

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUIMICA



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**“REDUCCIÓN SELECTIVA DEL PRODUCTO DE ESTERIFICACIÓN DE LA
DIHIDROTESTOSTERONA COMO INTERMEDIARIO CLAVE PARA EL
ACOPLAMIENTO CON AMINOÁCIDOS”**

Trabajo Especial de Grado presentado ante la
Ilustre Universidad Central de Venezuela, por la Br.
Valderrama, R. Daniela para optar al título de
Licenciado en Química

Caracas, mayo 2015.

Yo Profesor Cabrera Gustavo, Investigador del Laboratorio o Centro de Investigación De Síntesis Orgánica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

“REDUCCIÓN SELECTIVA DEL PRODUCTO DE ESTERIFICACIÓN DE LA DIHIDROTESTOSTERONA COMO INTERMEDIARIO CLAVE PARA EL ACOPLAMIENTO CON AMINOÁCIDOS”

Que presenta el Br. Valderrama, R. Daniela V, C.I. 20.345.331 para aspirar al Título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio ó Centro de Investigación de Síntesis Orgánica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección, durante los años 2013 y 2015, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, mayo del 2015

Dr. Gustavo Cabrera

(Tutor)

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado:

**“REDUCCIÓN SELECTIVA DEL PRODUCTO DE ESTERIFICACIÓN DE LA
DIHIDROTETOSTERONA COMO INTERMEDIARIO CLAVE PARA EL
ACOPLAMIENTO CON AMINOÁCIDOS”**

Presentado por el Br. Valderrama, R. Daniela V, C.I. 20.345.331 certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el Título de Licenciado en Química.

Dr. Cabrera Gustavo
(Director)

Dra. Beth Díaz
(Jurado)

Dr. Carlos Chinaa
(Jurado)

RESUMEN

En el presente Trabajo Especial de Grado se realizó la esterificación del grupo hidroxilo presente en el carbono C-17 de la dihidrotestosterona. Posteriormente se redujo selectivamente el grupo ácido carboxílico en presencia de grupos funcionales tales como, éster y cetonas cíclicas. También se realizó la protección del grupo α -amino de la fenilalanina. Por último se acopló el producto de la reducción selectiva con la fenilalanina protegida. El fin sintético de estos compuestos es el de crear una base de datos, con su actividad antiviral, específicamente contra el dengue y la fiebre amarilla.

Las reacciones involucradas en este trabajo son: esterificación por catálisis nucleofílica con 4-N,N-dimetilaminopiridina y por catálisis con el sistema dicitclohexilcarbodiimida/4-N,N-dimetilaminopiridina, reducción selectiva de ácidos carboxílicos con diborano como agente reductor, trifluoroacetilación de aminoácidos y para finalizar, acoplamiento utilizando igualmente el sistema dicitclohexilcarbodiimida/4-N,N-dimetilaminopiridina. Los productos fueron caracterizados por sus datos espectrales.

Agradecimientos:

Agradezco, en primer lugar, a Dios, a la Virgen y los santos, así como a mis padres por darme la vida y salud para cumplir las metas que me he trazado.

A mi hermana, Yael Rodríguez, mi guía, mi apoyo, mi ejemplo de lucha. Gracias, sin ti esto no hubiese sido posible. Te amo.

A mis hermanos, Nahomi, Manuel, Nicolás, mi abue y mi sobrino hermoso, Kirbert, por ser mi inspiración en este camino.

A Margaret, por brindarme su cariño y ser mi guía espiritual. Por esos jalones de oreja que me hicieron no perder de vista el rumbo para cumplir este sueño.

A María Buitrago, mi alcahueta número uno, por estar en todo momento dándome palabras de apoyo para continuar.

Agradezco a la Universidad Central de Venezuela, magna casa de estudios y a la Facultad de Ciencias, que me permitieron crecer profesional y personalmente.

Al Dr. Gustavo Cabrera, por brindarme la oportunidad de realizar este T.E.G, por compartir su conocimiento y experiencia. Pero sobretodo, gracias por la paciencia y la entrega en este proyecto.

A los profesores Pablo Neacato y Jairo Bermúdez por el apoyo en todo momento, por la orientación, y trasmitirme sus conocimientos y experiencias.

A los profesores María Rodríguez y Mauro Martínez, por sus palabras de apoyo y por siempre motivarme a seguir adelante.

A la profesora Lola de Lima por el apoyo prestado en la caracterización de los productos por medio de espectroscopia de infrarrojo.

A Víctor, por compartir este arduo pero hermoso camino, ser el compañero de mesón con más paciencia de todo el laboratorio y por siempre motivarme a continuar a pesar de los obstáculos que se presentaran.

A Salvador, Guillen, Keeyna y Betania, compañeros que, unas veces cerca otras lejos pero siempre ahí para darme su apoyo.

A todos, mil gracias.

Índice general

1	Introducción:.....	1
2	Fundamentos teóricos:	2
2.1	Terpenos.....	2
2.1.1	Esteroides:.....	4
2.1.2	Androstanos:	6
2.1.3	Actividad biológica de los androstanos:.....	7
2.2	Fiebre Amarilla:.....	9
2.3	Dengue:.....	10
2.4	Esterificación:.....	11
2.5	Catálisisnucleofílica:.....	11
2.6	Reducción con diborano:.....	13
2.7	Aminoácidos:.....	14
2.8	Grupos protectores de aminoácidos:.....	15
2.9	Grupos protectores de aminoácidos:	16
2.10	Acoplamiento:	17
3	Antecedentes:	18
4	Objetivos:.....	27
5	Procedimiento experimental:	28
5.1	Esterificación del grupo hidroxilo presente en la dihidrotestosterona (DHT)......	28
5.1.1	Con ácido succínico:.....	29
5.1.2	Con ácido malónico.....	30
5.1.3	Con anhídrido succínico	31
5.2	Reducción selectiva del grupo acido presente en el monoester succínico de la dihidrotestosteronacon diborano:.....	32
5.3	Protección de la fenilalanina:.....	33
5.4	Acoplamiento de aminoácido a producto obtenido de la reacción de reducción.	34
6	Resultados y discusiones:.....	35
6.1	Esterificación del grupo hidroxilo presente en la dihidrotestosterona (DHT):.....	35
6.1.1	Con ácido succínico procedimientos A, B, C y D:.....	35

6.1.2	Con ácido malónico, procedimientos A, B y C:.....	38
6.1.3	Con anhídrido succínico, procedimientos A, B C Y D:	41
6.2	Reducción selectiva con diborano:.....	48
6.3	Protección de la fenilalanina con ácidotrifluoroacético:.....	51
6.4	Acoplamiento del producto de reducción con la trifluoroacetilfenilalanina:	55
7	Conclusiones:.....	68
8	Ruta sintética realizada en el trabajo especial de grado:.....	69
9	Recomendaciones:.....	70
10	Espectros:.....	71
11	Referencias:	85

Índice de espectros y deconvoluciones:

Espectro N° 1: Infrarrojo de la dihidrotestosterona en pastilla de KBr	Pág. 71
Espectro N°2: Infrarrojo del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carboniletanoico en CHCl ₃ .	Pág. 72
Deconvolución N°1: área del carbonilo del espectro N° 2 del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carboniletanoico en CHCl ₃ .	Pág. 73
Espectro N°3: Infrarrojo del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanoico en CHCl ₃	Pág. 74
Deconvolución N°2: área del carbonilo del espectro N°3 del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanoico en CHCl ₃	Pág. 75
Espectro N°4: Infrarrojo del alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol en CHCl ₃	Pág. 76
Deconvolución N°3: área del carbonilo del espectro N° 4 del alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol en CHCl ₃	Pág. 77
Espectro N°5: Infrarrojo de la <i>N</i> -trifluoroacetilfenilalanina en pastilla de KBr.	Pág. 78
Deconvolución N°4: área del carbonilo del espectro N°5 de la <i>N</i> -trifluoroacetilfenilalanina	Pag.79
Espectro N°6: Infrarrojo del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol	Pág. 80
Deconvolución N° 5: área del carbonilo del espectro N°6 del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol.	Pág.81
Espectro N°7: RMN ¹³ C del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol.	Pág. 82
Espectro N°8: DEPT 135 del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanol.	Pág.84

Índice de tablas:

Tabla N°1: Condiciones de esterificación de DHT con Anhídrido Succínico	Pág. 21
Tabla N°2: Moles producidos de diborano	Pág. 23
Tabla N°3 Selectividad del diborano frente a grupos funcional	Pág. 24
Tabla N°4: reducción de 13 ácidos carboxílicos usando NaBH_4/I_2	Pág. 25
Tabla N° 5: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de esterificación con ácido malónico	Pág. 40
Tabla N° 6: Temperaturas de ebullición de los solventes empleados en la esterificación con anhídrido succínico, procedimientos A y C.	Pág. 44
Tabla N° 7: Puntos de fusión y r_f de los productos obtenidos en la esterificación con anhídrido succínico, procedimientos A, C y D	Pág. 45
Tabla N° 8: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de esterificación con anhídrido succínico.	Pág. 46
Tabla N° 9: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de reducción con diborano	Pág. 50
Tabla N° 10: Datos de solubilidad del producto de protección de la fenilalanina	Pág. 52
Tabla N° 11: Datos de punto de fusión del producto de protección de la fenilalanina.	Pág. 53
Tabla N° 12: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de protección de la fenilalanina.	Pág. 53
Tabla N°13: factores de retención de los productos obtenidos en el sistema Hexano:Acetato de Etilo: Ácido fórmico (75:25:1).	Pág. 56
Tabla N° 14: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 del producto mayoritario de la reacción de acoplamiento.	Pág. 57
Tabla N°15: Datos espectroscópicos del espectro de RMN^{13}C del producto de acoplamiento:	Pág. 60

1 Introducción:

Hace más de un siglo, Crum-Brown y Fraser expresaron la idea de que la acción fisiológica de una sustancia era una función de su composición química y la constitución. Unas décadas más tarde, en 1893, Charles Richet demostró que las citotoxicidades de un conjunto diverso de moléculas orgánicas simples eran inversamente proporcionales a sus correspondientes solubilidades en agua. El concepto de diseño de drogas está basado en el hecho de que las propiedades biológicas de un compuesto son función de sus “parámetros fisicoquímicos”, como lo son: la solubilidad, lipofilicidad, efectos electrónicos, ionización y estereoquímica, que tienen una influencia profunda en la química de los mismos¹. Con esta premisa, el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias y el Instituto de Biomedicina, ambos de la Universidad Central de Venezuela, llevan a cabo un proyecto para el estudio de la actividad biológica de androstanos estructuralmente modificados. Esto con el fin de darle uso a los mismos como agentes antivirales frente a los virus de la fiebre amarilla y el dengue.

Para dicho proyecto la síntesis orgánica juega un papel fundamental, ya que por medio de esta se pueden trazar rutas de síntesis o hemisíntesis por las cuales se obtiene las modificaciones estructurales requeridas en lo androstanos.

Este proyecto plantea realizar modificaciones estructurales de la dihidrotestosterona (DHT) para un estudio posterior de, tanto la actividad biológica, como el modelaje molecular de las estructuras resultantes.

2 Fundamentos teóricos:

2.1 Terpenos

Los terpenos tienen como unidad fundamental el isopreno, de 5 átomos de carbono (ver figura 1). No es fácil describir de forma general este grupo de compuestos (terpenos), pues es bastante diverso en cuanto a número de átomos de carbono como a la variedad de grupos funcionales. Podría pensarse que todos los compuestos del tipo terpeno deberían tener un número de átomos de carbono múltiplo de 5, así como también encontrarse con una secuencia de grupos de isoprenos en su estructura, pero esto no se cumple en todos los terpenos, ya que algunos de ellos suelen sufrir rearrreglos y también reacciones de degradación que conducen a estructuras con número de átomos de carbonos diferentes a múltiplos de 5.

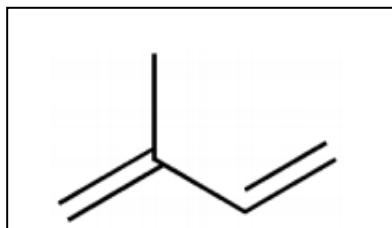


Figura 1: isopreno, unidad fundamental de los terpenos.

Los terpenos de acuerdo a este número de unidades de isopreno pueden clasificarse en: Hemiterpenos (una unidad); Monoterpenos (dos unidades); Sesquiterpenos (tres unidades); Diterpenos (cuatro unidades); Sesterpenos (cinco unidades); Triterpenos (seis unidades); Carotenoides (ocho unidades) y Politerpenos (varias unidades de C_{5n} , $n > 9$) (ver figura 2).

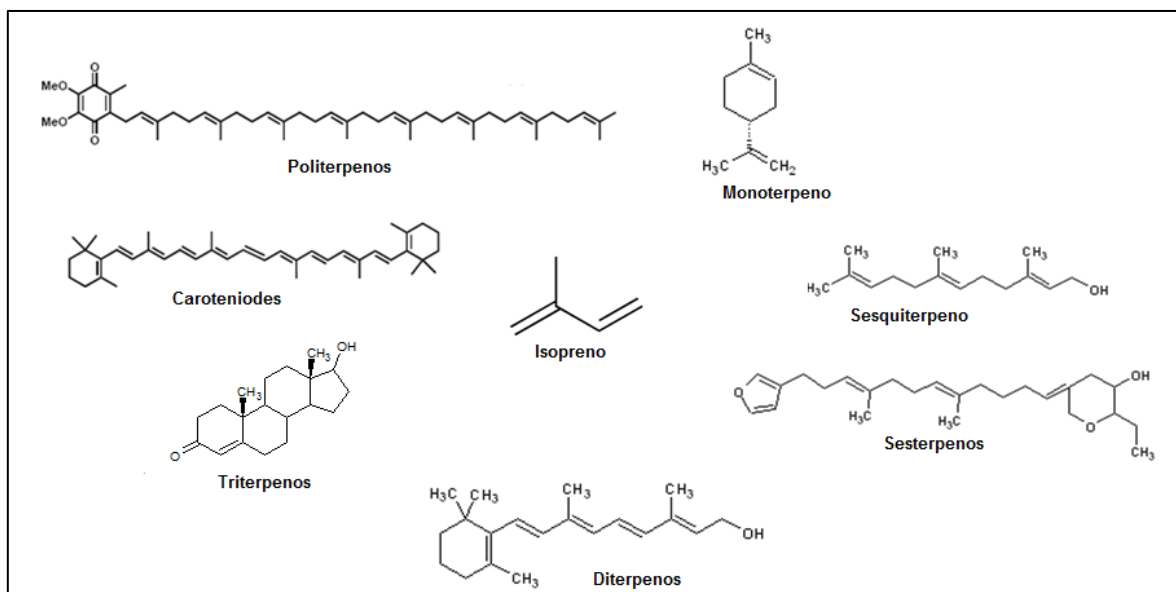


Figura 2: Clasificación de los terpenos según el número de unidades de isopreno

En particular, los triterpenos se clasifican en tetracíclicos y pentacíclicos. De los tetracíclicos, de acuerdo a la estereoquímica y la forma en que se fusionan los anillos, se derivan los Apo-eufanos y los Protostanos. Entre los Protostanos encontramos los esteroides y de acuerdo con el número de átomos de carbono dentro de estos últimos se encuentran clasificados los androstanos (ver figura 3).²

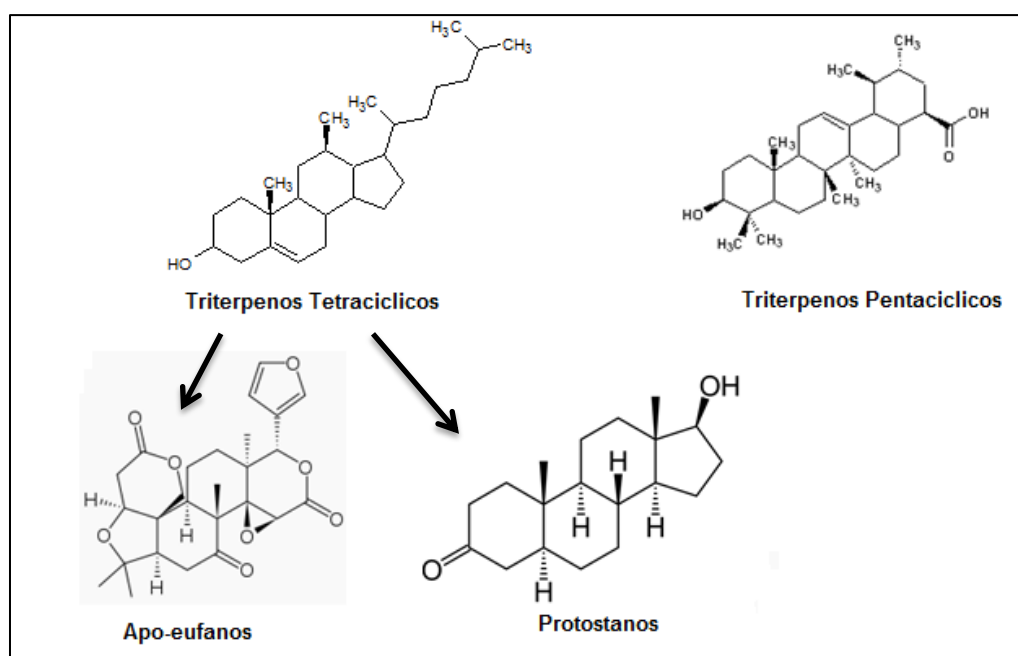


Figura 3: Clasificación de los triperpenos.

2.1.1 Esteroides:

Se cree que la asociación de esteroides con los vertebrados se remonta a al menos 540 millones de años, como lo demuestra la detección de compuestos derivados de esteroides, llamado estéranos, en fósiles antiguos. La mayoría de los esteroides endógenos animales se consideran como hormonas ya que, en concentraciones muy bajas, controlan diversas funciones corporales. Los estrógenos, uno de los primeros grupos en ser identificados, se secretan principalmente por el ovario. Estos compuestos controlan la función reproductiva en mujeres y también el mantenimiento de los genitales femeninos. La progesterona (figura 4A), secretada por el cuerpo lúteo en ese mismo órgano, está involucrado en muchas de las mismas funciones que los estrógenos y, además, apoya el embarazo. La contraparte masculina a aquellos compuestos, testosterona (figura 4B), secretada principalmente en los testículos, controla la producción de espermatozoides y mantiene los genitales masculinos; los anabolizantes, ayudan a conservación del balance de nitrógeno lo cual a su vez ayuda a aumentar la masa muscular. Los estructuralmente más complejo glucocorticoides, como la cortisona, que son secretadas por la corteza suprarrenal, actúan sobre el metabolismo de la glucosa.

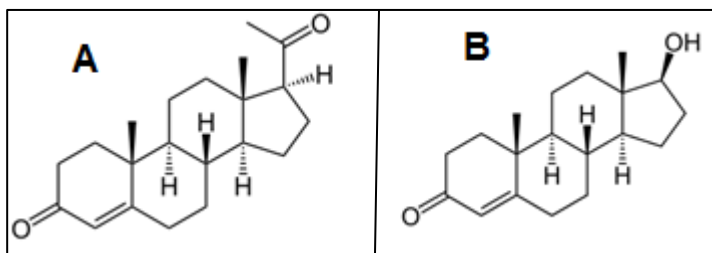


Figura 4: A) Estructura de la progesterona. B) Estructura de la testosterona

El colesterol (ver figura 5), si se ingiere o se forma endógenamente, proporciona el material de partida para la biosíntesis de todos los demás esteroides encontrados en mamíferos. El exceso de colesterol se oxida en el hígado a compuestos polares llamados ácidos cólicos. Este proceso convierte la

cadena lateral terminal en el colesterol a un ácido carboxílico e introduce grupos hidroxilo. Estos polihidroxilados, ácidos esteroides juegan un papel central en la absorción de grasas en el intestino y también la excreción de colesterol superflua.³

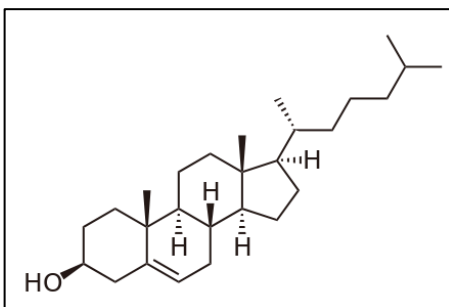


Figura 5: Estructura del colesterol.

Como se observa en las figuras 4 y 5 los esteroides son compuestos de derivados del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano (figura 6), compuesto de carbonos e hidrógenos, formando cuatro anillos (tres hexagonales y uno pentagonal). Posee diecisiete átomos de carbono. En los esteroides esta estructura básica se ve modificada por la adición de diversos grupos funcionales como carbonilos e hidroxilos (hidrófilos) o cadenas carbonadas (hidrófobas). El núcleo de esterano es bastante rígido y con una estructura prácticamente plana. Los átomos de carbono de los esteroides se enumeran del mismo modo que el esqueleto del esterano, como se muestra en la figura 6.

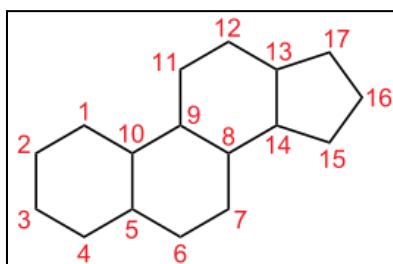


Figura 6: estructura del esterano.

Las hormonas esteroidales según el número de átomos de carbono pueden dividirse en pregnanos (21 átomos de carbono), androstanos (19 átomos de carbono), estranos (18 átomos de carbono) (figura 7).²

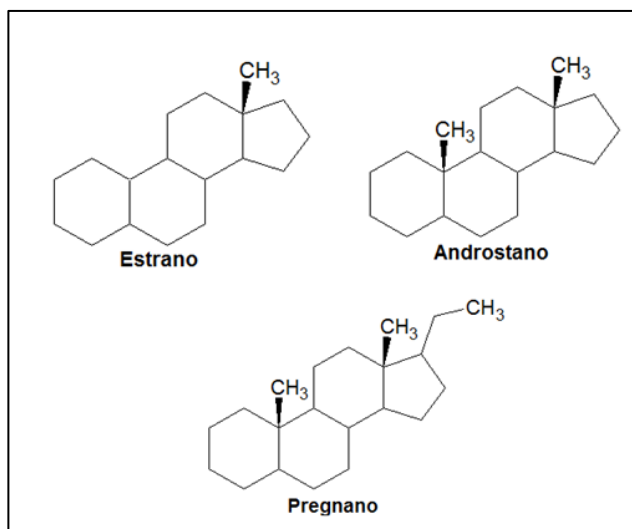


Figura 7: Clasificación de las hormonas esteroidales según el número de átomos de carbono.

2.1.2 Androstanos:

Como se dijo anteriormente, son una clase de esteroides, con sistemas de anillos tetracíclicos, destacándose además otras variedades donde encontramos sustituciones de cadenas alifáticas o metilos principalmente en los carbonos 10, 13 y 17, así como la aromatización del anillos A, variedades producidas naturalmente a partir de modificaciones sobre el lanosterol (ver figura 8), cuyas modificaciones, especialmente en las cadenas laterales, crean un amplio rango de productos, como por ejemplo, esteroides, saponinas esferoidales, glucósidos cardio-activos, ácidos biliares, corticosteroides y hormonas sexuales de mamíferos. Dada la actividad biológica conocida de diversos esteroides naturales, los mismos funcionan como base para la obtención de compuestos esteroidales sintéticos o semi-sintéticos empleados en la medicina.

Es posible inferir que la marcada diferencia en la actividad biológica observada entre compuestos que poseen la mismo esqueleto estructural, como por ejemplo, aquellos basados en el esqueleto de androstano, son en parte atribuidos a los grupos funcionales encontrados en la estructura, así como a la forma conferida por estos núcleos y la estereoquímica de los anillos fusionados. La estereoquímica observada en la naturaleza es muy específica y cambia según

sea el organismo donde se sintetice el esteroide, podemos encontrar en la naturaleza fusiones entre anillos *trans* y *cis*, así como diferentes insaturaciones.

Las modificaciones naturales, pueden ser reproducidas en el laboratorio y así como el lanosterol (figura 8) es modificado por los organismos, otros esteroides pueden ser base para modificaciones sintéticas. El empleo de materiales de partida de origen natural, disminuye el inconveniente de reproducir la estereoquímica estructural.⁴

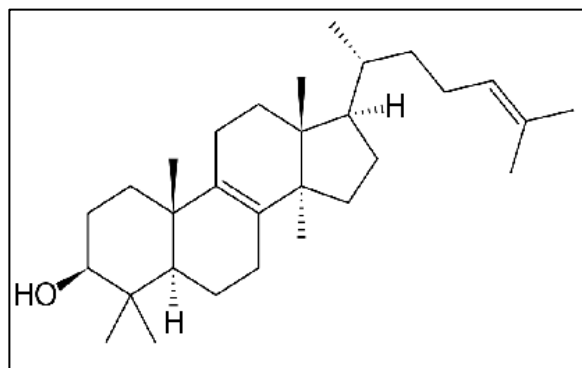


Figura 8: estructura del lanosterol

2.1.3 Actividad biológica de los androstanos:

Androstanos, y específicamente la testosterona y la dihidrotestosterona (figura 9), ejercen un papel en los hombres de alguna manera análoga a lo que los estrógenos desempeñan en las mujeres. La actividad farmacológica de los andrógenos circulantes y sus derivados modificados es, en la mayoría de los aspectos, el mismo que el de los 19 norandrostanos. La actividad anabólica de los compuestos de esta clase hace que sean ansiosamente buscados por los fisicoculturistas y atletas; los andrógenos C19, por lo tanto, constituyen la mayoría de los esteroides en la lista de la DEA (Administración para el Control de Drogas) de sustancias controladas en Estados Unidos.

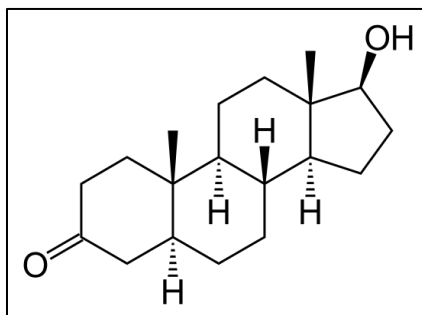


Figura 9: estructura de la dihidrotestosterona (DHT)

Un pequeño conjunto de esteroides preparados a partir androstanos cuentan con una espirobutirolactona en C17. Estos agentes actúan como antagonistas de la aldosterona, el esteroide altamente oxigenado que controla los electrolitos séricos y el volumen de sangre. La acción antagonista de los espirolactonas se manifiesta como actividad diurética y antihipertensiva.¹

Existen derivados sintéticos de esteroides de origen animal que presentan actividad frente a virus como el virus de Junin (JUNV), dicho virus es un agente etiológico de la fiebre hemorrágica argentina. Estos resultados fueron obtenidos por estudios in vitro. De este mismo modo se estudió la actividad de esteroides de origen animal y así como de sus derivados sintéticos frente a virus patógenos para el hombre. Estos estudios proponen que la dehidroepiandrosterona (DHEA) (ver figura 10) actúa en el ciclo de replicación de virus como los de la encefalitis japonesa y el virus de la inmunodeficiencia tipo I (HIV-1).

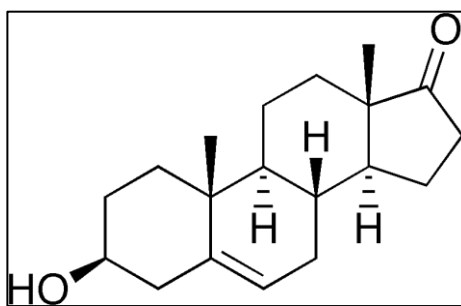


Figura 10: estructura de la dehidroepiandrosterona (DHEA).

Sobre el virus de la Encefalitis Japonesa (JEV) la dehidroepiandrosterona (DHEA) suprime los efectos citotóxicos y la muerte celular programada

(apoptosis) inducida por el virus, así como su replicación y propagación dependiente de su concentración (a partir de 50 μM).

Estudios sobre el virus de la inmunodeficiencia HIV y FIV *in vitro* realizados con DHEA, dexametasona o análogos sintéticos, han demostrado que estos compuestos esteroidales tienen propiedades antivirales directas contra el Virus de Inmunodeficiencia Humano (VIH) o el Virus de Inmunodeficiencia Felino (FIV), dependiendo de la dosis.⁵

2.2 Fiebre Amarilla:

Es una enfermedad viral transmisible, prevenible y curable. Esta enfermedad es causada por el virus de la fiebre amarilla, del género *Flavivirus* y es transmitida por el zancudo *Aedes aegypti* y por zancudos selváticos del género *Haemagogus*. La fiebre amarilla (el término "amarilla" alude a la ictericia que presentan algunos pacientes), conocida también como mal de Siam o fiebre de Barbados, es una enfermedad infecciosa aguda, de rápida evolución, que se transmite por la picadura de zancudos. Su gravedad puede ser muy variable. Independientemente de su intensidad, una vez padecida se adquiere la inmunidad de por vida. Se manifiesta generalmente en brotes epidémicos de alta mortalidad en las regiones de África, América Central y del Sur. Los más afectados por la fiebre amarilla son los humanos y los monos.

Por los momentos, no hay tratamiento específico para la fiebre amarilla. Solo se pueden instaurar medidas de sostén para combatir la fiebre y la deshidratación. Las infecciones bacterianas asociadas pueden tratarse con antibióticos. Las medidas de sostén pueden mejorar el desenlace de los casos graves, pero raramente están disponibles en las zonas más pobres. La vacunación es la medida preventiva más importante contra la fiebre amarilla. La vacuna es segura, asequible, muy eficaz, y una sola dosis es suficiente para conferir inmunidad y protección de por vida, sin necesidad de dosis de recuerdo. La vacuna ofrece una inmunidad efectiva al 99% de las personas vacunadas en un plazo de 30 días.⁶

2.3 Dengue:

El dengue es una enfermedad benigna, de origen vírico, que está causada por varios virus del tipo *arbovirus* transmitidos por artrópodos. Se caracteriza por fiebre bifásica, mialgias (dolores musculares) o artralgiás (dolores en las articulaciones), exantema (erupción cutánea, de color rojizo), leucopenia (disminución anormal de las células blancas de la sangre) y linfadenopatías (inflamación de los nódulos linfáticos). Los síntomas aparecen transcurridos entre 3 y 14 días tras la picadura infecciosa. Es importante mantener al paciente hidratado. No se recomienda la utilización de ácido acetilsalicílico (por ejemplo aspirina) o antiinflamatorios no esteroideos (por ejemplo ibuprofeno). En la actualidad es endémica (endemia, enfermedad generalmente infecciosa, constante en ciertos países por influencias de una causa determinada) en Asia tropical, islas del sur del Pacífico, norte de Australia, África tropical, Caribe, Centroamérica y Suramérica. Los brotes de dengue en las áreas urbanas infectadas por *Aedes aegypti* pueden ser explosivos; pudiendo afectar hasta el 70-80% de la población.

Los virus que causan el dengue clásico, son transmitidos por mosquitos de la familia *Stegornyia Aedes aegypti*, un mosquito que pica durante el día, que en la mayoría de las áreas tropicales es de hábitat urbano y se cría en el agua almacenada en cualquier recipiente.

Los virus que causan el dengue tienen tipos antigénicos diferentes. La enfermedad se produce sobre todo en los niños mayores y en los adultos. La propagación de la epidemia se produce fundamentalmente a través de seres humanos en fase virémica (con capacidad de transmitir el virus que se está replicando en su sangre) y sigue las principales líneas del transporte urbano. En las zonas donde el dengue es endémico, los niños y los extranjeros suelen ser los únicos que enferman, ya que los adultos son inmunes.^{7,8}

2.4 Esterificación:

Se conoce como esterificación a la reacción de condensación que ocurre entre un ácido carboxílico, haluro de acilo o un anhídrido y un alcohol o fenol. Los diferentes mecanismos propuestos se encuentran bien definidos, en un primer paso la especie nucleofílica se adiciona al carbono carbonílico, posteriormente se elimina el grupo saliente (hidroxilo, haluro, ion carboxilato), dichos mecanismos para la formación de ésteres se muestran en la figura 11.⁹

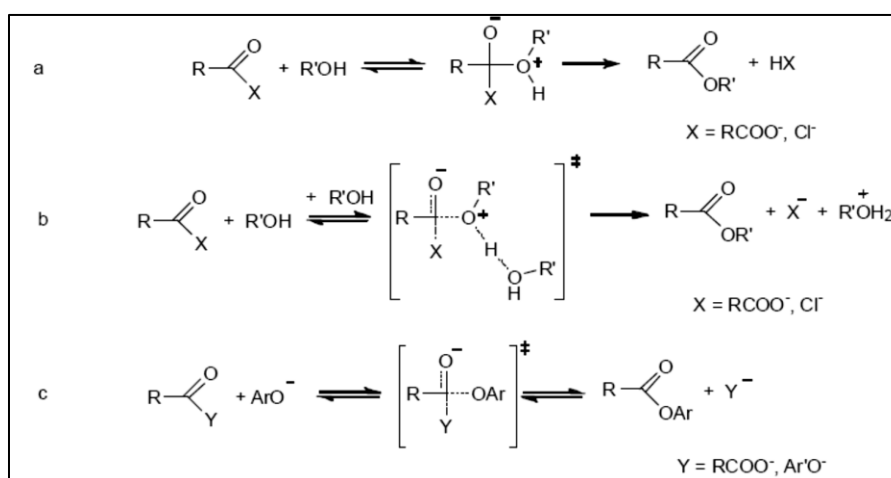


Figura 11: mecanismos propuestos para la formación de ésteres.

2.5 Catálisis nucleofílica:

El rendimiento de las reacciones de esterificación, así como la pureza de los productos, puede aumentar si se utiliza un catalizador nucleofílico en el medio de reacción. Estos catalizadores tienen como función aumentar la reactividad del grupo carbonilo, haciendo que este último sea más susceptible al posterior ataque nucleofílico del alcohol o fenol.

El mejorar los rendimientos de las reacciones de acilación mediante el uso de piridina fue establecido por Von Doering y McEwen, quienes además propusieron el mecanismo de la acción catalítica de la piridina (ver figura 12, con R=H).¹⁰

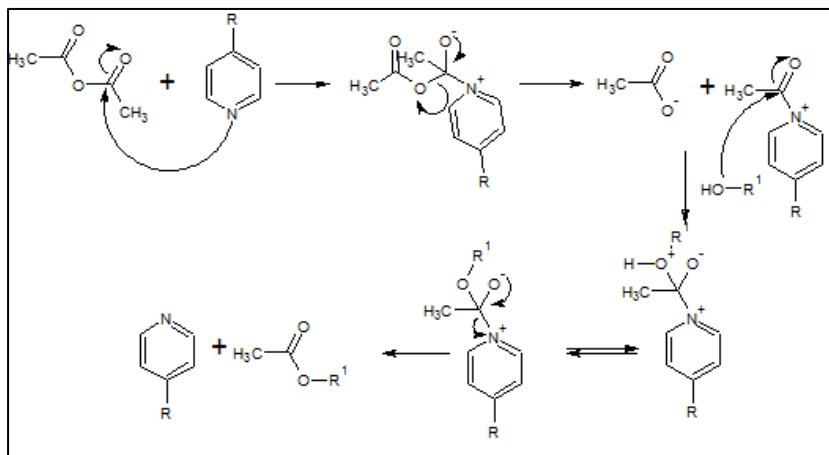


Figura 12: mecanismo de catálisis de la piridina ($R=H$) y de la 4-N,N-dimetilaminopiridina ($R= N(CH_3)_2$)

A partir de piridina es posible sintetizar las 4-dialquilaminopiridinas, como la 4-N,N-dimetilaminopiridina, que son los catalizadores 10^4 veces más activos y útiles especialmente en la acilación de alcoholes impedidos estéricamente y sensibles en condiciones ácidas, proporcionando así una alternativa al procedimiento usual de tratar alcóxidos de sodio o magnesio con cloruros de acilos. Esta marcada diferencia en la acción catalítica de la 4-DMAP se debe a su posibilidad de estabilizar mejor la carga en el estado de transición.

La acción catalítica de la 4-N,N-dimetilaminopiridina, cuyo mecanismo sigue el mismo mostrado en la figura 12 (con $R=N(CH_3)_2$ y tomando en cuenta que posee pKa mayor a la piridina, se evidencia en la acilación de los alcoholes terciarios los cuales son estéricamente impedidos para la acilación por mecanismos convencionales. El 1-metilciclohexanol, es acilado con un 86% de rendimiento cuando se utiliza anhídrido acético con DMAP y un equivalente de TEA (trietanolamina); a diferencia cuando se trata el mismo alcohol con anhídrido acético en piridina, donde el rendimiento es del 5%, ambas reacciones llevadas a cabo a temperatura ambiente y 17 horas de reacción (ver figura 13).¹⁰

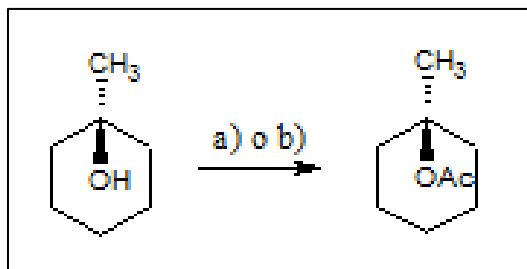


Figura 13: acetilación del 1-metilciclohexanol a) anhídrido acético, piridina, temperatura ambiente, 17 h, rendimiento 5%. b) anhídrido acético, DMAP, TEA, temperatura ambiente, 17h, rendimiento 86%.

2.6 Reducción con diborano:

El diborano es un gas incoloro a temperatura ambiente con un olor dulce desagradable. Se mezcla bien con el aire y fácilmente forma mezclas explosivas. Se enciende espontáneamente en la presencia de aire húmedo a temperatura ambiente. Es usado en propulsores de cohetes, como agente reductor, vulcanizador de caucho, catalizador en la polimerización de hidrocarburos y acelerador de llamas. También es usado en la industria electrónica para conferir propiedades eléctricas a cristales puros.¹¹

El diborano puede ser generado por la reacción del borohidruro de sodio y éterato de trifluoroborano. El gas puede ser generado externamente y se introduce en el matraz de reacción o puede ser producido en el lugar (*in situ*). El mejor disolvente para la reacción es tetrahidrofurano, pero diglima, éter, benceno, penteno, dicloruro de metileno, cloroformo y disulfuro de carbono también pueden ser utilizados. El orden de reactividad en condiciones normales (con diborano generado en el exterior, y tetrahidrofurano como solvente) es: epóxido>ácido>alqueno>cetona>nitrilo>éster>cloruro de ácido.

Thakar y SubbaRao mostraron que las reducciones con diborano dan el mismo resultado, independientemente de si el diborano es generado externamente o *in situ* producido por la acción de trifluoruro de boro y NaBH_4 o el cloruro de aluminio. Encontraron que las cetonas alicíclicas o dialquil no se reducen más allá de la fase de alcohol, incluso en condiciones drásticas.¹²

El borano ha sido ampliamente utilizado en la síntesis orgánica como un agente de hidrobioración muy importante y un excelente agente reductor. Hace alrededor de 50 años, había un interés vital en la preparación de diborano. El mecanismo detallado por el cual se lleva a cabo la reducción de un ácido carboxílico por acción del borano se muestra a continuación (ver figura14).¹²

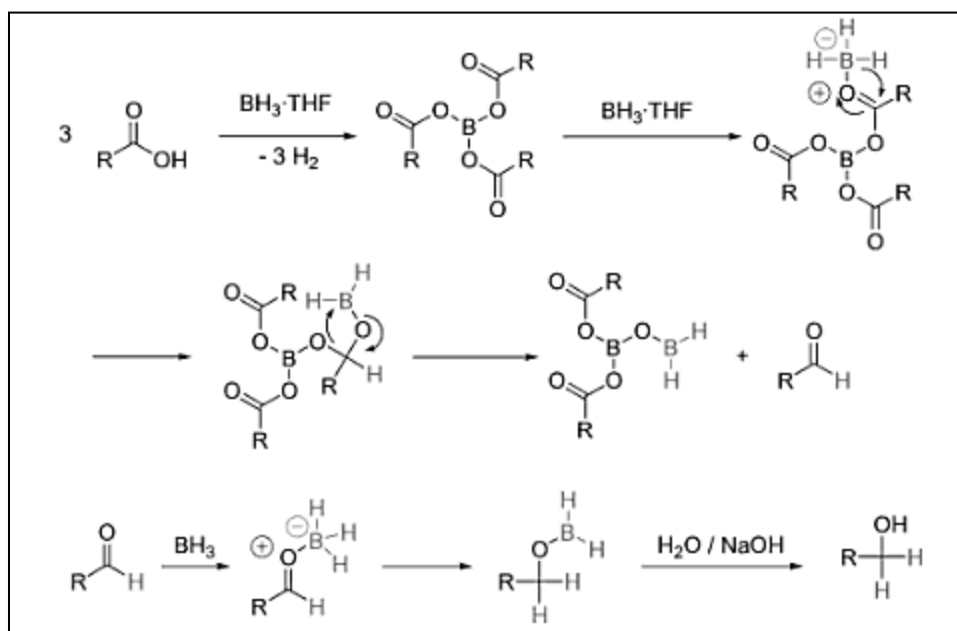


Figura 14: mecanismo de la reducción de ácido carboxílico por acción de borano.

2.7 Aminoácidos:

Los aminoácidos son moléculas orgánicas consideradas sustancias anfóteras ya que están formadas por un grupo amino (-NH₂) y un grupo carboxilo (-COOH) unidos a un carbono central, el cual es quiral (figura 15). Estos compuestos pueden encontrarse en su forma catiónica si el pH del medio es ácido, mientras que si por el contrario el pH es básico, se encuentran en su forma aniónica. Sin embargo existe un valor de pH para cada aminoácido al cual estos se encuentran en su forma zwitteriónica (la carga negativa y positiva en la misma magnitud). Los aminoácidos pueden clasificarse en esenciales y no esenciales, los primeros son aquellos que no pueden ser sintetizados por el organismo y por lo tanto deben ser

consumidos por los individuos. Por otro lado, los no esenciales, son aquellos que son sintetizados biológicamente y por ende su consumo no es necesario.

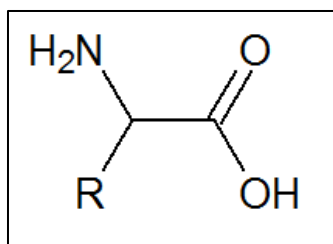


Figura 15: estructura básica de los aminoácidos

Los aminoácidos se combinan por medio de enlaces peptídicos para formar proteínas, la reacción tiene lugar de manera natural en los ribosomas tanto los que están libres en el citosol como los asociados al retículo endoplasmático. Las proteínas son las moléculas más versátiles ya que desempeñan una gran variedad de funciones en el organismo entre las cuales se pueden mencionar: estructural, inmunológica, enzimática, contráctil, homeostática, protectora, entre otras.¹³

2.8 Grupos protectores de aminoácidos:

La protección de grupos funcionales es una estrategia sintética que hay que aplicar cuando se desea efectuar una reacción de un grupo funcional en presencia de otro u otros grupos funcionales más reactivos.

Para conseguir este tipo de transformaciones se procede a:

- a) Proteger el grupo o los grupos funcionales más reactivos.
- b) Efectuar la reacción sobre el grupo funcional libre.
- c) Desproteger los grupos funcionales.

Una reacción de protección no es más que una reacción quimioselectiva en la que un grupo funcional se transforma en otro grupo funcional.

Las condiciones que debe cumplir un grupo protector son:

- a) Se debe poder instalar en el sistema polifuncional de manera quimioselectiva.

- b) Debe ser estable a las condiciones de reacción que va a sufrir el grupo funcional libre.
- c) Se debe poder eliminar en condiciones quimiosselectivas.

El uso de protectores debe reducirse al mínimo indispensable y su elección debe ser tal que no se requiera reemplazarlos a lo largo de la síntesis ya que los pasos de introducción y remoción (desprotección) suman costo y trabajo a la síntesis y disminuyen el rendimiento.¹⁴

2.9 Grupos protectores de aminoácidos:

a) Grupo α -carboxilo:

Los grupos carboxílicos de aminoácidos son comúnmente protegidos como ésteres de metilo, bencilo, tert-butilo y alilo. La protección del α -ácido carboxílico puede llevarse a cabo principalmente por los siguientes métodos:

- i. Reacción del α -aminoácido con un alcohol en condiciones ácidas, siendo comúnmente utilizados el HCl y el p-TosOH.
- ii. Protección con tert-butilo por la reacción del α -aminoácido (protegido, preferiblemente) con isobuteno en condiciones ácidas, siendo empleados preferiblemente el p-TosOH y H₂SO₄.¹⁵

b) Grupo α -amino:

El objetivo fundamental que se debe cubrir al proteger al grupo amino es el de suprimir su reactividad nucleofílica, para tal efecto existen una gran variedad de grupos protectores, el problema es encontrar uno que pueda ser removido fácilmente sin afectar la integridad del enlace peptídico formado o sin que el carbono α corra riesgo de racemización.¹⁶

Existen diversos tipos de grupos protectores de α -aminoácidos, entre los cuales los más comunes se encuentran el 9-fluoroenylmetoxicarbonilo (Fmoc), el tert-butoxicarbonilo (Boc) en fase sólida, y el benziloxicarbonilo(Z) en solución.¹⁵

2.10 Acoplamiento:

Sheehan y Hees, en 1955 introdujeron por primera vez en la síntesis de péptidos el uso de la diciclohexilcarbodimida (DCC). Esta reacciona con los acil aminoácidos para dar anhídridos simétricos, esteres activados o actuar directamente como agente acoplante. El mecanismo de acción del DCC es, en primer lugar la formación de la O-acilurea y posteriormente el ataque del nucleófilo (grupo carboxilato, para formar anhídridos o grupo hidroxilo para formar esteres) al carbono carbonílico, originando como productos el péptido de interés y la diciclohexilurea (ver figura16). Esta última es poco soluble en la mayoría de los solventes lo cual favorece la fácil separación y por ende suprime la obtención de productos colaterales.¹⁶

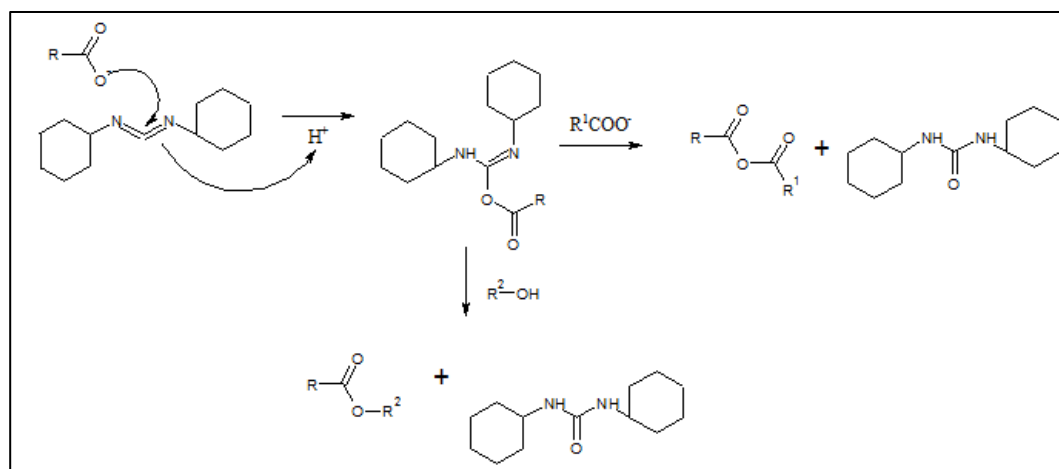


Figura 16: Mecanismo de reacción de la diciclohexilcarbodimida (DCC)

3 Antecedentes:

Litvinenko y col., en 1967 encontraron que reemplazando la piridina por 4-dimetilaminopiridina (DMAP) se produce una tasa de incremento de 10^4 veces en el poder catalítico para la benzoilación de *m*-cloroanilina.¹⁷ Más tarde, en 1969 *Höfle y col.*, mostraron que las 4-dialquilaminopiridinas eran poderosos catalizadores en las reacciones de transferencia de acilos, superando al poder de la piridina y otras aminas terciarias. Para demostrar las capacidades de estos catalizadores, ellos escogieron ejemplos típicos de alcoholes estéricamente impedidos y que eran resistentes hacia la acilación bajo condiciones básicas. En su procedimiento, los ésteres se formaron fácilmente tratando el alcohol con un anhídrido y una cantidad equimolar de 4-dimetilaminopiridina o 4-pirrolidinopiridina a temperatura ambiente. Ellos encontraron que la acilación de ciclohexanoles 1-sustituidos: el 1-acetilciclohexanol y 1-metilciclohexanol, con anhídridos y piridina daban como resultado una reacción extremadamente lenta y que usando ácidos carboxílicos, cloruro de tosilo, y piridina sólo los ésteres de 1-acetilciclohexanol eran obtenidos en rendimientos moderados. Höfle y Steglich obtuvieron el propanoato del 1-acetilciclohexanol y 1-metilciclohexanol, a temperatura ambiente y durante una hora de reacción con 94% de rendimiento empleando anhídrido propanoico, 4-dimetilaminopiridina y trietilamina, éste último usado para neutralizar el ácido generado en los productos.¹⁸

En el 2001, *Berry y Col*, realizaron recopilación bibliográfica de las condiciones de reacción de diferentes reacciones reportadas, en las cuales la 4-DMAP mejora los rendimientos de las mismas o bien en otros casos hace posible que las reacciones se lleven a cabo.¹⁹

A continuación se muestran algunas de ellas con el rendimiento de las mismas.

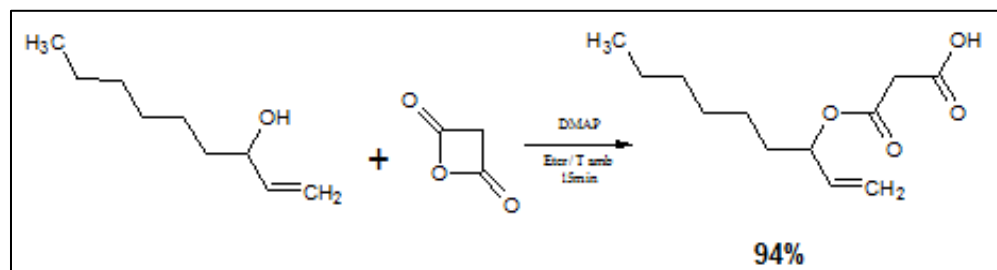


Figura 17: Acetoacetilación del 3-hidroxi-1-noneno.

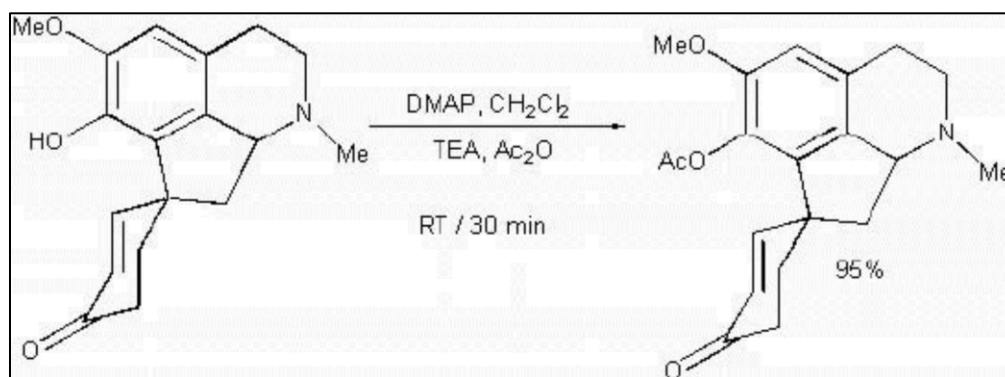


Figura 18: Acetilación del grupo fenólico en el 11,12-dihidrogliaciovina.

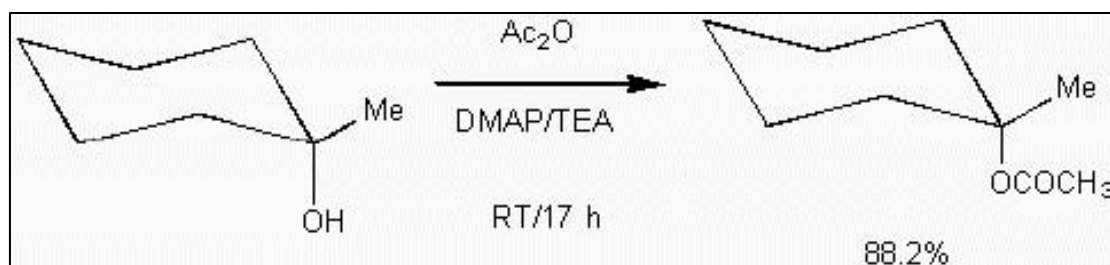


Figura 19: Acetilación del 1-metilciclohexanol.

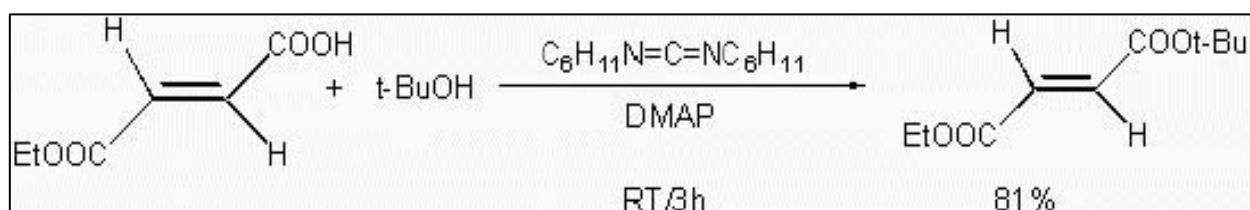


Figura 20: esterificación del monoetilfumarato.

En 2007, *Chung y col.*; presentaron sus estudios sobre la síntesis y solubilidad de derivados hidrofílicos de β -sitosterol, los cuales son conocidos por su potencial para reducir los niveles de colesterol en sangre. Los procedimientos de esterificación se realizaron con anhídrido succínico, TEA y β -sitosterol. La segunda esterificación se llevó a cabo con un glicol, un agente deshidratante como el DCC y catálisis básica por 4-DMAP (ver figura 21).²⁰

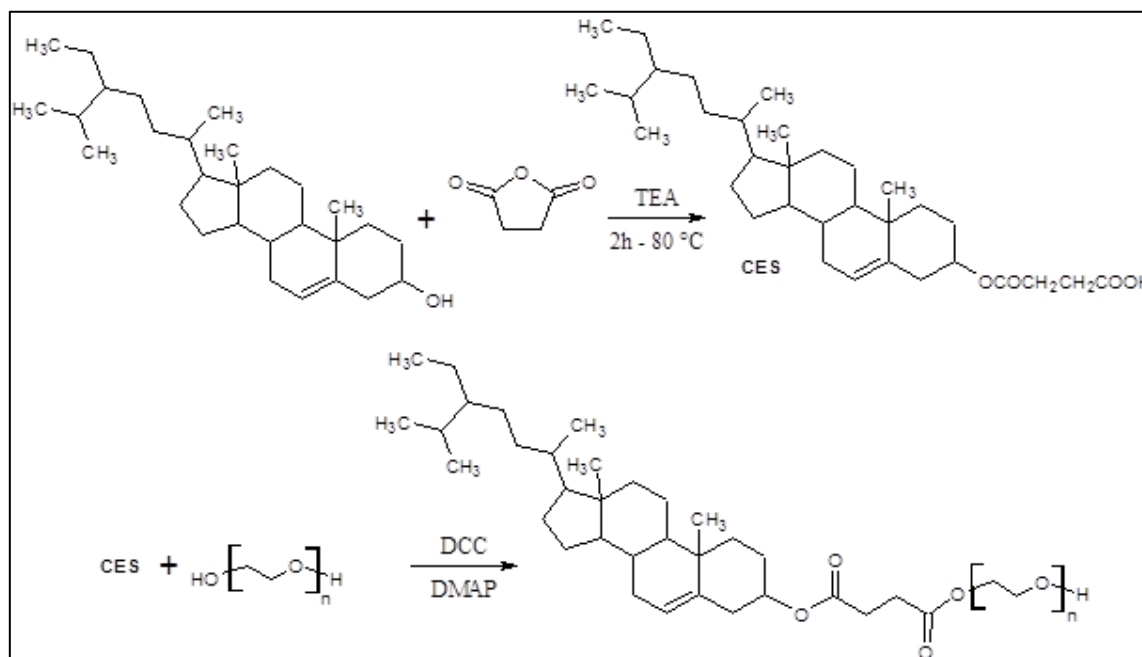


Figura 21: esterificación del β -sitosterol y sus derivados.

En el 2012, *Díaz, Jean C.*, estudio las condiciones óptimas para la esterificación de la dihidrotestosterona (DHT) con anhídrido succínico, variando distintos parámetros de la reacción como lo son: solvente, catalizador, y tiempo de reacción; encontrando los resultados expresados en la tabla 1, donde se evidencia que las condiciones de reacción óptimas para obtener el mayor rendimiento del producto esterificado en menor tiempo es utilizando 4-DMAP como catalizador y tolueno como solvente.²¹

Tabla N° 1 Condiciones de esterificación de DHT con Anhídrido Succínico

Solvente	Catalizador	Tiempo de reacción (días)	Rendimiento (%).
Cloroformo	Piridina	3	0
1,2-Dicloroetano	Piridina	6	0
Acetonitrilo	Piridina	6	0
Tolueno	Piridina	7	56
Cloroformo	4-DMAP	6	Muy poco
1,2-Dicloroetano	4-DMAP	6	Muy poco
Tolueno	4-DMAP	4	58
Cloroformo	DCC	6	0
Acetonitrilo	DCC	6	0
Tolueno	DCC	6	0
Cloroformo/piridina	DCC	6	0
Cloroformo/ acetonitrilo	4-DMAP/DCC	7	28
Tolueno	4-DMAP/DCC	6	0

La primera síntesis informada de un hidruro de boro fue por *Jones*, en 1879, que trató el boruro de magnesio con ácido clorhídrico. Una segunda comunicación por *Jones y Taylor*, en 1881, dio más detalles experimentales y propiedades del gas generado. Aunque el gas no podía ser purificado en gran medida, se postuló la fórmula empírica BH_3 . *Hoffmann* informó más tarde generación de un hidruro de boro por la acción del ácido sulfúrico sobre boruro de manganeso y ferroboro. La incertidumbre respecto de la fórmula empírica del hidruro de boro producido de esta manera se mantuvo hasta 1912, cuando *Stock y Massenez* hicieron un estudio detallado del gas, por medio de un aparato de destilación al vacío, fueron capaces de obtener un hidruro de boro puro, luego demostraron que su fórmula molecular era B_4H_{10} .

Sin embargo, en 1913, *Stock y Friederici* prepararon y caracterizaron diborano dejando en reposo un tubo lleno de B_4H_{10} a temperatura ambiente

durante cinco meses, o, más fácilmente, por calentamiento B_4H_{10} a $95\text{ }^\circ\text{C}$ durante unas pocas horas. Por otro lado la ineficiencia de sintetizar diborano a partir de boruros metálicos, la evidenciaron *Stock y Siecke* obteniendo 1.5 litros de la sustancia a partir de 4kg de boruro de magnesio. A este modo de preparación, que por lo general requiere un mes, se le hicieron ligeras modificaciones, tales como usar boruro de berilio, boruro de aluminio, boruro de cerio y ácido fosfórico, hasta 1931, año en que *Schalesinger y Burg* prepararon diborano con 60 % de rendimiento mediante el paso de hidrógeno a través de tricloruro de boro y descarga eléctrica a presión reducida. Este proceso era todavía laborioso ya que requiere una semana para preparar 5 a 10 gramos del material deseado. El rendimiento podría ser elevado y las etapas de purificación acortan mediante el uso de tribromuro de boro en lugar de tricloruro de boro.

En 1931, *Hurd y Col.* produjeron diborano por reducción de haluros de boro con hidrógeno sobre de aluminio finamente dividido, sodio fundido, magnesio, aluminio y sodio, o aluminio y cloruro de sodio a temperaturas elevadas. *Schlesinger, Brown y col.* generaron diborano en buenos rendimientos por la reacción de hidruro de litio con eterato de trifluoruro de boro.²²

Más tarde, en 1957, *Koster y Ziegler* generaron diborano mediante la reducción de fluoruro de boro en aluminio con hidrógeno y de etileno o por reducción del ácido bórico con aluminio e hidrógeno²⁴.

En 1958 *H.C. Brown y col.* observaron mediante experimentos realizados que, el borohidruro de sodio en diglima reacciona fácilmente con trifluoruro de boro, ya sea en cantidades estequiométricas o en exceso para liberar diborano cuantitativamente (ver figura 22).

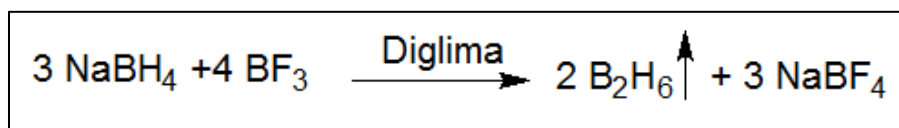


Figura 22: ecuación de la reacción de formación de diborano.

Mediante tabla 2 demostró que un rendimiento cuantitativo de diborano puede llevarse a cabo sin problemas de acuerdo a la cantidad exacta de borohidruro de sodio que se agrega a la solución.

Tabla N° 2 mmoles producidos de diborano

mmoles de NaBH₄	Experimental	Calculado
0,60	0,38	0,40
1,20	0,81	0,80
1,80	1,19	1,20
2,40	1,61	1,60

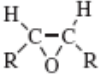
El procedimiento utilizado en este estudio consistió en dejar caer una solución de borohidruro de sodio en diglima en un ligero exceso de eterato de etiltrifluoroborano en el mismo disolvente.²⁴

En 1960 *H.C. Brown* y colaboradores observaron mediante experimentos de reducción con Diborano, de un número representativo de compuestos orgánicos, que el orden decreciente en la tasa de reacción es el siguiente: ácidos carboxílicos, olefinas, cetonas, nitrilos epóxidos y ésteres. Determinando que la reducción con Diborano, es selectiva debido a la fácil reducción de ácidos carboxílicos en presencia de otros grupos funcionales como cetonas y ésteres.²⁵

En 1972 *Brown, H.C* realizó estudios con boranos, con el fin de encontrar las condiciones bajo las cuales un determinado grupo sería reducido quimiosselectivamente.

En la tabla 3 se presenta la reducción de varios grupos funcionales con borano y se observa la selectividad de este como agente reductor.²⁶

Tabla N°3 Selectividad del diborano frente a grupos funcional.

Substrate ^a	Product	
RCOOH	RCH ₂ OH	Easiest
RCH=CHR	(RCH ₂ CHR) ₃ B	
RCOR	RCHOHR	
RCN	RCH ₂ NH ₂	
	RCH ₂ CHOHR	
RCOOR'	RCH ₂ OH + R'OH	Most difficult
RCOCl		Inert

En 1991, *Cheweng Zhao y col*, realizaron un estudio de un procedimiento más simplificado que el propuesto por Koster y Ziegler, en esta simplificación el borohidruro es generado a partir de aluminio, cloruro de etileno, óxido de boro e hidrógeno, en 3 pasos como se muestra en la figura 23.

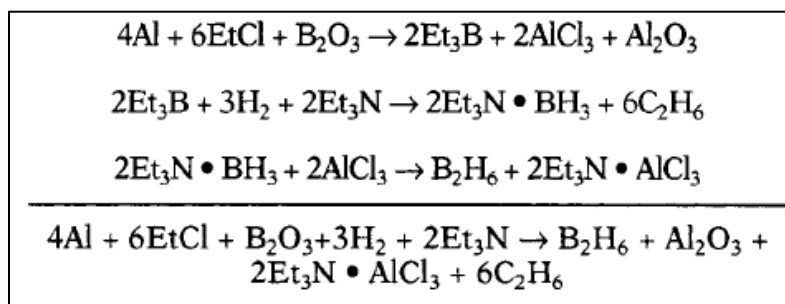


Figura 23: pasos generación de borano.



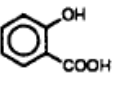
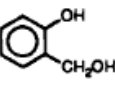
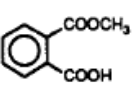
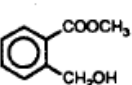
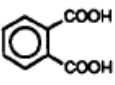
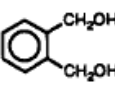
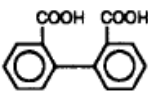
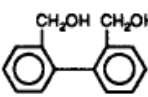
Cheweng Zhao expuso que las principales ventajas de este método son:

1. Proceso más corto con sólo tres pasos y con un buen rendimiento de la reacción global.
2. Materiales de partida son económicos y fácilmente disponibles.
3. La eliminación de trifluoruro de boro o su complejo de éter etílico con el fin de evitar la corrosión de los equipos.²⁷

En el mismo año, *Bhaskar y Col*. realizaron un estudio de la reducción de una variedad de ácidos carboxílicos usando el siguiente procedimiento: el ácido en tetrahidrofurano(THF) es agregado lentamente a una suspensión de borohidruro de sodio en THF y la mezcla se agito hasta que cesa el desprendimiento de gas.

Posteriormente el yodo en THF es agregado lentamente a la temperatura mencionada en la tabla 4. La mezcla se agito por una hora a la misma temperatura. Los resultados que se obtuvieron se exponen en la tabla 4. Los rendimientos obtenidos para los ácidos carboxílicos enumerados del 1 al 7 fueron muy buenos. Además de esto, observaron que en los ácidos enumerados como 10 y 11, bajo las condiciones de reacción mencionadas, se reduce selectivamente el grupo ácido sobre el grupo éster.²⁸

Tabla N°4: reducción de 13 ácidos carboxílicos usando NaBH_4/I_2

no.	substrate	product	temp, °C	yield, %
1	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$	rt	93
2	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{COOH}$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	rt	98
3	<i>p</i> - $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{COOH}$	<i>p</i> - $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{OH}$	rt	98
4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{OH}$	rt	95
5			rt	92
6	$\text{Ph} > \text{CHCOOH}$	$\text{Ph} > \text{CHCH}_2\text{OH}$	rt	96
7			rt	92
8	$\text{Ph} - \text{CH} = \text{CHCOOH}$	$\text{Ph} - \text{CH} = \text{CHCH}_2\text{OH}$	0	97
9	$\text{CH}_2 = \text{CH}(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	$\text{CH}_2 = \text{CH}(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{OH}$	0	89
10			0	82
11	$(\text{CH}_2)_8\text{COOCH}_3$	$(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{OH}$	0	89
12			rt	86
13			rt	87

La reacción, como se evidencia en el procedimiento descrito, se lleva a cabo en 2 pasos como se muestra en la figura 24.²⁸

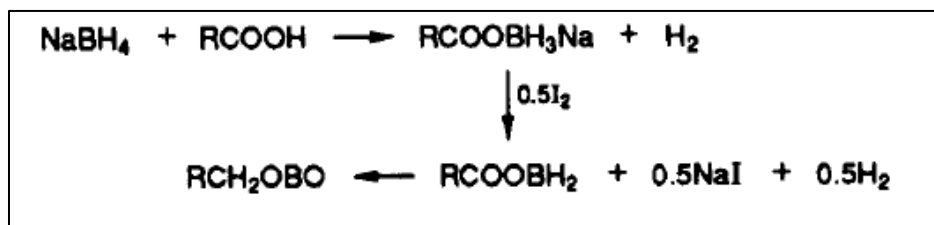


Figura 24: reacción de reducción de ácidos carboxílicos utilizando NaBH_4/I_2

En 2004, *Denmark y col*, estudiaron una diferencia selectividad muy útil entre boranos y borohidruros. Observaron que boranos reducirían ácidos carboxílicos más rápido de lo que reducen ésteres carboxílicos, mientras que borohidruros e hidruros de aluminio muestran la selectividad opuesta. Esto es porque el borano acetoxi intermedio es un éster activado resultante de π -donación de oxígeno acetoxi al boro (esencialmente un anhídrido mixto entre el carboxilato y un ácido bórico). En la figura 25 se evidencia como un ácido carboxílico se reduce en presencia de una lactona. Las lactonas son generalmente mejores electrófilos que los ésteres acíclicos, y éste se activa, además, por el sustituyente α -alcoxi.

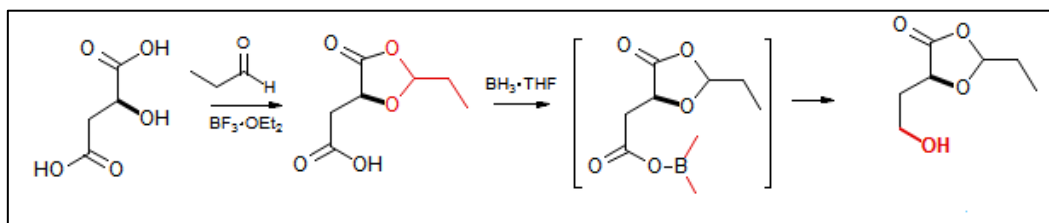


Figura 26: reducción de un ácido carboxílico en presencia de una lactona usando como agente reductor borano.

Durante este estudio se evidenció que el acetoxiborano se reduce más rápidamente que un éster. Por otra parte, *Denmark* expone que, es más sencillo comprender esto si se piensa en el acetoxiborano como un anhídrido mixto entre el ácido carboxílico y ácido bórico. Como se muestra en la figura 27.²⁹

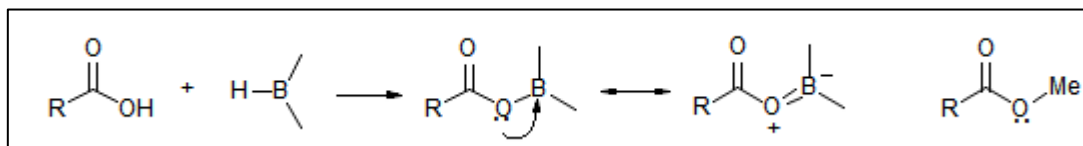


Figura 27: comparación de las estructuras del acetoxiborano intermedio y de un éster carboxílico.

4 Objetivos:

Objetivo general:

- Realizar una reducción selectiva del producto de esterificación de la dihidrotestosterona.

Objetivos específicos:

- Realizar la esterificación en el carbono 17 de la dihidrotestosterona, utilizando los sistemas: anhídrido succínico/ DMAP/ Tolueno y ácido malónico/ DMAP/ Tolueno.
- Realizar la reducción selectiva de ácido carboxílico presente en la dihidrotestosterona esterificada, utilizando $\text{NaBH}_4/\text{BF}_3$.
- Realizar la protección del grupo α -amino de la fenilalanina utilizando para ello el ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético o anhídrido acético con piridina como catalizador.
- Realizar el acoplamiento de la fenilalanina protegida al producto obtenido de la reacción de reducción.
- Caracterizar e identificar compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos.

5 Procedimiento experimental:

- Los solventes y reactivos empleados provienen de Sigma-Aldrich Co., Ltd, Grado HPLC y Síntesis respectivamente.
- Los Espectros Infrarrojo (IR) fueron registrados en un equipo IR-ThermoNicolet Nexos 470 FT EFP, utilizando una pastilla de KBr.
- Para la Cromatografía Capa Fina (CCF) se utilizó como adsorbente silica gel Merck DC-60F54, capa de 0,2 mm de espesor en placas de aluminio.
- Para la cromatografía Preparativa se utilizó placas 20 x 20 de silica-gel 60G Merck con indicador fluorescente a 254 nm y 0,25 mm de espesor.
- Los Espectros de Resonancia Magnética de carbonos ^{13}C -RMN, se registraron en los instrumentos JEOL (270 MHz), BRUKER (300 MHz) y BRUKER (500 MHz). Se utilizó como referencia interna tetrametilsilano (TMS) y los desplazamientos químicos vienen dados en ppm hacia campos bajos de la señal del TMS. Los solventes vienen especificados en cada espectro.
- La Cromatografía de Columna utilizó como soporte silica-gel de Aldrich, 60 Å, con un área de superficie de 500 m² /g y un volumen de 0,75 cm³ /g (70-230 MESH ASTM).

5.1 Esterificación del grupo hidroxilo presente en la dihidrotestosterona (DHT).

5.1.1 Con ácido succínico:

5.1.1.1 Procedimiento A:

A una solución de $0,1546 \pm 0,0003\text{g}$ (1,31 mmol) de ácido succínico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,2955 \pm 0,0003\text{g}$ (1,43mmol) de DCC. La mezcla se sometió a agitación durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,3202 \pm 0,0003\text{g}$ (1,10 mmol) de DHT y 1eq. de DMAP (1,23 mmol). La mezcla se dejó en agitación durante cinco (5) días sin observarse la formación de productos por CCF.

5.1.1.2 Procedimiento B

A una solución de $0,1805 \pm 0,0003\text{g}$ (1,53mmol) de ácido succínico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,3404 \pm 0,0003\text{g}$ (1,65 mmol) de DCC. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,3156 \pm 0,0003\text{g}$ (1,01 mmol) de DHT y 1eq. de DMAP (1,11 mmol). La mezcla se sometió a temperatura de reflujo durante cinco (5) días sin observarse la formación de productos por CCF.

5.1.1.3 Procedimiento C:

A una solución de $0,1994 \pm 0,0003\text{g}$ (1,69mmol) de ácido succínico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,2951 \pm 0,0003\text{g}$ (1,43mmol) de DCC. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,2998 \pm 0,0003\text{g}$ (1,03 mmol) de DHT, 1,3 eq. de DMAP (1,29 mmol) y 2 eq. de TEA seca (1,84 mmol). La mezcla se sometió a temperatura de reflujo durante cinco (5) días sin observarse la formación de productos por CCF.

5.1.1.4 Procedimiento D:

A una solución de $0,1781 \pm 0,0003\text{g}$ (1,51 mmol) de ácido succínico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de tolueno, se le adicionó $0,3219 \pm 0,0003\text{g}$ (1,56 mmol) de DCC. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,3426 \pm 0,0003\text{g}$ (1,18 mmol) de DHT, 1eq. de DMAP ($1,34 \pm 0,02\text{mmol}$) y 2 eq. de TEA

seca (2,56 mmol). La mezcla se sometió a temperatura de reflujo, siguiendo la misma por CCF durante cinco (5) días observándose la formación de dos productos, uno más polar que el material de partida y uno menos polar que este. El rendimiento de esta reacción no fue suficiente para la purificación y caracterización de los productos obtenidos.

5.1.2 Con ácido malónico

5.1.2.1 Procedimiento A:

A una solución de $0,4108 \pm 0,0003\text{g}$ (3,95 mmol) de ácido malónico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,7593 \pm 0,0003\text{g}$ (3,68 mmol) de DCC. La mezcla se sometió a agitación durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,9567 \pm 0,0003\text{g}$ (3,29 mmol) de DHT y 1 eq. de DMAP (3,54mmol). La mezcla se dejó en agitación durante cinco (5) días sin observarse la formación de productos por CCF.

5.1.2.2 Procedimiento B:

A una solución de $0,3692 \pm 0,0003\text{g}$ (3,55 mmol) de ácido malónico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,7056 \pm 0,0003\text{g}$ (3,42 mmol) de DCC. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,9845 \pm 0,0003\text{g}$ (3,39 mmol) de DHT y 1eq. de DMAP (3,54 mmol). La mezcla se sometió a temperatura de reflujo durante cinco (5) días sin observarse la formación de productos por CCF.

5.1.2.3 Procedimiento C:

A una solución de $0,5311 \pm 0,0003\text{g}$ (5,11mmol) de ácido malónico en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de tolueno, se le adicionó $0,7361 \pm 0,0003\text{g}$ (3,57mmol) de DCC. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas. Posteriormente se agregó $0,9938 \pm 0,0003\text{g}$ (3,42mmol) de DHT y 1eq. de DMAP (3,55mmol). La mezcla se sometió a temperatura de reflujo siguiendo la misma por CCF, pasados tres (3) días, se apreció la presencia de un producto más polar y luego de seis días se detuvo la reacción.

La mezcla se disolvió en diclorometano y se realizaron lavados con una solución de HCl al 5%, la capa orgánica se secó con sulfato de calcio anhidro y se evaporó el solvente. La purificación se realizó por cromatografía de columna flash, usando como sistema de solventes benceno-etanol. Se obtuvo $0,0243 \pm 0,0003\text{g}$ ($6,4 \times 10^{-2} \pm 0,02\text{mmol}$) para un rendimiento de 2%.

5.1.3 Con anhídrido succínico

5.1.3.1 Procedimiento A:

A una solución de $0,7684 \pm 0,0003\text{g}$ (2,65 mmol) de DHT en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de tolueno, se le adicionó $0,89063 \pm 0,0003\text{g}$ (8,90 mmol) de anhídrido succínico, 1,2 eq. (3,18 mmol) de DMAP y luego 1,4 eq. (3,72 mmol) de piridina seca. La mezcla fue sometida a temperatura de reflujo, siguiendo la misma por CCF pasados cuatro(4) días, se apreció la presencia de un producto más polar y luego de seis (6) días se detuvo la reacción.

La mezcla se disolvió en diclorometano y se realizaron lavados con una solución de HCl al 5%, la capa orgánica se secó con sulfato de calcio anhidro y se evaporó el solvente. La purificación se realizó por cromatografía de columna flash, usando como sistema de solventes benceno-etanol. Se obtuvo $0,1969 \pm 0,0003\text{g}$ (0,50 mmol) para un rendimiento de 19%.

5.1.3.2 Procedimiento B:

A una solución de $1,4895 \pm 0,0003\text{g}$ (5,12 mmol) de DHT en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de cloroformo, se le adicionó $0,5762 \pm 0,0003\text{g}$ (5,76mmol) de anhídrido succínico, 1,0 eq. (5,36mmol) de DMAP y luego 1,4 eq. (7,17mmol) de trietilamina seca (TEA). La mezcla fue sometida a temperatura de reflujo. Pasados cinco (5) días, no se apreció la formación de algún producto por CCF.

5.1.3.3 Procedimiento C:

A una solución de $1,4965 \pm 0,0003\text{g}$ (5,15 mmol) de DHT en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de TEA seca, se le adicionó $0,5772 \pm 0,0003\text{g}$ (5,77 mmol) de anhídrido succínico y 1,0 eq. (5,34 mmol) de DMAP. La mezcla fue sometida a temperatura de reflujo,

siguiendo la misma por CCF pasados cuatro (4) días, se apreció la presencia de un producto más polar y luego de seis (6) días se detuvo la reacción.

La mezcla se disolvió en diclorometano y se realizaron lavados con una solución de HCl al 5%, la capa orgánica se secó con sulfato de calcio anhidro y se evaporó el solvente. La purificación se realizó por placas preparativas, usando como sistema de solventes una mezcla 95:5 tolueno:acetona. Se obtuvo $0,5697 \pm 0,0003\text{g}$ ($1,46 \text{ mmol}$) para un rendimiento de 28%.

5.1.3.4 Procedimiento D:

A una solución de $1,0188 \pm 0,0003\text{g}$ ($3,5\text{mmol}$) de DHT en $20,0 \pm 0,1\text{mL}$ de piridina seca, se le adicionó $0,7695 \pm 0,0003\text{g}$ ($7,96 \text{ mmol}$) de anhídrido succínico y $2,0\text{eq.}$ ($7,11\text{mmol}$) de DMAP. La mezcla fue sometida a temperatura de reflujo, siguiendo la misma por CCF, pasados cuatro (4) días, se apreció la presencia de un producto más polar y luego de seis días (6) se detuvo la reacción.

La mezcla se disolvió en diclorometano y se realizaron lavados con una solución de HCl al 5%, la capa orgánica se secó con sulfato de calcio anhidro y se evaporó el solvente. La purificación se realizó por placas preparativas, usando como sistema de solventes una mezcla 95:5 tolueno:acetona v/v. Se obtuvo $0,2244 \pm 0,0003\text{g}$ ($0,57 \text{ mmol}$) para un rendimiento de 16%.

5.2 Reducción selectiva del grupo ácido presente en el monoéster succínico de la dihidrotestosterona con diborano:

En un balón aforado de dos bocas (B) (ver figura 28) se añadió 100 g de bicarbonato de sodio y mediante un embudo de adición (A) se agregó gota a gota ácido acético al 20 %, el dióxido de carbono generado en (B) se hizo pasar por todo el sistema, el balón generador de diborano (C) contenía ($2,0159 \pm 0,00001$; $53,29\text{mmol}$) borohidruro de sodio, por medio de un embudo de adición (D) se goteaba lentamente éterato de trifluoruro de boro sobre el borohidruro de sodio con constante agitación. El gas producido (diborano) se hizo burbujear a través de un tubo de vidrio, el cual tenía en su extremo una piedra pómez, en una solución de ($0,1040 \pm 0,00001\text{g}$; $0,266\text{mmol}$) del monoéster succínico de la DHT en una mezcla

dioxano/tetrahidrofurano en un tercer balón (E), finalmente el hidrógeno sin reaccionar fue disuelto en una trampa de peróxido de hidrógeno (F), el proceso de reacción se llevó a cabo. Una vez terminada la generación de diborano (al agregar eterato de trifluoroborano no se observó burbujas en el balón E) se dejó reposar el alquilborano durante un periodo de una (1) hora, se añadió una 25ml de una solución de NaOH 5% gota a gota y 15ml de peróxido de hidrogeno al 30% con agitación durante un (1) día para completar la oxidación del exceso del agente reductor. Se separó la capa acuosa de la capa orgánica y esta se dejó secar. Al realizar CCF se pudo corroborar la desaparición del material de partida y la presencia de un producto menos polar que el monoèster succínico de DHT. Se obtuvo ($0,0811 \pm 0,0003$ g; $0,22$ mmol) y un rendimiento del 81%.

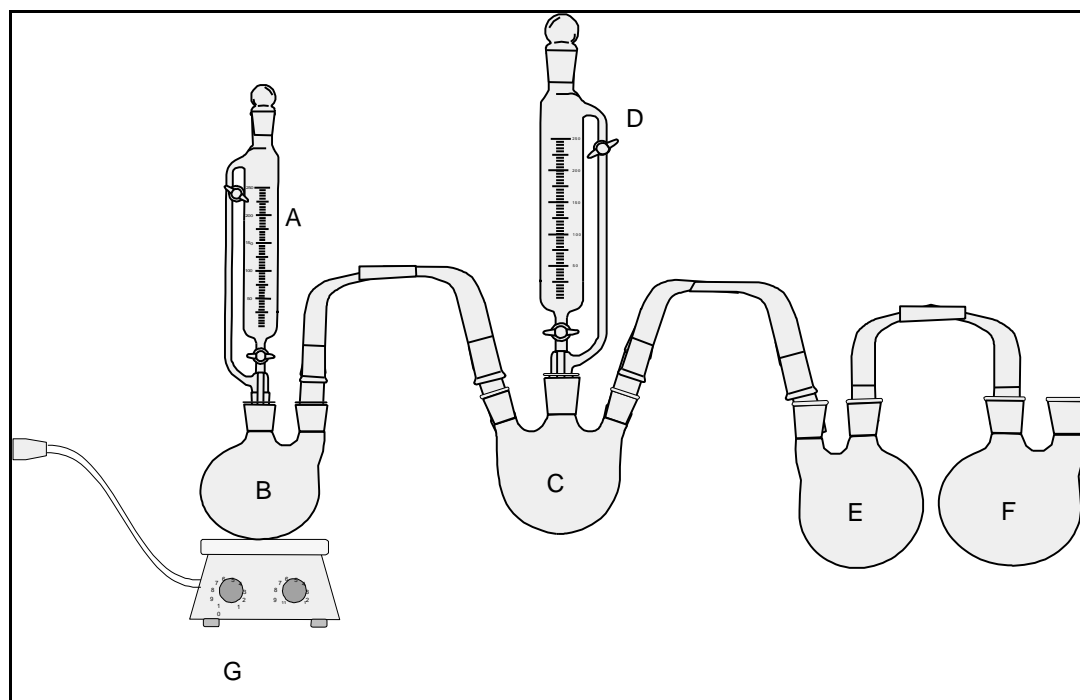


Figura 28: montaje para la reducción selectiva con diborano

5.3 Protección de la fenilalanina:

En un balón de fondo redondo se colocó $2,0356 \pm 0,0003$ g ($12,33$ mmol) de fenilalanina, $15,0 \pm 0,1$ ml de ácido trifluoroacético y cantidades catalíticas de piridina seca, la mezcla se colocó en reflujo por nueve (9) horas siguiendo la misma por CCF utilizando ninhidrina como revelador. La mezcla de reacción se disolvió en agua y se realizaron extracciones con diclorometano, las fracciones

orgánicas se unieron y secaron con sulfato de calcio anhidro. Se evaporó el solvente y el producto se recristalizó en agua caliente (alrededor de los 80°C). El producto protegido se obtuvo $0,4405 \pm 0,0003\text{g}$ (1,69 mmol), 14% de rendimiento y punto de fusión de 91-94°C.

5.4 Acoplamiento de aminoácido a producto obtenido de la reacción de reducción.

A una solución de $0,1176 \pm 0,0003\text{g}$ (0,45mmol) aminoácido protegido en dimetilformamida, se agregó $0,1379 \pm 0,0003\text{g}$ (0,67 mmol) DCC, la mezcla se colocó en reflujo durante 24 horas en atmósfera inerte. Luego se agregó $0,0811 \pm 0,0003\text{g}$ (0,22mmol) del alcohol obtenido en el procedimiento de reducción y se colocó nuevamente a temperatura de reflujo, siguiendo la reacción por CCF. Pasadas 96 horas de reflujo se disolvió la mezcla con diclorometano y realizaron lavados con HCl 5%, con NaOH al 10% y agua destilada. Se secó con sulfato de magnesio la capa orgánica. Los productos de reacción se separaron utilizando cromatografía de columna flash, eluyendo con el sistema de solvente tolueno:acetona. Se obtuvo $0,0139 \pm 0,0003\text{g}$ (0,022mmol) de producto con un rendimiento de 10%.

6 Resultados y discusiones:

6.1 Esterificación del grupo hidroxilo presente en la dihidrotestosterona (DHT):

6.1.1 Con ácido succínico procedimientos A, B, C y D:

- Síntesis del Ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico:

Para la síntesis ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico utilizando ácido succínico se empleó la diciclohexilcarbodiimida (DCC) con el fin de que la misma actuara como un agente activador de ácido carboxílico.¹⁶ Ya que estos últimos son poco reactivos a ataques nucleofílicos. Además se utilizó la 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), la cual es ampliamente conocida como catalizador nucleofílico en reacciones de esterificación^{10,17,18,19,20,21}. El mecanismo de reacción del par DCC/DMAP en la esterificación de ácidos carboxílicos se muestra en la figura 29.

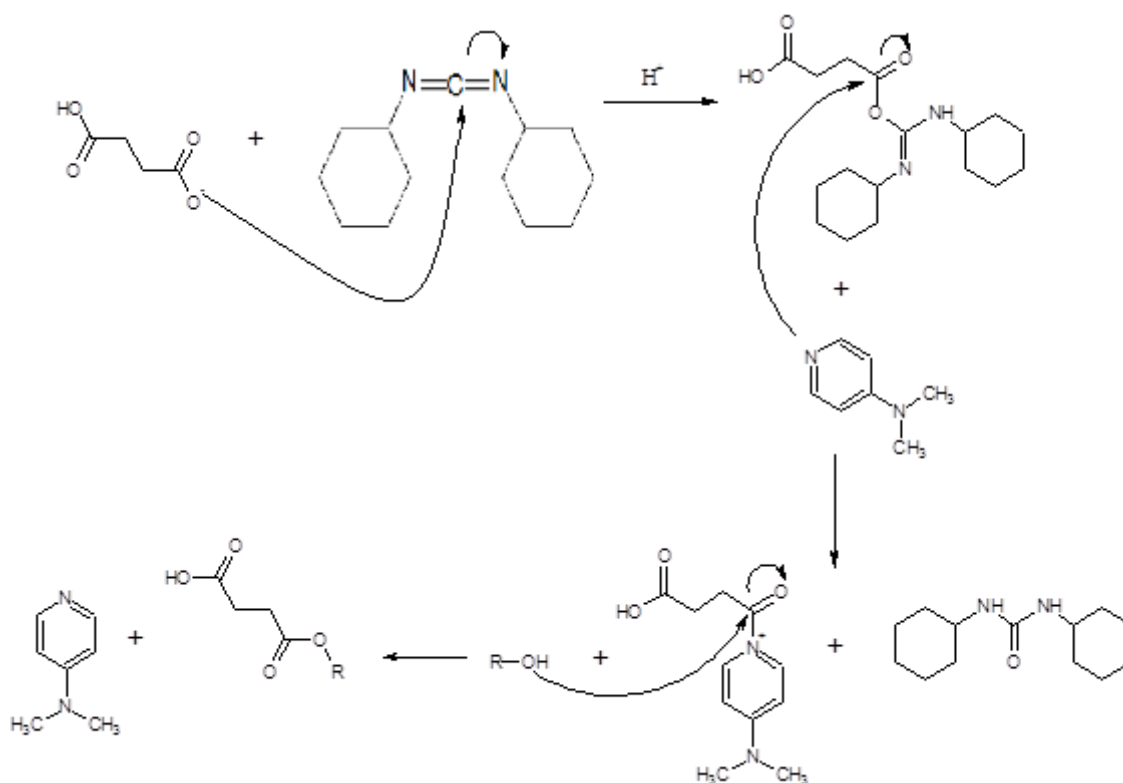


Figura 29: mecanismo de reacción de la esterificación de alcoholes en presencia de DCC/DMAP.

Los procedimientos realizados para la esterificación con ácido succínico utilizando el sistema DCC/DMAP se encuentran planteados en la figura 30. En todos los casos se añadió primero el ácido succínico junto con la diciclohexilcarbodiimida y se dejó reaccionar los mismos por tres horas con el fin de favorecer la formación del intermediario O-monosuccildiciclohexilurea.

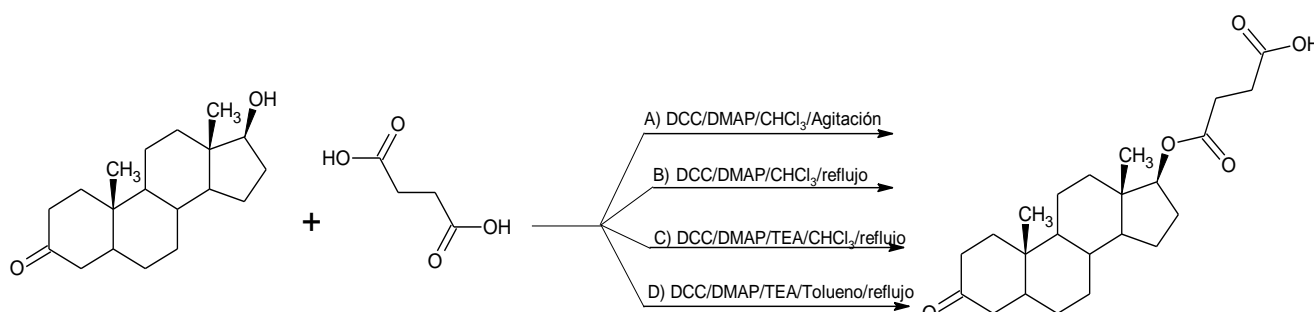


Figura 30: Esquema de procedimientos empleados para la esterificación de la DHT con ácido succínico.

En primer lugar se llevó a cabo el procedimiento A el cual se realizó a temperatura ambiente ya que se esperaba que, como fue descrito en el 2001 por *Berry y col.*¹⁹ en la revisión bibliográfica sobre las condiciones en las cuales la DMAP mejoras rendimientos en reacciones de esterificación, la esterificación utilizando el sistema DCC/DMAP se diera a temperatura ambiente y en un lapso de tiempo reducido. Sin embargo, luego de cinco (5) días no se observó formación alguna de productos. Por lo cual, se realizó el procedimiento B colocando la mezcla a temperatura de reflujo (61,2 °C) con el fin de aumentar la energía cinética de las moléculas y así favorecer la transformación de reactantes a productos, todo esto sin obtener los resultados esperados. Esto pudo ser consecuencia de que, al trabajar con diácidos, la acción catalítica de la DMAP puede ser inhibida por la reacción ácido-base entre esta última y el centro ácido del intermediario O-monosuccildiciclohexilurea. En este caso podría generarse un ataque nucleofílico intramolecular del ión carboxilato generando el anhídrido succínico y diciclohexilurea. (Ver figura 31).

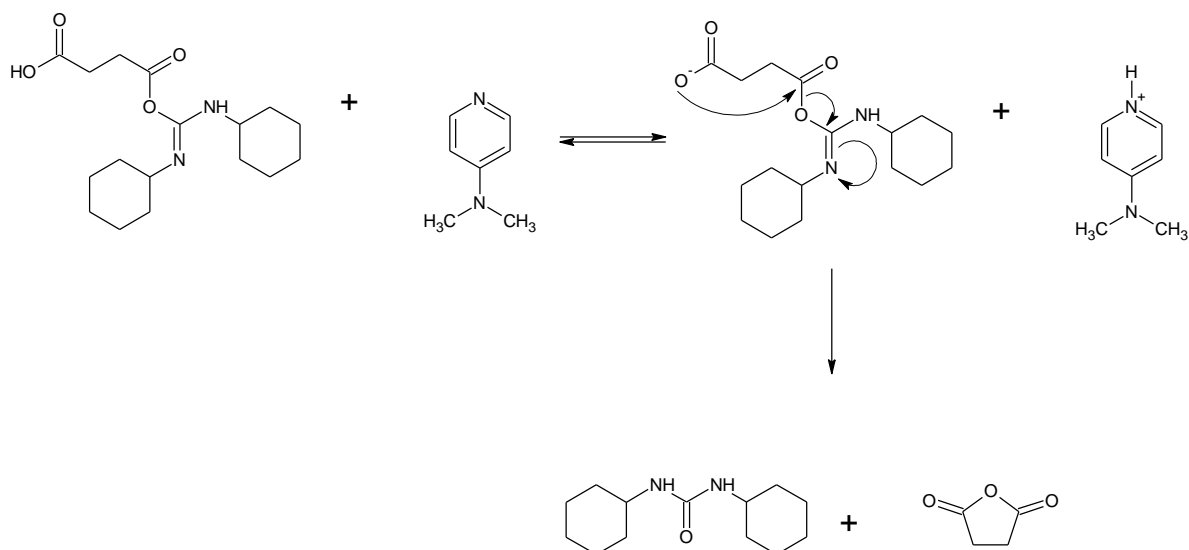


Figura 31: mecanismo de reacción de la formación de productos colaterales en ausencia de base auxiliar.

Tomando en cuenta estas experiencias se realizó el procedimiento C en el cual se utilizó como base auxiliar la trietilamina. Aun en estas condiciones no se observó la formación de productos. En el procedimiento D se cambió el solvente a tolueno, con punto de ebullición de 110,16°C, ya que probablemente la temperatura alcanzada al utilizar cloroformo como solvente de la reacción era insuficiente para la conversión de reactantes a productos. En este último caso, si se observó por cromatografía de capa fina (CCF) la formación de 2 productos, uno más polar que la dihidrotestosterona, posible monoéster succínico; y un producto menos polar que ésta, que posiblemente se trataba del producto de deshidratación del anillo D de la DHT. Se hace evidente que el aumento indiscriminado de la temperatura de reacción favorece la formación de productos colaterales, posiblemente producto de deshidratación, por encima del producto de esterificación. Esto posiblemente se deba a dos factores. En primer lugar, es conocido que un aumento de temperatura favorece los productos de eliminación. Por otra parte, el DCC es un agente deshidratante de alcoholes, el mecanismo de deshidratación de alcoholes con DCC se encuentra descrito en la figura 32. Aun cuando el procedimiento D generó un producto más polar que posiblemente se trate del monoéster succínico, los resultados cromatográficos no fueron concluyentes para la purificación y caracterización de los productos obtenidos.

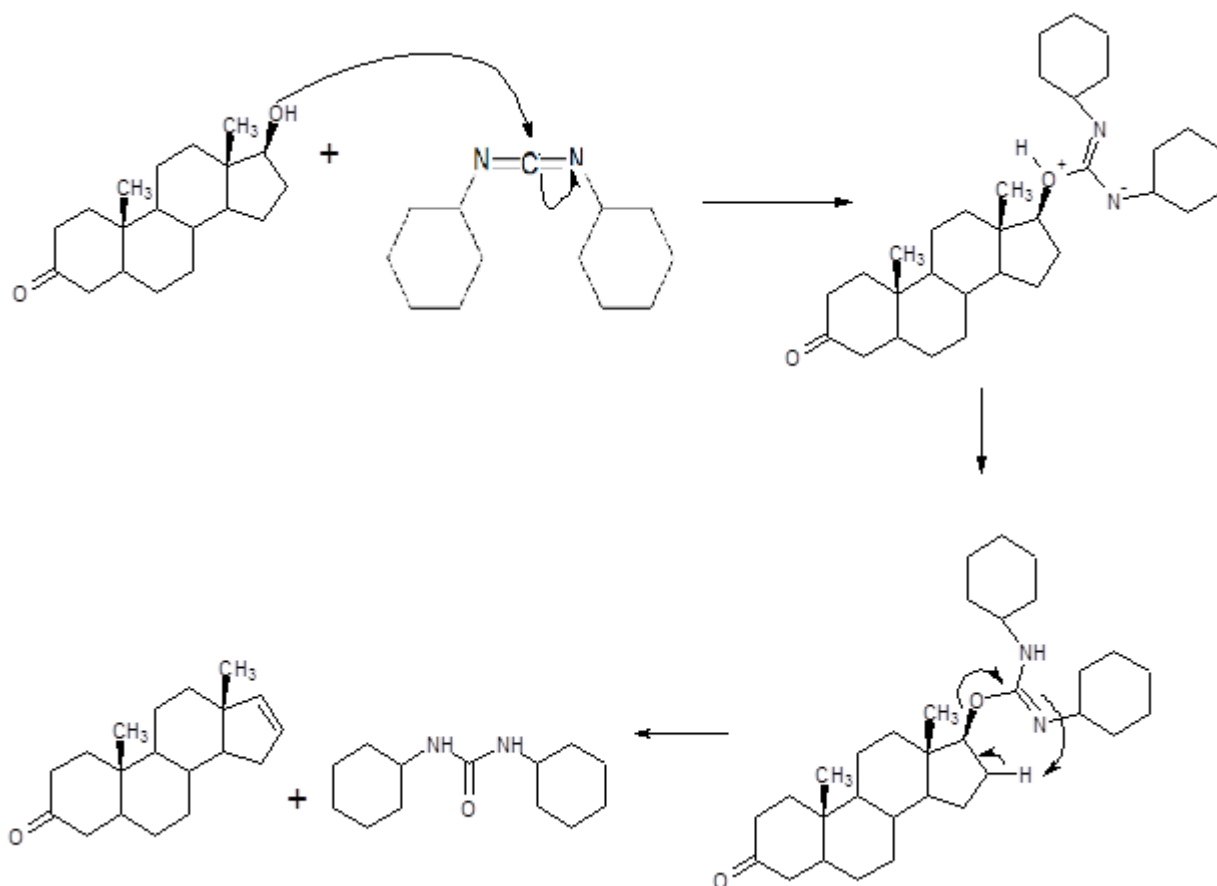


Figura 32: mecanismo de deshidratación de alcoholes con DCC.

6.1.2 Con ácido malónico, procedimientos A, B y C:

- Síntesis del ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carboniletanoico.

De la misma forma que en la esterificación con ácido succínico, en la síntesis del ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan) carboniletanoico se utilizó el sistema DCC/DMAP. Los tres procedimientos empleados se muestran en la figura 33. Los procedimientos A y B fueron realizados de igual forma que en el caso ácido succínico sin la obtención de resultados esperados. Por otra parte, en el procedimiento C se utilizó como solvente tolueno, de mayor punto de ebullición (110,16°C) observándose por CCF, luego de seis días de reflujo, la formación de un producto más polar que la DHT. Sin embargo una vez realizado el procedimiento de purificación por cromatografía de columna flash, se obtuvo un

rendimiento muy bajo (2%). Esto puede deberse, como se explicó en el caso anterior, que en ausencia de una base auxiliar, puede producirse la formación de productos intermediarios mediante el mecanismo descrito en la figura 31.

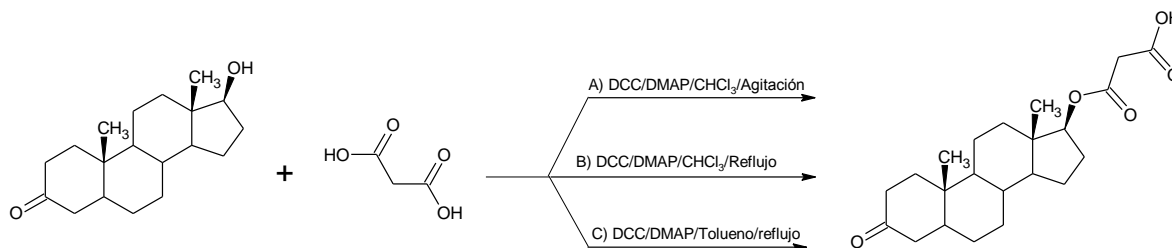


Figura 33: Esquema de procedimientos empleados para la esterificación de la DHT con ácido malónico.

En la tabla N° 5 se muestran los datos espectroscópicos correspondientes al espectro N°2 donde se muestra una señal en 3500-2500 cm⁻¹ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de los grupos COOH que están asociados por fuerzas intermoleculares tipo puentes de hidrógeno; en 2926,4cm⁻¹ y 2854,4 cm⁻¹ atribuibles a las vibraciones de tensión de los enlaces Csp³-H (-CH₂- y -CH₃, respectivamente); 1740,4 cm⁻¹ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces C=O, mientras que en 1449,7cm⁻¹y 1381,3cm⁻¹ las señales presentes son atribuibles a las vibraciones de deformación asimétricas y simétricas de los enlaces Csp³-H. Además en 1272,2 cm⁻¹ y 1168,8cm⁻¹ el espectro presenta dos señales, típicas de las vibraciones de tensión asimétricas y simétricas de los enlaces C-O de los esterés.

Tabla N° 5: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de esterificación con ácido malónico.

cm^{-1}	Forma	Intensidad	Asignación
3500-2500	Muy ancha	Media	v-O-H
2926,4	Aguda	Alta	v-Csp ³ -H
2854,4	Aguda	Alta	v-Csp ³ -H
1740,4	Aguda	Alta	v-C=O
1449,7	Aguda	Media	δ -Csp ³ -H asim
1381,3	Poco aguda	Baja	δ - Csp ³ -H sim
1272,2	Aguda	Baja	v-C-O asim
1168,8	Aguda	Baja	v-C-O sim

v= modo tensión, δ = modo deformación.

Al comparar el espectro obtenido del producto esterificado con el del material de partida, dihidrotestosterona (espectro N°1), se hace evidente que en el material de partida la señal de $3261,4 \text{ cm}^{-1}$ es ancha y de intensidad media, típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de alcoholes asociados por puentes de hidrógenos intermoleculares. Mientras que, en el producto ésta señal cambia por una señal que va de 3500 cm^{-1} a 2500 cm^{-1} mucho más ancha y que, como ya se explicó anteriormente es típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de ácidos carboxílicos asociados. Por otra parte en el material de partida se observa una señal en $1075,3$ atribuible a las vibraciones de los enlaces C-O de alcoholes secundarios. En el producto por su parte, dicha señal desaparece y en su lugar, este presenta señales en $1272,2 \text{ cm}^{-1}$ y $1168,8 \text{ cm}^{-1}$ ambas típicas de las vibraciones de tensión del enlace C-O de esteres carboxílicos.

Sin embargo, el producto esperado (ver figura 34) presenta un grupo ácido carboxílico, un éster y una cetona cíclica de seis miembros, y debido a los resultados espectroscópicos obtenidos en el espectro IR del compuesto, se realizó la deconvolución en el área del carbonilo (deconvolución N°1), donde se evidencia que la señal de $1740,4 \text{ cm}^{-1}$ está compuesta por dos señales, una centrada en $1741,6 \text{ cm}^{-1}$ la cual es atribuible a las vibraciones de tensión de los

enlaces C=O de ésteres y otra en $1718,5\text{cm}^{-1}$. Esta última es muy probable que se trate de dos señales superpuestas, los enlaces carbonílicos de la cetona cíclica y los enlaces carbonílicos del ácido carboxílico ya que ambos grupos carbonílicos tienen frecuencias de vibración de enlaces muy similares entre sí (alrededor de 1710cm^{-1}).

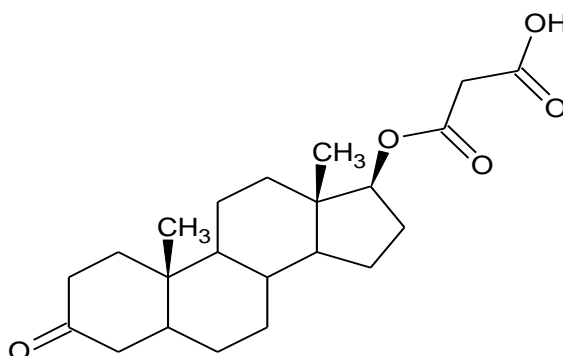


Figura 34: estructura del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanoico.

6.1.3 Con anhídrido succínico, procedimientos A, B C Y D:

- Síntesis del Ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanoico:

La síntesis del ácido 17-(3-oxo-17β-il-5α-androstan)carbonilpropanoico, utilizando anhídrido succínico, se realizó empleando tanto el método propuesto en el 2007 por *Chung y co^lo*, como el propuesto en el 2012 por *Diaz²¹*. Además, se emplearon modificaciones de estos con el fin de estudiar la influencia de los diferentes cambios realizados sobre el rendimiento de dicha síntesis.

A continuación, en la figura 35, se presenta un esquema de los 4 procedimientos empleados:

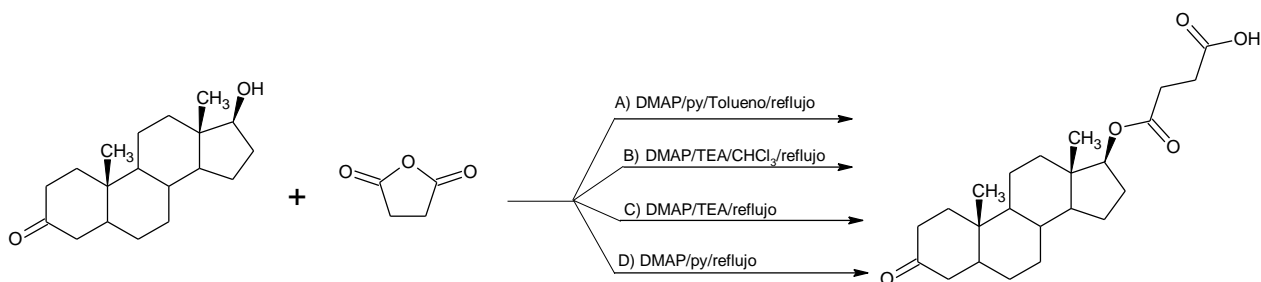


Figura 35: Esquema de procedimientos empleados para la esterificación de la DHT con ácido succínico.

El producto esterificado fue obtenido en todos los caso exceptuando el procedimiento B. Esto puede ser consecuencia de que la temperatura de ebullición del cloroformo es baja (61,2°C) para lograr la conversión de reactantes al producto esterificado. Sin embargo, es posible que el tiempo de reacción también haya sido insuficiente para obtener dicha conversión. Cabe acotar que, en la estructura de la dihidrotestosterona, el grupo hidroxilo presente está impedido estéricamente para las reacciones de esterificación por el metilo angular en el carbono 13.

En todos los casos, el uso tanto de trietilamina (TEA) como de piridina (py), se realizó con el fin de que éstas actuarán como base auxiliar del catalizador, 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP). En la figura 36 se muestra el mecanismo de la reacción de esterificación utilizando DMAP como catalizador y TEA o piridina como base auxiliar.

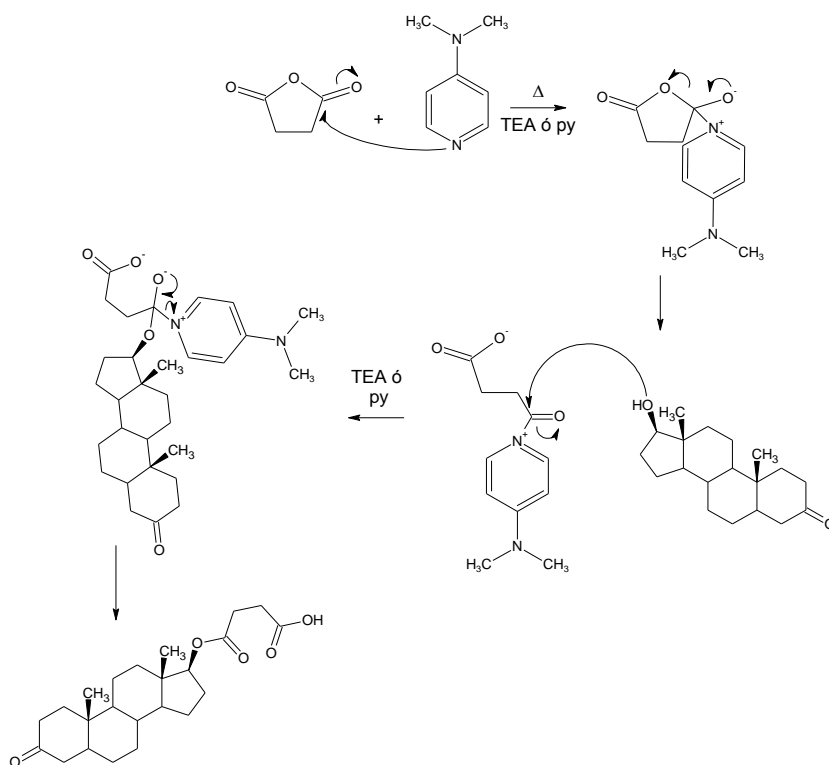
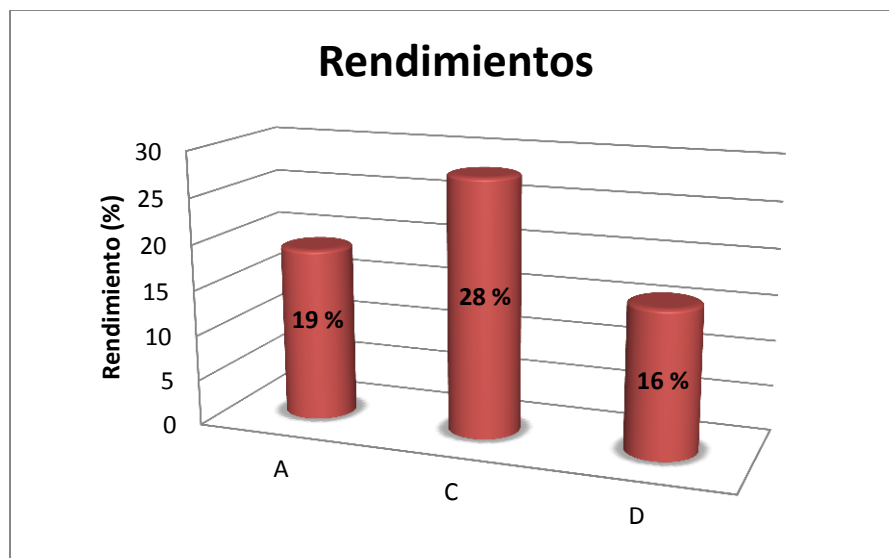


Figura 36: mecanismo de la reacción utilizando DMAP como catalizador y TEA o piridina como base auxiliar.

Gráfico N°1: Rendimientos de los procedimientos de esterificación con anhídrido succínico A, C y D.



En el gráfico N°1 se muestra los rendimientos obtenidos en cada uno de los procedimientos, al realizar una comparación entre los procedimientos C y D se observa que ambos solventes utilizados, trietilamina y piridina respectivamente, son bases orgánicas, la diferencia entre los rendimientos obtenidos puede ser debida a la diferencia estructural entre ellas (ver figura 37), ya que en la piridina el átomo de nitrógeno que presenta el par de electrones libres tiene una hibridación sp^2 , mientras que en la trietilamina el átomo de nitrógeno tiene hibridación sp^3 . Es evidente, que a mayor carácter s un átomo es más electronegativo, lo que hace que el par de electrones en el átomo de nitrógeno de la trietilamina estén más disponibles que en el caso de la piridina. Todo esto se evidencia en los valores pK_b reportados en la literatura para las bases empleadas en el procedimiento experimental. La piridina tiene un valor de pK_b de 8,70, por su parte, la trietilamina tiene un valor de pK_b de 3,28. Por lo tanto la trietilamina es mejor base auxiliar que la piridina aumentando así el rendimiento del producto de esterificación en el procedimiento C.

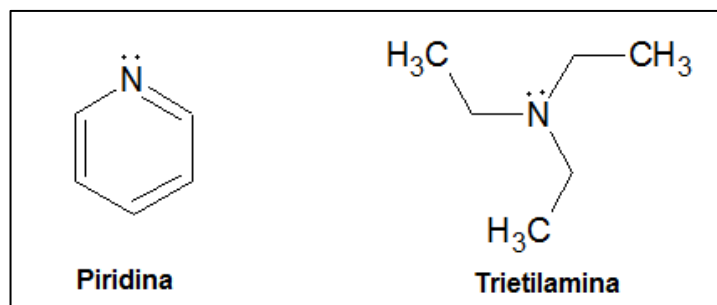


Figura 37: estructuras de la piridina y de la trietilamina.

Además, al comparar los procedimientos experimentales A y D, se observa que el catalizador, la base auxiliar y el tiempo de reacción son los mismos, difiriendo solo la temperatura de reflujo en cada caso (solventes empleados). La diferencia entre los rendimientos obtenidos puede deberse entonces a que un aumento indiscriminado de la temperatura de ebullición en el procedimiento de obtención del éster puede favorecer la obtención de productos colaterales como el producto de deshidratación del anillo D de la dihidrotestosterona. En la tabla N° 6 se muestran las temperaturas de ebullición de los solventes empleados en los procedimientos A y C:

Tabla N° 6: Temperaturas de ebullición de los solventes empleados en la esterificación con anhídrido succínico, procedimientos A y C:

Solvente	Tolueno	Piridina
Pto. De ebullición	110,16 °C	115,2 °C

Es importante destacar que los procedimientos de purificación de los productos obtenidos fueron bastante engorrosos, ya que la diferencia entre los factores de retención (retention factor, Rf) entre el material de partida y el producto esterificado era bastante pequeña. Además se observaba la difuminación de los componentes, por lo cual, existieron pérdidas importantes de producto en dicho proceso.

A los tres productos obtenidos se les determinó su punto de fusión y Rf en 2 sistemas diferentes, en la tabla N° 7 se muestran los resultados obtenidos:

Tabla N° 7: Puntos de fusión y Rf de los productos obtenidos en la esterificación con anhídrido succínico, procedimientos A, C y D:

Procedimiento	Rf en heptano:acetona (70:30; v/v)	Rf en acetona (100%)	Pto. De fusión (°C)
A	0,21	0,71	150-153
C	0,21	0,71	151-154
D	0,21	0,71	148-153

Con los resultados obtenidos se constató que los productos obtenidos en los diferentes procedimientos son el mismo compuesto, por lo cual se unieron y se tomó un espectro de infrarrojo para la caracterización del mismo. En la tabla N° 8 se muestran los datos espectroscópicos correspondientes al espectro N° 3 donde se muestra una señal en $3500-2500\text{ cm}^{-1}$ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de los grupos COOH que están asociados por fuerzas intermoleculares tipo puentes de hidrógeno; en $2929,71\text{ cm}^{-1}$ y $2852,3\text{ cm}^{-1}$ atribuibles a las vibraciones de tensión de los enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$ ($-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$, respectivamente); $1729,79\text{ cm}^{-1}$ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces C=O, mientras que en $1445,84\text{ cm}^{-1}$ y $1381,09\text{ cm}^{-1}$ las señales presentes son atribuibles a las vibraciones de deformación asimétricas y simétricas de los enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$. Además en $1215,48\text{ cm}^{-1}$ y $1168,35\text{ cm}^{-1}$ el espectro presenta señales de intensidad media a alta y de forma aguda, ambas señales son típicas de las vibraciones de tensión asimétricas y simétricas de los enlaces C-O de los esteres.

Tabla N° 8: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de esterificación con anhídrido succínico.

cm^{-1}	Forma	Intensidad	Asignación
3500-2500	Muy ancha	Media	v-O-H
2929,71	Poco aguda	Alta	v-Csp ³ -H
2852,3	Poco aguda	Alta	v-Csp ³ -H
1729,79	Aguda	Alta	v-C=O
1445,84	Aguda	Media	δ - Csp ³ -H asim
1381,09	Poco aguda	Media	δ - Csp ³ -H sim
1215,48	Aguda	Media	v-C-O asim
1168,35	Aguda	Alta	v-C-O sim

v= modo tensión, δ = modo deformación.

Al comparar dicho espectro con el del material de partida, dihidrotestosterona (espectro N° 1), se puede observar que en el material de partida la señal de $3261,4 \text{ cm}^{-1}$ es ancha y de intensidad media, típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de alcoholes asociados por puentes de hidrógenos intermoleculares. Mientras que, en el producto esta señal cambia por una señal que va de 3500 cm^{-1} a 2500 cm^{-1} mucho más ancha y que, como ya se explicó anteriormente es típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de ácidos carboxílicos asociados. Además, en el material de partida se observa una señal en $1075,3$ atribuible a las vibraciones de los enlaces C-O de alcoholes secundarios. En el producto por su parte, dicha señal no se observa, pero en su lugar, este presenta señales en $1068,35 \text{ cm}^{-1}$ y en $1215,48 \text{ cm}^{-1}$ ambas típicas de las vibraciones de tensión del enlace C-O de esteres carboxílicos.

Sin embargo, el producto esperado (ver figura 38) presenta un grupo ácido carboxílico, un éster y una cetona hexacíclica, y debido a los resultados espectroscópicos obtenidos en el espectro IR del compuesto, se realizó la deconvolución alrededor de 1700 cm^{-1} (deconvolución N°2), donde se evidencia

que la señal de $1729,79\text{ cm}^{-1}$ está compuesta por dos una centrada en $1733,20\text{ cm}^{-1}$ (atribuible a las vibraciones de tensión de los enlaces C=O de esteres) y otra en $1712,03\text{ cm}^{-1}$ es muy probable, que esta última, se trate de 2 señales superpuestas de los enlaces carbonílicos de la cetona cíclica y del carbono carbonílico del ácido carboxílico los cuales tienen señales reportadas en la bibliografía alrededor de 1710 cm^{-1} .

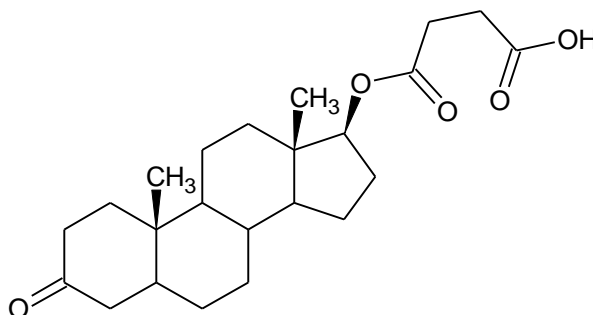


Figura 38: estructura del Ácido 17-(3-oxo-17β-17β-5α-androstan)carbonilpropanoico.

En este mismo sentido, se compararon los datos obtenidos con los reportados por *Díaz*²¹ en la esterificación de la DHT. En primer lugar el punto de fusión del producto obtenido es igual que el reportado por *Díaz*²¹, alrededor de $(150-153)^{\circ}\text{C}$. Además, el espectro N° 3 se comparó con el espectro del monoéster succínico de la DHT obtenido por *Díaz*²¹ observándose que ambos espectros son muy similares. Estos resultados evidencian que se trata de del mismo compuesto pero además, *Díaz* logro caracterizar dicho compuesto por espectroscopia de RMN observando que la estructura del producto obtenido es la mostrada en la figura 38. Por lo tanto, se puede decir que el producto obtenido en la esterificación de la DHT con anhídrido succínico por los procedimientos A, C y D está representado por la estructura descrita en la figura 38. Otra forma de acercarse a la identificación del producto fue sometiéndolo a una reducción selectiva del ácido carboxilato. De estar presente ambos grupos funcionales (éster y ácido) la reducción con diborano daría un producto el cual mostraría solo las bandas características del éster y la de un alcohol secundario.

6.2 Reducción selectiva con diborano:

- Síntesis del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol

La síntesis del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol se llevó a cabo empleando el método de generación de diborano propuesto en 1958 por *H.C Brown*,²⁴ donde el diborano es generado a partir de la reacción entre el eterato de trifluoroborano y el borhidruro de sodio, según Brown, en cantidades estequiométricas. (Ver figura 39).

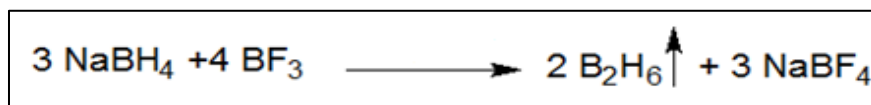


Figura 39: generación de diborano (balón C).

Como se evidencia en la metodología experimental, el diborano fue generado *in vitro*. La reacción de reducción (balón E) se llevó a cabo utilizando como solvente una mezcla tetrahidrofurano:dioxano, esto debido a que el monoéster succínico de la DHT es soluble en dioxano y muy poco soluble en THF. En la figura 40 se muestra la reacción de reducción del monoéster succínico de la DHT con diborano.

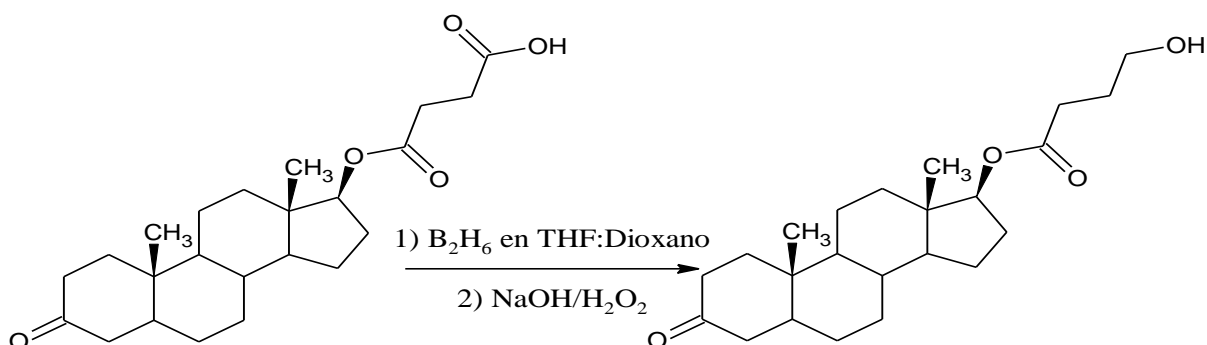


Figura 40: Reacción de reducción con diborano del monoéster succínico de la dihidrotestosterona

El procedimiento experimental fue llevado a cabo en primera instancia haciendo burbujear el gas diborano a través de un cilindro de vidrio en la solución del esteroide esterificado. Al culminar el proceso de reducción y realizar la comparación por cromatografía de capa fina del producto obtenido con el monoéster succínico de la DHT, se pudo apreciar la formación de un producto menos polar que el monoéster; sin embargo, también se observaba la presencia de material de partida. El rendimiento de esta reacción fue tan bajo que no fue posible realizar la caracterización del producto obtenido. El procedimiento se repitió colocando al final del tubo de burbujeo del gas un sólido poroso (piedra pómez) con el fin formar un burbujeo más eficiente (muchas burbujas pequeñas) favoreciendo así la difusión del gas, aumentando la superficie de contacto entre el gas y esteroide. En este último caso, el rendimiento obtenido (81%) evidencia la importancia de crear una mayor superficie de contacto entre los reactantes.

El producto obtenido resulto ser un aceite viscoso, color amarillo claro. A dicho producto se le realizó un espectro de IR en CHCl_3 . En la tabla N° 9 se muestran los datos espectroscópicos correspondientes al espectro N°4 donde se observa una señal ancha de intensidad media en $3431,5 \text{ cm}^{-1}$ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H de alcoholes que se encuentran asociados intermolecularmente por fuerzas del tipo puente de hidrógeno; en $2955,6 \text{ cm}^{-1}$ y $2879,5 \text{ cm}^{-1}$ bandas atribuibles a las vibraciones de tensión de los enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$ ($-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$), respectivamente; en $1734,1 \text{ cm}^{-1}$ una señal típica de las vibraciones de tensión de los enlaces C=O, mientras que en $1446,3 \text{ cm}^{-1}$ y $1354,9 \text{ cm}^{-1}$ bandas atribuibles a las vibraciones de deformación asimétricas y simétricas de los enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$. Además en $1179,3 \text{ cm}^{-1}$ y $1121,8 \text{ cm}^{-1}$ se aprecian dos señales, ambas típicas de las vibraciones de tensión asimétricas y simétricas de los enlaces C-O de los ésteres. También en $1039,6 \text{ cm}^{-1}$ existe una señal típica de las vibraciones de tensión de los alcoholes primarios.

Tabla N° 9: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de reducción con diborano.

cm^{-1}	Forma	Intensidad	Asignación
3431,5	Ancha	Media-Baja	v-O-H (asociado)
2955,6	Aguda	Alta	v-Csp ³ -H
2879,5	Poco aguda	Alta	v-Csp ³ -H
1734,1	Aguda	Alta	v-C=O
1446,3	Aguda	Baja	δ - Csp ³ -H asim
1354,9	Poco aguda	Baja	δ - Csp ³ -H sim
1179,3	Aguda	Media	v-C-O asim (éster)
1121,8	Aguda	Alta	v-C-O sim (éster)
1039,6	Aguda	Alta	v-C-O (CH_2 -OH)

Debido a que el producto esperado tiene dos grupos carbonilos en su estructura, se realizó la deconvolución en el área del carbonilo del espectro obtenido. Al observar la misma (deconvolución N°3) se hace evidente que la señal en $1734,1 \text{ cm}^{-1}$ está constituida por dos señales, una centrada en $1717,6 \text{ cm}^{-1}$ la cual está asociada a las vibraciones de tensión de los enlaces C=O de cetonas hexacíclicas. La segunda señal centrada en $1734,9 \text{ cm}^{-1}$ típica de las vibraciones de tensión de los enlaces C=O de ésteres.

Además al comparar el espectro obtenido del producto de reducción (espectro N°4) con el espectro del monoéster succínico de la dihidrotestosterona (espectro N°3), se hace evidente que en el área de $3500\text{-}2500 \text{ cm}^{-1}$ el monoéster presenta señales características de enlaces O-H de ácidos carboxílicos asociados, mientras que en el producto de reducción la señal en $3431,1 \text{ cm}^{-1}$ es propia de enlaces O-H de alcoholes como ya se explicó. Además, en el espectro del producto obtenido se evidencia una señal en $1039,6 \text{ cm}^{-1}$ de alta intensidad y estrecha la cual no se observaba en el monoéster succínico y es típica de los enlaces C-O de alcoholes primarios.

Todos resultados espectroscópicos obtenidos evidencian que, ciertamente, se obtuvo el producto de la reducción selectiva de un grupo ácido carboxílico a su alcohol primario, en presencia de los grupos éster y cetona del monoéster succínico de la dihidrotestosterona. En la figura 41 se muestra la estructura del alcohol obtenido.

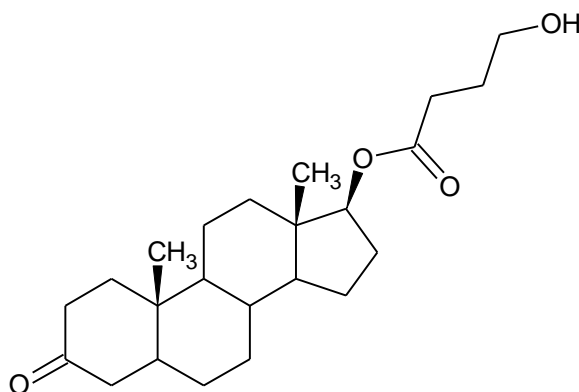


Figura 41: estructura del alcohol 17-(3-oxo-17β-11-5α-androstan)carbonilpropanol obtenido a partir de la reducción selectiva del ácido carboxílico presente en el monoéster succínico de la DHT.

6.3 Protección de la fenilalanina con ácidotrifluoroacético:

- Síntesis de *N*-trifluoroacetilfenilalanina:

La protección del grupo α-amino de la fenilalanina se llevó a cabo por el procedimiento descrito en el apartado 5.3. La reacción de protección se muestra a en la figura 42.

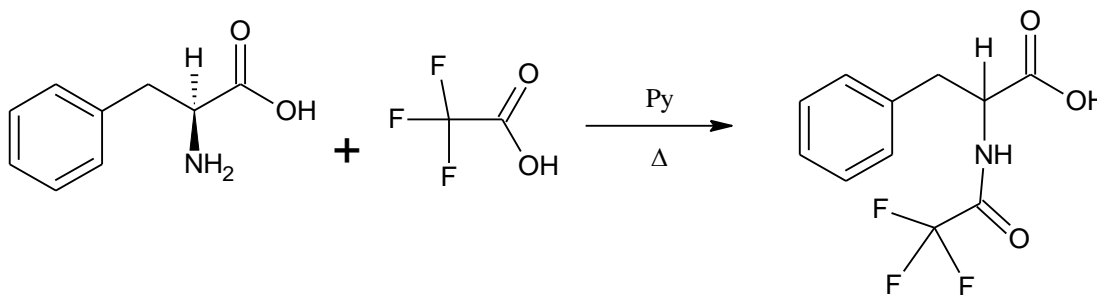


Figura 42: reacción de protección de la fenilalanina

Como se puede observar la reacción de protección transcurre a través de la formación de una amida. La piridina fue empleada como catalizador de la reacción ya que ésta actúa como base desprotonando así el grupo amino presente en la fenilalanina (forma zwitteriónica) para que el átomo de nitrógeno actúe como nucleófilo.

El grupo trifluoroacetil es ampliamente utilizado en la protección del grupo α -amino presente en aminoácidos, ya que este es fácilmente removible en condiciones débilmente básica.³⁰ Sin embargo, es conocido que el uso de ácido trifluoroacético así como anhídrido trifluoroacético en el proceso de protección favorece la recemización de los productos obtenidos.^{31,32} Aun así, se optó por la utilización del ácido trifluoroacético para la protección del grupo α -amino de la fenilalanina debido a su disponibilidad inmediata y a que el interés principal era estudiar en primer lugar el posible acoplamiento del producto protegido al androstano estructuralmente modificado.

El producto obtenido resulto ser un sólido blanco, opaco. A este sólido se le realizaron pruebas de solubilidad en distintos solventes, así como, la determinación del punto de fusión del mismo. Los resultados obtenidos de las pruebas de solubilidad realizadas se muestran en la tabla 10, mientras que en la tabla 11 se muestran las réplicas de la medición del punto de fusión del producto protegido.

Tabla N° 10: Datos de solubilidad del producto de protección de la fenilalanina:

	Diclorometano	Acetona	Etanol	Agua
Ambiente	Soluble	Soluble	Parcialmente	Insoluble
Ebullición	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble

Tabla N° 11: Datos de punto de fusión del producto de protección de la fenilalanina:

Replica	Punto Fusión (°C)
1	90-94
2	91-95

El producto protegido fue caracterizado mediante la técnica de espectroscopia de infrarrojo. En la tabla 12 se muestran los datos espectroscópicos correspondientes al espectro N° 5. Las señales presentes en dicho espectro corroboran que se trata de una estructura aromática ($3030,6\text{cm}^{-1}$, $756,6\text{cm}^{-1}$ y $700,9\text{cm}^{-1}$). También se observa una señal en $1183,7$ típica de los enlaces C-F del grupo trifluorometilo, y una señal en $1711,1\text{ cm}^{-1}$ que evidencia la presencia de grupos C=O en la estructura. Sin embargo en la figura 43 se observa la estructura del producto esperado el cual presenta un grupo acido carboxílico y un grupo trifluoroacetamida.

Tabla N° 12: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 , del producto de protección de la fenilalanina.

cm^{-1}	Forma	Intensidad	Asignación
3319,6	Aguda	Media	v-N-H
3030,9	Poco aguda	Baja	v-Csp ² -H
2931,3	Poco aguda	Baja	v-Csp ³ -H
2620,7	Ancha	baja	v-Csp ³ -H
1711,1	Aguda	Alta	v-C=O
1558,9	Aguda	Media	δ- N-H
1183,7	Aguda	Alta	C-F (trifluorado)
756,6-700,9	Aguda	Media-Baja	δ-C-H aromático

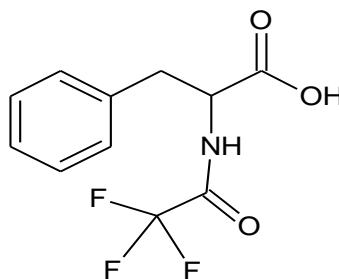


Figura 43: estructura de la trifluoroacetilfenilalanina.

Por esta razón, se realizó la deconvolución (deconvolución N°4) del área del carbonilo del espectro de IR, en dicha deconvolución se observa que la señal de $1711,1\text{cm}^{-1}$ está compuesta por 2 señales, una en $1710,98\text{cm}^{-1}$ y otra en $1731,70\text{cm}^{-1}$. Aunque en principio las señales de las vibraciones de los enlaces C=O de amidas están cercanas a los $1630\text{-}1695\text{cm}^{-1}$, estudios publicados en 1988 en la revista *Organic Syntheses*³¹ sobre la trifluoroacetilación de aminas y aminoácidos bajo condiciones neutras y suaves de reacción, demuestran que los grupos C=O de las trifluoroacetilamidas se desplazan a frecuencias más altas (alrededor de 1700cm^{-1}) esto se debe al efecto inductivo, atractor, del grupo CF_3 que aumenta la fuerza del enlace C=O. Además, la formación de puentes de hidrógenos intramoleculares como los que se muestran en la figura 44, disminuyen la posibilidad de resonancia del par de electrones libres del átomo de nitrógeno hacia el carbonilo de la trifluoroacetamida esto desplaza las vibraciones de enlace C=O a frecuencias más altas. Basándose en esto, se puede atribuir la señal en $1710,98\text{cm}^{-1}$ a las vibraciones de los enlaces C=O del grupo trifluoroacetil. De la misma forma, los puentes de hidrógeno intramoleculares disminuyen la dimerización de los ácidos carboxílicos lo que también explica que la señal en $1731,70\text{cm}^{-1}$ sea atribuible a la vibración de los enlaces C=O del ácido carboxílico así como también, la ausencia de una banda ancha entre $2500\text{-}3500\text{cm}^{-1}$ y en su lugar se observa una señal débil en $3538,6\text{cm}^{-1}$.

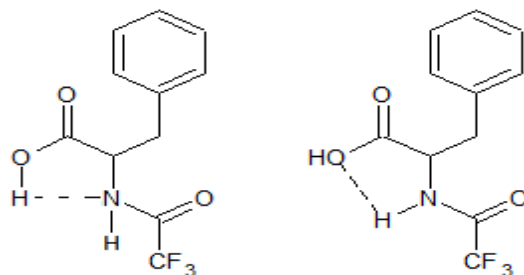


Figura 44: puentes de hidrogeno intramoleculares de la *N*-trifluoroacetilfenilalanina.

Con los datos obtenidos se puede inferir la obtención de *N*-trifluoroacetilfenilalanina (Ver figura 43).

6.4 Acoplamiento del producto de reducción con la trifluoroacetilfenilalanina:

- Síntesis del aminoácido esteroidal:

La reacción de acoplamiento del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstano)carbonilpropanol con la trifluoroacetilfenilalanina, transcurre a través de una reacción de esterificación entre un ácido y un alcohol primario. En este contexto, se utilizó el sistema DCC/DMAP para realizar dicho acoplamiento. Se colocó en primer lugar la trifluoroacetilfenilalanina con DCC, la reacción se calentó a temperatura de reflujo para favorecer la reacción entre el grupo ácido de la trifluoroacetilfenilalanina y el DCC. Luego de un día, se agregó un equivalente de DMAP para promover la catálisis nucleofílica de ésta, pasados unos minutos se agregó el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstano)carbonilpropanol. Todo el procedimiento se llevó a cabo en *N,N*-dimetilformamida previamente destilada y seca (punto de ebullición 153°C). Además, se realizó bajo atmósfera inerte debido a que la dicitohexilcarbodiimida es altamente higroscópica.

El mecanismo general para esta reacción es el mismo mostrado en la figura 29. Para la recolección del producto obtenido en primer lugar se disolvió toda la mezcla de reacción en diclorometano, observándose la formación de un

precipitado, la dicitohexilurea. Posteriormente se realizaron lavados con ácido para remover el DMAP, lavados con base para remover la trifluoroacetilfenilalanina sin reaccionar y además promover la posible desprotección del grupo amino presente en el producto de interés. Los lavados con agua se realizaron con el fin de remover restos del solvente de reacción.

En trabajos realizados en el 2011 por *Erin*³², reportan la desprotección del oligomero funcionalizado de la trifluoroacetamida, calentándolo en una solución de NaOH al 10% a temperatura de reflujo durante 8 horas. Por lo tanto, el empleo de DMAP en el medio de reacción pudo ocasionar también dicha desprotección.

Al realizar la CCF en un sistema de elución Hexano:Acetato de Etilo: Ácido fórmico (75:25:1) se observó que la mezcla de reacción estaba compuesta por 5 productos diferentes. Los Rf de estos compuesto en el sistema de elución mencionado se muestran en la tabla N° 13. La purificación se llevó a cabo por cromatografía de columna flash.

Tabla N°13: factores de retención de los productos obtenidos en el sistema Hexano:Acetato de Etilo: Ácido fórmico (75:25:1).

Producto	Rf Hexano:Acetato de Etilo: Ácido fórmico (75:25:1)
A	1
B	0,83
C	0,48
D	0.40
E	0,27

Una vez realizada la separación el producto mayoritario (E) se caracterizó por espectroscopia de infrarrojo. En la tabla N° 14 se muestran los datos espectroscópicos de infrarrojo obtenidos para dicho producto (espectro N°6). Se hace evidente la presencia del anillo aromático, el esqueleto carbonado saturado, la presencia de grupo carbonilos y enlaces C-O típicos del grupo éster. También

se evidencia la posibilidad de una amina primaria en la estructura del producto obtenido.

Tabla N° 14: Datos espectroscópicos IR, en CHCl_3 del producto mayoritario de la reacción de acoplamiento.

cm^{-1}	Forma	Intensidad	Asignación
3356,5 y 3329,2	Doblete	Baja	$\nu\text{-N-H } 1^{\text{ra}}$
3237,0	Poco aguda	Media-Baja	$\nu\text{-N-H}$
3090,4	Poco aguda	Media	$\nu\text{-Csp}^2\text{-H}$
2929,2 y 2855,4	Poco aguda	Media-Baja	$\nu\text{-Csp}^3\text{-H}$ (asim y sim)
1720,1	Aguda	Alta	$\nu\text{-C=O}$
1636,8	Aguda	Alta	$\delta\text{ N-H}$
1605,0; 1560,1; 1499,5 y 1454,4	Aguda	Media-Baja	$\nu\text{ C=C}$ (aromático)
1218,0	Aguda	Media-alta	$\nu\text{-C-N}$
1189,2	Aguda	Media-alta	$\nu\text{-C-O}$ asim (éster)
1149,8	Aguda	Media-alta	$\nu\text{-C-O}$ sim (éster)
753,8 y 701,2	Aguda	Baja-Media	$\delta\text{Csp}^2\text{-H}$ (aromático)

Nuevamente se hizo necesaria la realización de la deconvolución del área del carbonilo del espectro, deconvolución N°5, en la cual se muestra que la señal en $1720,1\text{cm}^{-1}$ está compuesta por dos señales, una en $1720,1\text{ cm}^{-1}$ atribuible a las vibraciones de los enlaces C=O de grupos ésteres, y otra en $1705,8\text{cm}^{-1}$ atribuible a los enlaces C=O de cetonas. Sin embargo, a pesar que la asignación mostrada en la tabla N°14 se realizó en función del producto con el grupo amino desprotegido, los datos espectroscópicos obtenidos son insuficientes para elucidar la estructura del producto. En las figuras 45 y 46 se muestran las frecuencias de vibración de enlace teóricas de los grupos presentes tanto en el producto con el grupo amino protegido, como el producto sin proteger respectivamente.

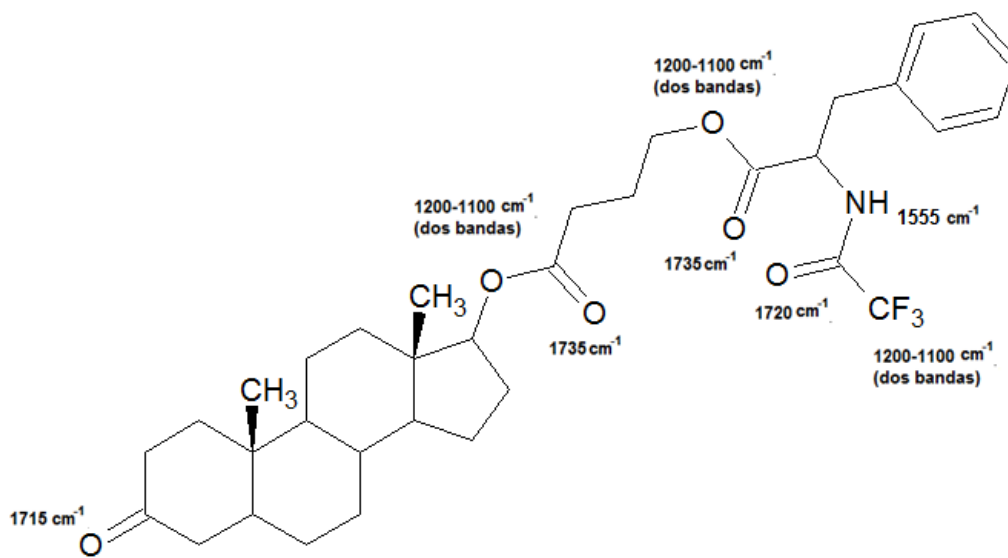


Figura 45: frecuencias de vibración teóricas de producto de acoplamiento protegido.

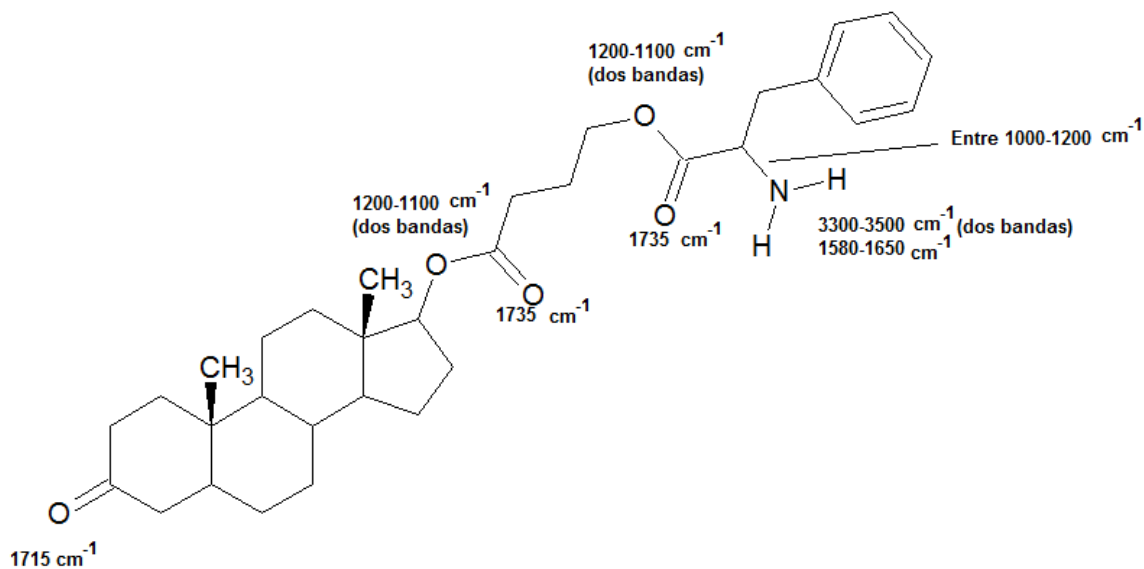


Figura 46: frecuencias de vibración teóricas de producto de acoplamiento protegido.

Como se observa en ambas figuras, ambas estructuras pueden ser posibles según los datos espectroscópicos obtenidos, ya que algunas señales puedan superponerse y otras desplazarse a frecuencia más bajas debido a las interacciones intra o intermoleculares que pueda presentar la molécula. Por lo tanto, con los datos obtenidos de infrarrojo no se puede concluir cuál de los dos productos posibles se obtuvo.

Para una mejor caracterización del compuesto obtenido se realizó un espectro de resonancia magnética nuclear de carbono ^{13}C (RMN ^{13}C), en el cual se observó que el producto obtenido estaba contaminado con impurezas, por lo cual la caracterización del mismo se llevó a cabo tomando en cuenta las señales características del compuesto y comparando estas con las señales simuladas para los posibles productos en cloroformo deuterado utilizando el software ChemSketch. El compuesto caracterizado se muestra en la figura 47.

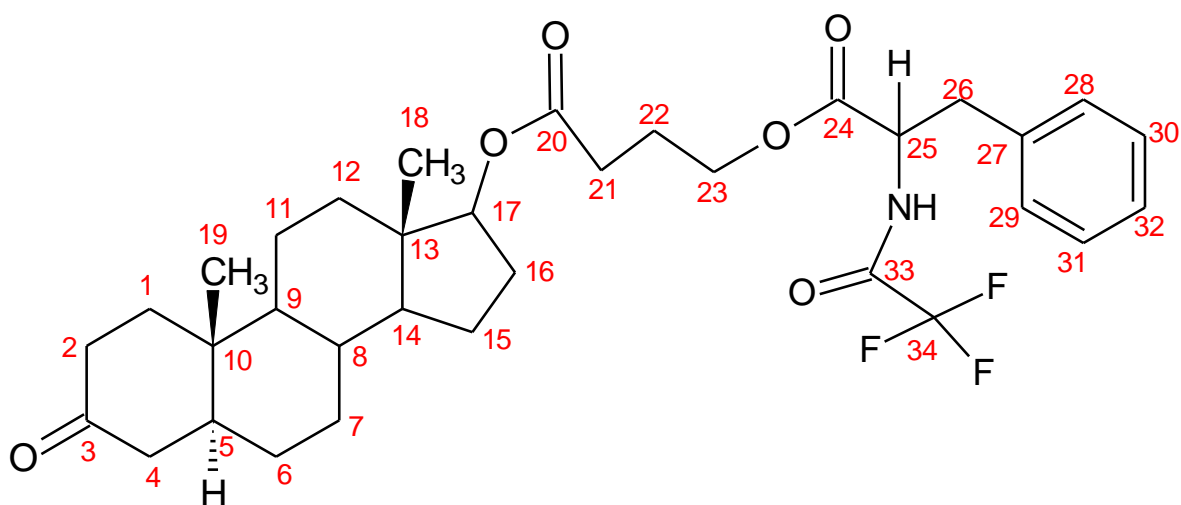


Figura 47: estructura del producto del acoplamiento.

En la tabla 15 se muestran los desplazamientos teóricos y experimentales mediante los cuales se caracterizó el producto obtenido de la reacción de acoplamiento.

Tabla N°15: Datos espectroscópicos del espectro de RMN¹³C del producto de acoplamiento:

Carbono	δ Teórico (ppm)	δ Experimental (ppm)
C ₁₇	79,42 \pm 2,00	77,20
C ₁₈	13,40 \pm 4,60	14,02
C ₁₉	15,48 \pm 3,40	14,09
C ₂₀	174,10 \pm 2,90	169,43
C ₂₁	32,13 \pm 5,5	32,20
C ₂₃	63,85 \pm 0,9	66,58
C ₂₄	171,66 \pm 3,50	167,61
C ₂₅	56,27 \pm 2,50	55,20
C ₂₇	138,51 \pm 1,70	135,71
C ₂₈ -C ₂₉	129,00 \pm 0,80	129,40-129,34
C ₃₀ -C ₃₁	128,64 \pm 1,30	129,30-128,63
C ₃₂	126,50 \pm 1,80	127,49
C ₃₃	157,07 \pm 2,50	156,42
C ₃₄	116,65 \pm 1,20	116,64

En primer lugar, se observó la existencia de dos señales a campo alto las cuales son características de los metilos angulares presentes en la estructura del compuesto (DHT). Dichas señales tienen desplazamientos de 14,09ppm y 14,02ppm correspondientes a los carbonos metílicos C₁₉ y C₁₈, respectivamente. (Ver figura 47).



Figura 47: señales características de carbonos metílicos en el espectro del producto de acoplamiento

En el espectro se evidencia la presencia de una señal intensa alrededor de 77,21 ppm, al comparar los desplazamientos teóricos del espectro simulado en cloroformo deuterado se evidencia que esta señal esté compuesta por dos señales superpuestas, la correspondiente al solvente, en 77,21ppm y la correspondiente al carbono C₁₇ el cual se encuentra esterificado, con un desplazamiento en 74,71ppm. En la figura 48 se muestra dicha señal extraída del espectro. Además, en la figura 49 se muestra el DEPT 135 en el cual la señal del solvente desaparece, pero se mantiene una señal en dicho desplazamiento.

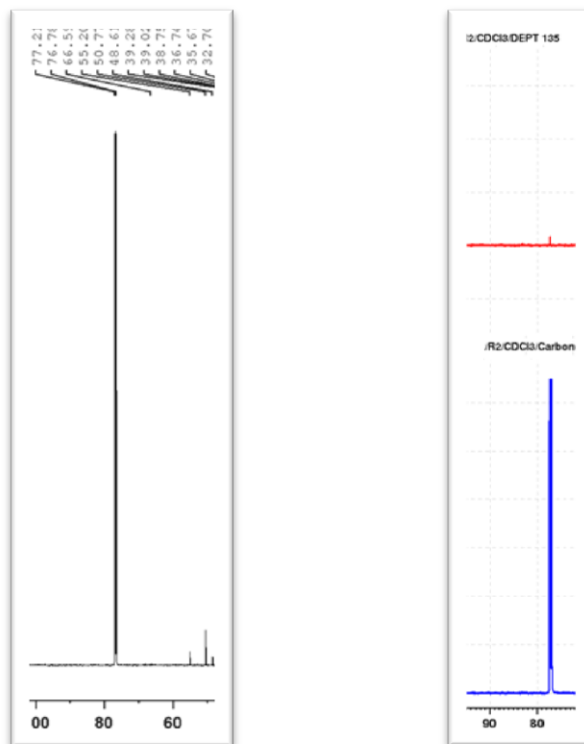
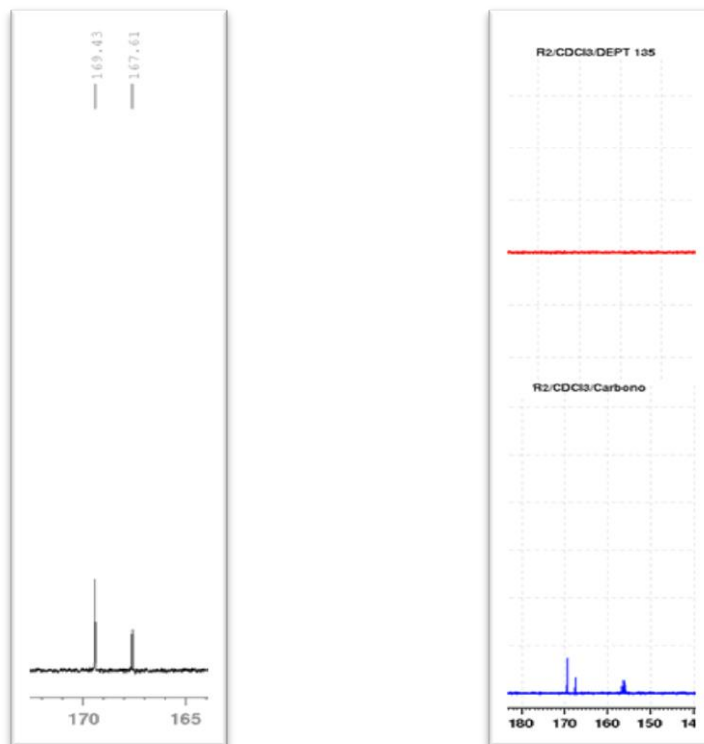


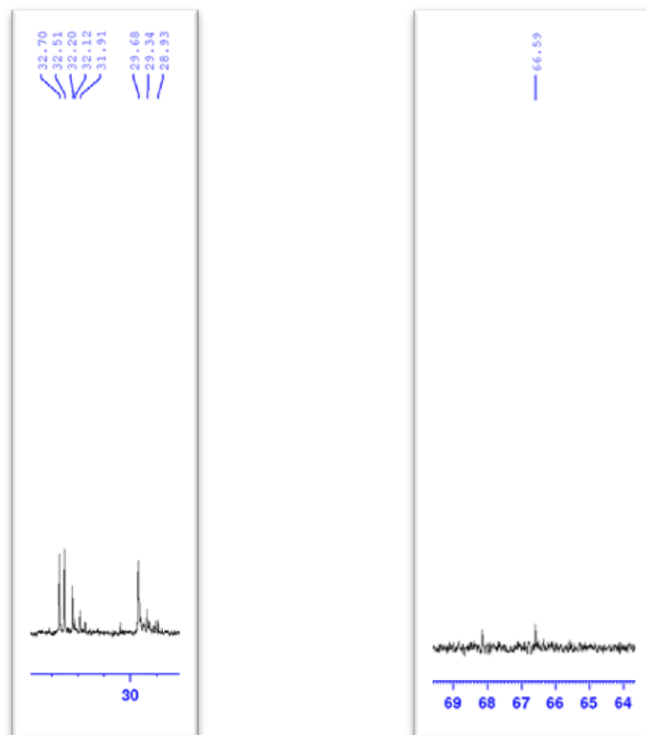
Figura 48-49: señales características de carbonos del solvente y C₁₇ en el espectro del producto de acoplamiento y DEPT 135.

Además, a campos bajos se observan de señales típicas de carbonos cuaternario del tipo carbonilo de ésteres las cuales corresponden a los carbonos C₂₀ y C₂₄ con desplazamientos teóricos de alrededor de 170ppm, mientras que el desplazamiento experimental de estas señales es de 169,43ppm para C₂₀ y 167,61ppm para C₂₄. El carácter cuaternario de estos carbonos se corrobora realizando un DEPT 135, en el cual se observó que ambas señales antes mencionadas desaparecen lo cual es característico de carbonos cuaternarios. En la figura 50 se muestran las señales experimentales, mientras que, en la figura 51 se muestra la zona de 170ppm del DEPT 135.

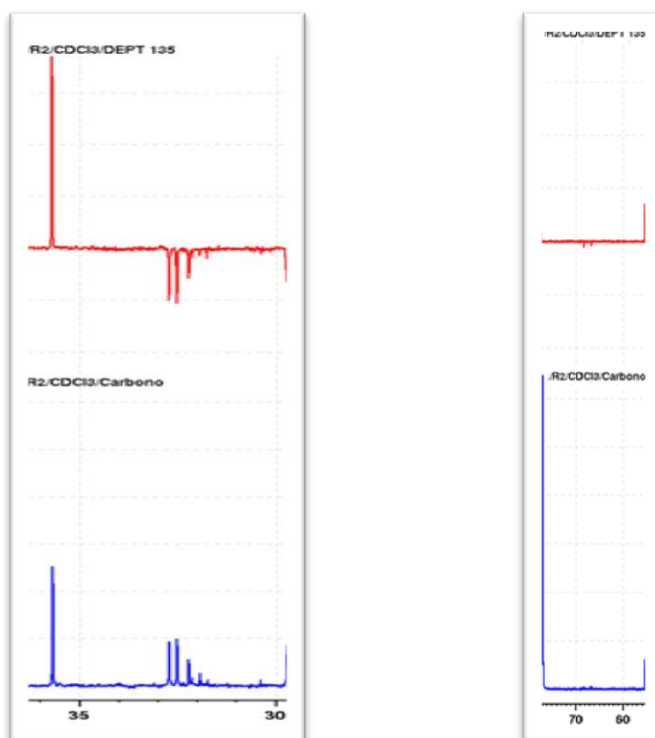


Figuras 51-52: señales características de carbonos C_{20} y C_{24} en el espectro del producto de acoplamiento y DEPT 135.

Los carbonos C_{21} y C_{23} son del tipo CH_2 y tienen desplazamientos característicos, los valores teóricos de dichos desplazamientos son de 32,13ppm y de 63,85ppm respectivamente. En el espectro obtenido se observa una señal en 32,20ppm atribuible a C_{21} y una señal en 66,58ppm atribuible a C_{23} . Ambas señales se muestran en las figura 52 y 53 respectivamente. Mientras que en las figuras 54 y 55 se muestra que estas señales se invierten en el DEPT 135 corroborando que ambas señales son del tipo CH_2 .



Figuras 52-53: señales de los carbonos C_{21} y C_{23} en el espectro RMN ^{13}C .



Figuras 54-55: DEPT 135 señales de los carbonos C_{21} y C_{23} invertidas

Otra señal indispensable para caracterización del producto obtenido es la del C_{α} del aminoácido acoplado, en el espectro obtenido se evidencia la presencia de dicho carbono con un desplazamiento experimental de 55,20ppm comparado con el desplazamiento teórico para el mismo de 56,27ppm y un desplazamiento reportado en la literatura de 56,96ppm. En la figura 56 se muestran el desplazamiento experimental y en la figura 57 se muestra el DEPT 135 en el cual la señal se mantiene positiva lo cual es concluyente de que dicha señal es de un carbono del tipo CH.

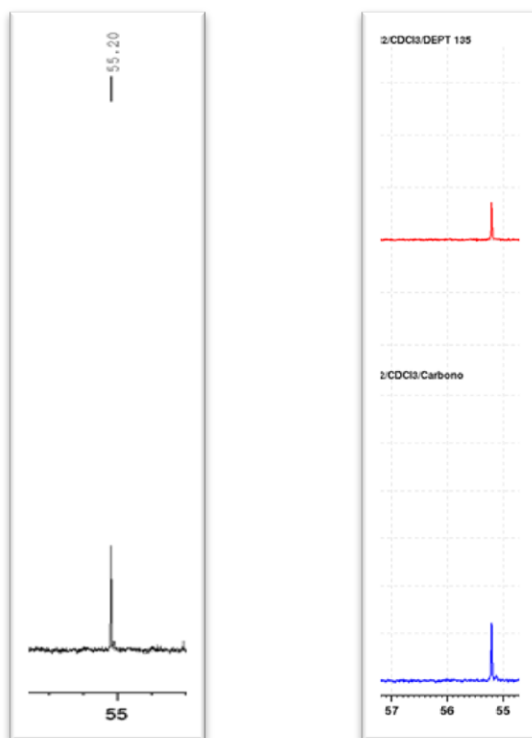


Figura 56-57: señal característica de carbono C_{27} en el espectro del producto de acoplamiento y DEPT 13

También se evidencia la presencia de señales de carbonos típicos de estructuras aromáticas en 135,71ppm; 129,40ppm; 129,34ppm; 129,30ppm; 128,63ppm y 127,49ppm correspondientes a los carbonos C_{28} , C_{29} , C_{30} , C_{31} y C_{32} respectivamente. En la figura 58 se muestran dichos desplazamientos, y en la figura 59 se muestra el DEPT 135 donde se evidencia que efectivamente la señal en 135,71ppm es de un carbono cuaternario aromático ya que la señal desaparece.

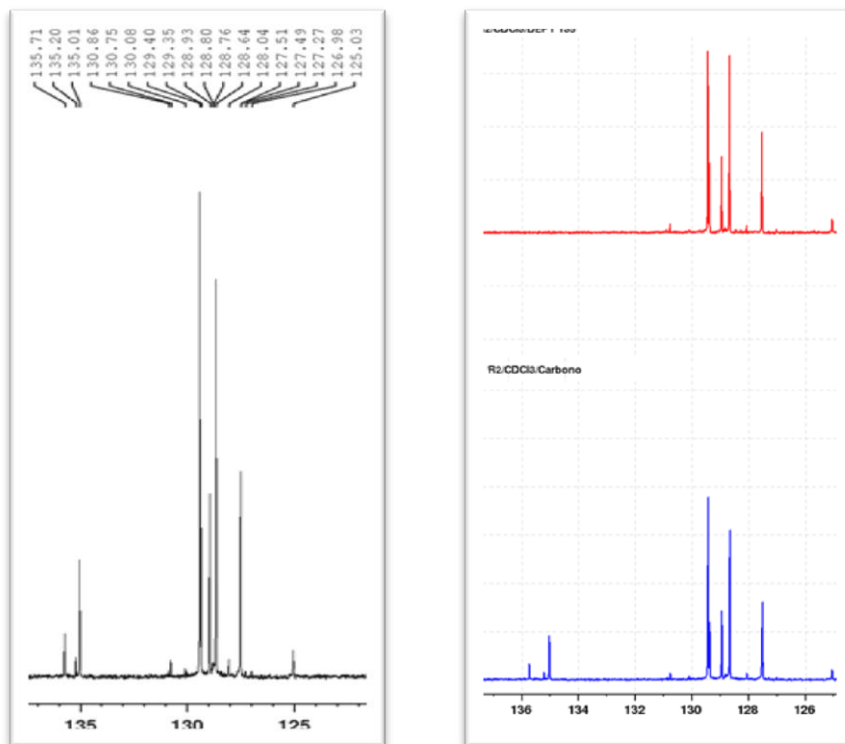


Figura 58-59: señales características de carbonos aromáticos C_{28} , C_{29} , C_{30} , C_{31} y C_{32} en el espectro del producto de acoplamiento y DEPT 135.

Además de esto, se logró constatar que en el producto obtenido se encuentra el grupo protector trifluoroacetyl ya que se observan en el espectro de dicho producto una señal 156 ppm con multiplicidad de cuarteto característica del carbono carbonílico C_{33} . Dicha señal tiene esta multiplicidad debido a que los núcleos del átomo de carbono pueden acoplarse con los flúor presentes en el carbono C_{34} debido a que los átomos de flúor ^{19}F tienen propiedades magnéticas y el desacoplamiento del espectro se realiza específicamente para los átomos de hidrogeno ^1H . En la figura 60 se muestra las señales experimentales para C_{33} . Mientras que en la figura 61 se muestra el DEPT 135 en el cual se observa el carácter cuaternario de dicho átomo de carbono al cual se le asigna la señal. Además, se observan cuatro señales en 125,03ppm; 118,57ppm; 116,64ppm y 114,73ppm las cuales son atribuibles al carbono C_{34} del grupo protector ya que este también se acopla con los átomos de flúor unidos a él. En la figura 63 se muestran dicha señal.

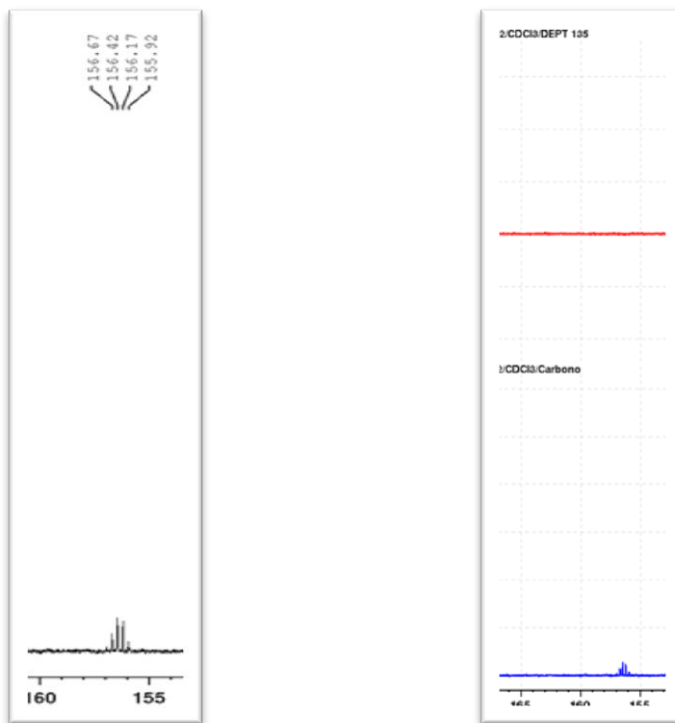


Figura 60 y 61: señales características del carbono C_{33} en el espectro del producto de acoplamiento y DEPT 135.

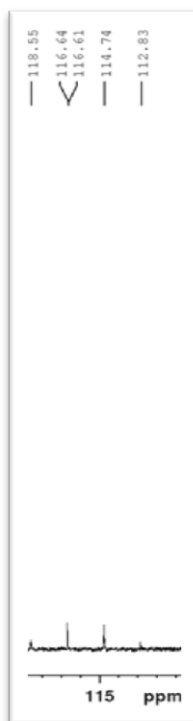
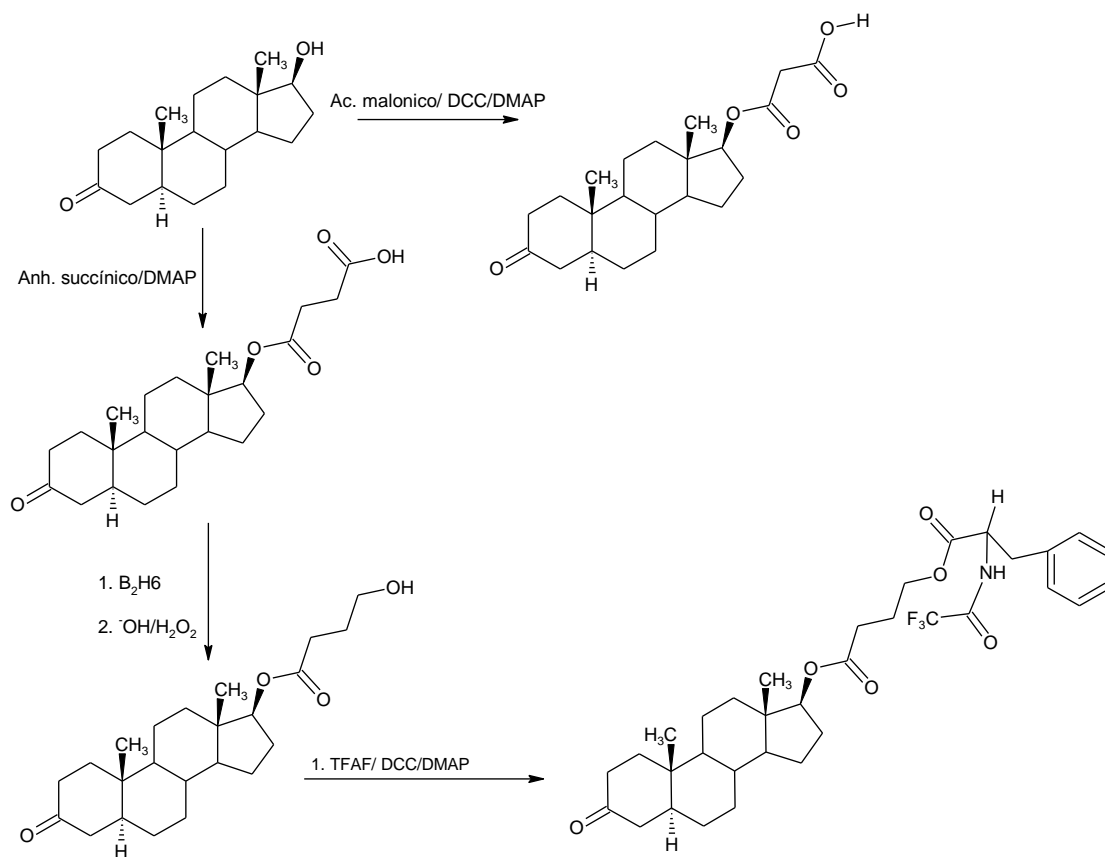


Figura 62: señal característica de carbono C_{34} en el espectro del producto de acoplamiento.

7 Conclusiones:

- El ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico se sintetizó con éxito, empleando anhídrido succínico en la esterificación de la dihidrotestosterona, mediante tres procedimientos, obteniendo rendimientos que van desde 16% a 28%.
- En la síntesis del ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico, empleando ácido succínico en la esterificación de la dihidrotestosterona, no se obtuvieron resultados favorables para la purificación y caracterización de los productos obtenidos.
- El ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carboniletanoico se sintetizó con éxito, utilizando el sistema ácido malónico/DCC/DMAP/tolueno en la esterificación de la dihidrotestosterona, con un rendimiento del 2%.
- El alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol se sintetizó con éxito, reduciendo con diborano selectivamente un grupo ácido carboxílico en presencia de un grupo éster y una cetona hexacíclica, con un rendimiento de 81%.
- En la reducción selectiva con diborano, el uso de un soporte como la piedra pómez mejora el porcentaje de rendimiento de la misma.
- La *N*-trifluoroacetilfenilalanina se sintetizó con éxito, a través de la reacción de protección de la fenilalanina, con un rendimiento del 14%.
- El acoplamiento del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol con la trifluoroacetilfenilalanina se llevó a cabo con éxito y un rendimiento del 10%.

8 Ruta sintética realizada en el trabajo especial de grado:

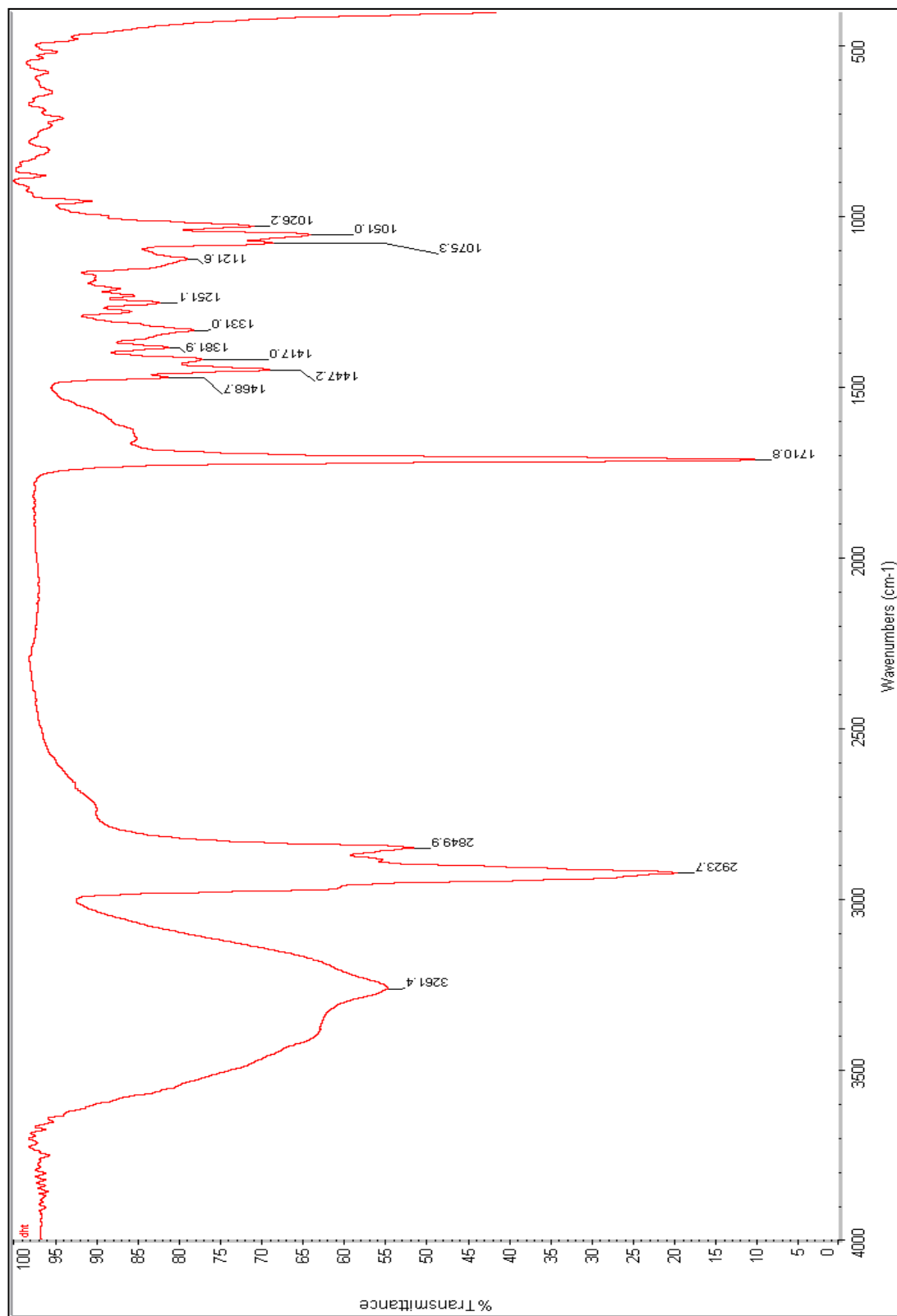


9 **Recomendaciones:**

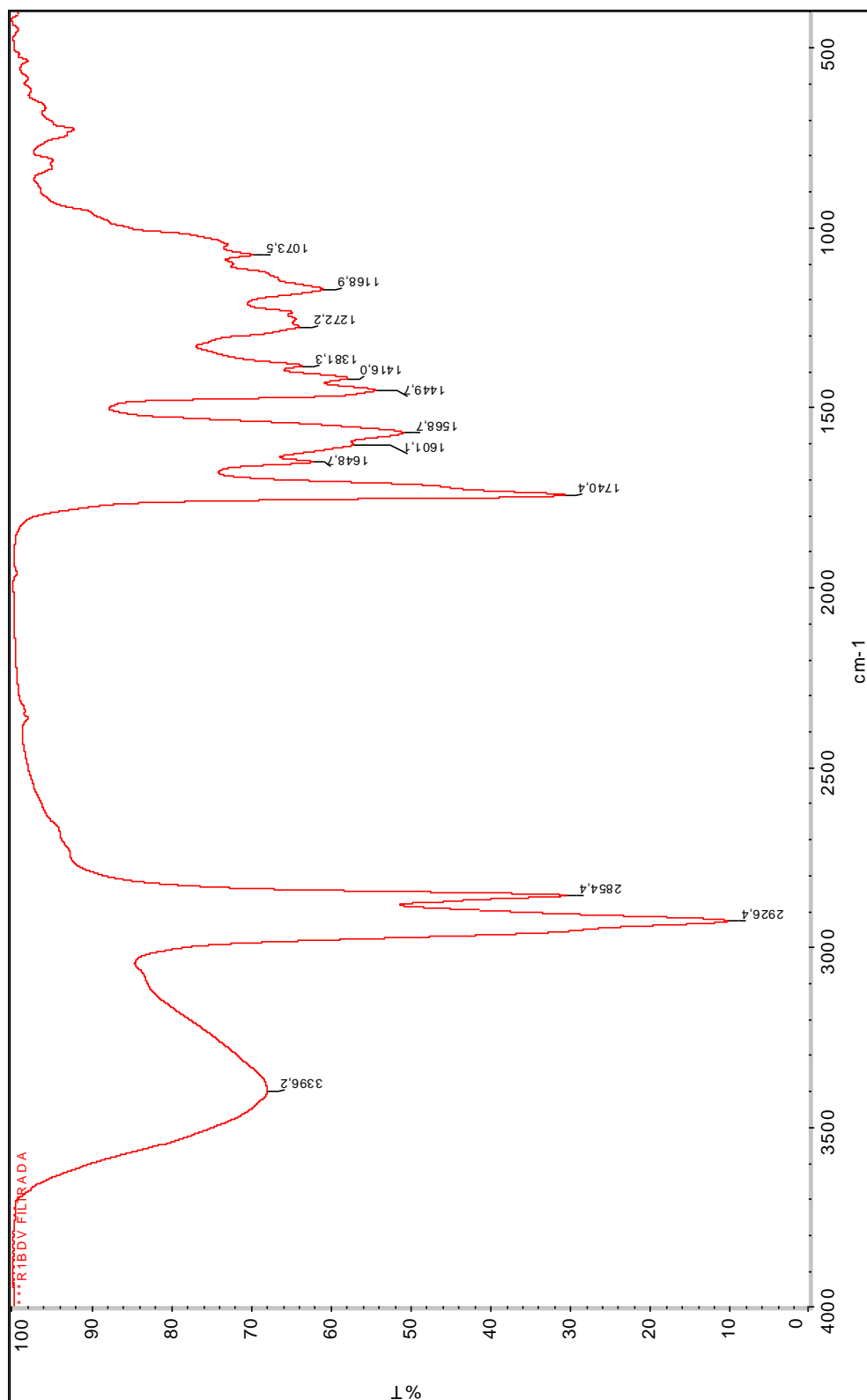
- Estudiar las condiciones bajo las cuales se puedan mejorar los rendimientos de las reacciones de esterificación de la dihidrotestosterona con diácidos.
- Al montaje del procedimiento de reducción, en la salida de gas del balón (E), reemplazar la piedra porosa por un bulbo de vidrio con múltiples orificios, de manera de formar un burbujeo disperso y aumentar la superficie de contacto entre el gas y la solución.
- Estudiar las condiciones para la desprotección del grupo amino presente en el producto de acoplamiento.

1 Espectros:

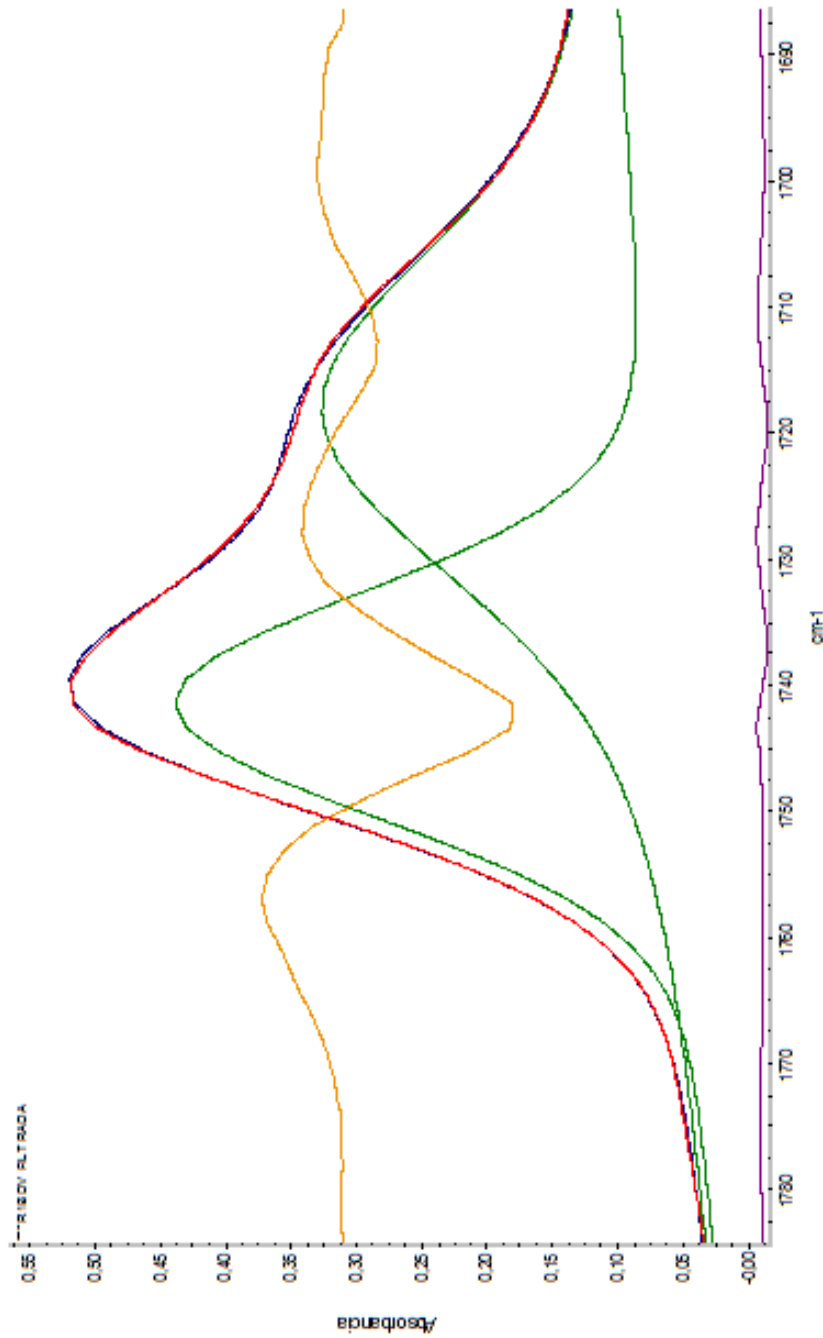
Espectro N°1: Infrarrojo de la dihidrotestosterona en pastilla de KBr.



Espectro N°2: Infrarrojo del Ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilético en CHCl₃.

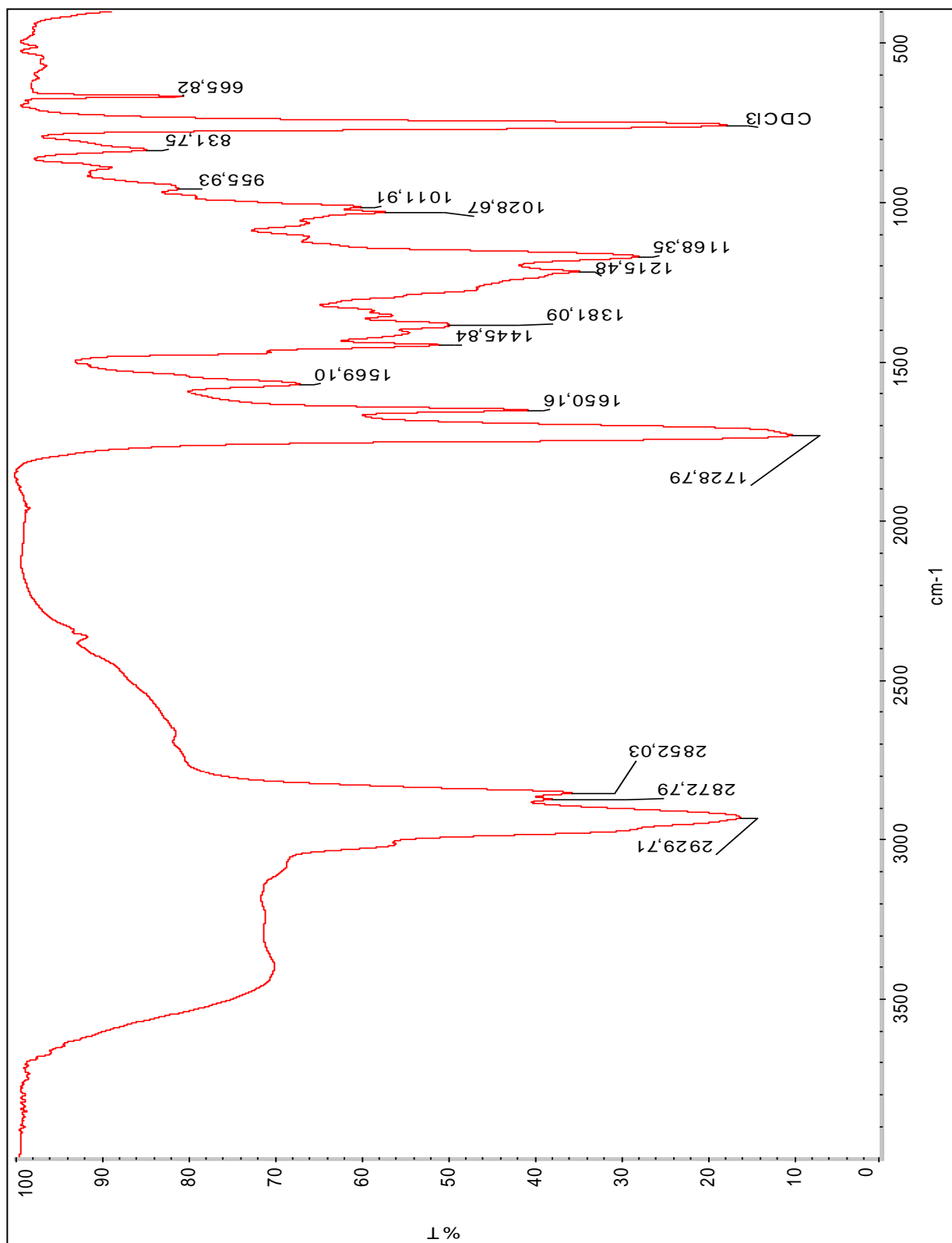


Deconvolución N°1: área del carbonilo del espectro N° 2 del Ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstano)carboniletanoico en CHCl₃.

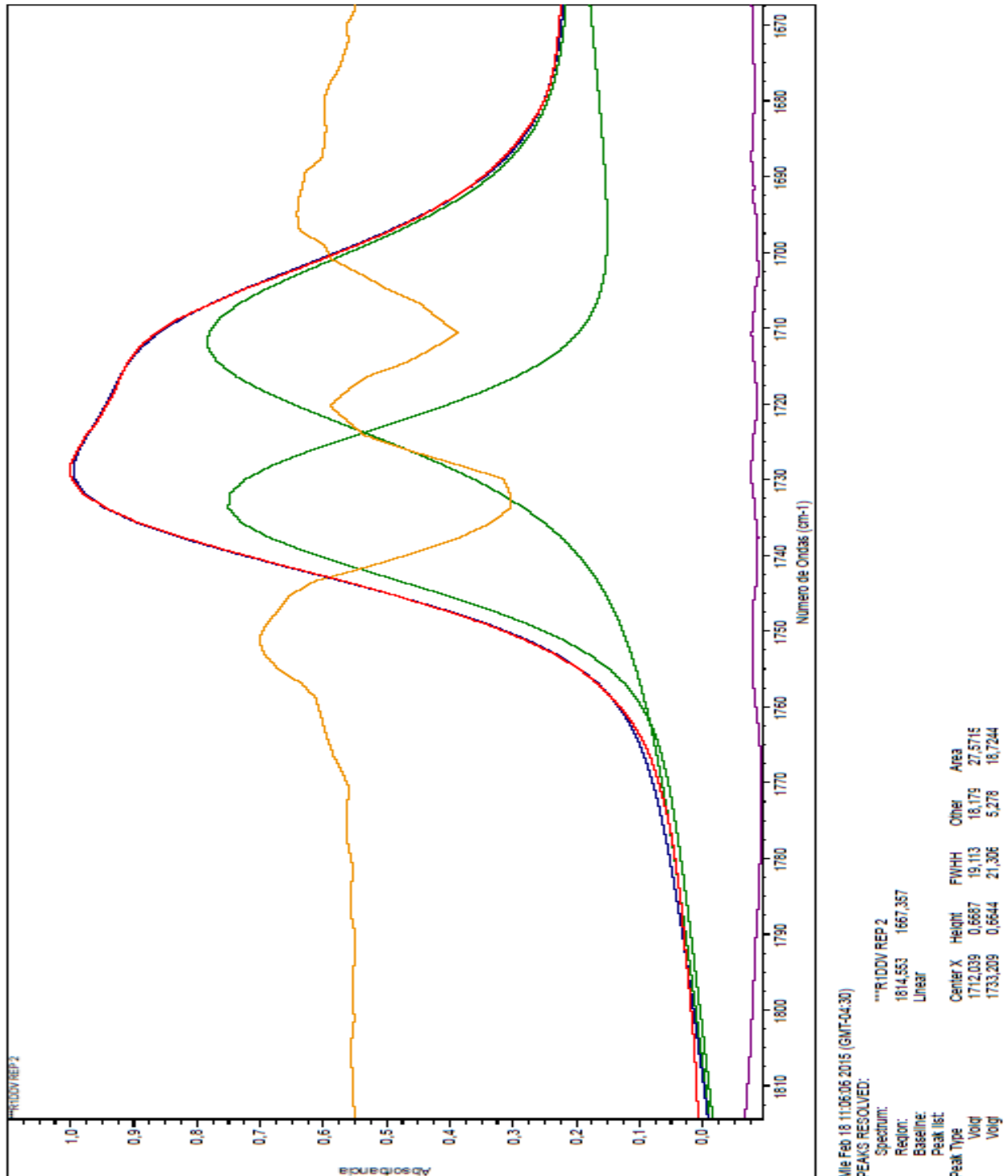


Peak #	Peak Type	Center X	Height	FWHH	Other	Area
1	Voigt	1718,536	0,2524	22,2204	17,7798	11,0372
2	Voigt	1741,619	0,3827	19,7785	2,7499	9,1334

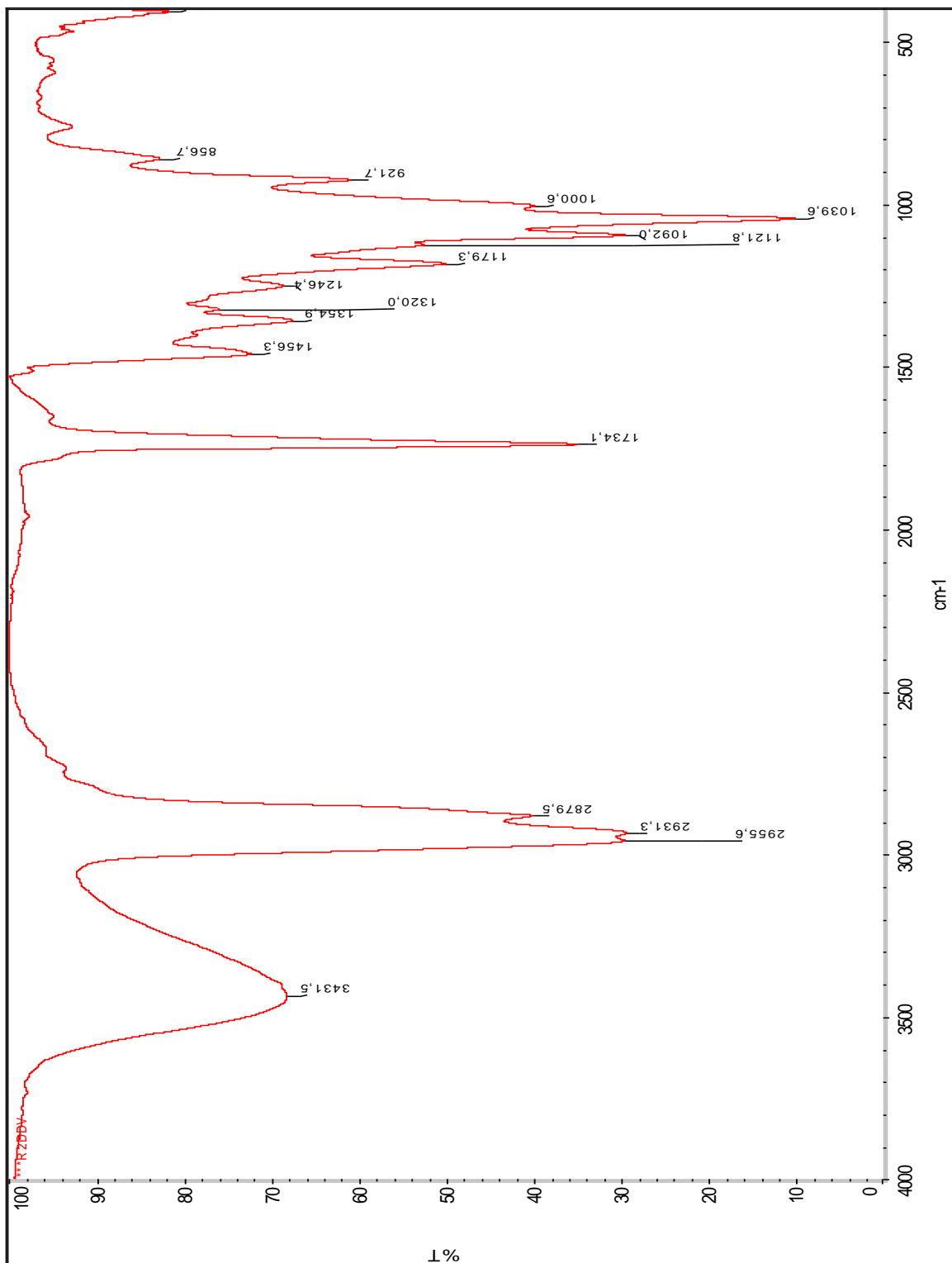
Espectro N°3: Infrarrojo del Ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico en CHCl₃



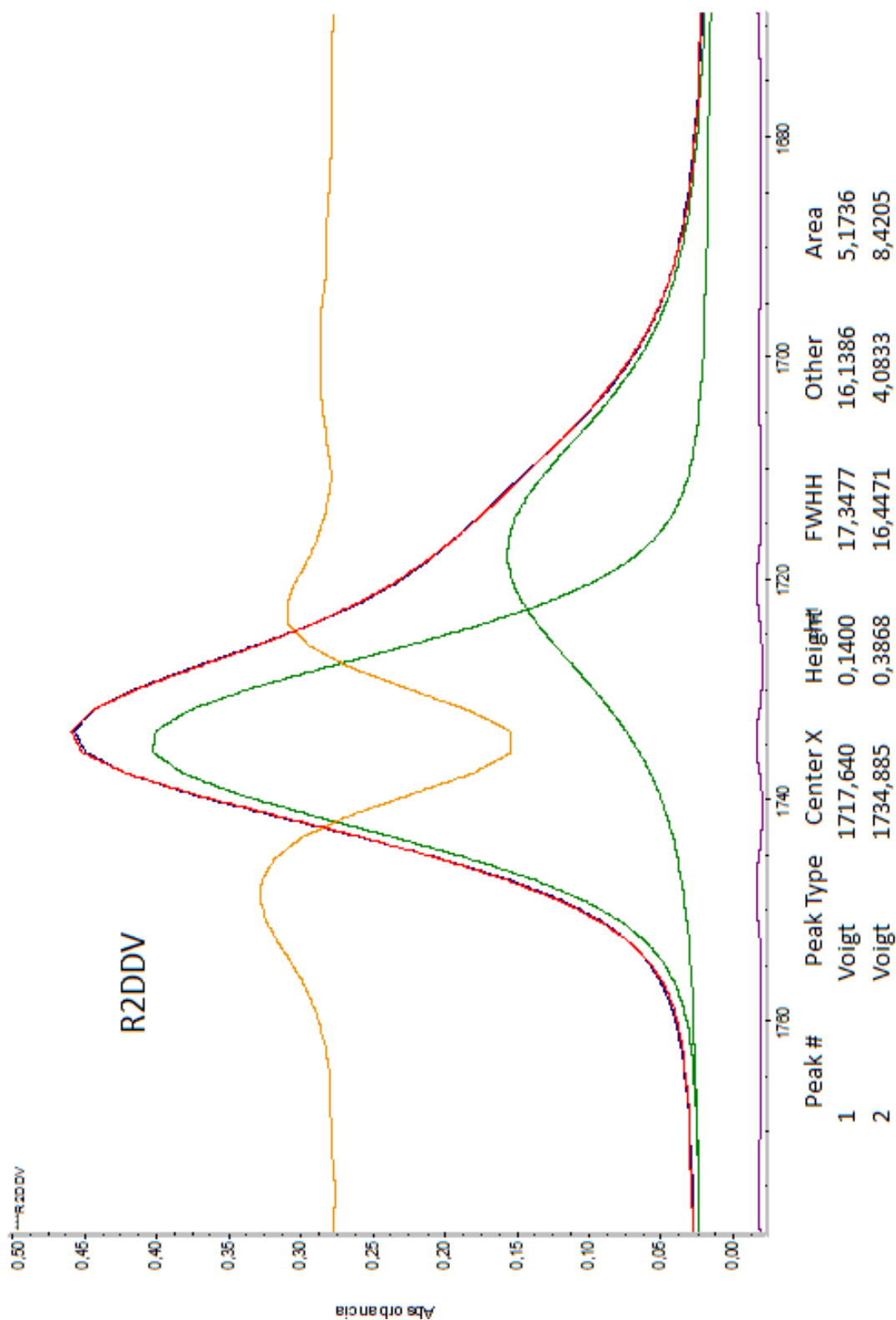
Deconvolución N°2: área del carbonilo del espectro N°3 del Ácido 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanoico en CHCl₃

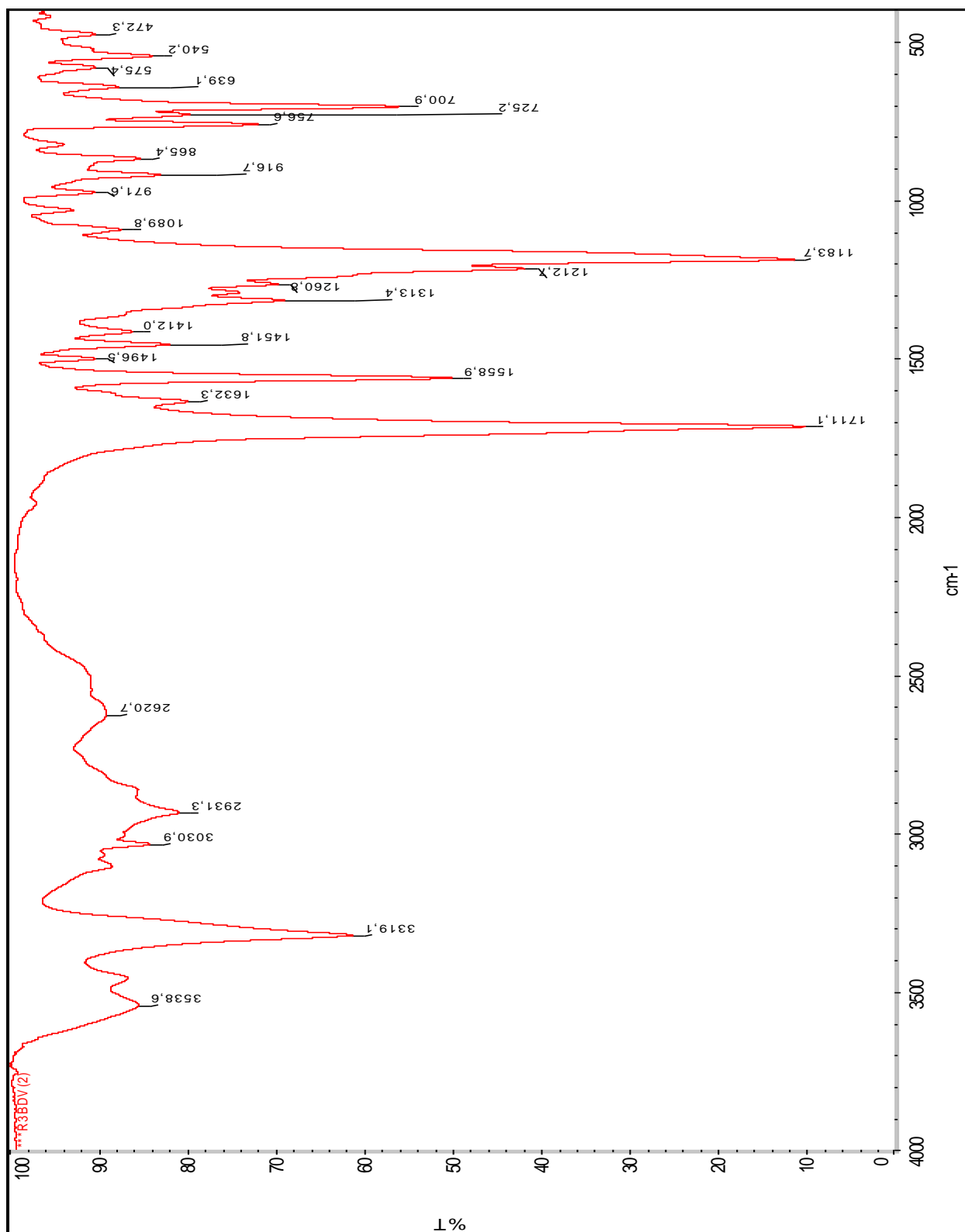


Espectro N°4: Infrarrojo del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstano)carbonilpropanol en CHCl₃

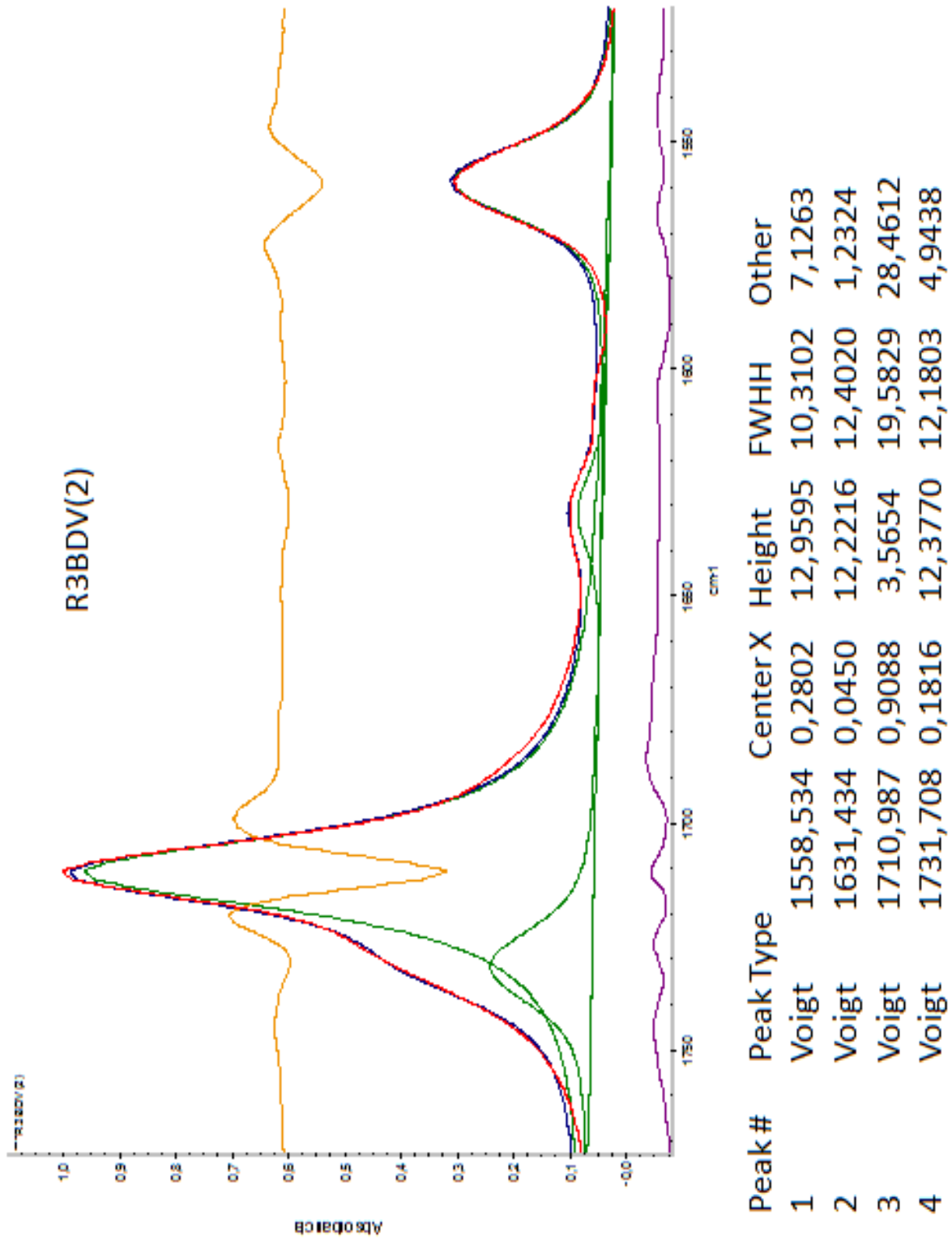


Deconvolución N°3: área del carbonilo del espectro N° 4 del alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol en CHCl₃

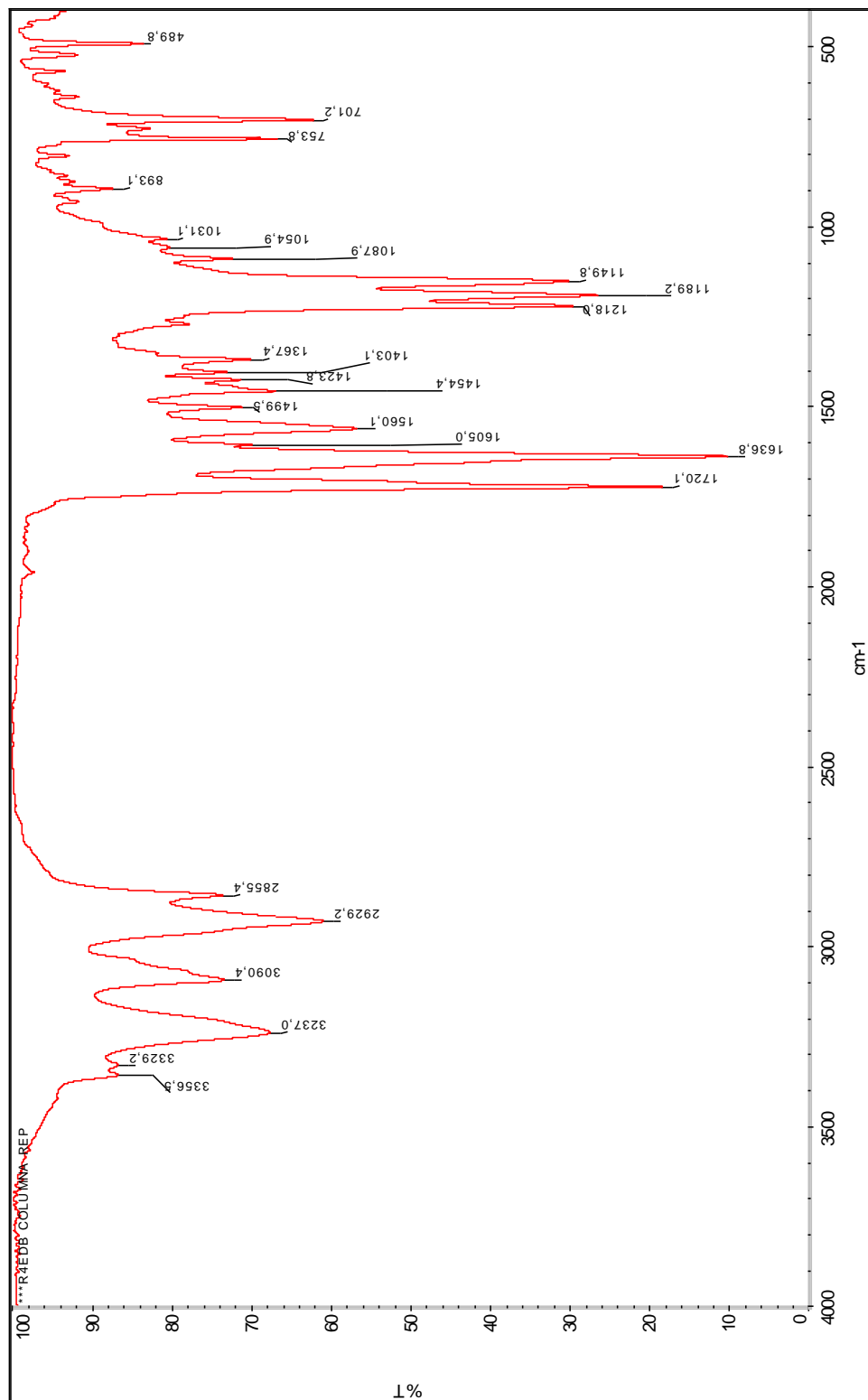


Espectro N°5: Infrarrojo de la *N*-trifluoroacetilfenilalanina en pastilla de KBr.

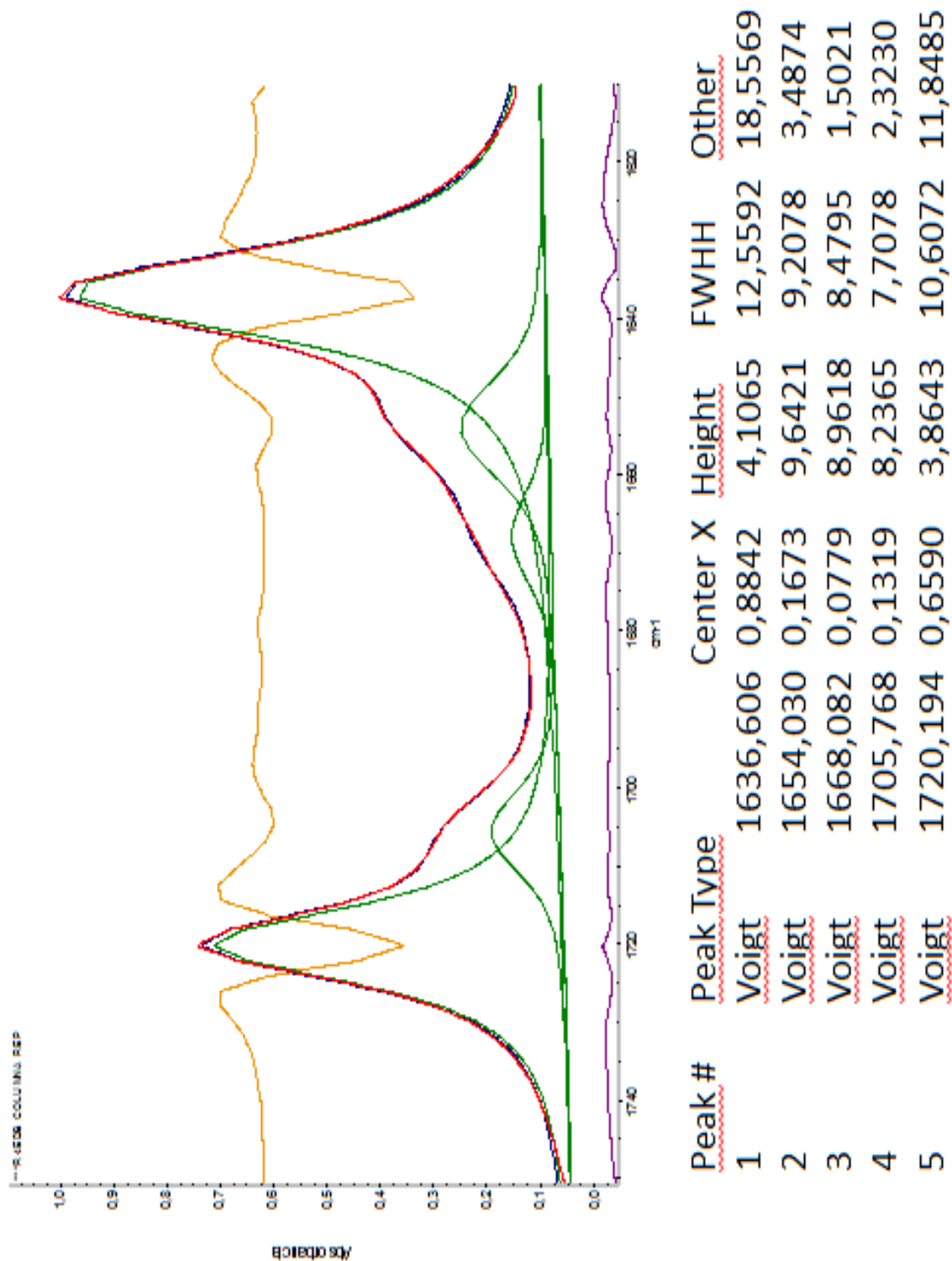
Deconvolución N° 4: área del carbonilo del espectro N°5 de la *N*-trifluoroacetilfenilalanin



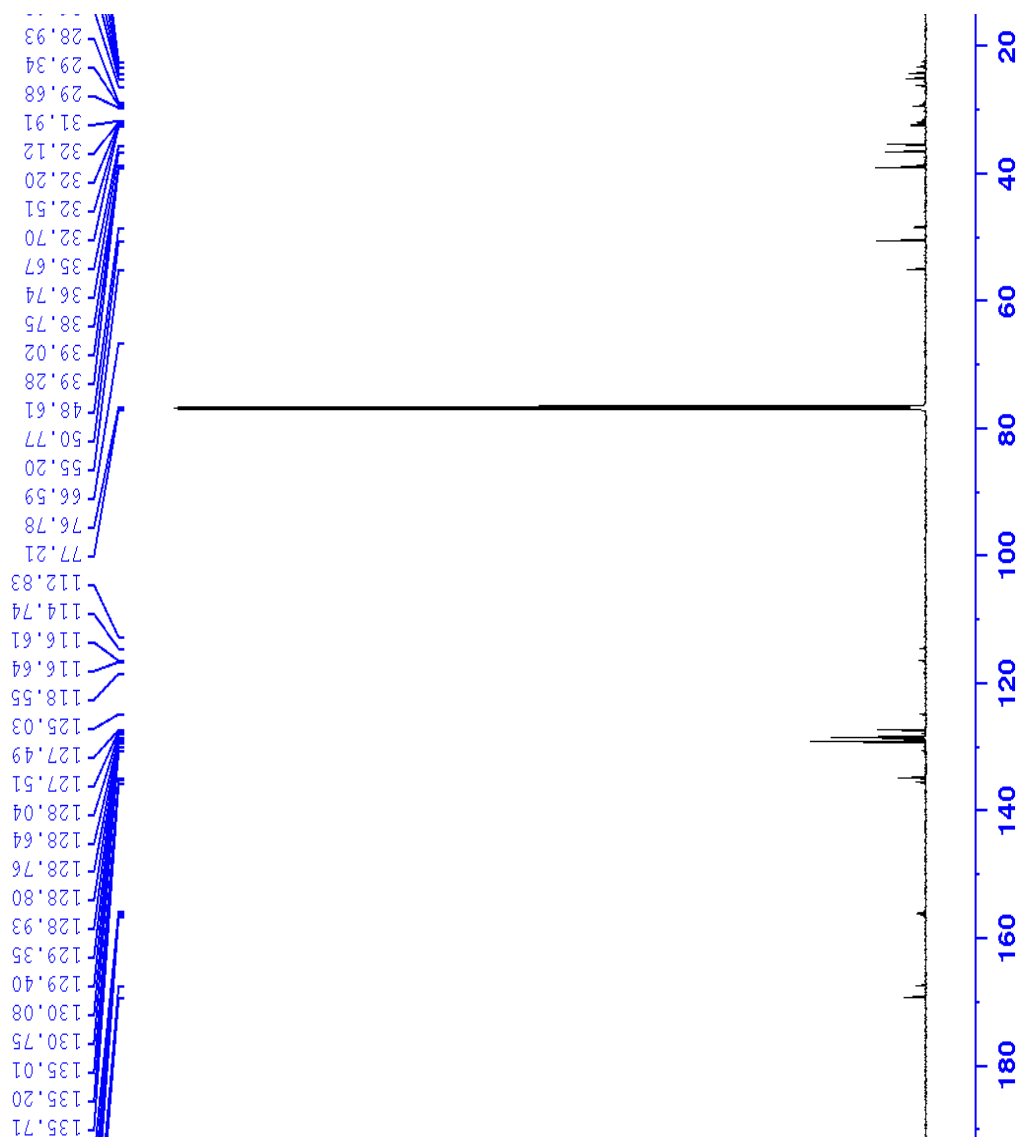
Espectro N°6: Infrarrojo del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol



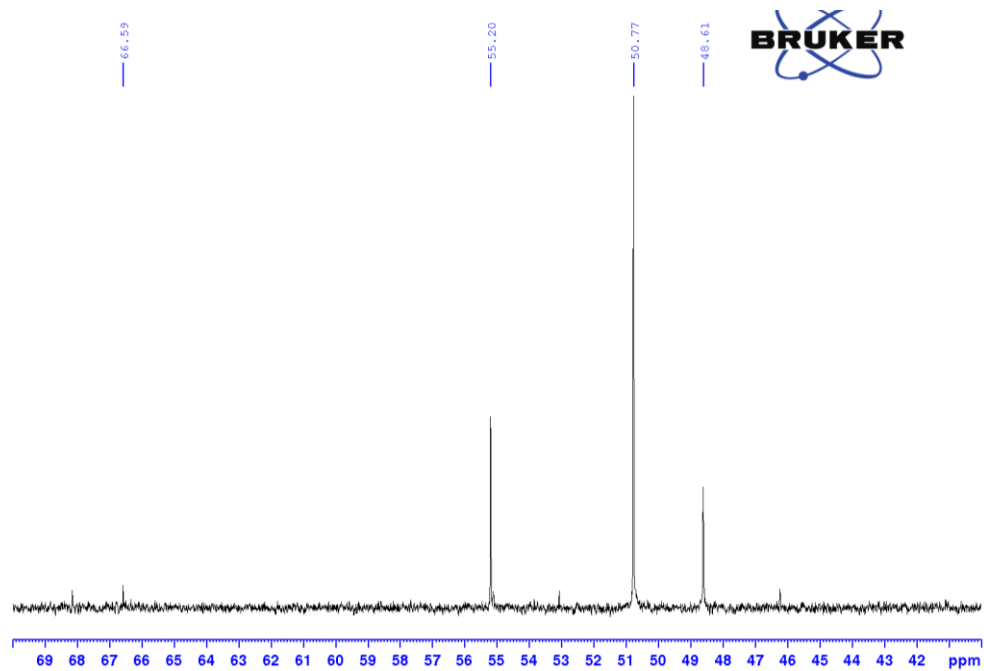
Deconvolución N° 5: área del carbonilo del espectro N°6 del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol



Espectro N°7: RMN ^{13}C del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol en CDCl_3 .

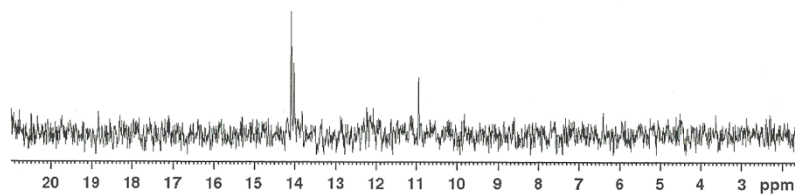


Ampliaciones: RMN ^{13}C del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol en CDCl_3 .

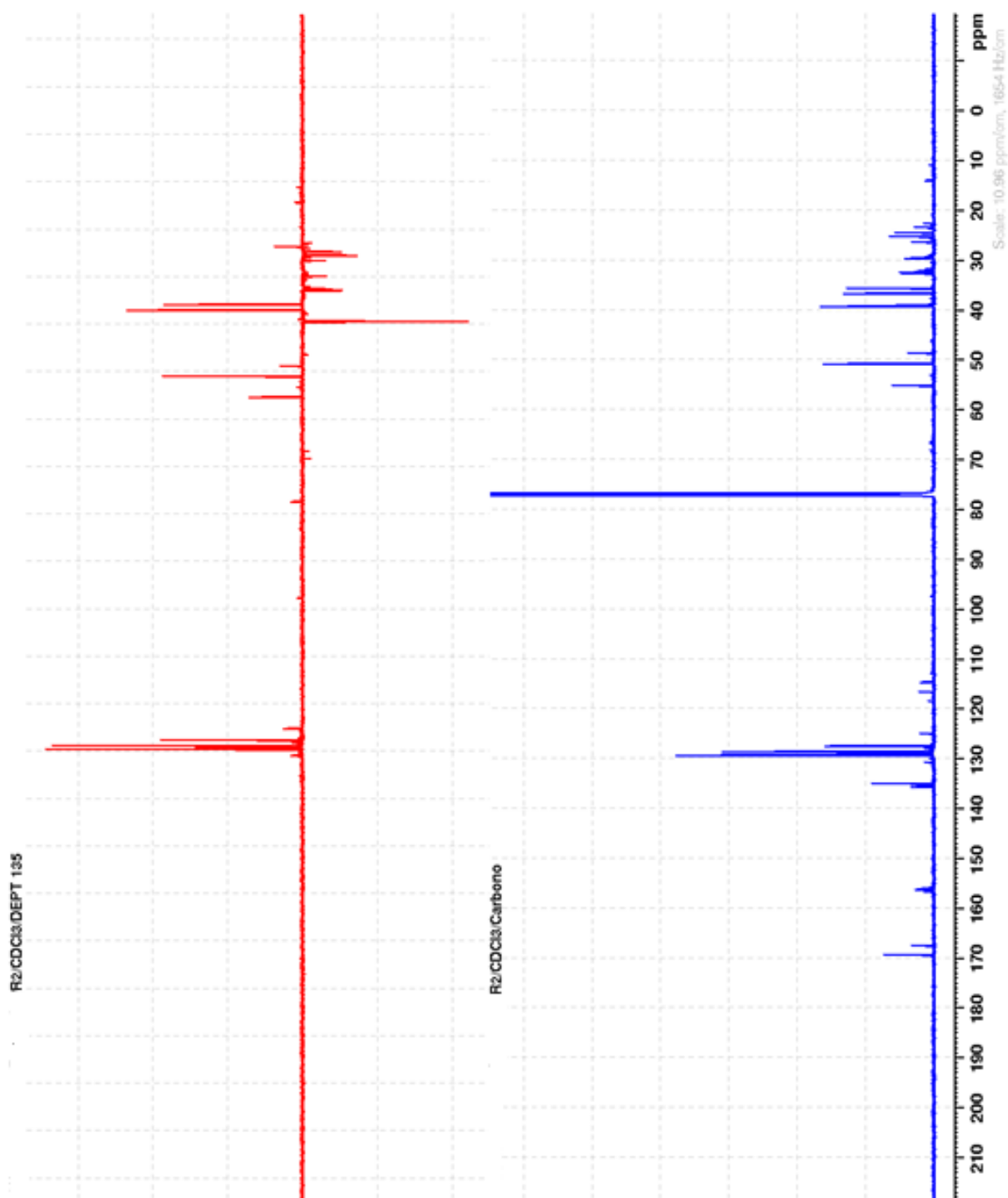


14.09
14.02

BRUKER



Espectro N°8: DEPT 135 del producto mayoritario obtenido en el acoplamiento de la trifluoroacetilfenilalanina con el alcohol 17-(3-oxo-17 β -il-5 α -androstan)carbonilpropanol en CDCl₃.



2 Referencias:

1. ABRAHAM, Donald J. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. 6^{ta} Edición. Department of Medicinal Chemistry School of Pharmacy. Volumen 1, pág. 2-7, USA (2003)
2. Marcano, D. y Hasegawa, M. Fitoquímica Orgánica. 2^a edición, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico - UCV; Cap. 6, pág. 265-374, Cap. 7, pág. 375-422. Venezuela (2002).
3. LEDNICER, Daniel. Steroid Chemistry at a Glance. 1^{era} Edition. John Wiley & Sons Ltd, Cap. 5, pág. 68. Reino Unido (2011).
4. NEACATO, Pablo. Síntesis de derivados de androstanos como posibles agentes antivirales. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, UCV (2007).
5. Oxford dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Second edition. Oxford University Press Inc. pág. 227. New York. U.S.A, (2006).
6. Organización mundial de la salud. (Marzo, 2014). Recuperado el 11 de Agosto de 2014, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/es/>
7. MARTINEZ, M y AVELLANEDA, A. Enfermedades Raras, un enfoque práctico. 1^{era} Edición, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III y Ministerio de Sanidad y Consumo de España, pág. 23-27, España (2004).
8. Organización mundial de la salud. (Mayo, 2014). Recuperado el 11 de Agosto de 2014, de <http://www.who.int/topics/dengue/es/>
9. HOFLE, Gerhard, Wolfgang Steglich & Helmut Vorbrüggen, Angew. Chem. Int. Engl., N° 17, pág 569-583.(1978).
10. HOFLE, Gerhard Wolfgang Steglich. 4-Dialkylaminopyridines as Acylation Catalysts; Acylation of Sterically Hindered Alcohols, Synthesis. N° 11, pág.619-621, (1972).
11. Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades (ATSDR). (Abril, 2002). Recuperado el 11 de agosto de 2014, de http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts181.html.
12. FRIED, Edwards. Organic reactions in steroid Chemistry, Van Nostrandreinhold Company; Vol I, 89-91, (1972).

13. PACHECO L. Daniel. Bioquímica estructural y aplicada a la medicina. Capítulo 3. 1^{ra} edición. (2001).
14. MUÑOZ, Wilbert. Síntesis Orgánica. (Febrero, 2012). Recuperado el 04 de Diciembre de 2012. de <http://www.quimicaorganica.org/sintesis-organica/613-proteccion-de-grupos-funcionales-en-sintesis-organica.html>.
15. ALVAREZ, Isidro-Llobet, M. Albericio, F. Amino Acid-Protecting Groups. American Chemical Society .Chem. Rev. 2009, 109. (2009).
16. RUIS, Carlos A, Aminoácidos, péptidos y proteínas. Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química UNAM. (2008).
17. LITVINENKO L. M. y Kirichenko A. I. Basicity and stereospecificity in nucleophile catalysis by tertiary amines. Dokl. Akad. Nauk SSSR, SerKhim. N° 176, pag. 97-100. (1967).
18. STEGLICH, W. y Hofle G., N,N-Dimethyl-4-pyridinamine, a Very Effective Acylation Catalyst. Angew. Chem. 1969; 81, pag1001 Angew. Chem. Int. Ed. Engl, N° 8, pag 98. (1969).
19. BERRY, Donald J. Charles V. Di Giovanna, Stephanie S. Metrick, and RamiahMurugan. Catalysis by 4-dialkylaminopyridines. ARKIVOC, pág. 201-226. (2001).
20. CHUNG†, Dae-won y Young Tai ChoiJ. Synthesis and solubility of hydrophilic derivatives of β -sitosterol. Eng. Chem.13, 3, 367-372. (2007).
21. DIAZ, Jean Carlos. Síntesis de la 4-N,N-dimetilaminopiridina e intento de esterificación de la 17 β -hidroxi-5 α -androstan-3-ona. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, UCV (2012).
22. EVERS, William J. Selective reactions of diborano. Tesis, B. S. Momounth College. New Jersey. (1964).
23. KOSTER, R; Ziegler K., Angew. Chem; pág. 69, (1957).
24. BROWN. H.C. y Tierney, P.A. The reaction of Lewis acids of boron with sodium hydride and borohydride, J. Amer. Chem. Soc. 80, 1552. (1958).
25. BROWN. H.C y Korytnyk W, A Study of the Relative Reactivities of Representative Functional Groups Towar Diborane, J. Amer. Chem. Soc. 82, 3866. (1960).

26. BROWN, H.C. Boranes in Organic Chemistry, Cornell University Press, Ithaca, New York, 232. (1972).
27. CHENGWEN Zhao, YijianGu Y ZunhongRui. A Novel Method for the Preparation of Diborane from Aluminum, Ethyl Chloride, Boron Oxide and Hydrogen. Heteroatom Chemistry. Volume 3, Number 3. (1992).
28. BHASKAR, J.V y Mariappan Periasamy. The reduction of carboxylic acids into alcohols using NaBH₄ Y I₂, *J. Org. Chem.* 56, 5964-5965. (1991).
29. DENMARK, S. y Yang, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 12432. (2004).
30. JASS, Paul A. Use of N-trifluoroacetyl-protected amino acid chlorides in peptide coupling reactions with virtually complete preservation of stereochemistry. *Tetrahedron*. Vol. 59. 9019-9029. (2003)
31. FREIDINGER y G. Büchi Trifluoroacetylation of amines an amino acids under neutral, mild conditions: N-Trifluoroacetanilide and N-Trifluoroacetyl-L-tyrosine. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 6*, p.1004 (1988).
32. ERIN, Elliot. C. Scott Hartley, Jeffrey S. Moore. Covalent Ladder Formation Becomes Kinetically Trapped Beyond Four Rungs. The Royal Society of Chemistry. (2011).