



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

24

ZET

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES

SINTESIS DE DERIVADOS DE QUIMICA

4 - HIDROXIANDROST - 4 EN - 3, 17 - DIONA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C O

P R E S E N T A :

ELIZABETH HUERTA SALAZAR



MEXICO, D. F.,

1995

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. Rocío Pozas Horcasitas
Vocal: Dr. Gustavo Alberto García de la Mora
Secretario: Q. Yvonne Grillasca Rangel
1er. Suplente: Q. Alejandrina Acosta Huerta
2o. Suplente: M. en C. José Gustavo Ávila Zarraga

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Química Orgánica

División de Estudios de Posgrado

Facultad de Química, U. N. A. M.

ASESOR DEL TEMA Dr. Gustavo Alberto García de la Mora



SUPERVISOR TECNICO Q. Yvonne Grillasca Rangel



SUSTENTANTE Elizabeth Huerta Salazar

Elizabeth Huerta Salazar

**A MIS PADRES: CELIA SALAZAR LAGUNA Y ENRIQUE HUERTA
RAMOS.**

**Por su tiempo y paciencia, porque con sus enseñanzas contribuyeron a la
formación de un ser humano más.**

**A MIS HERMANOS: CELIA, NORMA, MARÍA ELENA,
ALEJANDRO Y ENRIQUE.**

Por su apoyo de siempre y por todo lo que hemos compartido juntos.

Quiero agradecer de manera especial al Dr. Gustavo A. García de la Mora por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo y por su apoyo en todo momento.

A las maestras Yvonne Grillasca R. y Alejandrina Acosta H. por su paciencia y consejos.

A mis compañeros de laboratorio: Jorge Juan Olvera C., José Carlos Ramírez R., Beatriz González y Ma. Teresa Heredia U. por compartir sus conocimientos y experiencia desinteresadamente.

A mis compañeras de generación: Norma, Bety, Consuelo, Estela, Rocío y Claudia.

Mi agradecimiento a:

Q. Alejandrina Acosta H.
Q. Irene Audelo M.
Q.F.B. Graciela Chávez B.
Q. Marisela Gutiérrez F.
Q. Rubén Gaviño R.

Por la realización de los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C, IR y UV.

CONTENIDO.

	Pag.
Introducción	1
Antecedentes	4
Discusión y resultados	14
Parte experimental	35
Conclusiones	50
Bibliografía	51
Espectros	53

INTRODUCCIÓN

Entre las neoplasias que afectan a la mujer en países desarrollados, el cáncer de mama ocupa el primer lugar. En Estados Unidos de Norteamérica se presentaron 175,000 nuevos casos en 1991. En México representa el segundo lugar general de acuerdo con el Registro Nacional de Cáncer.

Actualmente no se conocen las causas del cáncer mamario, pero se sabe que tanto el *estradiol* como la *progesterona* están involucrados en el control endócrino del crecimiento y diferenciación de la glándula mamaria normal y neoplásica.

La cuantificación de receptores para estrógeno en tejido neoplásico se utiliza como parámetro para determinar su hormonodependencia. De esta manera se ha observado que en aproximadamente el 50 % de tumores mamarios se presentan estos receptores.

En la actualidad el tratamiento médico endócrino del cáncer de mama postmenopáusico avanzado, cae dentro de tres grupos: a) antiestrógenos, actuando directamente sobre las células tumorales vía el receptor; b) inhibidores de aromatasa, suprimiendo la producción de estrógenos; c) progestinas, de las cuales el mecanismo de acción es aún incierto.

La vía de mayor producción de estrógenos en mujeres postmenopáusicas es la conversión periferal de andrógenos a estrógenos y la enzima que interviene es la aromatasa; por otro lado, los estrógenos son promotores y no cancerígenos en sí, sin embargo la producción de estrógenos, su ingestión externa u otras circunstancias como obesidad en el período postmenopáusico parecen predisponer al desarrollo de cáncer.

La reacción catalizada por aromatasa es específica en la formación de estrógenos y la inhibición de esta enzima reduce selectivamente su producción. Un inhibidor específico de aromatasa no interfiere con la formación de otros esteroides debido a que este grupo de esteroides es el

último en formarse en la vía biosintética. Este hecho se presenta como una alternativa para disminuir o eliminar la producción de estrógenos vía un inhibidor de aromatasa.

En las últimas dos décadas se han sintetizado, estudiado y probado una gran variedad de sustancias esteroidales y no esteroidales con propiedades inhibitoras de aromatasa; entre las primeras se encuentra la 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona (4-hidroxi), la cual es una sustancia con actividad inhibitora en la biosíntesis de estrógenos catalizada por aromatasa.¹ Además, en un estudio se demostró que de varias sustancias ensayadas del tipo 4-hidroxi, los derivados esterificados 4-acetato (4-acetoxi) y 4-propionato (4-propioxi) se hallan entre los más potentes inhibidores².

Los compuestos que afectan la inhibición de aromatasa tienen aplicación tanto en el área clínica como en la investigación de procesos mediados por estrógenos tales como: ovulación, implantación y crecimiento de tumores dependientes de estrógenos. Así tenemos que 4-hidroxi y 4-acetoxi, inhiben la conversión periferal sin afectar otros sistemas enzimáticos por lo que no presentan actividad biológica adversa.

Se han realizado varias modificaciones en el esqueleto esteroideal de androst-4-en-3,17-diona, que afectan la capacidad de los esteroides para unirse a la aromatasa.³ Sin embargo, hasta hoy ningún compuesto supera la acción inhibitora "in vivo" de 4-hidroxi o sus derivados esterificados. Por lo anterior, existe un gran interés en la síntesis de estos productos, así como la identificación de subproductos que pudieran tener el mismo efecto inhibitor de aromatasa.

En el presente trabajo se planteó, como objetivo principal, el incrementar los rendimientos de la síntesis de la 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona (los descritos en la literatura se encuentran entre el 10 y el 50 %), mediante el cambio de condiciones de reacción y el empleo de disolventes de baja toxicidad. Así mismo, este proyecto se encaminó hacia la separación y caracterización estructural de otros compuestos, presentes como subproductos, con el propósito de evaluarlos como posibles inhibidores de aromatasa.

Se describe la obtención de 4-hidroxi mediante el tratamiento con etearato de trifluoruro de boro $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ de la mezcla *alfa* y *beta* de los epóxidos 4,5-epoxiandrostan-3,17-diona (obtenidos a partir de androst-4-en-3,17-diona), en disolventes como: ácido acético, propiónico y butírico. Se comparan los rendimientos obtenidos con aquellos descritos en otros disolventes⁴.

También se describe un estudio comparativo del mismo tratamiento para los óxidos *alfa* y *beta* de la androst-4-en-3,17-diona por separado, así como los resultados de la esterificación de 4-hidroxi con los anhídridos acético, propiónico y butírico.

ANTECEDENTES

Las proteínas receptoras de estrógenos parecen tener dos sitios funcionales, uno con alta afinidad por estrógenos y el otro con alta afinidad por DNA. A partir del enlace del estrógeno en el primer sitio, se induce un cambio conformacional en el segundo sitio, permitiendo a éste interactuar con una secuencia específica de nucleótidos de DNA. El resultado de esta interacción es el incremento en la producción de mRNA a partir de genes selectos, por lo que la presencia de estrógenos parece dar lugar a la expresión de factores de crecimiento en la célula tumoral.⁵

La enzima que cataliza la conversión de andrógenos a estrógenos es un citocromo P-450 dependiente de monooxigenasa. Sin embargo, el mecanismo de esta reacción es aún objeto de controversia y muchos autores están de acuerdo en que probablemente éste tiene lugar a través de tres oxidaciones sucesivas en el carbono 19 del núcleo del esteroide.

El citocromo P-450 es un complejo enzimático que participa de un sistema de transporte de electrones. Los electrones se transfieren de la proteína reducida a la oxidada (Fe III-P-450), el cual se encuentra sólo en los microsomas de las células (hígado, tejido adiposo, etc.). La forma reducida Fe II de P-450, reacciona con el oxígeno molecular de tal manera que, uno de los átomos de oxígeno se reduce a agua y el otro se introduce al sustrato orgánico.⁶

La conversión de andrógenos a estrógenos se propone a través de la pérdida de un hidrógeno en el carbono 2 por enolización (figura 1), seguida por un proceso de tres pasos. Aparentemente cada uno de ellos requiere de un equivalente molar de NADPH y O₂.

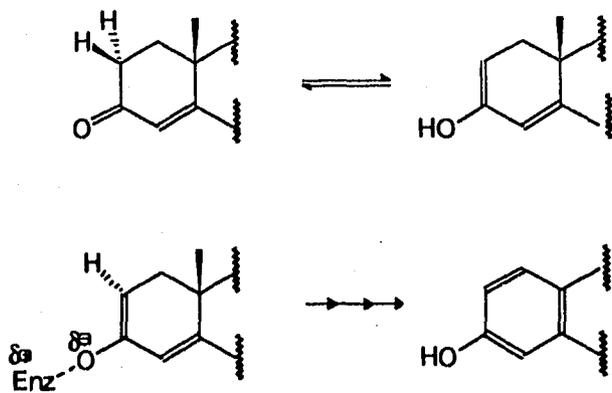
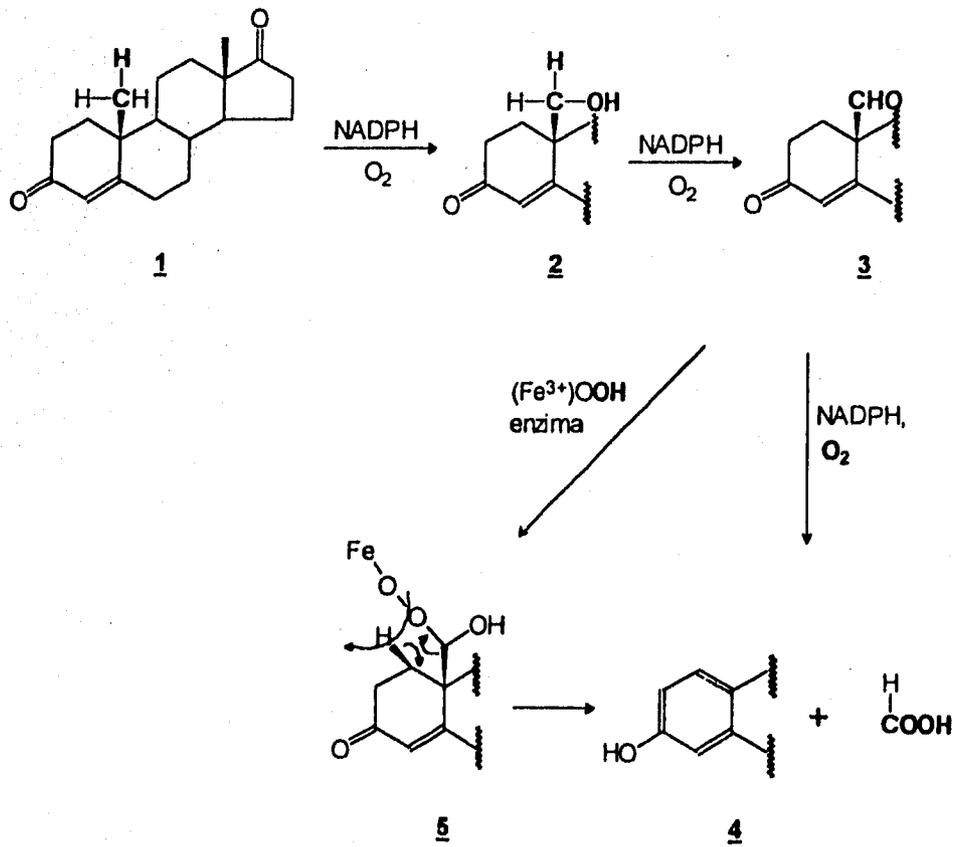


Figura 1

En el primer paso, el andrógeno androstendiona **1** (que inicialmente puede considerarse en su forma enólica según lo descrito anteriormente), se hidroxila en el carbono 19 para dar el 19-hidroxi intermediario **2**. En el segundo paso la 19-hidroxi **2** se oxida al compuesto 19-oxo **3**. Posteriormente el enlace entre los carbonos 10 y 19 se rompe oxidativamente para dar el estrógeno **4** y ácido fórmico. Los hidrógenos uno y dos con orientación *beta* se pierden estereoespecíficamente. En una aproximación propuesta por Akhtar⁷ para la pérdida del hidrógeno con orientación uno *beta*, se sugiere el enlace de una enzima peróxido-férrico sobre el grupo aldehído en el carbono 19, para dar un peróxido hidroférico **5**, este intermediario podría dar el estrógeno **4** vía la transferencia de un protón como se muestra en el esquema 1.



Esquema 1

El mecanismo por el cual 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona **6** inactiva a la enzima permanece desconocido; sin embargo, Covey⁸ propone la formación de un enlace covalente entre la enzima y la posición 4 del núcleo del esteroide, seguido de una rápida protonación **7**, provocando la salida de agua en lugar de la enzima. Esta proposición concuerda con el carácter de inhibidor irreversible atribuido a 4-hidroxi **6** (figura 2).

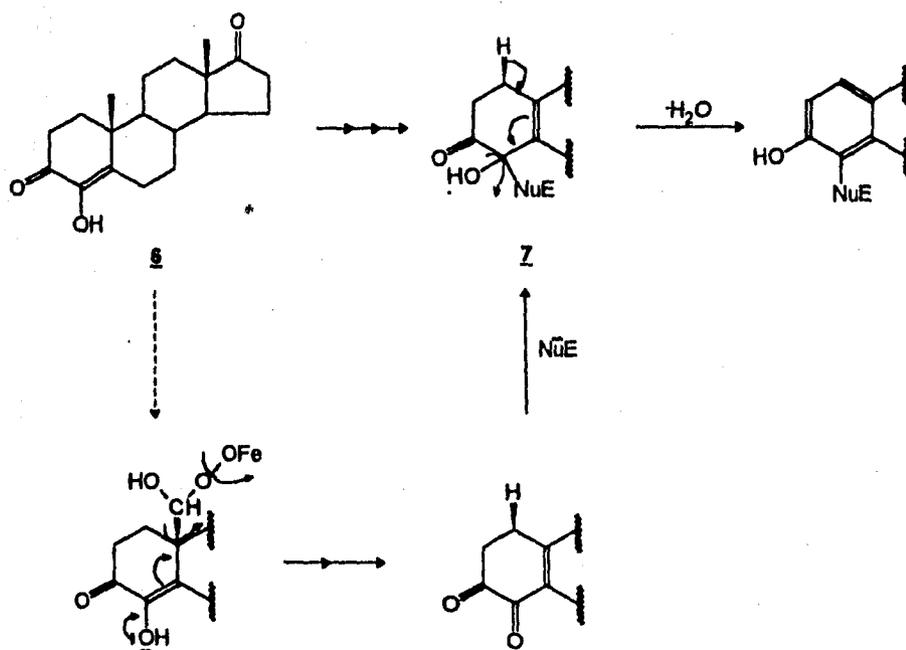


Figura 2

En un intento para determinar los aspectos estructurales de los esteroides que contribuyen para inhibir la biosíntesis de estrógenos, se llevó a cabo la evaluación de 100 esteroides⁹, resultando que los inhibidores más efectivos se asemejaron a 4-androsten-3,17-diona **1**. La semejanza encontrada fue tanto estérica como electrónica, tal como la mostrada en los compuestos **8** y **9** (figura 3).

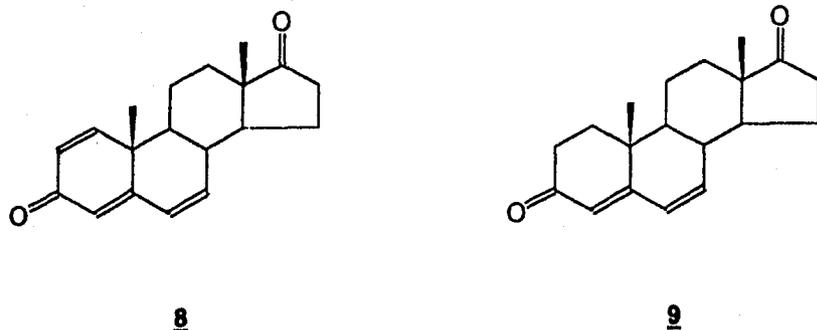


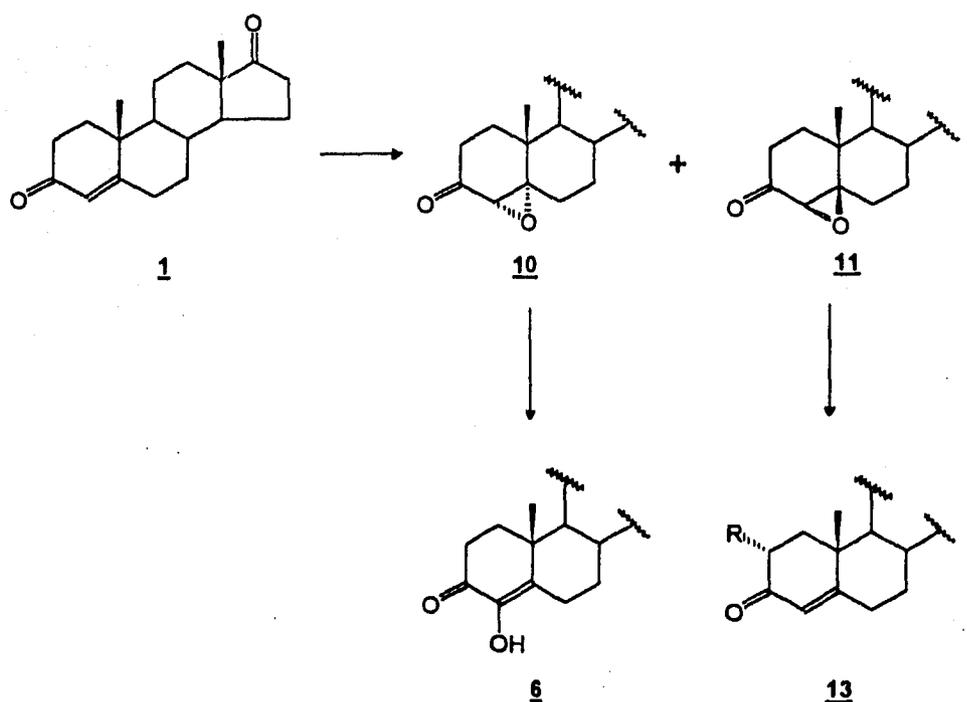
Figura 3

Los mejores inhibidores presentaron extensión de la conjugación de la parte Δ^4 -3-ona, lo que se traduce en una mayor deslocalización del sistema π . Aparentemente el complejo enzimático se une tanto a este sistema π extendido como con el menos conjugado de la parte Δ^4 -3-ona del sustrato.

De entre los análogos sintéticos de 4-androsten-3,17-diona **1** que se han evaluado a la fecha, la 4-hidroxi **6** se encuentra entre los más potentes. Los estudios indican que la regresión del tumor de mama por 4-hidroxi **6**, es principalmente el resultado de la inhibición de aromatización; sin embargo, pueden contribuir otras actividades del compuesto.¹⁰

Cuando 4-hidroxi **6** se utilizó en ratas, no presentó efectos adversos, además de no tener actividad como estrógeno, antiestrógeno, progestágeno, antiprogestágeno o antiandrógeno, y solamente mostró 1 % de la actividad androgénica de la testosterona.^{1,10}

Una de las síntesis descritas para obtener 4-hidroxi **6** a partir de la mezcla de epóxidos 4,5-epoxiandrostan-3,17-diona **10** y **11**, utiliza como reactivos al ácido sulfúrico concentrado y al ácido acético glacial (AcOH), con rendimientos hasta de 52 %⁷ (esquema 2).



13a, R = α -OCOCH₃

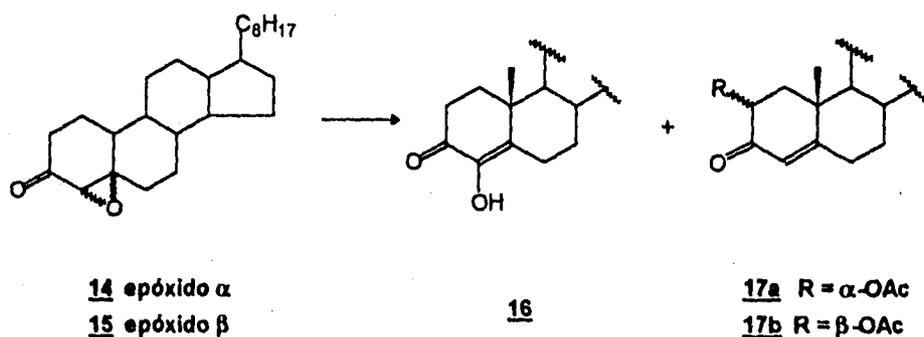
13b, R = α -OH

Esquema 2

En la mencionada apertura de la mezcla de epóxidos **10** y **11** en medio ácido, se ha descrito además de 4-hidroxi **6**, la obtención de productos como 2 α -acetoxiandrosta-4-en-3,17-diona (2 α -acetoxi) **13a** y 2 α -hidroxiandrosta-4-en-3,17-diona (2 α -hidroxi) **13b**.

Según Burnett¹¹, la apertura de 4 β ,5 β -epoxiandrosta-3,17-diona **11** en medio ácido produce la 2 α -hidroxi **13b**, y la apertura del epóxido α conduce, principalmente, a la 4-hidroxi **6**, aunque éste último en muy bajos rendimientos (16 %).

También se ha descrito la apertura de la mezcla de epóxidos **14** y **15** con H_2SO_4 y AcOH, produciendo el derivado 2 α -acetato **17a** en un 4.5 % y el derivado 4-hidroxi **16** en un 17 %¹²; la misma apertura catalizada por ácido polifosfórico (PPA) produce además del derivado **16**, el derivado **17a** con un rendimiento mayor, 45 % (esquema 3).



Esquema 3

Los compuestos **17a** y **17b** han sido descritos a partir de otras materias primas como 6 β -bromo-4-en-3-onas¹¹ y 4-bromocolest-4-en-3-ona¹³.

Cuando se usa benceno como disolvente⁴ y $BF_3 \cdot Et_2O$ como catalizador sobre los epóxidos **14** y **15**, se obtiene el mismo hidroxi derivado **16** en 35 % de rendimiento junto con 3 % del producto de contracción **18** (esquema 4).

Volviendo a la estructura esteroideal, Collins⁴ expone, en base a sus resultados experimentales, que la relación del producto de contracción **18**, obtenida a partir de los epóxidos α **14** y β **15**, es de 10 a 1; es decir, que la mayor proporción de **18** se obtiene con el epóxido α , **14**.

Se han descrito otros métodos para la contracción del anillo A del esqueleto esteroideal¹⁵ buscando esteroides de elevada actividad anabólica y baja actividad masculinizante (androgénica) pero con rendimientos muy bajos. Sin embargo, en el área de la inhibición de aromatasas, productos como las C-19 4-androsten-3-onas, son mejores inhibidores que los correspondientes compuestos esteroidales A-Nor.²

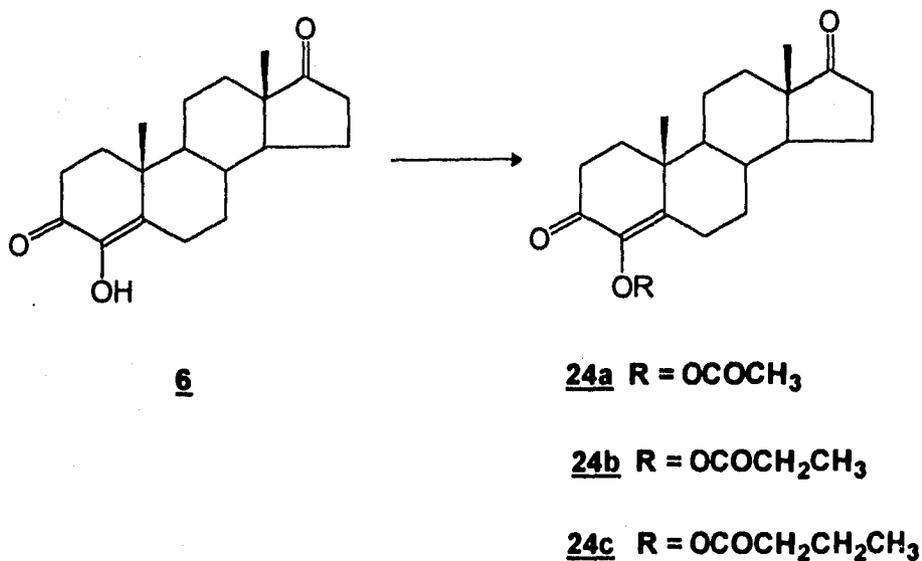
La apertura de los epóxidos **14** y **15** con AcOH, utilizando otro ácido de Lewis como catalizador (AlCl₃), sólo produjo derivados 4-clorados¹² y no los correspondientes 4-hidroxi **16** ó el producto de contracción **18**, mostrados en el esquema 4.

En la apertura de los epóxidos **10** y **11**, no se han descrito los derivados esterificados de 4-hidroxi **6** obtenidos directamente o como subproductos por ninguna de las técnicas mencionadas anteriormente.

Se sabe que 4-acetoxiandrosteron-3,17-diona (4-acetoxi) **24a** (esquema 6) tiene actividad como inhibidor de aromatasas aunque con menor potencia que 4-hidroxi **6**; es decir, se necesitan mayores dosis. Su actividad es similar y es más estable que este último.

4-Acetoxi **24a**, se ha sintetizado a partir de la esterificación de 4-hidroxi **6** con anhídrido acético en piridina. El derivado 4-propionato **24b**, también ha mostrado muy buena actividad como inhibidor de aromatasas y el método de síntesis es a través de la esterificación de **6**.

El derivado 4-butirato **24c** también podría presentar actividad como inhibidor, ya que se cree que los inhibidores esterificados se hidrolizan "*in vivo*" y pueden actuar igual que el 4-hidroxi derivado **6** (esquema 6).

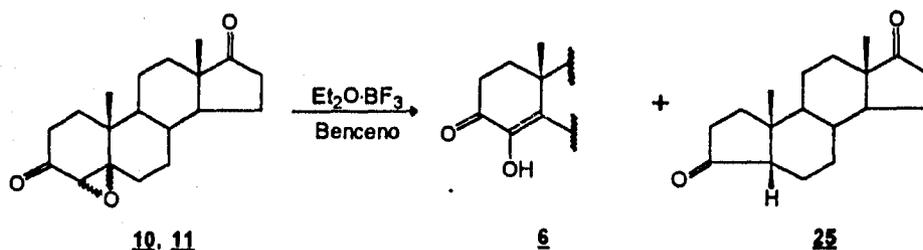


Esquema 6

Por último, cabe mencionar que los derivados de androst-4-en-3,17-diona **1** descritos anteriormente, pueden obtenerse de la apertura de los epóxidos **10** y **11** en diferentes condiciones de reacción; estos epóxidos se obtienen al hacer reaccionar la androst-4-en-3,17-diona **1** con H₂O₂ en MeOH y NaOH, reacción en la que se esperaría obtener el epóxido α, que es el más favorecido por impedimento estérico. Sin embargo, se ha observado mayor proporción del epóxido β, por una supuesta inversión en el carbono 5, que aún no se ha explicado completamente¹⁵. Se han registrado relaciones de epóxido α:β **10**, **11**; hasta en 1 a 5, por integración en espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.⁷

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

La reacción de la mezcla de epóxidos **10** y **11** con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en benceno forma los compuestos 4-hidroxiandrosta-4-en-3,17-diona **6** y A-Nor-5 β -androsta-3,17-diona **25**, que después de separarse por c.c.f. se caracterizaron básicamente por espectroscopía de RMN- ^1H e IR, el primero, y por espectrometría de masas y RMN- ^{13}C el segundo (esquema 7).



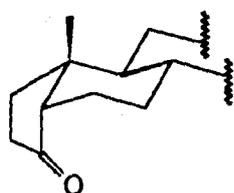
Esquema 7

El producto **6** se obtuvo con un rendimiento relativamente bajo 40 % y con un punto de fusión también bajo, p.f. **6** 167-172°C (p.f. lit.¹⁰ 199-202°C); sin embargo, la espectroscopía de RMN- ^1H nos permite confirmar su estructura. En RMN- ^1H el producto presenta un singulete con desplazamiento de 6.1 ppm, señal correspondiente a 4-OH, que desaparece al agregar D_2O ; también sobresalen las señales de singulete para Me-18 en 0.9 ppm y Me-19 en 1.2 ppm. El espectro de IR confirma la presencia del grupo hidroxilo y de los carbonilos: muestra una banda ancha en 3300 cm^{-1} , debida al alargamiento del enlace O-H; una banda en 1730 cm^{-1} , para el alargamiento del carbonilo en C-17, y otra en 1650 cm^{-1} del carbonilo conjugado en C-3; presenta también la banda de alargamiento C=C en 1620 cm^{-1} . El espectro de UV muestra la mayor absorción en 278 nm y se obtiene un coeficiente de extinción molar de 14,380.

En la espectroscopía de RMN- ^1H para **25** (espectro No. 1), se observó la presencia de dos singuletes que sobresalen de las señales correspondientes al

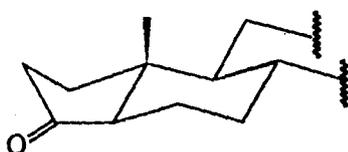
resto del esteroide, éstas aparecen en 0.82 ppm (Me-18), 1.17 ppm (Me-19) y ninguna señal a campo menor a 2.5 ppm.

La estructura del compuesto 25 se comprobó con la ayuda de la espectroscopía de RMN-¹³C (espectros Nos. 2, 3 y 4), por medio de la técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer). Se determinaron un número de carbonos totales de 18. La señal del Me-19 en 21.94 ppm y de C-9 en 34.76 ppm indican que existe una fusión anular de tipo A/B cis 26 (figura 4).



A/B cis

26



A/B trans

27

Figura 4

Con la ayuda del espectro de correlación, COSY ¹³C-¹H (espectro No. 5), se determinó el desplazamiento del C-5 a 58.61 ppm debido a la correlación de éste con el hidrógeno que se desplaza a menor campo, aproximadamente a 2 ppm, por estar vecino al carbonilo en C-3.

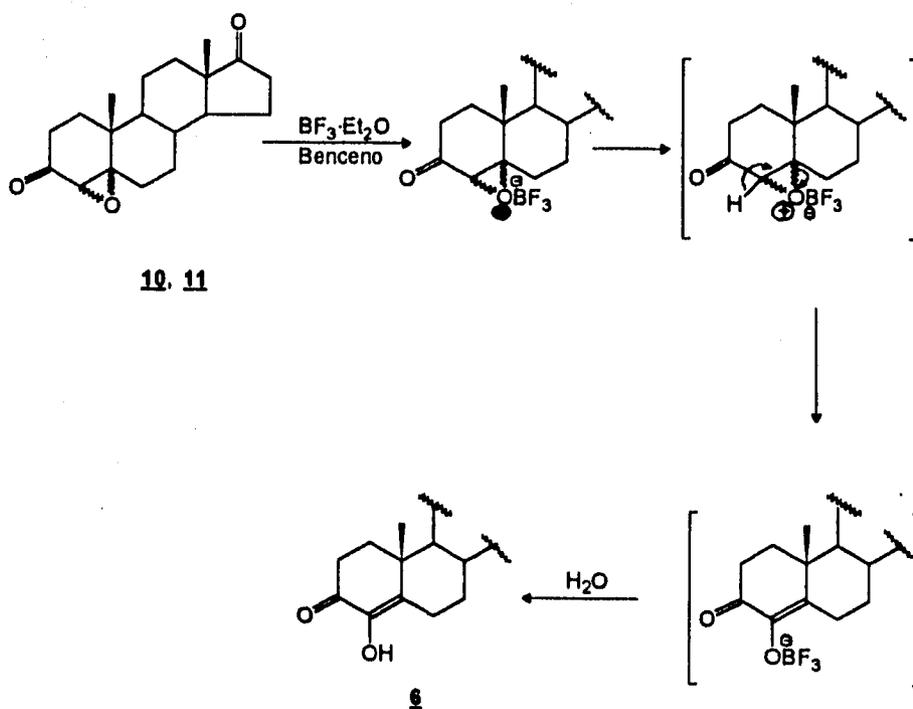
Estos datos se reforzaron con aquellos obtenidos en la espectrometría de masas (espectro No. 6), en la que se tiene un ion molecular de m/z 549 [2M+H]⁺ para un dímero de 25; un pico base de m/z 275 [M+H]⁺, correspondiente al peso molecular de 25; también se presentan m/z 257 [M+H-18], pérdida de agua y m/z 219 [M-55]⁺, pérdida característica de cetonas, que no es el pico base debido a la estructura del compuesto. La técnica utilizada en la espectrometría de masas FAB⁺ nos permite observar el

ion molecular y el pico base; no así, la fragmentación completa que sería de características complejas.

La espectroscopía de IR nos confirma la presencia del grupo carbonilo en anillos de cinco miembros, con una banda de absorción en 1734 cm^{-1} , para el alargamiento $\text{C}=\text{O}$ en C-3 y C-17; también se presentan las bandas de flexión de CH_3 en 1332 cm^{-1} , CH_3 y CH_2 en 1456 cm^{-1} .

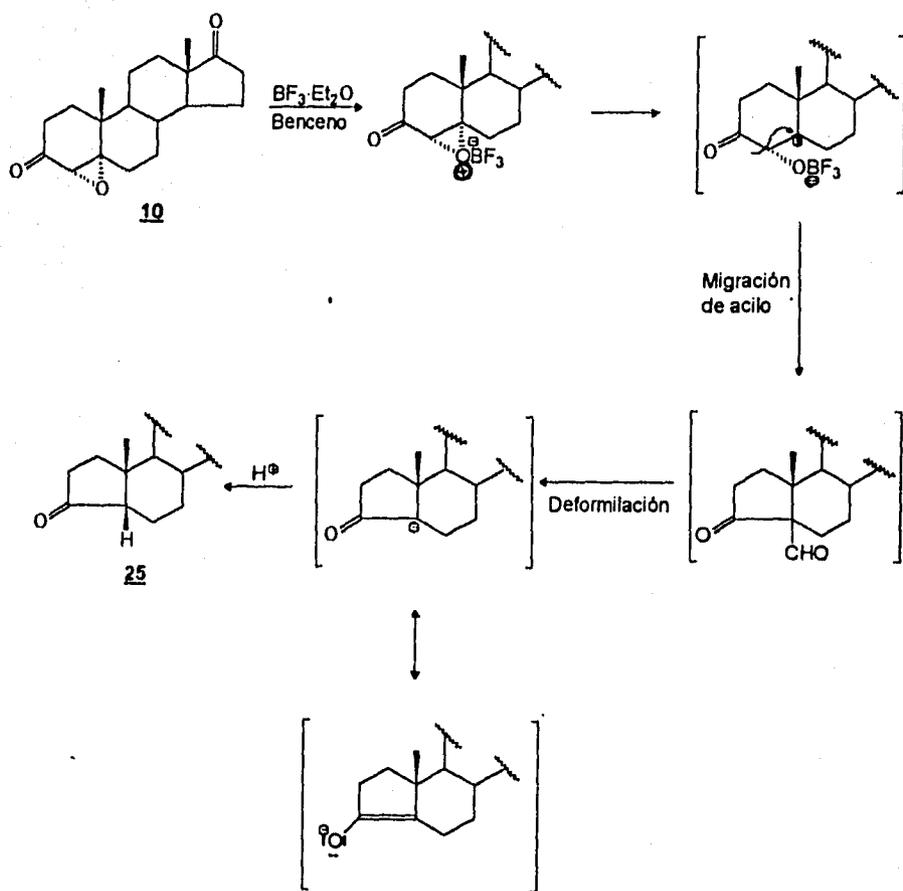
El punto de fusión determinado de **25**, concuerda con el informado para el mismo; p.f. $127\text{-}130\text{ }^\circ\text{C}$; p.f. lit.¹⁵ $127\text{-}129\text{ }^\circ\text{C}$.

Se propone el siguiente mecanismo para la formación de 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona, **6**, a partir de la mezcla de epóxidos **10** y **11**, ya que, como se discutirá más adelante, se demostró que **6** se forma a partir de cualquiera de ellos (esquema 8).



Esquema 8

El mecanismo que se propone para la formación del compuesto **25** se representa en el esquema 9.



Esquema 9

Se considera que la formación de 25 es preferentemente a partir del epóxido α , 10; suponiendo una mayor estabilidad del carbocatión a comparado con b (figura 5) por impedimento estérico del grupo $^{-}\text{OBF}_3$.

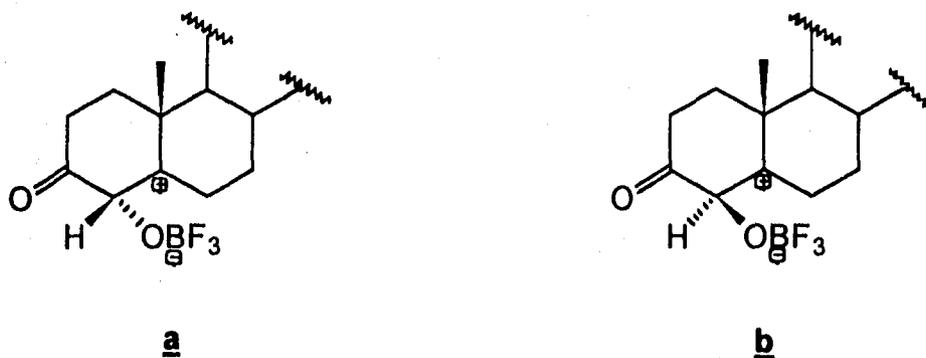
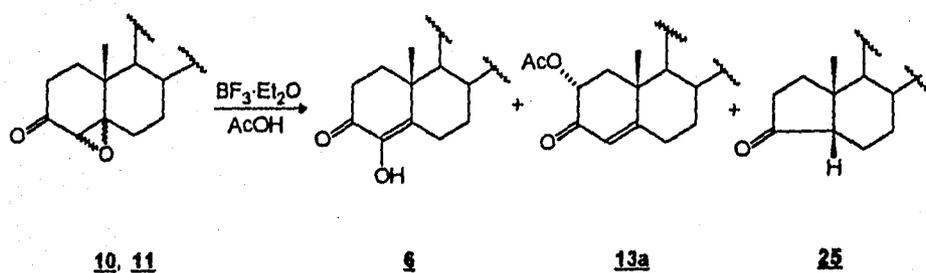


Figura 5

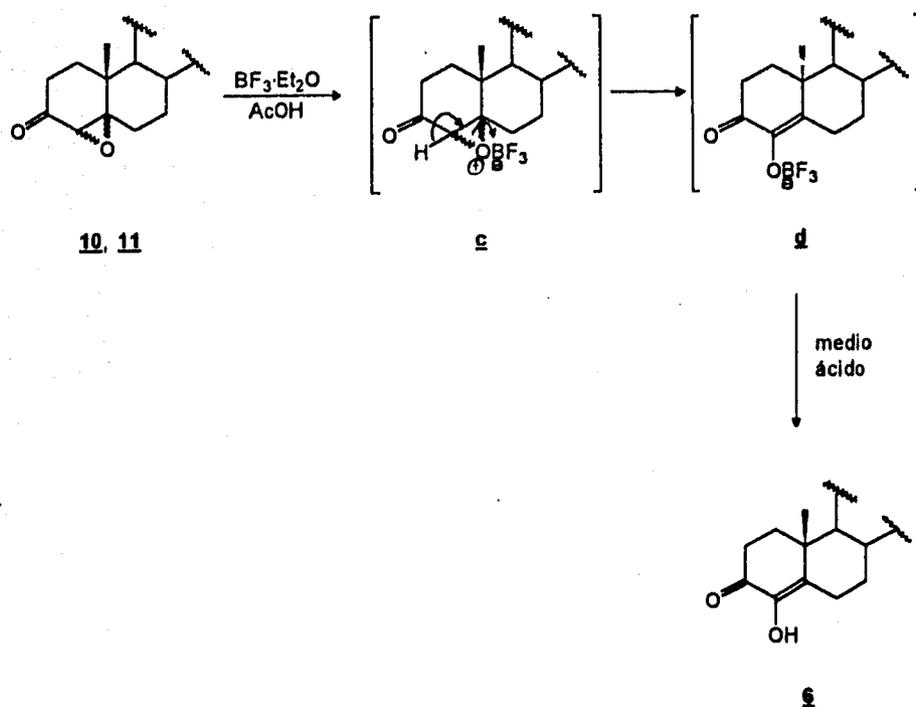
Estructuralmente el carbocatión a nos lleva más fácilmente a la formación de 25. La fusión de anillos A/B cis, más estable termodinámicamente que la fusión A/B trans para este sistema, nos permite proponer la estructura 5β del compuesto, que se confirma con los datos espectroscópicos de RMN- ^{13}C .

La reacción de apertura de epóxidos 10 y 11 con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético glacial da como resultado el producto deseado, la 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6, así como también el producto caracterizado en la reacción con benceno, A-Nor- 5β -androst-3,17-diona 25 y otro producto identificado como 2α -acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 13a (esquema 10).



Esquema 10

El producto 6 de la apertura de epóxidos 10 y 11 con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en AcOH , se identificó en base a los espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ e IR mencionados anteriormente. Su punto de fusión (p.f. $198\text{-}199\text{ }^\circ\text{C}$) concuerda con el informado (lit.¹¹ $199\text{-}200\text{ }^\circ\text{C}$). Para esta reacción, los rendimientos fueron mejorados (78.23 %) si se compara con la reacción en benceno; debido probablemente a que se usa un medio ácido, el cual provoca la hidrólisis inmediata del intermediario 4 (esquema 11).



Esquema 11

El producto **13a** se obtuvo como cristales blancos de p.f. 210-211 °C y su estructura se propone en base a la RMN protónica y de ^{13}C ; y es producto de una reacción en competencia con la del compuesto **6**.

El espectro de RMN protónica de **13a** (espectro No. 7), muestra una señal de doble de dobles en 5.41 ppm con una constante de acoplamiento de 14 Hz, correspondiente a la interacción 2β , 1α y $J = 5.2$ Hz, interacción 2β , 1β , indicando que el protón en C-2 se encuentra acoplado con un protón axial en C-1 y con otro ecuatorial también en C-1, siendo el protón en C-2 β axial. También aparece una señal de singulete en 5.73 ppm correspondiente al

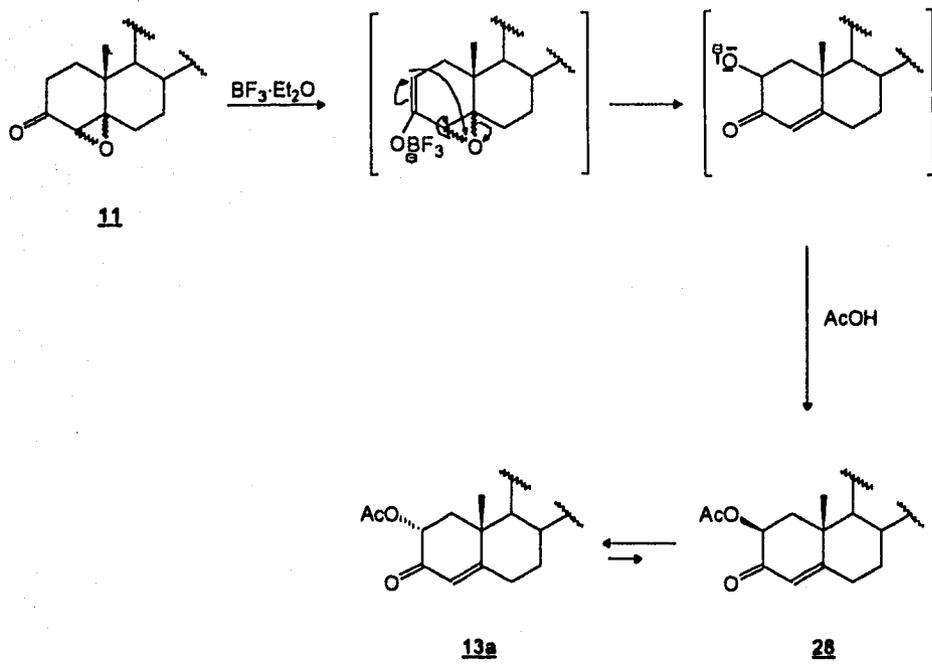
protón vinílico en C-4. El espectro muestra otros tres singuletes; para el metilo del acetato en C-2 a 2.13 ppm, Me-18 en 0.88 ppm y Me-19 en 1.31 ppm.

El espectro de correlación COSY ^1H - ^1H (espectro No. 8), indica que el protón en 5.41 ppm interacciona con dos protones, uno en 2.2 ppm y el otro entre 1.8-1.9 ppm. La señal de 2.2 ppm es un doble de dobles con el mismo acoplamiento que la señal de 5.41 y es de esperarse corresponda al protón 1α en posición axial. En un experimento de irradiación selectiva (espectro No. 9), al irradiar la señal en 5.41, el doble de dobles en 2.2 ppm se transforma para dar un doblete con una constante de acoplamiento de 14 Hz. La señal de entre 1.8-1.9 ppm debe corresponder entonces, al protón 1β ecuatorial y aún cuando no se puede observar claramente la multiplicidad de éste, se puede hablar de la existencia de un sistema ABX; A (δ 2.2 ppm), B (δ 1.8 ppm), X (δ 5.41 ppm).

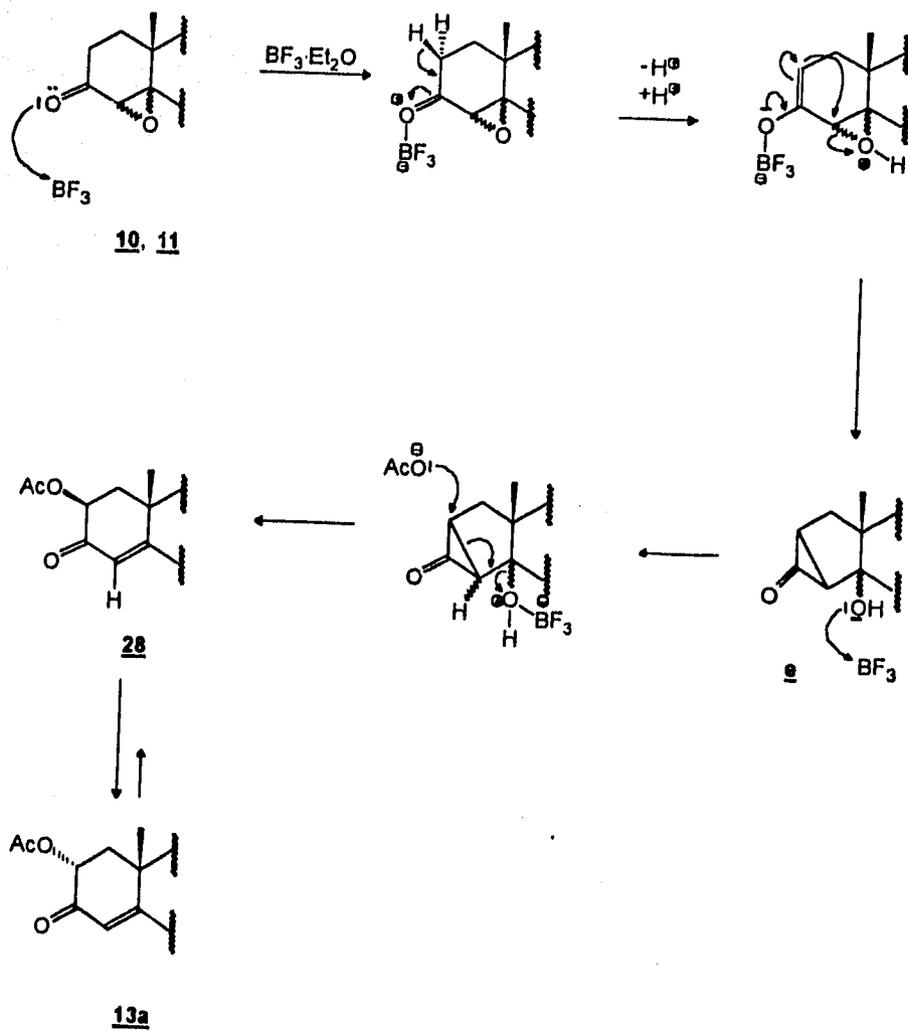
El espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **13a** (espectro No. 10), indica un número total de 21 carbonos y con la ayuda de la técnica DEPT (espectro No. 11), se logró su caracterización. La señal en 170.22 ppm corresponde a un carbonilo de éster (acetato sobre C-2), en 169.90 se tiene un carbono sp^2 no protonado (C-5); en 122.03 un carbono sp^2 protonado (C-4); en 71.04 un carbono sp^3 protonado, unido a un grupo electronegativo (base del acetato C-2); en 20.85 aparece la señal del metilo del acetato que se distingue de Me-19 y Me-18 porque aparece a más bajo campo que éstos.

Para completar la información anterior se tienen los datos de IR de **13a**; en el espectro sobresalen las bandas de 1740 (carbonilo del éster y C-17), 1685 (carbonilo conjugado, C-3) y 1615 (C=C). El espectro de UV muestra una λ_{max} en 239.8 nm.

Se sugieren dos probables mecanismos para la formación de **13a** representados en los esquemas 12a y 12b. En éstos, se propone que el 2β -acetato **28**, menos estable termodinámicamente, se isomeriza a la forma ecuatorial más estable dando el 2α -acetato **13a**, aislado con un rendimiento de 15.57 %.



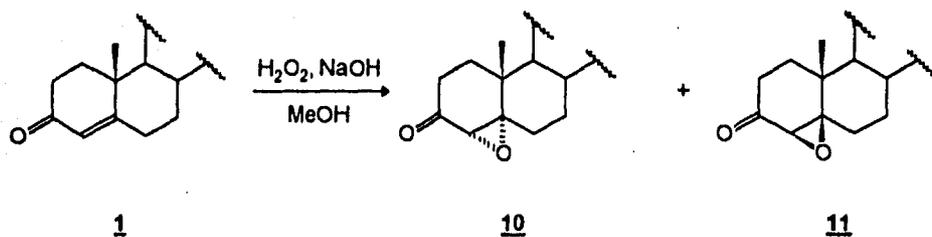
Esquema 12a



Esquema 12b

Una vez realizada la apertura de mezcla de epóxidos α y β en ácido acético glacial y de caracterizarse los productos obtenidos; se separan los epóxidos **10** y **11** y se llevan a cabo las reacciones de apertura por separado para identificar los productos derivados de uno y otro epóxido.

Se llevaron a cabo las siguientes pruebas para la obtención de los epóxidos **10** y **11** (esquema 13) con el objeto de encontrar las condiciones que dieran la proporción más adecuada de los dos epóxidos y proceder a su separación.



Esquema 13

Reacción a una temperatura de $-5\text{ }^\circ\text{C}$, el rendimiento de la mezcla fue de 82.86 % predominando el epóxido β .

Reacción entre 4° y $12\text{ }^\circ\text{C}$, el rendimiento fue de 79.27 %, predominando el epóxido β .

Reacción a temperatura ambiente, el rendimiento de la mezcla fue de 49.38 % y aunque se encontró una mayor cantidad del epóxido α que en las pruebas anteriores, siguió predominando el β . El bajo rendimiento en esta última prueba se puede deber a que la forma de trabajar la reacción involucró la evaporación de MeOH en el rotavapor, lo que pudo haber provocado concentración en el medio básico y formación de subproductos. Aún así, fue ésta la mezcla utilizada para obtener los epóxidos por separado, ya que fue donde se observó mayor formación del epóxido α .

La relación de epóxidos obtenida fue de 70.83 % β y 29.16 % α ; éstos se identificaron por su punto de fusión, p.f. **10**, 197-198 °C (lit.¹⁵ 197-198 °C), p.f. **11** 198-200 °C (lit.¹⁵ 201-203 °C), y por sus espectros de RMN-¹H.

El espectro de RMN-¹H de **10** muestra singuletes en 0.86 ppm (Me-18), 1.08 (Me-19) y 3.03 (H-4); el de **11** muestra singuletes en 0.9 ppm (Me-18), 1.28 (Me-19), 3.00 (H-4).

El metilo 19 de **10** que se desplaza a más alto campo se considera más protegido que el Me-19 de **11** desprotegido por la cercanía del grupo oxo del epóxido, desplazándolo a campo más bajo. A su vez el H-4 en **11** está más protegido que en **10** y por tanto a campo alto.

La mayor proporción de **11** se explica considerando que la reacción es muy rápida y se forma el producto cinético. Si la reacción no fuera tan rápida se produciría una mezcla de diastereoisómeros de los cuales predominaría el más estable, que se supone es el isómero α .

Las aperturas de los epóxidos **10** y **11** por separado producen los compuestos **6**, **13a** y **25**. Sin embargo las cantidades no son iguales; es decir, la formación de **25** es menor con el epóxido β , supuestamente debido a la menor estabilidad del carbocatión intermediario **b** (figura 5) y a la mayor facilidad para la formación de **25** a partir del epóxido α (lo que se puede observar con modelos moleculares); estos resultados concuerdan con los descritos por Collins.⁴

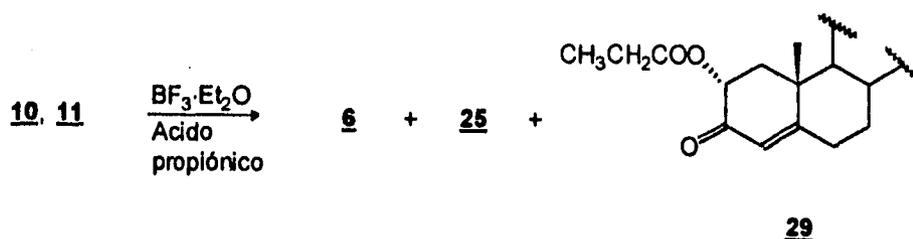
El compuesto **13a** se forma a partir de cualquiera de los dos epóxidos; si consideramos el mecanismo propuesto en el esquema 12a la distancia entre el oxígeno del oxirano y el carbono 2 es de 2.91 Å en el epóxido α y de 3.12 Å en el β (distancias obtenidas por medio de cálculos de mecánica molecular, utilizando el programa de PC-Model Hyper-Chem). La diferencia mínima de 0.21 Å permite que **13a** se pueda formar a partir de cualquiera de los dos epóxidos. De igual modo en el esquema alternativo 12b (de acuerdo con lo propuesto por Tamoeda¹¹) la forma enólica de **11** puede dar lugar a la ciclopropanona intermediaria **e** susceptible de sufrir un ataque nucleofílico por

el AcO^- y con la posterior salida de agua dar lugar a la formación de **28** que isomeriza rápidamente a **13a**. Las distancias calculadas para la formación de la ciclopropanona son del C-2 al C-4 2.45 Å en el epóxido α , y de 2.43 Å en el epóxido β justificándose así la formación de **13a** a partir de cualquiera de ellos.

El enol **6** se forma a partir de cualquiera de los dos epóxidos debido a que la reacción procede vía los intermediarios **c** y **d** (esquema 11) sugiriendo que el paso de **c** a **d** puede involucrar la misma energía independientemente de si se trata del epóxido α o del β .

Apertura de los epóxidos **10** y **11** con ácido propiónico.

La apertura de la mezcla de epóxidos en ácido propiónico produce los compuestos **6**, **25** y probablemente **29** (esquema 14).



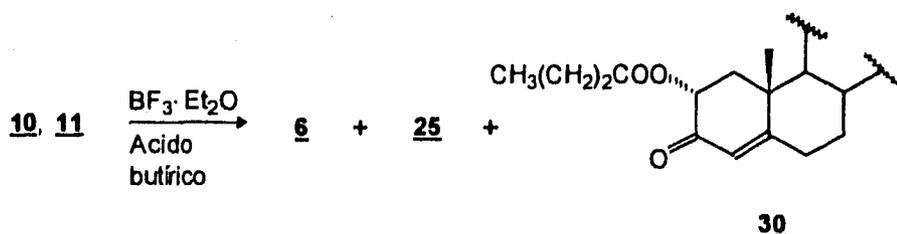
Esquema 14

Los datos espectroscópicos de **6** ya han sido citados, y el rendimiento fue de 35 %.

El producto **25** se obtuvo con un rendimiento de 2.6 % y los datos espectroscópicos anteriormente citados comprueban su identidad.

Apertura de los epóxidos 10 y 11 con ácido butírico.

La misma reacción del esquema 14, usando ac. butírico, produce el compuesto 6, con rendimiento de 42.6 %; una mezcla de 6 y 25 (en proporción muy baja por lo que su separación no se llevó a cabo) y una serie de productos más polares que 6, de entre los cuales se trató de identificar 2 α -butiroxiandrost-4-en-3,17-diona 30 (esquema 15).

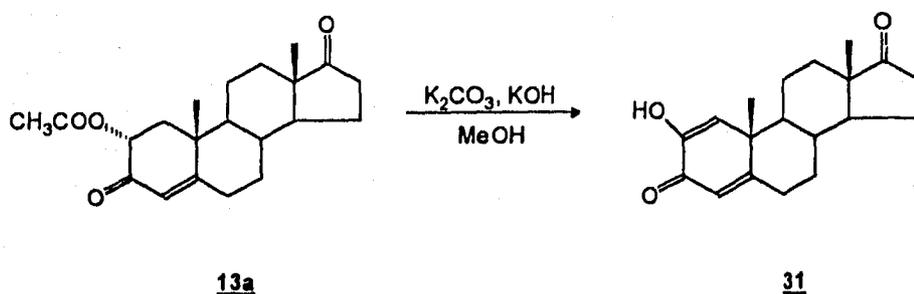


Esquema 15

La mezcla de 6 y 25 fue confirmada por el espectro de RMN-¹H en el que aparecen las siguientes señales: 0.85 (Me-18 de 25), 0.9 (Me-18 de 6), 1.03 (Me-19 de 25), 1.06 (Me-19 de 6), 6.1 (H-4 de 6).

Las reacciones de los esquemas 14 y 15, se presentaron como otra opción para obtener el producto 6 en condiciones no tóxicas y rendimientos razonables; aunque la reacción en ácido acético seguramente es la opción más aceptable. Con objeto de confirmar la existencia de 29 y 30, se intentó obtener los productos de la hidrólisis básica de los mismos, y se comparó el resultado con la hidrólisis de 13a; de tal modo que los tres ésteres produjeran el mismo alcohol secundario 2 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 13b (esquema 2).

La hidrólisis de **13a** se llevó a cabo primero en condiciones atmosféricas normales, obteniéndose 2-hidroxiandrost-1,4-dien-3,17-diona **31** (esquema 16).



Esquema 16

El producto **31**, se identificó con la ayuda de los espectros de RMN-¹H e IR. El IR presenta una banda de alargamiento de OH en 3362 cm⁻¹, una banda característica de dobles ligaduras en 3036 cm⁻¹ además de una banda ancha en 1639 correspondiente al carbonilo en C-3 y a los dobles enlaces de C-1 y C-4. El espectro de RMN-¹H (espectro No. 12), muestra un singulete en 6.38 ppm que desaparece al adicionar D₂O, por lo que se atribuyó al protón del hidroxilo sobre C-2. Aparece una señal de singulete en 6.16 ppm correspondiente al protón vinílico en C-4 y otra en 6.30 debida al protón vinílico en C-1, desplazada a campo más bajo por estar β al carbonilo. El sistema muestra absorción en UV a una λ_{max.} de 253 nm.

El producto **31** se encuentra en la forma enólica debido a la estabilización por puente de hidrógeno entre los grupos vecinos 2-hidroxilo y 3-oxo (figura 6).

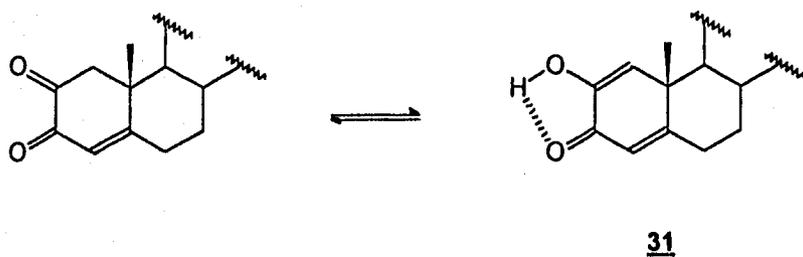
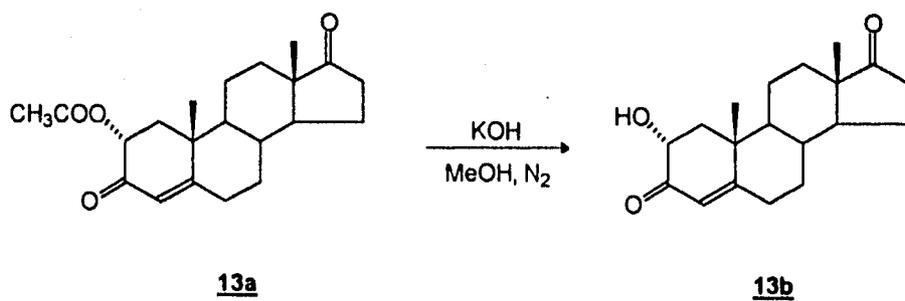


Figura 6

Debido a que la única explicación para la formación del compuesto **31** es a través de una oxidación y como el único oxidante en el medio era el oxígeno atmosférico, se decidió realizar la reacción en un medio de reacción libre de oxígeno y de humedad; así, la reacción del esquema 17 se realizó en atmósfera de nitrógeno seco.



Esquema 17

El producto **13b** se identificó por sus espectros de IR y RMN-¹H. En IR, se presenta la banda del hidroxilo en 3396cm⁻¹; las debidas a carbonilo en 1742 (C-17) y 1672 (C-3) y la de doble ligadura en 1604. El espectro de UV muestra una λ_{max} en 241 nm ($\lambda_{\text{calculada}}$ 242 nm).

El espectro de RMN-¹H fue esencial para la caracterización de **13b** (espectro No. 13); en él, se observó la señal del protón vinílico H-4 como un singulete en 5.79 ppm; en seguida a 4.25 ppm se encuentra la señal de un protón que por su desplazamiento químico se atribuye al protón base del alcohol, C-2, la señal aparece con una multiplicidad de doble de dobles y constantes de acoplamiento de 13.5 y 6.3 Hz. La constante de 13.5 Hz indica acoplamiento 2 β , 1 α y la de 6.3 Hz acoplamiento 2 β , 1 β ; con estos datos se asumió al protón sobre C-2 con la misma posición 2 β axial que en el compuesto **13a**. Cada señal del doble de dobles aparece dobleteada con una constante de acoplamiento de 2 Hz por la interacción de H-2 con el protón del alcohol sobre C-2; implicando que al agregar D₂O, estas señales vuelven a su forma original de doble de dobles. La señal del alcohol sobre C-2 en 3.55 ppm aparece dobleteada con una constante de acoplamiento de 2 Hz por la interacción con el H-2 β y desaparece al agregar D₂O.

Habiendo caracterizado **13b**, se realizaron las hidrólisis de los supuestos productos esterificados **29** y **30** en las mismas condiciones de hidrólisis de **13b** obteniéndose en los dos casos un producto con la misma polaridad de **13b**, confirmando así la formación de ambos.

No se tiene una explicación razonable al hecho de que el compuesto **13a** se oxide tan fácilmente en las condiciones de metanólisis cuando no se excluye el oxígeno de el medio de reacción.

Reacciones de esterificación de 4-hidróxiandrost-4-en-3,17-diona 6.

Las reacciones de esterificación de 6 se llevaron a cabo sin mayor problema en piridina con el anhídrido correspondiente.

Preparación del acetato.

El producto 4-acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 24a (esquema 18) se obtiene con buen rendimiento y relativa pureza (84.72 %, p.f. 175-177 °C). El espectro de RMN-¹H (espectro No. 14), muestra una señal de singlete debida al metilo del acetato en 2.23 ppm. En IR, se observa la banda del carbonilo del éster en 1754 cm⁻¹. En UV la λ_{max} aparece en 244.4 nm (λ_{max} para una cetona α , β -insaturada con un sustituyente α -acetilo, 245 nm).

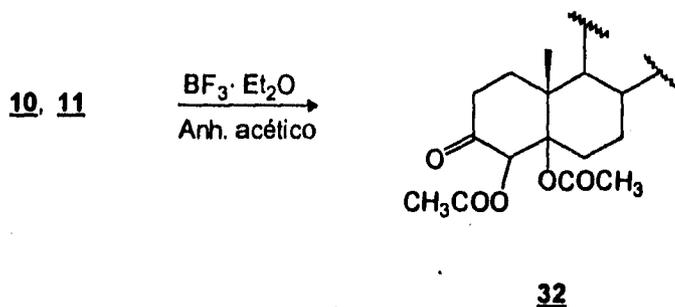


Esquema 18

Preparación del butirato.

La esterificación con anhídrido butírico produce 4-butiroidroxiandrosto-4-en-3,17-diona **24c**, con un rendimiento de 90.76 % y p.f. de 124-125 °C. En RMN-¹H (espectro No. 16), la señal de metilo del éster aparece en 1.03 ppm como un triplete; el metileno unido al carbonilo aparece como un triplete en 2.53 ppm con J = 6 Hz. En IR la banda de alargamiento del carbonilo aparece en 1780 cm⁻¹. La absorción máxima en UV se observa en 244.6 nm (esquema 19).

Se realizó un intento de apertura de la mezcla de epóxidos **10** y **11** con BF₃·Et₂O en anhídrido acético, con el objetivo de tratar de formar directamente el acetato **24a**. Sin embargo, se obtuvo una mezcla difícil de separar por métodos convencionales y sólo se puede proponer que entre la mezcla de compuestos se encuentra el producto **32**. (esquema 20).



Esquema 20

El compuesto diacetilado **32** se propone, en base a las señales de mayor intensidad en RMN-¹³C (espectros Nos. 18 y 19), con la ayuda de la técnica DEPT. En el espectro aparecen un total de 33 señales de las cuales sólo 23, las más intensas, corresponderían al producto descrito; las otras 10 señales en menor proporción podrían corresponder a otros productos, de modo que

algunas de las señales se sobrepongan con las de 32. Así se asignan a 32 los siguientes desplazamientos: carbonilos de cetona 219 (C-17), y 201.3 (C-3); carbonilos de éster 170 (Acetilo sobre C-4), 168 (acetilo sobre C-5), 74.6 (C-4, base del éster), 92.7 (C-5, base de éster). Metilos de acetato 22.3 (acetato sobre C-4), 20.4 (acetato, C-5). Metilos de esteroide 17.49 (Me-19), 13.75 (Me-18).

En IR se confirman las señales de éster 1738 (espectro No. 20); pero en RMN-¹H (espectro No. 17), se presenta un protón vinílico en 5.8 ppm además de los cuatro metilos 2.19 y 2.00 (metilos de éster), 1.09 (Me-19), 0.9 (Me-18).

El protón vinílico en RMN-¹H puede atribuirse a la formación de androstendiona 1, pero en RMN-¹³C no hay señal que indique un carbono sp² protonado y en el espectro de masas no se presenta un ion molecular para 1, cuyo PM es de 286 g/mol.

El espectro de masas No. 21 muestra un ion molecular de m/z 404 que podría corresponder al compuesto diacetilado 32; m/z 386 pérdida de agua; m/z 362 pérdida de la fracción de m/z 42 (CH₂=CO) con transposición protónica; m/z 320 (4,5-diol), pérdida de 2 (CH₂=CO).

El ion molecular de 4-acetoxi 24a, podría especularse por m/z 344 y m/z 302 con pérdida de la fracción CH₂=CO.

También se presentan m/z 43 (metilcetona del éster); m/z 234 y m/z 274.

**PARTE
EXPERIMENTAL**

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN-¹H) fueron realizados en un espectrómetro Varian-EM 390 en solución de CDCl₃. Son excepciones los productos 2 α -acetoxi **13a**, 2 α hidroxí **13b** y A-Nor-5 β -androstano-3,17-diona **25** que se realizaron en un aparato Varian Gemini 200. Los desplazamientos están descritos en partes por millón (ppm) con Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Las constantes de acoplamiento están dadas en Hertz; las abreviaciones s, d, dd, t, c y m, se refieren a singlete, doblete, doble de dobles, triplete, cuartete y multiplete, respectivamente.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³C se realizaron en un espectrómetro Varian Gemini 200.

Los espectros de Infrarojo se hicieron en los espectrofotómetros Perkin-Elmer 399B, Perkin-Elmer 1320, Philips PYE UNICAM SP3-200, en pastilla de KBr. Los espectros de Ultravioleta se hicieron en los espectrofotómetros Perkin-Elmer-Hitachi 200 y Perkin Elmer LAMBDA 2 en solución de etanol.

Los espectros de masas se obtuvieron en un equipo JEOL JMS-SX102A por la técnica FAB⁺ el compuesto **25** y JEOL JMS-AX505HA por la técnica de IE el compuesto **32**.

La cromatografía en columna "flash" fue llevada a cabo con sílica gel Merck malla 230-400 y una presión de 0.4 Kg/cm².

La cromatografía en capa fina (c.c.f.) se llevó a cabo con sílica gel 60 F₂₅₄ utilizándose como reveladores luz ultravioleta y solución de sulfato cérico en H₂SO₄.

4,5-Epoxiandrostan-3,17-diona 10 y 11.

En un matraz bola de 25 ml se disuelven 200 mg (0.699 mmol) de androstendiona 1 con 10 ml de metanol R. A.; se baja la temperatura hasta -5 °C con un baño de hielo-sal (NaCl) y se adicionan, gota a gota 0.8 ml de solución de NaOH al 16 %, después 0.8 ml de H₂O₂ al 30 %. La temperatura se mantiene por 24 horas hasta que se consume toda la materia prima. El curso de la reacción se sigue por c.c.f. (Hexano-AcOEt, 50:50). Una vez consumida la materia prima se detiene la agitación y se vierte la mezcla de reacción sobre 5g de hielo, el precipitado formado se filtra al vacío y se lava con agua helada hasta tener pH de 7. Obteniéndose un rendimiento de la mezcla de epóxidos 10 y 11 de 82.86 %.

La misma reacción se lleva a cabo a una temperatura de entre 4° y 12 °C, se completa en 2h 45 min; se sigue el procedimiento descrito anteriormente para trabajar la reacción y se obtiene un rendimiento de 79.27 % de la mezcla de epóxidos 10 y 11.

En la reacción a temperatura ambiente, con el doble de las cantidades indicadas arriba, se adiciona primero la solución de NaOH y el H₂O₂ en una temperatura de 4 °C; después, se eleva la temperatura hasta T.A. (aprox. 24 °C), la reacción se completa en 1h, se detiene la agitación y se adiciona Na₂SO₃ para reducir el H₂O₂ en exceso; se evapora el metanol casi a sequedad y se extrae con solución saturada de NaCl y AcOEt; la parte acética se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora en el rotavapor. Se obtiene un rendimiento del 49.38% de la mezcla 10 y 11. Para separar esta mezcla, se cromatografian en placa 120 mg y se eluye con una mezcla de Hexano-CHCl₃-AcOEt, 60:20:20, 3 veces. Se obtienen 85 mg (70.83 %) del epóxido (+) polar (epóxido β, 11) y 35 mg (29.16 %) del (-) polar (epóxido α, 10).

Mezcla de epóxidos 10 y 11:
p.f. 194-200 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18, epóxido β), 0.86 (3H, s, CH₃, C-18, epóxido α), 1.1 (3H, s, CH₃, C-19, epóxido α), 1.2 (3H, s, CH₃, C-19, epóxido β), 3.0 (s, H, C-4, epóxido β), 3.06 (s, H, C-4, epóxido α).

IR (KBr, cm⁻¹): 1735 (C=O, C-17), 1707 (C=O, C-3), 1450, 1400, 1355, 876, 860.

Epóxido α, **10**:

p.f. 197-198 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.86 (H, s, CH₃, C-18), 1.08 (3H, s, CH₃, C-19), 3.03 (Hβ, s, C-4).

IR (KBr, cm⁻¹): 1740 (C=O, C-17), 1716 (C=O, C-3), 1452, 1402, 1340, 866, 824.

Epóxido β, **11**:

p.f. 198-200 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18), 1.28 (3H, s, CH₃, C-19), 3.0 (Hα, s, C-4).

IR (KBr, cm⁻¹): 1738 (C=O, C-17), 1710 (C=O, C-3), 1452, 1404, 1336, 880, 860.

Destilación de Etearato de trifluoruro de boro.

10 ml de etearato de trifluoruro de boro (BF₃·EtO), se destilan en un aparato de destilación a presión reducida Kugelrohr; se obtiene BF₃·Et₂O, como líquido incoloro humeante. También se utiliza BF₃·Et₂O de Aldrich, ρ=1.154 g/ml, recién abierto, sin destilar.

Apertura de 4,5-epoxiandrostan-3,17-diona 10 y 11, en benceno.

En un matraz bola de 25 ml se colocan 3g (9.93 mmol) de mezcla de epóxidos 10 y 11 y se disuelven con benceno a T.A. Se baja la temperatura a un intervalo de 8° a 12 °C con un baño de agua-hielo y se adicionan 1.2 ml (1.2 meq) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$; con un agitador magnético se mantiene la agitación por 5h a T.A., hasta que se consume la materia prima. El curso de la reacción se sigue por c.c.f. (Hexano-AcOEt, 50:50). Una vez terminada la reacción, la parte bencénica se lava con solución de NaHCO_3 al 5%, hasta $\text{pH}=7$, se seca el disolvente con Na_2SO_4 anhidro y se evapora, obteniéndose 2.483g de polvo amarillo. La parte no soluble en benceno, se disuelve en AcOEt y con el mismo tratamiento de la parte anterior se obtienen 0.5809g de polvo café. La parte bencénica recuperada se cromatografía en columna (15 cm de diámetro, 300g de sílica); eluyente, mezcla de Hexano- CHCl_3 -AcOEt, 80:5:15; se recuperan 0.2734g (10.04 %) de A-Nor-5 β -androstan-3,17-diona 25 y 1.2082g (40.01 %) de 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6.

4-Hidroxiandrostan-3,17-diona 6:

Cristales blancos, p.f. 167-172 °C.

RMN-¹H (CDCl_3): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH_3 , C-18), 1.2 (3H, s, CH_3 , C-19), 6.1 (H, s, OH, [D_2O]).

IR (KBr, cm^{-1}): 3380 (OH), 2940 (CH_3 , CH_2), 1730 (C=O, C-17), 1650 (C=O, C-3), 1620 (C=C).

UV λ_{max} . 278 nm, E = 12,042.

A-Nor-5 β -androstan-3,17-diona 25:

Polvo blanco, p.f. 127-130 °C.

RMN-¹H (CDCl_3): δ (ppm) 0.82 (3H, s, CH_3 , C-18), 1.17 (3H, s, CH_3 , C-19).

RMN-¹³C (CDCl_3): δ (ppm) 220.74 (C-17), 219.52 (C-3), 58.61 (C-5), 51.19 (C-14), 47.81 (C-13), 45.05 (C-8), 41.57 (C-10), 35.87 (C-16), 34.79,

34.76 (C-9), 31.62, 31.30 (C-12), 26.95, 21.94 (Me-19), 21.77 (C-15), 21.58, 19.60 (C-11), 13.80 (Me-18).

IR (KBr, cm^{-1}): 1734 (C=O, C-17 y C-3), 1456, 1382.

EM por FAB⁺: m/z 549 [2M+H]⁺, 275 [M+H]⁺, 257 [M+H-18]⁺, 219 [M-56]⁺.

Apertura de 4,5-epoxiandrostan-3,17-diona 10 y 11 con ácido acético glacial.

Se disuelven 3.6163g (11.97 mmol) de mezcla de epóxidos 10 y 11 con 36 ml de AcOH y se adicionan 1.2 meq (1.5 ml) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. El curso de la reacción se sigue por c.c.f. (Hexano-AcOEt, 50:50) y se mantiene en agitación a temperatura ambiente por 4h; después de este tiempo se para la agitación y se extrae con AcOEt; se lava con solución saturada de NaHCO_3 hasta $\text{pH} = 7$, se seca con Na_2SO_4 anh. y se evapora el disolvente en el rotavapor. Del precipitado blanco recuperado se obtiene por recristalización de acetona 1.5077g de enol 6, y una mezcla amarilla que se cromatografía en columna (eluyente Hexano-AcOEt, 70-30), obteniéndose 1.3216g más de enol 6, para hacer un total de 2.8293g (78.23 %) de éste.

Por otro lado se obtienen de la cromatografía en columna mencionada, 0.6416g de 2 α -acetoxi 13a (15.57 %).

De la primera fracción de la misma cromatografía en columna se toman 300 mg y se cromatografían en placa (eluyente Hexano AcOEt, 75:25), eluida dos veces; se obtienen 0.0381g (1.16 %) de un producto menos polar que el enol 6, A-Nor-5 β -androstan-3,17-diona 25.

4-Hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6:
Cristales blancos, p.f. 198-199 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18), 1.2 (3H, s, CH₃, C-19), 6.1 (H, s, OH, [D₂O]).

IR (KBr, cm⁻¹): 3365 (OH), 2920 (CH₂, CH₃), 1730 (C=O, C-17), 1650 (C=O, C-3), 1620 (C=C), 1440, 1378.

UV λ_{max}. 278 nm, E = 14,380, MeOH.

2α-Acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 13a:

Cristales blancos, p.f. 210-211 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.88 (3H, s, CH₃, C-18), 1.31 (3H, s, CH₃, C-19), 2.13 (3H, s, CH₃-COOR, C-2), 5.73 (H vinílico, s, C-4), 5.41 (H-2β, dd, J 14 Hz, J 5.2 Hz).

RMN-¹³C (CDCl₃): δ (ppm) 220.01 (C-17), 193.44 (C-3), 170.22 (C-20, C=O, Ac-2), 169.90 (C-5), 122.03 (C-4), 71.05 (C-2), 54.17 (C-9), 50.62 (C-12), 47.37 (C-13), 41.33 (C-1), 40.57 (C-10), 35.62 (C-16), 34.55 (C-8), 32.04 (C-6), 31.06 (C-12), 30.56 (C-7), 21.59 (C-15), 20.85 (C-21, Me, Ac-2), 20.12 (C-11), 18.04 (Me-19), 13.62 (Me-18).

IR (KBr, cm⁻¹): 1785 y 1220 (CH₃-COOR, C-2), 1745 (C=O, C-17), 1610 (C=O, C-3).

UV λ_{max}. 239.8 nm, E = 24,068

A-Nor-5β-androstan-3,17-diona 25:

Cristales blancos p.f. 105-113 °C. Datos espectroscópicos citados anteriormente.

Apertura de 4α,5α-epoxiandrostan-3,17-diona 10 con ácido acético glacial.

En un matraz bola de 3 ml se disuelven 30 mg (9.93×10^{-2} mmol) de epóxido α, 10, con 0.5 ml de AcOH y se adicionan 1.2 meq (0.012 ml) de BF₃·Et₂O; se sigue el procedimiento descrito anteriormente para la apertura de la mezcla 10 y 11. En c.c.f. (Hexano-AcOEt, 75:25) se observa la formación de enol 6 y

de 2 α -acetoxi 13a, así como de A-Nor-5 β -androstan-3,17-diona 25 y un subproducto de polaridad similar a 2 α -acetoxi 13a, que se compara en c.c.f. (usando diferentes mezclas de eluyentes), con 4-acetoxi 24a comprobando que no son iguales.

Apertura de 4 β ,5 β -epoxiandrostan-3,17-diona 11 con AcOH.

Se disuelven 50 mg (0.16 mmol) de epóxido β , 11, en un matraz de bola de 3 ml y se adicionan 1.2 meq (.020 ml) de BF₃·Et₂O; posterior al procedimiento descrito para la apertura de epóxidos 10 y 11 en AcOH, se observa en c.c.f. (Hexano-AcOEt, 75:25), la formación de los mismos productos que en la reacción anterior. El producto descrito con polaridad similar a 2 α -acetoxi 13a, no fue identificado ni aislado, y se observa en menor proporción al igual que A-Nor-5 β -androstan-3,17-diona 25 que casi no se forma.

Apertura de 4,5-Epoxiandrostan-3,17-diona 10 y 11 con ácido propiónico.

Se disuelve 1g (3.31 mmol) de mezcla de epóxidos 10 y 11 con 10 ml de ácido propiónico concentrado, calentando ligeramente; una vez disuelta la mezcla a T.A. se adicionan 1.5 meq (0.405 ml) de BF₃·Et₂O recién destilado, se mantiene en agitación magnética por 5 h a T.A., concluido este tiempo se detiene la agitación y se sigue el procedimiento descrito para la apertura de los epóxidos 10 y 11 en ácido acético glacial.

La mezcla obtenida se recristaliza de Hexano-AcOEt, 60:40. Se separan 263.8 mg de enol 6. El filtrado se evapora; se mezcla con silica para cromatografía

en columna, MeOH y AcOEt; cuando se disuelve la mezcla se evapora el disolvente y se aplica en una columna para cromatografía (eluyente Hexano-AcOEt, 80:20). La primera fracción que se obtiene es de A-Nor-5 β -androstano-3,17-diona 25, 26 mg (2.6 %). La siguiente es de enol 6, 96 mg, para hacer un total de 359.8 mg (35.98 %) de éste. La última fracción es de 2 α -propioxiandrost-4-en-3,17-diona 29, 0.1719g (14.50 %) que se analizan de Hexano-AcOEt, 60:40.

4-Hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6:

Cristales blancos, p.f. 197-198 °C., datos espectroscópicos citados anteriormente.

A-Nor-5 β -androstano-3,17-diona 25:

Cristales blancos, p.f. 107-110 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.88 (3H, s, CH₃, C-18), 1.18 (3H, s, CH₃, C-19).

IR (KBr, cm⁻¹): 2936 (CH₃, CH₂), 1740 (C=O, C-3 y C-17).

2 α -Propioxiandrost-4-en-3,17-diona 29:

Cristales blancos, p.f. 207-210 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18), 1.08 (3H, s, CH₃, C-19), 5.7 (H vinílico, s, C-4).

Reacción de 4,5-epoxiandrostano-3,17-diona 10 y 11 con ácido butírico.

Se utilizan 3g (9.9 mmol) de mezcla de epóxidos 10 y 11 y se sigue el procedimiento descrito anteriormente en la apertura de los epóxidos con los ácidos mencionados; agregándose en este caso 1.5 meq de BF₃·Et₂O (1.2 ml), recién destilado.

El tiempo de reacción es de 1h; después del cual, la parte orgánica extraída, se recrystaliza primero de Hexano-AcOEt, 60:40, obteniéndose 1.28g (42.6 %) de enol 6 que posteriormente se recrystaliza de acetona. Al filtrado se le elimina el disolvente y se cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla Hexano-AcOEt, 60:40. Se separan 4 fracciones: 0.2099g (mezcla de enol 6 y subproducto menos polar que éste). Las siguientes fracciones son más polares que el enol 6 de éstas se obtienen 130 mg, 150 mg y 100 mg, respectivamente, todas ellas como aceite rojizo.

4-Hidroxiandrost-4-en-3,17,diona 6:
p.f. 199-200 °C. Espectroscopía citada.

Mezcla A-Nor-5 β -androstano-3,17-diona 25 y 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6:

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.85 (s, Me-18, A-Nor), 0.9 (s, Me-18, 4-hidroxi), 1.03 (s, Me-19, A-Nor), 1.06 (s, Me-19, 4-hidroxi), 6.1 (H, s, 4-hidroxi, [D₂O]).

Hidrólisis de 2 α -acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 13a, sin atmósfera de nitrógeno.

Se colocan 150 mg (0.436 mmol) de 2 α -acetoxi 13a en un matraz bola de 5 ml y se disuelven con 2 ml de MeOH, adicionándose 1 meq (0.06g) de K₂CO₃ y una gota de agua. La mezcla de reacción se agita a T.A. y en 1h 20 min. se adiciona 1 meq. más de KOH, manteniéndose a 60 °C con un baño de agua hasta completar 3h. Una vez consumida la materia prima se neutraliza con solución de HCl al 10 % y se extrae con AcOEt, se lava con agua y se seca con Na₂SO₄ anh.; después de evaporar se obtienen 116 mg de sólido blanco que se cromatografian en columna (eluyente, Hexano-AcOEt, 50:50), obteniéndose 38 mg (29.05 %) de 2-hidroxiandrost-1,4-dien-3,17-diona 31

como un producto blanco de p.f. 125-128 °C, menos polar que 2 α -acetoxi **13a**.

2-Hidroxi-androst-1,4-dien-3,17-diona **31**:

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.93 (3H, s, CH₃, C-18), 1.28 (3H, s, CH₃, C-19), 6.38 (H, s, OH, [D₂O]), 6.16 (H vinílico, s, C-4), 6.30 (H vinílico, s, C-1).

IR (KBr, cm⁻¹): 3362 (OH), 3036 (C=C), 2941 (CH₃, CH₂), 1735 (C=O, C-17), 1639 (C=O; C-3 y C=C, banda ancha), 1425, 1376.

UV λ_{max} . 253 nm.

Hidrólisis de 2 α -acetoxiandrost-4-en-3,17-diona **13a con atmósfera de nitrógeno.**

En un matraz bola de tres bocas se disuelven 200 mg (0.5813 mmol) de 2 α -acetoxi **13a** con 10 ml de MeOH; se adaptan un termómetro en una boca y una trampa de humedad en la otra. Se burbujea N₂ seco y se mantiene bajo esta corriente por 5 min; en seguida, se adicionan 0.46 ml de una solución metanólica de KOH 1N y se mantiene en agitación por 4 min más a 30 °C con una canasta de calentamiento, sin quitar la corriente de N₂ seco. Se adicionan 3 ml de MeOH que contienen una gota de agua, manteniendo la agitación por 4 min más a 30 °C (8 min a 30 °C, en total). Completado este tiempo se acidifica con solución 1N de ácido acético, se concentra a un tercio su volumen en el rotavapor y se diluye con agua. En la mezcla fría se forma un precipitado que se filtra al vacío para posteriormente recristalizarse con una mezcla de acetona-éter, obteniéndose 93.2 mg (53.08 %) de 2 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona **13b**.

2 α -Hidroxiandrost-4-en-3,17-diona **13b**:

Polvo blanco, p.f. 160-162 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18), 1.3 (3H, s, CH₃, C-19), 3.55 (H, d, OH, [D₂O], J_{OH,2b} 2 Hz), 4.25 (H-2β, dd, cada señal dobleteada J = 2 Hz), 5.79 (H vinílico, s, C-4), J_{2β,1α} 13.5 Hz, J_{2β,1β} 6 Hz.

IR (KBr, cm⁻¹): 3396 (OH), 2940, 2848 (CH₃, CH₂), 1742 (C=O, C-17), 1672 (C=O, C-3), 1604 (C=C), 1224 y 1100.

UV λ_{max}. 241 nm.

Hidrólisis de 2α-propioxiandrost-4-en-3,17-diona 29 con atmósfera de N₂.

Se disuelven 96 mg (0.2681 mmol) de 2α-propioxi 29 con 1.5 ml de metanol R. A. y, con las condiciones descritas en la reacción anterior, se usa 1 meq de K₂CO₃ como base. El curso de la reacción se sigue por c.c.f. (Hexano-AcOEt, 75:25, eluida 3 veces), con un tiempo total de reacción de una hora, después del cual se detiene la agitación y se neutraliza con solución de HCl al 10 %. El producto que se observa en placa se compara con el de la reacción anterior 2α-hidroxi y se confirma que tienen la misma polaridad, pero debido a la cantidad obtenida, tan pequeña, no se intentó la purificación.

Hidrólisis de 2α-butiropiandrost-4-en-3,17-diona 30.

La mezcla de 2α-butiropi 30, aproximadamente de 100 mg, obtenida en la apertura de 4,5-epoxiandrost-3,17-diona 10 y 11 con ácido butírico, se somete a una prueba cualitativa; que en las condiciones descritas para obtener 2α-hidroxi 13b, da un producto de polaridad igual a éste, cuando se compara por c.c.p. (Hexano-AcOEt, 75:25, eluida varias veces).

Acetilación de 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6.

100 mg (0.3311 mmol) de enol 6 se disuelven con 1 ml de piridina y se adiciona 1 ml de anhídrido acético (12.45 mmol). La mezcla se mantiene en agitación a T.A. con trampa de humedad por 1h; pasado este tiempo se detiene la agitación, se vierte la mezcla sobre hielo y se neutraliza con solución saturada de NaHCO₃, se extrae con AcOEt, se seca con Na₂SO₄ anh. y se evapora el disolvente. El producto 4-acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 24a, es más polar que el enol 6 y para purificarlo se cromatografía en columna usando como eluyente mezcla de Hexano-AcOEt, 60:40, obteniéndose 96.5 mg (84.72 %).

4-Acetoxiandrost-4-en-3,17-diona 24a:

Cristales blancos, p.f. 175-177 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.9 (3H, s, CH₃, C-18), 1.28 (3H, s, CH₃, C-19), 2.23 (3H, s, CH₃, CH₃-COOR).

IR (KBr, cm⁻¹): 2946, 2912, 2852 (CH₃, CH₂), 1758 (C=O, éster), 136 (C=O, C-17), 1680 (C=O, C-3), 1626 (C=C), 1454, 1364, 1216 (acetilo), 1142, 1082.

UV λ_{max}. 244.4 nm.

Síntesis de 4-propioxiandrost-4-en-3,17-diona 24b.

Con 1 ml de piridina se disuelven 200 mg (0.6622 mmol) de enol 6 y se adiciona 1 ml de anhídrido propiónico (9.16 mmol); todo ello en un matraz bola de 3 ml. al que se le adapta una trampa de humedad. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a T.A. por 3h, tiempo en el que se consume toda la materia prima y se para la agitación para verter la mezcla sobre hielo triturado y acidificarla con solución de HCl al 30 %;

posteriormente se neutraliza con solución saturada de NaHCO₃. Se extrae con AcOEt, se seca con Na₂SO₄ anh. y se evapora el disolvente en el rotavapor. El producto obtenido se recrystaliza con Hexano-AcOEt y se tienen 170 mg de una mezcla que se cromatografía en columna (eluyente, Hexano-AcOEt, 75:25), obteniéndose 150 mg (63.25 %) de 4-propioxi androst-4-en-3,17-diona **24b**.

4-Propioxiandrost-4-en-3,17-diona 24b:

Polvo blanco, p.f. 88-92 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.93 (3H, s, CH₃, C-18), 1.29 (3H, s, CH₃, C-19), 1.23 (t, CH₃, propilo, J = 7 Hz), 2.5 (c, CH₂, propilo, J = 7 Hz).

IR (KBr, cm⁻¹): 2944 (CH₃, CH₂), 1738 (C=O, éster y C-17), 1685 (C=O, C-3), 1630 (C=C), 1458, 1320, 1146 (propilo).

UV λ_{max}. 244.6 nm.

Síntesis de 4-butiroxiandrost-4-en-3,17-diona 24c.

500 mg (1.6556 mmol) de enol **6** se disuelven con 2.5 ml de piridina y se adicionan 2.5 ml de anhídrido butírico (9.16 mmol). La mezcla se mantiene con agitación magnética y trampa de humedad a T.A. por 3h, hasta que se consume la materia prima y se forma el butirato, producto más polar que el enol **6**, c.c.f. (Hexano-AcOEt, 70:30, eluida dos veces). Se vierte la mezcla de reacción sobre hielo triturado y se acidifica con solución de HCl al 30 %, para posteriormente neutralizar con solución saturada de NaCO₃. Se extrae con AcOEt; se seca con Na₂SO₄ anh. y se evapora el disolvente. Se obtienen 0.559g (90.76 %) de 4-butirato **24c**.

4-Butiroxiandrost-4-en-3,17-diona 24c:

Cristales blancos, p.f. 124-125 °C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 0.93 (H, s, CH₃, C-18), 1.27 (3H, s, CH₃, C-19), 1.03 (3H, t, CH₃, 4-nBuO-, J = 6-7 Hz), 2.53 (t, CH₂, RCH₂-COOR, J = 6 Hz), 1.85 (m, CH₂, CH₃CH₂CH₂-COOR).

IR (KBr, cm⁻¹): 2950, 2914 (CH₃, CH₂), 1780 (C=O, éster), 1744 (C=O, C-17), 1690 (C=O, C-3); 1628 (C=C), 1194, 1144 (éster).

UV λ_{max}. 246 nm.

Apertura de los epóxidos 10 y 11 con anhídrido acético.

Medio gramo de mezcla de epóxidos se disuelve en 10 ml de anhídrido acético, calentando ligeramente. La reacción se mantiene después en baño de hielo, con agitación magnética y trampa de humedad; se adiciona un equivalente de BF₃·Et₂O (0.2 ml) y en cuatro horas, se detiene la agitación; agregándose agua para destruir el anhídrido. Se extrae con AcOEt; la fase orgánica se lava con solución saturada de NaHCO₃ y después con agua, hasta tener un pH de 7. Se seca y evapora el disolvente, obteniéndose 0.6544 g de mezcla, misma que se recristaliza de Hexano-AcOEt, 60-40. El recristalizado es todavía una mezcla de 197 mg, conformada por cristales blancos con p.f. 212-220 °C. Se cromatografían 80 mg en placa utilizando como eluyente mezcla de Hexano-AcOEt, 75-25 (eluida tres veces); obteniéndose 35 mg de cristales blancos con p.f. 198-202 °C (producto diacetilado 30, contaminado).

Datos espectroscópicos:

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 5.8 (s, H, vinílico), 2.19 (s, Me de éster), 2.0 (s, Me de éster), 1.09 (s, Me-19), 0.9 (s, Me-18).

RMN-¹³C (CDCl₃): δ (ppm) 219 (C-17), 201.3 (C-3), 170 (C-20, Acetilo en 4), 168 (C-22, Acetilo en C-5), 92.7 (C-5, sp³ no protonado), 74.67 (C-4, sp³ no protonado), 50.97 (C-9), 47.51 (C-13), 44.43 (C-14), 43.22 (C-10), 35.75 (C-16), 35.48 (C-1), 33.95 (C-8), 31.32 (C-2), 31.05 (C-12), 27.64 (C-7),

26.88 (C-6), 22.38 (CH₃, Acetato en C-4), 21.84 (C-15), 21.02 (C-11), 20.47 (CH₃, Acetato en C-5), 17.49 (Me-19), 13.79 (Me-18). Señales de menor intensidad: 53.73, 50.89, 34.64, 34.55, 33.29, 31.20, 29.66, 23.83, 20.22, 17.64.

IR (KBr, cm⁻¹): 2948, 1738, 1688, 1624, 1452, 1370, 1234, 1072.

UV λ_{max}. 246 nm

EM por IE: m/z 404 [M]⁺, 386 [M-18]⁺, 362 [M-42]⁺, 320 [M-84]⁺; m/z 344 [M]⁺, 302 [M-42]⁺, 43 [metilcetona].

CONCLUSIONES

Se cumple con el objetivo de la producción de 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 6, a mayor escala al utilizar disolventes de baja toxicidad como los ácidos acético, propiónico y butírico, con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador.

Se comprueba que se produce una reacción anormal de los epóxidos 10 y 11 con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y ácido acético glacial, obteniéndose directamente el producto 13a, intermediario en la síntesis de compuestos con actividad inhibidora de aromatasa.

Las reacciones de hidrólisis de los productos esterificados 13a, 29 y 30, confirman la esterificación anormal mencionada anteriormente.

Se obtiene el producto de oxidación 31 durante la metanólisis del acetato 13a. Lo cual es un caso poco usual de oxidación con oxígeno del aire. Lo anterior se comprueba al llevar a cabo la metanólisis en ambiente inerte.

Los productos 6, 13a y 25, se obtienen a partir de cualquiera de los dos epóxidos 11 ó 10.

Una fácil producción de ésteres de 4-hidroxi 6, contribuye en la aportación de síntesis de compuestos, que son inhibidores de aromatasa "*in vitro*" e "*in vivo*".

En un intento por obtener el producto 4-acetoxi 24a directamente, partiendo de los epóxidos 10 y 11; se obtuvo un mezcla en la que probablemente se halle presente éste junto con el diacetilado 32.

BIBLIOGRAFÍA

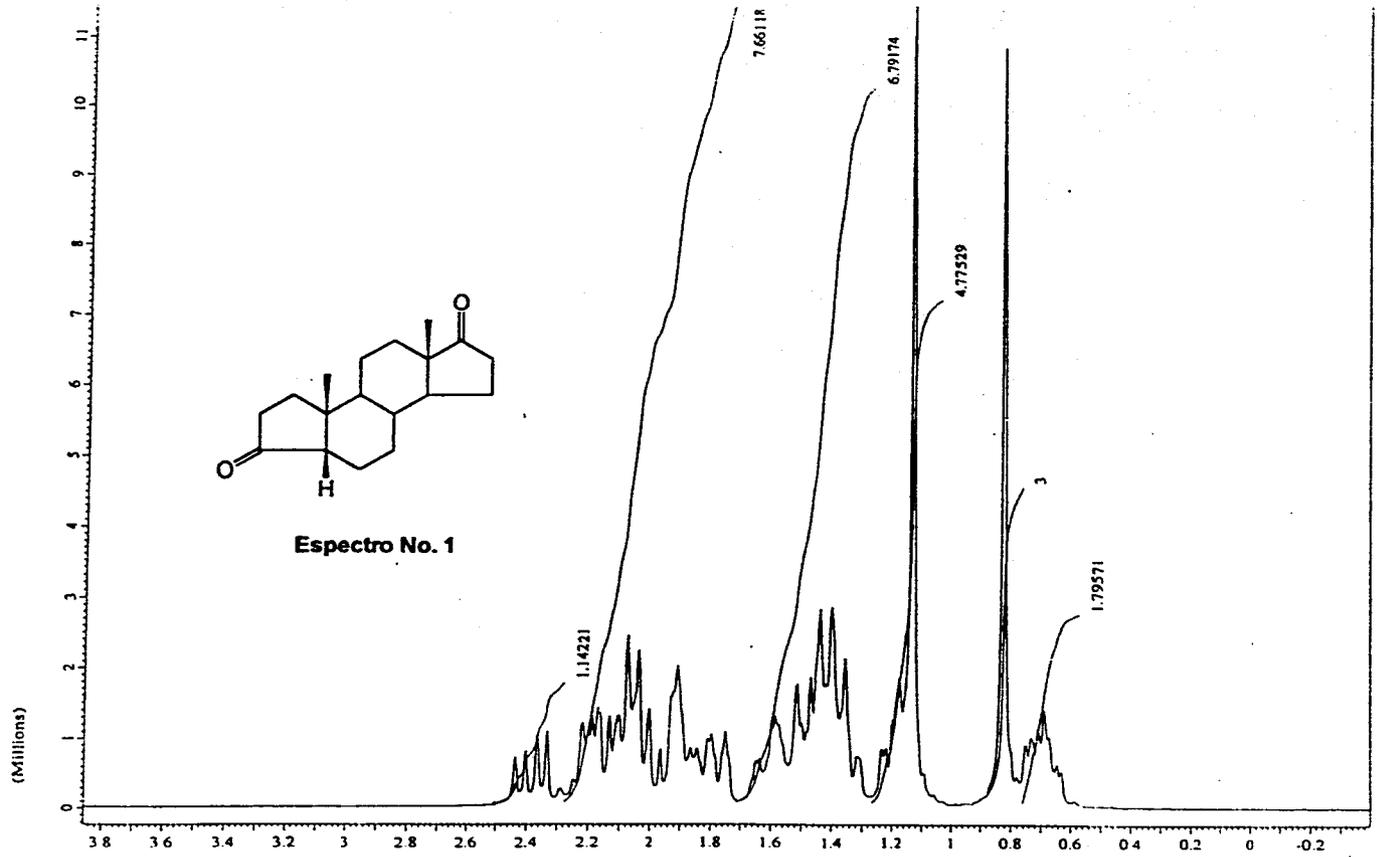
1. Brodie, A. M. y Schwarzel, W. C. *Endocrinology*. 1977, 100, 1684-1695.
2. Marsh, D. A. y Brodie, H. J. *J. Med. Chem.* 1985, 28, 788-795.
3. Thompson, E. A. y Siteri, P. K. *J. Steroid Biochem.* 1974, 5, 315.
4. Collins, D. J. *J. Chem. Soc.* 1959, 3919-3928.
5. Cole, P. A. y Robinson, C. H. *J. Med. Chem.* 1990, 33, 2933-2942.
6. Lehninger, A. L. "Bioquímica" 15a. reimpression, Ediciones Omega, Barcelona, España, 1991, pag. 513.
7. Cole, P. A. y Robinson, C. H. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 8130-8137.
8. Lesuisse, D. y Gourvest, J. F. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 1588-1597.
9. Schwarzel, W. C.; Kruggel, W. G. y Brodie, H. J. *Endocrinology*. 1973, 92, 866-880.
10. Brodie, A. y Garrett, W. *Cancer Research (suppl.)*. 1982, 42, 3360s-3364s.
11. Burnett, R. D. y Kirk, D. N. *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1973, 1830-1836.
12. Tomoeda, M. e Ishizaki, M. *Tetrahedron*. 1965, 21, 733-742.
13. Toshitaka, K. y Tomoeda, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*. 1973, 1848-1851.
14. House, H. O. y Wasson, R. L. *J. Amer. Chem. Soc.* 1957, 79, 1488-1492.

15. Camerino, B. y Valconi, U. *Gazz. Chim. Ital.* 1963, 93, 723-734.

16. Henbest, H. B. y Jackson, W. R. *J.Chem. Soc. Secc. C.* 1967, 2459-2465.

ESPECTROS

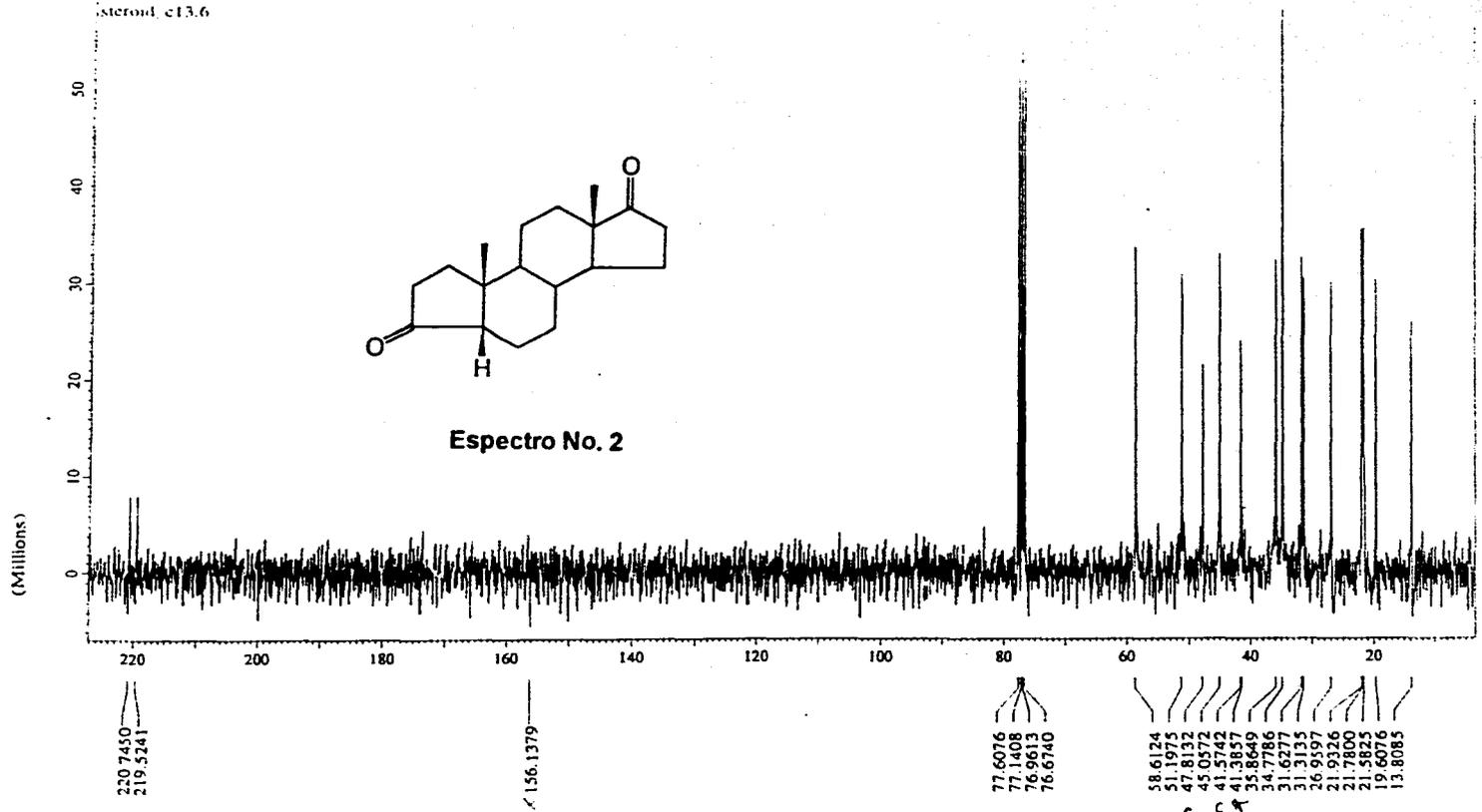
FALLA DE ORIGEN



2.4362
2.4021
2.3643
2.3326
2.2887
2.2192
2.1984
2.1862
2.1692
2.1314
2.1033
2.0728
2.0375
2.0021
1.9643
1.9082
1.8668
1.8460
1.8094
1.7985
1.7509
1.6473
1.6363
1.5831
1.4997
1.4827
1.4692
1.4388
1.4180
1.4022
1.3558
1.3180
1.2351
1.2217
1.1973
1.1766
1.302
1.0949
1.0583
1.0286
0.8842
0.7815
0.7532
0.7339
0.7108
0.6888
0.6730
0.6449
0.6327
0.5864

τ - Parts per Million - 111

Steroid_c13.6



Espectro No. 2

FALLA DE ORIGEN

X : Parts per Million : 13C

```

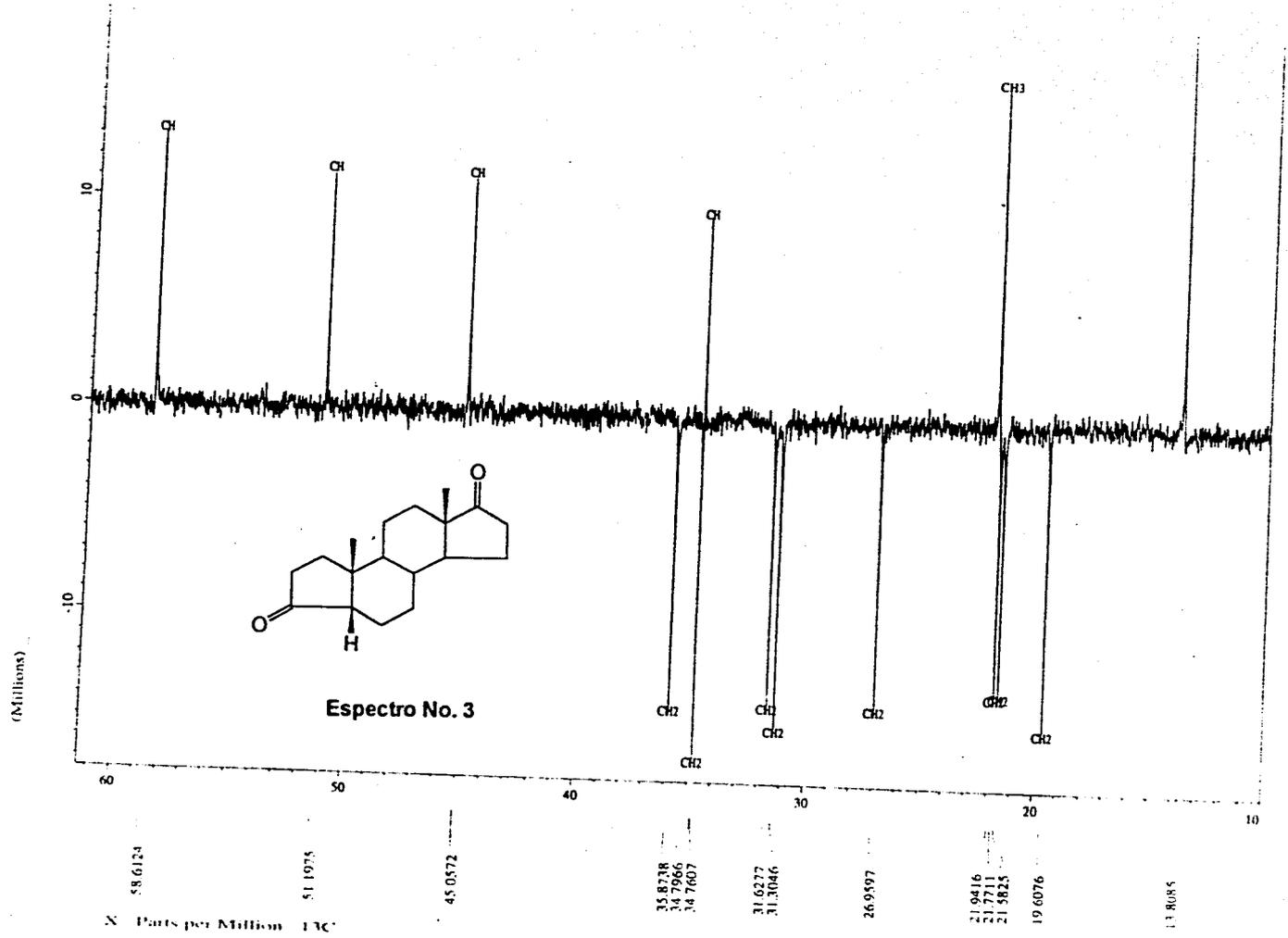
File Name      = steroid_c13.6
Author         =
Title          = S8 380940
Content        = Single Pulse Experiment with Broadband Decoupling
Creation Date  = 7-DEC-1993 10:35:18
Revision Date  = 7-DEC-1993 10:44:56

Spectrometer Location = Eclipse 270
Instrument Type  = DELTA NMR

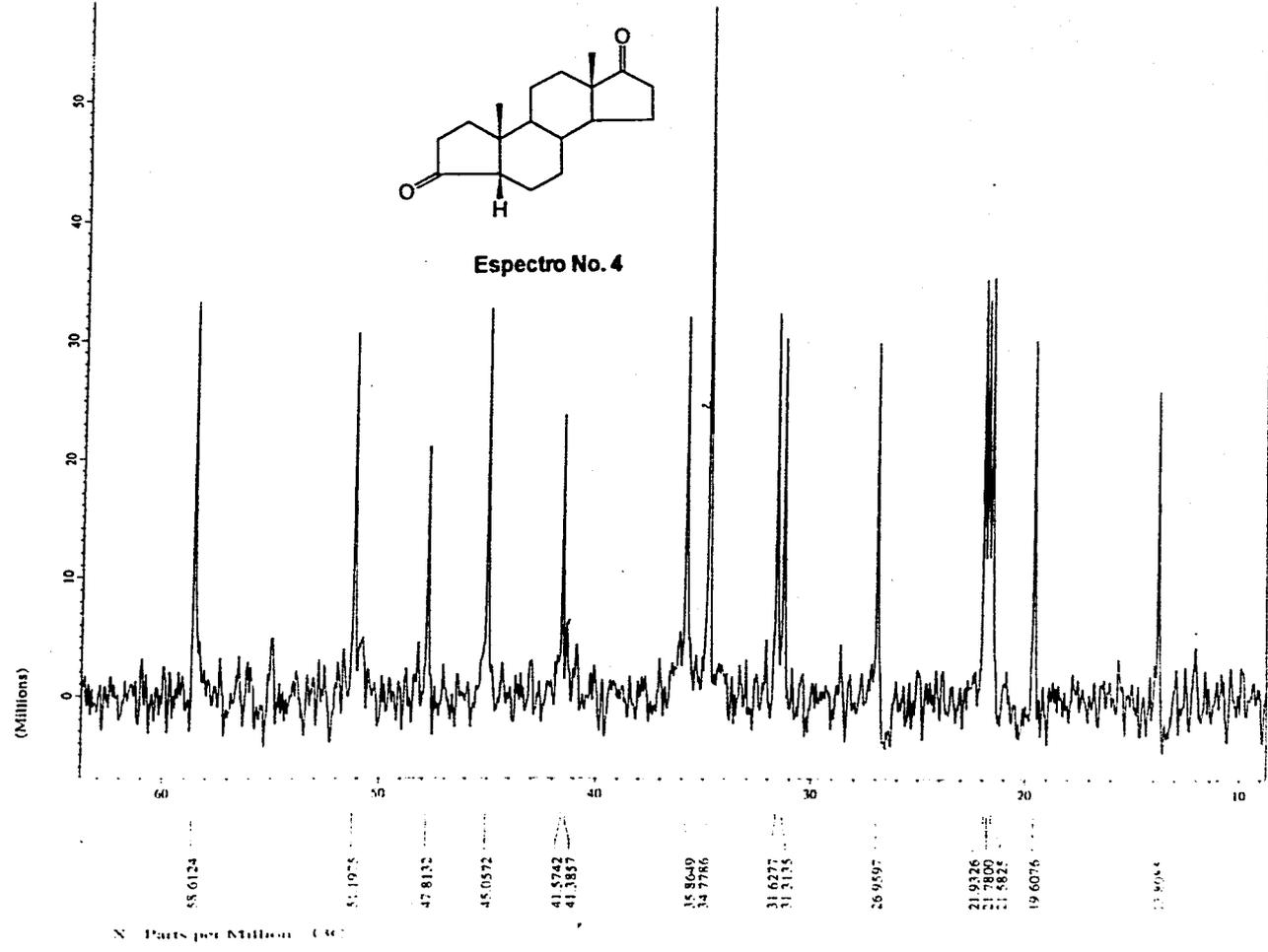
Data Format      = 1D REAL
Dimensions     = X
Dimensional Title = 13C
Dimensional Size = 24911
Dimensional Units = [ppm]
S-sppx         = 1000
Mod return     =
X-domain       = 10
  
```

JEOL

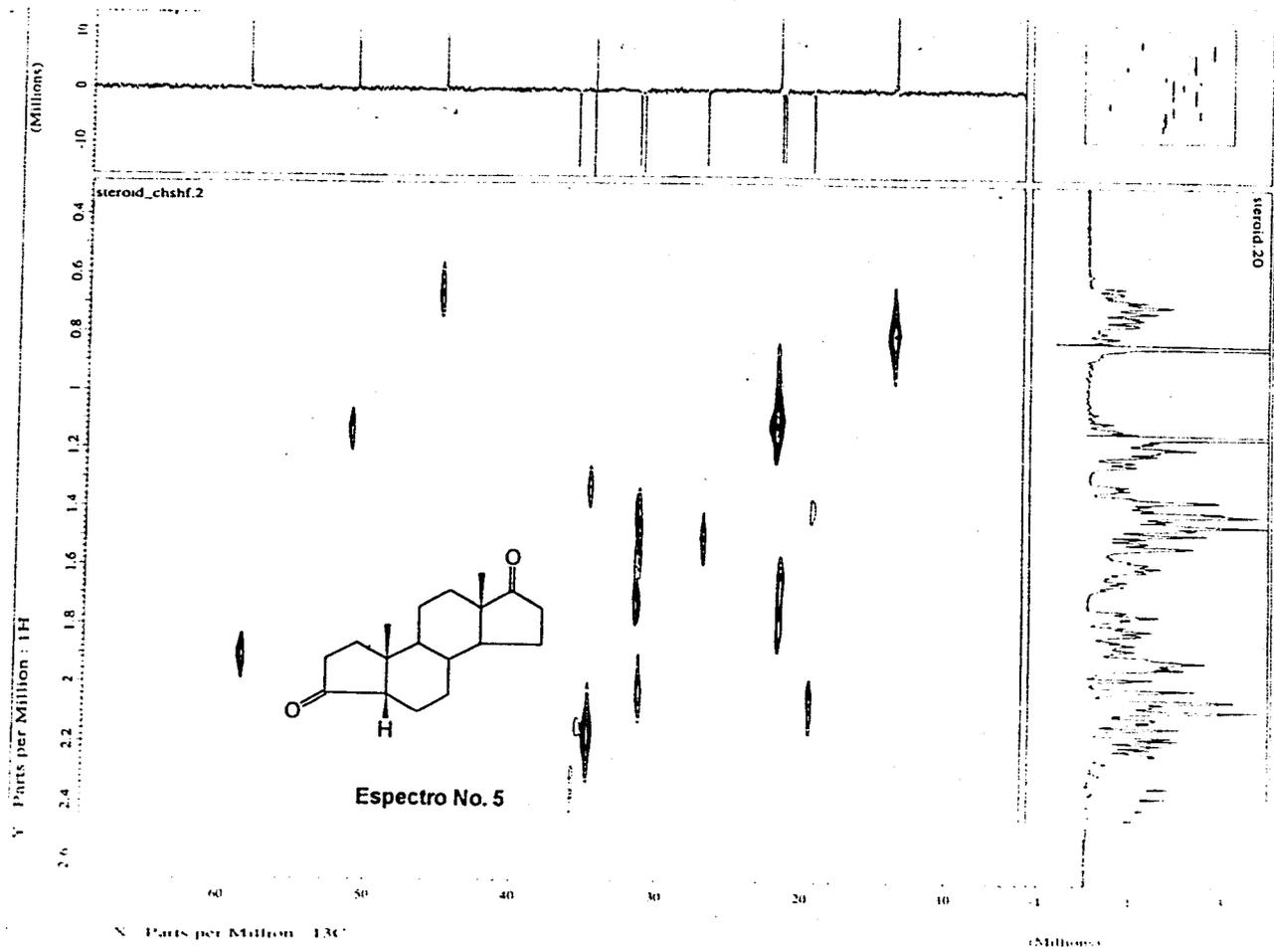
54
FALLA DE ORIGEN



55
FALLA DE ORIGEN

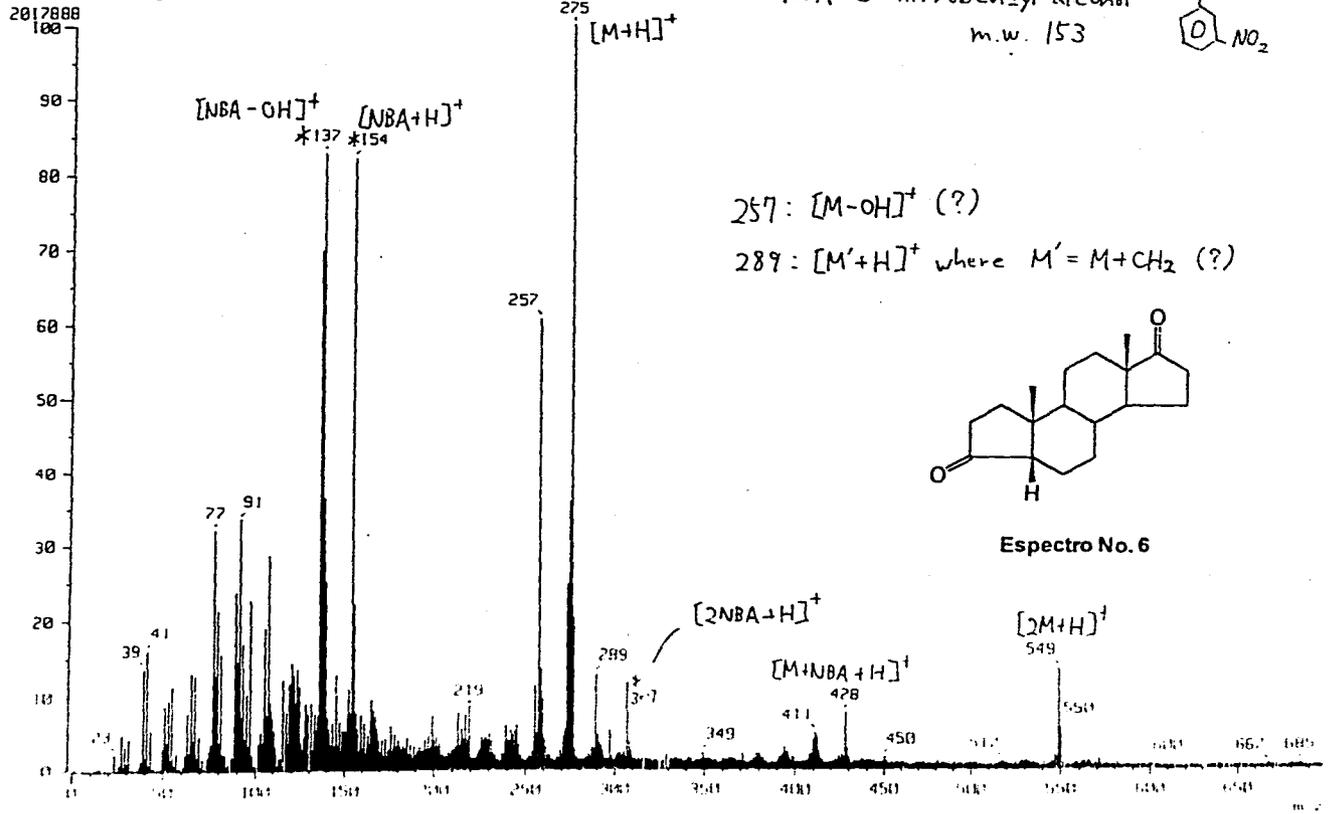
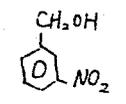


FALLA DE ORIGEN



Sample: UNAM FAB sample
 Inlet: Direct
 Spectrum Type: Regular (MF-Linear)
 RT: 0.00 min Scan#: 1
 BP: m/z 275.0000 Int.: 192.44
 Output m/z range: 0.0000 to 697.3068
 Note: NBA matrix
 Ion Mode: FAB+
 Temp: 54.6 deg.C
 Cut Level: 0.00 %

NBA: 3-nitrobenzyl alcohol
 m.w. 153

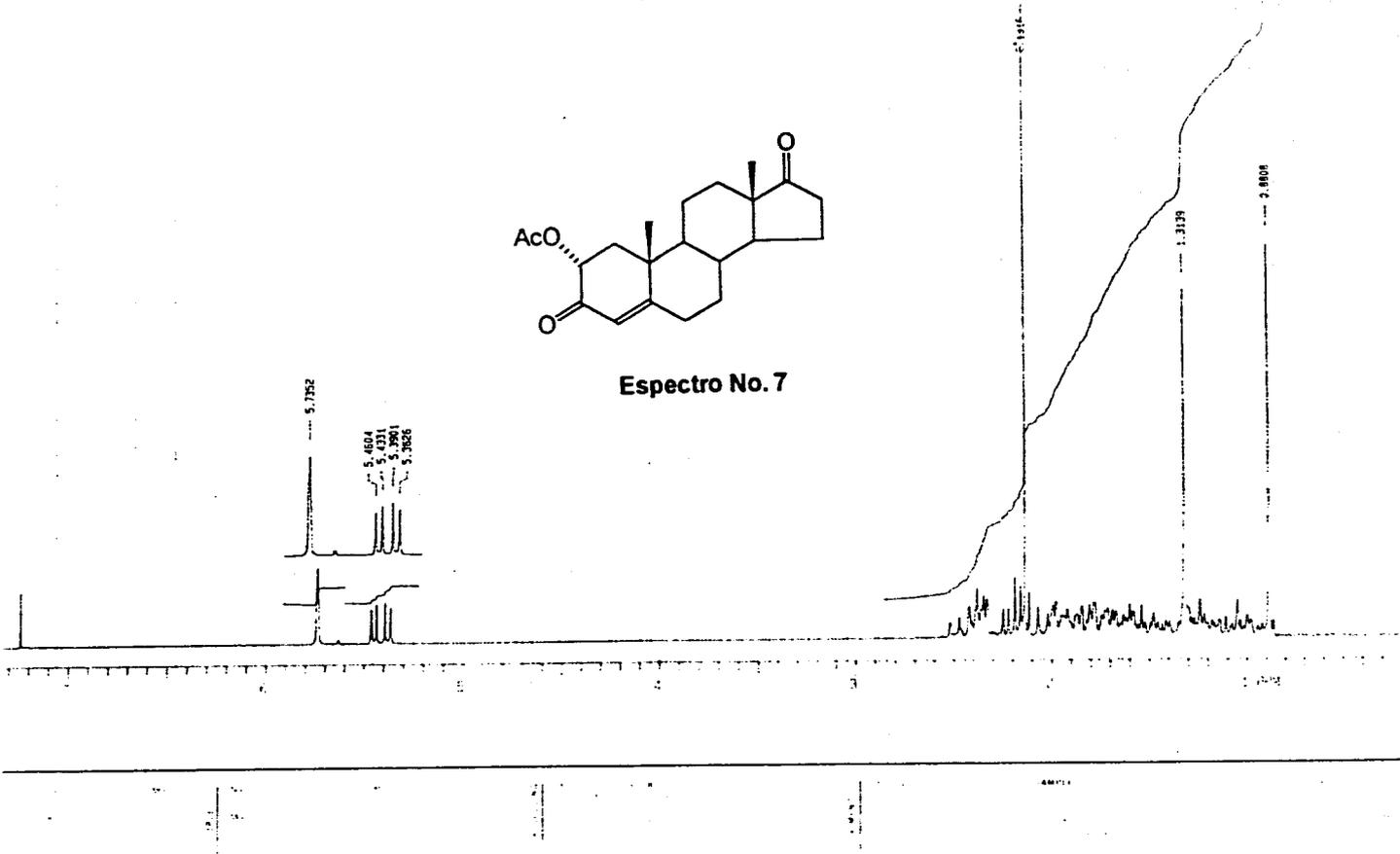


57

FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN

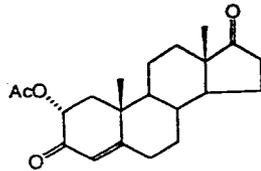
58



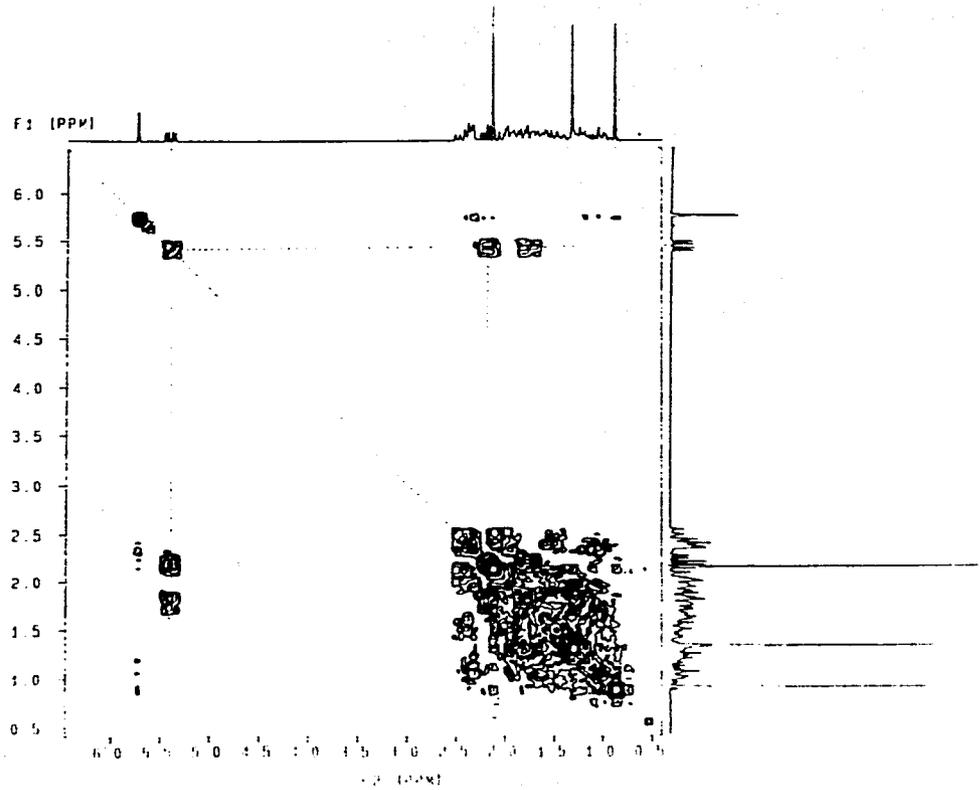
FALLA DE ORIGEN

0.1 MULAR EN GARCIA DE LA HOVA MC
A. SIBRANCE, COST

E SOURCE
REFID
F 100.675 MHz
PUL WIDTH F2 1210.7 Hz
PUL WIDTH F1 1210.7 Hz
C 0.070 SEC
ON DELAY 1.0 SEC
DTH 90 DEGREES
LSE 90 DEGREES
TEMPERATURE
PULSING 10
CHECKS 100
ACQUISITION
PULSING
CDS SHAPED
X 2.00
C 1 HOUR
10.2 MINUTES

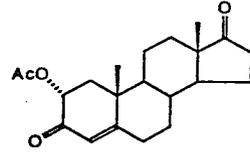


Espectro No. 8

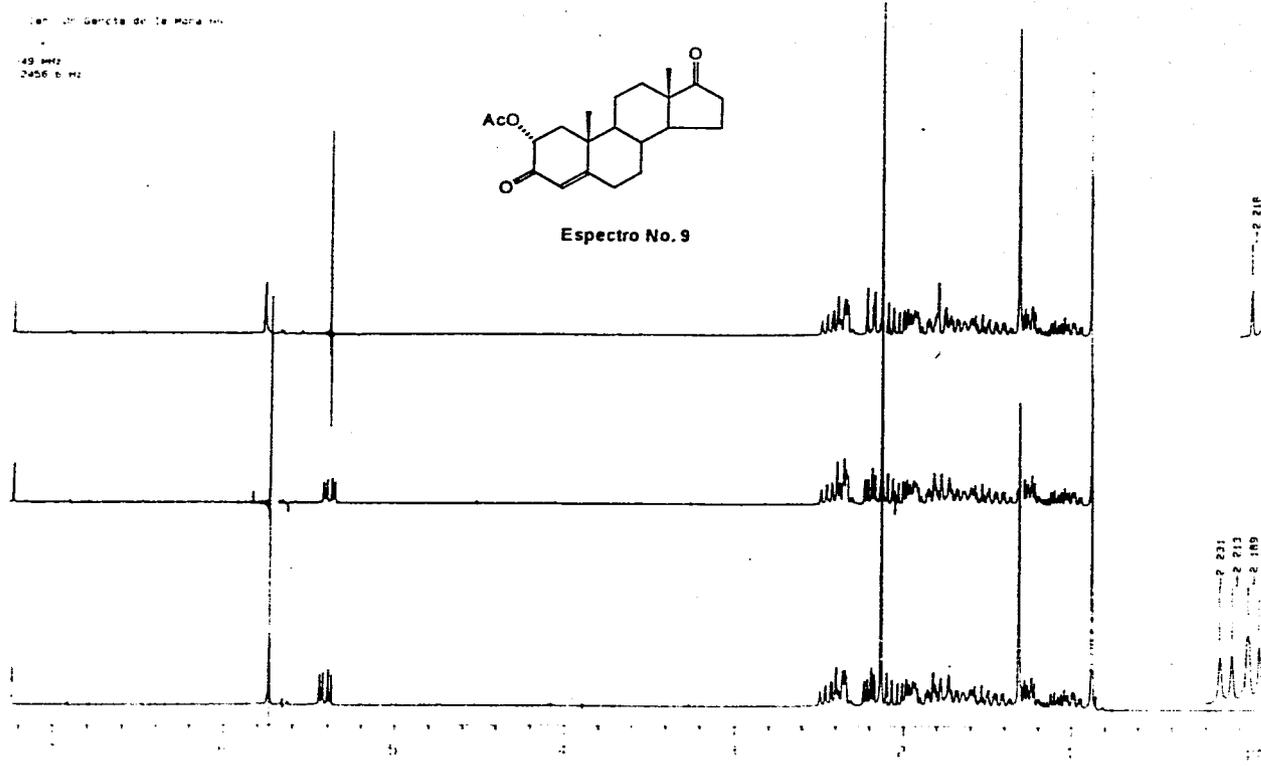


Gen. de Gencita de la Mará

49 MHz
2456 Hz



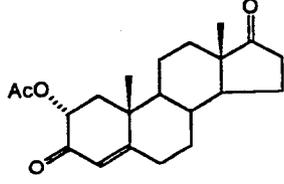
Espectro No. 9



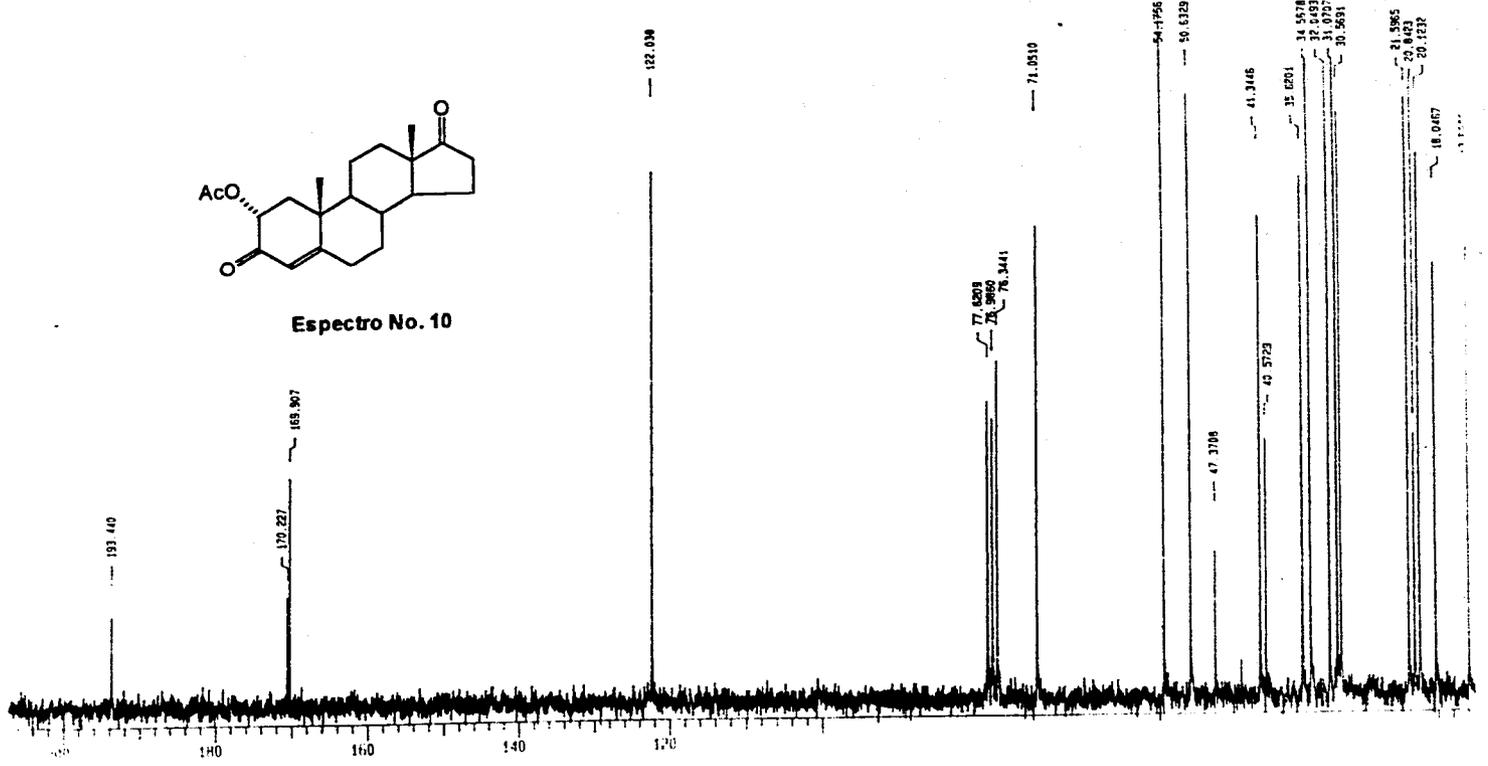
60

FALLA DE ORIGEN

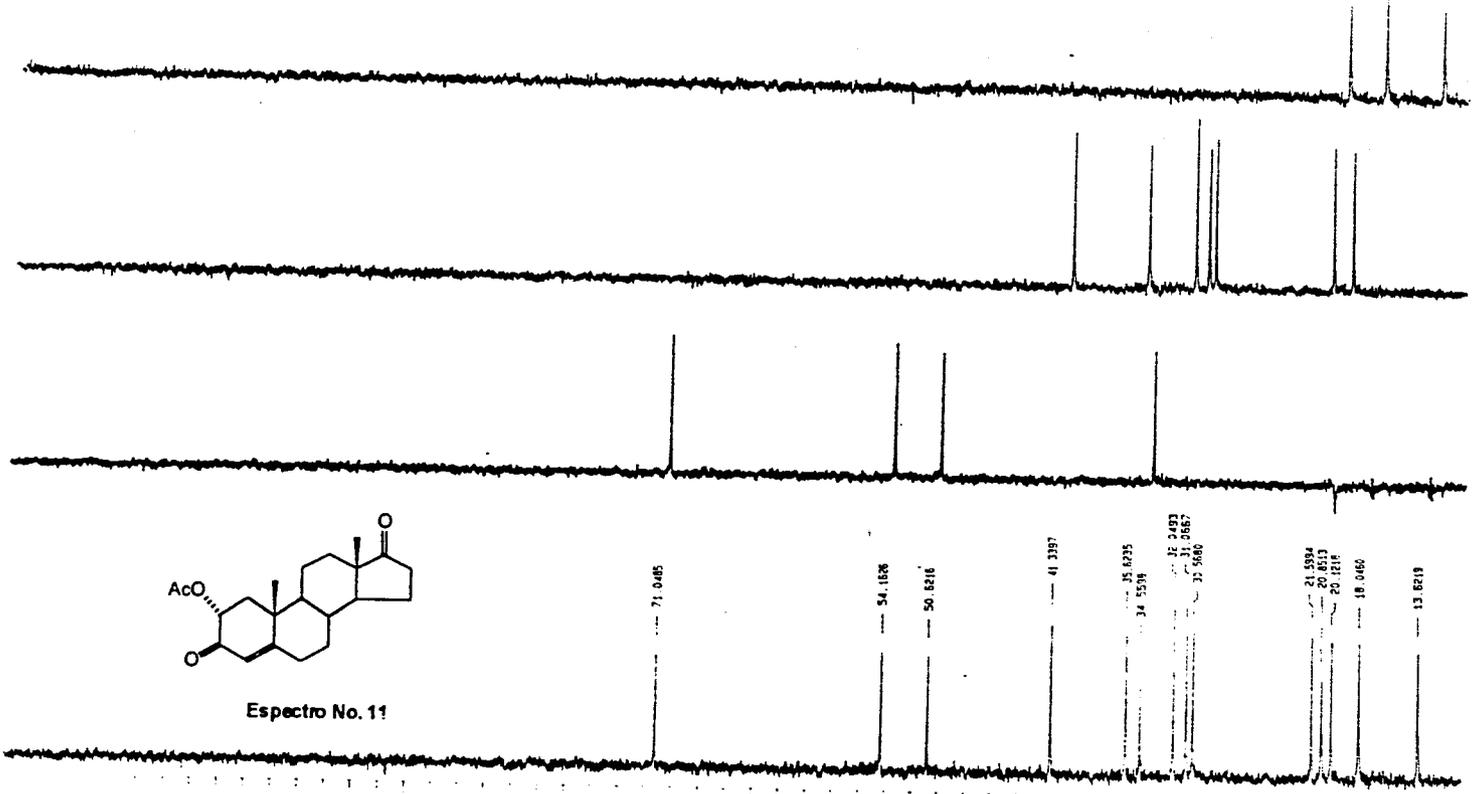
FALLA DE ORIGEN



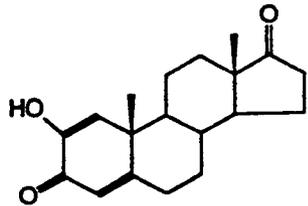
Espectro No. 10



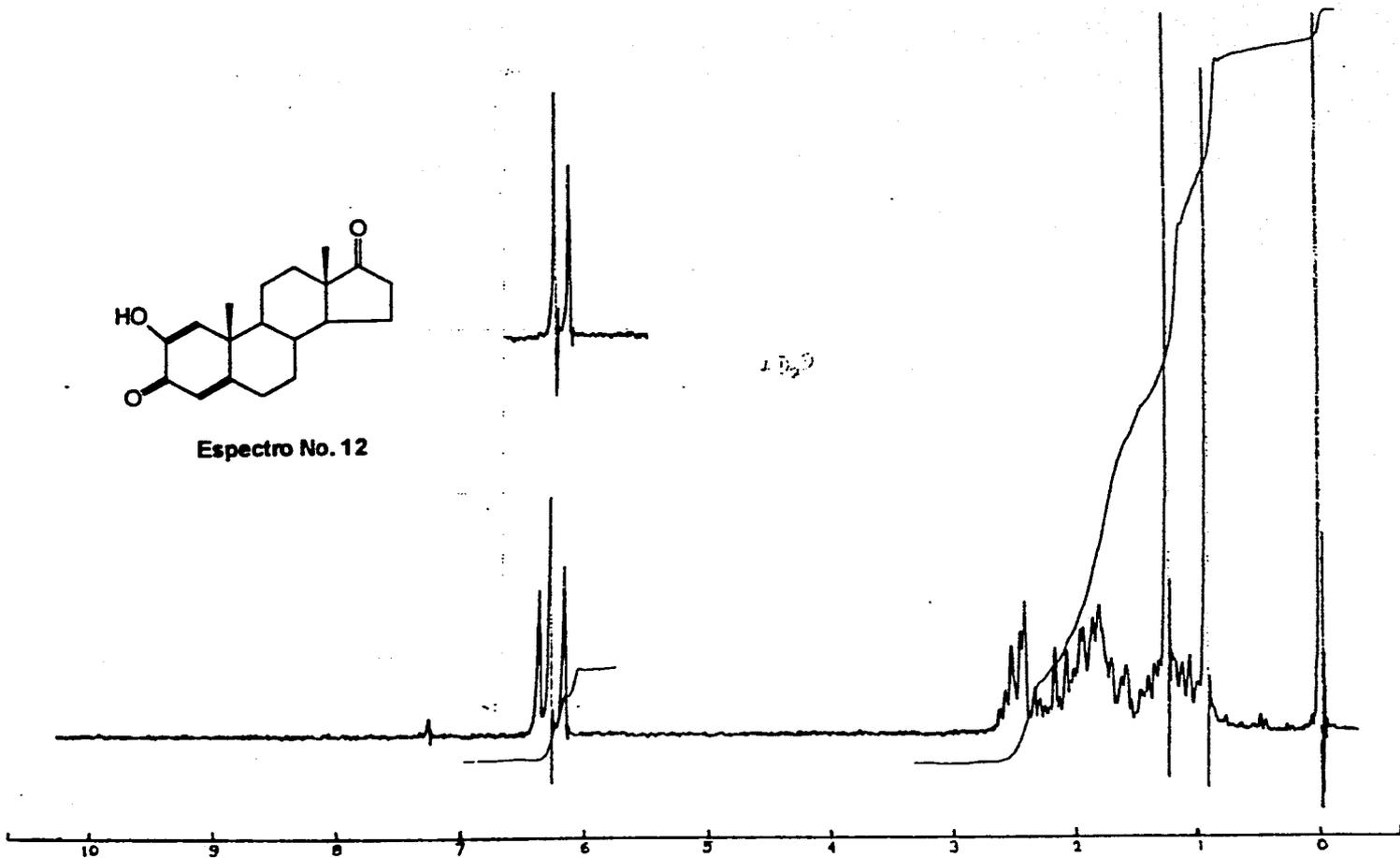
1. AN. 1971. EN SALIDA DE LA MORA. 92



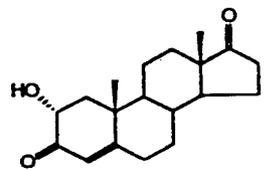
63



Espectro No. 12

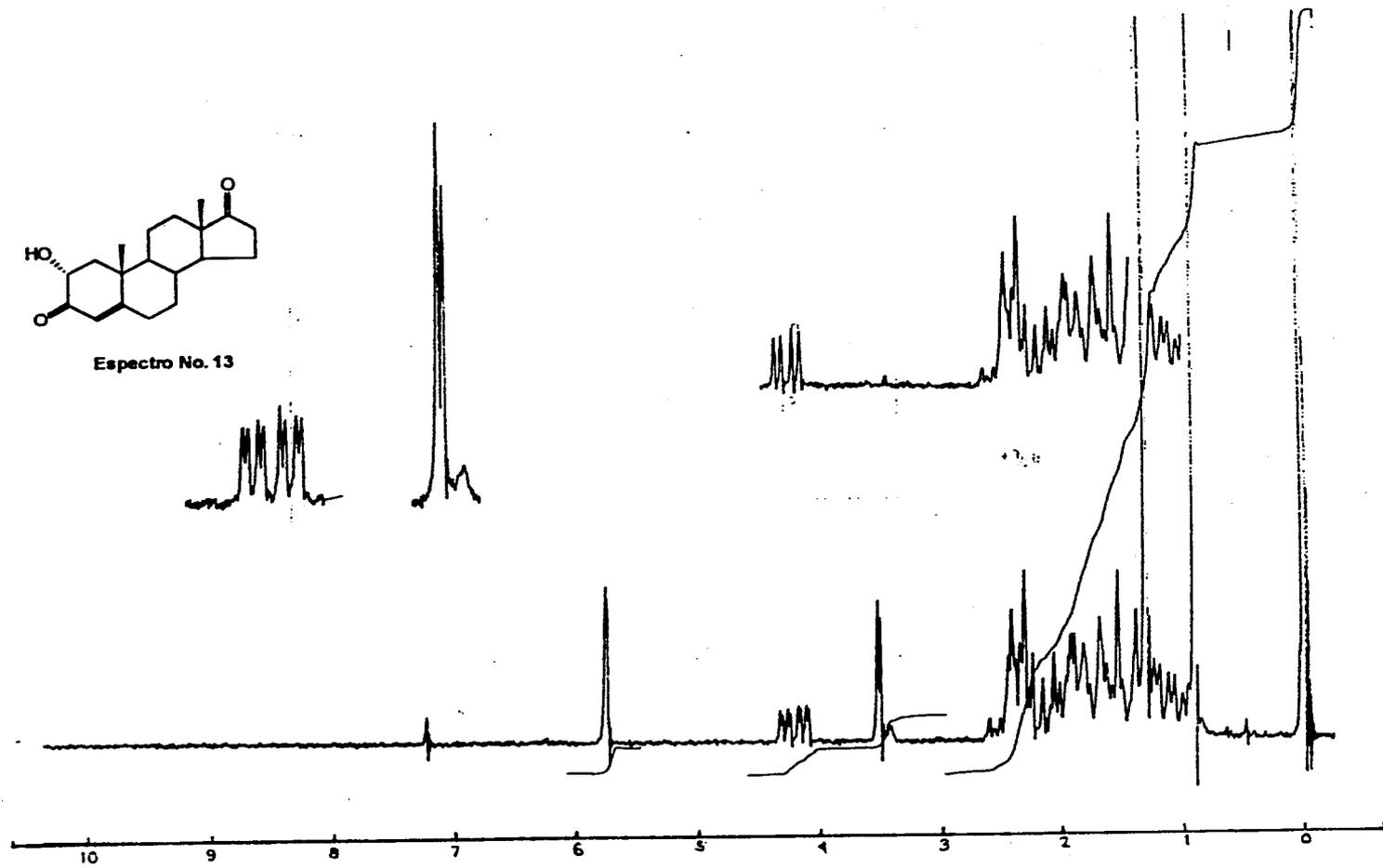


EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER



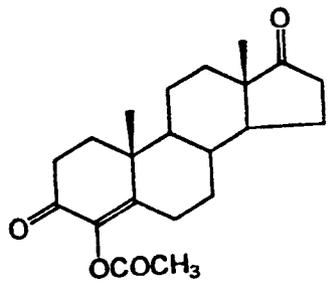
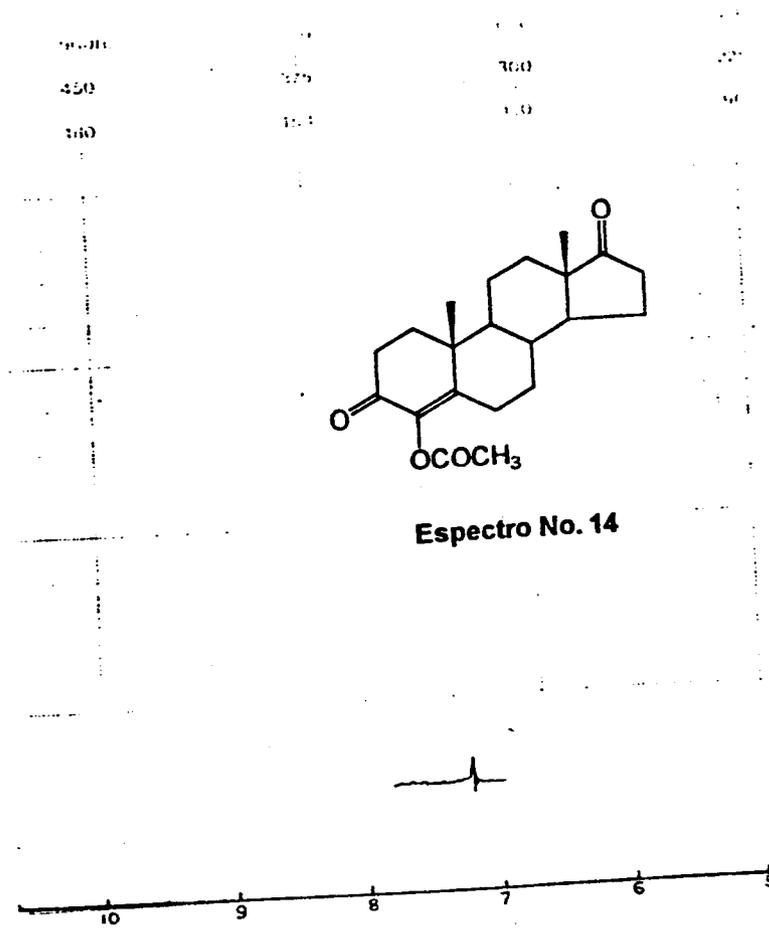
Espectro No. 13

64

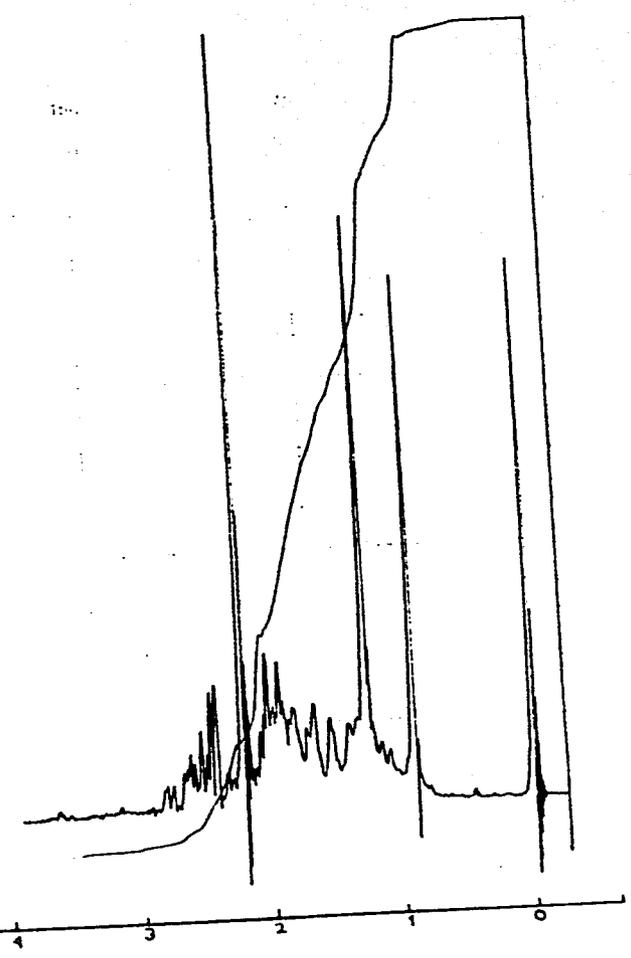


EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

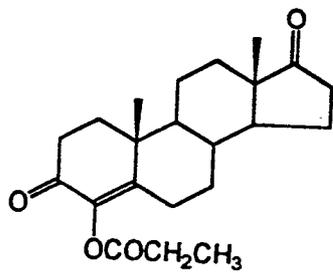
69



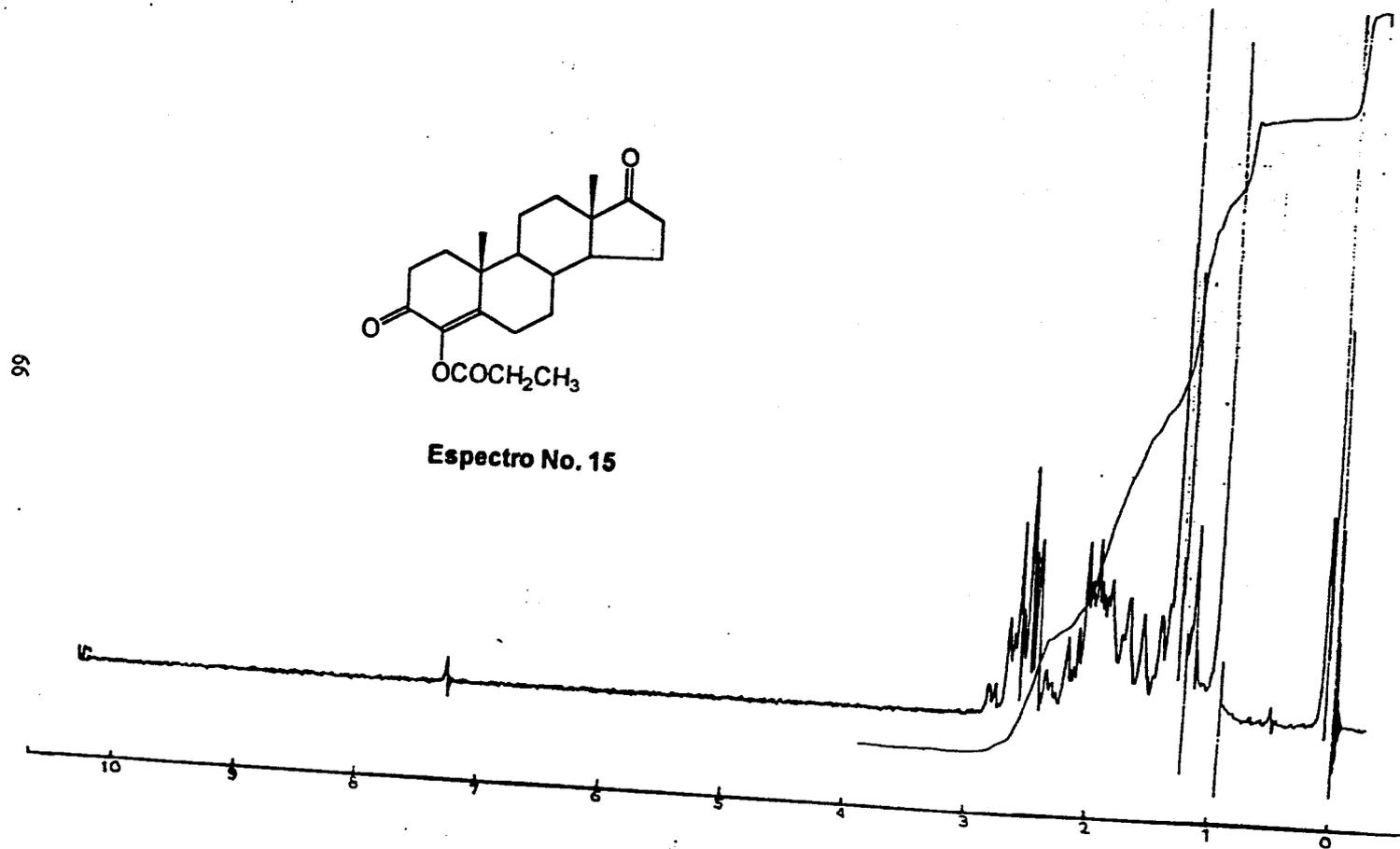
Espectro No. 14



EM 390 90 MHz NMR SPECTROMETER

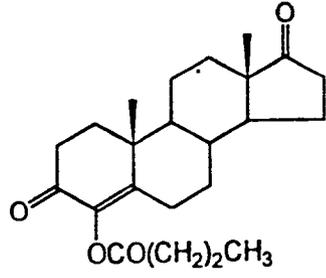


Espectro No. 15

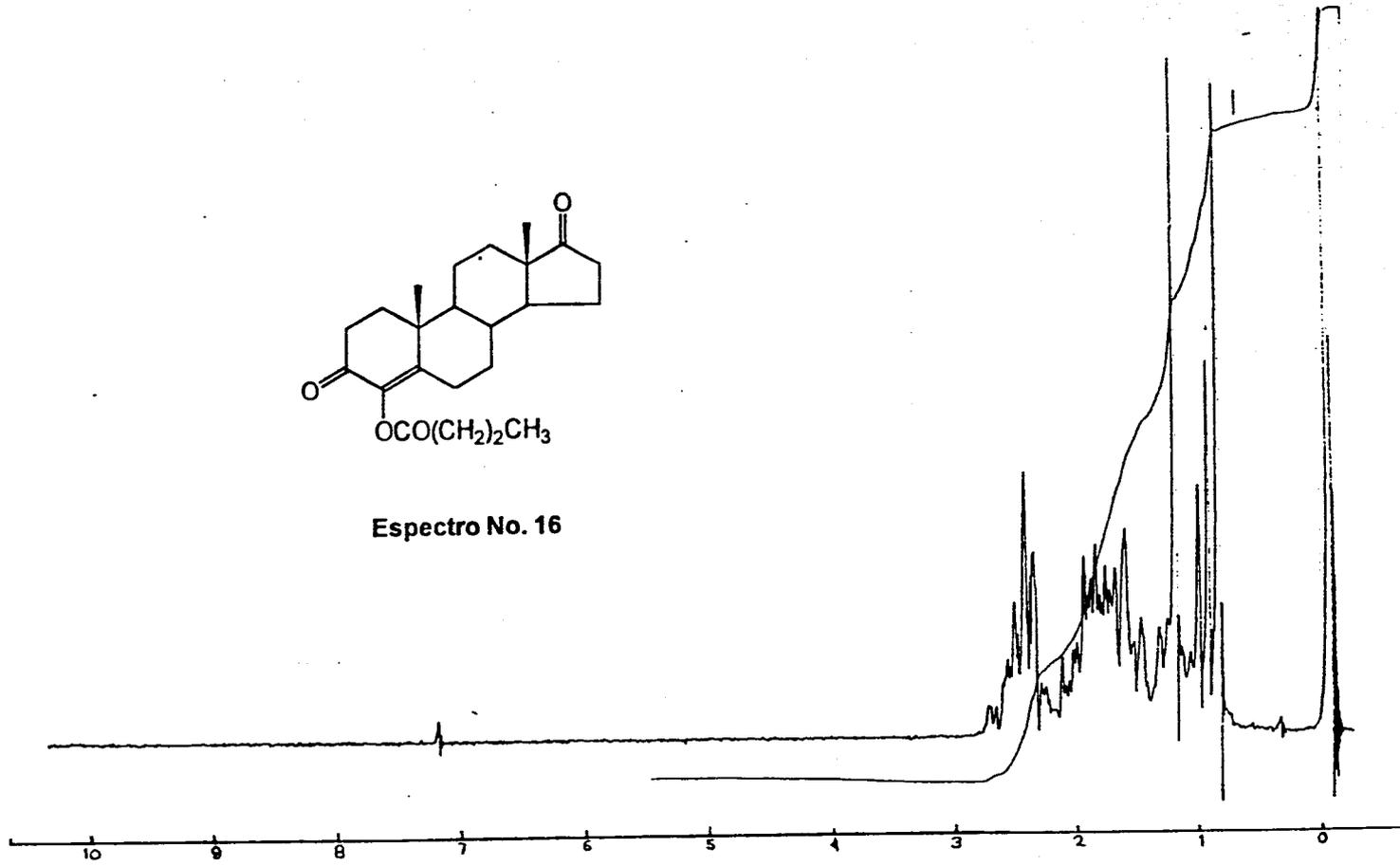


EM-380 90 MHz NMR SPECTROMETER

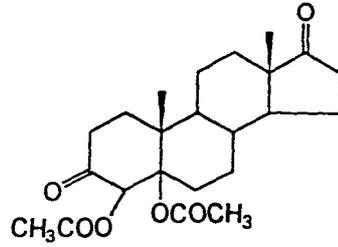
67



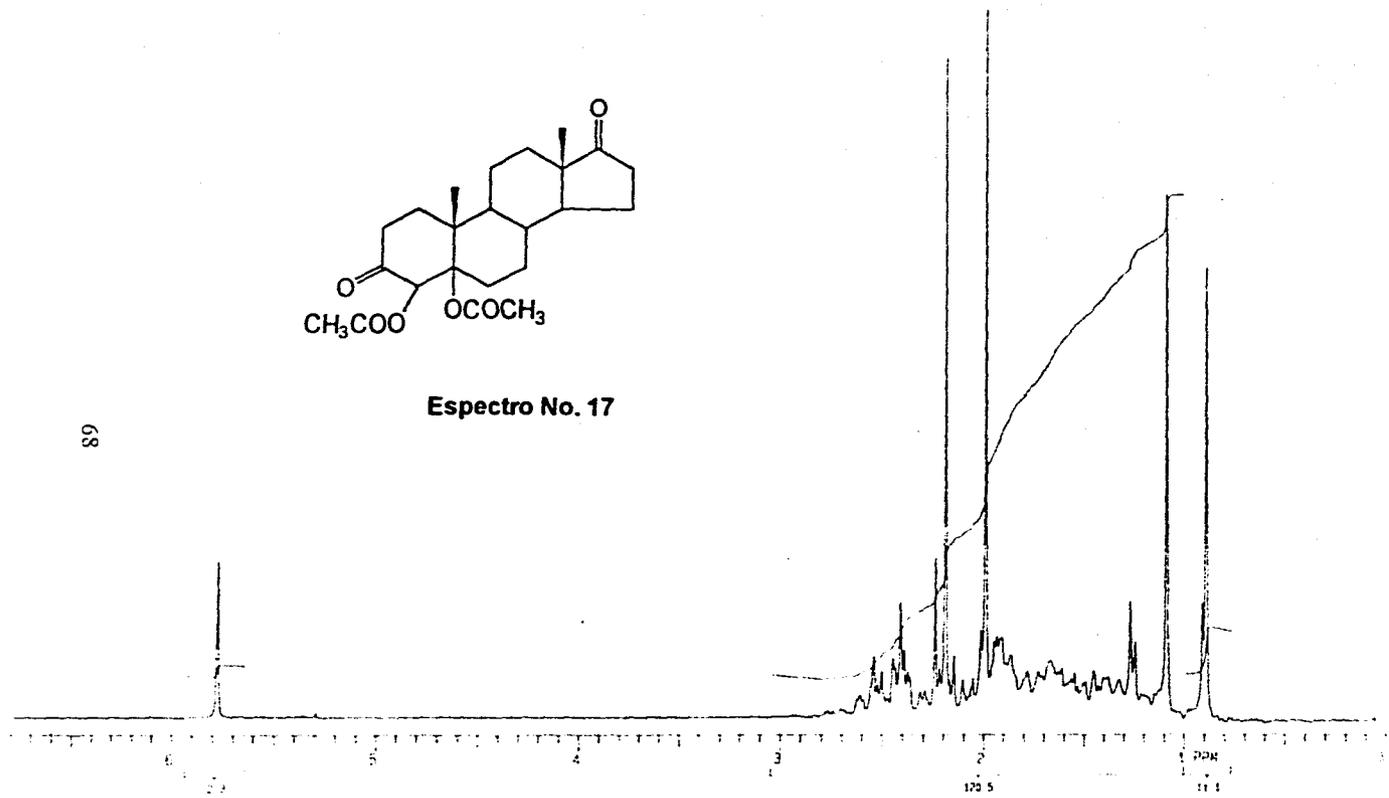
Espectro No. 16



FM-390 90 MH₂ NMR SPECTROMETER



Espectro No. 17



68

FALLA DE ORIGEN

PG-9

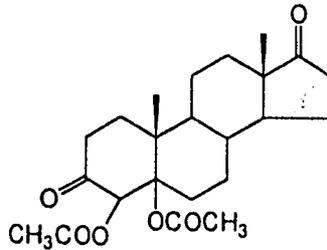
D. GARCIA SERRA MORA



MINISTERIO DE SALUD
SECRETARÍA DE SALUD
CALLE REPUBLICANA 3072, D.F.

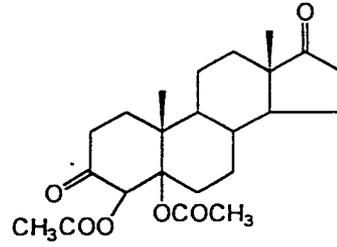
UNIVERSIDAD NACIONAL	FRM	INTENSIDAD
AVENIDA DE	219.965	49.635
MEXICO	201.089	65.875
2556.0	170.355	46.050
3541.0	189.940	41.262
4869.5	92.792	74.359
3904.0	77.631	299.379
3675.0	77.080	300.900
3640.0	76.393	298.533
2759.5	74.679	152.107
2702.0	63.709	29.325
2592.0	60.377	150.969
2549.0	60.638	29.649
2325.4	47.512	60.765
2230.0	44.495	146.037
2170.0	43.227	20.691
1738.0	38.758	197.696
1734.0	38.460	128.810
1742.0	34.544	24.697
1737.0	34.559	25.110
1707.0	33.359	51.795
1674.4	33.295	26.323
1579.1	31.321	145.662
1559.5	31.206	51.281
1581.6	31.052	132.539
1491.7	29.662	39.037
1350.4	27.649	130.747
1351.0	26.666	140.424
1199.9	23.653	23.994
1129.7	22.364	52.487
1098.4	21.644	150.691
1058.1	21.000	132.478
1028.8	20.479	66.377
1019.0	20.227	26.117
997.1	17.942	26.362
979.8	17.458	143.717
931.0	13.789	141.022

CH₃

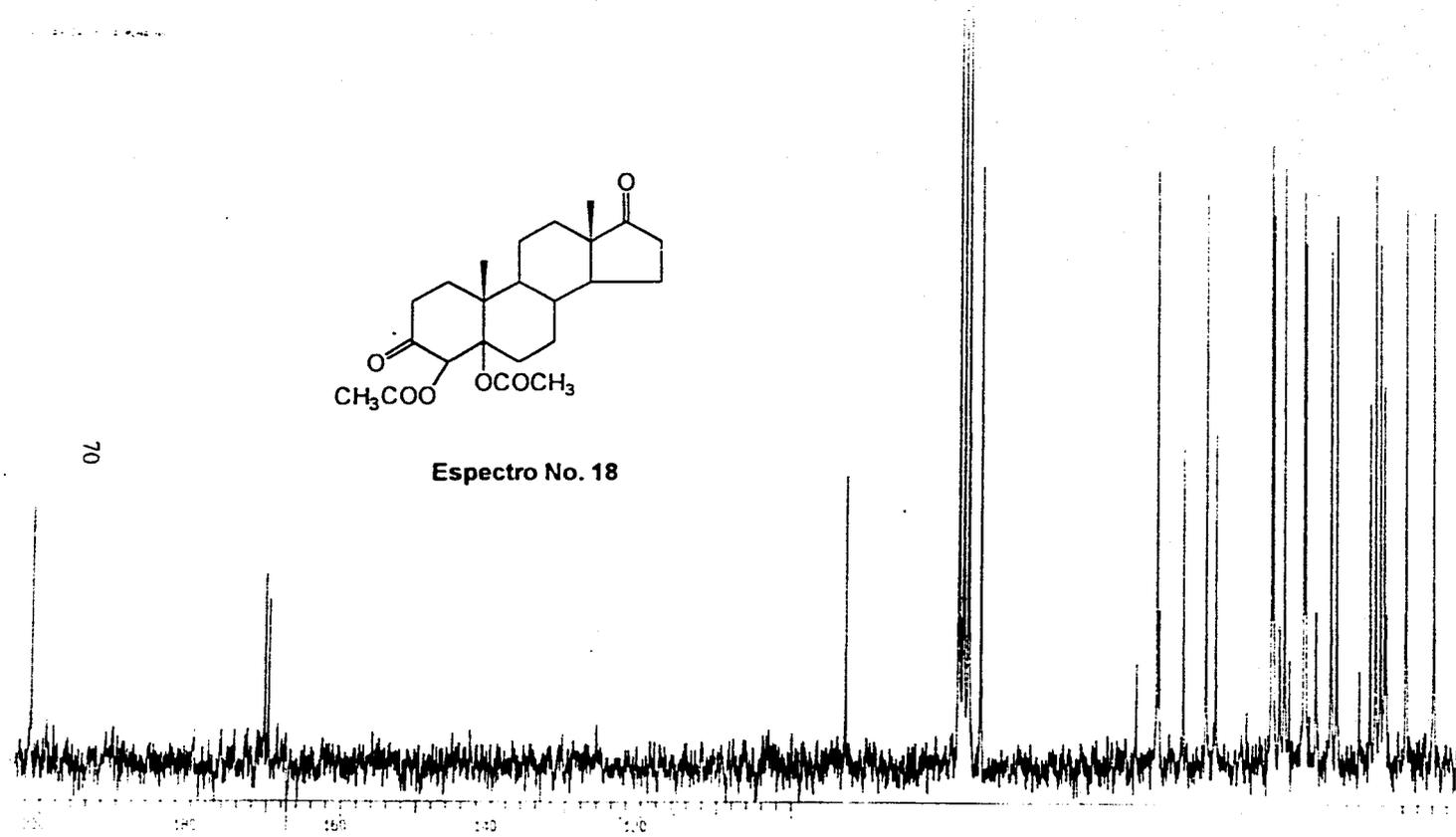


Espectro No. 18

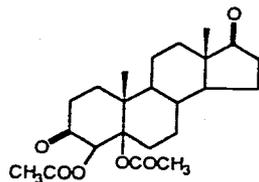
ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA



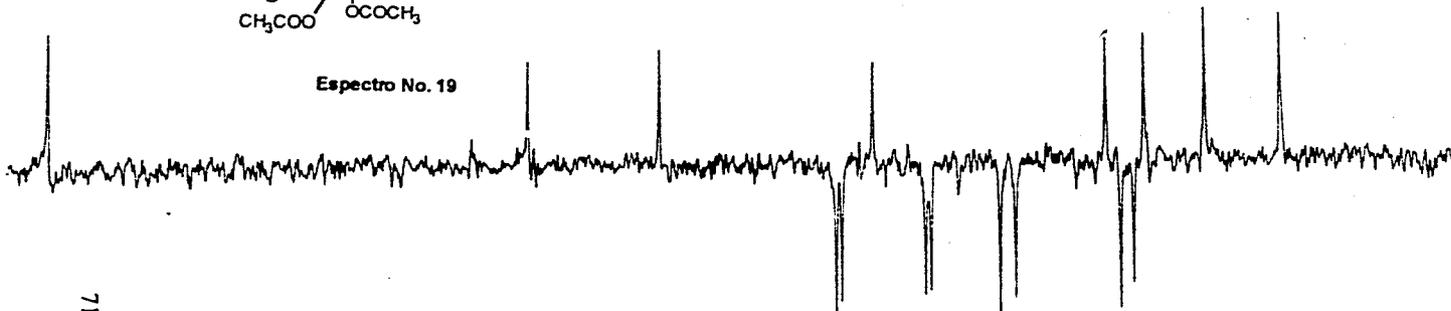
Espectro No. 18



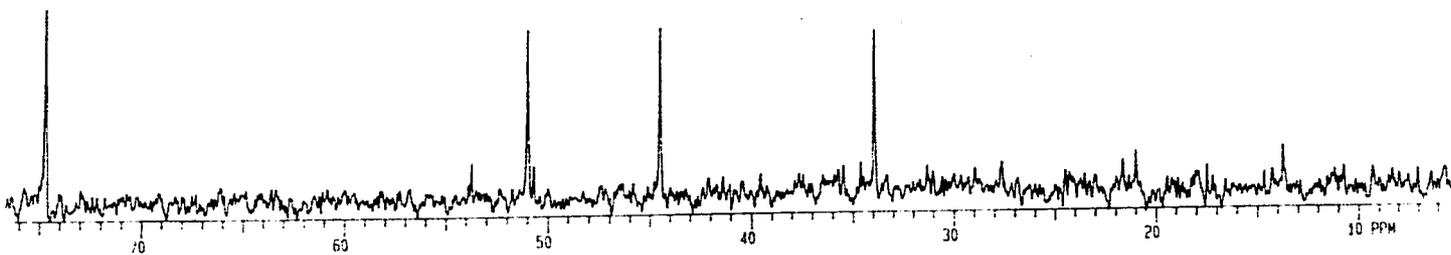
WNE 1244 14 14.14 1.4



Espectro No. 19



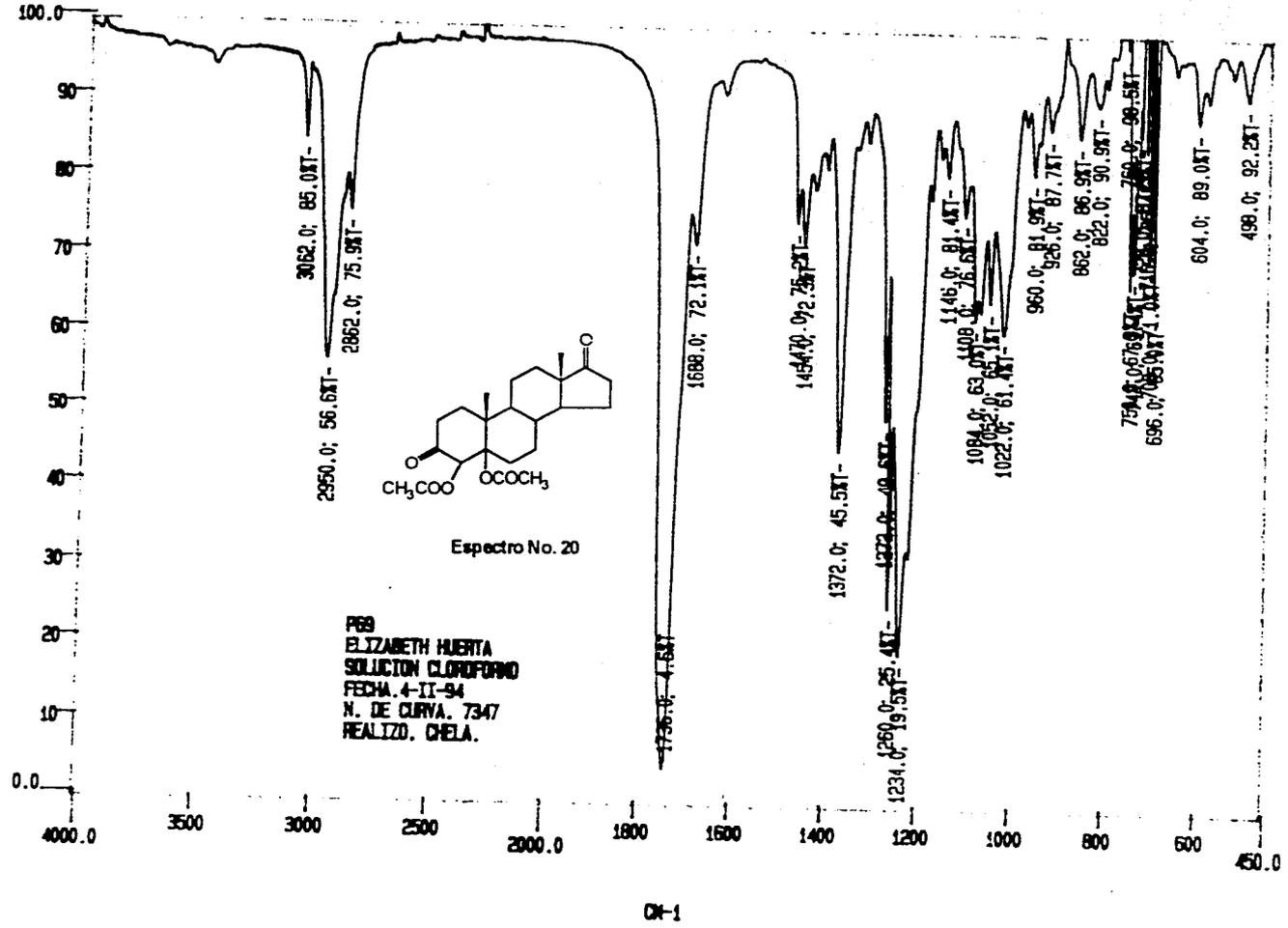
71



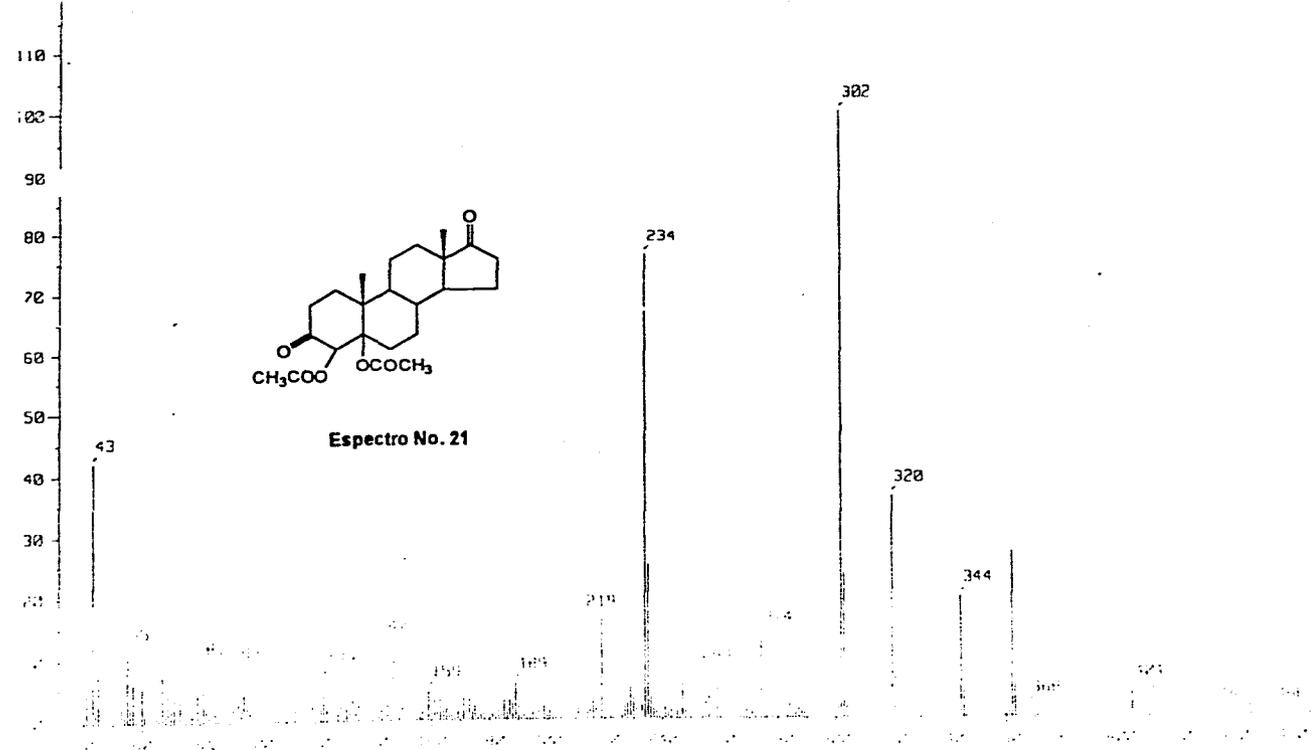
FALLA DE ORIGEN

72

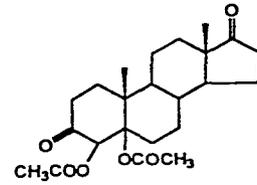
14



Date : Mora Gustavo Date : 21-Feb-95 18:33
Sample: Dr-Gustavo-de-la-Mora
Note : RX505
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Regular [MF-Linear]
RT : 1.00 min Scan# : (21,22) Temp : 38.0 deg.C
BP : m/z 302.0000 Int. : 829.55
Output m/z range : 33.0000 to 468.9898 Cut Level : 0.00 %
10360555



73
FALLA DE ORIOEN



Espectro No. 21