

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE VOMEROFERINAS DERIVADAS
DE LA SERIE DEL 1,3,5-Estratrien-3-ol-17-ona

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA

PRESENTA
CATALINA VALERIA VILLAMIL SAPIÉN

México, D. F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Dra. Rocío Pozas Horcasitas

Vocal: Dr. Gustavo García de la Mora

Secretaria: Q. Ernestina Cervera Flores

1er. Sup.: Q. Irene Sara Audelo Méndez

2do. Sup.: Q. Rosa Isela del Villar Morales

Sitio donde se desarrollo el tema:
Laboratorio 206 Departamento de Química Orgánica
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Química

Asesor:

Dr. Gustavo García de la Mora

Supervisor Técnico:

Q. Ivonne Grillasca Rangel

Sustentante:

Catalina Valeria Villamil Sapién

A mi madre por su cariño,
paciencia y por enseñarme que hay que intentarlo una
y otra vez hasta conseguir lo que quieres.

A mi Fily por ser mi mejor amiga
desde que naciste.

A Ehecatl gracias por tu apoyo, cariño
y por alegrar mis días con tu presencia.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Gustavo García de la Mora por permitirme trabajar en su laboratorio.

Agradezco a la Q. Ivonne Grillasca Rangel por la asesoría técnica de este trabajo.

Gracias a la Q. Alejandrina Acosta Huerta y a la Q. Irene Audelo Méndez por la realización de los espectros de RMN-¹H.

A mis amigos: Luis, Adriana, Gina, Gonzo, Paulo y Oscar por nuestros momentos juntos.

A Carlos F. (Goizeko), Osmany, Carlos O., Marcela, Lizeth, Jimena, Pablo, Antonio, Miguel, Eréndira, Ricardo y Armando.

A Bety y Karina.

A mi gran familia González.

A Bony y Camilo.

INDICE

Introducción	1
Antecedentes	4
Parte Experimental	18
Discusión de Resultados	29
Conclusiones	48
Bibliografía	49

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el ser humano ha padecido diversos trastornos derivados de su modo de vida actual. Dichos trastornos del estado anímico son provocados por factores como el estrés y se manifiestan en diversas formas como ansiedad, falta de apetito o sueño y desequilibrios hormonales, entre muchos otros. El tratamiento de estos padecimientos se ha realizado de manera sistemática por la ingestión o inyección de diversos fármacos con el objetivo de generar la concentración deseada de medicamento en el torrente sanguíneo y obtener el efecto terapéutico deseado. Sin embargo, estas formas de administración del fármaco pueden tener efectos secundarios y en algunos casos llegar a ser tóxicos debido a las altas concentraciones que se pueden alcanzar después de un tiempo prolongado de uso.

Por ello, una alternativa para lograr un efecto terapéutico de los fármacos sin que presenten efectos secundarios significativos o un malestar al paciente, la representa el empleo de compuestos conocidos como Vomeroferinas (*"Vomeroferins"* VMPS). Estas sustancias envían mensajes químicos al hipotálamo por medio del órgano vomeronasal (VNO) utilizando una red nerviosa específica.¹

En el caso de los seres humanos, las vomeroferinas actúan sobre los receptores del órgano vomeronasal, que son un par de estructuras cónicas bilaterales localizadas en las fosas nasales. Este tipo de compuestos proviene en

su gran mayoría de modificaciones de hormonas naturales para una aplicación específica².

La acción de estos compuestos se encuentra bajo estudio, pero se infiere que debido a su volatilidad, son capaces de alcanzar al órgano vomeronasal a manera de una feromona. Estos compuestos se definen como señales químicas que se transportan a través del aire, liberadas por un individuo y que puede afectar el comportamiento o la fisiología de otros miembros de la especie que se trate. Debido a esto, la mayoría de las vomeropherinas sintetizadas que se conocen tienen la estructura básica de un esteroide, en particular de esqueletos de Oestrano (A), Androstano (B) y Progestano (C). (Figura 1)

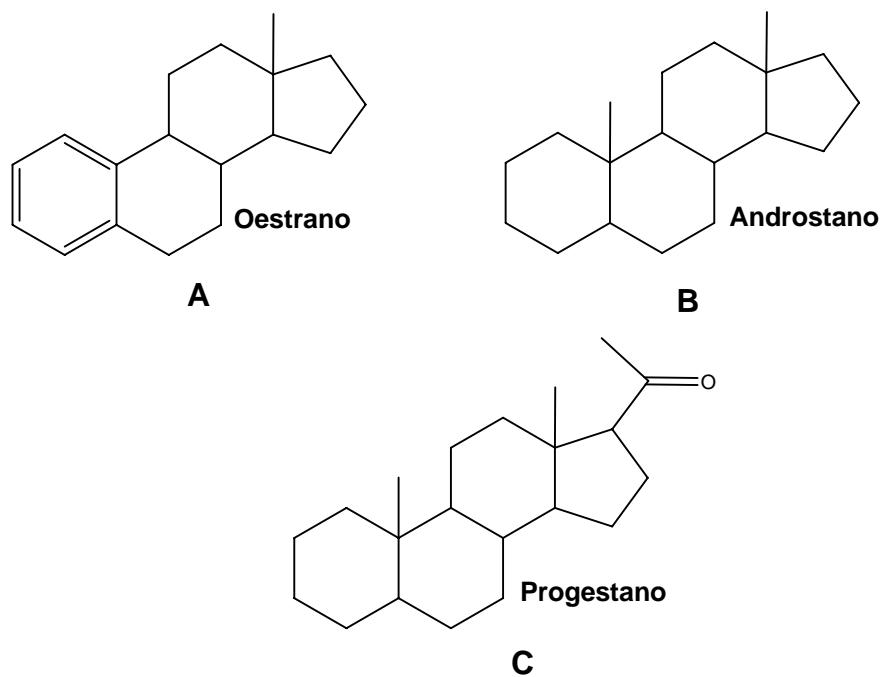


Figura 1

En la actualidad, industrias como *Pherin Pharmaceuticals* han desarrollado una serie de compuestos esteroidales a manera de vomeropherinas, que se encuentran bajo patente.³

Teniendo lo anterior en cuenta, esta tesis presenta algunas modificaciones realizadas sobre la estructura de un esqueleto de Oestrano **(A)**, en particular la Estrona **(1)**. El objetivo es obtener un compuesto con un ciclopropano en el anillo D puesto que algunas vomeropherinas con epóxido en las posiciones 16 y 17 son activas; los grupos ciclopropano, debido a su carácter menos polar, harían más volátil al compuesto frente a la sustitución con grupos epóxido u oxirano. Además, se evaluarán los rendimientos y selectividad en los procedimientos sintéticos realizados.

ANTECEDENTES

▪ I Generalidades sobre feromonas, vomeropherinas y órgano vomeronasal

Las feromonas son sustancias excretadas por organismos vivos y detectadas por otros organismos de la misma especie produciendo cambios específicos de comportamiento en éstos. Por ello, estos compuestos generan un mecanismo de comunicación conocido como *comunicación intraespecífica entre los individuos*. Un ejemplo de este mecanismo lo constituyen las feromonas sexuales (atracción macho–hembra), las feromonas de alerta (alertas sobre predadores naturales) y las feromonas de rastreo y marca (demarcación de territorio, camino a una fuente de alimento) entre otras.⁴

Existe otro tipo compuestos que generan *comunicación interespecífica* (entre individuos de distintas especies) los cuales no se consideran como feromonas. A ellos se les conoce como *aleloquímicos* y ejemplos de ellos son aquellos compuestos empleados para la defensa de la especie, sustancias percibidas por depredadores especializados en una presa, etcétera.

Las feromonas relacionadas a la atracción sexual despertaron la curiosidad de muchas personas en distintas áreas del conocimiento, lo que llevó al aislamiento y caracterización de la primera feromona sexual de un insecto en la década de 1950. En el trabajo realizado a lo largo de mucho años (empleando para ello miles de insectos), se lograron obtener unos cuantos miligramos de una feromona de la mariposa del gusano de seda, *Bombix mori*, caracterizada como el

(10*E*, 12*Z*)-hexadeca-10,12-dien-1-ol conocido como Bombicol (**D**) y que es utilizada por la mariposa hembra para atraer al macho. (**Figura 2**)

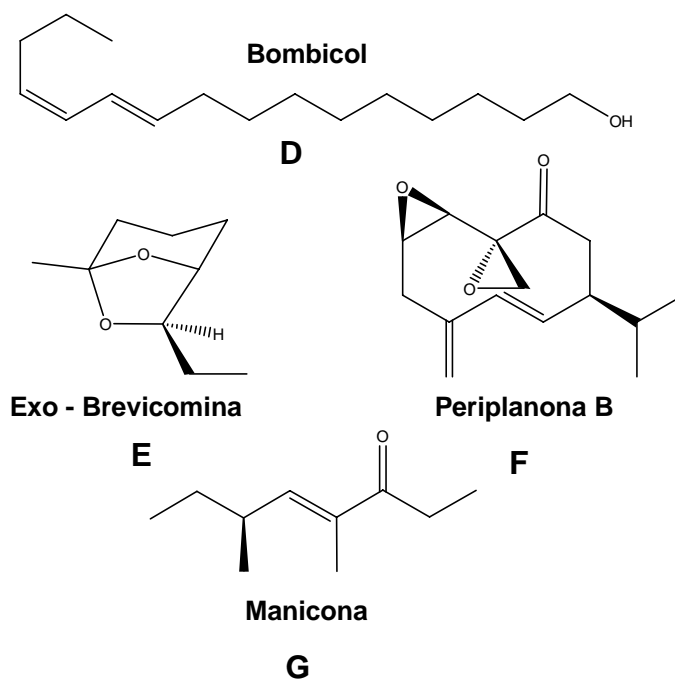


Figura 2

A mediados de la década de 1960 se comenzaron a aislar y caracterizar las primeras feromonas quirales, como es el caso del acetal bicíclico de la Exo-Brevicono (**E**) aislado de la cigarra *Dendroctonus brevicomis* y otros más complejos en sus funcionalidades como la Periplanona B (**F**) aislada de un tipo de cucaracha. El caso de la Periplanona B (**F**) fue muy ilustrativo para determinar la sensibilidad presentada por los insectos a la actividad de una feromona; ya que cantidades ínfimas de esta feromona (del orden de picogramos) fueron suficientes para atraer insectos a varios centenares de metros de distancia.⁵

De estudios similares se pudo aislar a la Manicono (**G**) de las mandíbulas de la hormiga *Myrmica rubida*; esta feromona es utilizada por la hormiga como una señal de alarma para la defensa de la colonia ante un agente externo,

convirtiéndose en una de las primeras feromonas no sexuales aisladas. En estudios más recientes, se han aislado compuestos similares a la Manicona (**G**) con técnicas de laboratorio a pequeña escala y caracterizadas por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas.

La manera en que son detectados estos compuestos por otros miembros de la especie, se da sobre la base de dos sistemas específicos y que son anatómicamente distintos. Uno es el sistema olfativo y otro es el sistema vomeronasal (VNO).^{6,7}

Es conocido que los animales tienen un órgano vomeronasal que responde a feromonas intraespecíficas; es por ello que el órgano vomeronasal es un quimiorreceptor y la base de la comunicación química empleando las feromonas que utilizan los animales. Las terminales nerviosas receptoras vomeronasales se encuentran en el epitelio sensorial del VNO. La alta sensibilidad y selectividad debida a señales químicas esta dada por proteínas en esa superficie. Estas terminales nerviosas recubren una cavidad de la cápsula ósea que rodea al VNO, por lo que se abre un conducto en el piso de la cavidad nasal como la única vía de entrada a los estímulos químicos.^{6,8}

En los mamíferos, el órgano vomeronasal está localizado dentro de una protuberancia en la cavidad nasal. Las neuronas sensoras vomeronasales están situadas en un epitelio sensorial parecido al epitelio olfativo pero es independiente de éste, recubriendo una cavidad dentro de la cápsula ósea que encierra al órgano. Un conducto estrecho hacia el piso de la cavidad nasal justo dentro de la nariz es el único acceso para los estímulos químicos⁹. En el caso de animales más grandes, el acceso de los estímulos químicos es un ducto hacia el canal naso

palatino. Este canal conecta las cavidades nasal y bucal para que dicho estímulo pueda alcanzar el órgano vomeronasal desde la nariz o la boca¹⁰. (Figura 3)

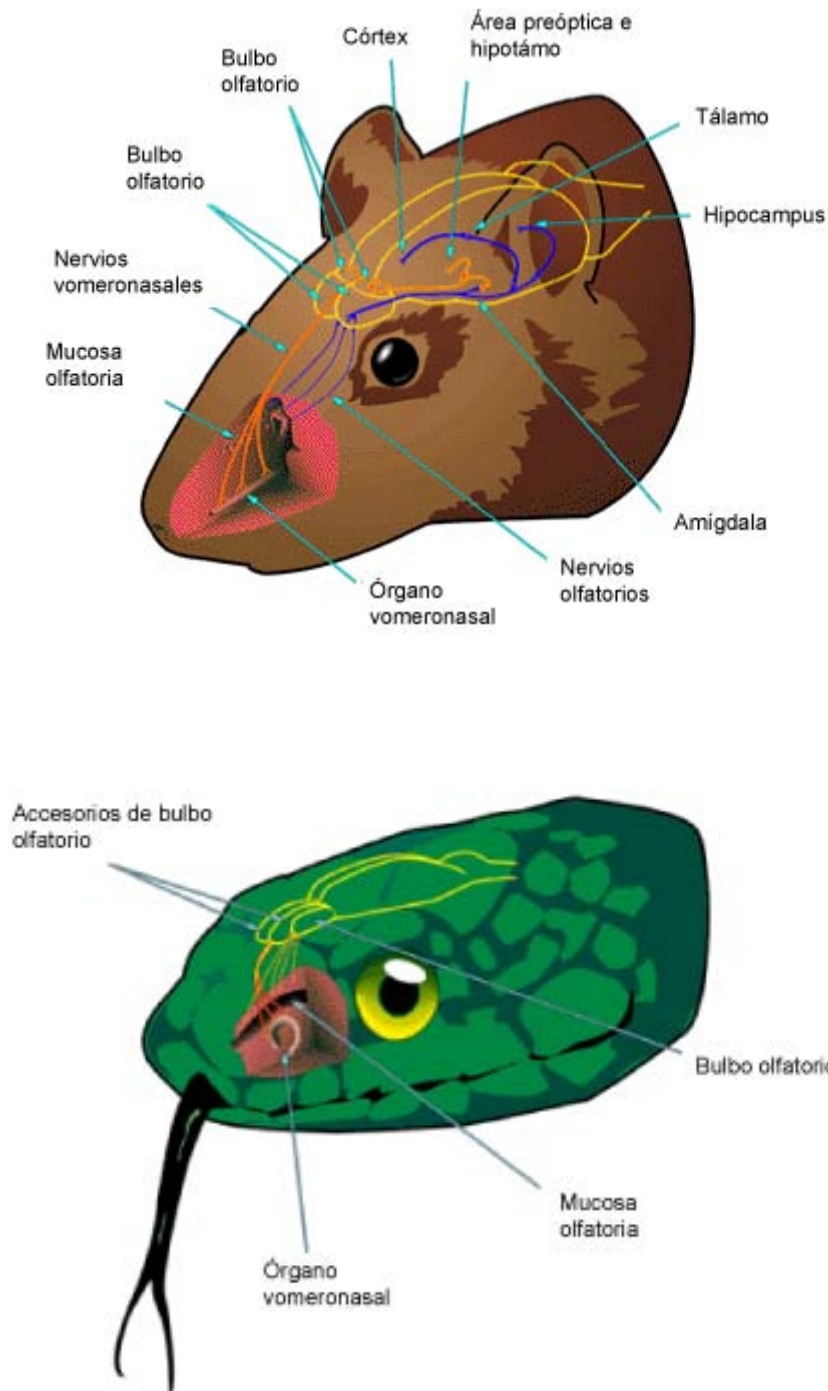


Figura 3

Un caso particular del órgano vomeronasal es el de los reptiles, también llamado *órgano de Jacobson*. En este caso, el órgano está relacionado a estímulos químicos sexuales, sociales y de cacería. El órgano está situado en el paladar por debajo de la cavidad nasal pero, a diferencia de los mamíferos, éste solo opera de manera oral. Los estímulos químicos son recogidos por la lengua bífida y transportados por ésta hacia los conductos vomeronasales. **(Figura 3)** El acceso a estos conductos es a través de dos ranuras en la parte superior de la boca, las cuales son alcanzadas por las puntas de la lengua para depositar en los conductos vomeronasales las moléculas recogidas. En este proceso no está involucrado un mecanismo de bomba vascular para acceder a los receptores del estímulo químico, mecanismo presente en los mamíferos.¹¹

En el caso de los humanos, el órgano vomeronasal fue descrito hace mucho tiempo pero sus funciones permanecieron desconocidas. En la década de 1930 fue descrito como un órgano sin funciones y remanente de los ancestros de la especie. A principios de la década de 1990, se demostró que el órgano vomeronasal existía en ambos lados de la nariz, tanto en hombres como en mujeres y se demostró que es fisiológicamente distinto al sistema olfativo presentando actividad para determinados compuestos químicos. Además se demostró que se encuentra conectado al cerebro por redes neuronales.

El órgano vomeronasal humano presenta varias diferencias respecto al VNO del resto de los mamíferos. No hay una protuberancia apreciable en el septo nasal que indique su posición, sin embargo un ducto puede ser visto por medio de un endoscopio en la parte anterior de la cavidad nasal. Además, el órgano vomeronasal humano no presenta la cápsula ni los grandes vasos sanguíneos que

son característicos en el resto de los mamíferos. Los bulbos olfativos en los cuales las terminales nerviosas vomeronasales están proyectadas en los mamíferos, no están presentes o no han logrado ser identificadas en el humano o en los grandes simios.⁹

Además de las diferencias estructurales, el órgano vomeronasal humano no tiene epitelio sensorial grueso, pero si cuenta con células que han sido descritas como neuronas receptoras bipolares. La localización y estructura sugieren que el órgano vomeronasal humano puede ser estimulado por compuestos con cierta volatilidad, en lugar de compuestos disueltos en la mucosidad. (**Figura 4**)

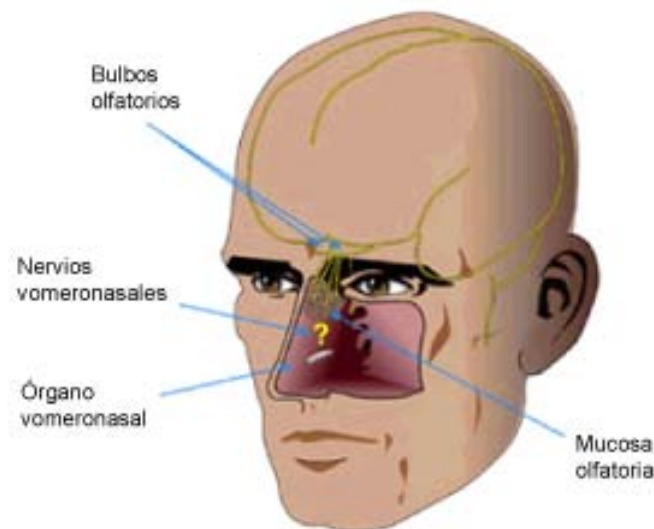


Figura 4

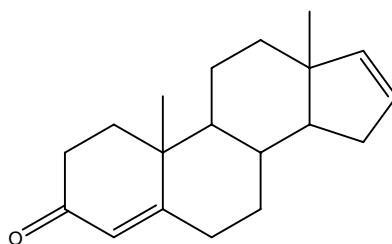
Existen estudios sobre los efectos que presentan ciertas sustancias químicas utilizadas como fijadores en perfumes y algunas feromonas que se conocen como atractores de tipo sexual sobre el epitelio olfativo y el órgano vomeronasal. De ellos, se ha demostrado que la comunicación del órgano vomeronasal involucra la detección de moléculas grandes de baja polaridad y que

se requiere del contacto para la estimulación. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre el VNO se han realizado en mamíferos animales y no en el hombre.

Un ejemplo de esto lo constituyen los estudios sobre las neuronas receptoras del VNO a la feromonas en los roedores, en particular el ratón. Dichas neuronas son muy sensibles a bajas concentraciones de compuestos propuestos como las feromonas de la especie y solo responden a concentraciones muy elevadas de otro tipo de sustancias. Este tipo de sensibilidad también es característico de las neuronas receptoras de feromonas en los insectos.

Se ha demostrado que los seres humanos pueden intercambiar información a través de feromonas, lo cual ha sido comprobado en estudios acerca de la sincronización de los ciclos hormonales de ovulación, mediante la medida del tiempo de duración del periodo menstrual con respecto a los ciclos de ovulación. Dicha sincronización ha sido explicada por la presencia de feromonas identificadas como *folicular* y *ovulatoria*. La feromona folicular es liberada en la última parte del ciclo menstrual acelerando la fase preovulatoria donde la progesterona acorta el ciclo. En la ovulación, la feromona ovulatoria se libera en la zona axilar de las mujeres causando un retardo de la liberación de progesterona por lo que el ciclo menstrual se alarga.

Entre algunas de las primeras feromonas estudiadas se encuentra la Androst-4,16-dien-3-ona (estructura **H** de la **Figura 5**) que fue identificada en la piel del hombre.



Androst-4,16-dien-3-ona

H

Figura 5

Dado que las vomeropherinas son compuestos bajo patente sometidos a intensos estudios para encontrar algún efecto terapéutico, la alternativa de dar una aplicación de los compuestos sintetizados aprovecha la propiedad de que su dosificación es de cantidades muy pequeñas; por ello, se pueden explorar las características de compuestos derivados de la Estrona.¹²

En la **Figura 6** se presenta la ruta metabólica de síntesis de la Estrona (**1**) a partir de la Pregnenolona (**I**), que es un neuroesteroide derivado del metabolismo del colesterol.¹³

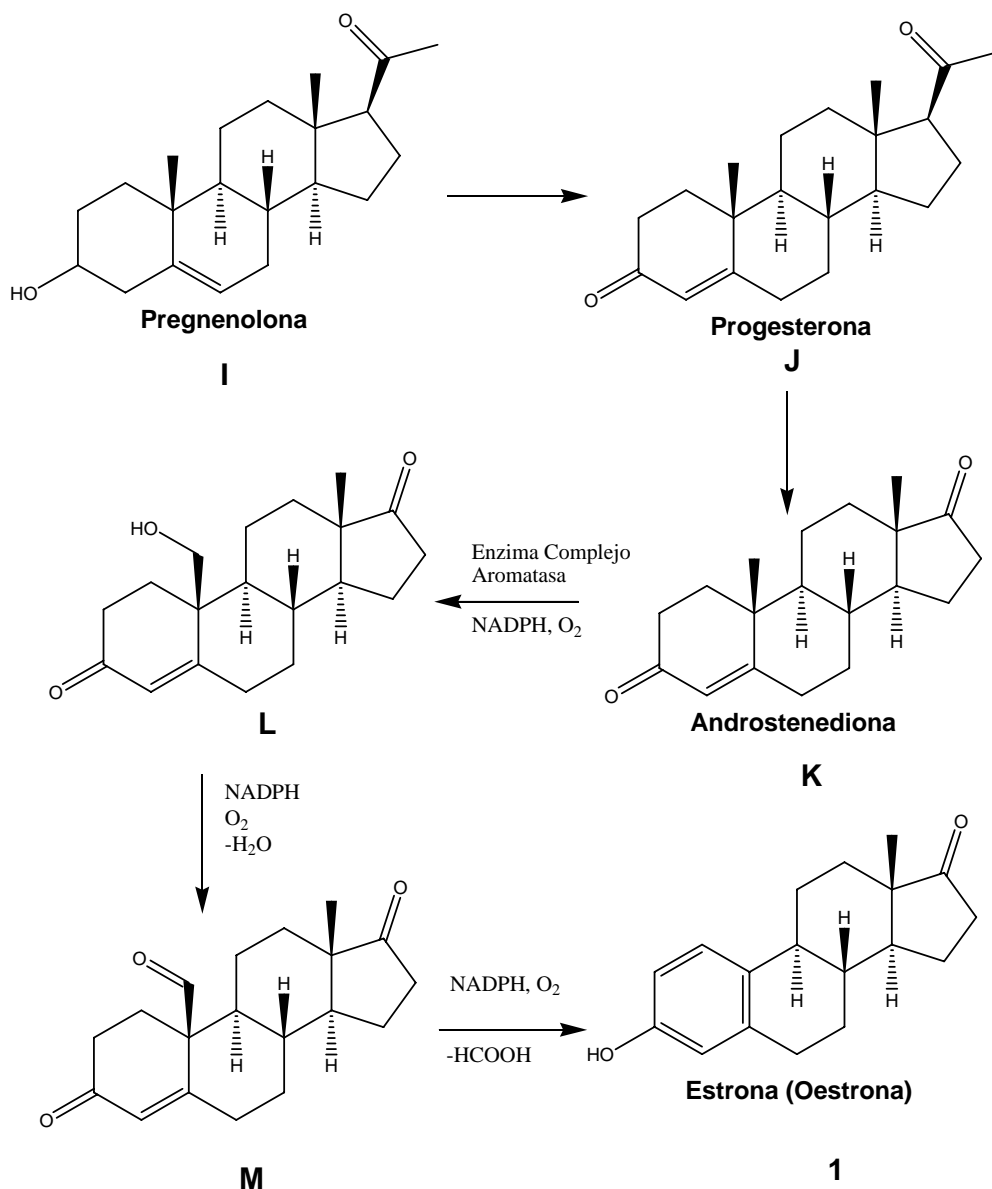


Figura 6

▪ II Generalidades sobre las reacciones efectuadas

La Estrona (**1**) presenta 3 grupos funcionales fundamentales para llevar a cabo transformaciones en su esqueleto esteroide: el alcohol en la posición 3 (particularmente un fenol), el grupo carbonilo en la posición 16 y el anillo aromático en el anillo A del esteroide.

De estos grupos funcionales, sin duda el grupo carbonilo es el que mayor número de transformaciones potenciales tiene. Sobre él se pueden hacer adiciones de nucleófilos, generación de enolatos, formación de dobles ligaduras, oxidaciones y reducciones, entre muchas otras. Cabe señalar que las reacciones de los carbonilos son muy importantes desde el punto de vista biológico.

De las reacciones de adición de nucleófilos a grupos carbonilo, aquellos que tienen presente nitrógeno en su estructura son unos de los más importantes. La generación de iminas se da en presencia de catálisis ácida y es un proceso reversible¹⁴. (**Figura 7**)

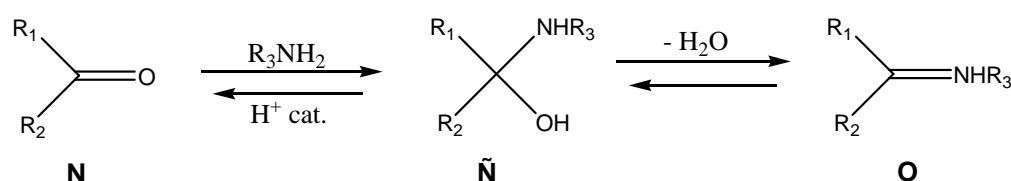


Figura 7

Sin embargo, las iminas en ciertas condiciones son especies que se pueden hidrolizar con mucha facilidad y son más reactivas que el correspondiente compuesto carbonílico ante un ataque nucleofílico, debido a la basicidad del átomo de nitrógeno en el grupo funcional que hace más electrofílico al carbono del carbonilo.¹⁵

De la misma manera se pueden utilizar como nucleófilos a otros derivados del amoniac. Muchos de ellos se comenzaron a utilizar como una forma de identificación de los compuestos carbonílicos correspondientes. Estos compuestos también presentan propiedades básicas por lo que en medio ácido forman sales que fueron utilizadas como otro medio de identificación. Sin embargo, de acuerdo al tipo de derivado de amoniac que se utilice, la hidrólisis del compuesto para

regenerar al compuesto carbonílico puede ser llevada a cabo de manera más sencilla o no.

Algunos de los derivados que se pueden formar se muestran a continuación

(Figura 8):

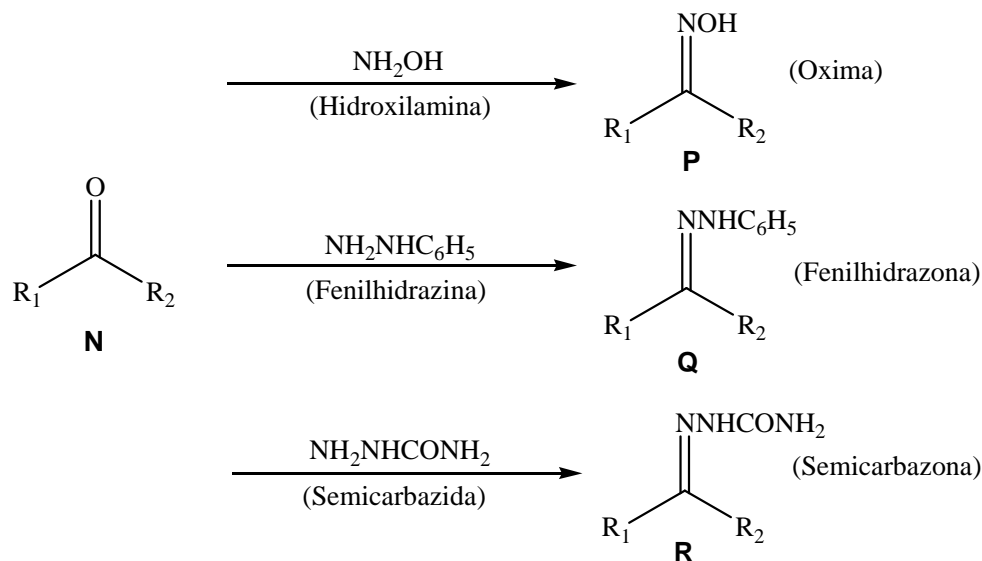


Figura 8

Estos compuestos ya no se ocupan para identificación de compuestos de carbonílicos, pero se emplean en reacciones con un alto valor sintético. Dos de las aplicaciones más importantes de estos compuestos son:

- como ligantes del tipo base de Schiff en complejos metálicos
- como intermediarios en la desoxigenación del grupo carbonilo.

En la desoxigenación del grupo carbonilo, se emplea hidrazina para generar la correspondiente hidrazona y posteriormente en medio básico (NaOH o KOH) convertir al carbonilo en un metileno. A esta transformación se le conoce como la reacción de Wolf-Kishner¹⁶: (Figura 9)

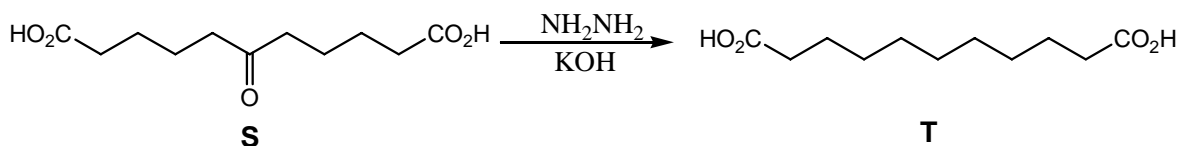


Figura 9

La síntesis de sulfonilhidrazonas presenta otra alternativa de desoxigenación de carbonilos hasta un grupo metileno utilizando LiAlH_4 o NaBH_4 .¹⁷ **(Figura 10)** En el caso de compuestos carbonílicos α,β -insaturados, el empleo de NaBH_3CN genera al alqueno entre el carbono originario del carbonilo y el átomo de carbono en la posición α .

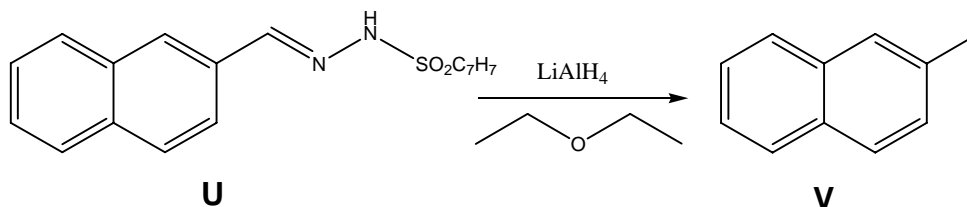


Figura 10

Las sulfonilhidrazonas pueden ser empleadas como intermediarios en la desoxigenación de carbonilos para generar alquenos. En presencia de bases como NaOCH_3 , LiH , NaH , $\text{NaOCH}_2\text{CH}_3$, NaNH_2 o Na , una *p*-toluensulfonilhidrazona es convertida en el alqueno¹⁸ en lo que se conoce como la reacción de Bamford–Stevens. Una modificación a esta reacción consiste en el empleo de bases muy fuertes como alquilaluminados, dialquilamidos de litio o reactivos de Grignard, los cuales también generan al alqueno en lo que se conoce como la reacción de Shapiro: **(Figura 11)**

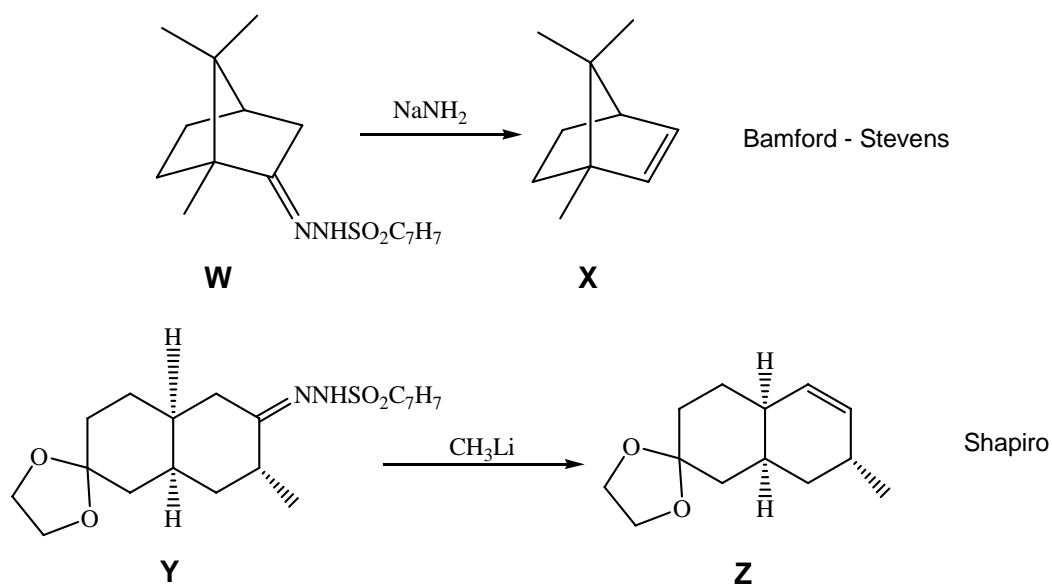


Figura 11

La diferencia entre ambas reacciones radica en el tipo de base. Así mientras que la reacción de Bamford–Stevens genera las olefinas más sustituidas (productos termodinámicos), la reacción de Shapiro produce olefinas menos sustituidas (productos cinéticos). Ambas reacciones comparten un mecanismo de reacción similar. **(Figura 12)**

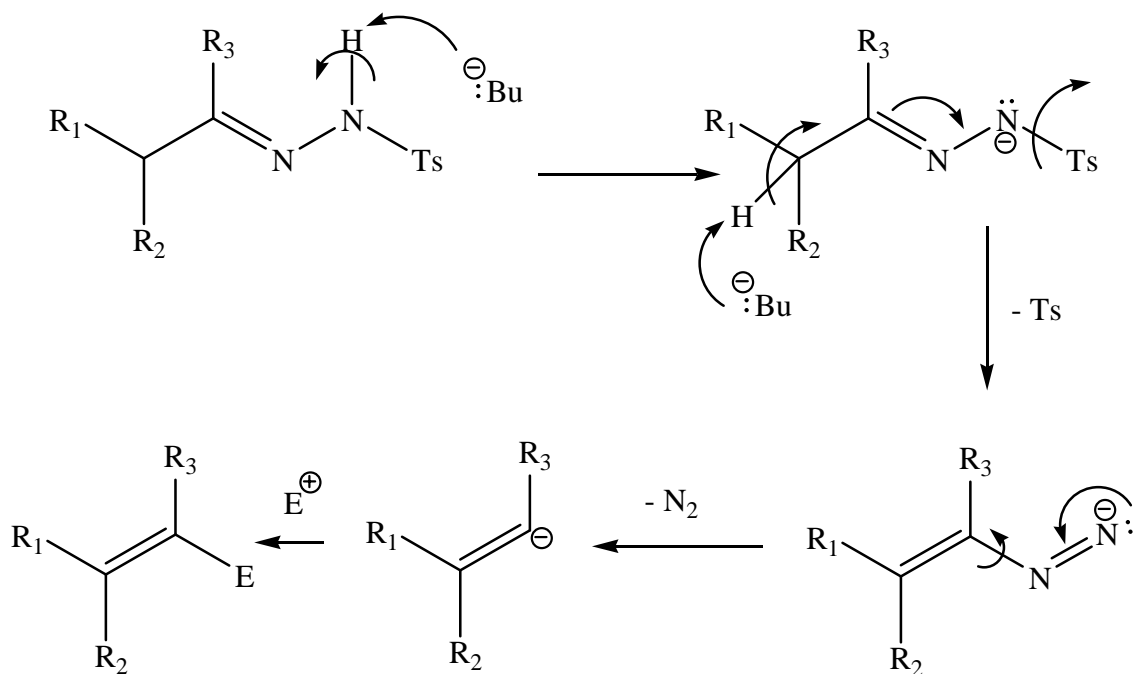


Figura 12

Las reacciones de Bamford–Stevens y de Shapiro son de especial utilidad cuando se trata de cetonas cíclicas, aunque se han probado en sistemas alifáticos con éxito.¹⁹

PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos reportados en esta tesis son todos de grado Reactivo Analítico (R. A.), marca Aldrich®. Las columnas cromatográficas “flash” o relámpago fueron efectuadas con sílica gel de tamaño de poro 0.040–0.063 mm. La pureza de los productos y el avance las reacciones fue seguido por cromatografía en capa fina, usando como reveladores una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y una lámpara de rayos UV.

En el caso de reactivos y disolventes que necesitaron de algún tipo de purificación, ésta, se llevó a cabo de acuerdo a lo indicado en la literatura.

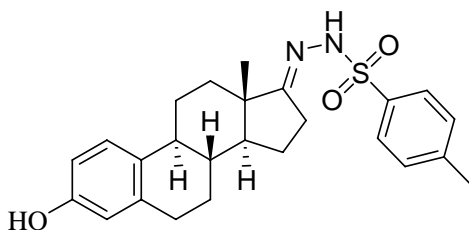
Los espectros de infrarrojo (IR) fueron determinados en pastilla de KBr, solución de cloroformo o película en un espectrofotómetro FTIR 1605 de Perkin Elmer. Los experimentos de espectrometría de masas (EM) fueron realizados en un aparato JEOL SX–102A de doble sector y geometría inversa mediante las técnicas de impacto electrónico y/o ionización química. En algunos casos se describe el ion molecular y los fragmentos más importantes.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C se obtuvieron en un espectrómetro Varian UNITY 300 en el Instituto de Química de la UNAM. Los desplazamientos químicos de los espectros están reportados en partes por millón (ppm) respecto al tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento están reportadas en Hertz (Hz).

▪ **I Obtención del éter metílico del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol**

Ruta de síntesis A

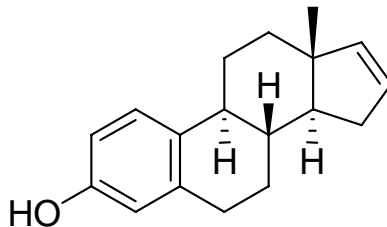
Obtención de la *p*-toluensulfonilhidrazona de Estrona (Oestrone):



2

En un matraz bola con 150mL de metanol seco, se agregaron la Estrona (**1**) (10 g, 37 mmol) y la *p*-toluensulfonilhidrazina (8.628 g, 46.3 mmol) bajo agitación constante y calentamiento a reflujo. La mezcla de reacción es heterogénea a manera de una suspensión y la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de 24 horas de reacción, ya no se observó presencia de Estrona (**1**) en cromatografía en capa fina por lo que se suspendió el calentamiento. La mezcla de reacción se filtró al vacío obteniendo unos cristales blancos (**Sólido II**) que fueron lavados con metanol. Se destiló el disolvente de las aguas madres a la mitad observando la precipitación de un sólido que se filtró al vacío y se lavó con metanol (**Sólido III**). Las aguas madres resultantes se evaporaron y el residuo se sometió a cromatografía en una columna de 2 cm de diámetro y 15 cm de altura, utilizando como eluyente una mezcla de Hexano-Acetato de etilo en polaridad creciente. A una polaridad de 6:4 Hexano-Acetato de etilo, se obtuvo un producto que, comparándolo son los **sólidos II** y **III** en cromatografía en capa fina presentan el mismo R_f . En total, se obtuvieron 15.848 g (97.82%) de un sólido color blanco.

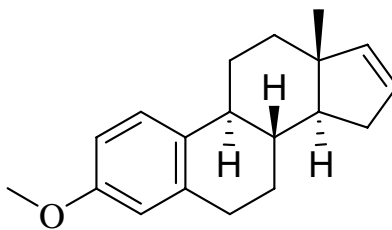
Obtención de Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol:



3

En un matraz bola de 3 bocas se colocó la *p*-toluensulfonilhidrazona de la Estrona (**2**) (2.5 g, 5.6 mmol) y 90 mL de THF seco y destilado. En una boca se adaptó una llave para mantener una atmósfera inerte (Argón) y en las otras dos se colocaron septums. El matraz se colocó en un baño de hielo-sal durante 10 minutos hasta enfriar por completo. (T= -5° C) Utilizando una jeringa de vidrio, se inyectó *n*-hexillitio (10.37 mL, 17 mmol) gota a gota durante 15 minutos. Finalizada la adición, se agitó durante 1 hora para posteriormente, retirar el baño de hielo hasta que la mezcla alcanzó la temperatura ambiente. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina hasta la desaparición de la materia prima. Después de 24 horas de reacción, se agregaron 100 mL de agua a la mezcla y se fue agregando una solución de HCl al 10% hasta llegar a pH neutro. El producto presente en la fase acuosa se extrajo con Acetato de etilo, se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró sobre algodón. Después de destilar la totalidad del disolvente a presión reducida, la mezcla se sometió a cromatografía en una columna de 2 cm de diámetro y 10 cm de altura, empleando como eluyente una mezcla de Hexano-Acetato de etilo en polaridad creciente. A una polaridad de 8:2 Hexano-Acetato de etilo se obtuvieron 8 fracciones de donde se pudo obtener 0.985 g (67.9%) de un sólido color blanco opaco.

Obtención del éter metílico del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol:

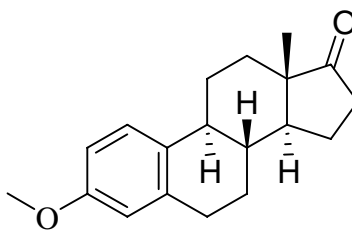


4

En un matraz bola se agregaron 18 mL de una mezcla THF-DMSO 1:1, KOH molido (0.232 g, 4.1 mmol) y Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (**3**) (0.60 g, 2.36 mmol). Esta mezcla se mantuvo bajo agitación vigorosa durante 15 minutos. Mientras tanto, en un embudo de adición se mezclaron CH₃I (0.30 mL, 0.684 mmol) y 6 mL de una mezcla THF-DMSO 1:1. El CH₃I se añadió a la mezcla Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol-KOH gota a gota durante 30 minutos para, posteriormente, continuar con la agitación durante 1 hora más. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina hasta la desaparición del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (**3**). Una vez terminada la reacción, se agregaron 10 mL de agua bajo agitación y la mezcla de reacción se vertió sobre agua. Se agregó HCl hasta obtener un pH de 6, observando la precipitación de un sólido blanco. La mezcla se extrajo con acetato de etilo en dos porciones de 25 mL cada una. Se reunieron las fases orgánicas, secando con sulfato de sodio anhidro y se destiló el disolvente a presión reducida hasta eliminarlo. Se obtuvieron 0.397 g (62%) de un sólido color amarillo muy claro.

- **Ruta de Síntesis B**

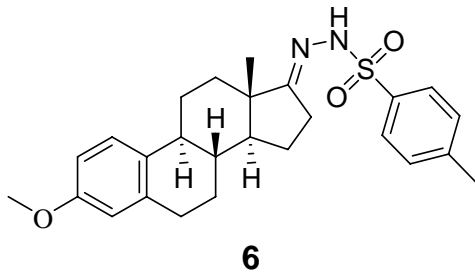
Obtención del éter metílico de la Estrona (Oestrona):



5

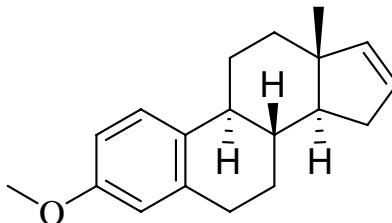
En un matraz bola se agregaron 75 mL de una mezcla THF–DMSO 1:1, KOH molido (1.82 g, 32 mmol) y Estrona (**1**) (5 g, 18.5 mmol). Esta mezcla se mantuvo bajo agitación vigorosa durante 15 minutos. Mientras tanto, en un embudo de adición se mezclaron CH₃I (2.15 mL, 4.9 mmol) y 25 mL de una mezcla THF–DMSO 1:1. El CH₃I se añadió a la mezcla Estrona–KOH gota a gota durante 30 minutos para, posteriormente, continuar con la agitación durante 1 hora más. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina hasta la desaparición de la Estrona. Una vez terminada la reacción, se agregaron 15 mL de agua bajo agitación para diluir la mezcla y parte del CH₃I restante. La mezcla de reacción se vertió sobre agua para precipitar un sólido de color blanco, el cual se filtra y lava con agua y una mezcla agua–acetona. Después de 24 horas de secado al vacío, se obtuvieron 5.156 g (98.17%) de un sólido de color blanco.

Obtención de la *p*-toluensulfonilhidrazona de la metoxiestrona:



En un matraz bola con 200mL de metanol seco, se agregaron la Metoxiestrona (**5**) (10g, 35.2mmol) y la *p*-toluensulfonilhidrazina (8.216g, 44.1mmol) bajo agitación constante y calentamiento a reflujo. La mezcla de reacción es heterogénea a manera de una suspensión y la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de 45 horas de reacción ya no se observó presencia de Metoxiestrona (**5**) en cromatografía en capa fina por lo que se suspendió el calentamiento manteniendo la agitación durante una hora. La mezcla de reacción se filtró al vacío obteniendo unos cristales blancos (**Sólido I**) que fueron lavados con metanol. A las aguas madres se les destiló el disolvente y se les sometió a cromatografía en una columna de 2 cm de diámetro y 15 cm de altura; la mezcla fue soportada en sal y se utilizó como eluyente una mezcla de Hexano–Acetato de etilo en polaridad creciente. A una polaridad de 7:3 Hexano–Acetato de etilo, se obtuvo un producto que en cromatografía en capa fina concuerda con el llamado **Sólido I**. En total, se obtuvieron 15.576 g (97.86%) de un sólido color blanco.

Obtención de Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter:

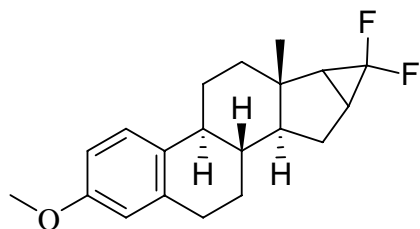


4

En un matraz bola de 3 bocas se colocó la *p*-toluensulfonilhidrazona de la metoxiestrona (**6**) (2.5 g, 5.53 mmol) y 90 mL de THF seco y destilado. En una boca se adaptó una llave para mantener una atmósfera inerte (Argón) y en las otras dos se colocaron septums. El matraz se colocó en un baño de hielo-sal durante 10 minutos hasta enfriar por completo. Utilizando una jeringa de vidrio, se inyectó *n*-hexillitio (7 mL, 11.5 mmol) gota a gota durante 15 minutos. Finalizada la adición, se agitó durante 1 hora para, posteriormente, retirar el baño de hielo hasta que alcanzó la temperatura ambiente. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina hasta la desaparición de la materia prima. Después de 24 horas de reacción, se agregaron 100 mL de agua a la mezcla y se fue agregando HCl al 10% hasta llegar a un pH de 7. El producto en la fase acuosa se extrajo con Acetato de etilo, se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró sobre algodón. Después de destilar la totalidad del disolvente a presión reducida, se obtuvieron 1.082 g (73%) de un sólido color blanco.

- **II Adición de carbenos al éter metílico del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol**

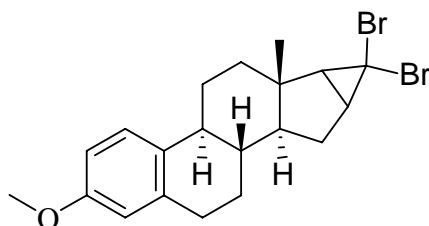
Obtención de



7

En un matraz bola se colocó al Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter (**4**) (0.1g, 0.35mmol) en 50 mL de 2-metoxietil éter (Diglima) destilado y seco, esta mezcla se calentó a reflujo bajo agitación. Mediante goteo se agregó una solución de clorodifluoroacetato de sodio (0.23 g, 1.76 mmol) en 100 mL de Diglima para, posteriormente, agitar durante 6 horas. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Al cabo de 6 horas de reacción se observa en cromatografía en capa fina una mezcla de alrededor de 7 productos incluyendo a la materia prima.

Obtención de:

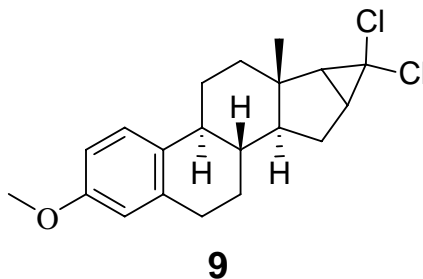


8

En un matraz bola se colocó el Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter (**4**) (0.2 g, 0.7 mmol) cloruro de trietilbencilamonio (0.01 g aproximadamente) y bromoformo (0.81 mL, 0.04 mmol) en 15 mL de diclorometano anhidro. A esta

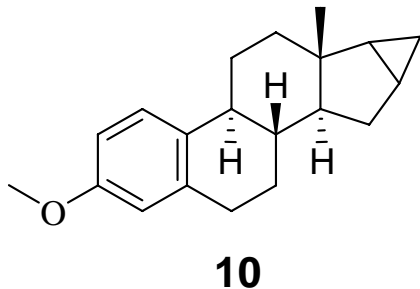
mezcla en agitación se añadieron 2 mL de una solución al 40% de NaOH. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina hasta desaparecer la materia prima. Se obtiene una mezcla compleja de productos de la cual no fue posible separar un compuesto puro.

Obtención de



En un matraz bola se colocó al Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter (**4**) (0.2 g, 0.7 mmol) en 50 mL de 2-metoxietil éter (Diglima) destilado y seco, calentando esta mezcla a reflujo bajo agitación. Mediante goteo se agregó una solución de tricloroacetato de sodio (0.55 g, 2.96 mmol) en 100 mL de Diglima para posteriormente, agitar durante 8 horas. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Al cabo de 8 horas de reacción se observa en cromatografía en capa fina una mezcla compleja de productos recuperando a la materia prima en alta proporción.

Obtención de:



Reacción 1

En un matraz bola colocado en un baño de hielo seco-acetona, se colocaron 5 mL de CH_2Cl_2 seco y destilado bajo atmósfera inerte (Nitrógeno). Se inyectaron etilenglicol dimetil ether (DME, 0.2 mL) y dietilzinc (3.58 mL, 35 mmol) bajo agitación. Después de 10 minutos, se inyectó CH_2I_2 (2.31 mL, 7.4 mmol) gota a gota durante 5 minutos hasta terminar, por lo que se dejó agitar por 15 minutos. Terminado el tiempo se inyectó el Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter (**4**) (0.2 g, 0.7 mmol) disuelto en 10 mL de CH_2Cl_2 por goteo. Pasados 20 minutos se retiró el baño de hielo seco-acetona siguiendo la reacción por cromatografía en capa fina durante 16 horas. Se obtiene una mezcla compleja de productos, de la cual no es posible separar un compuesto puro.

Reacción 2

En un matraz bola colocado en un baño de hielo seco-acetona, se colocaron 5 mL de CH_2Cl_2 seco y destilado bajo atmósfera inerte (Nitrógeno). Se inyectaron etilenglicol dimetil ether (DME, 0.2 mL) y dietilzinc (5.73 mL, 25.7 mmol) bajo agitación. Después de 10 minutos, se inyectó CH_2I_2 (2.31 mL, 7.4 mmol) gota a gota durante 10 minutos hasta terminar, por lo que se dejó agitar por 15 minutos. Terminado el tiempo se inyectó el Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter (0.2 g,

0.7 mmol) disuelto en CH_2Cl_2 por goteo durante 5 minutos. Terminado el tiempo de adición, la reacción se comienza a seguir por cromatografía en capa fina observando que después de 10 minutos de reacción ya no hay materia prima en la mezcla de reacción y se observan al menos 6 manchas en la placa cromatográfica. Se añade una solución de NH_4Cl al 10% y se deja agita por unos minutos. Se evaporo el CH_2Cl_2 de la mezcla y se agregó acetato de etilo realizando una extracción por triplicado, las fases orgánicas se reúnen secándose con Na_2SO_4 y evaporándolas a presión reducida. La mezcla fue soportada en sal y sometida a cromatografía en una columna de 1 cm de diámetro y 12 cm de altura, y se utilizó como eluyente una mezcla de Hexano–Acetato de etilo en polaridad creciente. Se lograron purificar al menos dos compuestos que lograron ser identificados como el producto de ciclopropanación deseado (19 mg, 7.6%), y el compuesto de dimetilación (92 mg) del anillo aromático A del Oestra–1,3,5(10),16–tetraenil metil éter.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La primera parte de este trabajo consistió en la síntesis del Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter. Para ello se consideraron dos rutas cuyas diferencias son sutiles. La primera de ellas se muestra a continuación: **(Figura 13)**

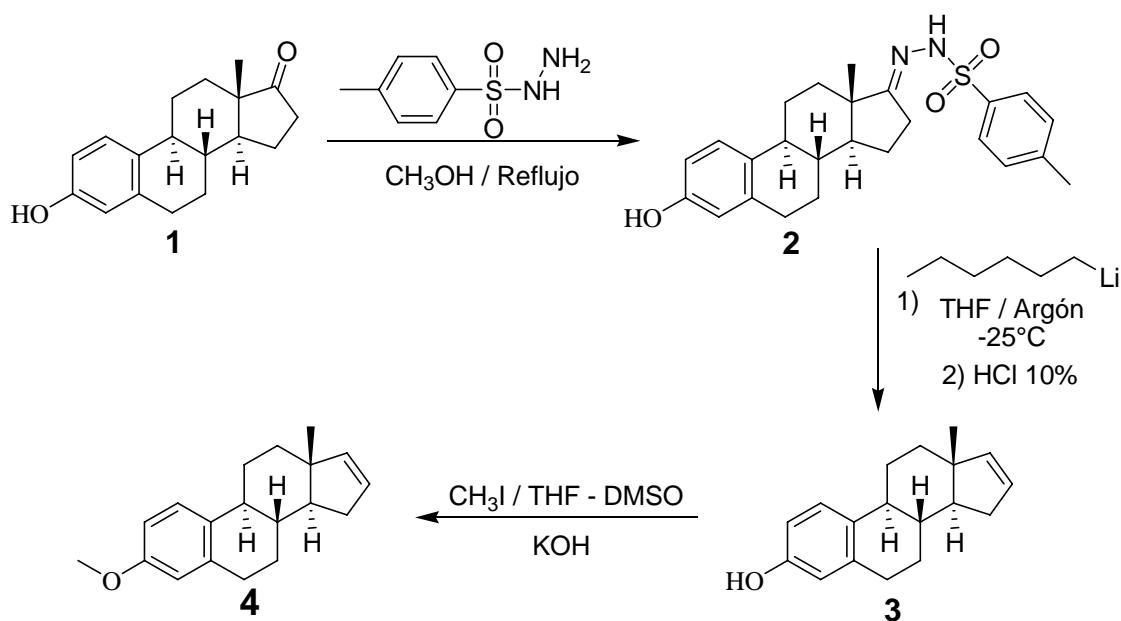


Figura 13

La primera reacción es una adición nucleofílica del átomo de nitrógeno de la *p*-toluenesulfonylhidrazina al átomo de carbono de la cetona presente en el anillo D de la Estrona generando la *p*-toluenesulfonylhidrazona correspondiente. En el caso de la síntesis de iminas, en presencia de agua la reacción es reversible, por lo que la generación de una imina se tiene que efectuar retirando el agua con malla molecular o con una trampa de Dean–Starr. Las hidrazonas son compuestos difíciles de hidrolizar que además poseen otro átomo de nitrógeno que puede comportarse como una base, por lo que pueden formar sales. La gran mayoría de

las hidrazonas son insolubles en los disolventes orgánicos o parcialmente solubles en disolventes polares por lo que su generación está favorecida al precipitar el producto de la mezcla de reacción. En el caso de la estrona, el producto de reacción precipita y se puede purificar al resto por cromatografía obteniendo al producto, un sólido color blanco, en un buen rendimiento de 97.82% con un punto de fusión mayor a 200° C (descompone). La *p*-toluensulfonilhidrazona de Estrona (2) pudo caracterizarse de manera satisfactoria por técnicas espectroscópicas. En el espectro de Infrarrojo (IR), el compuesto presenta una señal intensa y fina en 3664 cm⁻¹ correspondientes a la vibración del enlace N-H de la hidrazona. En 3410 cm⁻¹ se observa una señal intensa y ancha correspondiente a la vibración O-H del fenol en la posición 3 del anillo aromático A del esteroide. En la zona comprendida entre 3100 y 2900 cm⁻¹ se encuentran las señales correspondientes a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H aromáticos y alifáticos del compuesto. En 1630 cm⁻¹ se observa una señal intensa y fina correspondiente a la vibración del enlace doble C-N de la hidrazona. El enlace doble S-O de la sulfonilhidrazona se observa como una señal fina de intensidad media en 1120 cm⁻¹.

En el caso de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), se obtuvieron los espectros correspondientes para ¹H y ¹³C. El espectro de RMN-¹H muestra en 7.6 ppm las dos señales correspondientes para un sistema aromático 1,4-disustituido cada una de ellas integrando para dos hidrógenos por lo que estas señales se pueden asignar al anillo aromático de la *p*-toluensulfonilhidrazona. En la misma zona se observan las señales de los protones del anillo aromático A del esteroide, en 7.2 ppm se observa una señal doble cuya integral es uno y que corresponde al

protón de la posición 1 con una constante de acoplamiento (J) de 8.4 Hz con el protón *orto* en la posición 2; en 6.71 ppm se observa una señal doble de doble cuya integral es uno y que se asigna al protón en la posición 2 con $J = 8.4$ y 2.2 Hz debidas a los acoplamientos *orto* y *meta* con los protones en las posiciones 1 y 4 respectivamente. En 6.3 ppm, se observa una señal doble que integra para un protón y que se asigna al átomo de hidrógeno en la posición 4 con una $J = 2.2$ Hz debido al acoplamiento *meta* con el protón de la posición 2. En 2.88 ppm se observa una señal múltiple que integra para dos protones la cual se puede asignar al metileno de la posición 5 que se encuentra unido al anillo aromático A del esteroide. En 2.42 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones que se asigna al grupo metilo del grupo *p*-toluensulfonilo. En 1.68 ppm se observa una señal simple ancha que integra para 2 protones, ésta, desaparece al agregar D_2O a la muestra por lo que dicha señal es asignada a los protones de los grupos O-H y N-H presentes en la molécula. Los protones de los anillos B, C y D se encuentran dentro de la zona comprendida entre 1 y 2.4 ppm. En 0.98 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y que se asigna al grupo metilo unido a la posición 13.

En el espectro de RMN- ^{13}C se observan las señales correspondientes al enlace doble C-N en 171.5 ppm; el átomo de carbono aromático de la posición 3 en 157.5 ppm; las señales de los carbonos aromáticos no protonados del anillo A y del grupo *p*-toluensulfonilo se encuentran en 143.8, 137.7, 135.4 y 132.1 ppm. Las señales de los carbonos protonados del grupo *p*-toluensulfonilo se encuentran en 129.3 y 128.1 ppm y los átomos de carbono de las posiciones 1, 2 y 4 del anillo A se encuentran en 126.2, 113.8 y 111.5 ppm respectivamente. Entre 52 y 25 ppm

se encuentran las señales correspondientes a los átomos de carbono de los anillos B, C y D del esteroide. En 21.6 y 16.8 ppm se encuentran los átomos de carbono correspondientes a los grupos metilo de la molécula.

Una vez caracterizado el producto, la siguiente reacción efectuada fue la eliminación de la hidrazona en medio básico. La base fuerte utilizada fue *n*-hexillitio; debido a que este compuesto es la base conjugada de un ácido con un pKa muy alto, reacciona con rapidez y de manera violenta con el agua. Por ello la reacción se realiza con disolventes secos y en una atmósfera inerte para evitar la humedad del aire. El disolvente elegido fue Tetrahidrofurano (THF) que se secó por medio de destilación con sodio metálico y benzofenona. En este caso se utilizan al menos tres equivalentes de la base debido a que existen dos protones más ácidos en la molécula correspondientes a los grupos O-H en la posición 3 y N-H de la hidrazona. **(Figura 14)**

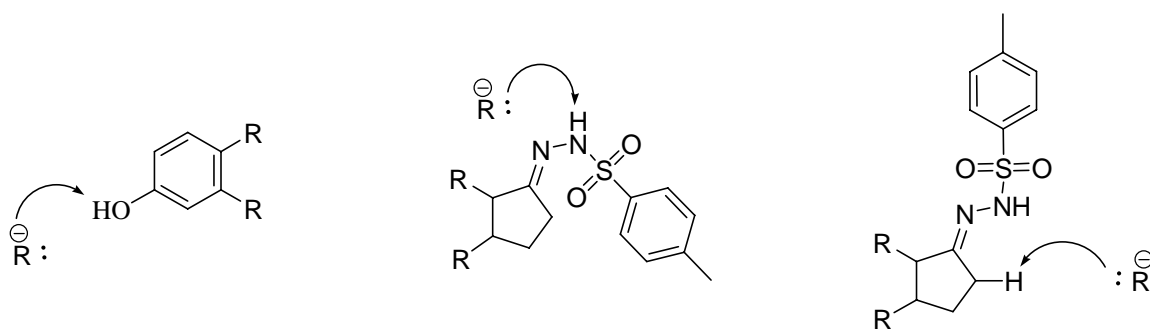


Figura 14

Una vez que la materia prima se consumió, se agrega el HCl al 10% para neutralizar las cargas negativas en la mezcla de reacción. Dicha mezcla presenta varios compuestos en cromatografía en capa fina, sin embargo se puede obtener y purificar un compuesto mayoritario en la forma de un sólido blanco (67.9%) con un

punto de fusión de 46 a 48° C y que se logró identificar como el compuesto deseado por medio de métodos espectroscópicos.

En el espectro de Infrarrojo (IR), se observa una señal ancha e intensa en 3305 cm^{-1} ; se observan varias señales en la zona comprendida entre 3040 y 2800 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H aromáticos y alifáticos del compuesto. La vibración del enlace simple C-O se puede observar como una señal de intensidad media en 1243 cm^{-1} .

El espectro de RMN- ^1H muestra las señales de los protones del anillo A aromático del esteroide: en 7.25 ppm se observa una señal doble cuya integral es uno y que corresponde al protón de la posición 1 con una constante de acoplamiento (J) de 8.7 Hz debido al protón *orto* en la posición 2; en 6.75 ppm se observa una señal doble de doble cuya integral es uno y que se asigna al protón en la posición 2 con $J = 8.7$ debida al acoplamiento con el protón en la posición 1. La constante de acoplamiento con el protón *meta* en la posición 4 no se pudo determinar en el espectro; y, en 6.68 ppm, se observa una señal doble que integra para un protón y que se asigna al átomo de hidrógeno en la posición 4. No fue posible calcular la constante de acoplamiento *meta* con el protón de la posición 2 a partir de los datos en el espectro. En 5.9 y 5.78 ppm se observan dos señales anchas que, por su desplazamiento químico, pertenecen a protones unidos a una doble ligadura. Dicha señales integran para un protón cada una por lo que se asignan a los átomos de hidrógeno del enlace doble formado entre las posiciones 16 y 17.

En 2.8 ppm se observa una señal múltiple que integra para dos protones, la cual se puede asignar al metileno de la posición 5 que se encuentra unido al anillo

aromático A del esteroide. En 2.4 ppm se observa una señal simple ancha que integra para 1 protón y que desaparece al agregar D₂O a la muestra por lo que dicha señal es asignada al protón del grupo O-H en la posición 3. Los protones de los anillos B, C y D se encuentran dentro de la zona comprendida entre 1.2 y 2.4 ppm. En 0.86 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y que se asigna al grupo metilo unido a la posición 13.

En el espectro de RMN-¹³C se observa la señal correspondiente al átomo de carbono aromático de la posición 3 en 157.35 ppm; las señales de los carbonos aromáticos no protonados del anillo A se encuentran en 137.7 y 135.4 ppm. Las señales de los carbonos de la doble ligadura formada se encuentran en 129.22 y 125.98 ppm y los átomos de carbono de las posiciones 1, 2 y 4 del anillo A se encuentran en 143.9, 113.71 y 111.31 ppm respectivamente. Entre 49 y 26 ppm se encuentran las señales correspondientes a los átomos de carbono de los anillo B, C y D del esteroide. En 17.05 ppm se encuentra el átomo de carbono correspondiente al grupo metilo unido a la posición 13.

La reacción de formación del éter metílico del alcohol en la posición 3 se realizó con una reacción de Williamson. Al agregar la base, en este caso el hidróxido de potasio, se forma el correspondiente fenolato; éste ataca nucleofílicamente al átomo de carbono electrofílico del yoduro de metilo. **(Figura 15)**

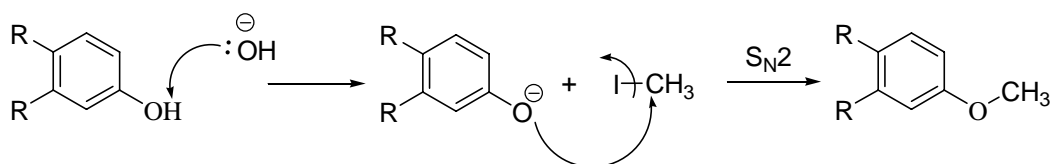


Figura 15

La reacción se siguió utilizando cromatografía en capa fina, hasta ver desaparecer la materia prima. Se agregó agua a la mezcla para destruir parcialmente el yoduro de metilo sin reaccionar, a la vez que diluye al DMSO empleado como disolvente. La posterior extracción y purificación dan como resultado un sólido de color amarillo (62%) con un punto de fusión de 58–59° C identificado como el éter metílico del Oestra–1,3,5(10),16–tetraen–3–ol por técnicas espectroscópicas.

En el espectro de Infrarrojo (IR), se observan varias señales en la zona comprendida entre 3100 y 2890 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H aromáticos y alifáticos del compuesto. La vibración del enlace simple C-O se puede observar como una señal de intensidad media en 1210 cm^{-1} .

El espectro de RMN- ^1H muestra las señales de los protones del anillo aromático A del esteroide, en 7.3 ppm se observa una señal doble cuya integral es uno y que corresponde al protón de la posición 1 con una constante de acoplamiento (J) de 8.5 Hz debido al protón *orto* en la posición 2; en 6.76 ppm se observa una señal doble de doble cuya integral es uno y que se asigna al protón en la posición 2 con $J = 8.5$ y 2.4Hz debidas a los acoplamientos *orto* y *meta* con los protones en las posiciones 1 y 4 respectivamente; y, en 6.42 ppm, se observa una señal doble que integra para un protón y que se asigna al átomo de hidrógeno en la posición 4 con una $J = 2.4\text{Hz}$ debido al acoplamiento *meta* con el protón de la posición 2. En 5.95 y 5.81 ppm se observan dos señales anchas que, por su desplazamiento químico, pertenecen a protones unidos a una doble ligadura.

Dicha señales integran para un protón cada una por lo que se asignan a los átomos de hidrógeno del enlace doble formado entre las posiciones 16 y 17.

En 3.77 ppm se observa una señal simple que integra para 3 protones, por lo que se asigna al grupo metilo del éter en la posición 3. En 2.78 ppm se observa una señal múltiple que integra para dos protones, asignada al metileno de la posición 5 que se encuentra unido al anillo aromático A del esteroide. Los protones de los anillos B, C y D se encuentran dentro de la zona comprendida entre 1.2 y 2.4 ppm. En 0.83 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y que se asigna al grupo metilo unido a la posición 13.

En el espectro de RMN-¹³C se observa la señal correspondiente al átomo de carbono aromático de la posición 3 en 158.01 ppm; las señales de los carbonos aromáticos no protonados del anillo A se encuentran en 137.9 y 134.8 ppm. Las señales de los carbonos de la doble ligadura formada se encuentran en 129.65 y 126.34 ppm y los átomos de carbono de las posiciones 1, 2 y 4 del anillo A se encuentran en 142.84, 113.81 y 111.52 ppm respectivamente. En 58.14 ppm se observa la señal correspondiente al carbono base de oxígeno del grupo metilo del éter. Entre 45 y 25 ppm se encuentran las señales correspondientes a los átomos de carbono de los anillos B, C y D del esteroide. En 16.58 ppm se encuentra el átomo de carbono correspondiente al grupo metilo unido a la posición 13.

Con el objetivo de mejorar los rendimientos en las reacciones para obtener al éter metílico del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol, se planificó una segunda ruta sintética que se muestra a continuación: **(Figura 16)**

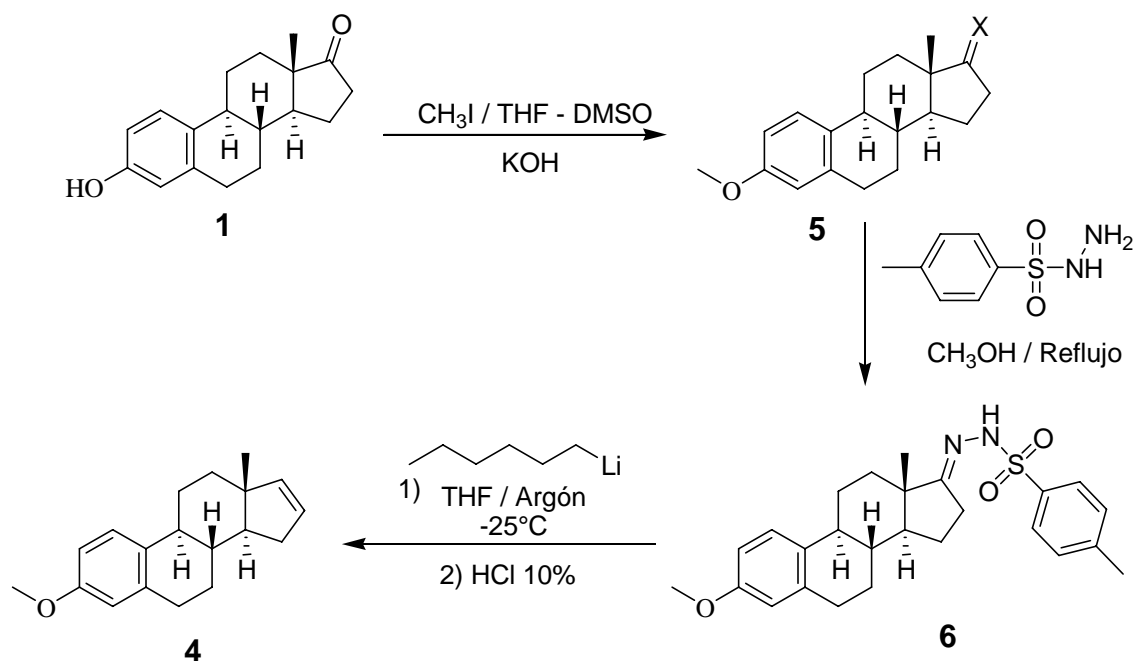


Figura 16

En esta ruta el primer paso es la reacción de Williamson para la síntesis del éter metílico de la posición 3. De esta manera el grupo OH en esa posición está protegido para realizar la reacción de eliminación posterior. Al ser la Estrona un compuesto polar, su solubilidad es mayor en el disolvente empleado para la reacción (THF-DMSO), lo que en la ruta sintética fue un factor clave ya que el Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (3) no era tan soluble. En este caso, después del trabajo y purificación de la mezcla de reacción se obtuvo un sólido blanco (98.17%) con un punto de fusión de $159-160^\circ\text{C}$ y que fue plenamente identificado como la metoxiestrona (5) por experimentos espectroscópicos.

En el espectro de Infrarrojo (IR), se observan varias señales en la zona comprendida entre 3030 y 2810 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H aromáticos y alifáticos del compuesto. Se observó

una señal fuerte en 1737 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace doble C=O de la cetona en la posición 17. La vibración del enlace simple C-O se puede observar como una señal de intensidad media en 1245 cm^{-1} .

El espectro de RMN- ^1H muestra las señales de los protones del anillo A aromático del esteroide; en 7.2 ppm se observa una señal doble cuya integral es uno y que corresponde al protón de la posición 1 con una constante de acoplamiento (J) de 8.4 Hz con el protón *orto* en la posición 2; en 6.73 ppm se observa una señal doble de doble cuya integral es uno y que se asigna al protón en la posición 2 con $J = 8.4$ y 2.1 Hz debidas a los acoplamientos *orto* y *meta* con los protones en las posiciones 1 y 4 respectivamente y en 6.42 ppm se observa una señal doble que integra para un protón y que se asigna al átomo de hidrógeno en la posición 4 con una $J = 2.1$ Hz debido al acoplamiento *meta* con el protón de la posición 2. En 3.7 ppm se observa una señal simple que integra para 3 protones por lo que se asigna al grupo metilo del éter en la posición 3. En 2.82 ppm se observa una señal múltiple para el metileno bencílico. Los protones de los anillos B, C y D se encuentran dentro de la zona comprendida entre 1.2 y 2.4 ppm. En 0.91 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y que se asigna al grupo metilo unido a la posición 13.

En el espectro de RMN- ^{13}C se observa una señal en 213.21 ppm correspondiente al átomo de carbono del carbonilo de cetona en la posición 17. Se observa la señal correspondiente al átomo de carbono aromático de la posición 3 en 157.56 ppm; las señales de los carbonos aromáticos no protonados del anillo A se encuentran en 137.66 y 131.91 ppm. Las señales de los átomos de carbono de las posiciones 1, 2 y 4 del anillo A se encuentran en 126.24, 113.78 y 111.46 ppm

respectivamente. En 55.12 ppm se observa la señal correspondiente al carbono base de oxígeno del grupo metilo del éter. Entre 50 y 21 ppm se encuentran las señales correspondientes a los átomos de carbono de los anillo B, C y D del esteroide. En 13.81 ppm se encuentra el átomo de carbono correspondiente al grupo metilo unido a la posición 13.

El siguiente paso en la secuencia sintética fue la síntesis de la *p*-toluensulfonilhidrazona de la metoxiestrona. (6) Al igual que con la secuencia anterior, esta reacción fue muy eficiente generando un sólido de color blanco en un muy buen rendimiento (97.85%) con un punto de fusión de 162–163° C e identificación satisfactoria por medios espectroscópicos del compuesto deseado.

En el espectro de Infrarrojo (IR), el compuesto presenta una señal intensa y fina en 3450 cm⁻¹ correspondientes a la vibración del enlace N-H de la hidrazona. En la zona comprendida entre 3150 y 2830 cm⁻¹ se encuentran las señales correspondientes a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H aromáticos y alifáticos del compuesto. En 1615 cm⁻¹ se observa una señal intensa y fina correspondiente a la vibración del enlace doble C-N de la hidrazona. El enlace doble S-O de la sulfonilhidrazona se observa como una señal fina de intensidad media en 1171 cm⁻¹.

El espectro de RMN-¹H muestra en 7.7 ppm las dos señales correspondientes para un sistema aromático 1,4-disustituido cada una de ellas integrando para dos hidrógenos por lo que estas señales se pueden asignar al anillo aromático de *p*-toluensulfonilo. En la misma zona se observan las señales de los protones del anillo aromático A del esteroide, en 7.32 ppm se observa una señal doble cuya integral es uno y que corresponde al protón de la posición 1 con

una constante de acoplamiento (J) de 8.4 Hz con el protón *orto* en la posición 2; en 6.74 ppm se observa una señal doble de doble cuya integral es uno y que se asigna al protón en la posición 2 con $J = 8.4$ y 2.1 Hz debidas a los acoplamientos *orto* y *meta* con los protones en las posiciones 1 y 4 respectivamente y en 6.62 ppm, se observa una señal doble que integra para un protón y que se asigna al átomo de hidrógeno en la posición 4 con una $J = 2.1$ Hz debido al acoplamiento *meta* con el protón de la posición 2. En 3.76 ppm se observa una señal simple que integra para 3 protones por lo que se asigna al grupo metilo del éter en la posición 3. En 2.85 ppm se observa una señal una señal múltiple que integra para dos protones la cual se puede asignar al metileno de la posición 5 que se encuentra unido al anillo aromático A del esteroide. En 2.44 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones que se asigna al grupo metilo del grupo *p*-toluensulfonilo. En 1.85 ppm se observa una señal simple ancha que integra para un protón; ésta desaparece al agregar D_2O a la muestra por lo que dicha señal es asignada al protón del N-H de la hidrazona. Los protones de los anillos B, C y D se encuentran dentro de la zona comprendida entre 1.4 y 2.5 ppm. En 0.812 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y que se asigna al grupo metilo unido a la posición 13.

En el espectro de RMN- ^{13}C se observan las señales correspondientes al enlace doble C-N en 172.4 ppm; el átomo de carbono aromático de la posición 3 se encuentra en 157.56 ppm; las señales de los carbonos aromáticos no protonados del anillo A y del grupo *p*-toluensulfonilo se encuentran en 143.75, 137.68, 135.45 y 132.21 ppm. Las señales de los carbonos protonados del grupo *p*-toluensulfonilo se encuentran en 129.42 y 128.02 ppm y los átomos de carbono

de las posiciones 1, 2 y 4 del anillo A se encuentran en 126.32, 113.78 y 111.57 ppm respectivamente. En 56.19 ppm se observa la señal correspondiente al carbono base de oxígeno del grupo metilo del éter. Entre 52 y 25 ppm se encuentran las señales correspondientes a los átomos de carbono de los anillo B, C y D del esteroide. En 22.06 y 17.21 ppm se encuentran los átomos de carbono correspondientes a los grupos metilo del grupo *p*-toluensulfonilo y el unido a la posición 13 respectivamente.

El último paso de la secuencia sintética fue la eliminación de la hidrazona para generar la doble ligadura en el anillo D del esteroide. En este caso solo se necesitaron de al menos dos equivalentes de la base, ya que el alcohol en la posición 3 se encontraba protegido como éter metílico. En este caso la mezcla de reacción es más limpia y se puede aislar al compuesto deseado en un mejor rendimiento (73%), por lo que se pudo optimizar su obtención. Tanto el punto de fusión (58–59° C) como las señales en los espectros de IR, RMN-¹H y RMN-¹³C corresponden para el compuesto anteriormente descrito como el éter metílico del Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol.(4)

La siguiente etapa de este trabajo consistió en la adición de carbenos al enlace doble formado en el anillo D con el objetivo de generar los correspondientes ciclopropanos.

En el primer caso se intentó la adición del difluorocarbeno²⁰ para generar el fluorociclopropanol. Esta reacción se encontraba ampliamente descrita en una amplia variedad de sustratos, en particular con éteres y ésteres de enol²¹. **(Figura 17)**

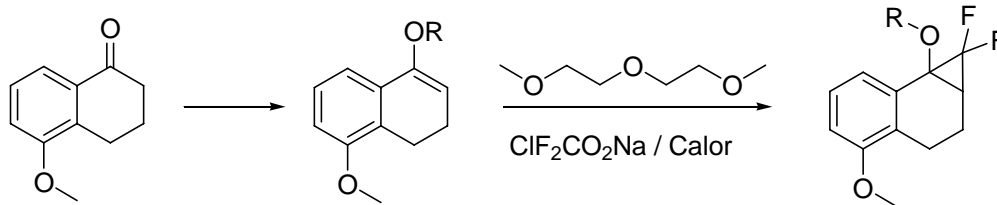


Figura 17

Mediante la pirolisis del clorodifluoroacetato de sodio a reflujo de diglima se obtiene al difluorocarbeno²¹ para llevar a cabo la reacción de formación del ciclo. Existen otros ejemplos donde esta técnica se ha empleado en dobles enlaces que no son tan ricos en electrones, por lo que con esta información a la mano se decidió realizar dicha reacción²².

Sin embargo, la reacción es incompleta y de aquellos productos que se forman es imposible separar la mezcla de reacción. Además, un espectro de RMN-¹H de la mezcla no muestra señal alguna de protones de un ciclopropano, mismos que tienen un desplazamiento químico característico a campo alto (0.3 – 0.6 ppm). (**Figura 18**)

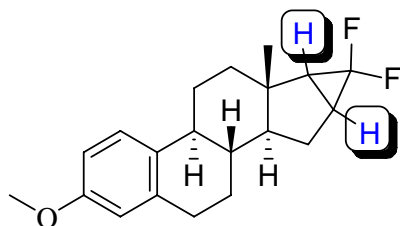


Figura 18

En una investigación posterior se determinó que la activación del clorodifluoroacetato de sodio para la generación del carbeno correspondiente no es sencilla para dobles enlaces pobre en electrones, por lo que se necesitan otro

tipo de reactivos para llevar a cabo la generación del carbeno, mismos que no se tenían en el laboratorio al momento de realizar este trabajo.^{20b}

En la búsqueda de generar el anillo de ciclopropano, se recurrió a la generación de otros dihalocarbenos más comunes.

En este caso, la generación de dibromocarbeneo y diclorocarbeneo parecía la opción lógica ya que se puede generar de manera sencilla por la pirólisis del tricloroacetato de sodio o por la reacción del haloformo correspondiente con una base.²²

En la primera reacción se empleó una solución de bromoformo en diclorometano en atmósfera inerte a la cual se añadió una base fuerte y concentrada (hidróxido de sodio al 40%). Para facilitar la formación del carbeno se agregó un agente de transferencia de fase como es el cloruro de trietilbencilamonio además de una agitación vigorosa. La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina hasta que la materia prima se consumió en su totalidad, sin embargo, lo que se obtuvo fue una mezcla de productos de la cual fue imposible obtener un compuesto puro. Al igual que en el caso anterior, un espectro de RMN-¹H de la mezcla de reacción no muestra señal alguna de protones de un ciclopropano. **(Figura 19)**

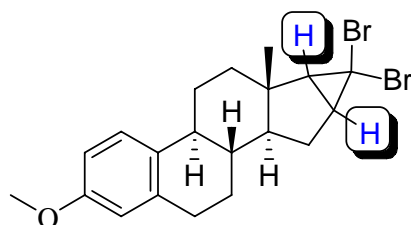


Figura 19

De manera paralela, se intentó generar el diclorocarbene a partir de la pirolisis del tricloroacetato de sodio, sin embargo se obtuvieron resultados similares al experimento realizado para obtener el carbene fluorado con la diferencia que en este caso la materia prima prácticamente no reaccionó después de 8 horas.²²

Al igual que en el caso del carbene fluorado, la adición de estos dos carbenos se da de manera preferente sobre enlaces doble ricos en electrones, de lo contrario hay que activar la generación del carbene de manera que este pueda atacar a una doble ligadura deficiente en electrones.

Debido a la falta de éxito en la introducción de los carbenos halogenados, se procedió a formar un ciclopropano utilizando al carbene mismo en una reacción de Simmons–Smith.²³

Esta reacción de ciclopropanación tiene una amplia variedad de ventajas y modificaciones que la hacen reaccionar con un amplio espectro de enlaces dobles.²⁴ Además, en condiciones controladas, la reacción puede mostrar una alta especificidad.²⁵ La reacción original de Simmons–Smith se llevaba a cabo utilizando una amalgama de zinc y cobre, sin embargo, su composición es difícil de reproducir por lo que algunas modificaciones son muy utilizadas con el objeto de hacer los resultados más reproducibles.²⁶ Una de estas modificaciones es el empleo de dietilzinc y yoduro de metileno para formar un compuesto organometálico capaz de transferir al carbene.^{23b}

Esta reacción se lleva a cabo de manera más eficiente en disolventes poco coordinantes, por lo que se empleó CH_2Cl_2 . Además, debido al empleo de especies organometálicas como el dietilzinc que son muy reactivas, la reacción se

tiene que llevar a cabo bajo condiciones muy controladas de atmósfera inerte y ausencia de humedad.

Por lo que se observa en las reacciones efectuadas, la velocidad y tiempo de adición de los reactivos es importante debido que se necesita la formación plena de la especie organometálica que transferirá el carbeno.

Al terminar la reacción se lograron purificar al menos dos de los productos que se observaban en cromatografía en capa fina. El primero de ellos se identificó como una mezcla (19 mg) que contenía al compuesto de ciclopropanación y algún otro producto que no fue posible identificar en el espectro de RMN-¹H y RMN-¹³C.

En el espectro de RMN-¹H se observan señales en la zona de 7 a 7.5 ppm indicando la presencia de los protones aromáticos del anillo A. Sin embargo, por los valores de las integrales de las señales, existe una mezcla de compuestos. Esto se confirma con la presencia de una señal simple en 3.76 ppm que integra para cerca de seis protones, que se pueden asignar al menos a dos grupos metoxilo como el que se encuentra presente en el anillo A en la posición 3. En 0.53 ppm, se observa una señal cuya multiplicidad no puede ser determinada, pero cuya integral es de casi dos y por su desplazamiento químico corresponde para los protones del ciclopropano formado. Esto se confirma por la presencia de una señal en el espectro de RMN-¹³C correspondiente al grupo metileno del ciclopropano en un desplazamiento químico de 10.54 ppm.

Sin embargo, el producto de ciclopropanación no es el producto mayoritario. De hecho, éste se encuentra en una muy baja proporción y solo pudo ser aislado como parte de una mezcla. El producto mayoritario de esta reacción fue identificado como el compuesto de metilación de ambas posiciones *orto* al grupo

metoxilo en la posición 3 del anillo A del Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter.(4)

En el espectro de RMN-¹H se observa la desaparición de las señales de los protones aromáticos observándose solo una señal simple que integra para un protón en 7.3 ppm correspondiente al átomo de hidrógeno en la posición 1. Aparecen dos señales simples en 2.32 y 2.35 ppm que integran para tres protones cada una correspondientes a los grupos metilos en el anillo aromático A del esteroide. En el espectro de RMN-¹³C se observan las señales de los grupos metilo unidos al anillo aromático A y el grupo metilo en la posición 13 en 21.15, 20.45 y 18.68 ppm respectivamente.

La formación de este producto se puede explicar mediante un mecanismo similar a una reacción de Reimer-Tiemann. En esta reacción, el diclorocarbeno generado a partir de la reacción de cloroformo e hidróxido de sodio se añade en posición *orto* a un grupo hidroxilo de un fenol. En este caso, el anillo aromático se encuentra lo suficientemente activado y rico en electrones para poder atacar al carbeno electrofílico. **(Figura 20)**

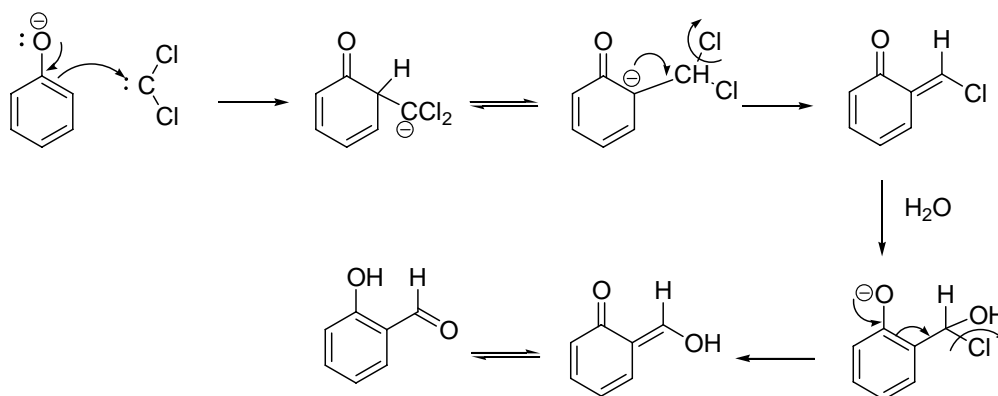


Figura 20

En el caso del sistema empleado, se tiene también un anillo aromático A que es rico en electrones al poseer un grupo metoxilo en la posición 3. Al estar activado este anillo aromático, es lógico pensar que compita con el enlace doble del anillo D en la reacción con el carbeno. En este caso tenemos un alqueno pobre en electrones, compitiendo con un anillo aromático rico en electrones por la misma especie electrofílica, por lo que en este caso, la reacción de ciclopropanación está menos favorecida respecto a la metilación del sistema aromático.

Macdonald y colaboradores informaron que el reactivo de Simmons–Smith preparado a partir de dietilzinc y yoduro de metileno es una muy buena alternativa para metilar de manera regioselectiva las posiciones *orto* de un fenol.²⁶ En este caso, este procedimiento mostró ser una buena opción en la alquilación *orto* de los éteres de fenilo. La manera en que esta alquilación ocurre debe ser similar en mecanismo a la reacción de Reimer–Tiemann, teniendo en cuenta que el átomo de zinc puede coordinarse con el átomo de oxígeno de manera que pudiera formarse un anillo de ciclopropano en el sistema aromático. Este ciclo fácilmente se abre regenerando la aromaticidad del sistema generando el grupo metilo en posición *orto*. **(Figura 21)**

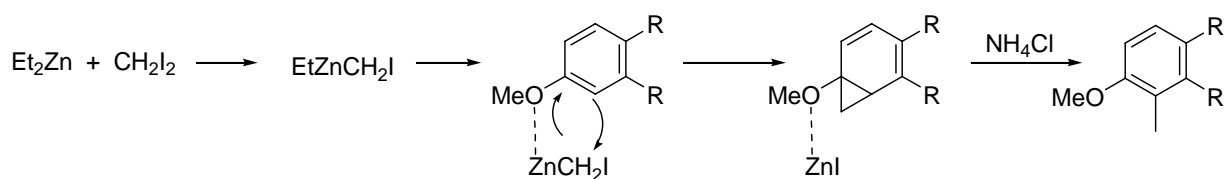


Figura 21

CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Se obtuvo con éxito el Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter mediante la exploración de dos rutas sintéticas.
- Se logró optimizar la obtención del Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter mediante una de las rutas sintéticas exploradas.
- Se realizaron las reacciones de adición de halocarbenos al Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter sin éxito ya que este tipo de carbenos reaccionan con dobles enlaces ricos en electrones. En este caso, el doble enlace 16 y17 del Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter no es rico en electrones.
- Se realizó una reacción de ciclopropanación de Simmons-Smith sobre el Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter obteniendo el producto deseado en un rendimiento muy bajo y como producto minoritario.
- Existen informes con información sobre la capacidad del reactivo de Simmons-Smith para metilar anillos aromáticos ricos en electrones de manera eficiente y selectiva. En el caso del Oestra-1,3,5(10),16-tetraenil metil éter, el producto mayoritario de la reacción de ciclopropanación es la metilación en posición *orto* al grupo metoxilo de la posición 3 del anillo A del compuesto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Johns, M.A.; Feder, H.H.; Komisaruk, B.R.; Mayer, A.D. *Nature*, **1978**, 272, 446.
2. Berliner, D.L., Monti-Bloch, L., Jennings-White, C. and Diaz-Sanchez, V. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1996**, 58, 259–265
3. Stern, K.; McClintock, M.K. *Nature*, **1998**, 392, 177.
4. Mori, K.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1997**, 1153.
5. a) http://www.achetudoeregiao.com.br/ANIMAIS/insetos_falam.htm b) Mori, K. *Tetrahedron*, **1989**, 45, 3233.
6. Berliner, D.L. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **1996**, 58, 1.
7. Ganong, W. *Fisiología médica*, Manual Moderno, **1990**, 1198.
8. Berliner, D.L.; Jennings-White, C.; Lavker, R.M. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **1991**, 39, 671.
9. Jennings-White, C. *Perf & Flav*, **1995**, 20, 45.
10. <http://www.neuro.fsu.edu/research/vomeronasal/FurtherReading.htm>
11. <http://chemse.oxfordjournals.org/cgi/content/full/26/4/433>
12. Wieland, P. *Helv. Chim. Acta*, **1979**, 62, 2276.
13. Mann, J. *Secondary Metabolism*, Oxford University Press, **1987**, Chapter 6. Crab
14. Morrison, R.T.; Boyd, R.N. *Química Orgánica*, Addison – Wesley, 5th Edición, **1987**, 766-770.

15. Carey, F.A.; Sundberg, R.J.; *Advanced Organic Chemistry Part A*, Plenum Press, Third Ed., **1990**, 447-453.
16. a) Todd, D. *Org. React.*, **1948**, 4, 378. b) Caglioti, L. *Tetrahedron*, **1966**, 22, 487.
17. a) Hutchins, R.O.; Milewski, C.A.; Maryanoff, B.E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 3662. b) Milenkov, B.; Hesse, M. *Helv. Chim. Acta.*, **1986**, 69, 1323.
18. Shapiro, R.H. *Org. React.*, **1976**, 23, 405. b) Adington, R.M.; Barret, A.G.M. *Acc. Chem. Res.*, **1983**, 16, 53.
19. Kolonko, K.J.; Shapiro, R.H. *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 1404.
20. a) Jefford, C.W.; Mareda, J.; Gehret, J.C.E.; Kabengele, T.; Gram., W.D.; Burger, U. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 2585. b) Dolbier, W.R.; Wojtowicz, H.; Burkholder, C.R. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 5420.
21. Crabbé, P.; Cervantes, A.; Cruz, A.; Galeazzi, E.; Iriarte, J.; Velarde, E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 6655.
22. Knox, L.H.; Velarde, E.; Berger, S.; Cuadriello, D.; Landis, P.W.; Cross, A.D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 1851.
23. a) Simmons, H.E.; Smith, R.D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 4256. b) Rawson, R.J.; Harrison, I.T. *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 2057.
24. a) Miyano, S.; Izumi, Y.; Fuji, H.; Hashimoto, H. *Synthesis*, **1977**, 700. b) Suda, M. *Synthesis*, **1981**, 714.
25. a) Charette, A.B.; Juteau, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 2651. b) Charette, A.B.; Prescott, S.; Brochu, C. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 1081. c) Charette, A.B.; Jolicoeur, E.; Bydlinski, G.A.S. *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3293.

26. Denmark, S.E.; Edwards, J.P.; Wilson, S.R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 114, 2592.
27. Lehnert, E.K.; Sawyer, J.S.; Macdonald, T.L. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30, 5215.