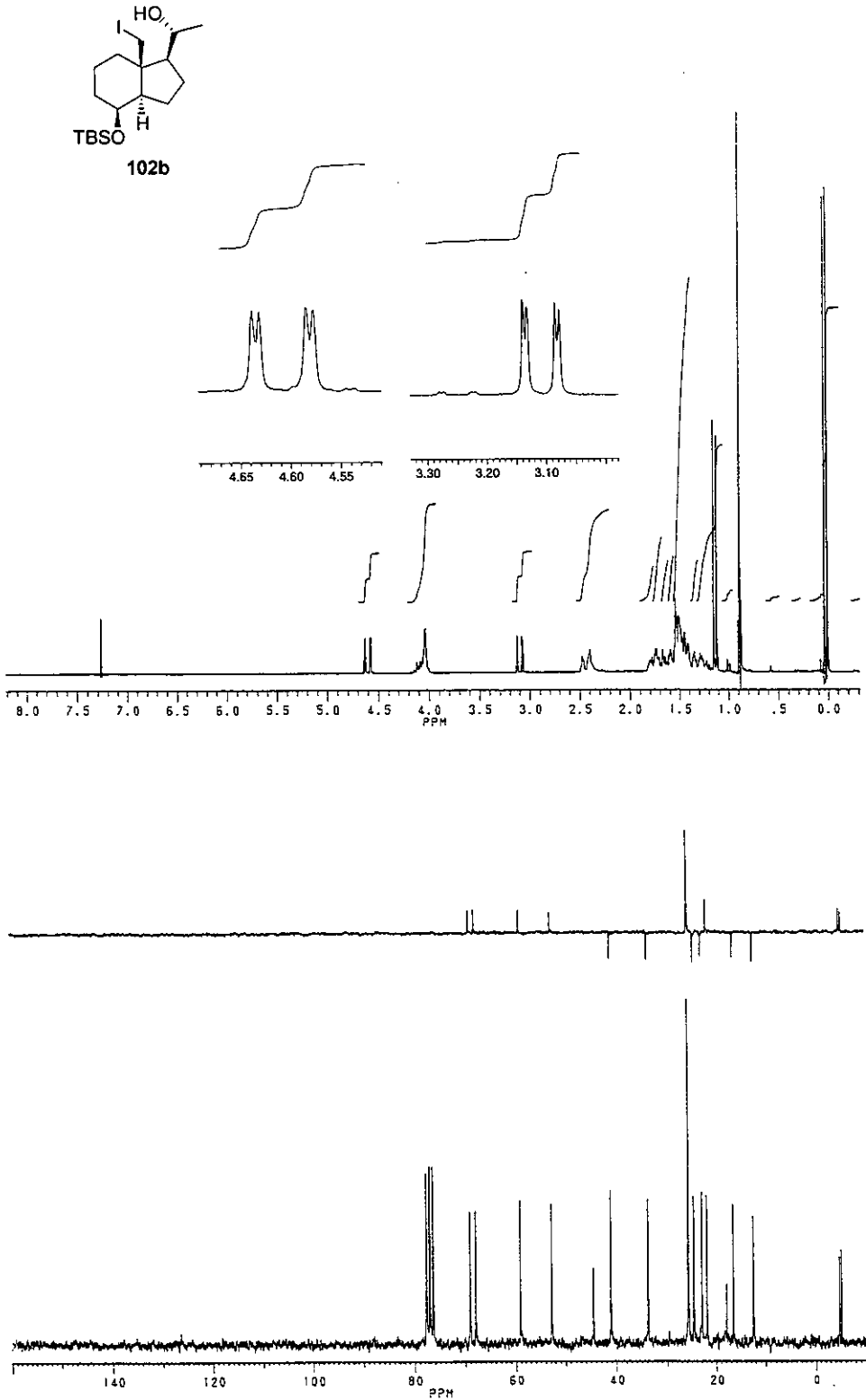
7

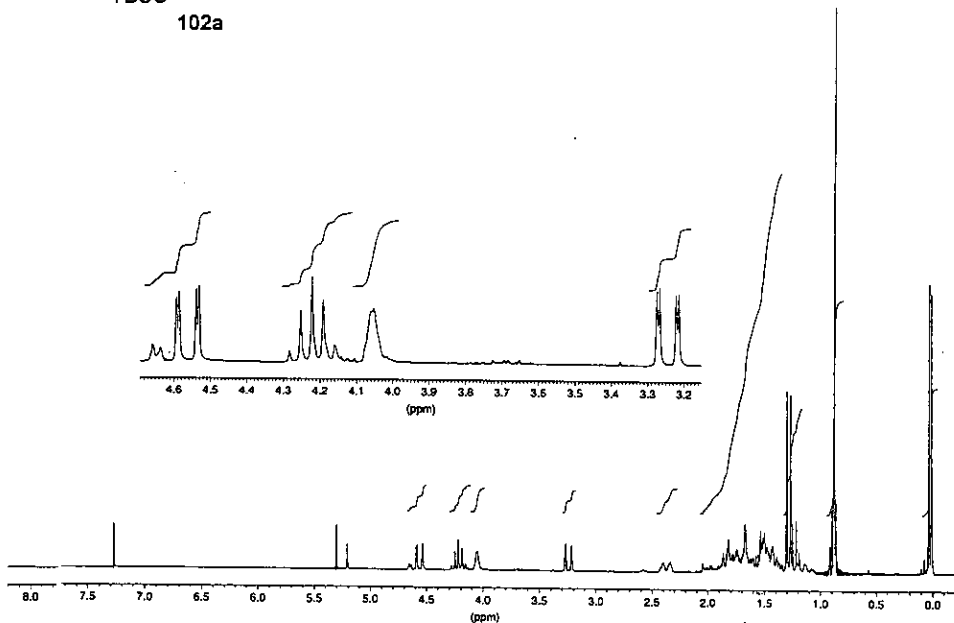
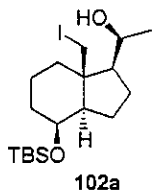
APÉNDICE I Espectros de RMN

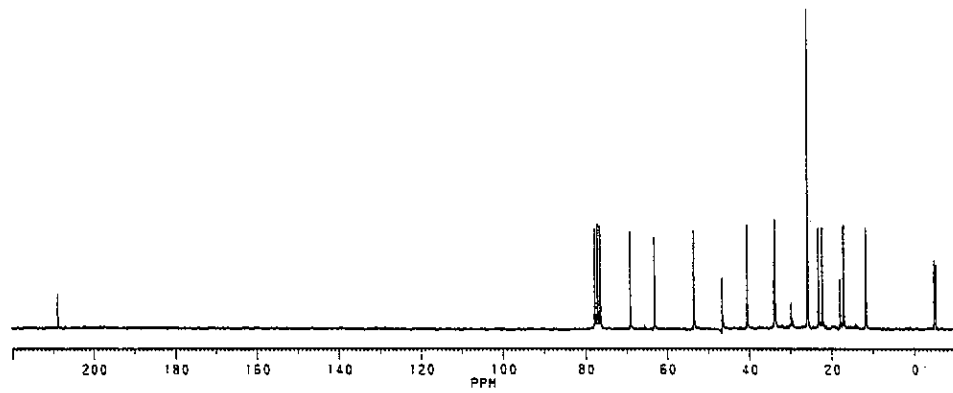
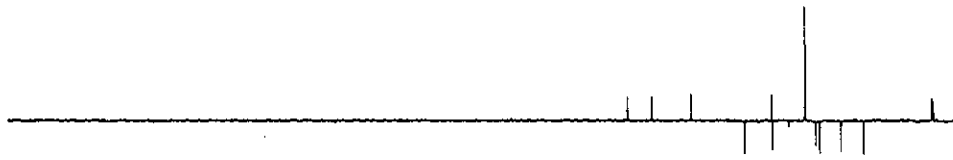
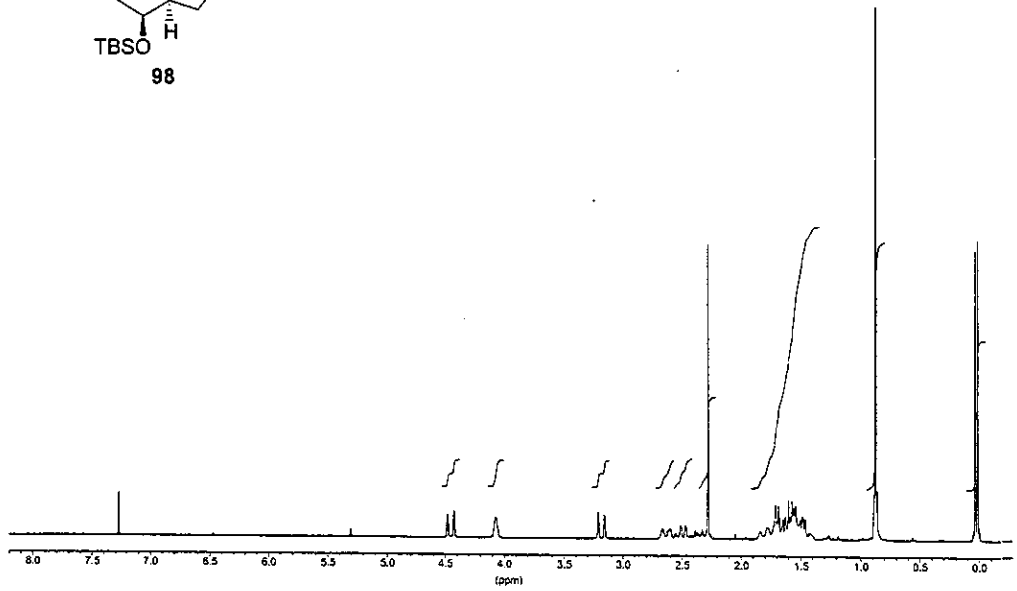
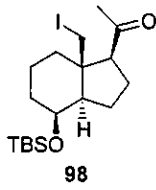


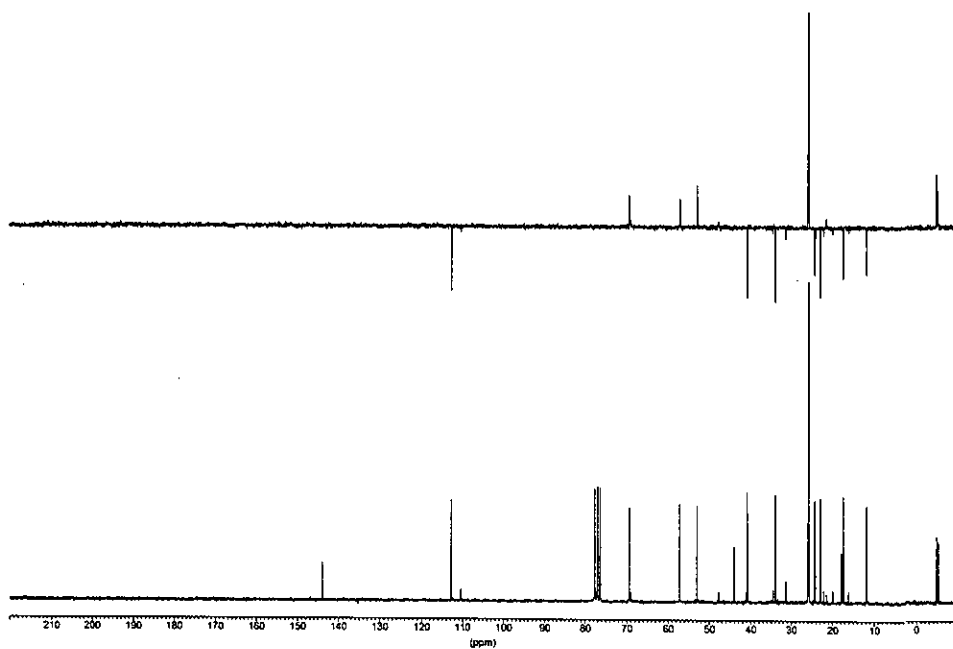
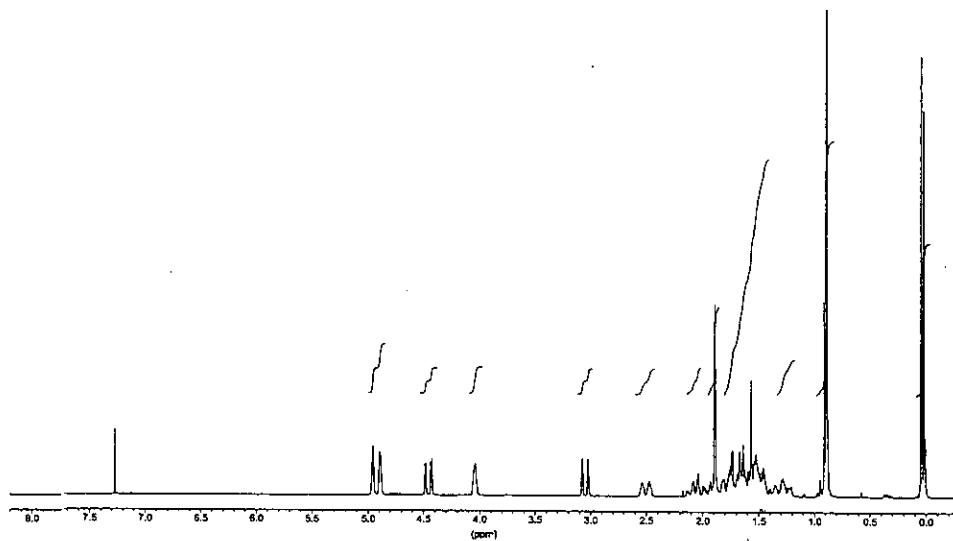
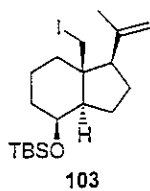


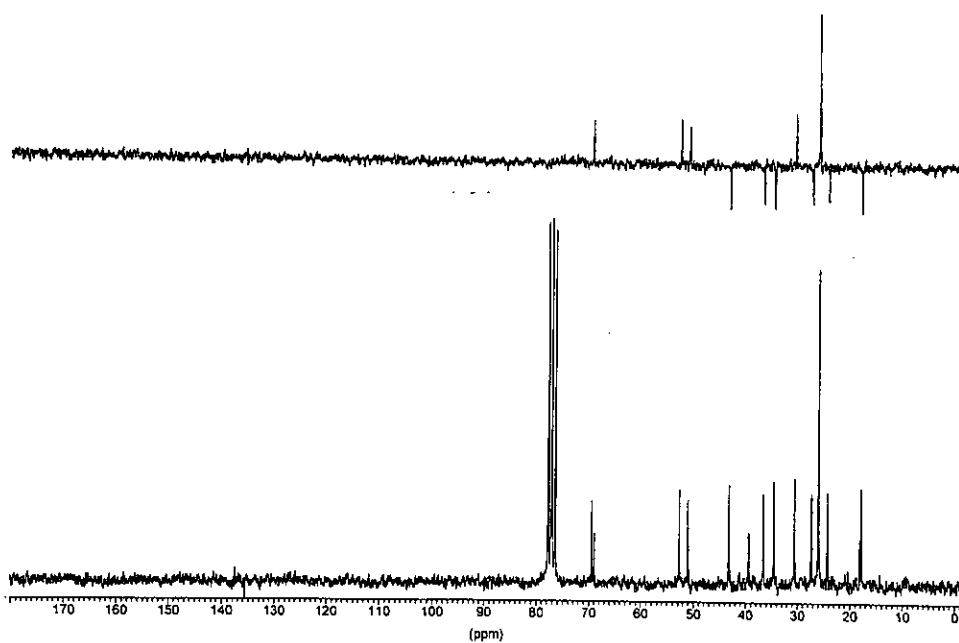
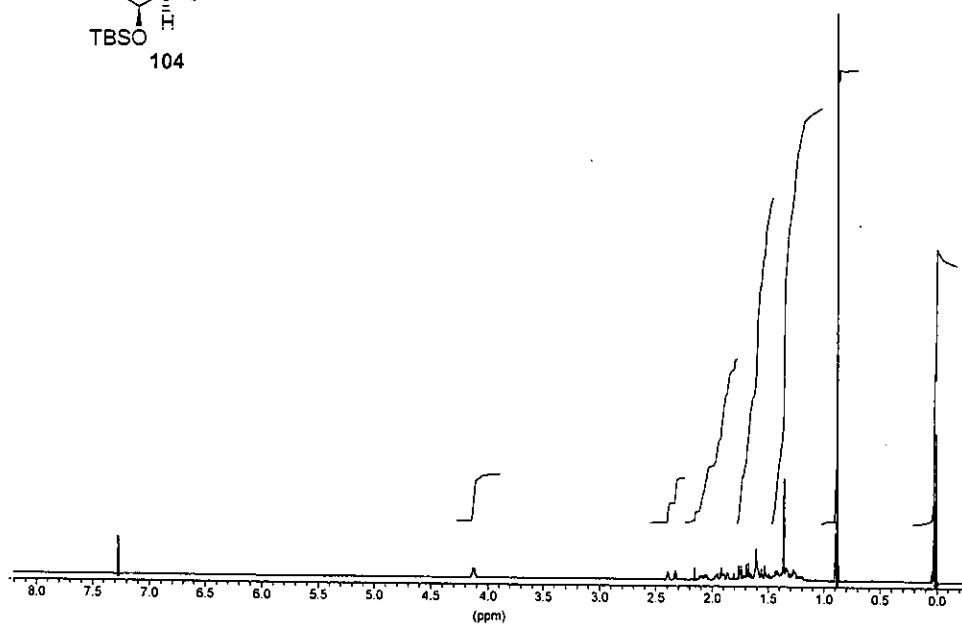
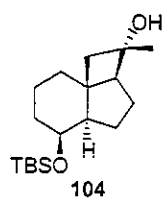


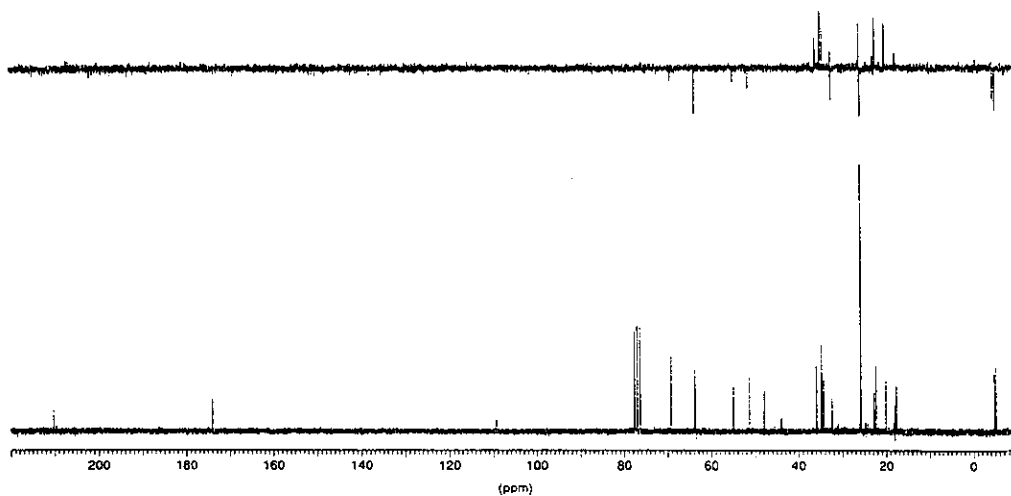
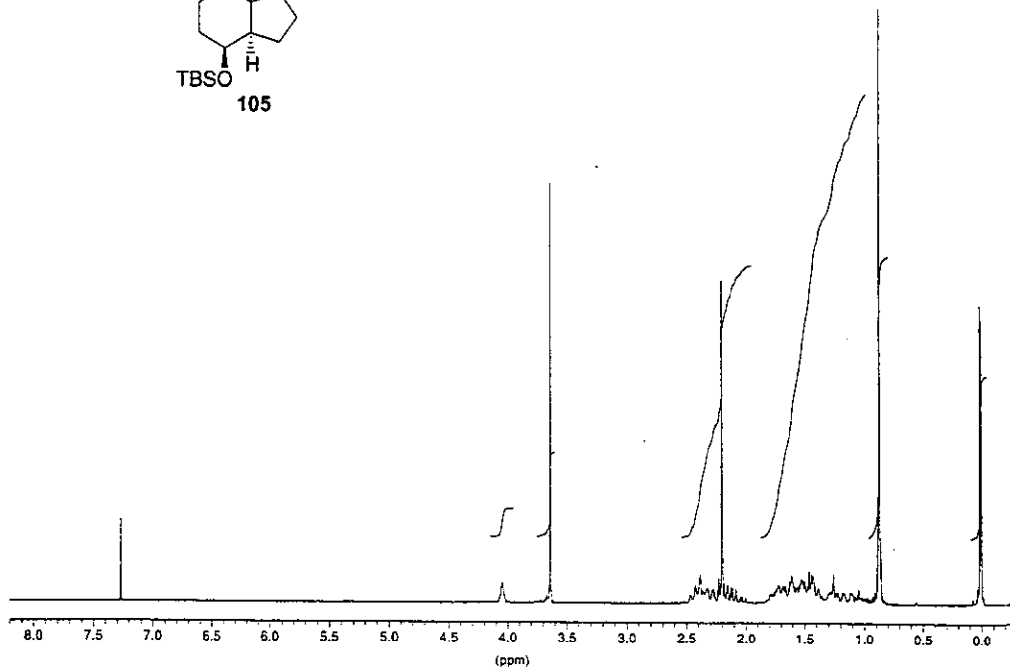
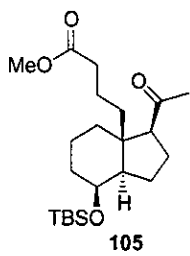


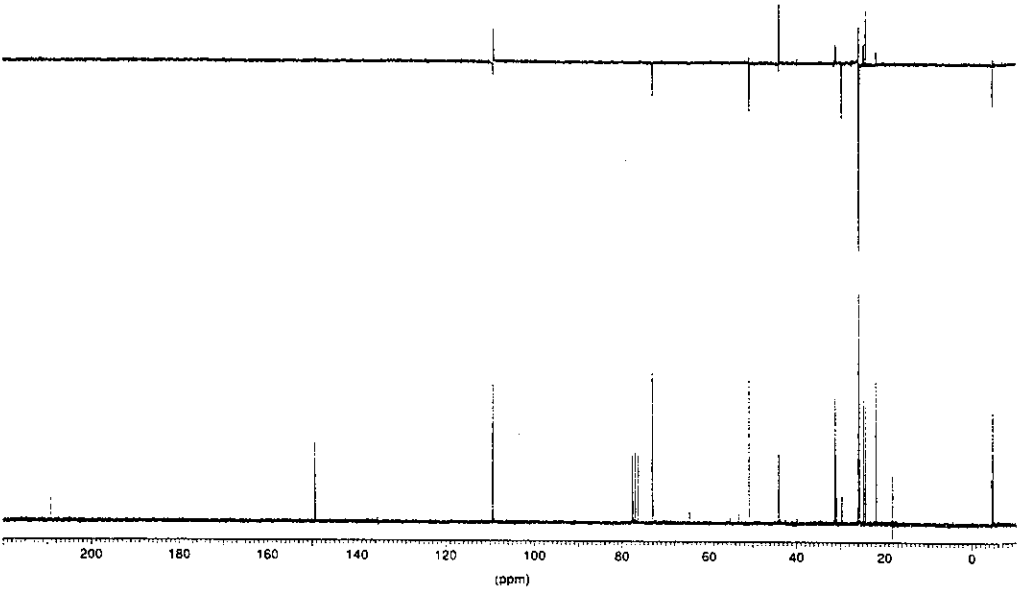
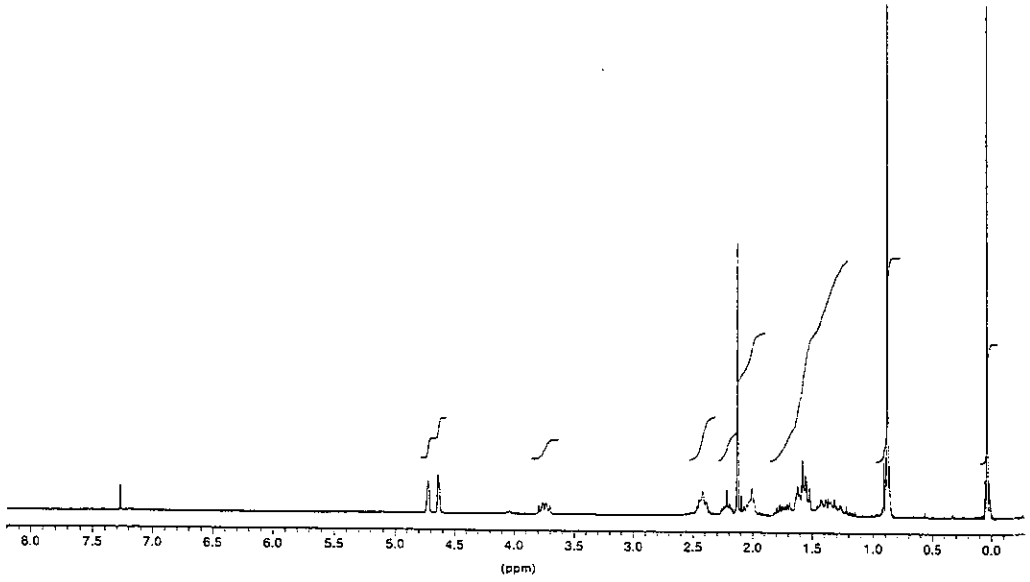
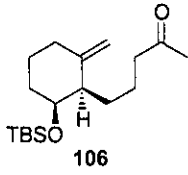


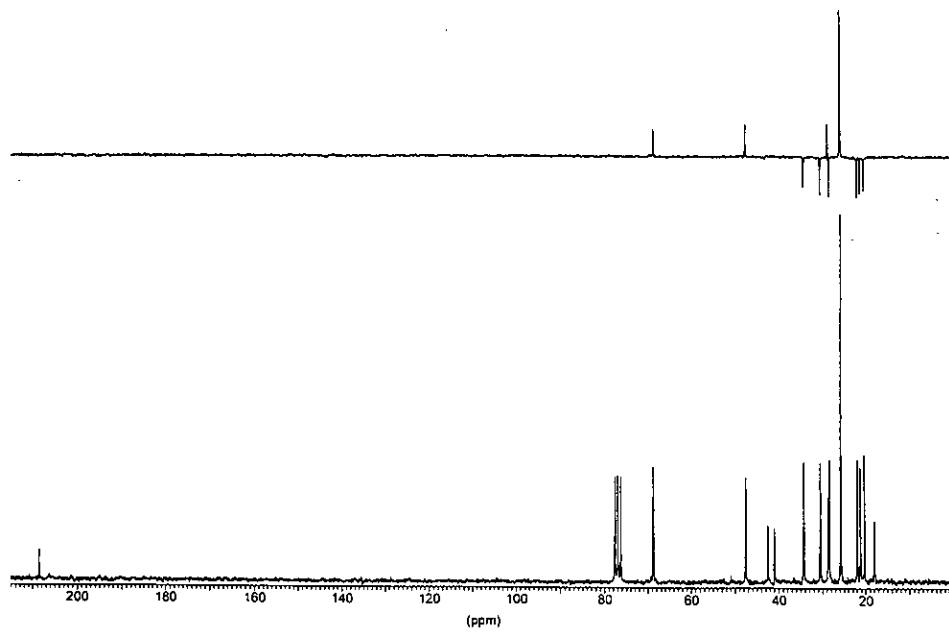
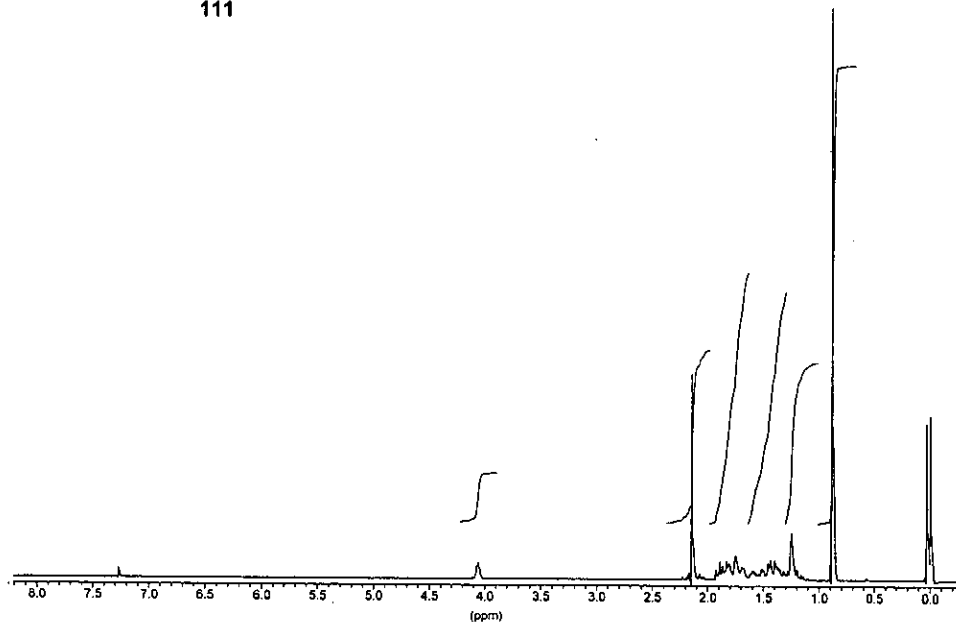
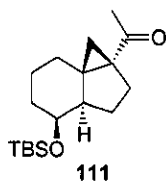


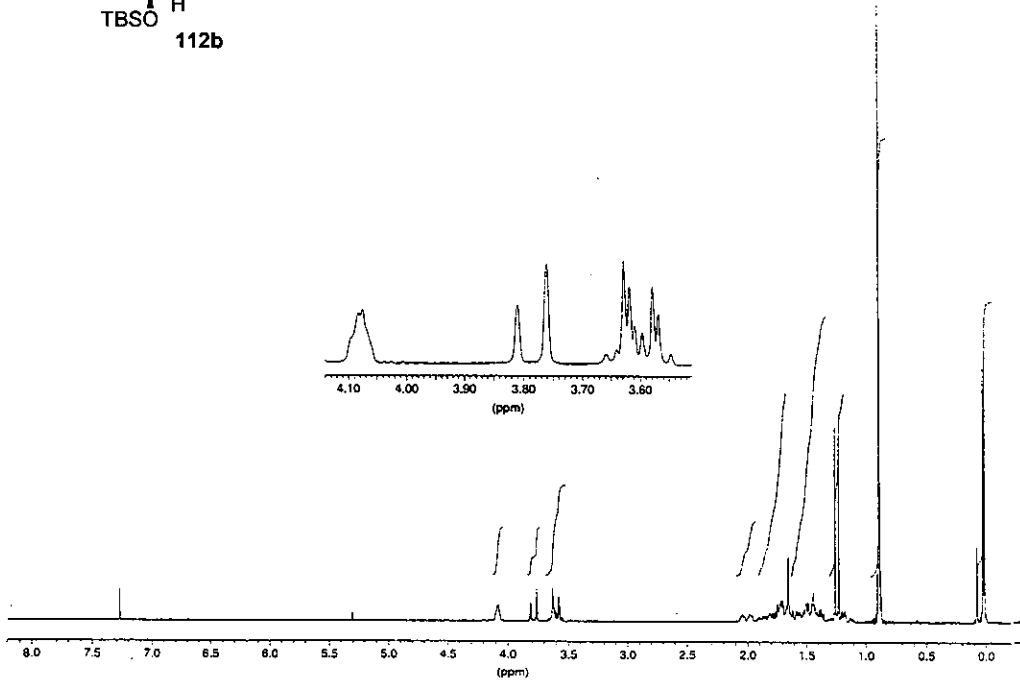
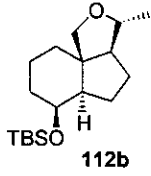


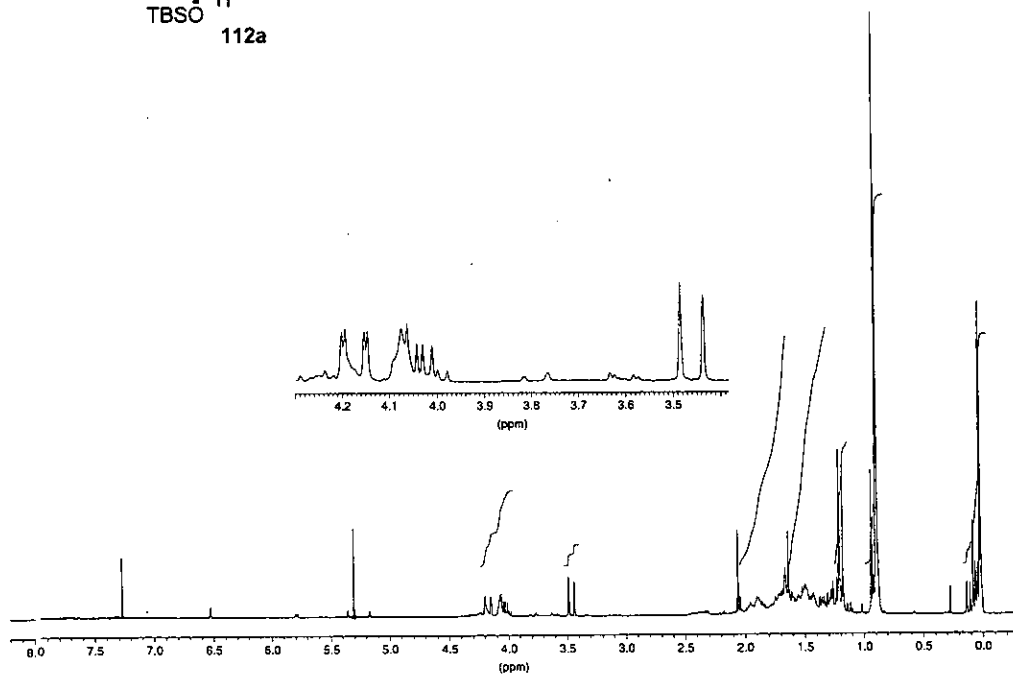
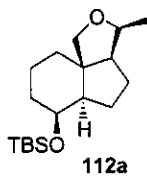


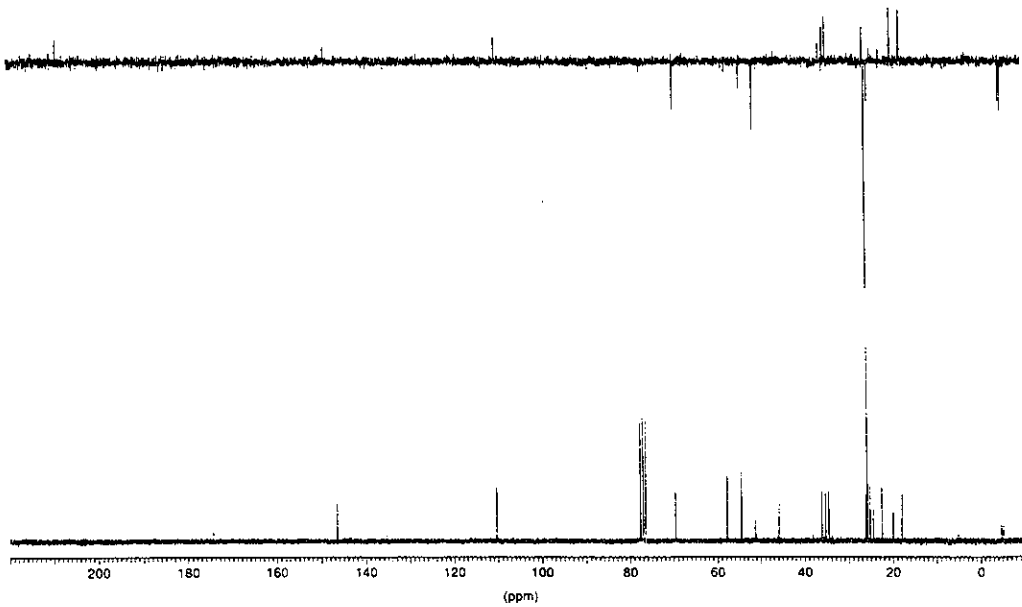
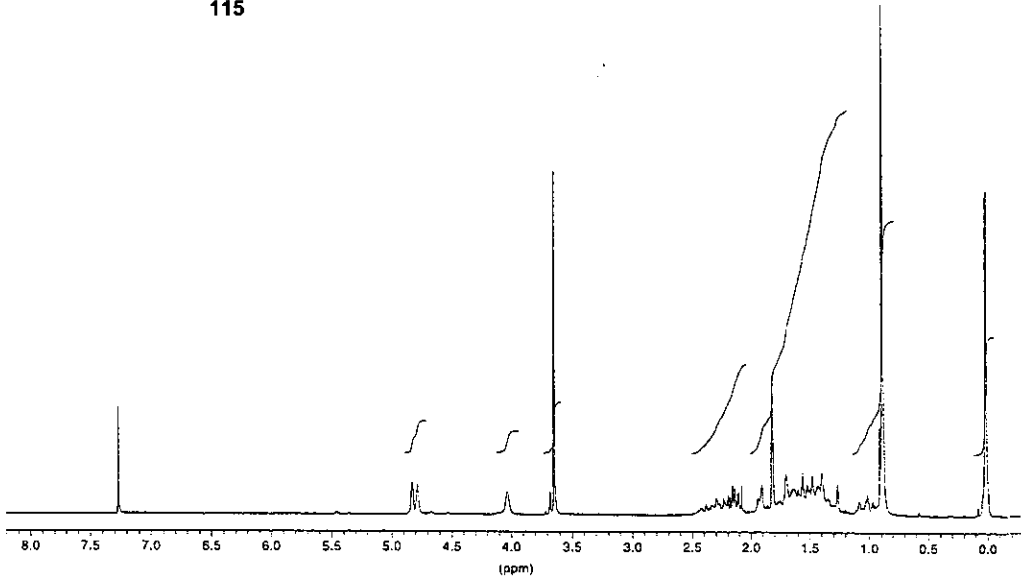
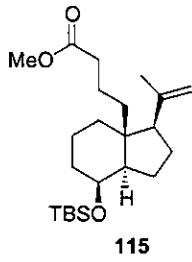


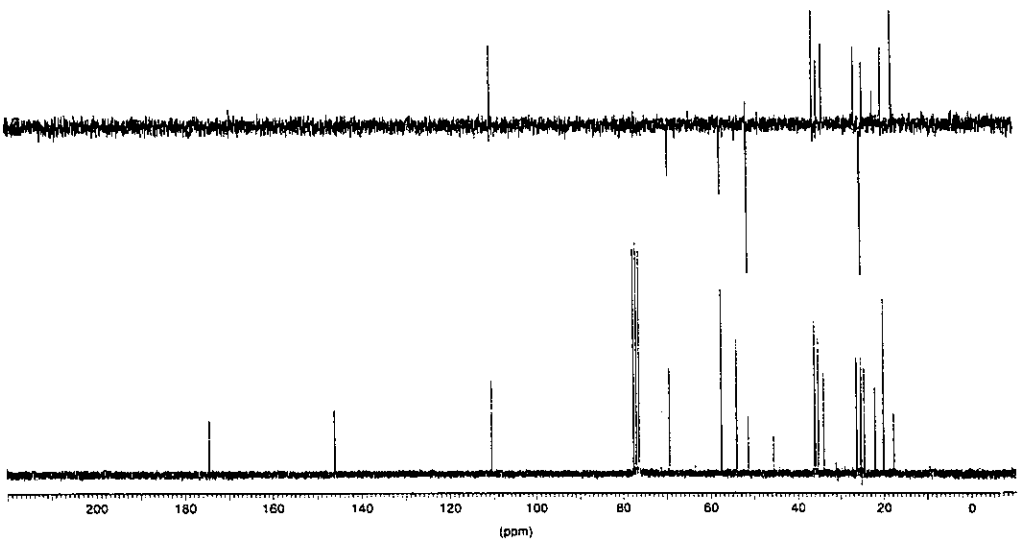
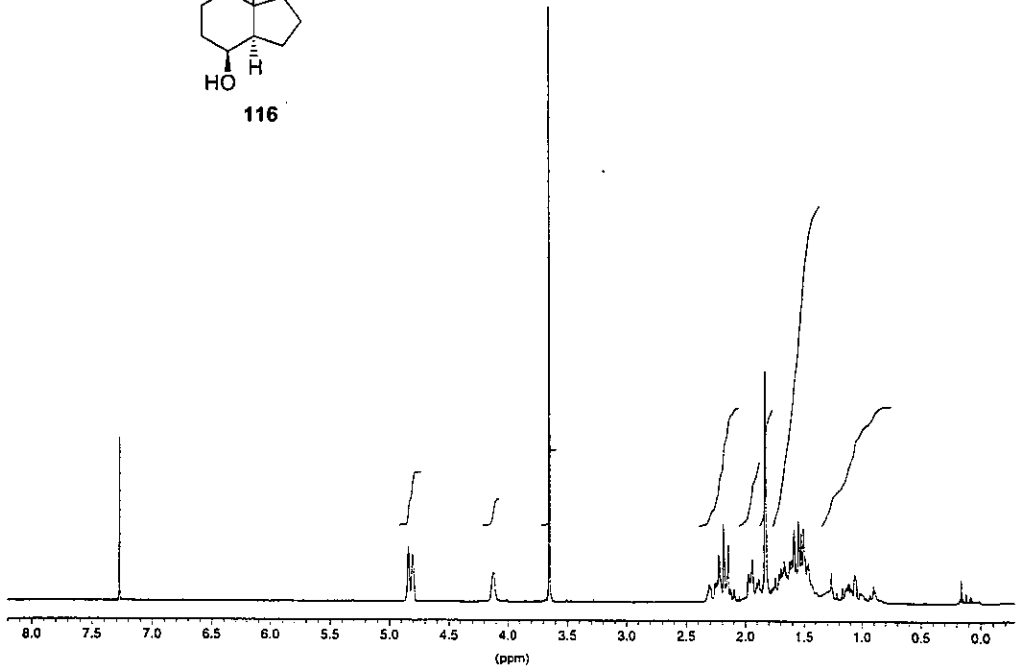
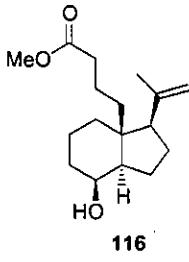


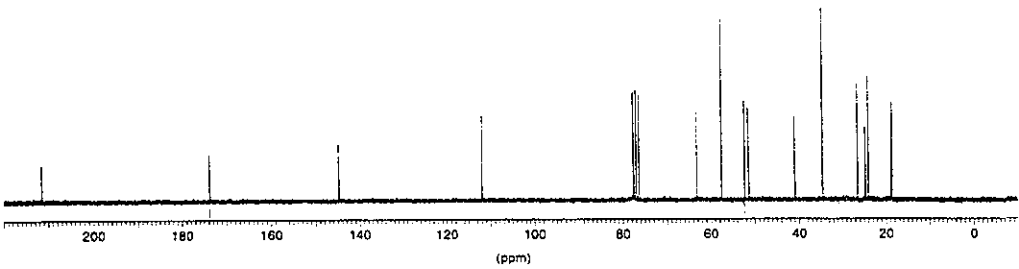
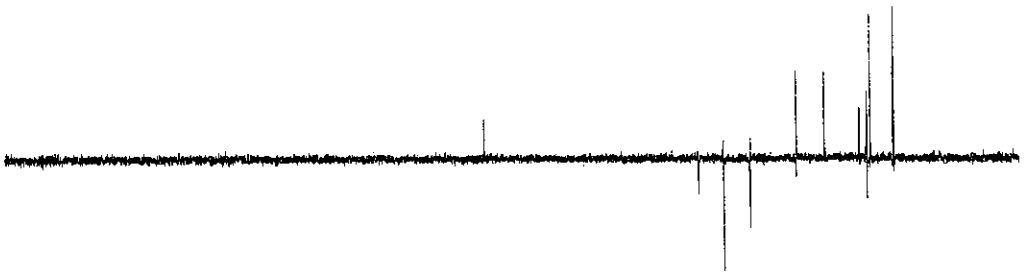
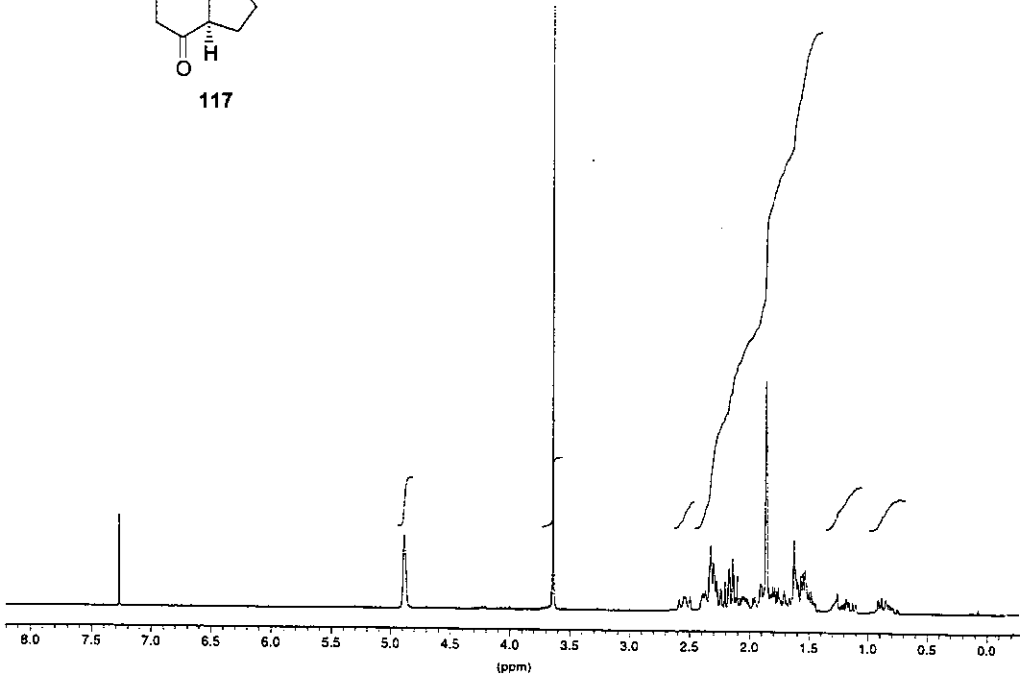
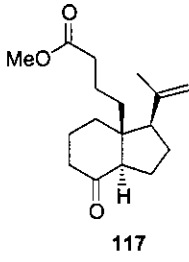


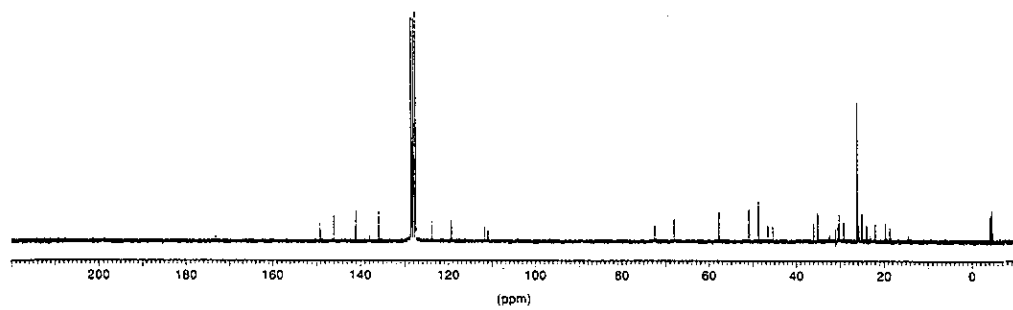
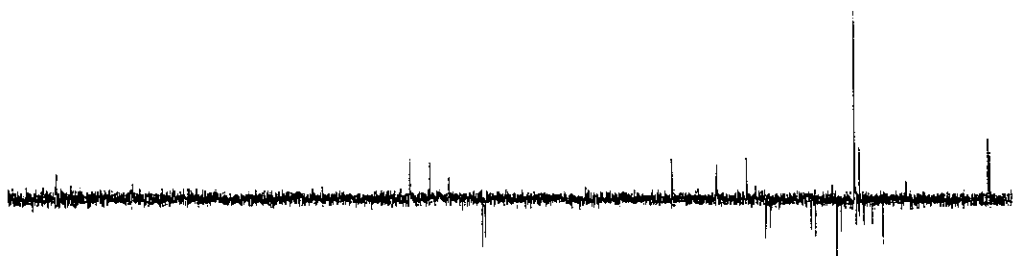
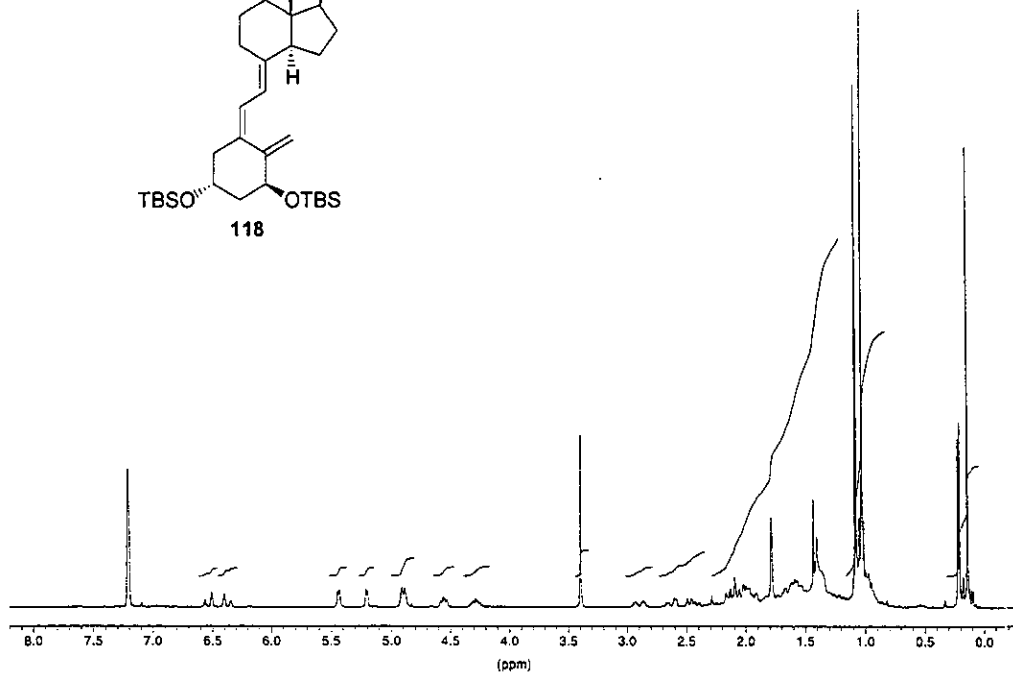
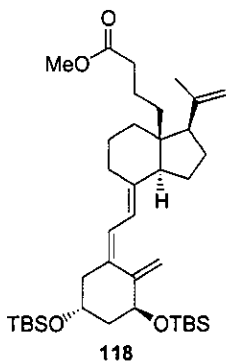


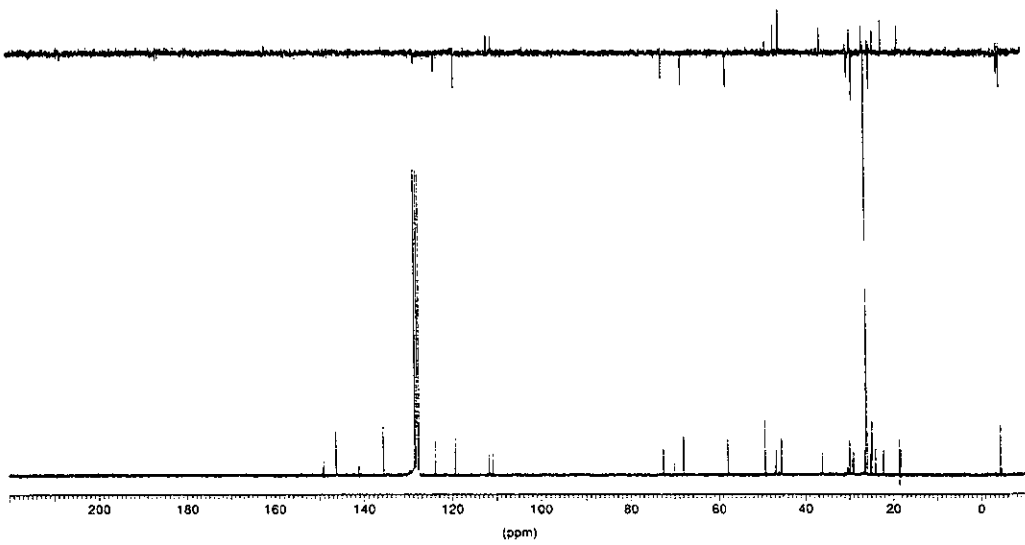
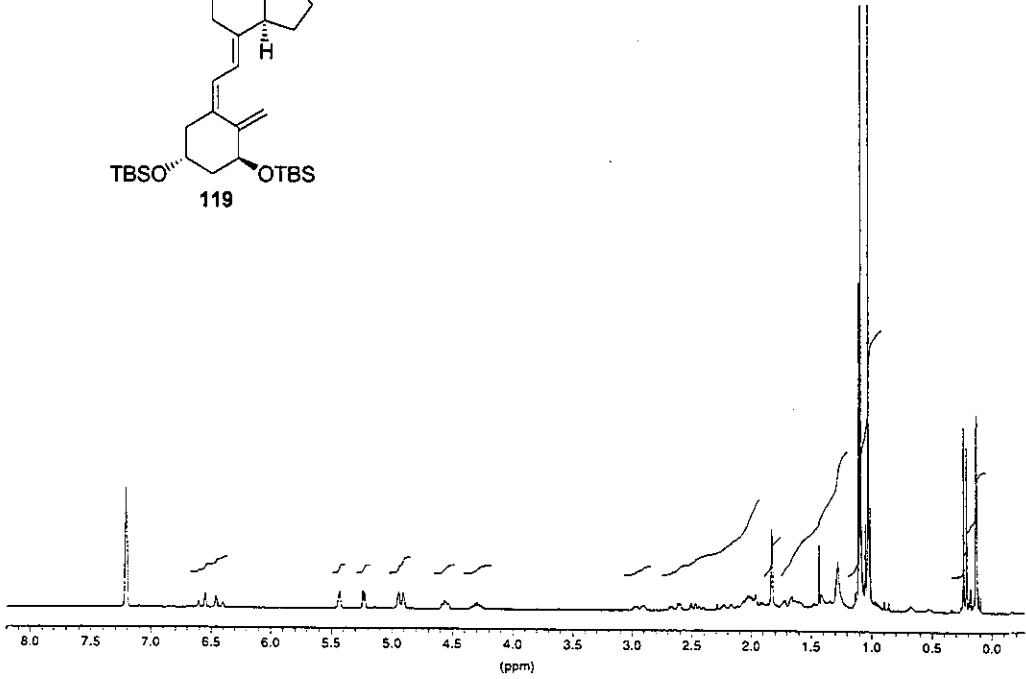
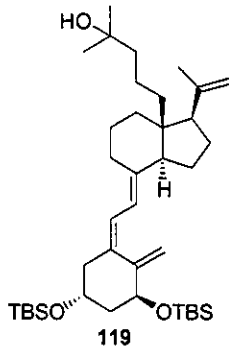


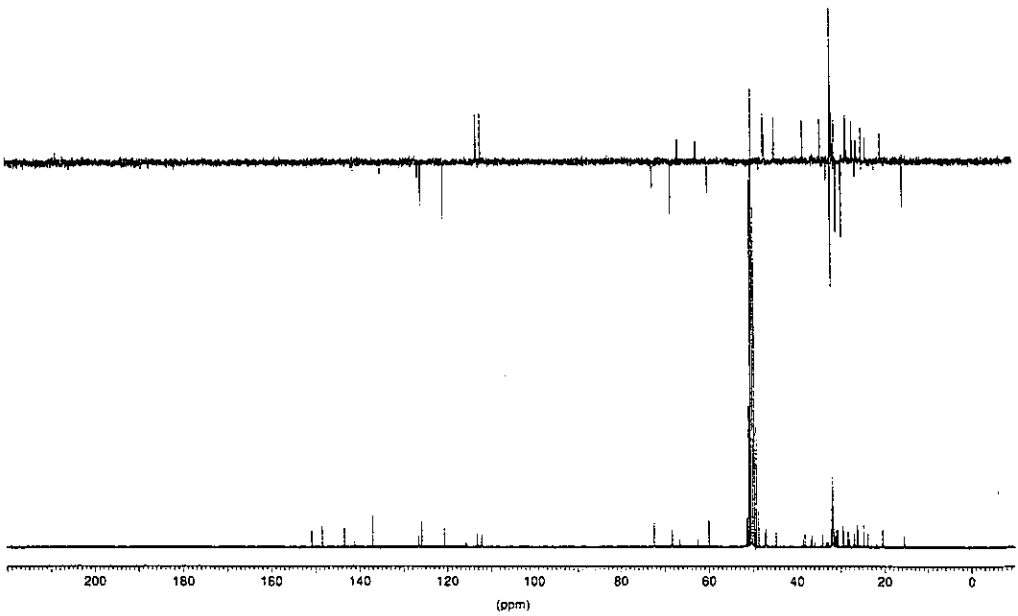
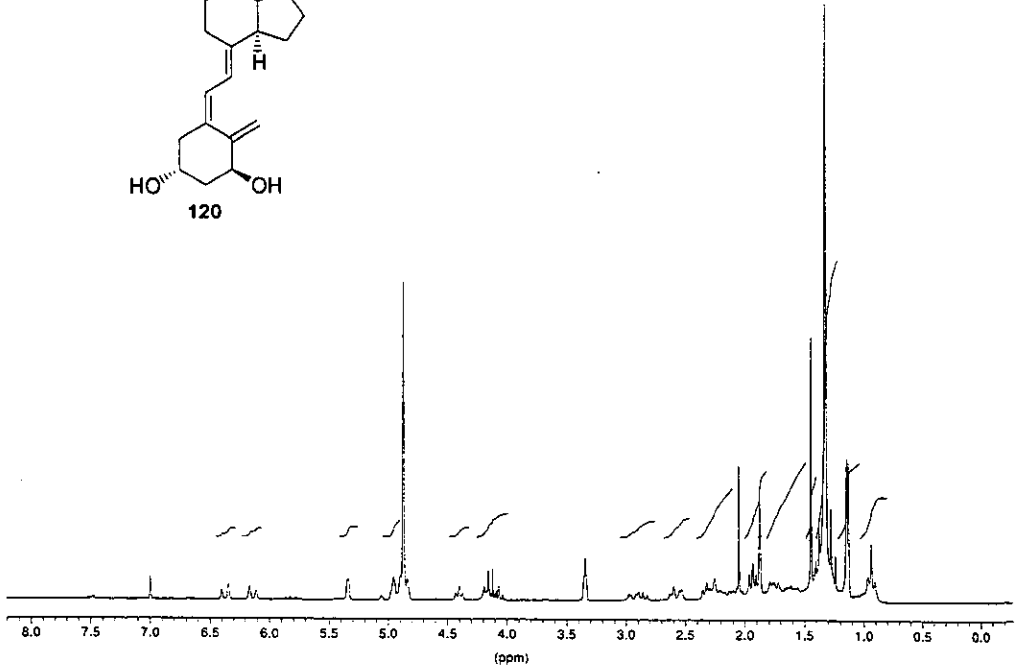
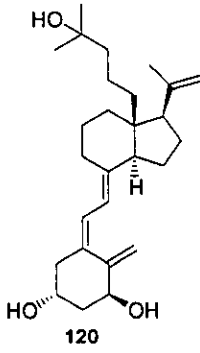


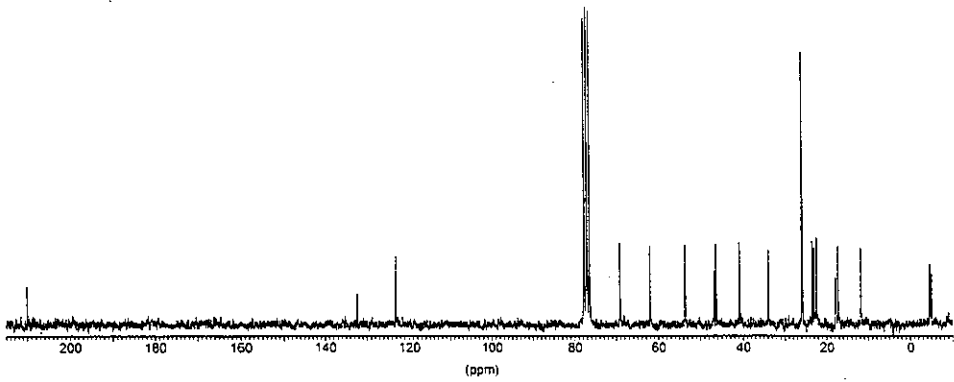
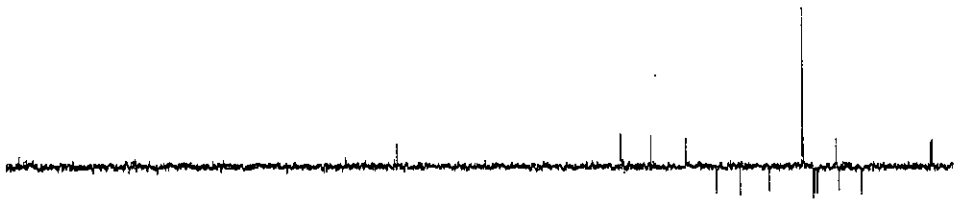
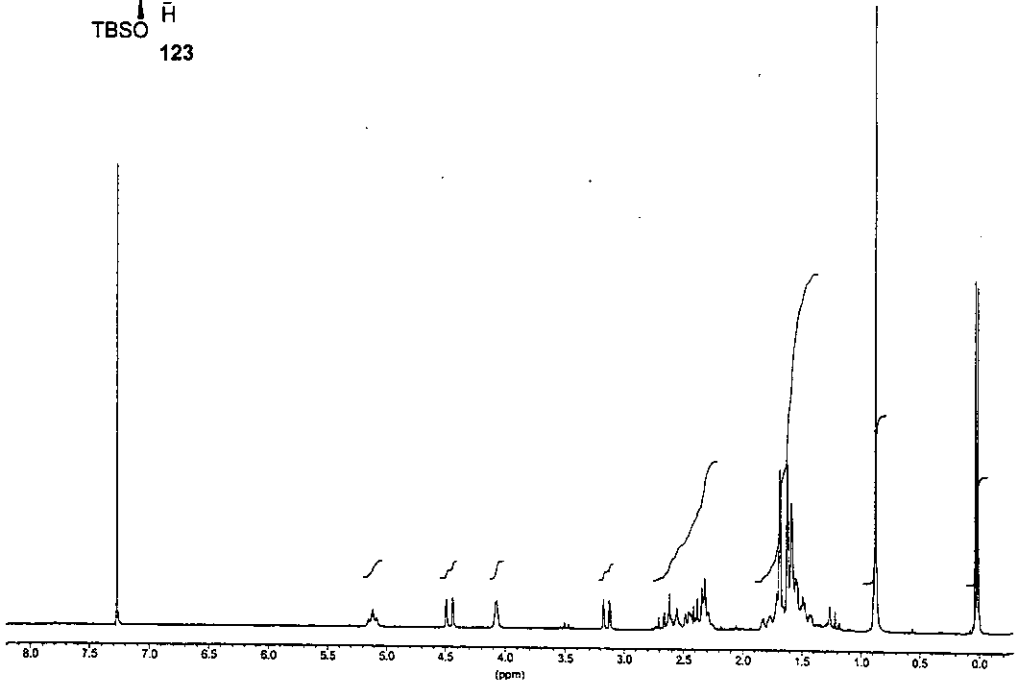
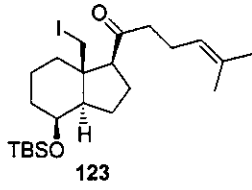


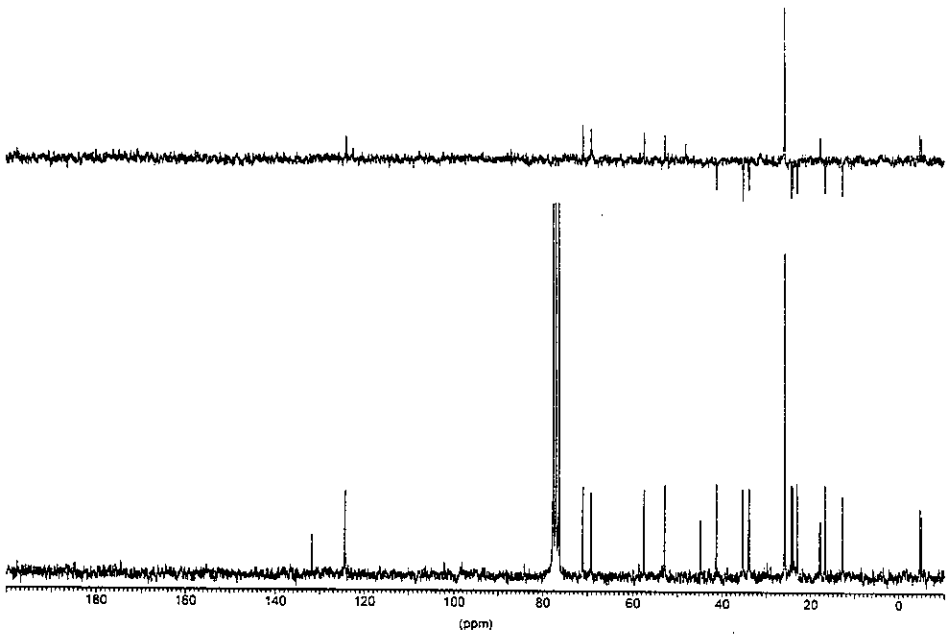
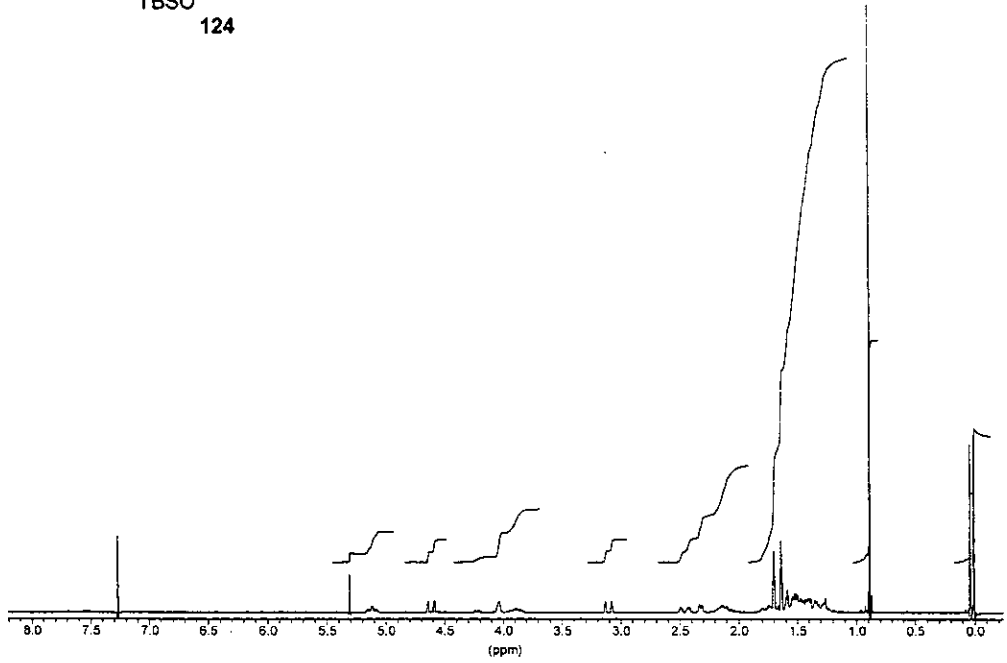
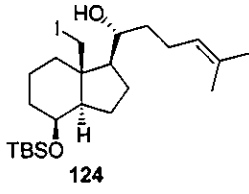


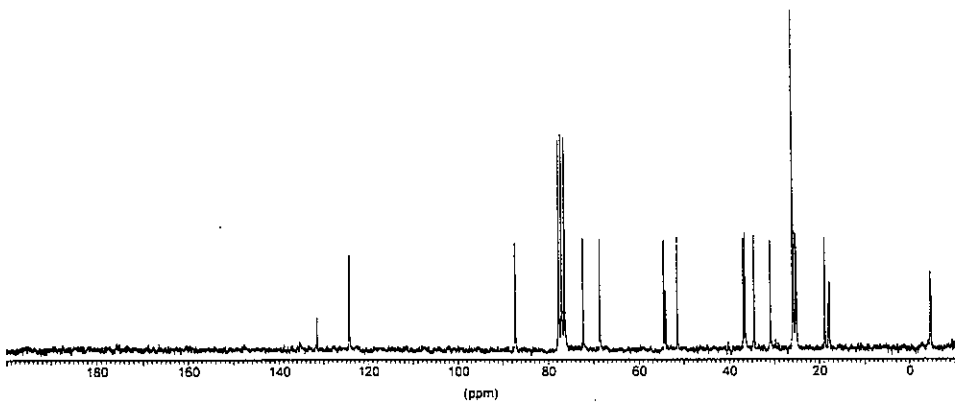
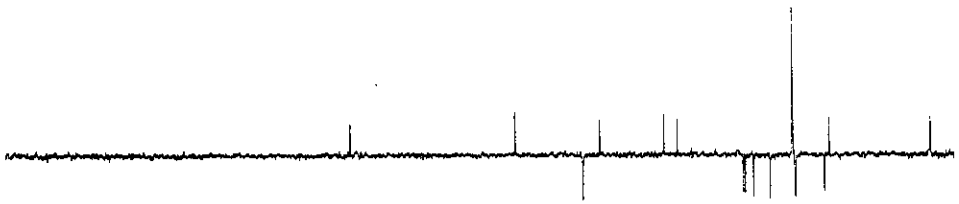
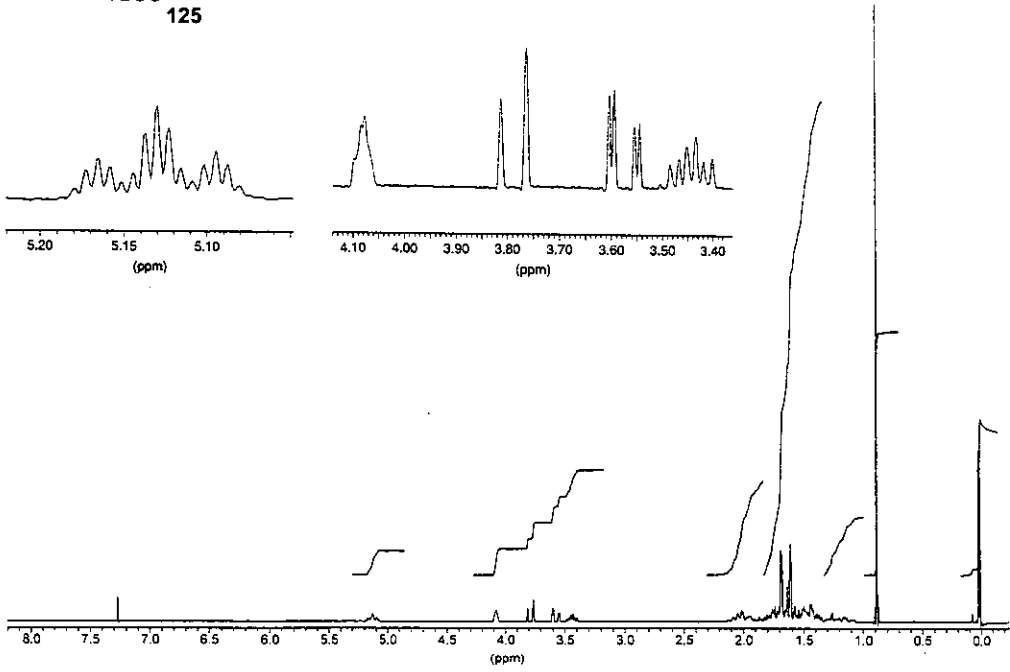
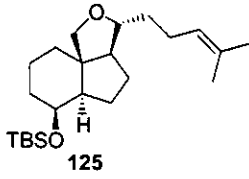


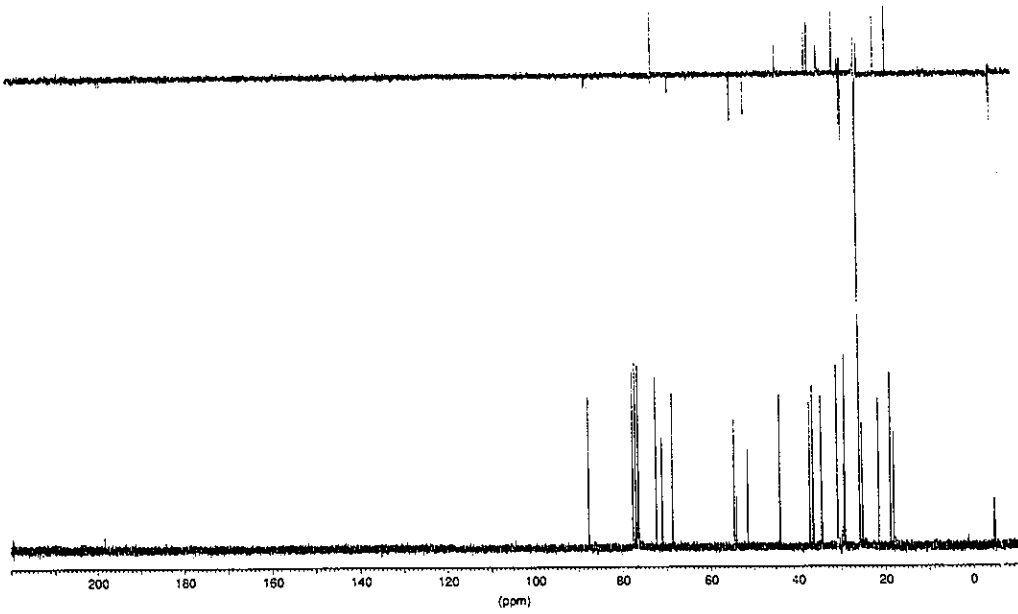
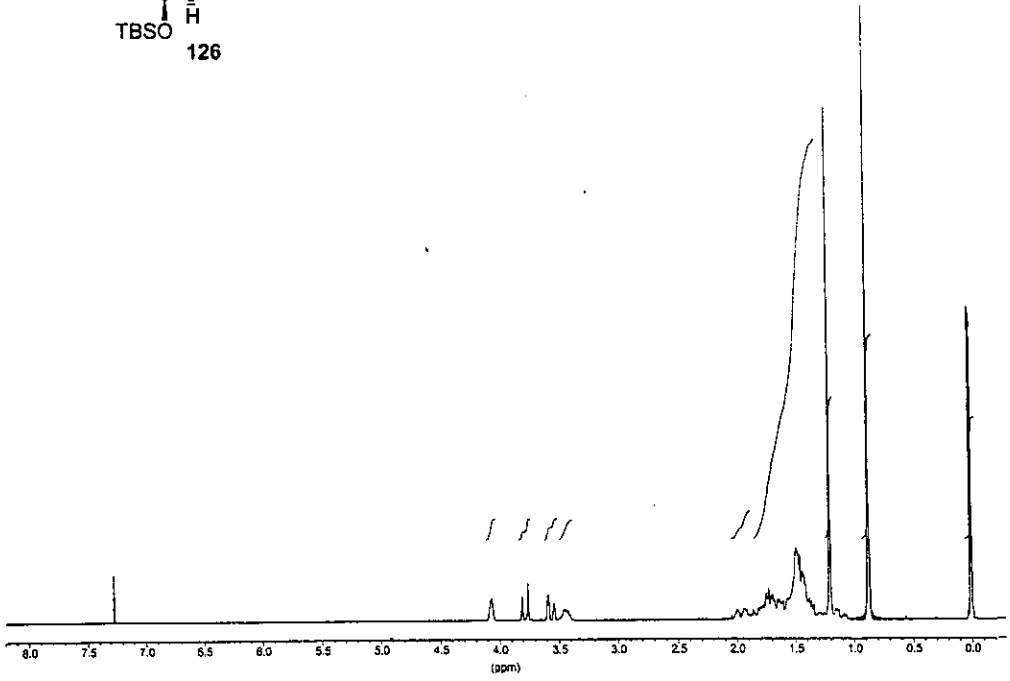
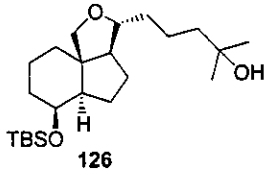


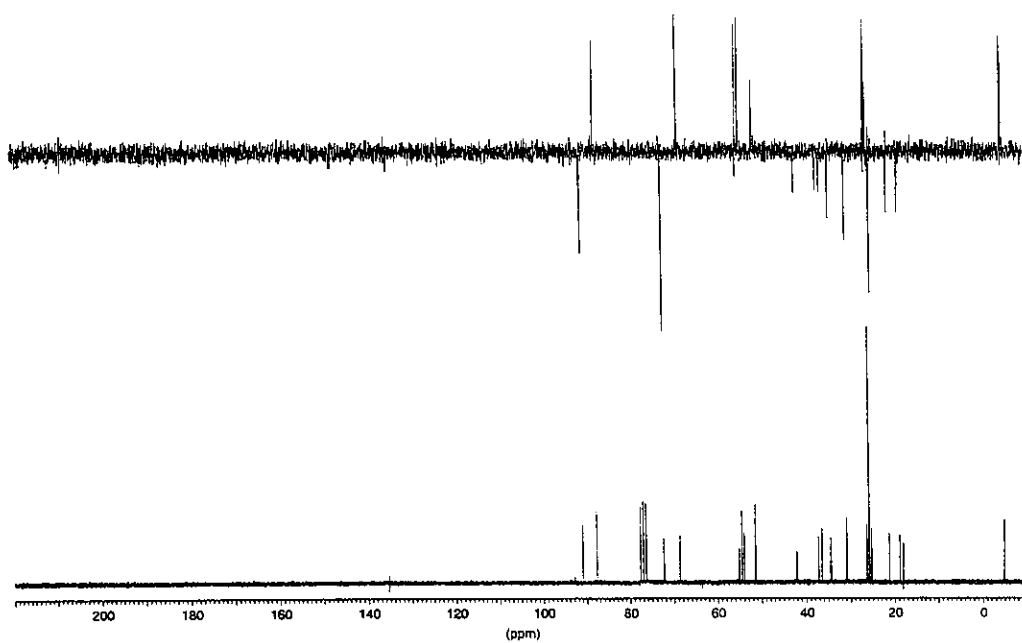
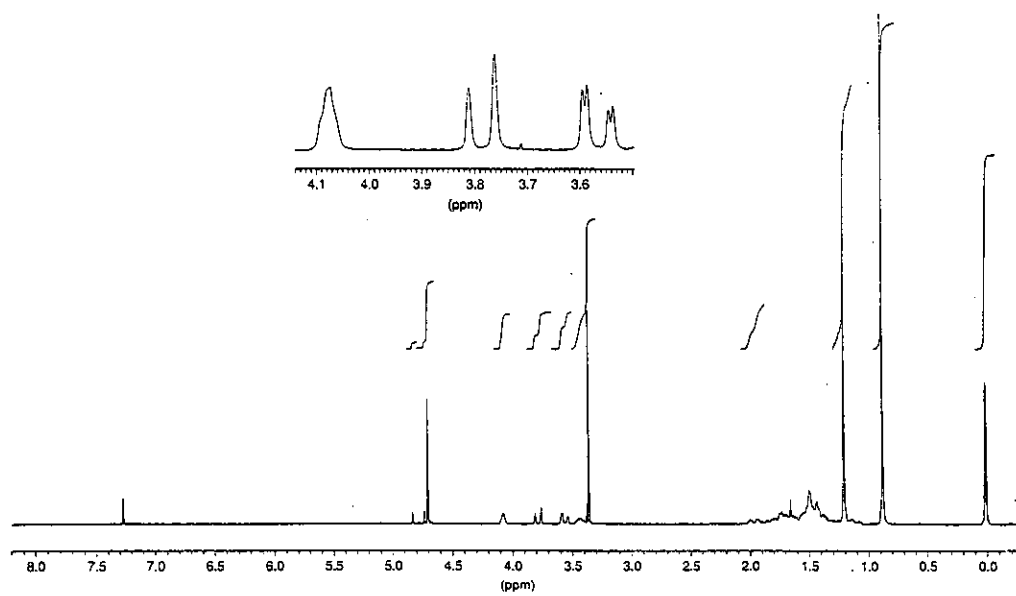
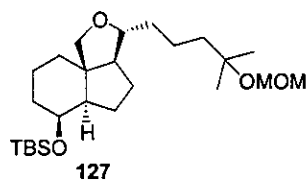


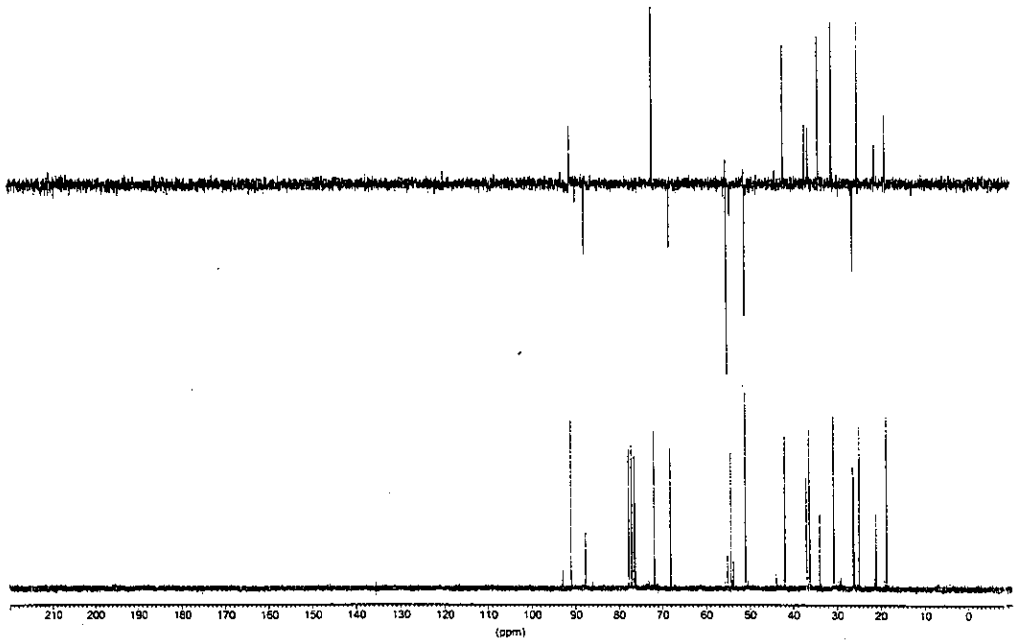
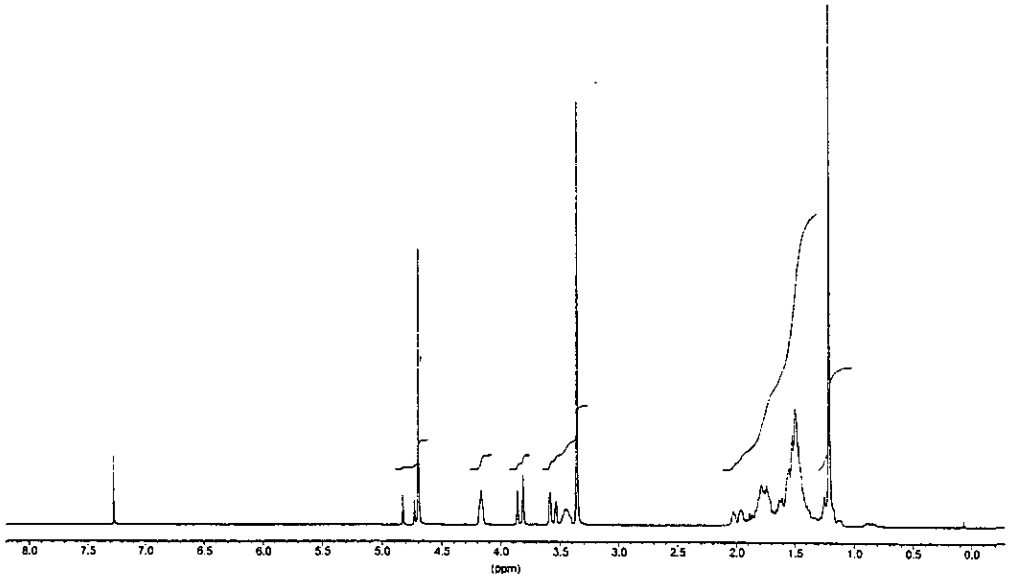
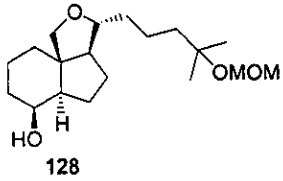


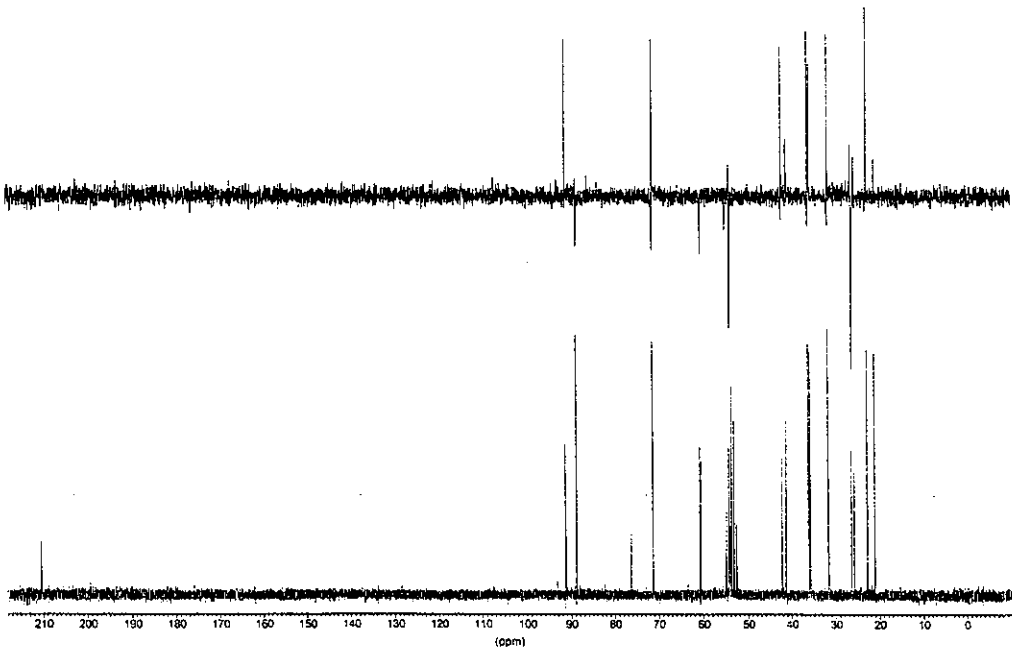
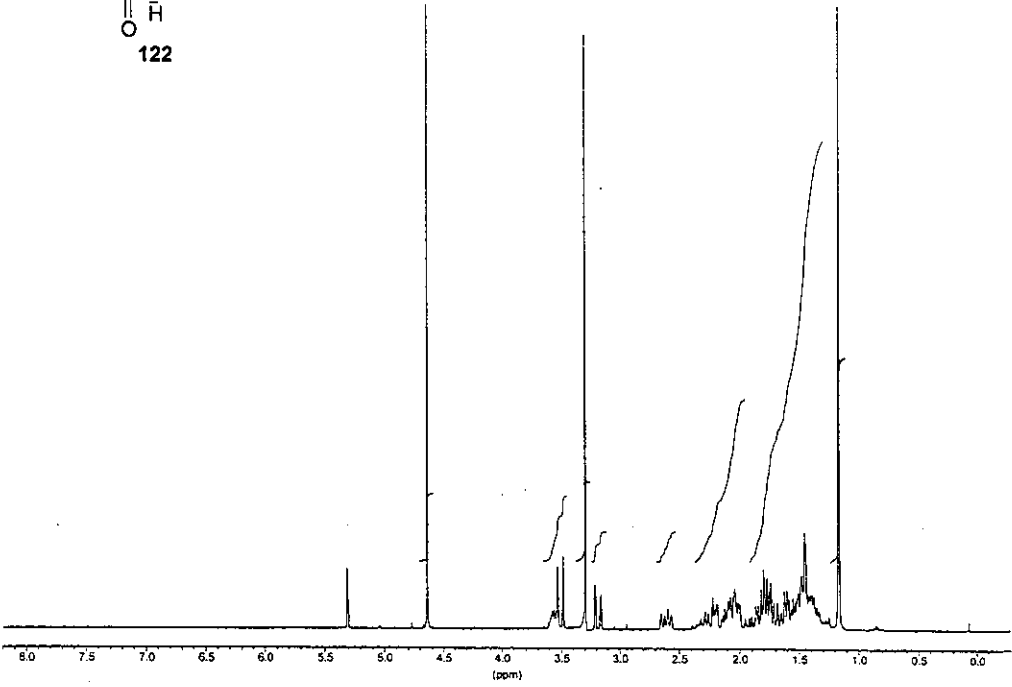
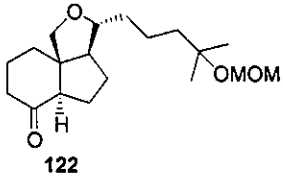


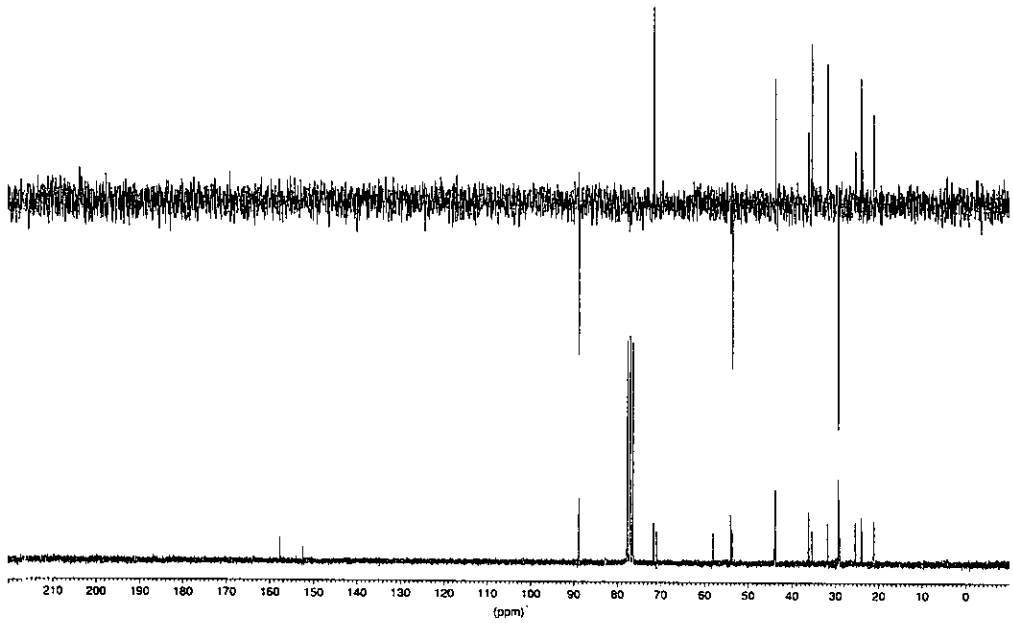
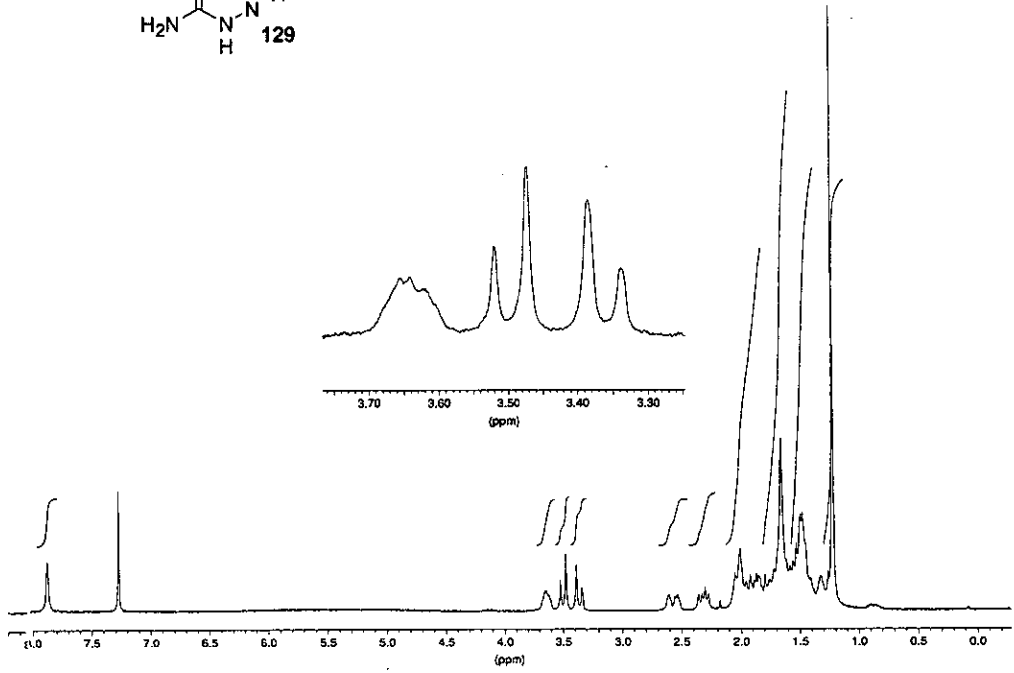
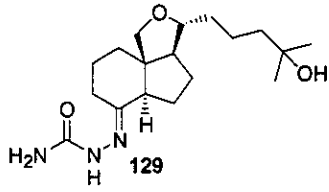


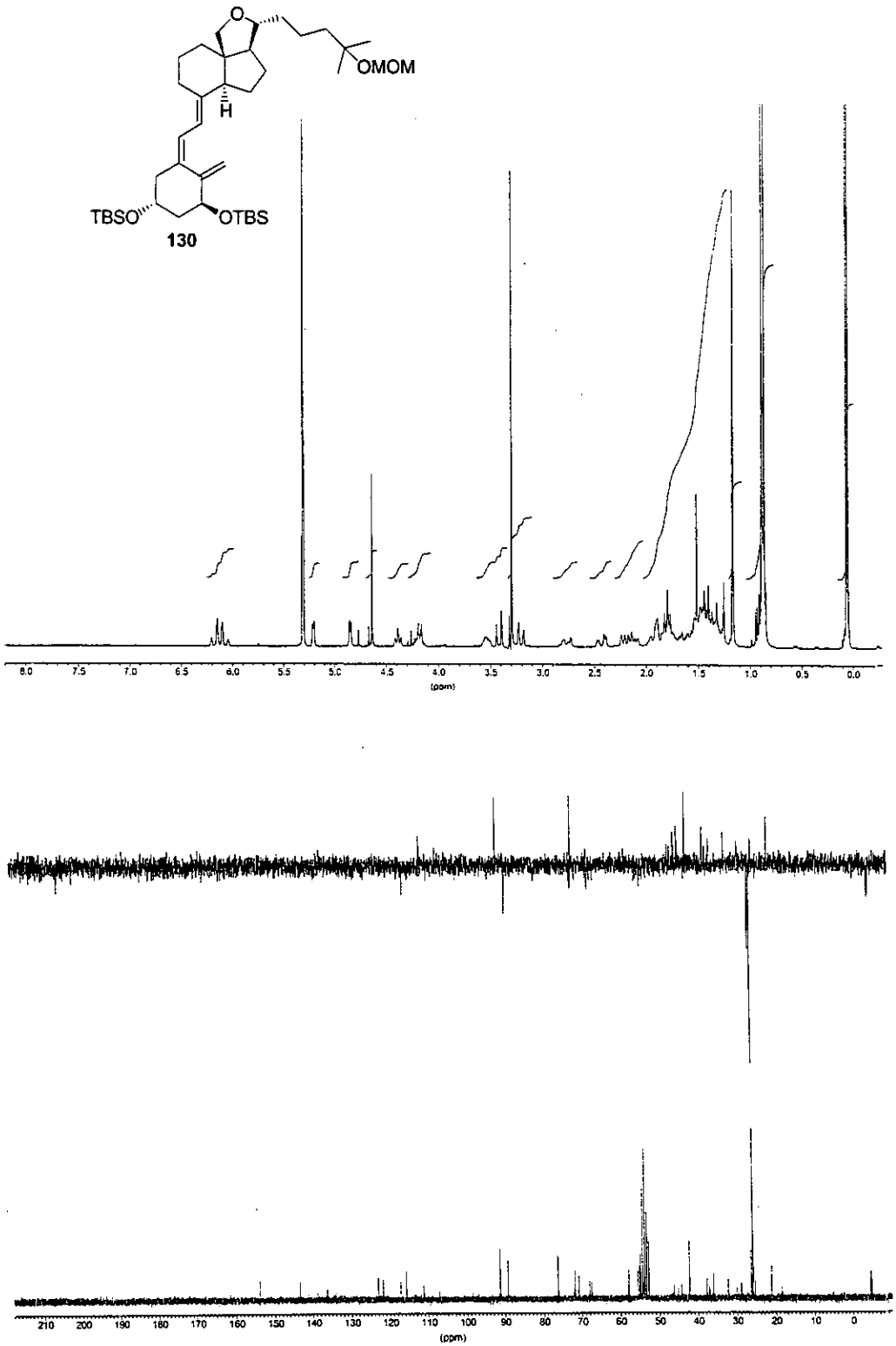


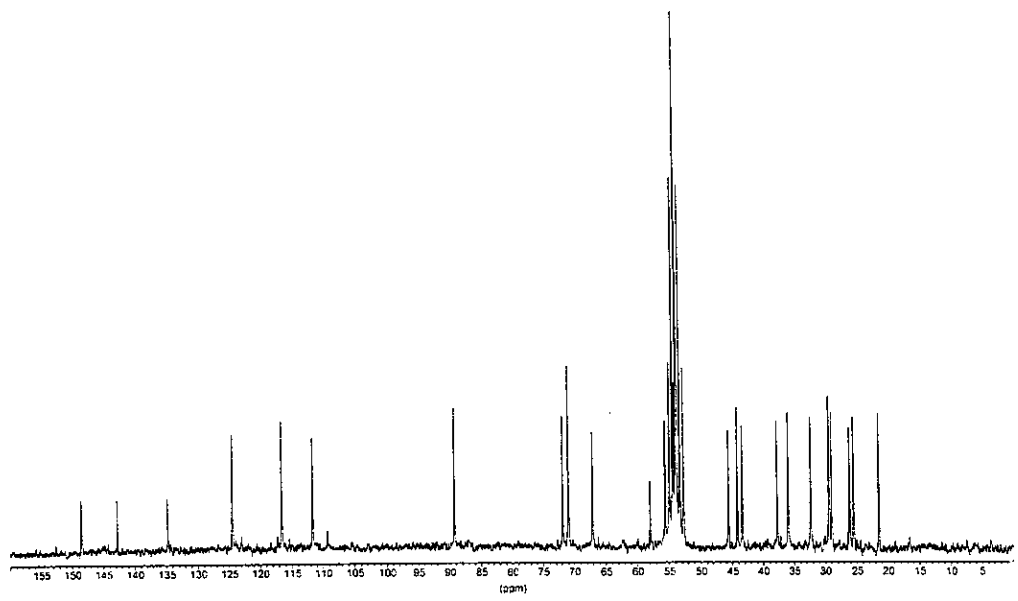
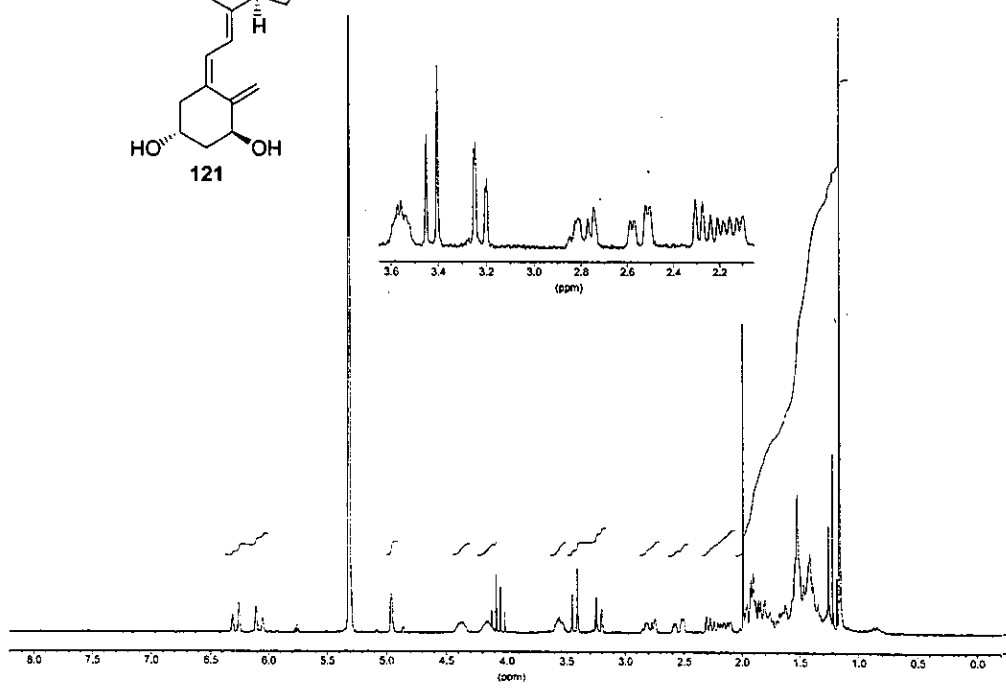
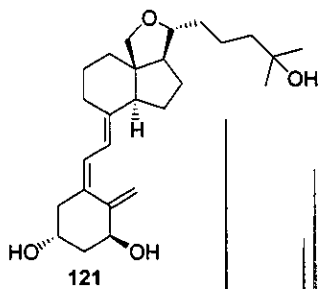


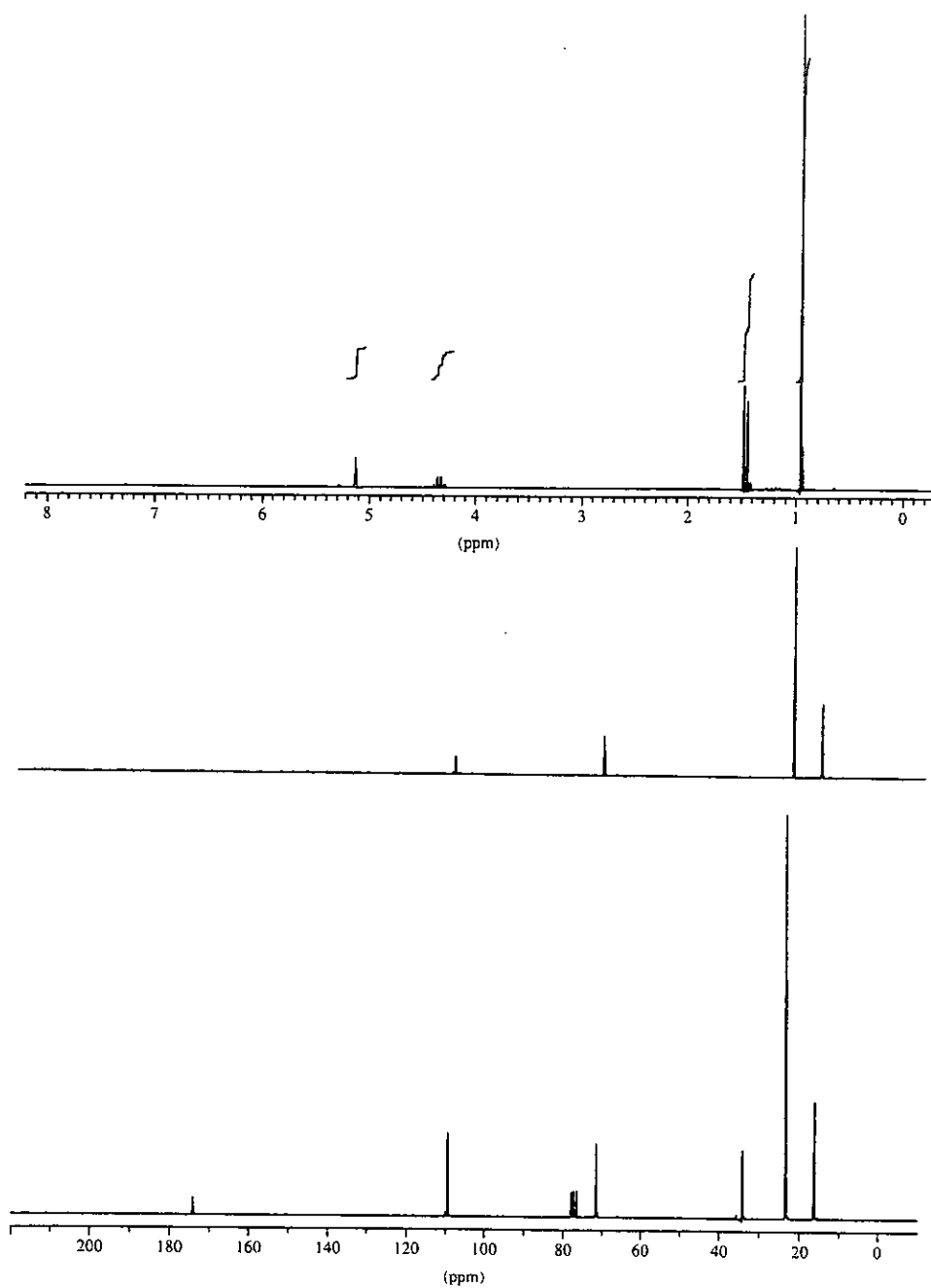
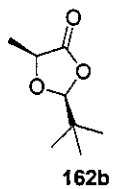


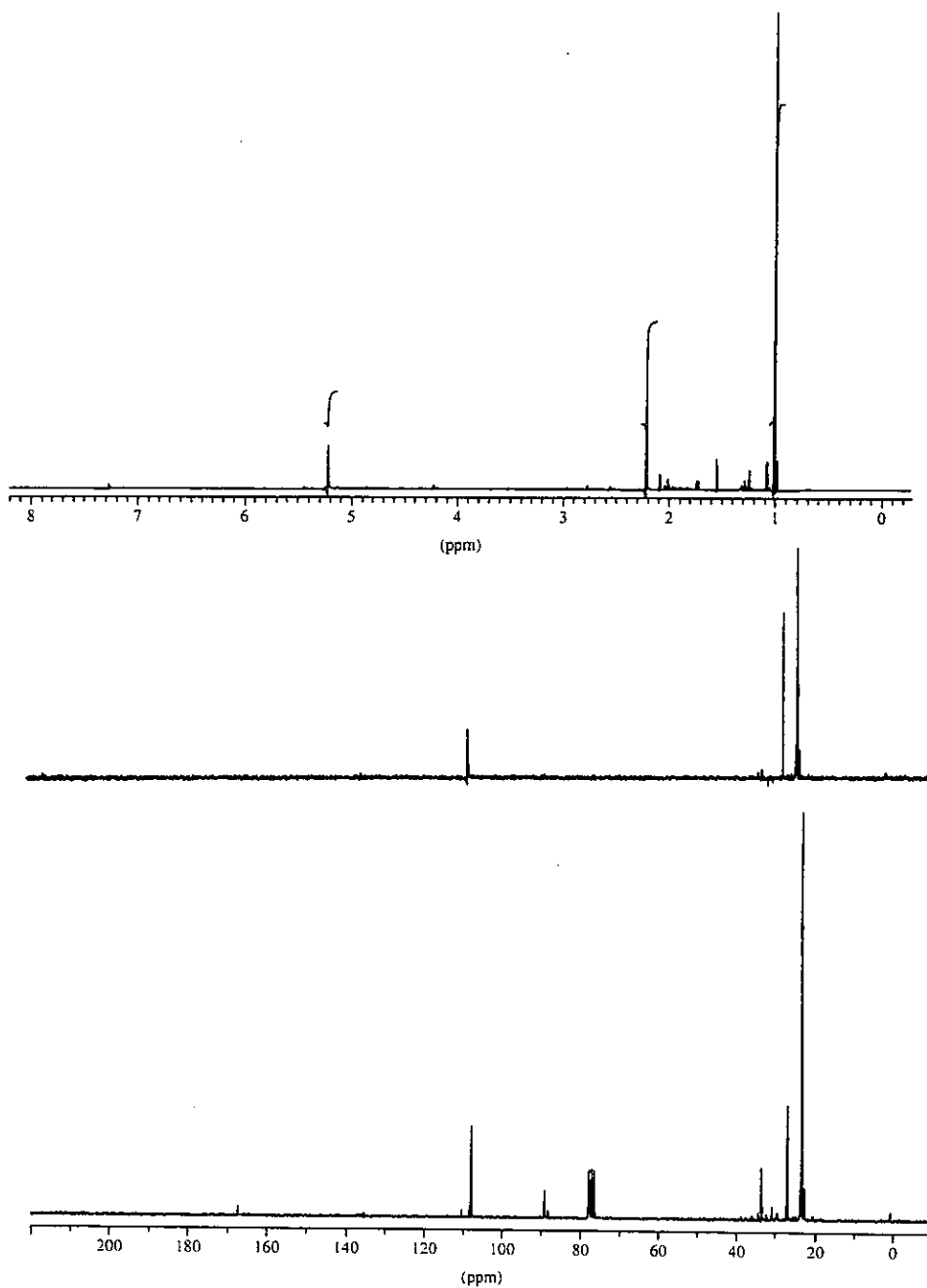
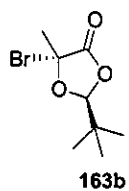


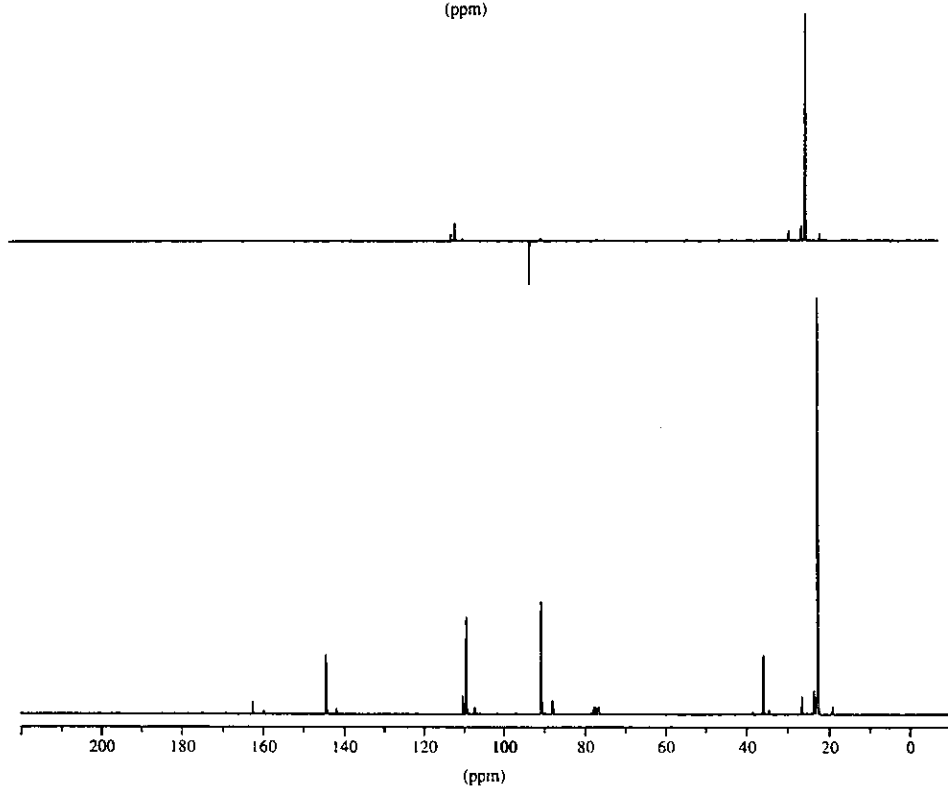
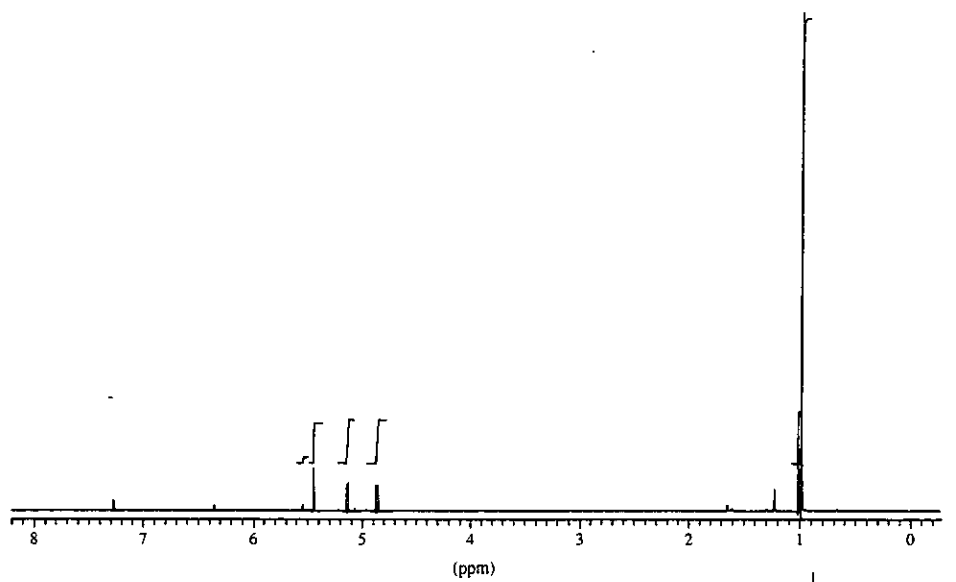
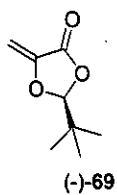


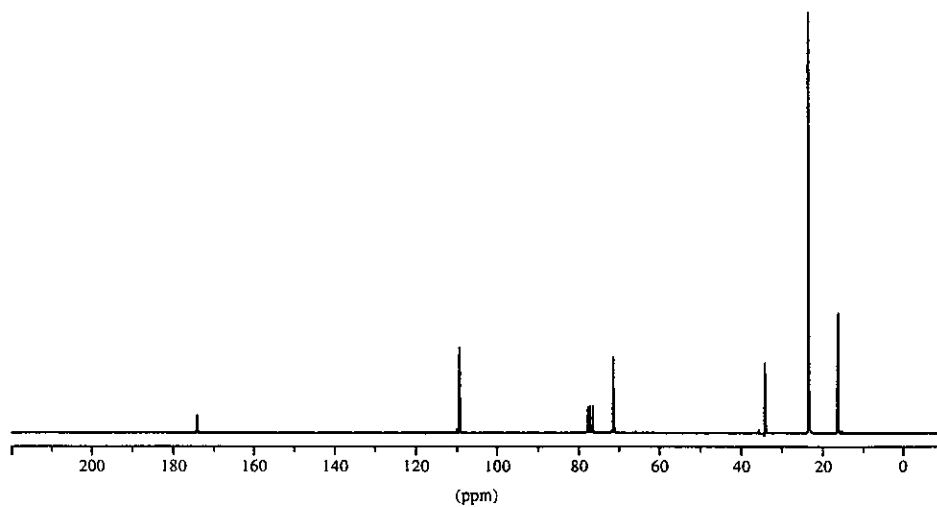
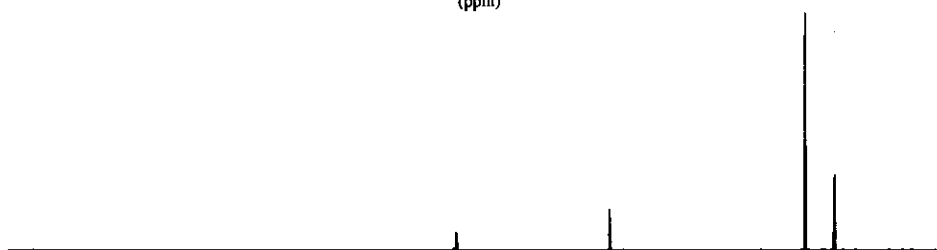
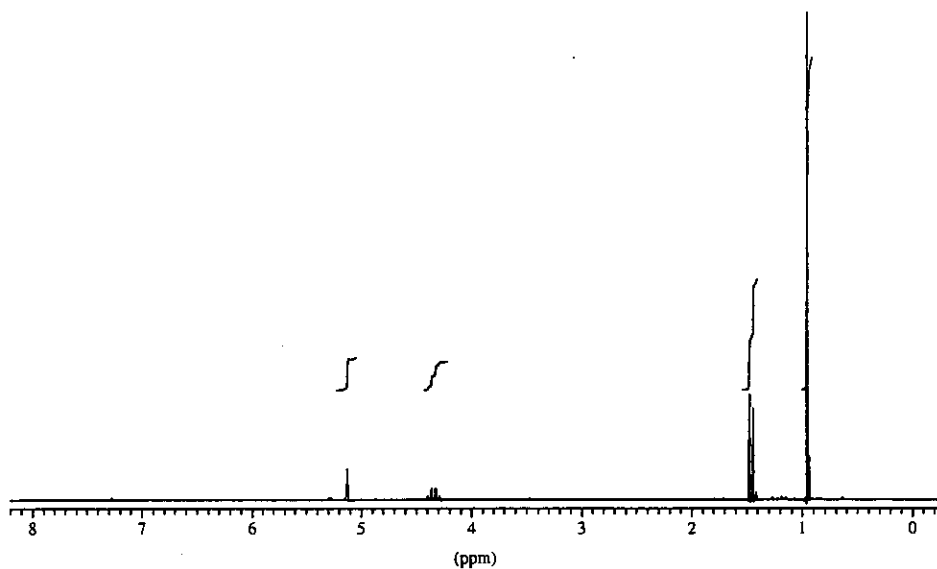
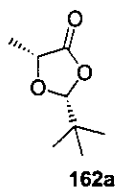


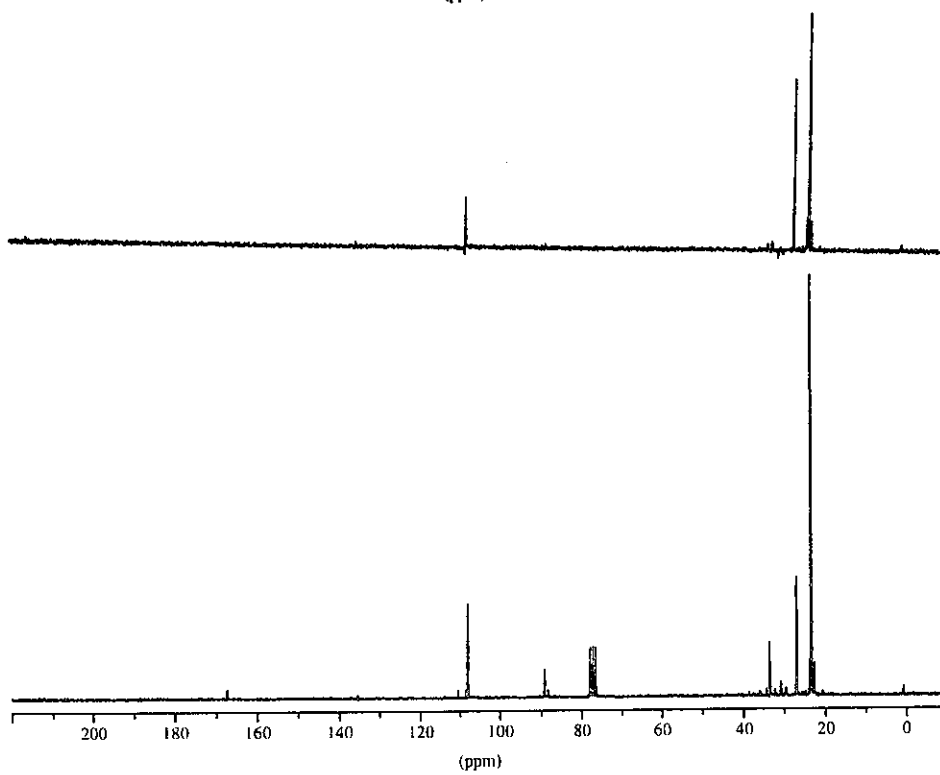
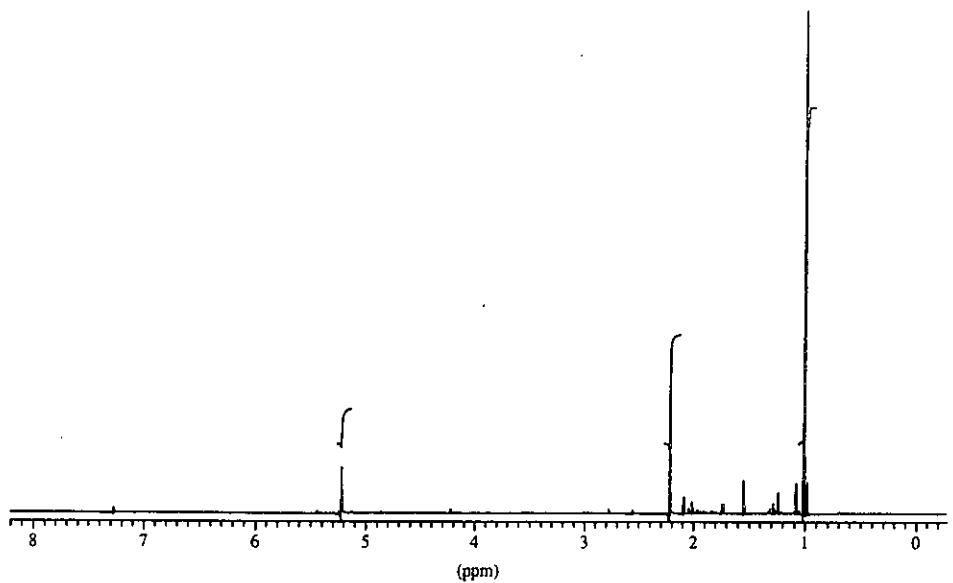
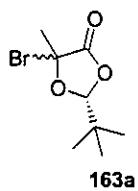


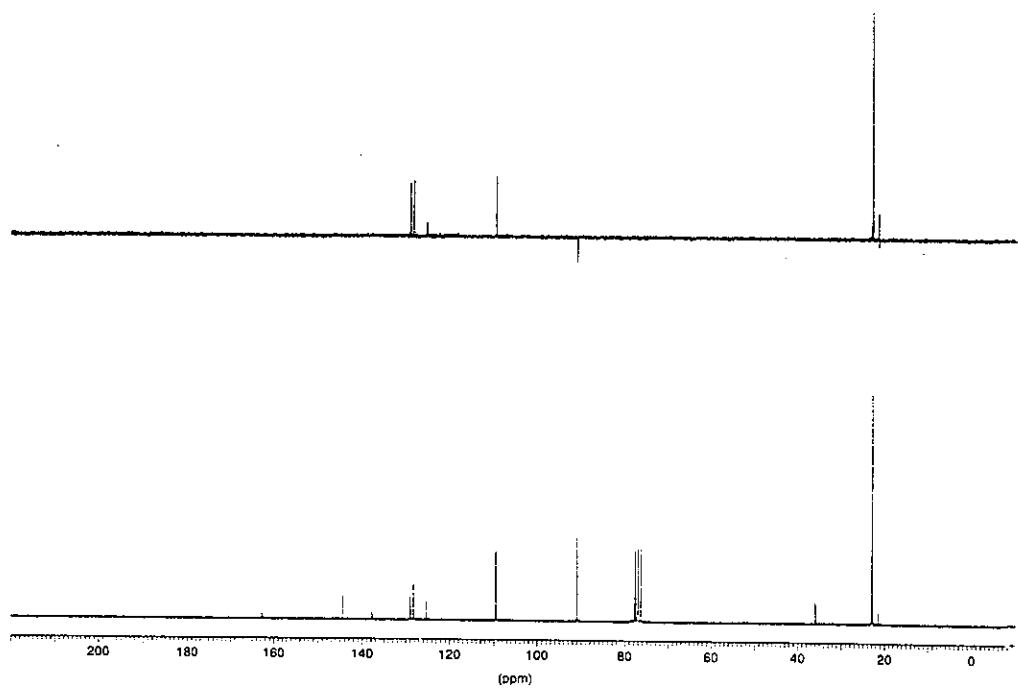
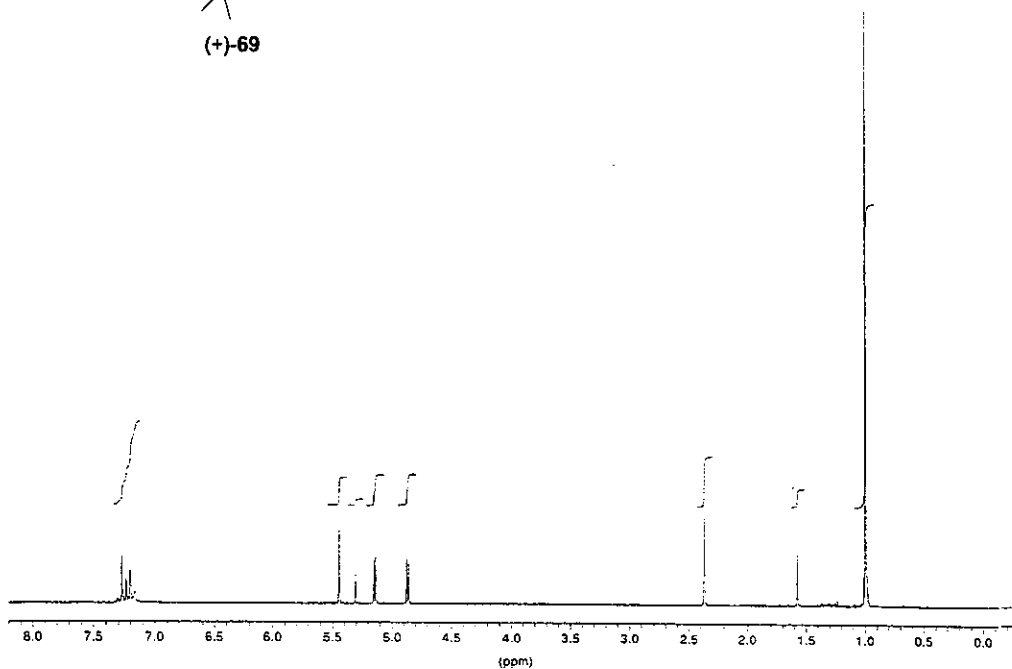
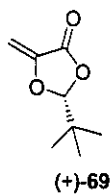


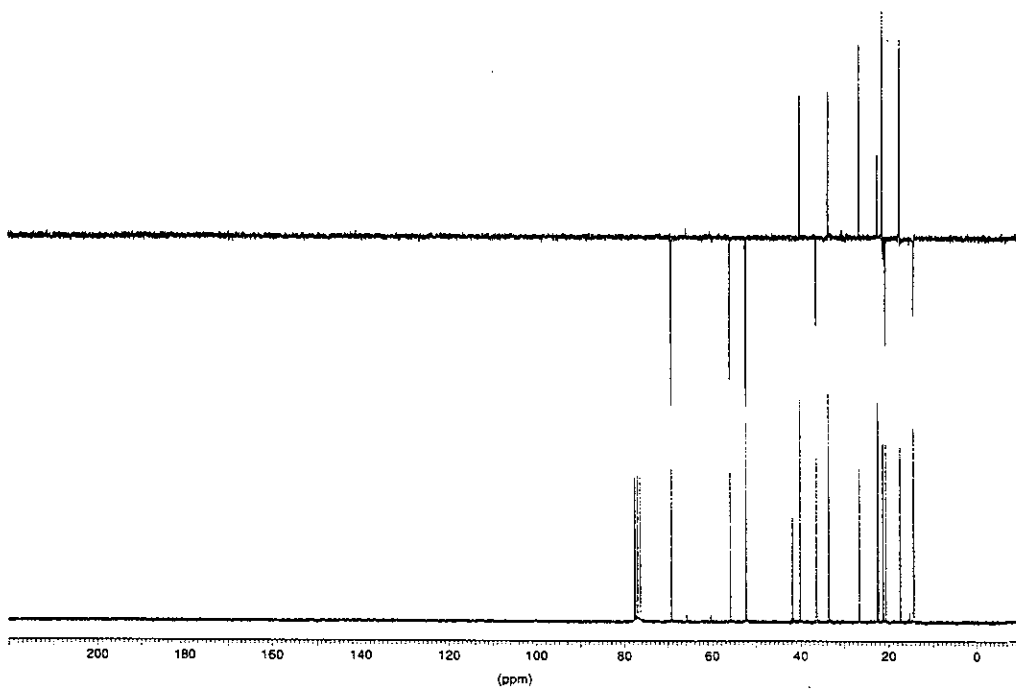
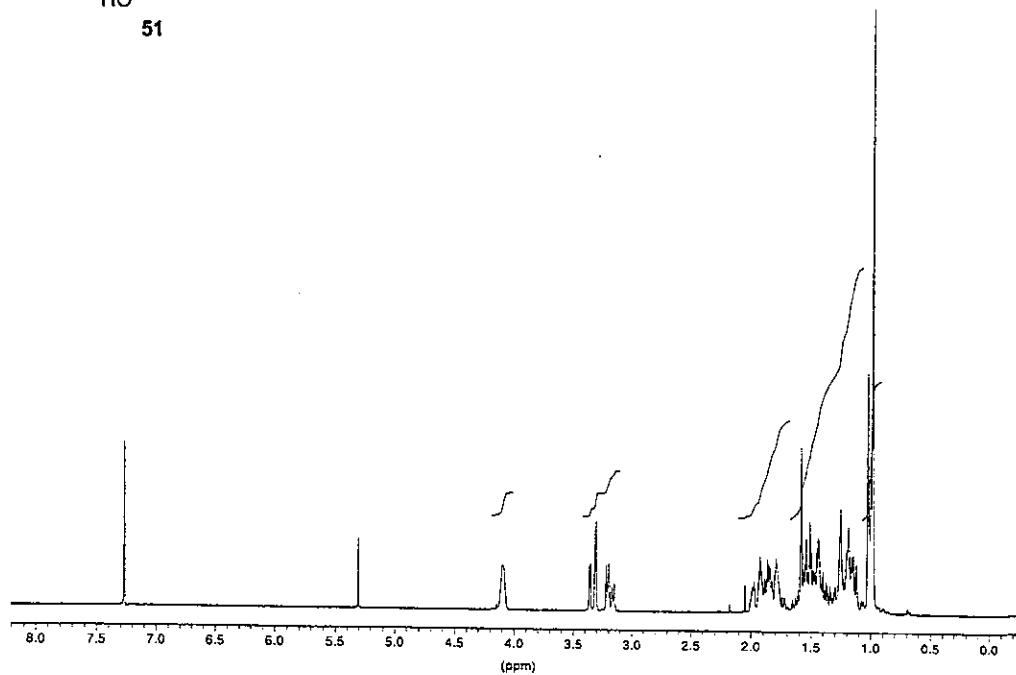
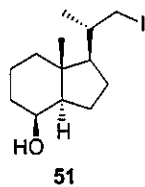


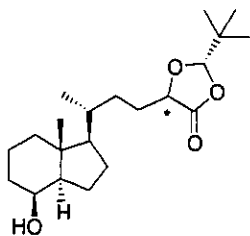




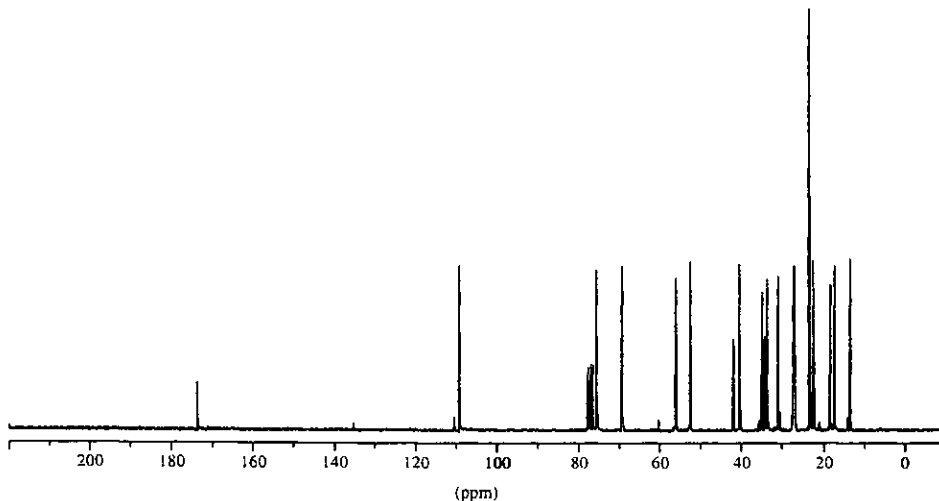
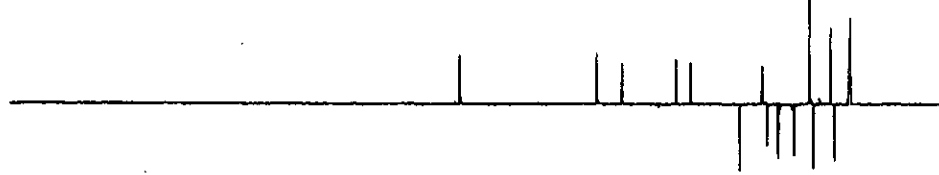
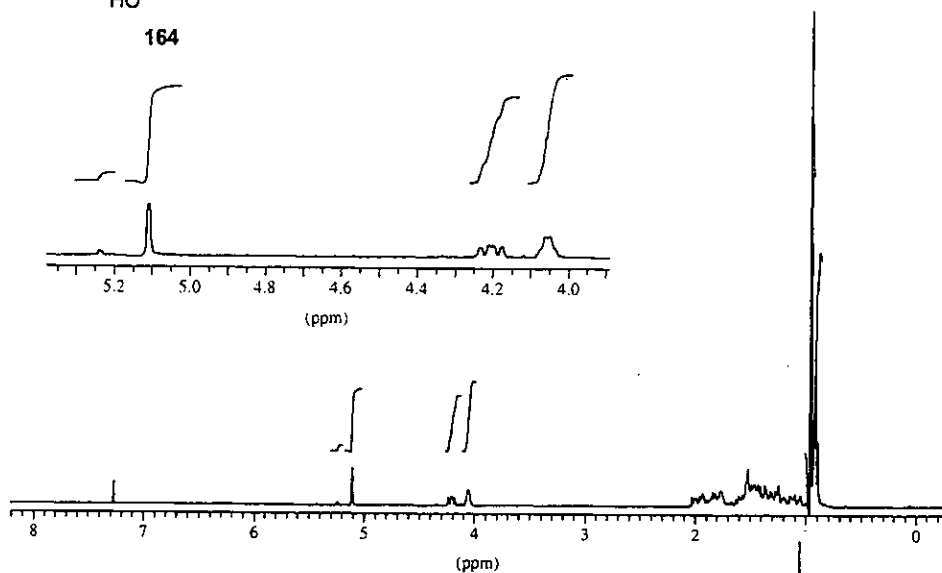
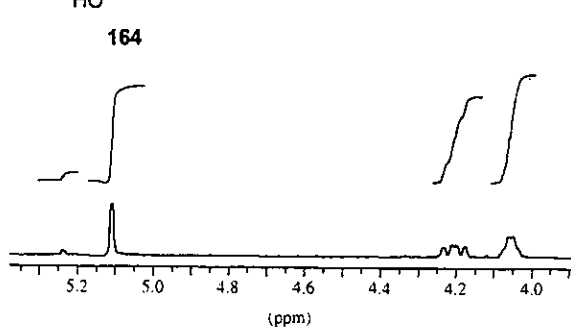


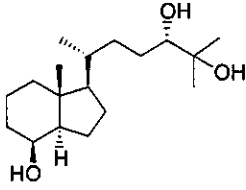




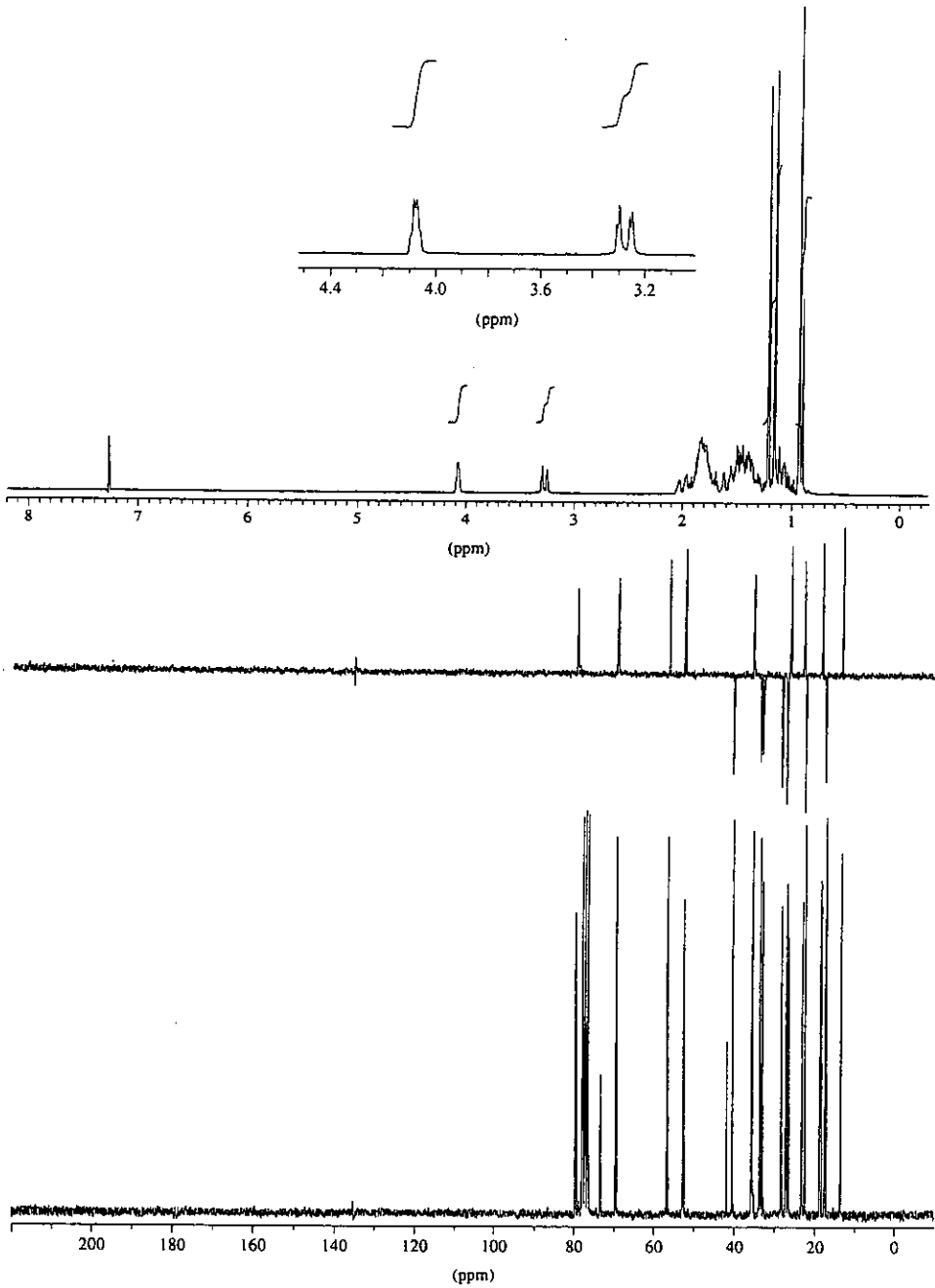


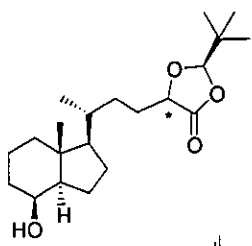
164



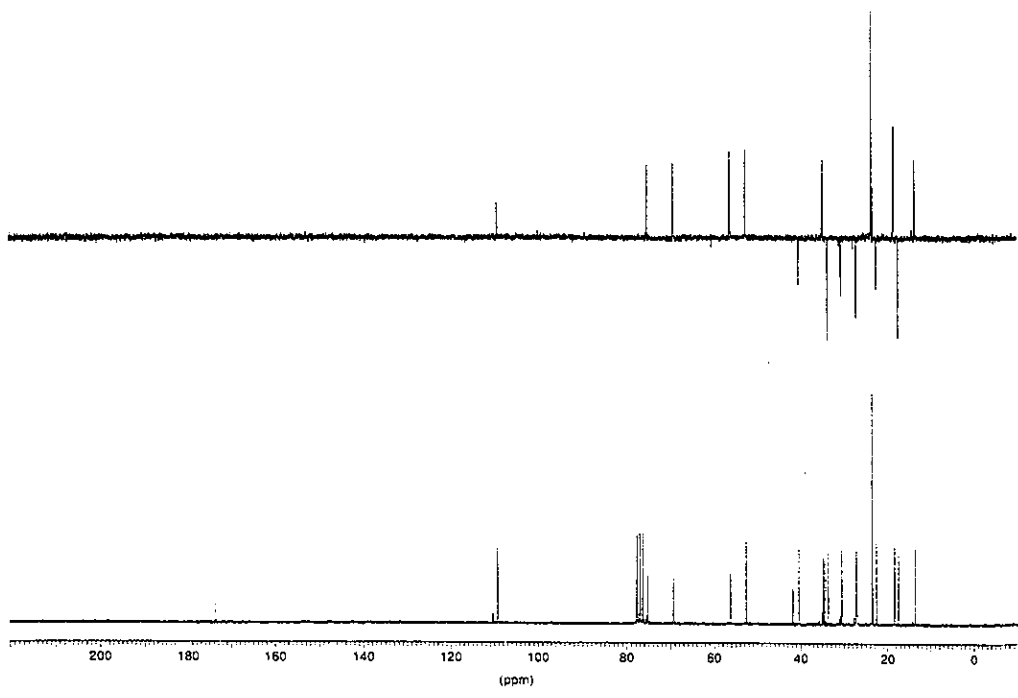
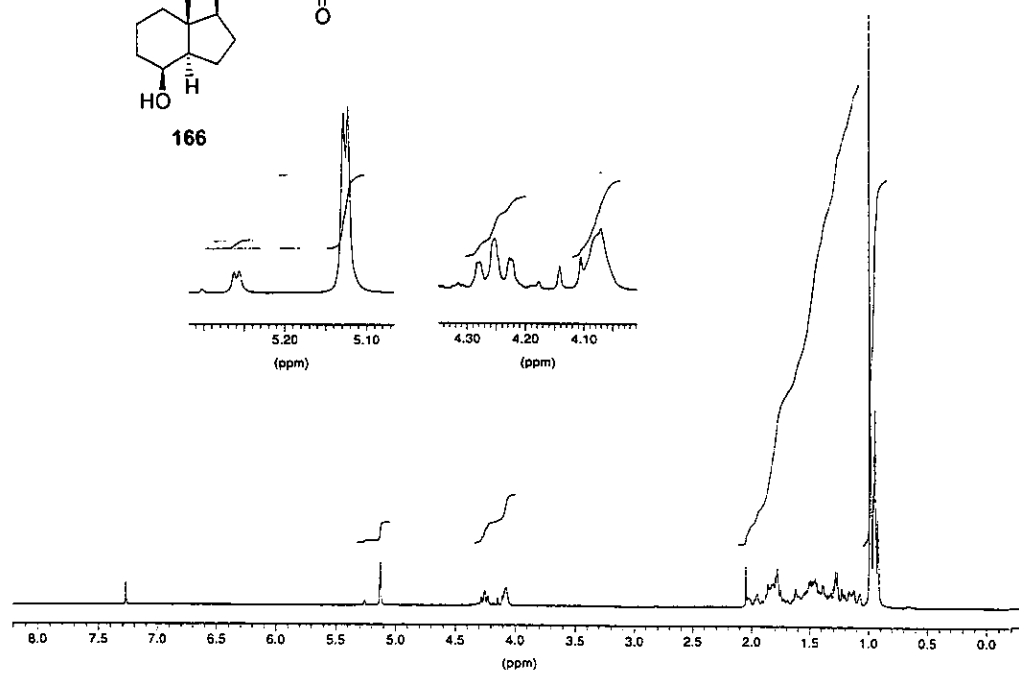


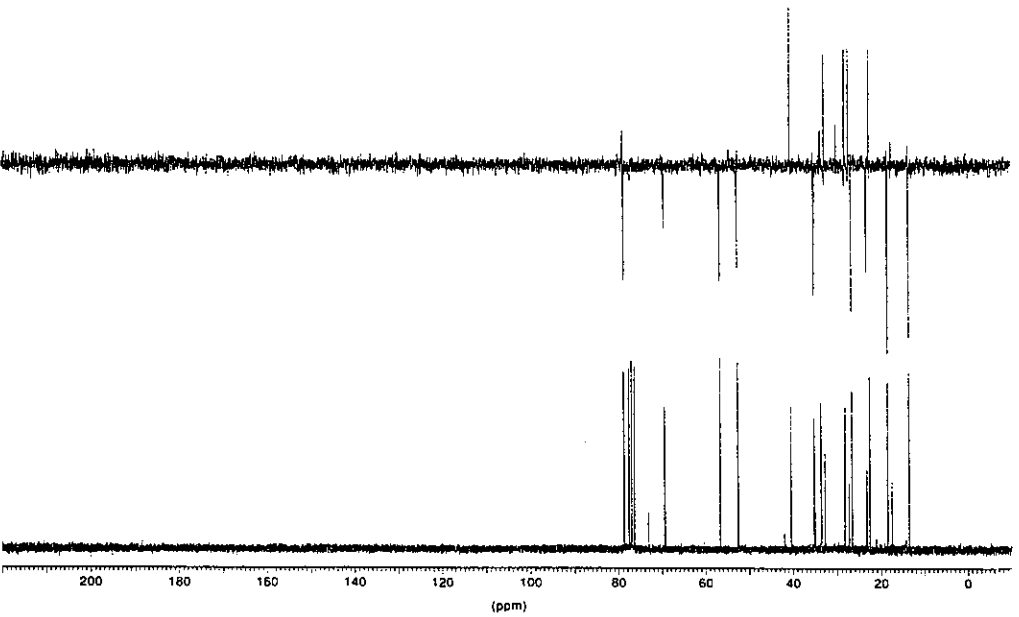
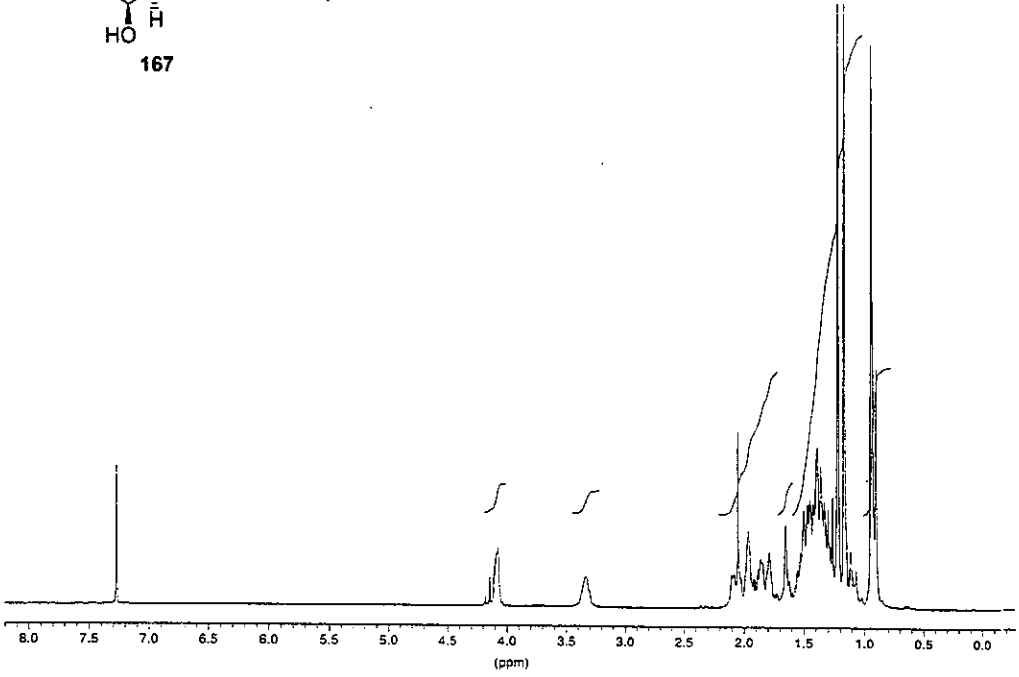
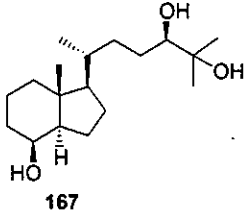
165

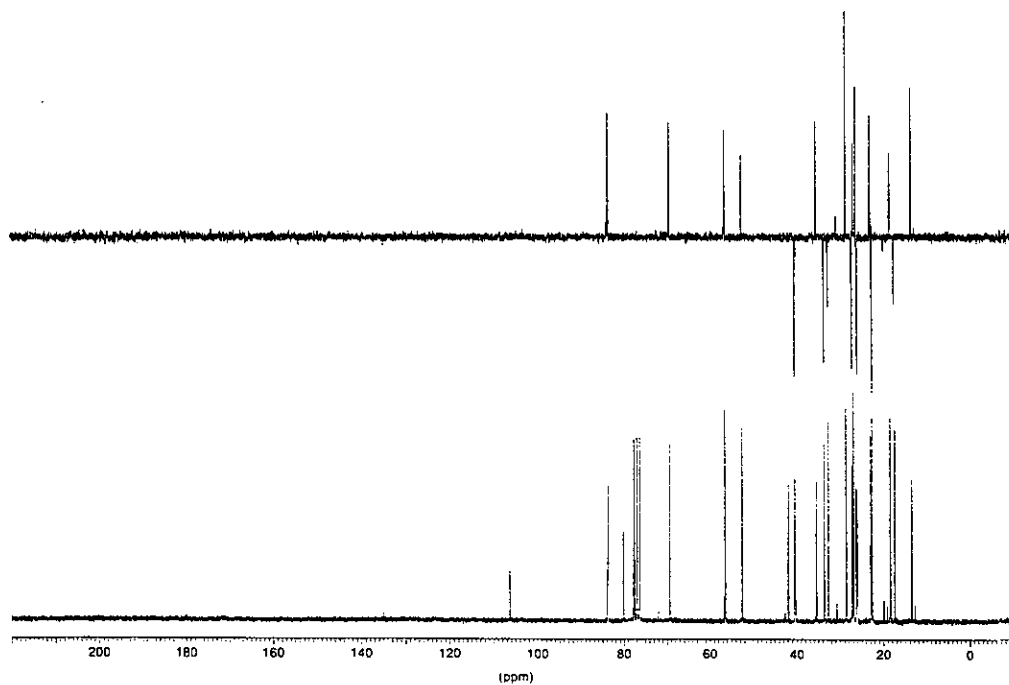
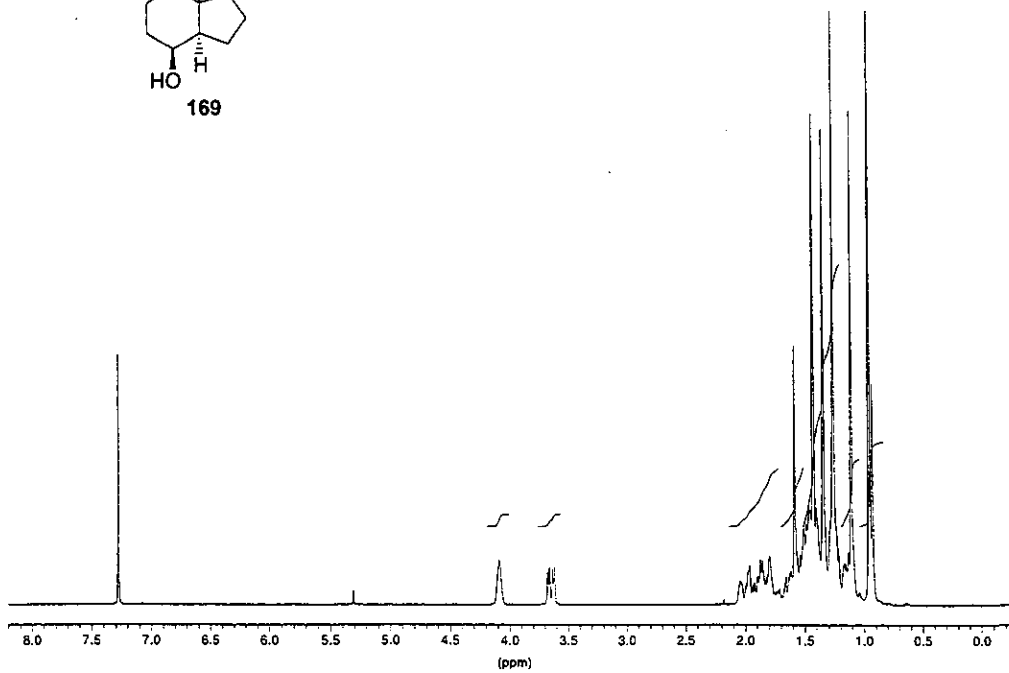
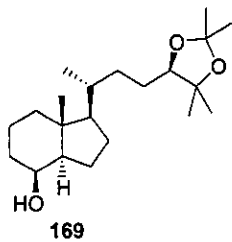


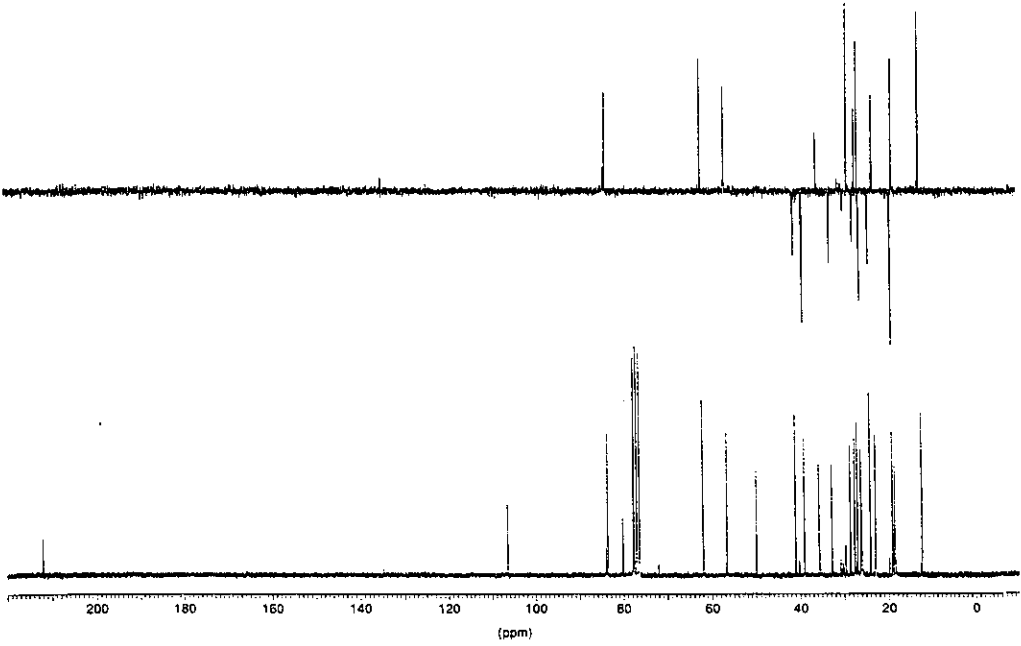
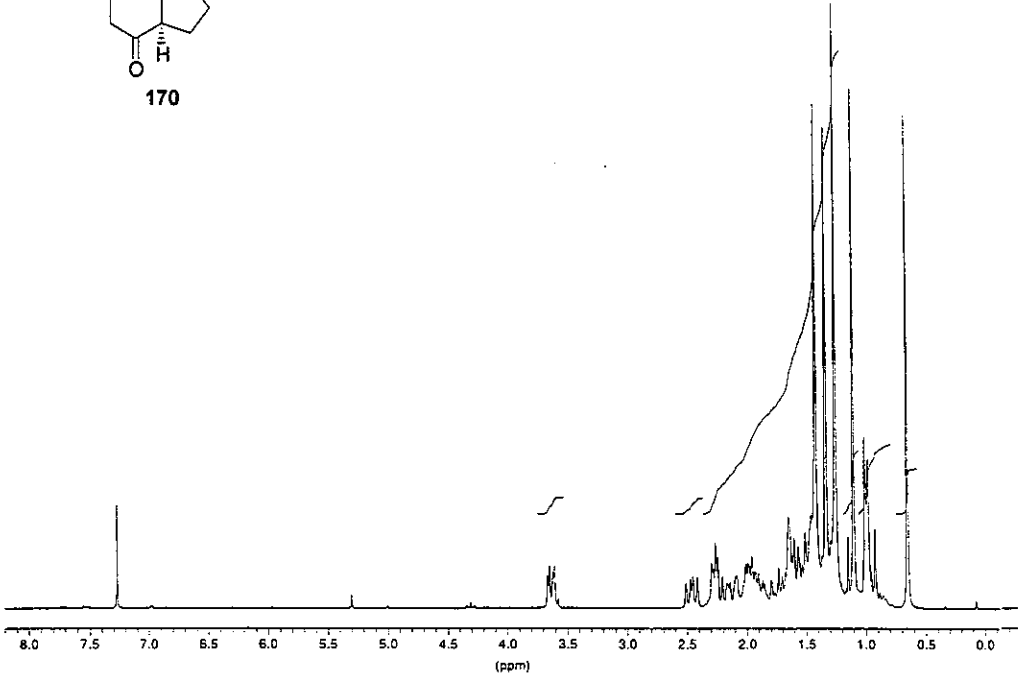
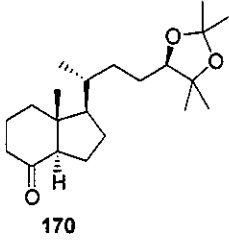


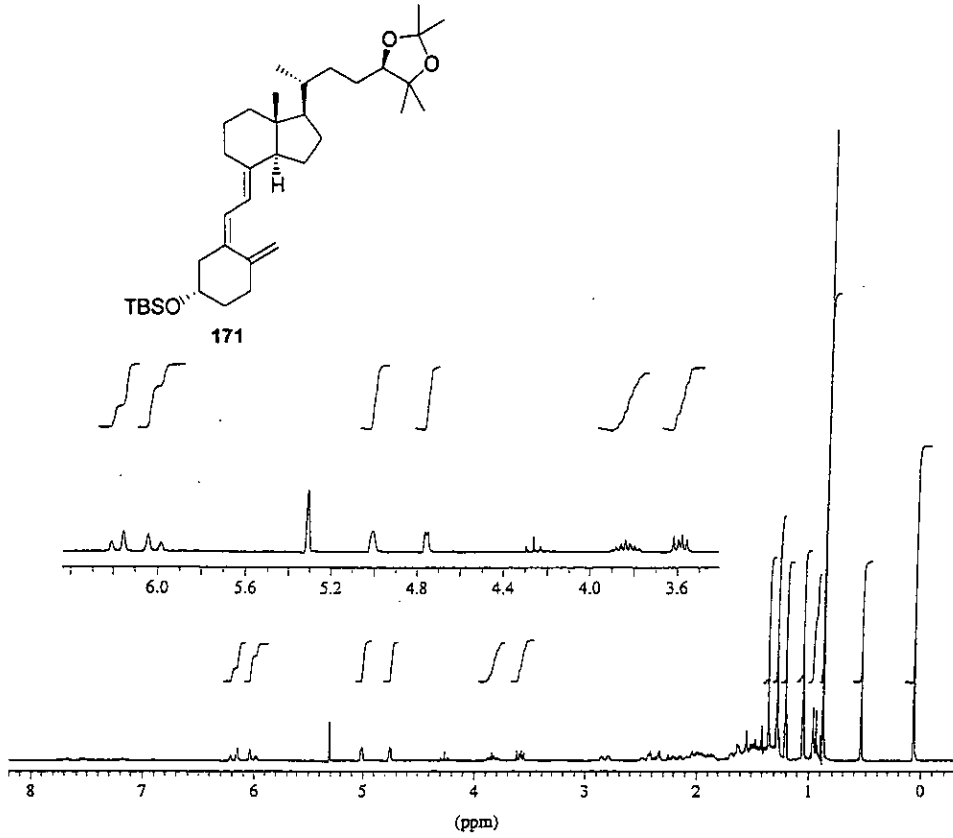
166

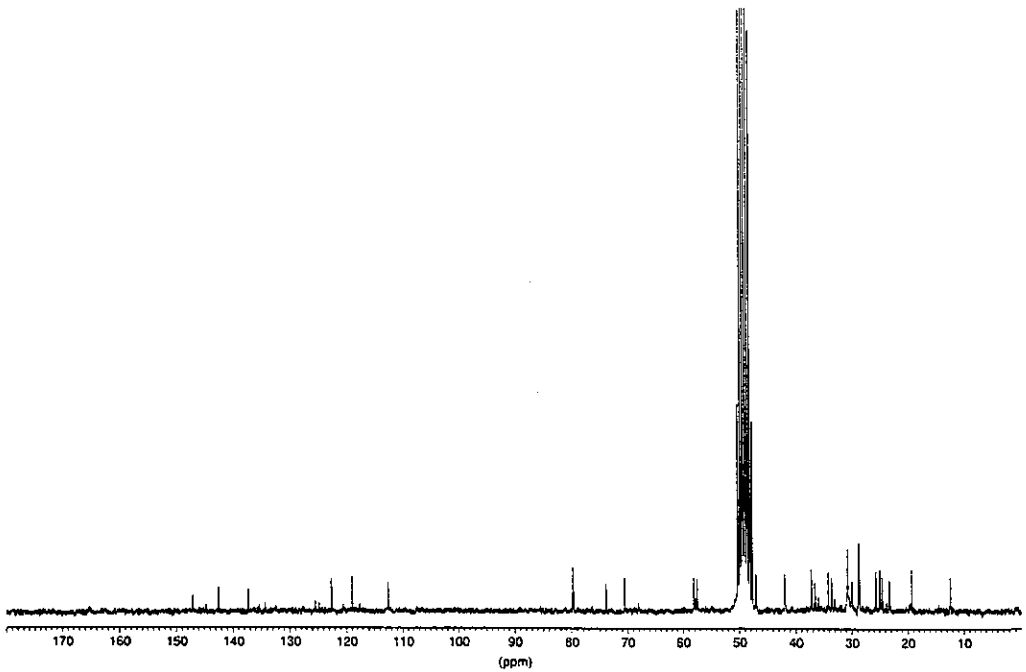
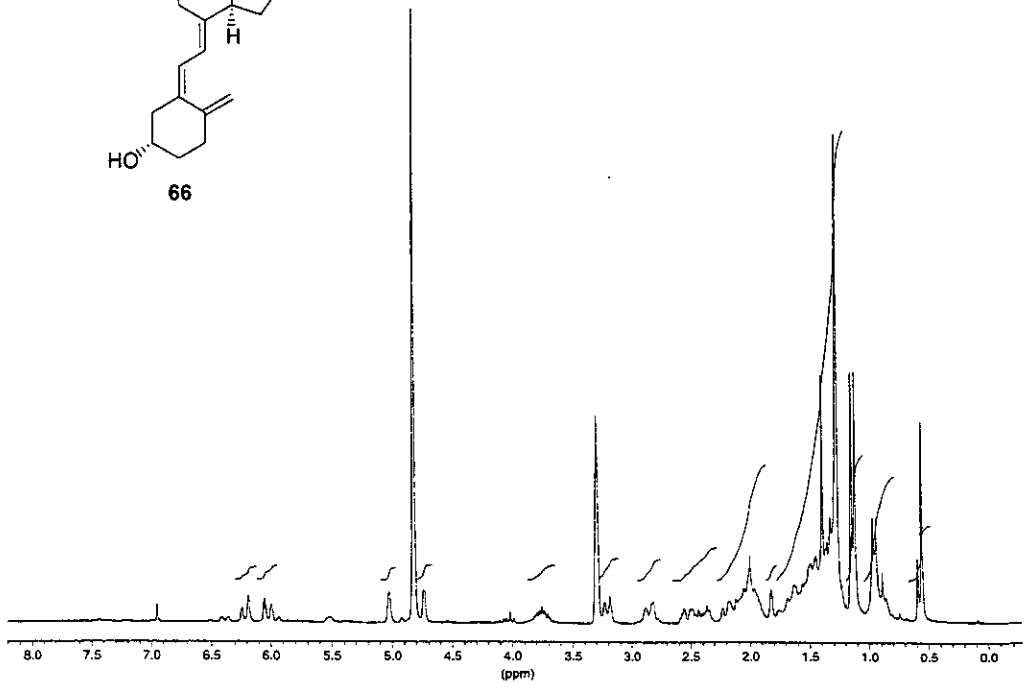
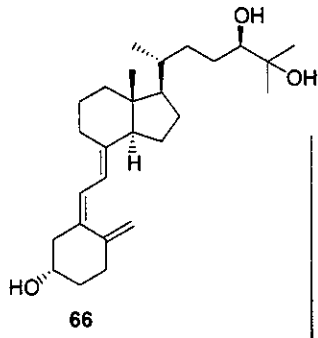


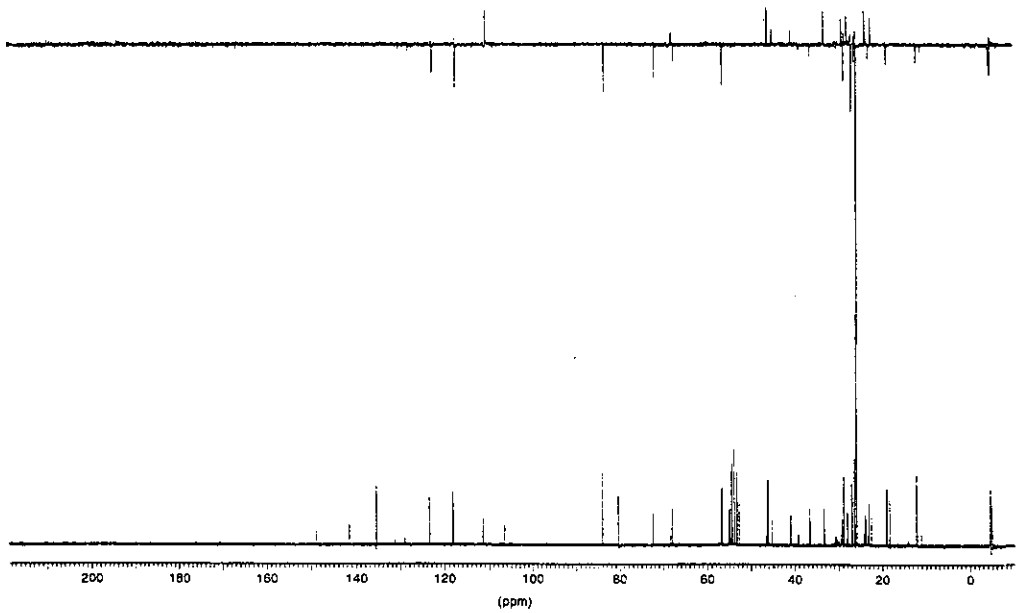
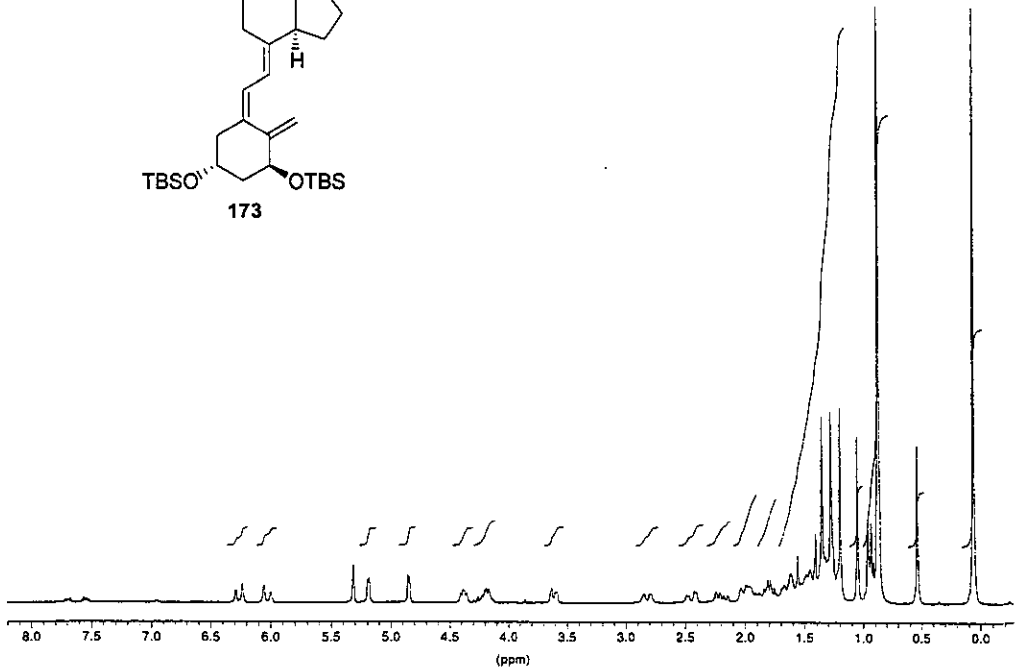
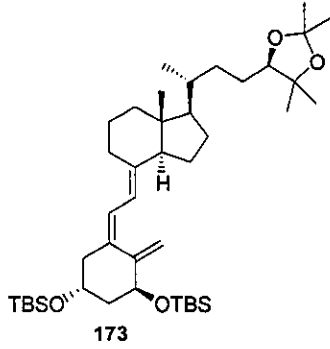


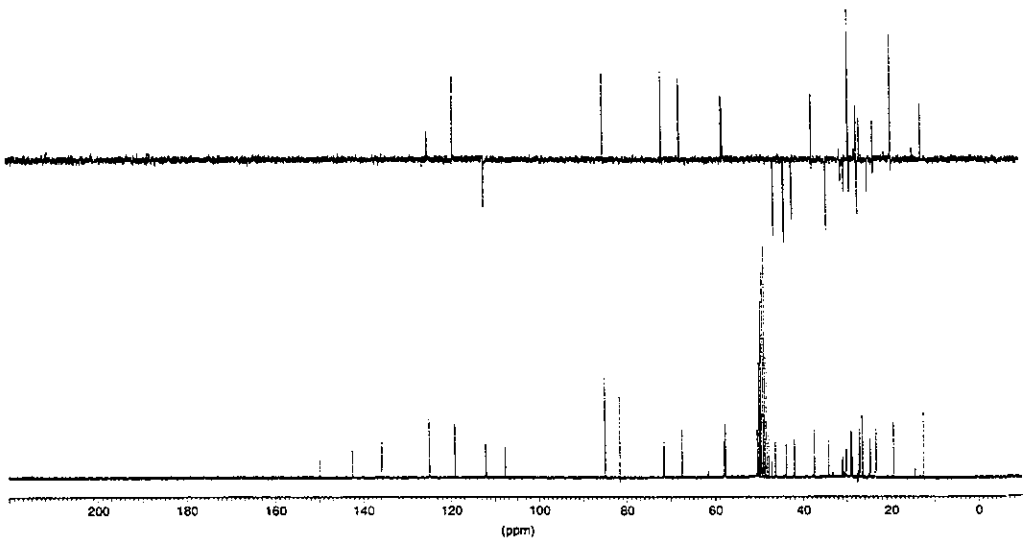
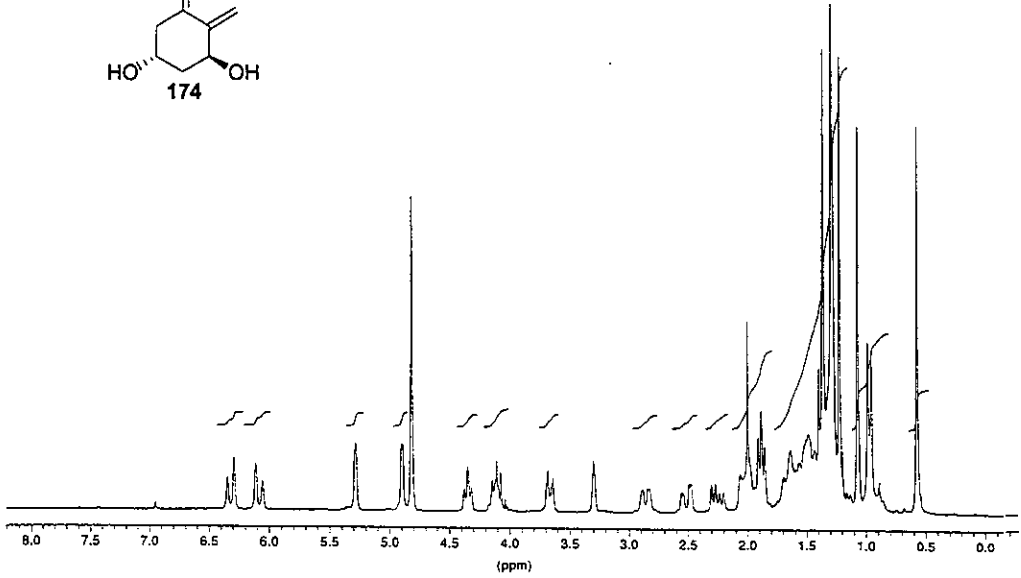
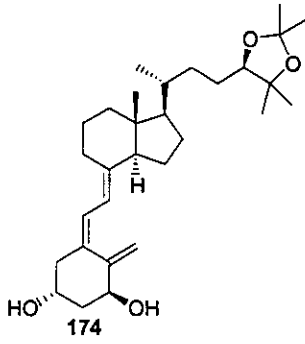


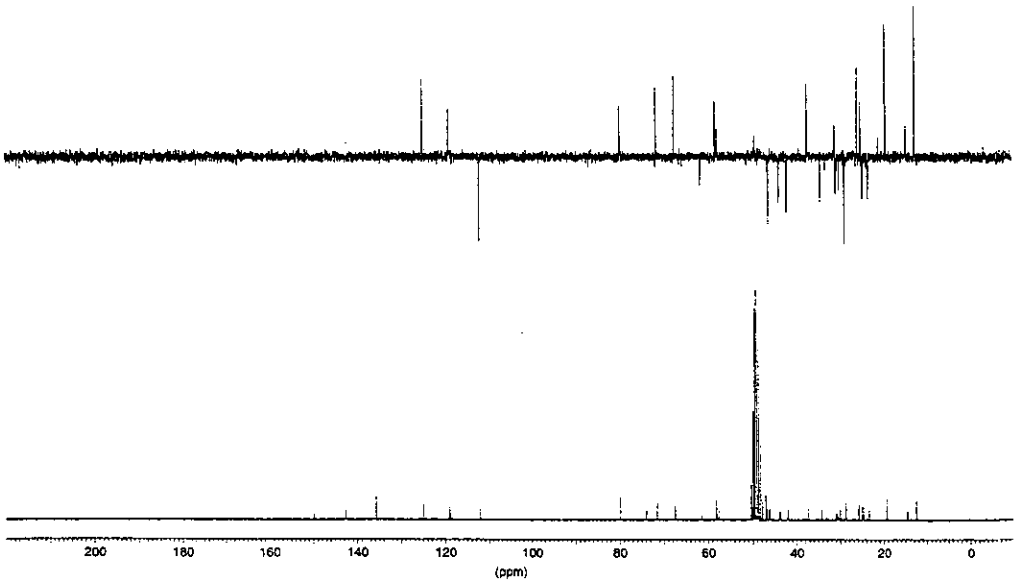
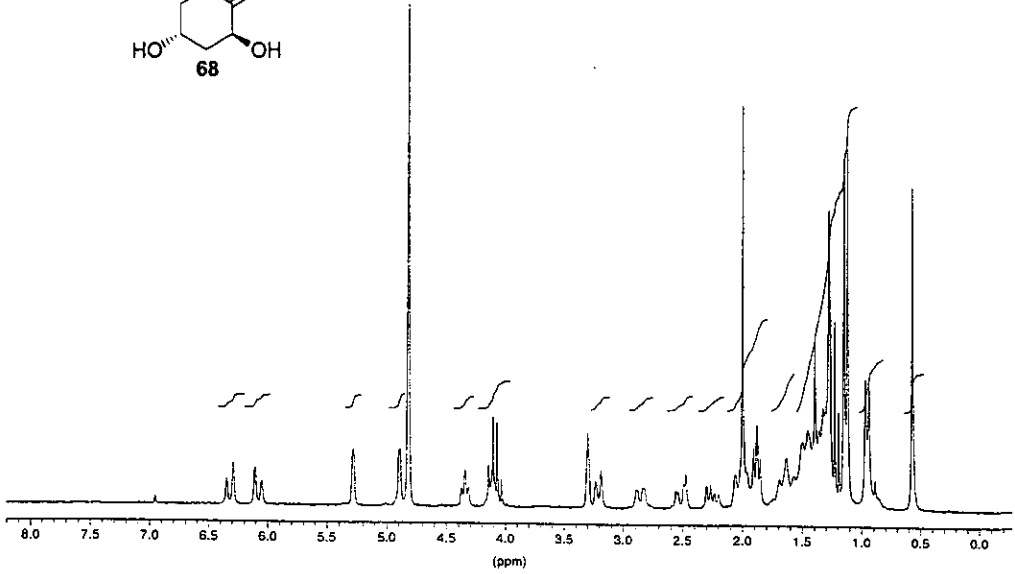
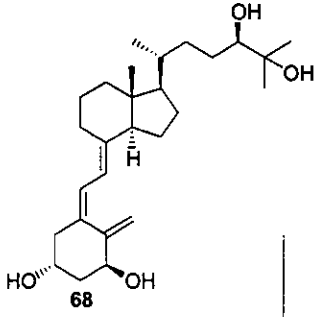


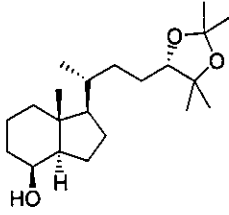




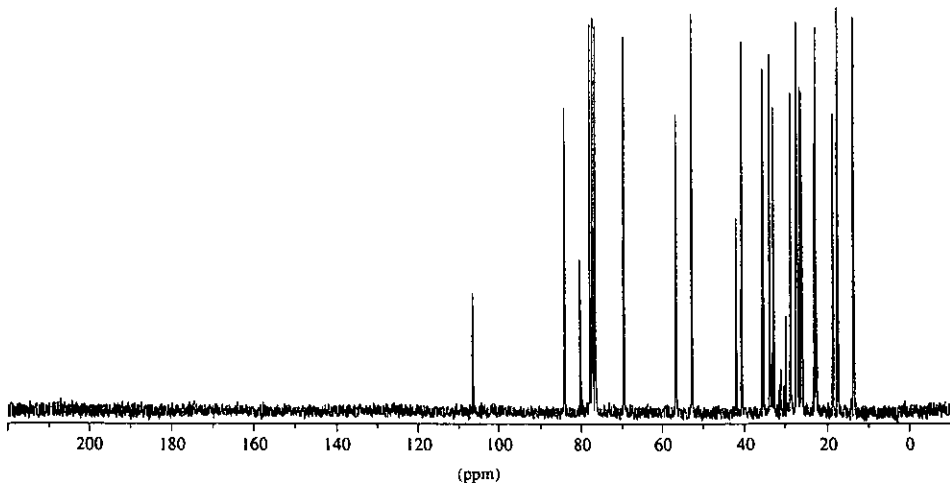
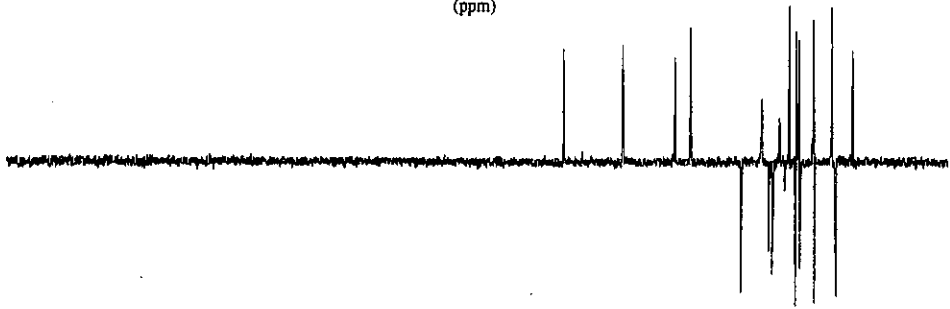
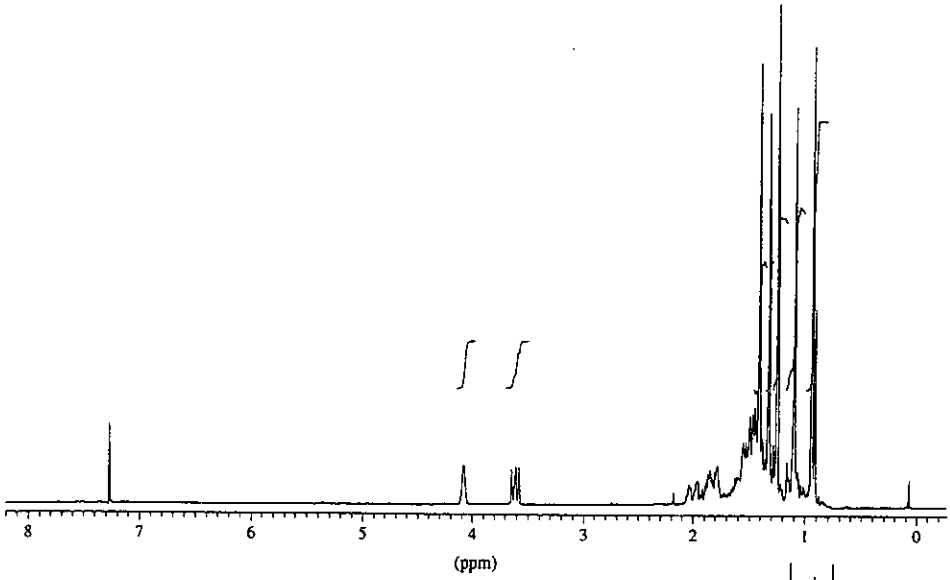


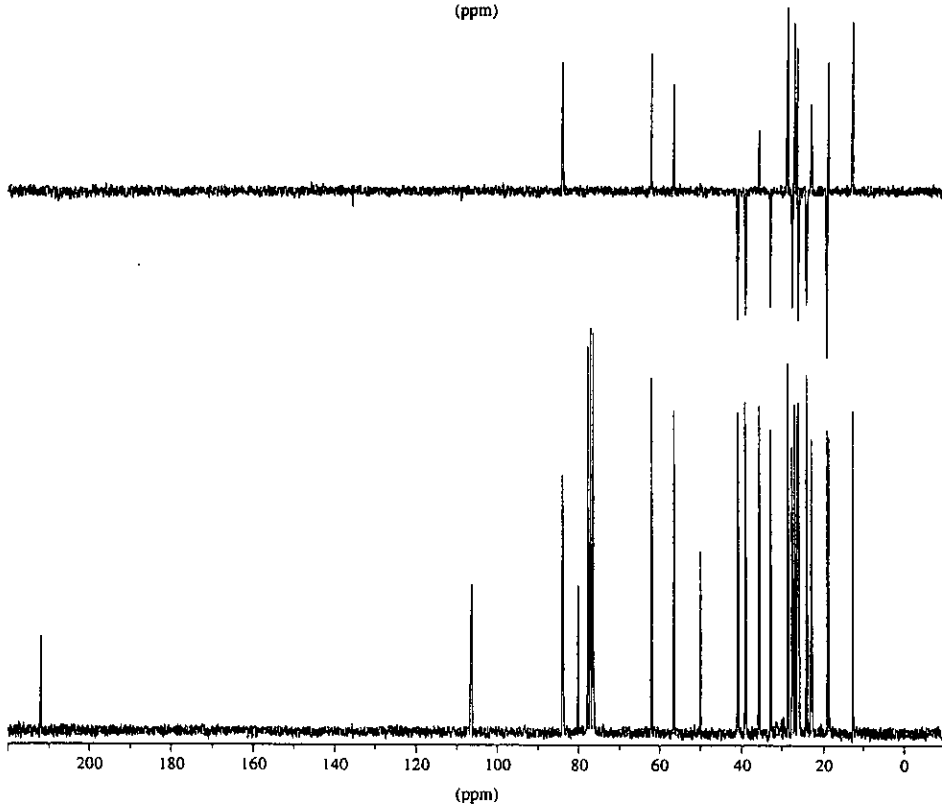
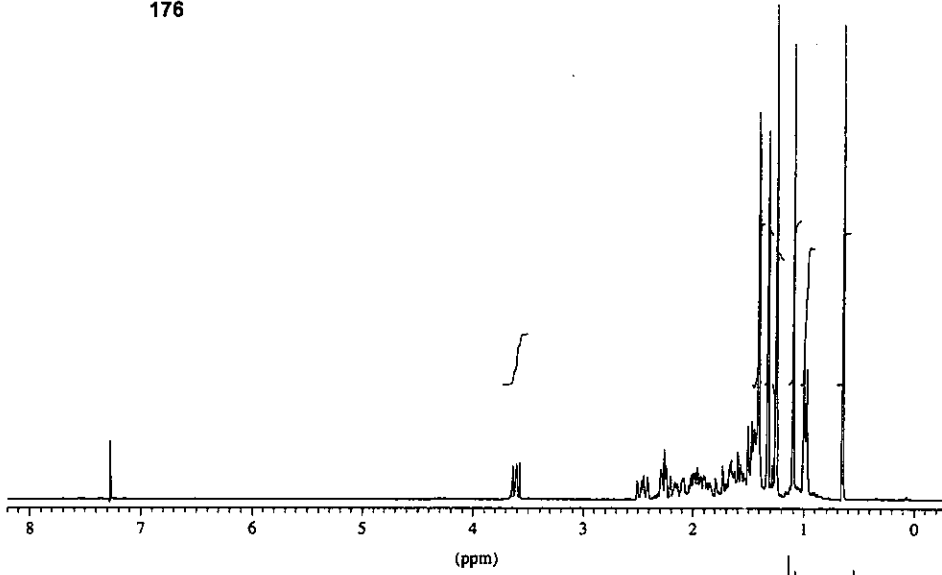
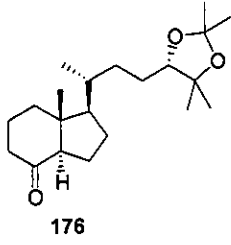


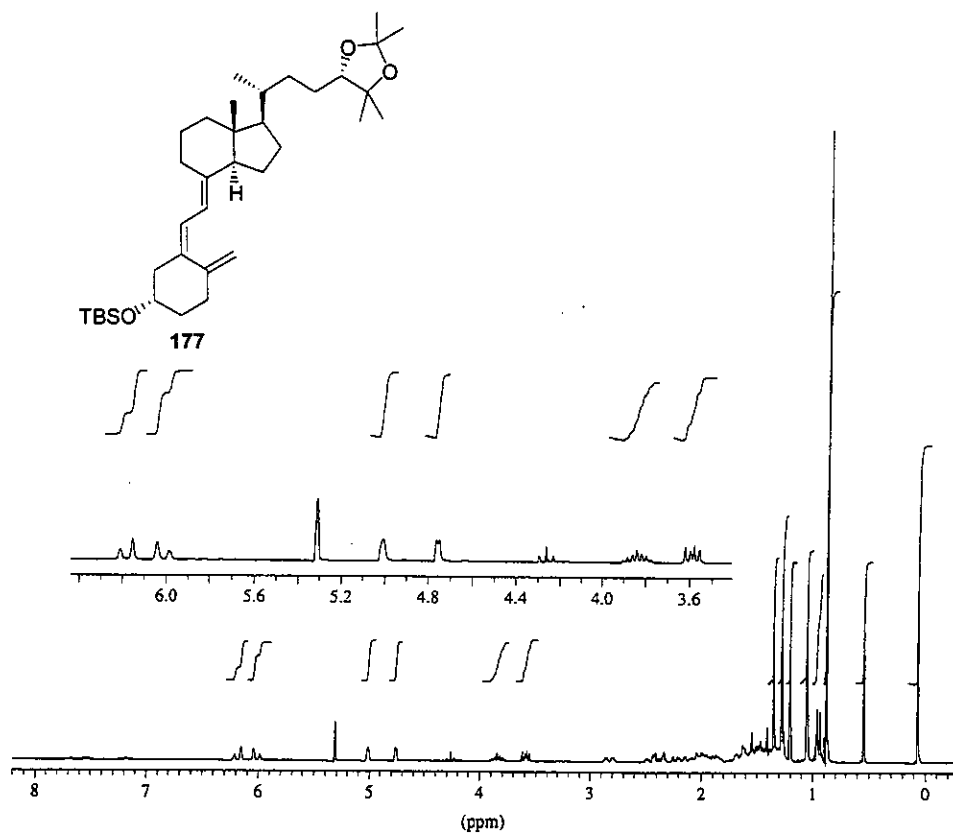


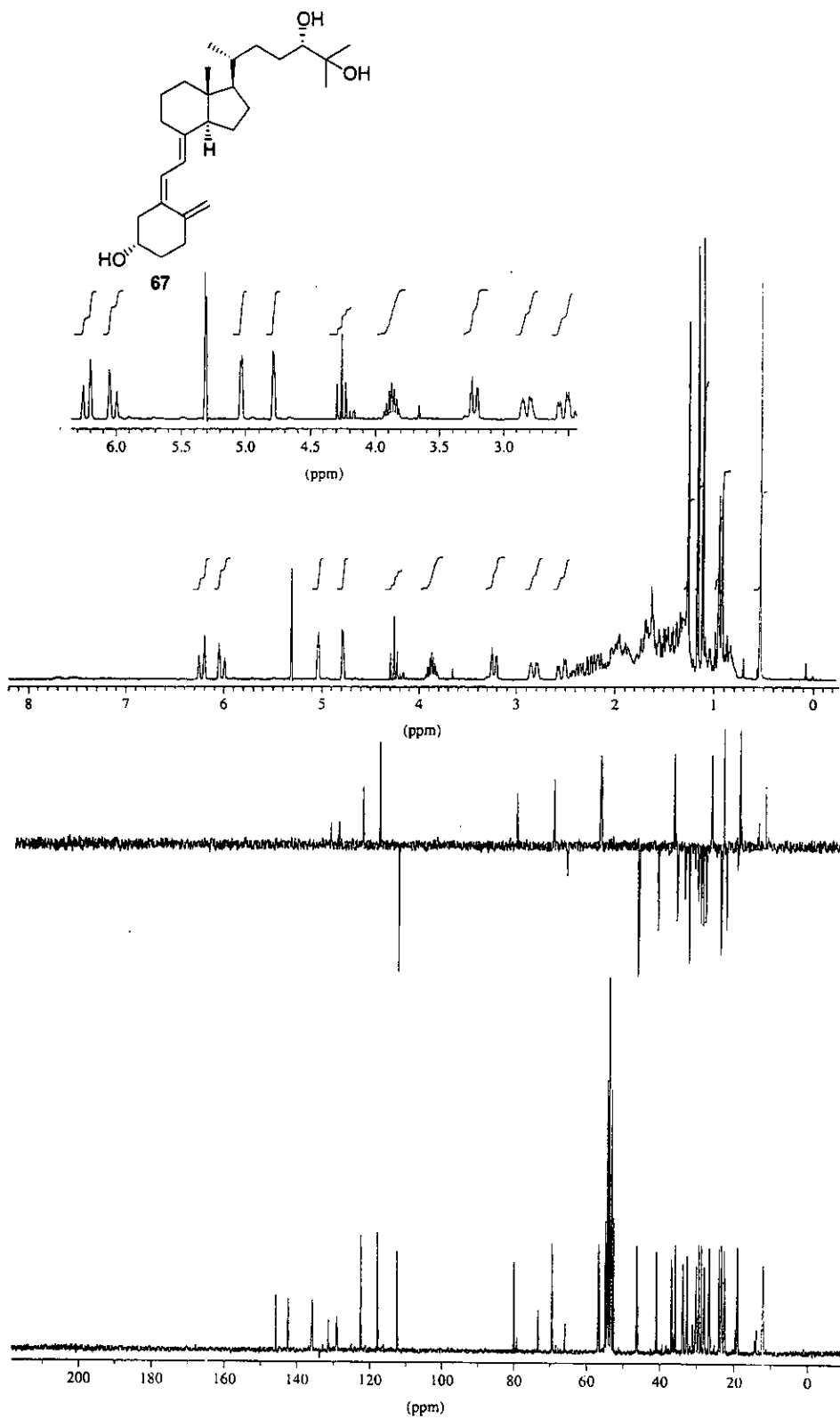


175





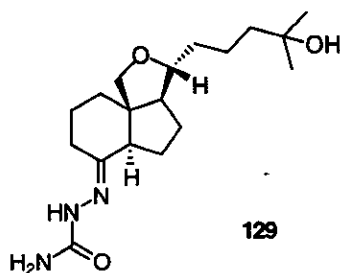




8

APÉNDICE II

Datos de Difracción de Rayos X



(20'R)-2-[Des-A,B-18',20'-epoxi-25'-hidroxi-21'-norcolest-8'-ilideno]-hidrazinacarboxamida (129).

Estructura de difracción de rayos X (ORTEP) de 129 (elipsoides al 30%).

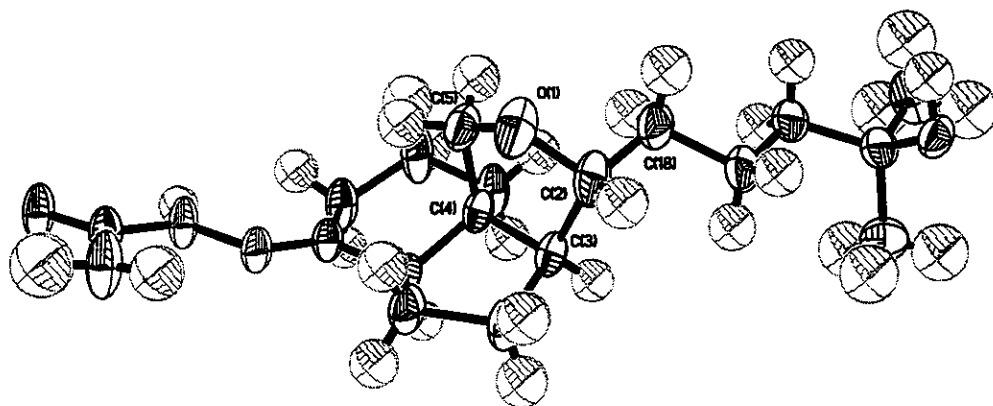


Tabla 1.1. Datos del cristal y refinamiento de la estructura de 129.

Fórmula empírica	$C_{18}H_{12}N_3O_{1.50}$
Peso molecular	346.47
Temperatura	293(2) K
Longitud de onda	1.54184 Å
Sistema cristalino	Triclinico
Grupo espacial	P1
Dimensiones de la celda unidad	a = 6.5138(6) Å $\alpha = 94.118(10)^\circ$. b = 7.3225(9) Å $\beta = 93.089(11)^\circ$. c = 20.509(2) Å $\gamma = 95.003(12)^\circ$.
Volumen	970.18(18) Å ³
Z	2
Densidad (calculada)	1.186 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0.664 mm ⁻¹
F(000)	378
Tamaño del cristal	0.46 x 0.20 x 0.16 mm ³
Intervalo Θ para la toma de datos	4.33 to 72.06°.
Intervalo de los índices	-8 ≤ h ≤ 8, -9 ≤ k ≤ 8, 0 ≤ l ≤ 25
Reflexiones tomadas	3959
Reflexiones Independientes	3900 [R(int) = 0.0228]
Completeness to $\Theta = 72.06^\circ$	99.6 %
Corrección de absorción	Semi-empírico
Coef. de transmisión máx y mín	0.9012 and 0.7498
Método de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz compleja en F ²
Datos / restricciones / parámetros	3900 / 3 / 482
Goodness-of-fit on F ²	1.023
Índices R finales [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0493, wR ₂ = 0.1300
Índices R (todos los datos)	R ₁ = 0.0685, wR ₂ = 0.1471
Parámetro absoluto de la estructura	0.0(3)
Coefficiente de extinción	0.0120(15)
Densidad electrónica final, cresta y valle	0.223 and -0.308 e.Å ⁻³

Tabla 2.1. Coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para el compuesto 129.

	x	y	z	U(eq)
O(1)	5440(7)	6413(7)	9099(2)	105(2)
C(2)	3391(8)	5582(8)	9153(3)	83(2)
C(3)	2632(7)	5160(6)	8440(2)	65(1)
C(4)	4549(6)	4520(6)	8102(2)	58(1)
C(5)	6324(7)	5356(8)	8601(3)	78(1)
C(6)	2131(9)	6893(8)	8104(3)	91(2)
C(7)	3886(8)	7347(7)	7656(3)	79(2)
C(8)	4525(6)	5454(6)	7464(2)	60(1)
C(9)	6431(6)	5218(5)	7098(2)	58(1)
C(10)	6971(8)	3266(6)	7011(3)	75(1)
C(11)	6710(11)	2219(8)	7618(3)	98(2)
C(12)	4708(9)	2483(7)	7961(3)	78(1)
N(13)	7327(6)	6632(5)	6872(2)	63(1)
N(14)	9026(6)	6436(5)	6501(2)	70(1)
C(15)	9962(7)	7981(6)	6287(2)	68(1)
O(16)	11457(5)	7916(4)	5938(2)	79(1)
N(17)	9218(9)	9551(6)	6470(3)	99(2)
C(18)	3348(8)	3983(9)	9562(3)	84(2)
C(19)	1214(9)	3240(8)	9747(3)	79(1)
C(20)	1258(8)	1418(8)	10044(2)	74(1)
C(21)	-689(8)	652(7)	10337(2)	69(1)
O(22)	-1171(5)	1895(5)	10869(2)	71(1)
C(23)	-383(13)	-1203(9)	10595(4)	105(2)
C(24)	-2553(10)	502(10)	9860(3)	99(2)
O(31)	7387(4)	10985(4)	2931(1)	61(1)
C(32)	9430(6)	10340(6)	2922(2)	55(1)
C(33)	10033(5)	10354(5)	3643(2)	50(1)
C(34)	8021(5)	9624(5)	3946(2)	49(1)
C(35)	6378(6)	10099(6)	3437(2)	56(1)
C(36)	10537(7)	12335(6)	3976(2)	63(1)
C(37)	8782(7)	12724(6)	4422(2)	60(1)
C(38)	8047(6)	10811(5)	4600(2)	52(1)
C(39)	6096(6)	10456(5)	4944(2)	53(1)
C(40)	5461(8)	8470(6)	5020(2)	72(1)
C(41)	5676(8)	7213(6)	4395(3)	74(1)
C(42)	7744(7)	7612(6)	4091(2)	63(1)
N(43)	5210(5)	11857(4)	5170(2)	53(1)
N(44)	3456(5)	11545(5)	5520(2)	57(1)
C(45)	2582(6)	13073(5)	5757(2)	56(1)
O(46)	1028(5)	12899(4)	6079(2)	66(1)
N(47)	3455(7)	14684(5)	5626(2)	73(1)
C(48)	9318(6)	8494(6)	2524(2)	56(1)
C(49)	11353(6)	7658(6)	2457(2)	61(1)

C(50)	11041 (6)	5730 (6)	2113 (2)	58 (1)
C(51)	13000 (6)	4784 (5)	1989 (2)	54 (1)
O(52)	12248 (4)	2951 (4)	1734 (2)	66 (1)
C(53)	14248 (8)	5706 (7)	1484 (3)	79 (1)
C(54)	14288 (6)	4660 (7)	2614 (2)	68 (1)
O(55)	5517 (5)	10888 (5)	1617 (2)	70 (1)

Tabla 3.1. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] para el compuesto 129.

O(1)-C(5)	1.414(6)	C(20)-H(20A)	0.9700
O(1)-C(2)	1.431(6)	C(20)-H(20B)	0.9700
C(2)-C(18)	1.487(8)	C(21)-O(22)	1.435(5)
C(2)-C(3)	1.521(8)	C(21)-C(24)	1.510(8)
C(2)-H(2)	0.9800	C(21)-C(23)	1.517(8)
C(3)-C(6)	1.538(7)	O(22)-H(22)	0.94(7)
C(3)-C(4)	1.552(5)	C(23)-H(23A)	0.9600
C(3)-H(3)	0.9800	C(23)-H(23B)	0.9600
C(4)-C(12)	1.513(6)	C(23)-H(23C)	0.9600
C(4)-C(8)	1.518(6)	C(24)-H(24A)	0.9600
C(4)-C(5)	1.556(7)	C(24)-H(24B)	0.9600
C(5)-H(5A)	0.9700	C(24)-H(24C)	0.9600
C(5)-H(5B)	0.9700	O(31)-C(35)	1.424(5)
C(6)-C(7)	1.534(6)	O(31)-C(32)	1.451(4)
C(6)-H(6A)	0.9700	C(32)-C(33)	1.510(6)
C(6)-H(6B)	0.9700	C(32)-C(48)	1.521(5)
C(7)-C(8)	1.513(6)	C(32)-H(32)	0.9800
C(7)-H(7A)	0.9700	C(33)-C(34)	1.550(5)
C(7)-H(7B)	0.9700	C(33)-C(36)	1.559(6)
C(8)-C(9)	1.501(5)	C(33)-H(33)	0.9800
C(8)-H(8)	0.9800	C(34)-C(42)	1.521(6)
C(9)-N(13)	1.273(5)	C(34)-C(35)	1.534(6)
C(9)-C(10)	1.502(6)	C(34)-C(38)	1.543(5)
C(10)-C(11)	1.518(7)	C(35)-H(35A)	0.9700
C(10)-H(10A)	0.9700	C(35)-H(35B)	0.9700
C(10)-H(10B)	0.9700	C(36)-C(37)	1.536(5)
C(11)-C(12)	1.534(6)	C(36)-H(36A)	0.9700
C(11)-H(11A)	0.9700	C(36)-H(36B)	0.9700
C(11)-H(11B)	0.9700	C(37)-C(38)	1.516(6)
C(12)-H(12A)	0.9700	C(37)-H(37A)	0.9700
C(12)-H(12B)	0.9700	C(37)-H(37B)	0.9700
N(13)-N(14)	1.388(4)	C(38)-C(39)	1.500(5)
N(14)-C(15)	1.351(6)	C(38)-H(38)	0.9800
N(14)-H(14)	0.93(6)	C(39)-N(43)	1.289(5)
C(15)-O(16)	1.240(5)	C(39)-C(40)	1.498(6)
C(15)-N(17)	1.324(6)	C(40)-C(41)	1.543(6)
N(17)-H(17A)	0.95(8)	C(40)-H(40A)	0.9700
N(17)-H(17B)	1.05(10)	C(40)-H(40B)	0.9700
C(18)-C(19)	1.526(7)	C(41)-C(42)	1.529(6)
C(18)-H(18A)	0.9700	C(41)-H(41A)	0.9700
C(18)-H(18B)	0.9700	C(41)-H(41B)	0.9700
C(19)-C(20)	1.508(8)	C(42)-H(42A)	0.9700
C(19)-H(19A)	0.9700	C(42)-H(42B)	0.9700
C(19)-H(19B)	0.9700	N(43)-N(44)	1.393(4)
C(20)-C(21)	1.513(7)	N(44)-C(45)	1.369(5)

N(44)-H(44)	1.00(5)	C(50)-H(50B)	0.9700
C(45)-O(46)	1.240(5)	C(51)-O(52)	1.439(5)
C(45)-N(47)	1.317(6)	C(51)-C(54)	1.506(6)
N(47)-H(47A)	0.94(7)	C(51)-C(53)	1.512(6)
N(47)-H(47B)	1.00(6)	O(52)-H(52)	0.97(9)
C(48)-C(49)	1.517(5)	C(53)-H(53A)	0.9600
C(48)-H(48A)	0.9700	C(53)-H(53B)	0.9600
C(48)-H(48B)	0.9700	C(53)-H(53C)	0.9600
C(49)-C(50)	1.524(6)	C(54)-H(54A)	0.9600
C(49)-H(49A)	0.9700	C(54)-H(54B)	0.9600
C(49)-H(49B)	0.9700	C(54)-H(54C)	0.9600
C(50)-C(51)	1.528(5)	O(55)-H(55A)	0.93(7)
C(50)-H(50A)	0.9700	O(55)-H(55B)	0.87(6)
C(5)-O(1)-C(2)	106.9(4)	C(8)-C(7)-H(7B)	111.5
O(1)-C(2)-C(18)	112.4(5)	C(6)-C(7)-H(7B)	111.5
O(1)-C(2)-C(3)	102.1(4)	H(7A)-C(7)-H(7B)	109.3
C(18)-C(2)-C(3)	115.9(4)	C(9)-C(8)-C(7)	121.0(4)
O(1)-C(2)-H(2)	108.7	C(9)-C(8)-C(4)	112.7(4)
C(18)-C(2)-H(2)	108.7	C(7)-C(8)-C(4)	103.8(4)
C(3)-C(2)-H(2)	108.7	C(9)-C(8)-H(8)	106.1
C(2)-C(3)-C(6)	112.6(5)	C(7)-C(8)-H(8)	106.1
C(2)-C(3)-C(4)	104.0(4)	C(4)-C(8)-H(8)	106.1
C(6)-C(3)-C(4)	104.6(3)	N(13)-C(9)-C(8)	117.9(4)
C(2)-C(3)-H(3)	111.7	N(13)-C(9)-C(10)	127.7(3)
C(6)-C(3)-H(3)	111.7	C(8)-C(9)-C(10)	114.2(3)
C(4)-C(3)-H(3)	111.7	C(9)-C(10)-C(11)	113.5(4)
C(12)-C(4)-C(8)	109.6(4)	C(9)-C(10)-H(10A)	108.9
C(12)-C(4)-C(3)	118.9(4)	C(11)-C(10)-H(10A)	108.9
C(8)-C(4)-C(3)	104.0(3)	C(9)-C(10)-H(10B)	108.9
C(12)-C(4)-C(5)	110.1(4)	C(11)-C(10)-H(10B)	108.9
C(8)-C(4)-C(5)	112.8(4)	H(10A)-C(10)-H(10B)	107.7
C(3)-C(4)-C(5)	101.1(3)	C(10)-C(11)-C(12)	114.9(5)
O(1)-C(5)-C(4)	107.8(4)	C(10)-C(11)-H(11A)	108.6
O(1)-C(5)-H(5A)	110.1	C(12)-C(11)-H(11A)	108.6
C(4)-C(5)-H(5A)	110.1	C(10)-C(11)-H(11B)	108.6
O(1)-C(5)-H(5B)	110.1	C(12)-C(11)-H(11B)	108.6
C(4)-C(5)-H(5B)	110.1	H(11A)-C(11)-H(11B)	107.5
H(5A)-C(5)-H(5B)	108.5	C(4)-C(12)-C(11)	108.7(4)
C(7)-C(6)-C(3)	107.0(4)	C(4)-C(12)-H(12A)	110.0
C(7)-C(6)-H(6A)	110.3	C(11)-C(12)-H(12A)	110.0
C(3)-C(6)-H(6A)	110.3	C(4)-C(12)-H(12B)	110.0
C(7)-C(6)-H(6B)	110.3	C(11)-C(12)-H(12B)	110.0
C(3)-C(6)-H(6B)	110.3	H(12A)-C(12)-H(12B)	108.3
H(6A)-C(6)-H(6B)	108.6	C(9)-N(13)-N(14)	119.2(3)
C(8)-C(7)-C(6)	101.6(4)	C(15)-N(14)-N(13)	117.1(3)
C(8)-C(7)-H(7A)	111.5	C(15)-N(14)-H(14)	114(3)
C(6)-C(7)-H(7A)	111.5	N(13)-N(14)-H(14)	128(3)

O(16)-C(15)-N(17)	122.1(4)	C(33)-C(32)-H(32)	109.4
O(16)-C(15)-N(14)	121.0(4)	C(48)-C(32)-H(32)	109.4
N(17)-C(15)-N(14)	116.9(4)	C(32)-C(33)-C(34)	104.0(3)
C(15)-N(17)-H(17A)	119(5)	C(32)-C(33)-C(36)	112.7(4)
C(15)-N(17)-H(17B)	116(5)	C(34)-C(33)-C(36)	104.4(3)
H(17A)-N(17)-H(17B)	120(7)	C(32)-C(33)-H(33)	111.7
C(2)-C(18)-C(19)	115.6(5)	C(34)-C(33)-H(33)	111.7
C(2)-C(18)-H(18A)	108.4	C(36)-C(33)-H(33)	111.7
C(19)-C(18)-H(18A)	108.4	C(42)-C(34)-C(35)	112.0(3)
C(2)-C(18)-H(18B)	108.4	C(42)-C(34)-C(38)	108.2(3)
C(19)-C(18)-H(18B)	108.4	C(35)-C(34)-C(38)	113.0(3)
H(18A)-C(18)-H(18B)	107.4	C(42)-C(34)-C(33)	118.8(3)
C(20)-C(19)-C(18)	112.0(5)	C(35)-C(34)-C(33)	101.2(3)
C(20)-C(19)-H(19A)	109.2	C(38)-C(34)-C(33)	103.4(3)
C(18)-C(19)-H(19A)	109.2	O(31)-C(35)-C(34)	108.7(3)
C(20)-C(19)-H(19B)	109.2	O(31)-C(35)-H(35A)	110.0
C(18)-C(19)-H(19B)	109.2	C(34)-C(35)-H(35A)	110.0
H(19A)-C(19)-H(19B)	107.9	O(31)-C(35)-H(35B)	110.0
C(21)-C(20)-C(19)	117.5(4)	C(34)-C(35)-H(35B)	110.0
C(21)-C(20)-H(20A)	107.9	H(35A)-C(35)-H(35B)	108.3
C(19)-C(20)-H(20A)	107.9	C(37)-C(36)-C(33)	107.4(3)
C(21)-C(20)-H(20B)	107.9	C(37)-C(36)-H(36A)	110.2
C(19)-C(20)-H(20B)	107.9	C(33)-C(36)-H(36A)	110.2
H(20A)-C(20)-H(20B)	107.2	C(37)-C(36)-H(36B)	110.2
O(22)-C(21)-C(24)	105.1(4)	C(33)-C(36)-H(36B)	110.2
O(22)-C(21)-C(20)	109.3(4)	H(36A)-C(36)-H(36B)	108.5
C(24)-C(21)-C(20)	112.6(4)	C(38)-C(37)-C(36)	102.0(3)
O(22)-C(21)-C(23)	109.0(4)	C(38)-C(37)-H(37A)	111.4
C(24)-C(21)-C(23)	110.4(6)	C(36)-C(37)-H(37A)	111.4
C(20)-C(21)-C(23)	110.3(5)	C(38)-C(37)-H(37B)	111.4
C(21)-O(22)-H(22)	107(4)	C(36)-C(37)-H(37B)	111.4
C(21)-C(23)-H(23A)	109.5	H(37A)-C(37)-H(37B)	109.2
C(21)-C(23)-H(23B)	109.5	C(39)-C(38)-C(37)	121.4(3)
H(23A)-C(23)-H(23B)	109.5	C(39)-C(38)-C(34)	112.0(3)
C(21)-C(23)-H(23C)	109.5	C(37)-C(38)-C(34)	103.7(3)
H(23A)-C(23)-H(23C)	109.5	C(39)-C(38)-H(38)	106.2
H(23B)-C(23)-H(23C)	109.5	C(37)-C(38)-H(38)	106.2
C(21)-C(24)-H(24A)	109.5	C(34)-C(38)-H(38)	106.2
C(21)-C(24)-H(24B)	109.5	N(43)-C(39)-C(38)	117.9(3)
H(24A)-C(24)-H(24B)	109.5	N(43)-C(39)-C(40)	127.1(3)
C(21)-C(24)-H(24C)	109.5	C(38)-C(39)-C(40)	114.9(3)
H(24A)-C(24)-H(24C)	109.5	C(39)-C(40)-C(41)	113.2(4)
H(24B)-C(24)-H(24C)	109.5	C(39)-C(40)-H(40A)	108.9
C(35)-O(31)-C(32)	106.3(3)	C(41)-C(40)-H(40A)	108.9
O(31)-C(32)-C(33)	101.9(3)	C(39)-C(40)-H(40B)	108.9
O(31)-C(32)-C(48)	109.6(3)	C(41)-C(40)-H(40B)	108.9
C(33)-C(32)-C(48)	116.8(3)	H(40A)-C(40)-H(40B)	107.7
O(31)-C(32)-H(32)	109.4	C(42)-C(41)-C(40)	112.6(4)

C(42)-C(41)-H(41A)	109.1	C(48)-C(49)-H(49B)	109.3
C(40)-C(41)-H(41A)	109.1	C(50)-C(49)-H(49B)	109.3
C(42)-C(41)-H(41B)	109.1	H(49A)-C(49)-H(49B)	108.0
C(40)-C(41)-H(41B)	109.1	C(49)-C(50)-C(51)	116.2(3)
H(41A)-C(41)-H(41B)	107.8	C(49)-C(50)-H(50A)	108.2
C(34)-C(42)-C(41)	109.6(3)	C(51)-C(50)-H(50A)	108.2
C(34)-C(42)-H(42A)	109.8	C(49)-C(50)-H(50B)	108.2
C(41)-C(42)-H(42A)	109.8	C(51)-C(50)-H(50B)	108.2
C(34)-C(42)-H(42B)	109.8	H(50A)-C(50)-H(50B)	107.4
C(41)-C(42)-H(42B)	109.8	O(52)-C(51)-C(54)	108.5(4)
H(42A)-C(42)-H(42B)	108.2	O(52)-C(51)-C(53)	109.2(3)
C(39)-N(43)-N(44)	118.3(3)	C(54)-C(51)-C(53)	111.3(4)
C(45)-N(44)-N(43)	116.3(3)	O(52)-C(51)-C(50)	104.1(3)
C(45)-N(44)-H(44)	116(3)	C(54)-C(51)-C(50)	111.8(3)
N(43)-N(44)-H(44)	126(3)	C(53)-C(51)-C(50)	111.6(4)
O(46)-C(45)-N(47)	122.9(4)	C(51)-O(52)-H(52)	115(5)
O(46)-C(45)-N(44)	119.9(4)	C(51)-C(53)-H(53A)	109.5
N(47)-C(45)-N(44)	117.2(3)	C(51)-C(53)-H(53B)	109.5
C(45)-N(47)-H(47A)	124(4)	H(53A)-C(53)-H(53B)	109.5
C(45)-N(47)-H(47B)	117(4)	C(51)-C(53)-H(53C)	109.5
H(47A)-N(47)-H(47B)	119(5)	H(53A)-C(53)-H(53C)	109.5
C(49)-C(48)-C(32)	115.8(3)	H(53B)-C(53)-H(53C)	109.5
C(49)-C(48)-H(48A)	108.3	C(51)-C(54)-H(54A)	109.5
C(32)-C(48)-H(48A)	108.3	C(51)-C(54)-H(54B)	109.5
C(49)-C(48)-H(48B)	108.3	H(54A)-C(54)-H(54B)	109.5
C(32)-C(48)-H(48B)	108.3	C(51)-C(54)-H(54C)	109.5
H(48A)-C(48)-H(48B)	107.4	H(54A)-C(54)-H(54C)	109.5
C(48)-C(49)-C(50)	111.6(3)	H(54B)-C(54)-H(54C)	109.5
C(48)-C(49)-H(49A)	109.3	H(55A)-O(55)-H(55B)	114(5)
C(50)-C(49)-H(49A)	109.3		

Tabla 4.1. Parámetros de desplazamiento anisotrópico [$\text{Å}^2 \times 10^3$] para el compuesto 129.

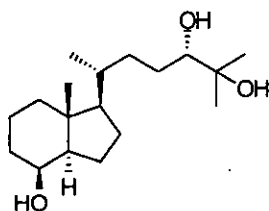
	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
O(1)	92(3)	125(3)	84(2)	-39(2)	28(2)	-35(2)
C(2)	84(3)	89(3)	75(3)	-19(3)	39(3)	-4(3)
C(3)	52(2)	74(3)	69(3)	-1(2)	28(2)	5(2)
C(4)	51(2)	61(2)	62(2)	-4(2)	25(2)	5(2)
C(5)	58(3)	101(4)	73(3)	-4(3)	22(2)	-3(2)
C(6)	82(3)	91(4)	111(4)	24(3)	54(3)	30(3)
C(7)	73(3)	78(3)	97(4)	17(3)	45(3)	26(2)
C(8)	49(2)	66(2)	66(2)	3(2)	23(2)	3(2)
C(9)	62(2)	56(2)	59(2)	0(2)	29(2)	7(2)
C(10)	90(3)	58(2)	80(3)	0(2)	48(3)	11(2)
C(11)	119(5)	70(3)	116(4)	18(3)	80(4)	26(3)
C(12)	95(4)	62(3)	82(3)	2(2)	50(3)	8(2)
N(13)	65(2)	61(2)	67(2)	4(2)	38(2)	11(2)
N(14)	77(2)	53(2)	87(3)	8(2)	55(2)	12(2)
C(15)	78(3)	54(2)	78(3)	5(2)	45(2)	13(2)
O(16)	85(2)	57(2)	103(2)	9(2)	62(2)	14(1)
N(17)	114(4)	53(2)	140(4)	8(2)	91(3)	21(2)
C(18)	69(3)	123(4)	59(3)	-5(3)	22(2)	3(3)
C(19)	76(3)	98(4)	67(3)	10(3)	26(2)	13(3)
C(20)	77(3)	96(3)	54(2)	0(2)	19(2)	24(3)
C(21)	73(3)	79(3)	55(2)	-1(2)	10(2)	11(2)
O(22)	53(2)	92(2)	67(2)	-11(2)	15(2)	9(2)
C(23)	136(6)	87(4)	99(4)	18(3)	38(4)	32(4)
C(24)	87(4)	117(5)	86(4)	-5(3)	-12(3)	-8(3)
O(31)	58(2)	76(2)	56(2)	8(1)	18(1)	29(1)
C(32)	48(2)	63(2)	56(2)	2(2)	20(2)	16(2)
C(33)	38(2)	59(2)	54(2)	-5(2)	14(2)	10(1)
C(34)	46(2)	53(2)	50(2)	-1(2)	17(2)	11(1)
C(35)	42(2)	70(2)	58(2)	-3(2)	12(2)	13(2)
C(36)	59(2)	66(2)	61(2)	-10(2)	26(2)	-2(2)
C(37)	60(2)	60(2)	59(2)	-8(2)	24(2)	3(2)
C(38)	51(2)	58(2)	50(2)	-2(2)	19(2)	11(2)
C(39)	55(2)	56(2)	49(2)	-2(2)	22(2)	12(2)
C(40)	90(3)	55(2)	76(3)	7(2)	46(3)	12(2)
C(41)	85(3)	56(2)	87(3)	-1(2)	47(3)	8(2)
C(42)	72(3)	57(2)	67(2)	7(2)	29(2)	19(2)
N(43)	50(2)	55(2)	56(2)	-4(1)	25(1)	6(1)
N(44)	58(2)	51(2)	66(2)	-3(1)	34(2)	12(1)
C(45)	60(2)	52(2)	57(2)	-1(2)	29(2)	9(2)
O(46)	68(2)	54(2)	80(2)	1(1)	45(2)	11(1)
N(47)	82(3)	50(2)	90(3)	5(2)	52(2)	6(2)
C(48)	45(2)	71(2)	53(2)	-7(2)	14(2)	18(2)
C(49)	45(2)	68(2)	69(2)	-10(2)	14(2)	13(2)

C(50)	45(2)	68(2)	60(2)	-9(2)	8(2)	13(2)
C(51)	44(2)	58(2)	58(2)	-13(2)	7(2)	6(2)
O(52)	50(2)	62(2)	82(2)	-23(2)	0(1)	9(1)
C(53)	73(3)	81(3)	85(3)	-2(3)	36(3)	14(2)
C(54)	48(2)	76(3)	76(3)	-14(2)	-1(2)	11(2)

Tabla 5.1. Coordenadas de los hidrógenos ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para el compuesto 129.

	x	y	z	U(eq)
H(2)	2564	6504	9353	100
H(3)	1469	4208	8390	77
H(5A)	7026	4383	8788	93
H(5B)	7321	6127	8384	93
H(6A)	823	6668	7849	109
H(6B)	2038	7908	8428	109
H(7A)	3402	7942	7276	95
H(7B)	5011	8126	7889	95
H(8)	3373	4817	7186	72
H(10A)	8394	3268	6893	89
H(10B)	6104	2628	6652	89
H(11A)	7871	2601	7928	117
H(11B)	6754	919	7496	117
H(12A)	3529	1943	7681	94
H(12B)	4719	1878	8366	94
H(18A)	4198	4337	9961	101
H(18B)	3972	2997	9327	101
H(19A)	693	4121	10058	95
H(19B)	276	3094	9359	95
H(20A)	1610	518	9708	89
H(20B)	2366	1538	10384	89
H(23A)	840	-1098	10883	157
H(23B)	-239	-2085	10234	157
H(23C)	-1556	-1599	10830	157
H(24A)	-3728	-51	10060	149
H(24B)	-2291	-244	9474	149
H(24C)	-2826	1707	9742	149
H(32)	10363	11233	2722	65
H(33)	11156	9578	3725	60
H(35A)	5567	8987	3255	67
H(35B)	5455	10906	3642	67
H(36A)	11845	12423	4231	75
H(36B)	10633	13221	3647	75
H(37A)	9285	13513	4808	72
H(37B)	7692	13287	4191	72
H(38)	9157	10414	4883	62
H(40A)	4034	8347	5137	86
H(40B)	6301	8063	5377	86
H(41A)	5537	5941	4502	89
H(41B)	4566	7378	4076	89
H(42A)	8861	7341	4391	76
H(42B)	7783	6836	3689	76
H(48A)	8379	7631	2726	67

H(48B)	8727	8642	2089	67
H(49A)	12023	7604	2888	73
H(49B)	12251	8436	2209	73
H(50A)	10290	5796	1695	69
H(50B)	10178	4961	2374	69
H(53A)	15428	5043	1401	118
H(53B)	14701	6947	1644	118
H(53C)	13409	5713	1085	118
H(54A)	13450	4093	2928	102
H(54B)	14820	5872	2786	102
H(54C)	15415	3935	2526	102
H(14)	9540(80)	5360(80)	6340(30)	80(16)
H(22)	10(100)	2090(80)	11160(30)	100(20)
H(47A)	4560(100)	14830(80)	5350(30)	92(17)
H(47B)	2850(90)	15790(90)	5810(30)	92(18)
H(44)	2970(70)	10360(70)	5700(20)	71(14)
H(17A)	8320(130)	9590(110)	6820(40)	140(30)
H(17B)	10080(140)	10750(130)	6360(40)	150(30)
H(55A)	6160(100)	10980(90)	2040(40)	102(19)
H(52)	13280(140)	2080(130)	1730(50)	150(30)
H(55B)	6120(90)	11600(80)	1350(30)	81(15)



165

(8 β ,24S)-Des-A,B-colesta-8,24,25-triol (165).

Estructura de difracción de rayos X (ORTEP) de **165** (elipsoides al 30%).

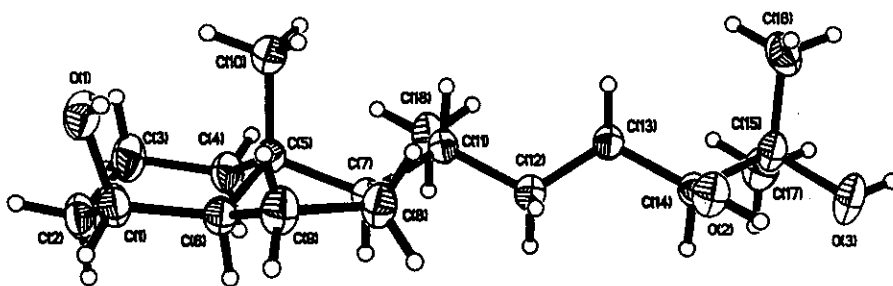


Tabla 1.2. Datos del cristal y refinamiento de la estructura de 165.

Fórmula empírica	$C_{16}H_{34.50}O_{3.25}$
Peso molecular	302.96
Temperatura	298(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	C2
Dimensiones de la celda unidad	a = 13.420(2) Å $\alpha = 90^\circ$ b = 25.633(5) Å $\beta = 117.666(9)^\circ$ c = 12.287(3) Å $\gamma = 90^\circ$
Volumen	3743.5(13) Å ³
Z	8
Densidad (calculada)	1.075 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0.071 mm ⁻¹
F(000)	1348
Tamaño del cristal	0.50 × 0.25 × 0.20 mm ³
Intervalo Θ para la toma de datos	1.59 a 25.01°
Intervalo de los índices	-12 ≤ h ≤ 15, -30 ≤ k ≤ 28, -14 ≤ l ≤ 14
Reflexiones tomadas	7895
Reflexiones Independientes	6078 [$R_{int} = 0.0184$]
Corrección de absorción	Sadabs
Coef. de transmisión máx y mín	1.000000 y 0.802892
Método de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz compleja en F ²
Datos / restricciones / parámetros	6078 / 1 / 385
Goodness-of-fit on F ²	1.065
Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0461$, $wR_2 = 0.1108$
Índices R (todos los datos)	$R_1 = 0.0604$, $wR_2 = 0.1211$
Parámetro absoluto de la estructura	0.39(106)
Densidad electrónica final, cresta y valle	0.121 y -0.224 eÅ ⁻³

Tabla 2.2. Coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para el compuesto 165.

	x	y	z	U(eq)
O(1)	3872 (2)	-2493 (1)	1943 (2)	67 (1)
O(2)	724 (2)	738 (1)	1238 (2)	59 (1)
O(3)	-447 (2)	1453 (1)	1802 (2)	74 (1)
O(4)	-2352 (2)	6361 (1)	1918 (2)	72 (1)
O(5)	225 (1)	3096 (1)	1197 (2)	59 (1)
O(6)	1985 (2)	2436 (1)	1751 (2)	74 (1)
C(1)	2682 (2)	-2493 (1)	1175 (3)	59 (1)
C(2)	2164 (3)	-2894 (1)	1664 (3)	67 (1)
C(3)	2209 (3)	-2724 (1)	2863 (3)	67 (1)
C(4)	1620 (2)	-2197 (1)	2753 (3)	56 (1)
C(5)	2147 (2)	-1769 (1)	2323 (2)	45 (1)
C(6)	2136 (2)	-1963 (1)	1127 (2)	51 (1)
C(7)	1448 (2)	-1261 (1)	1810 (2)	44 (1)
C(8)	1920 (2)	-1038 (1)	979 (2)	58 (1)
C(9)	2464 (3)	-1490 (1)	632 (3)	64 (1)
C(10)	3325 (2)	-1631 (1)	3342 (2)	58 (1)
C(11)	1402 (2)	-847 (1)	2698 (2)	47 (1)
C(12)	717 (2)	-369 (1)	1980 (2)	55 (1)
C(13)	825 (2)	110 (1)	2740 (2)	48 (1)
C(14)	198 (2)	577 (1)	1959 (2)	43 (1)
C(15)	65 (2)	1039 (1)	2685 (2)	52 (1)
C(16)	1178 (3)	1217 (1)	3711 (3)	68 (1)
C(17)	-746 (3)	897 (1)	3175 (3)	69 (1)
C(18)	950 (3)	-1062 (1)	3534 (3)	72 (1)
C(19)	-1597 (2)	6394 (1)	1386 (3)	61 (1)
C(20)	-632 (3)	6749 (1)	2194 (3)	73 (1)
C(21)	103 (3)	6501 (1)	3426 (3)	71 (1)
C(22)	589 (2)	5974 (1)	3318 (3)	60 (1)
C(23)	-343 (2)	5589 (1)	2499 (2)	45 (1)
C(24)	-1109 (2)	5874 (1)	1298 (2)	50 (1)
C(25)	24 (2)	5120 (1)	1973 (2)	44 (1)
C(26)	-1055 (2)	4974 (1)	796 (2)	50 (1)
C(27)	-1866 (2)	5445 (1)	461 (2)	59 (1)
C(28)	-992 (2)	5395 (1)	3173 (2)	57 (1)
C(29)	578 (2)	4642 (1)	2793 (2)	54 (1)
C(30)	829 (2)	4221 (1)	2078 (2)	54 (1)
C(31)	1303 (2)	3712 (1)	2776 (2)	53 (1)
C(32)	1349 (2)	3277 (1)	1966 (2)	47 (1)
C(33)	2121 (2)	2821 (1)	2661 (2)	55 (1)
C(34)	3347 (2)	2995 (1)	3241 (3)	83 (1)
C(35)	1837 (3)	2588 (1)	3608 (3)	76 (1)
C(36)	1636 (3)	4787 (2)	3965 (3)	100 (1)
O(1S)	0	1924 (1)	0	62 (1)

Tabla 3.2. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] para el compuesto 165.

O(1)-C(1)	1.429(3)	C(14)-C(15)	1.542(3)
O(2)-C(14)	1.427(3)	C(15)-C(16)	1.510(4)
O(3)-C(15)	1.443(3)	C(15)-C(17)	1.512(4)
O(4)-C(19)	1.442(3)	C(19)-C(24)	1.510(4)
O(5)-C(32)	1.435(3)	C(19)-C(20)	1.515(4)
O(6)-C(33)	1.437(3)	C(20)-C(21)	1.510(5)
C(1)-C(2)	1.512(4)	C(21)-C(22)	1.531(4)
C(1)-C(6)	1.533(4)	C(22)-C(23)	1.543(4)
C(2)-C(3)	1.510(4)	C(23)-C(24)	1.536(3)
C(3)-C(4)	1.539(4)	C(23)-C(28)	1.538(4)
C(4)-C(5)	1.527(4)	C(23)-C(25)	1.550(3)
C(5)-C(10)	1.534(3)	C(24)-C(27)	1.526(4)
C(5)-C(6)	1.545(4)	C(25)-C(29)	1.540(3)
C(5)-C(7)	1.557(3)	C(25)-C(26)	1.544(3)
C(6)-C(9)	1.509(4)	C(26)-C(27)	1.549(4)
C(7)-C(8)	1.540(4)	C(29)-C(36)	1.526(4)
C(7)-C(11)	1.544(3)	C(29)-C(30)	1.525(4)
C(8)-C(9)	1.532(4)	C(30)-C(31)	1.528(3)
C(11)-C(18)	1.520(4)	C(31)-C(32)	1.517(3)
C(11)-C(12)	1.539(3)	C(32)-C(33)	1.532(4)
C(12)-C(13)	1.509(3)	C(33)-C(35)	1.506(4)
C(13)-C(14)	1.520(3)	C(33)-C(34)	1.525(4)
O(1)-C(1)-C(2)	108.4(2)	C(12)-C(11)-C(7)	110.6(2)
O(1)-C(1)-C(6)	113.2(2)	C(13)-C(12)-C(11)	115.7(2)
C(2)-C(1)-C(6)	108.5(2)	C(12)-C(13)-C(14)	112.6(2)
C(3)-C(2)-C(1)	112.1(2)	O(2)-C(14)-C(13)	109.3(2)
C(2)-C(3)-C(4)	112.4(3)	O(2)-C(14)-C(15)	111.1(2)
C(5)-C(4)-C(3)	111.1(2)	C(13)-C(14)-C(15)	114.7(2)
C(4)-C(5)-C(10)	110.6(2)	O(3)-C(15)-C(16)	110.2(2)
C(4)-C(5)-C(6)	107.3(2)	O(3)-C(15)-C(17)	107.2(2)
C(10)-C(5)-C(6)	113.7(2)	C(16)-C(15)-C(17)	110.9(2)
C(4)-C(5)-C(7)	116.9(2)	O(3)-C(15)-C(14)	105.8(2)
C(10)-C(5)-C(7)	109.6(2)	C(16)-C(15)-C(14)	112.3(2)
C(6)-C(5)-C(7)	98.4(2)	C(17)-C(15)-C(14)	110.1(2)
C(9)-C(6)-C(1)	120.2(2)	O(4)-C(19)-C(24)	113.6(2)
C(9)-C(6)-C(5)	104.5(2)	O(4)-C(19)-C(20)	107.8(2)
C(1)-C(6)-C(5)	117.1(2)	C(24)-C(19)-C(20)	108.0(2)
C(8)-C(7)-C(11)	112.2(2)	C(21)-C(20)-C(19)	111.5(2)
C(8)-C(7)-C(5)	102.9(2)	C(20)-C(21)-C(22)	112.9(3)
C(11)-C(7)-C(5)	120.2(2)	C(21)-C(22)-C(23)	111.9(2)
C(9)-C(8)-C(7)	107.5(2)	C(24)-C(23)-C(28)	112.2(2)
C(6)-C(9)-C(8)	103.2(2)	C(24)-C(23)-C(22)	107.5(2)
C(18)-C(11)-C(12)	110.9(2)	C(28)-C(23)-C(22)	110.3(2)
C(18)-C(11)-C(7)	112.8(2)	C(24)-C(23)-C(25)	99.8(2)

C(28)-C(23)-C(25)	109.9(2)	C(30)-C(29)-C(25)	110.7(2)
C(22)-C(23)-C(25)	116.8(2)	C(29)-C(30)-C(31)	115.2(2)
C(19)-C(24)-C(27)	120.6(2)	C(32)-C(31)-C(30)	113.1(2)
C(19)-C(24)-C(23)	118.1(2)	O(5)-C(32)-C(31)	108.6(2)
C(27)-C(24)-C(23)	104.1(2)	O(5)-C(32)-C(33)	110.7(2)
C(29)-C(25)-C(26)	112.3(2)	C(31)-C(32)-C(33)	114.8(2)
C(29)-C(25)-C(23)	119.7(2)	O(6)-C(33)-C(35)	110.1(2)
C(26)-C(25)-C(23)	103.7(2)	O(6)-C(33)-C(34)	106.5(2)
C(25)-C(26)-C(27)	107.3(2)	C(35)-C(33)-C(34)	111.1(3)
C(24)-C(27)-C(26)	102.6(2)	O(6)-C(33)-C(32)	106.3(2)
C(36)-C(29)-C(30)	111.0(2)	C(35)-C(33)-C(32)	112.6(2)
C(36)-C(29)-C(25)	112.3(2)	C(34)-C(33)-C(32)	110.0(2)

Tabla 4.2. Parámetros de desplazamiento anisotrópico [$\text{Å}^2 \times 10^3$] para el compuesto 165.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
O(1)	60(1)	54(1)	95(1)	3(1)	43(1)	9(1)
O(2)	72(1)	55(1)	59(1)	8(1)	39(1)	11(1)
O(3)	102(2)	53(1)	79(1)	23(1)	52(1)	36(1)
O(4)	66(1)	56(1)	109(2)	12(1)	52(1)	18(1)
O(5)	49(1)	53(1)	62(1)	-3(1)	17(1)	6(1)
O(6)	65(1)	60(1)	83(1)	-25(1)	23(1)	10(1)
C(1)	62(2)	45(2)	72(2)	-10(1)	33(1)	6(1)
C(2)	65(2)	37(1)	100(2)	-10(2)	39(2)	0(1)
C(3)	70(2)	38(2)	105(2)	11(2)	50(2)	1(1)
C(4)	60(2)	42(1)	73(2)	4(1)	36(1)	1(1)
C(5)	41(1)	38(1)	51(1)	-2(1)	18(1)	-1(1)
C(6)	49(1)	44(2)	58(2)	-2(1)	23(1)	4(1)
C(7)	42(1)	36(1)	47(1)	0(1)	14(1)	4(1)
C(8)	72(2)	47(2)	60(2)	8(1)	35(1)	12(1)
C(9)	77(2)	56(2)	69(2)	7(1)	43(2)	13(1)
C(10)	53(2)	48(2)	64(2)	1(1)	20(1)	4(1)
C(11)	53(1)	37(1)	47(1)	-2(1)	19(1)	2(1)
C(12)	60(2)	44(2)	53(2)	-2(1)	19(1)	10(1)
C(13)	54(1)	41(1)	45(1)	0(1)	19(1)	7(1)
C(14)	44(1)	41(1)	43(1)	0(1)	20(1)	5(1)
C(15)	67(2)	42(1)	52(1)	9(1)	33(1)	15(1)
C(16)	89(2)	49(2)	67(2)	-15(1)	37(2)	-4(2)
C(17)	85(2)	68(2)	70(2)	7(2)	49(2)	18(2)
C(18)	101(2)	50(2)	84(2)	2(2)	60(2)	6(2)
C(19)	67(2)	45(2)	81(2)	14(1)	43(2)	14(1)
C(20)	83(2)	35(2)	122(3)	-2(2)	65(2)	3(1)
C(21)	73(2)	49(2)	100(2)	-25(2)	47(2)	-12(1)
C(22)	57(2)	49(2)	71(2)	-15(1)	26(1)	0(1)
C(23)	48(1)	40(1)	49(1)	0(1)	24(1)	5(1)
C(24)	55(1)	42(1)	58(1)	9(1)	31(1)	9(1)
C(25)	49(1)	35(1)	48(1)	1(1)	23(1)	4(1)
C(26)	54(1)	46(1)	48(1)	-4(1)	22(1)	3(1)
C(27)	58(2)	56(2)	50(2)	4(1)	15(1)	13(1)
C(28)	73(2)	51(2)	58(2)	3(1)	38(1)	6(1)
C(29)	66(2)	42(1)	46(1)	1(1)	20(1)	16(1)
C(30)	64(2)	42(1)	53(1)	1(1)	24(1)	11(1)
C(31)	69(2)	41(1)	50(1)	1(1)	27(1)	13(1)
C(32)	45(1)	42(1)	52(1)	-2(1)	20(1)	3(1)
C(33)	50(2)	40(1)	62(2)	-12(1)	15(1)	7(1)
C(34)	54(2)	75(2)	98(2)	-25(2)	18(2)	8(2)
C(35)	87(2)	48(2)	69(2)	14(1)	17(2)	9(2)
C(36)	106(3)	73(2)	66(2)	-13(2)	-6(2)	43(2)
O(1S)	78(2)	45(1)	60(2)	0	29(1)	0

Tabla 5.2. Coordenadas de los hidrógenos ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para el compuesto 36.

	x	y	z	U(eq)
H(1A)	4164(2)	-2277(1)	1687(2)	100
H(2A)	386(2)	990(1)	816(2)	88
H(3A)	-553(2)	1706(1)	2143(2)	111
H(4A)	-2591(2)	6653(1)	1944(2)	108
H(5A)	239(1)	2860(1)	754(2)	88
H(6A)	1331(2)	2335(1)	1411(2)	111
H(1B)	2524(2)	-2593(1)	340(3)	71
H(2B)	1387(3)	-2951(1)	1062(3)	80
H(2C)	2562(3)	-3222(1)	1786(3)	80
H(3B)	2989(3)	-2696(1)	3484(3)	81
H(3C)	1852(3)	-2988(1)	3131(3)	81
H(4B)	828(2)	-2229(1)	2172(3)	68
H(4C)	1678(2)	-2102(1)	3544(3)	68
H(6B)	1337(2)	-2015(1)	556(2)	61
H(7A)	671(2)	-1368(1)	1271(2)	53
H(8A)	1319(2)	-885(1)	246(2)	69
H(8B)	2474(2)	-770(1)	1411(2)	69
H(9A)	2171(3)	-1513(1)	-252(3)	77
H(9B)	3275(3)	-1451(1)	1013(3)	77
H(10A)	3644(2)	-1362(1)	3057(2)	87
H(10B)	3796(2)	-1935(1)	3553(2)	87
H(10C)	3272(2)	-1510(1)	4052(2)	87
H(11A)	2175(2)	-729(1)	3223(2)	57
H(12A)	948(2)	-279(1)	1364(2)	66
H(12B)	-70(2)	-467(1)	1552(2)	66
H(13A)	1615(2)	199(1)	3216(2)	58
H(13B)	534(2)	33(1)	3312(2)	58
H(14A)	-561(2)	457(1)	1387(2)	51
H(16A)	1679(3)	1305(1)	3380(3)	102
H(16B)	1502(3)	942(1)	4302(3)	102
H(16C)	1061(3)	1518(1)	4102(3)	102
H(17A)	-1447(3)	785(1)	2508(3)	104
H(17B)	-873(3)	1196(1)	3563(3)	104
H(17C)	-433(3)	620(1)	3763(3)	104
H(18A)	1389(3)	-1359(1)	3972(3)	108
H(18B)	179(3)	-1165(1)	3049(3)	108
H(18C)	995(3)	-798(1)	4110(3)	108
H(19A)	-1997(2)	6547(1)	563(3)	73
H(20A)	-181(3)	6825(1)	1784(3)	88
H(20B)	-930(3)	7075(1)	2317(3)	88
H(21A)	-336(3)	6452(1)	3861(3)	85
H(21B)	718(3)	6736(1)	3908(3)	85
H(22A)	1014(2)	5825(1)	4130(3)	73

H(22B)	1101 (2)	6028(1)	2973 (3)	73
H(24A)	-609 (2)	5960(1)	944 (2)	60
H(25A)	561 (2)	5254(1)	1710(2)	52
H(26A)	-1401 (2)	4666(1)	939(2)	60
H(26B)	-878 (2)	4900(1)	131(2)	60
H(27A)	-2160 (2)	5539(1)	-398(2)	70
H(27B)	-2489 (2)	5373(1)	633(2)	70
H(28A)	-484 (2)	5219(1)	3915(2)	86
H(28B)	-1570 (2)	5157(1)	2653(2)	86
H(28C)	-1328 (2)	5686(1)	3371(2)	86
H(29A)	36(2)	4496(1)	3038(2)	64
H(30A)	1363(2)	4360(1)	1826(2)	65
H(30B)	140(2)	4143(1)	1338(2)	65
H(31A)	2056(2)	3776(1)	3432(2)	64
H(31B)	840(2)	3601(1)	3149(2)	64
H(32A)	1631(2)	3426(1)	1428(2)	56
H(34A)	3507(2)	3141(1)	2619(3)	124
H(34B)	3828(2)	2700(1)	3609(3)	124
H(34C)	3478(2)	3253(1)	3859(3)	124
H(35A)	1062(3)	2482(1)	3221(3)	113
H(35B)	1958(3)	2844(1)	4229(3)	113
H(35C)	2308(3)	2291(1)	3979(3)	113
H(36A)	1457(3)	5052(2)	4399(3)	150
H(36B)	2196(3)	4917(2)	3756(3)	150
H(36C)	1919(3)	4484(2)	4477(3)	150
H(1SA)	206	1757(1)	-559	326(53)

Tabla 6.2. Ángulos de torsión [°] para el compuesto 165.

O(1)-C(1)-C(2)-C(3)	70.8(3)	O(4)-C(19)-C(20)-C(21)	68.7(3)
C(6)-C(1)-C(2)-C(3)	-52.5(3)	C(24)-C(19)-C(20)-C(21)	-54.4(3)
C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	57.4(3)	C(19)-C(20)-C(21)-C(22)	57.5(3)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-58.4(3)	C(20)-C(21)-C(22)-C(23)	-55.5(3)
C(3)-C(4)-C(5)-C(10)	-70.7(3)	C(21)-C(22)-C(23)-C(24)	49.9(3)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	53.7(3)	C(21)-C(22)-C(23)-C(28)	-72.6(3)
C(3)-C(4)-C(5)-C(7)	162.9(2)	C(21)-C(22)-C(23)-C(25)	161.0(2)
O(1)-C(1)-C(6)-C(9)	61.6(3)	O(4)-C(19)-C(24)-C(27)	65.4(3)
C(2)-C(1)-C(6)-C(9)	-178.0(2)	C(20)-C(19)-C(24)-C(27)	-175.1(2)
O(1)-C(1)-C(6)-C(5)	-66.9(3)	O(4)-C(19)-C(24)-C(23)	-64.1(3)
C(2)-C(1)-C(6)-C(5)	53.5(3)	C(20)-C(19)-C(24)-C(23)	55.3(3)
C(4)-C(5)-C(6)-C(9)	170.0(2)	C(28)-C(23)-C(24)-C(19)	68.3(3)
C(10)-C(5)-C(6)-C(9)	-67.5(3)	C(22)-C(23)-C(24)-C(19)	-53.0(3)
C(7)-C(5)-C(6)-C(9)	48.3(2)	C(25)-C(23)-C(24)-C(19)	-175.4(2)
C(4)-C(5)-C(6)-C(1)	-54.3(3)	C(28)-C(23)-C(24)-C(27)	-68.5(3)
C(10)-C(5)-C(6)-C(1)	68.2(3)	C(22)-C(23)-C(24)-C(27)	170.2(2)
C(7)-C(5)-C(6)-C(1)	-176.0(2)	C(25)-C(23)-C(24)-C(27)	47.8(2)
C(4)-C(5)-C(7)-C(8)	-156.0(2)	C(24)-C(23)-C(25)-C(29)	-165.0(2)
C(10)-C(5)-C(7)-C(8)	77.2(2)	C(28)-C(23)-C(25)-C(29)	-47.0(3)
C(6)-C(5)-C(7)-C(8)	-41.8(2)	C(22)-C(23)-C(25)-C(29)	79.5(3)
C(4)-C(5)-C(7)-C(11)	78.4(3)	C(24)-C(23)-C(25)-C(26)	-39.0(2)
C(10)-C(5)-C(7)-C(11)	-48.4(3)	C(28)-C(23)-C(25)-C(26)	79.0(2)
C(6)-C(5)-C(7)-C(11)	-167.3(2)	C(22)-C(23)-C(25)-C(26)	-154.4(2)
C(11)-C(7)-C(8)-C(9)	152.6(2)	C(29)-C(25)-C(26)-C(27)	147.8(2)
C(5)-C(7)-C(8)-C(9)	22.0(3)	C(23)-C(25)-C(26)-C(27)	17.2(3)
C(1)-C(6)-C(9)-C(8)	-169.2(2)	C(19)-C(24)-C(27)-C(26)	-172.6(2)
C(5)-C(6)-C(9)-C(8)	-35.3(3)	C(23)-C(24)-C(27)-C(26)	-37.2(3)
C(7)-C(8)-C(9)-C(6)	7.8(3)	C(25)-C(26)-C(27)-C(24)	11.9(3)
C(8)-C(7)-C(11)-C(18)	-179.4(2)	C(26)-C(25)-C(29)-C(36)	-179.2(3)
C(5)-C(7)-C(11)-C(18)	-58.4(3)	C(23)-C(25)-C(29)-C(36)	-57.3(3)
C(8)-C(7)-C(11)-C(12)	55.8(3)	C(26)-C(25)-C(29)-C(30)	56.1(3)
C(5)-C(7)-C(11)-C(12)	176.8(2)	C(23)-C(25)-C(29)-C(30)	178.0(2)
C(18)-C(11)-C(12)-C(13)	67.4(3)	C(36)-C(29)-C(30)-C(31)	58.9(4)
C(7)-C(11)-C(12)-C(13)	-166.7(2)	C(25)-C(29)-C(30)-C(31)	-175.7(2)
C(11)-C(12)-C(13)-C(14)	175.6(2)	C(29)-C(30)-C(31)-C(32)	170.0(2)
C(12)-C(13)-C(14)-O(2)	-66.8(3)	C(30)-C(31)-C(32)-O(5)	-73.0(3)
C(12)-C(13)-C(14)-C(15)	167.6(2)	C(30)-C(31)-C(32)-C(33)	162.6(2)
O(2)-C(14)-C(15)-O(3)	49.9(3)	O(5)-C(32)-C(33)-O(6)	52.4(3)
C(13)-C(14)-C(15)-O(3)	174.6(2)	C(31)-C(32)-C(33)-O(6)	175.8(2)
O(2)-C(14)-C(15)-C(16)	-70.4(3)	O(5)-C(32)-C(33)-C(35)	-68.2(3)
C(13)-C(14)-C(15)-C(16)	54.2(3)	C(31)-C(32)-C(33)-C(35)	55.2(3)
O(2)-C(14)-C(15)-C(17)	165.5(2)	O(5)-C(32)-C(33)-C(34)	167.3(2)
C(13)-C(14)-C(15)-C(17)	-69.9(3)	C(31)-C(32)-C(33)-C(34)	-69.3(3)

HAC LUCE

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700744293