

00523
27

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN ESTEREOISOMÉRICA
DE LA SÍNTESIS DE VOMEROPHERINAS**



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS PROFESIONAL
que para obtener el título de
QUÍMICA
Presenta:
KARINA HERRERA GUZMÁN
México, D. F., 2003

A



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: Prof. Gustavo García de la Mora.
Vocal: Prof. Fernando León Cedeño.
Secretario: Profra. Ana Adela Sánchez Mendoza.
1er. Suplente: Prof. José Federico del Río Portilla.
2o. Suplente: Prof. Daniel Méndez Iturbide.

Esta Tesis se llevó a cabo en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, en el Departamento de Química Orgánica.


Dr. Gustavo García de la Mora.
Asesor.


Q. Ivonne Grillasca Rangel.
Supervisor Técnico.


Karina Herrera Guzmán.
Sustentante

ÍNDICE

<i>Abreviaturas</i>	<i>i</i>
<i>Agradecimientos</i>	<i>ii</i>
Capítulo I. Introducción y Objetivos	2
Capítulo II. Antecedentes	
I. Generalidades sobre vomeropherinas y el órgano vomeronasal.	7
II. Introducción de dobles enlaces.	15
III. Oxidación de alcoholes.	17
Capítulo III. Resultados y Discusión	
I. Estrategia experimental.	21
II. Purificación y caracterización de pregnenolona.	22
III. Reacción de Wittig.	24
IV. Oxidación y conjugación.	33
Capítulo IV. Conclusiones	40
Capítulo V. Parte Experimental	
I. Técnica general de la reacción de Wittig.	44
II. Técnica general de la reacción de oxidación-conjugación.	46
III. Derivados de pregnenolona.	47
IV. Derivados de progesterona.	51
V. Oxidación de Corey y de Swern.	55
Capítulo VI. Referencias	57

Abreviaturas

δ: Desplazamiento químico en partes por millón (ppm)

c. c. f.: Cromatografía en capa fina.

COSY: Espectroscopía de Correlación (Correlation Spectroscopy).

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

HETCOR: Correlación Heteronuclear (Heteronuclear correlation).

J: Constante de acoplamiento en Hertz (Hz).

OE: Epitelio Olfatorio (Olfactory Epithelium).

PDC: Dicromato de piridonio.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear ^1H (Protón); ^{13}C (Carbono 13).

TAS: Tert-amilato de sodio.

VNO: Órgano Vomeronasal (Vomeronasal Organ).

VMPS: Vomeroferinas (Vomperopherins).

Agradecimientos

Al Dr. Gustavo García de la Mora, por ser mi asesor y guía en la realización de este trabajo y a la Q. Ivonne Grillasca Rangel por enseñar y compartir conmigo su experiencia en el trabajo diario del químico en el laboratorio; así como por su amistad, interés y apoyo.

Al H. Jurado por su colaboración en la revisión de este trabajo.

A la Q. Irene Audelo Méndez, por la colaboración en la elaboración de los espectros de RMN-¹H de 90 MHz, así como a la Q. Alejandrina Acosta Huerta por los espectros de RMN de Protón y Carbono de 300 MHz, que apoyaron la realización de este trabajo; de igual forma a la Q. Maricela Gutiérrez Franco y a la Q. Georgina Duarte Lisci, por la ayuda en la Espectroscopía de Infrarrojo y Espectrometría de Masas, respectivamente.

A la Facultad de Química, y al Departamento de Química Orgánica por permitirme el uso de sus instalaciones.

A todos mis profesores de la Facultad por los conocimientos adquiridos y a mis compañeros y amigos que formaron parte de mi crecimiento diario.

Finalmente a mis padres, Rafael y Teresa, y a mis hermanos Haydeé, Rafael y Edgar por ser mi familia, por las horas de risa, por el apoyo incondicional, por el amor y esfuerzo brindado.

Capítulo I

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Entre los padecimientos del ser humano ligados a su estado anímico se pueden mencionar la ansiedad, el desequilibrio hormonal, el síndrome premenstrual (en el caso de las mujeres), la infertilidad, la falta de apetito, la disfunción sexual, entre otros.

En los últimos 50 años, el tratamiento de estas enfermedades ha sido realizado en forma tradicional, es decir, a través de operaciones sistemáticas como la inyección, o la ingestión de compuestos farmacéuticos. Estas rutas de administración están diseñadas para producir la concentración deseada del medicamento en el torrente sanguíneo y obtener el efecto terapéutico esperado. Sin embargo, las rutas de administración antes mencionadas, llegan a tener efectos colaterales y un cierto grado de toxicidad debido a que la concentración alcanzada con el tiempo es alta.

En la actualidad, se investigan nuevas alternativas para lograr un efecto terapéutico de los medicamentos sin que esto represente dolor para el paciente y disminuya los efectos colaterales.

Este es el caso de los compuestos farmacéuticos denominados "*vomeropherinas*" (VMPS), sustancias que estimulan o envían mensajes por medio del órgano vomeronasal (VNO) al hipotálamo mediante nervios específicos. Las vomeropherinas actúan en los receptores del VNO, que en el humano son un par de estructuras cónicas bilaterales localizadas en las fosas nasales.

Estas vomeropherinas provienen del rediseño de hormonas humanas naturales para una aplicación terapéutica específica; de esta manera el tratamiento de problemas como los antes mencionados tiene una nueva alternativa¹.

Actualmente, las vomeropherinas son una marca registrada para una serie de compuestos con estructuras esteroideas. La hipótesis de la acción de las VMPS en el VNO se basa en la mejor volatilidad de este tipo de compuestos, de tal manera que puedan alcanzar el VNO y manipular una acción tipo feromona. Las feromonas son señales químicas que viajan a través del aire, liberadas por un individuo en el ambiente y que afecta la fisiología o comportamiento de otros miembros de la misma especie².

Las VMPS sintetizadas a la fecha tienen las estructuras básicas del núcleo del androstano así como del oestrano y el progestano (figura 1).

En la presente tesis se hicieron modificaciones sobre las estructuras del esqueleto del progestano con el propósito de obtener compuestos de menor polaridad que la progesterona y actúen como vomeropherinas; así como también determinar rendimientos y relaciones isoméricas de los compuestos obtenidos.

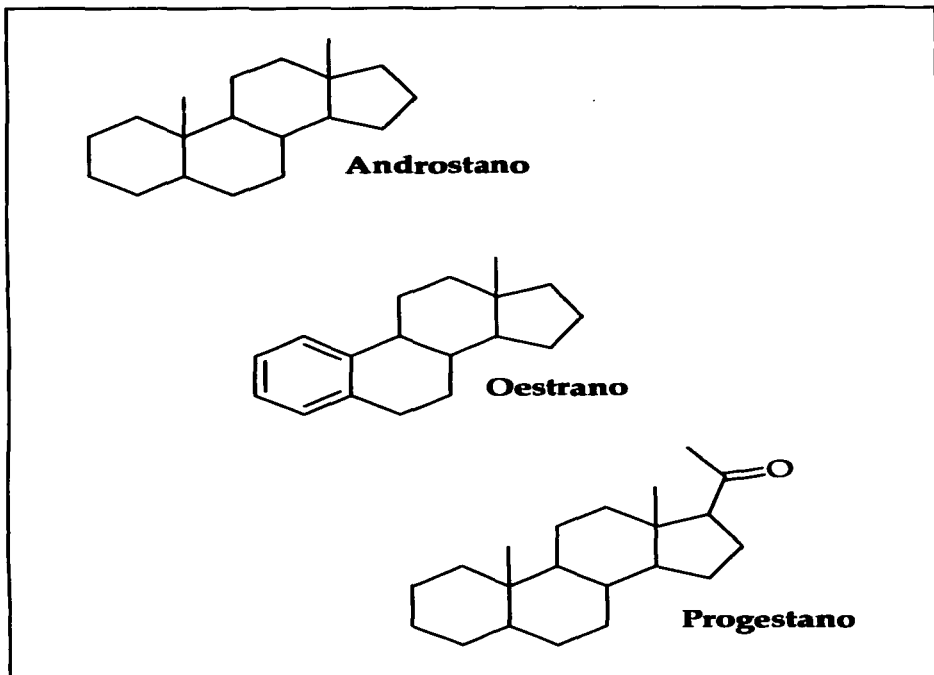


Figura 1. Estructuras básicas de VMPS.

Por lo que se mencionan a continuación los objetivos para la realización de este trabajo.

Objetivos:

- 1. Estudiar la relación estereoisomérica que se obtiene al efectuar la reacción de Wittig con la pregnenolona, para la obtención de alquenos en C-20.**
- 2. Comparar la eficacia y selectividad de los medios básicos que se emplearán en la reacción de Wittig.**
- 3. Realizar la oxidación y conjugación de los derivados de la pregnenolona para la obtención de los derivados de progesterona.**
- 4. Síntesis de compuestos de menor polaridad con la estructura básica del progestano, que puedan actuar como vomeropherinas.**

Capítulo II

ANTECEDENTES

I. Generalidades del órgano vomeronasal y las vomeropherinas.

Existen dos sistemas que son específicos para los compuestos que se propagan por vía aérea y son anatómicamente distintos. Uno es el sistema olfatorio y el otro es el vomeronasal.

Es conocido que los animales tienen un órgano vomeronasal que responde a feromonas coespecíficas, es decir, de la misma especie. El VNO es un órgano quimiorreceptor y es fundamental para la comunicación química feromonal. Las neuronas receptoras vomeronasales se encuentran localizadas en el epitelio sensorial, el cual es semejante al olfatorio. Estas neuronas recubren una cavidad alargada de la cápsula ósea que rodea al VNO, de tal manera que un pasaje estrecho se abre en el piso de la cavidad nasal como único acceso para los estímulos químicos.

Cada VNO en los mamíferos consiste de un tubo alargado con una abertura, sólo en su parte anterior, vía un pasaje estrecho hacia el piso de la cavidad nasal (roedores y algunos primates) o hacia el canal nasopalatino (carnívoros e insectívoros). Este canal nasopalatino conecta las cavidades nasal y oral para que el estímulo pueda alcanzar el VNO a través de la boca o la nariz.

En la mayoría de los mamíferos, el acceso de los estímulos hacia los receptores está regulado autónomamente por un mecanismo de bomba vascular.

Por otra parte, el VNO humano tiene la abertura más arriba en el septo nasal respecto a otras especies, además el VNO no presenta la cápsula ni tampoco los grandes vasos sanguíneos característicos de otros mamíferos.

El VNO humano fue descrito aproximadamente hace 300 años, pero su función era desconocida. En los años treinta del siglo XX, se describió como un órgano vestigial e infuncional³. Sin embargo, a principios de los años noventa, se demostró que el VNO existe en ambos lados de la nariz tanto en hombres como en mujeres. Estudios posteriores demostraron que el VNO humano es fisiológicamente distinto del sistema olfatorio y es activo para determinados compuestos químicos, asimismo está conectado al cerebro a través de redes hipotalámicas y neuronales⁴, figura 2.

Además de las diferencias en su estructura, comparado con otros mamíferos, no tiene un epitelio sensorial grueso, pero si cuenta con algunas células que han sido descritas como neuronas receptoras bipolares⁵.

La localización y estructura sugieren que el órgano humano puede ser estimulado por compuestos con cierta volatilidad, en lugar de compuestos disueltos en la mucosidad (ver figura 3).

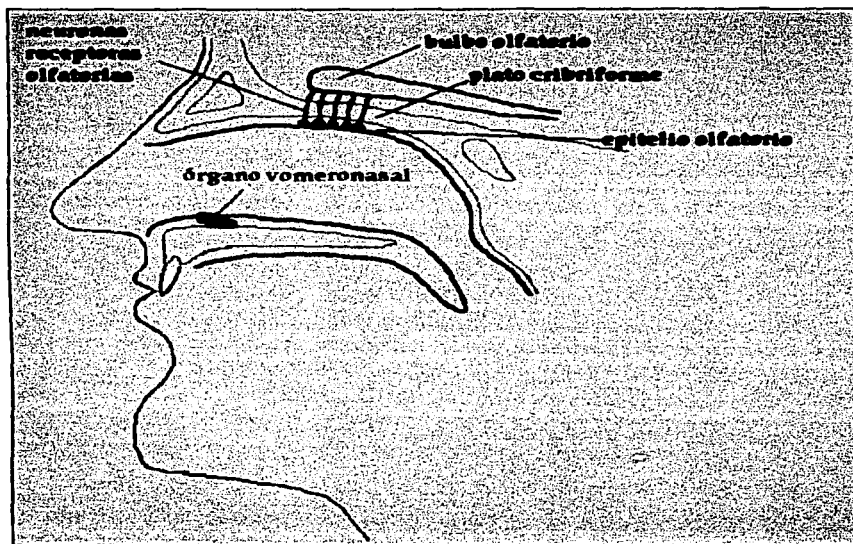


Figura 2. Esquema de localización del VNO.

A manera de comparación en la figura 3 se presentan los efectos de compuestos químicos con aroma usados como fijadores de fragancias y las feromonas sexuales que se conocen como *atractores* de este tipo, es decir, *sexuales*; sobre el epitelio olfatorio (OE) y el órgano vomeronasal humano, observando que en el VNO sólo hay respuesta en el electrovomerograma (EVG) de las feromonas sexuales, mientras que en el electroolfatograma (EOG) son las de menor respuesta.

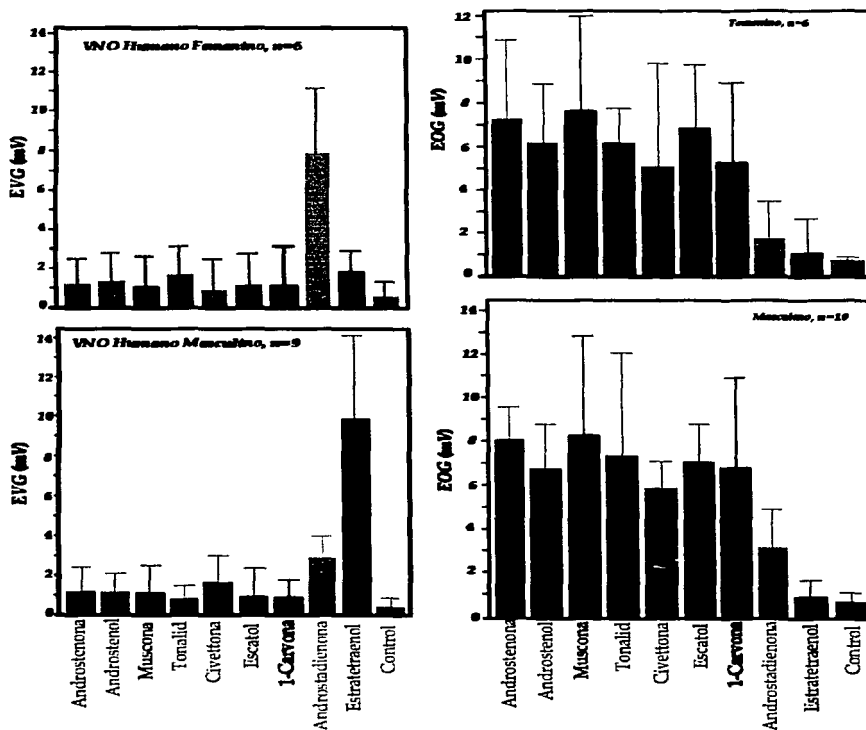


Figura 3. Efectos de feromonas y compuestos químicos con aroma.

De esta manera, la comunicación del VNO de mamíferos involucra la detección de moléculas grandes de baja polaridad, y se requiere del contacto para la estimulación. Hasta la fecha la gran mayoría de los estudios sobre el VNO se han realizado en mamíferos animales, no en humanos.

Por ejemplo, se sabe que las neuronas receptoras del VNO a las feromonas en el ratón, son muy sensibles a bajas concentraciones de compuestos propuestos como las feromonas en esta especie y sólo responden a otras sustancias a altas concentraciones⁶. Este tipo de sensibilidad es también característico de las neuronas receptoras de feromonas en los insectos y humanos.

Se ha demostrado que los seres humanos también son capaces de intercambiar información a través de feromonas, lo cual se comprobó en un estudio acerca de la sincronización de los ciclos hormonales de ovulación, mediante la medida del tiempo de duración del período menstrual con respecto a los ciclos de ovulación (ver figura 4).

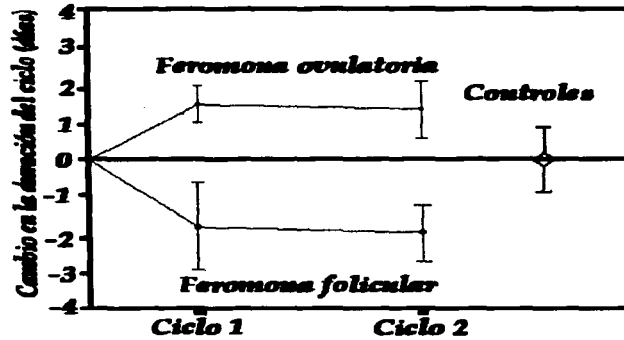


Figura 4. Efecto a la exposición de compuestos axiliares, donados por mujeres en la fase folicular u ovulatoria de su ciclo menstrual.

La razón para la sincronización de los ciclos hormonales se explica por la presencia de las feromonas identificadas como "folicular" y "ovulatoria". La feromona folicular es liberada en la última parte del ciclo menstrual y acelera la fase preovulatoria donde la hormona luteinizante (progesterona) acorta el ciclo. En la ovulación, la feromona ovulatoria se libera en la zona axilar de la mujer y causa un retardo en la liberación de progesterona por lo que el ciclo menstrual se alarga⁷.

Las primeras feromonas a las cuales se han probado sus efectos fisiológicos o de comportamiento son la Androst-4,16-dien-3-ona y la Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (figura 5). La primera fue identificada en la piel del hombre⁸ y la segunda es posible que se encuentre en la piel de las mujeres, aunque no ha sido probado, pero estudios para su identificación están en curso.

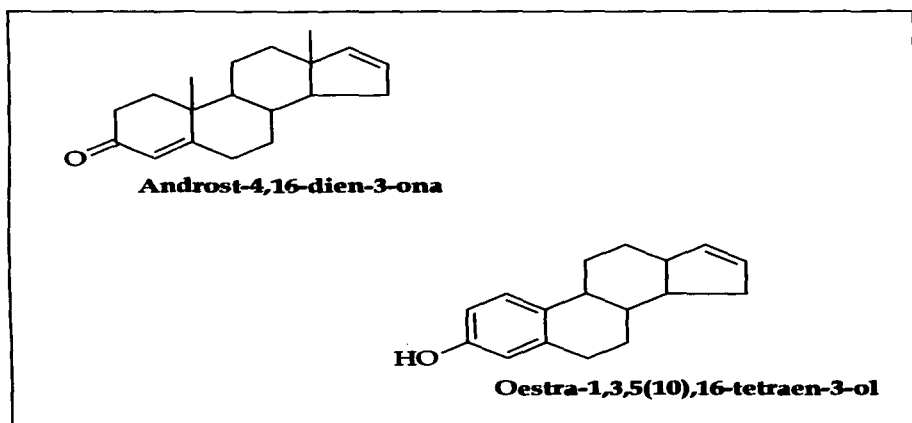


Figura 5. Primeras feromonas con efectos fisiológicos.

Dado que las vomeropherinas son compuestos patentados, que se someten a pruebas farmacológicas para encontrar algún efecto terapéutico en el organismo, la alternativa de dar una aplicación de los compuestos sintetizados aprovecha la propiedad de que su dosificación es de cantidades muy pequeñas, por lo que se exploran las características moleculares de la pregnenolona para la obtención de compuestos con menor polaridad.

En la figura 6, se presenta la ruta metabólica donde la pregnenolona es un neuroesteroide cuya ruta metabólica proviene del catabolismo del colesterol para la formación de corticoesteroides en la corteza suprarrenal.

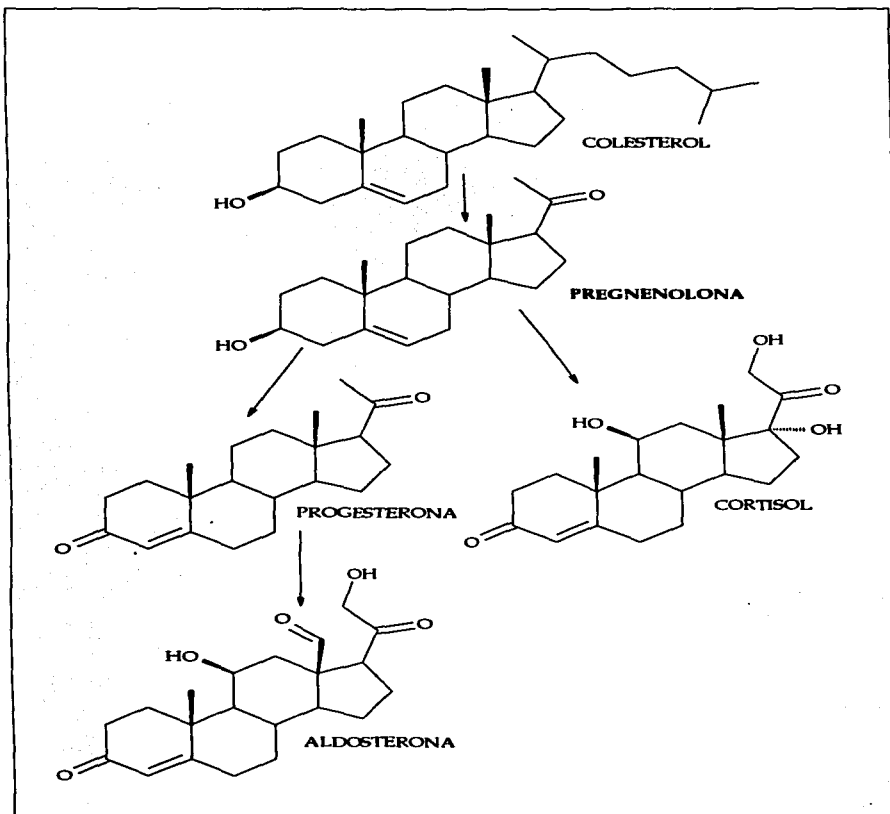


Figura 6. Cascada metabólica en la esteroidogénesis de la corteza suprarrenal.

Tomando en cuenta todo lo anterior, las vomeropherinas ofrecen, como agentes terapéuticos, muchas ventajas entre ellas especificidad receptora, transmisión neuronal rápida y mínima toxicidad debido a las dosis efectivas que son suministradas con un artificio nasal especial².

II. Introducción de dobles enlaces.

En 1953, Wittig y Geissler encontraron que la reacción de benzofenona con metilentrifenilfosforano daba el 1,1-difeniletileno y óxido de trifenilfosfina en un rendimiento casi cuantitativo. El descubrimiento permitió en los años siguientes el desarrollo de un método nuevo para la síntesis de olefinas, el cual bajo el nombre de la "Reacción de Wittig", adquirió mucha importancia en la química orgánica sintética.

Una ventaja de este método es que el grupo carbonilo se reemplaza específicamente por un doble enlace carbono-carbono sin la formación de olefinas isoméricas, en carbonos vecinos (figura 7).

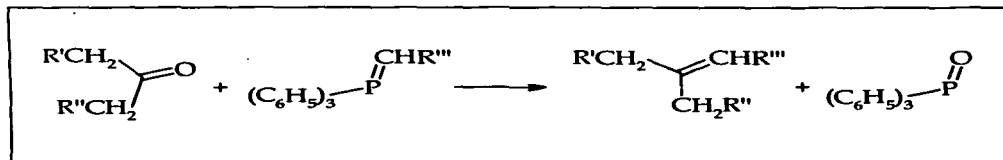


Figura 7. Reacción general de Wittig.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Otra ventaja de la reacción de Wittig es que se lleva a cabo en medios alcalinos y usualmente bajo condiciones medias. Consecuentemente es un método sensible para la preparación de olefinas como carotenoides, metilenerosteroides y otros productos naturales de extrema complejidad como es el caso de la palitoxina¹⁰.

Brevemente, los iluros de fósforo (que son híbridos de dos formas canónicas) se preparan usualmente por la reacción de una sal de fosfonio con una base, y a su vez, las sales de fosfonio provienen de la reacción de una fosfina y un halogenuro de alquilo, mientras que las bases empleadas comúnmente son el *n*-butillitio, el amiduro de sodio, el hidruro de sodio, los alcóxidos de sodio e incluso bases débiles si la sal de fosfonio es suficientemente ácida.

La forma de introducir dobles enlaces fuera del núcleo esteroidal, ha sido por medio de la reacción de Wittig. La síntesis de 3-metilencolestano a partir de colestan-3-ona y metilentrifenilfosforano (figura 8) fue la primera transformación de un esteroide a un metileneroide¹¹.

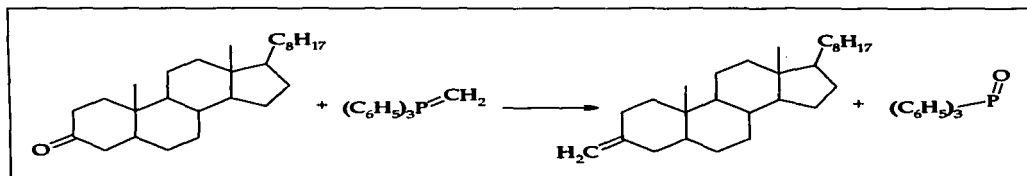


Figura 8. Primera síntesis de Wittig en esteroides.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III. Oxidación de alcoholes.

Las propiedades químicas de un alcohol, quedan determinadas por su grupo funcional, el grupo hidroxilo. Las reacciones de un alcohol pueden involucrar la ruptura de uno de los dos enlaces, es decir, el enlace carbono-oxígeno, o bien, el enlace oxígeno-hidrógeno.

El compuesto que resulte de la oxidación de un alcohol depende del número de hidrógenos unidos al carbono enlazado con el grupo oxhidrilo; de esta forma, los alcoholes primarios pueden oxidarse a aldehídos (o hasta ácidos), los secundarios se oxidan a cetonas y los terciarios se deshidratan rápidamente en medio ácido para dar alquenos que se oxidan en seguida²².

El número de agentes oxidantes crece aceleradamente. Al igual que cualquier método sintético, se hace hincapié en el desarrollo de reactivos altamente selectivos, es decir, sustancias que operen con un solo grupo funcional dentro de una molécula compleja.

Las oxidaciones con Cr (VI) son ampliamente usadas para la conversión de alcoholes en aldehídos y cetonas. Generalmente la oxidación es efectiva a temperatura ambiente y es adaptable a operaciones a gran escala.

El ácido crómico generado por la disolución ácida de trióxido de cromo se ha usado ampliamente como un oxidante, uno de estos procedimientos es debido a E. Jones, el cual usó anhídrido crómico en ácido sulfúrico acuoso, resultando satisfactorio para una conversión de alcoholes secundarios a cetonas¹².

Corey publicó el empleo de un reactivo basado en un complejo de cromo y piridina (PDC) en cloruro de metileno, lo que hace un medio de reacción menos agresivo y efectivo para la oxidación de alcoholes porque la adición es cercana a cantidades estequiométricas y el tiempo típico es de 1-24 horas a 0° ó 25°C (figura 9); a diferencia del reactivo de Collins que utiliza un exceso entre 6-10 equivalentes y cuya fórmula mínima es $(C_5H_5N)_2CrO_3$ ¹³.

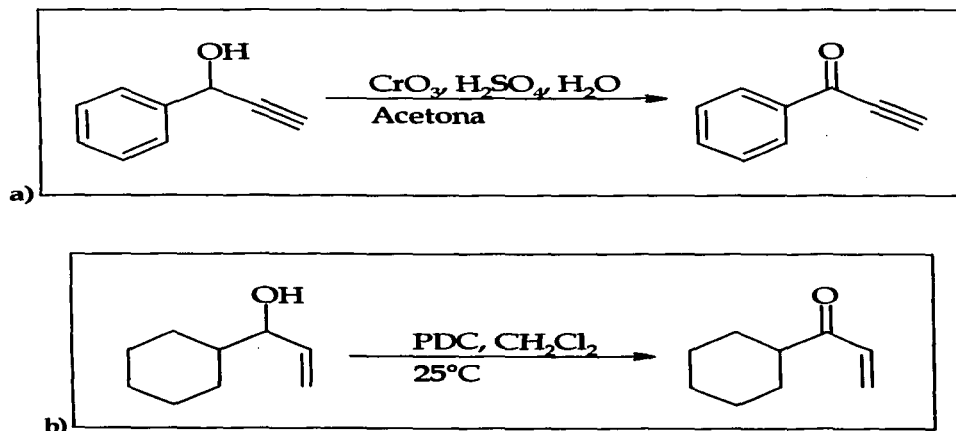


Figura 9. Oxidación de alcoholes con reactivos de Cr (VI);
a) Reactivo de Jones, b) Reactivo de Corey, PDC.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La conversión de alcoholes en compuestos carbonílicos, puede considerarse como la pérdida de hidrógeno, al proveerse una fuente de oxígeno. Esta fuente de oxígeno efectiva es el disolvente DMSO. Las condiciones del medio de reacción no son agresivas si el DMSO se "activa" con el cloruro de oxalilo, entonces el alcohol se oxida y el DMSO se reduce a sulfuro de dimetilo. Debido a su naturaleza exotérmica, debe estar a una temperatura muy baja (-50°C o menor) y se evita la solidificación del DMSO al utilizar una mezcla con cloruro de metileno. Este método se conoce como la Reacción de Swern, figura 10²³.

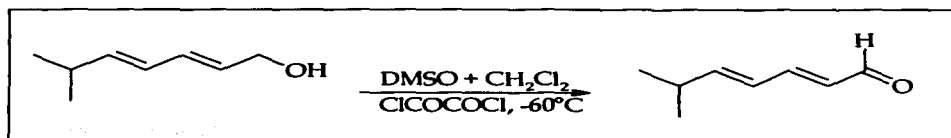


Figura 10. Oxidación de Swern.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Capítulo III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Estrategia Experimental.

Existen muchas rutas sintéticas que pueden usarse para obtener derivados del progestano, por ser de las estructuras básicas en la síntesis de VMPS.

De acuerdo con la figura 5, la pregnenolona presenta ciertas características estructurales susceptibles a conversiones de un grupo funcional a otro, que dan lugar a compuestos menos polares que actúen como vomeropherinas.

En primer lugar el grupo carbonilo de la posición 20 puede transformarse a olefinas de uno, dos o tres átomos de carbono al utilizar la reacción de Wittig. Posteriormente es posible considerar una oxidación de alcoholes, dado que el grupo hidroxilo está en la posición tres, y frente a oxidantes fuertes como el Cromo (VI), formará el grupo cetónico. Finalmente, este intermediario en un medio básico se conjugará con el doble enlace de la posición Δ^5 , obteniendo entonces la estructura α,β -insaturada del anillo del progestano.

De esta forma es posible estudiar la relación estereoisomérica que se produce de la reacción de Wittig con los iluros de metil, etil, y *n*-propilfosforano en dos medios básicos, a fin de comparar su eficacia y selectividad para la síntesis de derivados del progestano al reaccionar con pregnenolona como materia prima y obtener compuestos de menor polaridad que la progesterona.

II. Purificación y Caracterización de Pregnenolona.

Para comenzar la síntesis de II (figura 11), la pregnenolona ($C_{20}H_{32}O_2$) se recristalizó por par de disolventes, después de identificar que las impurezas presentes (derivado 3-acetilado y eltanolona), se eliminaron en una suspensión de hexano.

Su espectro de infrarrojo de la pregnenolona muestra claramente una banda intensa y aguda en 3505 cm^{-1} debido a la vibración longitudinal O-H y una banda también intensa en 1683 cm^{-1} , que corresponde a la vibración longitudinal C-O del grupo carbonilo.

Los desplazamientos químicos en la Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , para cada posición se expresan en pares de coordenadas (^1H ppm, ^{13}C ppm)²⁴.

De esta forma la pregnenolona presenta como señales importantes en la posición 6 ($\delta=5.35$ ppm, 121.37 ppm), un doble de dobles en la región vinílica ($J_{\text{HH}} = 3.6(1.8)$ Hz).

La posición 3 ($\delta= 3.52$ ppm, 71.71 ppm) base de oxígeno, es un multiplete (para 16 picos) debido a que los protones de los carbonos vecinos, no son equivalentes (ver figura 11 como referencia de las posiciones).

Así como un singulete de metilcetona en la posición 21 ($\delta=2.12$ ppm, 31.62 ppm) y los metilos (18 y 19) ($\delta=0.63$ ppm, 13.21 ppm y $\delta=1.01$ ppm, 19.39 ppm, respectivamente) como señales sencillas.

Finalmente la posición 20 es un grupo carbonilo de cetona que se localiza a $\delta=209.49$ ppm, en la ventana espectral del núcleo de ^{13}C .

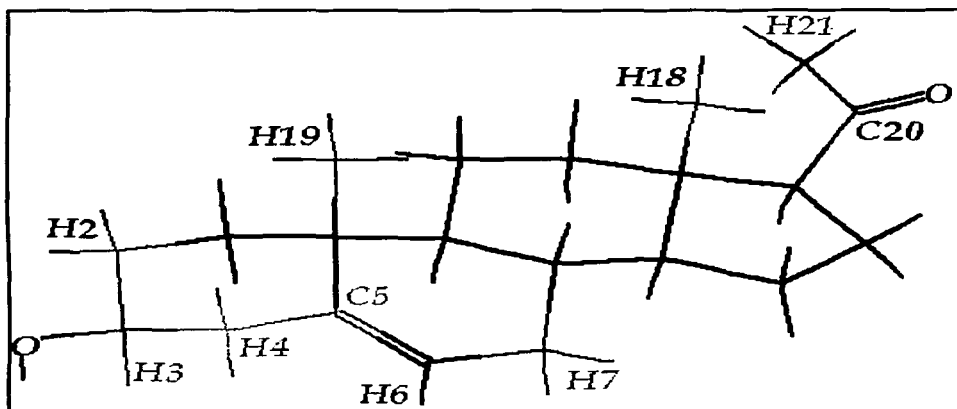


Figura 11. Posiciones de referencia de la pregnenolona.

FALLA DE ORIGEN

III. Reacción de Wittig.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

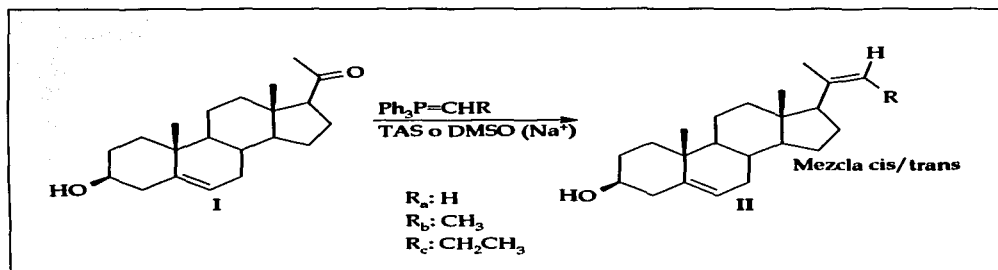


Figura 12. Reacción de Wittig sobre la pregnenolona (I) mediante el uso de las bases: *tert*-amilato de sodio (TAS) en alcohol *tert*-amílico y metinilsulfoximetil sodio en DMSO.

Una vez que la pregnenolona estuvo libre de impurezas, como ya mencionó, la reacción de Wittig se llevó a cabo con los fosforanos alquílicos de uno, dos y tres átomos de carbono.

La preparación de fosforanos alquílicos puede realizarse empleando alcóxidos metálicos como bases, usualmente en el alcohol correspondiente como disolvente¹⁴.

De esta forma la formación del iluro en la disolución del alcóxido, se obtuvo después de un intervalo de tiempo con calentamiento a reflujo, observándose el vire de la disolución desde café, naranja y rojo, además de la precipitación de NaI.

Por otro lado, el carbanión metinilsulfoximetil es la base conjugada del DMSO (generada fácilmente por la reacción con hidruro de sodio). Es una base muy fuerte¹⁵ (pK_a de 35.5, respecto al *tert*-amilato de sodio, cuyo valor es 18) que al reaccionar con la sal de fosfonio (se observó el vire de verde claro a rojo oscuro) formó el iluro correspondiente.

En ambos casos, la reacción de Wittig se concretó al adicionar la pregnenolona, pero la eficiencia y selectividad dependió del carácter básico del medio de reacción.

Así los espectros de IR para II_{a,b,c} presentan las bandas características del grupo oxhidrilo entre 3405 y 3276 cm^{-1} , así como las bandas de estiramiento C=C entre 1665- 1640 cm^{-1} , confirmando la ausencia del grupo carbonilo de la pregnenolona.

La variación en la espectroscopia de RMN con respecto a pregnenolona se describe conforme los compuestos II son mencionados y al igual que en la pregnenolona, los desplazamientos químicos de las posiciones están descritos en pares de coordenadas (^1H ppm, ^{13}C ppm).

II_a: C₂₂H₃₄O, se obtuvo con una relación molar 4:1 de iluro de metilo con respecto a pregnenolona, después de dos horas de reacción a 110°C, con un 96.02% de rendimiento. Dado que se trata de un doble enlace carbono-carbono del tipo vinilo terminal, no presenta isómeros y su rendimiento fue mayor al informado por Schmit, et. al¹⁶, por lo que la obtención de II_a no se realizó con el empleo del metinilsulfoximetil sodio en DMSO, ya que el rendimiento es más que satisfactorio.

Al caracterizar II_a por RMN, se observa que la posición 22 ($\delta=4.85, 4.71$ ppm; 110.69 ppm) corresponde a un grupo CH₂ vinílico y se confirma con el experimento DEPT; la señal protónica con el desplazamiento a campo más bajo es *cis* a la posición 21 (figura 13).

Asimismo el metilo de la posición 21 está a campo más alto por la influencia del doble enlace vinílico en comparación con el grupo carbonilo, desplazándose a menor escala ($\delta=1.75$ ppm, 24.61 ppm).

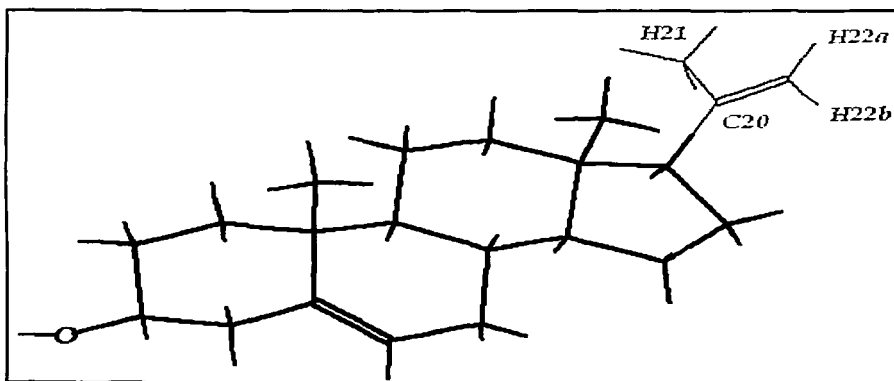


Figura 13. Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-meteno.

II.6. $C_{23}H_{36}O$ se obtuvo con una relación molar 4:1 de iluro de etilo con respecto a pregnenolona, después de seis horas de reacción en alcohol *tert*-amílico a $110^{\circ}C$ con un 52.30% de rendimiento.

Su caracterización por RMN arroja como se esperaba una relación isomérica del tipo *cis-trans*; de esta forma el isómero *cis*, con respecto al anillo D (isómero *Z*); está en una proporción del 75% con respecto a un 25% del isómero *trans* (*E*). Ésto se logró deducir por la medida de la integral bajo la curva de la señal de la posición 18 en el espectro de RMN- 1H .

La posición 18 ($\delta=0.54$ ppm, 12.84 ppm) es una señal sencilla que corresponde a un grupo CH_3 .

Otras señales que contribuyeron al análisis de este compuesto fue la posición 22 que se encuentran dentro de la región vinílica ($\delta=5.27$ ppm, 118.98 ppm) y corresponde a un CH que forma un cuarteto ($J_{HH} = 12$ Hz) con la posición 23 ($\delta=1.61$ ppm, 13.42 ppm) debido a que es un grupo CH_3 que a su vez forma un doblete con el protón H22, pero la señal está superpuesta con la posición 21 ($\delta=1.62$ ppm, 17.52 ppm); ver figura 14.

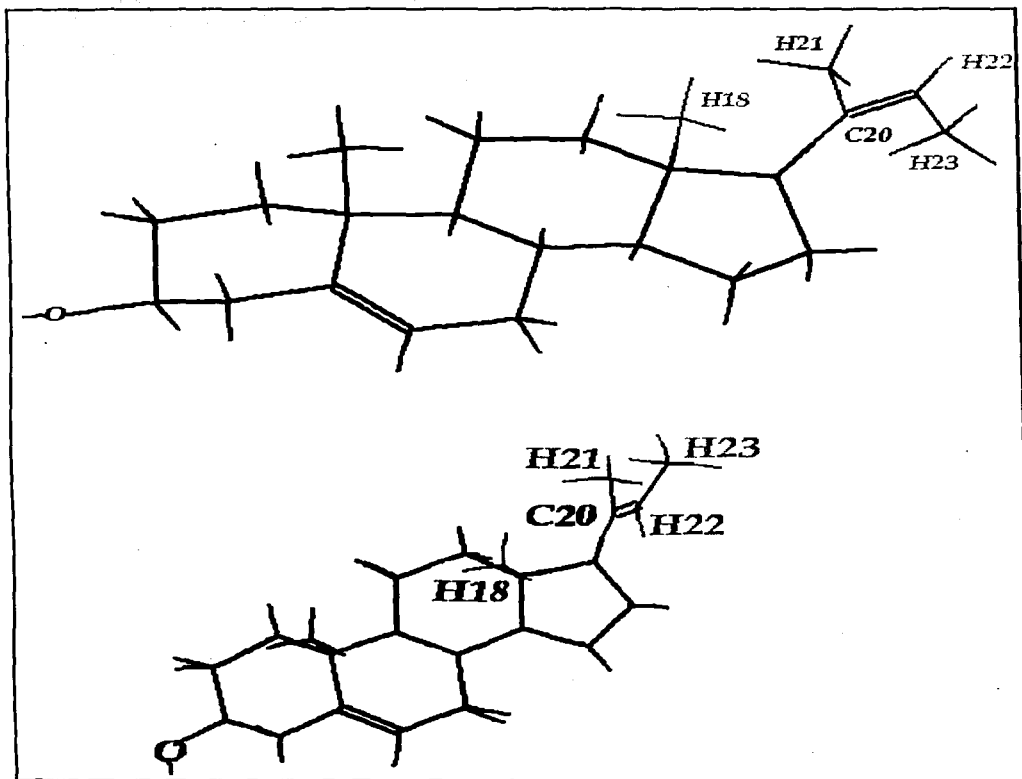


Figura 14. Δ^5 -pregnen-3 β -ol- $\Delta^{20(22)}$ -eteno
(arriba, posición *cis* (Z); abajo, posición *trans* (E)).

Ahora bien, cuando **II_b** se sintetizó con una relación molar 5:1 de iluro de etilo con respecto a pregnenolona y en DMSO, el rendimiento de reacción se mantiene bajo el mismo intervalo (50-60%), sin embargo, la relación estereoisomérica varió a una proporción 82% de isómero *Z* versus 18% de isómero *E*; la proporción es detectada por RMN gracias a la señal de la posición 18 (CH₃; $\delta=0.54$ ppm, 12.81 ppm) y bajo el mismo razonamiento de integral e intensidad de la señal en el espectro de ¹H.

De la misma forma, señales como la posición 22 ($\delta=5.27$ ppm, 118.96 ppm) y la posición 23 ($\delta=1.60$ ppm, 13.413 ppm) contribuyeron al análisis. El H22 presenta un cuarteto ($J_{HH} = 12.6$ Hz) con los protones H23 que a su vez presentan el doblete correspondiente, pero su señal está superpuesta con los protones del CH₃ 21 ($\delta=1.62$ ppm, 17.54 ppm).

IIc: $C_{24}H_{38}O$ se obtuvo a partir de una relación molar 5:1 de iluro de *n*-propilo con respecto a pregnenolona, después de dieciocho horas de reacción a 70°C, en presencia de metinilsulfoximetil sodio en DMSO, con un rendimiento entre el 60 y 70%.

Dentro de sus características espectroscópicas de RMN en la región de las olefinas se aprecia la presencia de la posición 22 ($\delta=5.18$ ppm, 121.63 ppm), un grupo CH, que tiene una multiplicidad de triplete ($J_{HH} = 6.9$ Hz) en el espectro de RMN- 1H , debido a la interacción con los protones de la posición 23 ($\delta=2.03$ ppm, 21.04 ppm) que pueden situarse gracias a los experimentos DEPT, HETCOR y COSY, y forman un cuarteto dobleteado [$J_{HH} = 7.5(6.9)$ Hz] por el acoplamiento que existe con los protones que están en la posición 24 ($\delta=0.95$ ppm, 19.62 ppm) que son de un grupo metilo que a su vez presenta un triplete ($J_{HH} = 7.5$ Hz) por ser vecino al grupo CH_2 de la posición 23 (Figura 15).

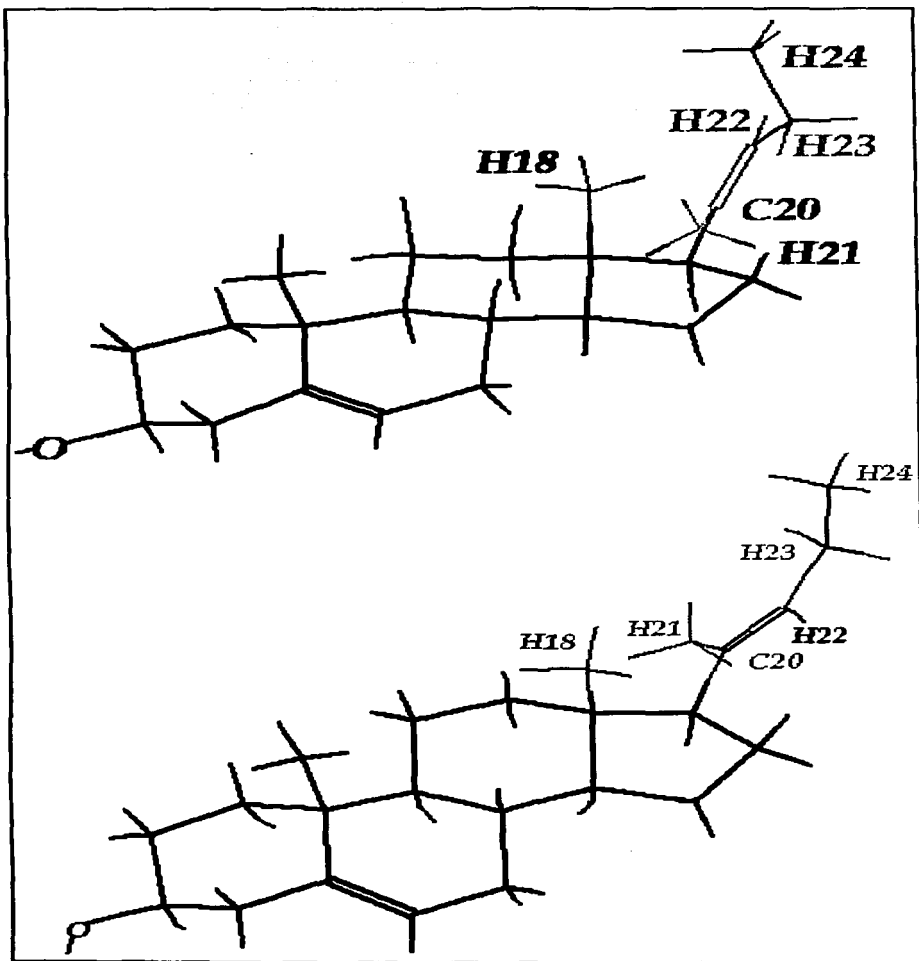


Figura 15. Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-n-propeno.
(arriba, posición *cis* (Z); abajo, posición *trans* (E)).

El grupo metilo de la posición 18 ($\delta=0.55$ ppm, 12.81 ppm) presenta una señal sencilla de la cual se obtiene la información de que el compuesto contiene un porcentaje de isómero Z del 92% *versus* 8% de isómero E; por lo que el método que emplea al DMSO es más selectivo, o tiende a favorecer más a uno de los isómeros.

Sin embargo, cuando II_c trató de sintetizarse con el iluro de *n*-propilo en una relación molar incluso mayor a cuatro equivalentes, con respecto a pregnenolona en presencia del alcóxido (*tert*-amilato de sodio) no pudo obtenerse un producto puro caracterizable, además de que los subproductos fueron mayores que para II_a y II_b.

Schmit, et. al.¹⁶, proponen la obtención satisfactoria de II_b y II_c en presencia de *tert*-amilato de sodio con un rendimiento mayor al 80%. Sin embargo, no es reproducible pues el rendimiento va disminuyendo partiendo de pregnenolona y la referencia que ellos mencionan es con respecto al derivado 3-acetilado.

Finalmente con los tres derivados de pregnenolona (II_a, II_b y II_c) sintetizados y caracterizados, se realizó la oxidación y conjugación de los mismos, como a continuación se describe.

III. Oxidación y Conjugación.

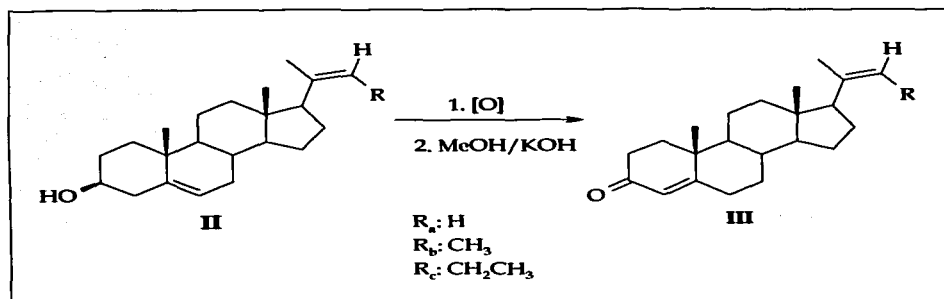


Figura 16. Obtención de los derivados de progesterona.

Djerassi señaló que aunque el método de elección para la elaboración de Δ^4 -3-cetoesteroides es el método de oxidación de Oppenauer, puesto que los compuestos se obtienen en un solo paso; al utilizar el reactivo de Jones, la oxidación involucra la formación inicial de la cetona β - γ -insaturada que en medio básico isomeriza al sistema α,β^{17} , sin el efecto de dobles o triples enlaces presentes¹⁸.

La reacción de oxidación-conjugación se llevó a cabo con pregnenolona a progesterona y se sintetizó en su totalidad sin la formación de subproductos.

Al probar la eficacia de la reacción cuando se utilizaron los derivados de pregnenolona (II_a, II_b, II_c) y seguir la reacción por c. c. f., se observó la formación de un subproducto que se presume sea la dicetona IV (figura 17), la cual se identificó mediante la espectrometría de masas.

Los productos de oxidación III se obtuvieron a partir de una relación 1.5:1 equivalentes de reactivo de Jones (H₂CrO₄) en acetona como disolvente con respecto a II, a temperatura baja (5°C), seguido de una isomerización a pH alcalino (~pH=12) y una temperatura entre 40-60°C.

Los espectros de IR para III_{a,b,c} presentan las bandas características del grupo carbonilo conjugado con un doble enlace C-C en 1666 cm⁻¹, así como las bandas de estiramiento C=C conjugadas con C=O en la zona de 1611 cm⁻¹.

Los espectros de ultravioleta presentan un máximo de absorción en 240 nm (ε=16000-20000) que corresponden al máximo calculado (239 nm).

De igual forma los espectros de RMN muestran claramente el traslado de la posición 4, hacia campo bajo por tratarse del doble enlace carbono-carbono conjugado con el grupo carbonilo. En la Tabla 1 se ilustran los resultados obtenidos para los productos III_a, III_b y III_c.

La relación estereoisomérica se mantiene dentro de las mismas proporciones, aunque el rendimiento de reacción varía por modificaciones en la purificación y/o por la formación de IV.

Producto	Fórmula mínima	Relación isomérica (%)	δ_{C-O} (ppm)	$\delta_{H4,C4}$ (ppm)
IIIa	$C_{22}H_{32}O$	Sin isomería	199.55	5.73, 123.75
IIIb (en TAS)	$C_{23}H_{34}O$	79.66 Z 20.33 E	199.60	5.73, 119.25
III'b (en DMSO)		89.56 Z 10.44 E	199.51	5.73, 119.20
IIIc	$C_{24}H_{36}O$	86.52 Z 13.45 E	199.54	5.73, 123.71

Tabla 1. Características de los derivados de progesterona.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

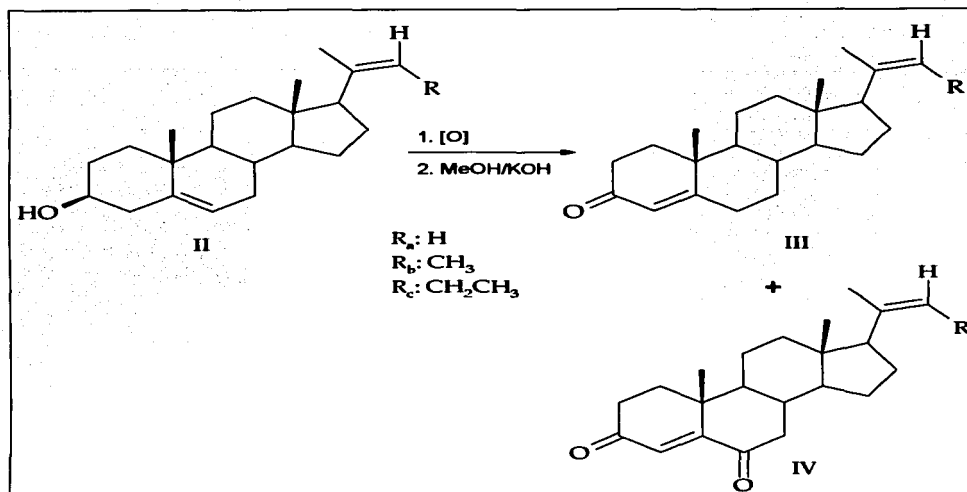


Figura 17. Formación de IV como subproducto en la reacción de oxidación.

La hipótesis de que IV puede formarse se sostiene pues III_c se oxidó mediante el uso de PDC en cloruro de metileno¹³ como disolvente a temperatura ambiente, y su seguimiento por c. c. f. reveló que a mayor tiempo de reacción, IV_c se encuentra en mayor proporción que III_c, aunque el medio de reacción es menos agresivo que al emplear el reactivo de Jones.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

De cualquier forma se realizó la oxidación por medio del método de Swern¹⁹ pues es un procedimiento alternativo menos drástico, porque sus condiciones permitieron la obtención exclusiva de los compuestos Δ^5 -3-cetónicos que después en el segundo paso, es decir, la isomerización en medio básico; den lugar a los compuestos α,β insaturados. La reacción se llevó a cabo con II_b y se produce el 50% de III_b.

Una de las razones que lleva a pensar que la oxidación de alcoholes en la posición 3 de la estructura esteroidal es compleja, es decir, que si depende de los grupos funcionales que estén presentes, es un efecto estereoelectrónico²⁰ como en el caso de la oxidación de II hacia III y otros ejemplos (ver figura 18).

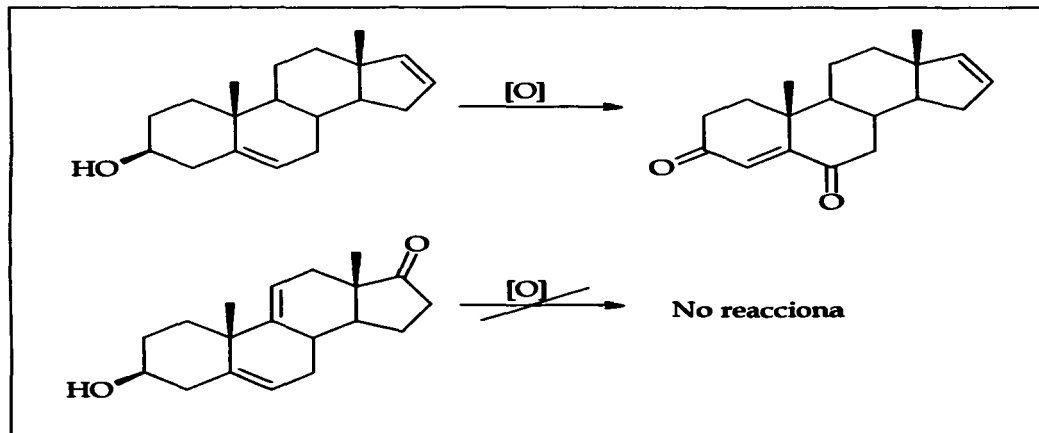


Figura 18. Influencia del efecto estereoelectrónico en la oxidación de alcoholes en la posición 3.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Otro ejemplo se encuentra en la conversión de colesterol en colest-5-en-3-ona²¹. Si la reacción se lleva a cabo con el ácido crómico directamente además del colest-5-en-3-ona se obtienen 'dos subproductos: el colest-4-en-3,6-diona y el colest-4-en-3-ol-6-ona y no puede detectarse nada del derivado α,β -insaturado (Figura 19) y estos resultados pueden extrapolarse a la conversión de II en III, por la similitud en la estructura.

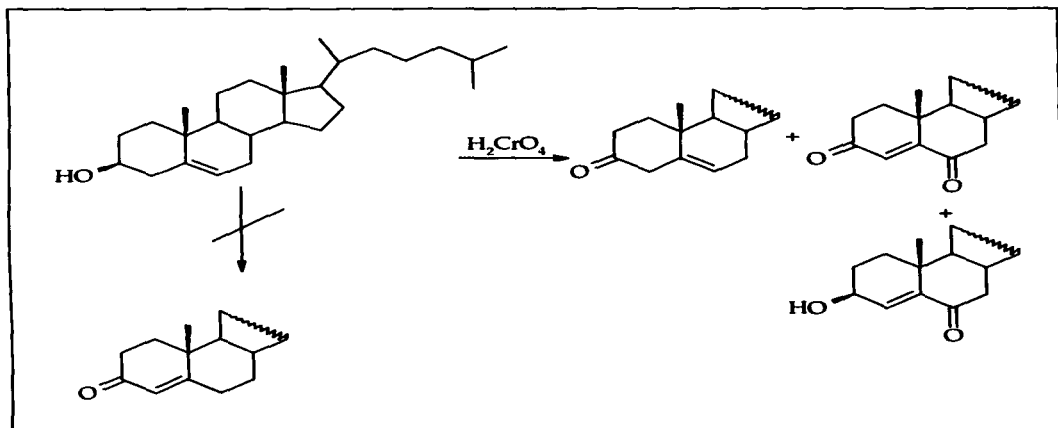


Figura 19. Productos mayoritarios en la oxidación de colesterol a colestona.

Sin embargo, como el objetivo principal de la presente tesis es la determinación de la relación de isómeros de los alquenos en C-20, no se realizaron mejoras en las pruebas experimentales para incrementar el rendimiento de las mismas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Capítulo IV

CONCLUSIONES

- En las reacciones de Wittig, la influencia del medio de reacción tiene un efecto en la obtención de alquenos esteroidales tanto por la relación estereoisomérica como por el rendimiento de reacción que se obtienen.
- El isómero *Z* es el producto principal de una reacción de Wittig con pregnenolona, debido a las propiedades espectroscópicas de los productos, que permitieron aseverar la predominancia de éste con respecto al *E*.
- La alta reactividad de las bases contribuye en la conversión satisfactoria de carbonilos a olefinas con un número mayor de átomos de carbono.
- Dependiendo de los grupos funcionales adicionales presentes en una estructura esteroideal Δ^5 -3-hidroxi, los resultados con diferentes reactivos oxidantes, varía en el rendimiento del producto Δ^4 -3-ceto deseado.
- Los reactivos oxidantes pueden ser agentes fuertes, tanto que favorecen la formación de subproductos, siendo el principal el compuesto Δ^4 -3,6-dicetoesteroide.

Capítulo V

PARTE EXPERIMENTAL

Notas:

1. El término "extraer de forma usual", se refiere a agregar acetato de etilo, lavar con solución saturada de cloruro de sodio hasta pH aproximadamente igual a 7.0 y realizar una extracción líquido-líquido; secar con sulfato de sodio anhidro y evaporar la fase orgánica.
2. Los reactivos empleados para la síntesis de los compuestos, son todos grado Reactivo Analítico (R. A.).
3. Se utilizó sílica gel de fase estacionaria en la cromatografía en columna. La técnica empleada fue de tipo "flash" y el tamaño de poro fue de 0.040-0.063 mm.
4. Los espectros de Infrarrojo (IR) se adquirieron usando el espectrofotómetro FTIR 1605 de Perkin Elmer y se usó KBr como soporte para las pastillas.
5. En IR, *i* significa intensa, *m* media, *d* débil. *v* significa alargamiento (estiramiento); y las bandas están en una escala de cm^{-1} .
6. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN), se obtuvieron en un equipo Varian Unity de 300 MHz (Instituto de Química). Las muestras se disolvieron en CDCl_3 .

7. La RMN para ^1H se describe: el desplazamiento químico en partes por millón (ppm), la multiplicidad (s: singulete; d: doblete; t: triplete; y sus combinaciones), el número de protones, grupo y posición en la molécula. Para la RMN de ^{13}C se describe el desplazamiento químico (ppm), el grupo y la posición dentro de la molécula.

8. La constante de acoplamiento en unidades de frecuencia (Hertz [Hz]), se simboliza con la letra J entre los núcleos que se relacionan, y cuyos símbolos están como subíndices.

9. La Espectrometría de Masas (EM) se realizó con un equipo acoplado de cromatografía de gases-espectrometría de masas. El cromatógrafo de gases (Hewlett Packard, 5890 SII) con una columna capilar (HP-5MS) empleó una rampa de temperatura de 100°C por tres minutos hasta 300°C por cinco minutos a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ y se acopló con el espectrómetro de masas (JEOL, SX-102A) de doble sector y geometría inversa, mediante el uso de ionización electrónica (IE/GC).

I) TÉCNICA GENERAL DE LA REACCIÓN DE WITTIG.

A. Tert-amilato de sodio.

En un matraz de fondo redondo de 250 mL y de dos bocas, con refrigerante, agitación, trampa de humedad y tapón de hule, se adicionan 57 mmol de sodio metálico a 40 mL de alcohol *tert*-amílico anhidro (destilado de Na) y se calienta a reflujo (90°C) hasta la disolución total del sodio. La disolución se enfría a temperatura ambiente y se agregan rápidamente 25 mmol de sal de fosfonio (preparada de trifenilfosfina y el yoduro de alquilo correspondiente) bajo atmósfera inerte (N₂) y se calienta nuevamente a reflujo por media hora.

El iluro de fósforo formado, se enfría a temperatura ambiente y se le añaden 6.25 mmol de pregnenolona disuelta en caliente con tolueno (15 mL) mediante un embudo de adición, y vuelve a calentarse a reflujo hasta que el seguimiento por c.c.f. no muestra la presencia de materia prima.

La mezcla se extrae de forma usual y se purifica por cromatografía en columna con una mezcla hexano-acetato de etilo, en proporción 75:25.

B. Metinilsulfoximetil de sodio.

En un matraz de fondo redondo de 500 mL y de 3 bocas, con agitación, trampa de humedad y tapón de hule, se lavan tres veces con hexano (15 mL), 95 mmol de hidruro de sodio al 60% (disperso en aceite mineral) y se adicionan 45 mL de DMSO (recién bidestilado de CaH_2 a presión reducida), mediante el uso de una jeringa y atmósfera inerte (N_2). Se calienta a 70°C , hasta que no se observe evolución de hidrógeno. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se le añaden 36 mmol de sal de fosfonio disuelta en 45 mL de DMSO mediante un embudo de adición.

Una vez que el iluro de fósforo está formado (coloración roja de la mezcla), se adicionan 6.0 mmol de pregnenolona disuelta en 130 mL de DMSO mediante un embudo de adición; y se inicia el calentamiento hasta 75°C durante dieciocho horas, hasta que el seguimiento por c.c.f. muestra la desaparición de la materia prima.

La mezcla se extrae de forma usual y se purifica por cromatografía en columna con una mezcla hexano-acetato de etilo, en proporción 75:25.

II) TÉCNICA GENERAL DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN-CONJUGACIÓN.

En un matraz de fondo redondo de 100mL con agitación magnética, se disuelven 10 mmol del producto de la reacción de Wittig en 40 mL de acetona (destilada de KMnO_4); la disolución se enfría a 5°C (baño de hielo) y se añaden 0.42 mL de reactivo de Jones (CrO_3 8M en $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$) mediante una jeringa. Después de cinco minutos (seguimiento con c.c.f.). El exceso de reactivo se destruye al adicionar un par de gotas de isopropanol (IPA). El disolvente se evapora en un rotavapor y se extrae de forma usual. El producto crudo se redisuelve en metanol (30 mL), se calienta a $50\text{-}60^\circ\text{C}$ (baño María) y se adiciona gota a gota hidróxido de potasio al 10%, hasta que el pH sea alcalino (~ 12) y se observe por c.c.f. (después de 5 minutos) la desaparición del producto de oxidación dando lugar al producto de conjugación.

La reacción se detiene mediante la adición de HCl (10%) hasta llegar a pH neutro, el disolvente se evapora en el rotavapor, la mezcla de reacción se extrae de forma usual y se cromatografía por columna con una mezcla 85:15 de hexano-acetato de etilo.

III) DERIVADOS DE PREGNENOLONA.

Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-meteno (II_a)

Una disolución en caliente de dos gramos de pregnenolona en 15 mL de tolueno se agregó a 25 mmol de metilidentrifenilfosforano en alcohol *tert*-amílico y se calentó la mezcla de reacción durante tres horas a reflujo (90°C). La reacción se extrajo de forma usual y después de una cromatografía en columna, se obtuvieron 1.92 g de producto (96.02% de rendimiento), como un sólido blanco (p. f.: 115-118°C).

IR (pastilla, KBr; cm⁻¹): 3383 i (ν OH); 3080 m (ν =CH₂); 2934-2870 i (ν C-H sat.); 1640 d (ν C=C); 1047 m (ν C-O).

RMN-¹H (CDCl₃): 0.600 ppm (s, 3H, CH₃, 18); 1.013 ppm (s, 3H, CH₃, 19); 1.620 ppm (s, 3H, CH₃-C=C, 21); 3.526 ppm (m, 1H, CH-OH, 3); 4.851 ppm (cis a H21), 4.712 ppm (s, 1H, C=CH₂, 22); 5.356 ppm (dd, 1H, C=CH, 6).

RMN-¹³C (CDCl₃): 12.652 ppm, CH₃ (18); 19.399 ppm, CH₃ (19); 24.617 ppm, CH₃ (21); 71.735 ppm, CH-OH (3); 110.688 ppm, C=CH₂ (22); 121.586 ppm, C=CH (6); 140.780 ppm, C=CH (5); 145.617 ppm, CH₃-C=CH₂ (20).

EM (IE/GC; m/z): 314, 299, 281, 255, 246, 229.

Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-eteno (II₆)

Una disolución en caliente de dos gramos de pregnenolona 15 mL de tolueno se adicionó a 25 mmol de etiliditridenilfosforano en alcohol *tert*-amílico y se calentó la mezcla de reacción durante tres horas a reflujo (90°C). La mezcla de reacción se extrajo de forma usual. Finalmente se purificó por cromatografía en columna y se obtuvieron 1.05 g de producto (52.30% de rendimiento), como un sólido blanco (p. f.: 120-122°C).

IR (pastilla, KBr; cm⁻¹): 3384 i (v OH); 2934-2870 i (v C-H sat.); 1710, 1640 d (v C=C); 1056 m (v C-O).

RMN-¹H (CDCl₃): 0.544 ppm (s, 3H, CH₃, 18); 1.009 ppm (s, 3H, CH₃, 19); 1.609 ppm (d, (J_{HH} = 6 Hz), 3H, CH₃-CH, 23); 1.620 ppm (s, 3H, CH₃-C=C, 21); 3.519 ppm (m, 1H, CH-OH, 3); 5.356 ppm (c, (J_{HH} = 12 Hz), 1H, C=CH-CH₃, 22); 5.353 ppm (dd, 1H, C=CH, 6).

RMN-¹³C (CDCl₃): 12.838 ppm, CH₃ (18); 13.432 ppm, CH₃ (23); 17.524 ppm, CH₃ (21); 19.401 ppm, CH₃ (19); 71.765 ppm, CH-OH (3); 118.977 ppm, C=CH₂ (22); 121.646 ppm, C=CH (6); 135.300 ppm, C=CH (5); 140.795 ppm, CH₃-C=CH₂ (20).

EM (IE/GC; m/z): 328, 313, 295, 271, 246, 229, 213.

Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-eteno (II'6)

Una disolución de dos gramos de pregnenolona en 130 mL de DMSO se adicionó a 36 mmol de etilidentrifenílfosforano en 80 mL de DMSO y se calentó la mezcla de reacción durante dieciocho horas a 70°C. La reacción se extrajo de forma usual, se purificó por columna cromatográfica y se obtuvo 1.0 g de producto (50% de rendimiento), como un sólido blanco (p. f.: 119-121°C).

IR (pastilla, KBr; cm^{-1}): 3405 i (v OH); 2931-2860 i (v C-H sat.); 1722-1660 d (v C=C); 1053 m (v C-O).

RMN- ^1H (CDCl_3): 0.544 ppm (s, 3H, CH_3 , 18); 1.009 ppm (s, 3H, CH_3 , 19); 1.610 ppm (d, ($J_{\text{HH}} = 7.2 \text{ Hz}$), 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}$, 23); 1.619 ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$, 21); 3.522 ppm (m, 1H, CH-OH , 3); 5.264 ppm (c, ($J_{\text{HH}} = 12.6 \text{ Hz}$), 1H, $\text{C}=\text{CH-CH}_3$, 22); 5.352 ppm (dd, 1H, $\text{C}=\text{CH}$, 6).

RMN- ^{13}C (CDCl_3): 12.853 ppm, CH_3 (18); 13.452 ppm, CH_3 (21); 17.544 ppm, CH_3 (23); 19.421 ppm, CH_3 (19); 71.765 ppm, CH-OH (3); 118.999 ppm, $\text{C}=\text{CH}_2$ (22); 121.647 ppm, $\text{C}=\text{CH}$ (6); 135.316 ppm, $\text{C}=\text{CH}$ (5); 140.810 ppm, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{CH}_2$ (20).

EM (IE/GC; m/z): 328, 313, 295, 271, 246, 229, 213.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Δ^5 -pregnen-3 β -ol-20(22)-propeno (II_c)

Una disolución de dos gramos de pregnenolona disuelta en 130 mL de DMSO se agregó a 36 mmol de *n*-propilidientrifetilfosforano en 80 mL de DMSO y se calentó la mezcla de reacción durante dieciocho horas a 70°C. La reacción se extrajo de forma usual y se purificó por cromatografía en columna. Se obtuvieron 1.35 g de producto (67.5% de rendimiento), como un sólido blanco (p. f.: 125-127°C).

IR (pastilla, KBr; cm⁻¹): 3276 i (v OH); 2930-2868 i (v C-H sat.); 1640 d (v C=C); 1059 m (v C-O).

RMN-¹H (CDCl₃): 0.547 ppm (s, 3H, CH₃, 18); 0.952 ppm (t, (J_{HH} = 7.5 Hz), 3H, CH₃-CH₂, 24); 1.009 ppm (s, 3H, CH₃, 19); 1.617 ppm (s, 3H, CH₃-C=C, 21); 2.040 ppm (cd, (J_{HH} = 7.5, 6.9 Hz), 2H, CH-CH₂-CH₃, 23); 3.517 ppm (m, 1H, CH-OH, 3); 5.176 ppm (t, (J_{HH} = 6.9 Hz), 1H, C=CH-CH₂-CH₃, 22); 5.3542 ppm (dd, 1H, C=CH, 6).

RMN-¹³C (CDCl₃): 12.809 ppm, CH₃ (18); 14.466 ppm, CH₃ (24); 17.577 ppm, CH₃ (21); 19.400 ppm, CH₃ (19); 21.044 ppm, CH₂-CH₃ (23); 71.750 ppm, CH-OH (3); 127.294 ppm, C=CH₂ (22); 121.631 ppm, C=CH (6); 133.676 ppm, C=CH (5); 140.801 ppm, CH₃-C=CH₂ (20).

EM (IE/GC, m/z): 342, 327, 309, 283, 258, 229.

IV) DERIVADOS DE PROGESTERONA.

Δ^4 -pregnen-20(22)-meifen-3-ona (III_a)

En 40 mL de acetona se disolvieron 0.300 gramos de II_a a 5°C, después se adicionaron 0.25 mL de reactivo de Jones en agitación durante cinco minutos y el exceso de reactivo se destruyó mediante la adición de un par de gotas de IPA. La mezcla de reacción se extrajo de forma usual. El producto crudo se redisolvió en metanol, se calentó a 50-60°C y se agregó KOH (10%) hasta pH 12. Finalmente la mezcla de reacción se extrajo nuevamente y se obtuvieron 87.09 mg de producto (29.03% de rendimiento) como un sólido blanco (p.f.: 143-145°C), después de realizar una cromatografía en columna.

IR (pastilla, KBr; cm⁻¹): 3081.92 d (v C=C); 2952.74-2906.32 i (v C-H sat.); 1666.19 i (C=O conjugado a C=C).

RMN-¹H (CDCl₃): 0.619 ppm, s, 3H (CH₃, 18); 1.107 ppm, s, 3H (CH₃, 19); 1.759 ppm, s, 3H (CH₃-C=C, 21); 4.717, 4.865 ppm, s, 2H (C=CH₂, 22); 5.730 ppm, s, 1H (OC-CH=C, 4).

RMN-¹³C (CDCl₃): 12.745 ppm, CH₃ (18); 17.355 ppm, CH₃ (19); 24.58 ppm, CH₃ (21); 110.902 ppm, CH₂ (22); 123.751 ppm, OC-CH=C (4); 145.285 ppm, -C=CH₂ (20); 171.473 ppm, -C=CH (5); 199.551 ppm, CH-C=O (3).

EM (IE/GC; m/z): 312, 297, 268, 243.

UV (MeOH): λ = 240.13 nm, ε = 19811.26.

Δ^4 -pregnen-20(22)-etilen-3-ona (III₆)

A una disolución de 0.300 gramos de *II_b* en 40 mL de acetona a 5°C, se adicionaron 0.28 mL de reactivo de Jones y se agitó durante cinco minutos. La reacción se detuvo mediante la adición de un par de gotas de IPA. La mezcla de reacción se extrajo de forma usual. El producto crudo se redisolvió en metanol y se elevó la temperatura a 50-60°C; después se adicionó KOH (10%) hasta pH 12. La mezcla se extrajo nuevamente y al purificarse por columna, se obtuvieron 49.01 mg de producto (15.81% de rendimiento) como un sólido blanco (p.f.: 146-150°C).

IR (pastilla, KBr; cm^{-1}): 2926.19-2844.95 i (ν C-H sat.); 1736.48 d (ν C=C); 1665.57 i (C=O conjugado a C=C).

RMN-¹H (CDCl_3): 0.696 ppm, s, 3H (CH_3 , 18); 1.183 ppm, s, 3H (CH_3 , 19); 1.600 ppm, d, ($J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz), 3H ($\text{CH}_3\text{-CH}$, 23); 1.621 ppm, s, 3H ($\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$, 21); 5.267 ppm, cd, ($J_{\text{HH}} = 5.85(1.5)$ Hz), 2H ($\text{C}=\text{CH-CH}_3$, 22); 5.733 ppm, s, 1H ($\text{OC-CH}=\text{C}$, 4).

RMN-¹³C (CDCl_3): 12.933 ppm, CH_3 (18); 13.438 ppm, CH_3 (23); 17.374 ppm, CH_3 (19); 17.515 ppm, CH_3 (21); 119.220 ppm, $\text{OC-CH}=\text{C}$ (4); 123.743 ppm, CH (22); 135.054 ppm, $\text{-C}=\text{CH}_2$ (20); 171.611 ppm, $\text{-C}=\text{CH}$ (5); 199.597 ppm, $\text{CH-C}=\text{O}$ (3).

EM (IE/GC; m/z): 326, 311, 298, 281, 270, 245.

UV (MeOH): $\lambda = 241.07$ nm, $\epsilon = 16076.31$.

Δ^4 -pregnen-20(22)-etilen-3-ona (III'6)

Este compuesto se sintetizó de la misma forma que *III_b*, sólo que el rendimiento de reacción es mayor (30%), por lo que se obtuvieron 90 mg de producto, después de una cromatografía en columna, como un sólido blanco (p.f.: 148-152°C).

La diferencia radica en la diferente relación isomérica (E/Z) que existe, por lo que la espectroscopía es exactamente igual que *III_b*, excepto en la zona donde se definen éstos., es decir, los isómeros.

Δ^4 -pregnen-20(22)-propilen-3-ona (III_c)

Se adicionaron 0.34 mL de reactivo de Jones, a una disolución de 0.300 gramos de *II_c* en 40 mL de acetona y se agitó durante cinco minutos, deteniendo la reacción al adicionar un par de gotas de IPA. La mezcla de reacción se extrajo de forma usual y el producto crudo se redisolvió en metanol. La mezcla de reacción se calentó a 50-60°C, después se adicionó KOH (10%) hasta que el pH fuera de 12. Finalmente la mezcla se extrajo nuevamente y se obtuvieron 88 mg de producto (29.33% de rendimiento) como un sólido blanco (p.f.: 154-157°C).

IR (pastilla, KBr; cm^{-1}): 2932.06-2844.49 i (ν C-H sat.); 1666.63 i (C=O conjugado a C=C).

RMN- ^1H (CDCl_3): 0.579 ppm, s, 3H (CH_3 , 18); 0.955 ppm, t, ($J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz), 3H ($\text{CH}_3\text{-CH}_2$, 24); 1.184 ppm, s, 3H (CH_3 , 19); 1.618 ppm, s, 3H ($\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$, 21); 2.037 ppm, cd, ($J_{\text{HH}} = 7.5(6.9)$ Hz), 3H ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}$, 23); 5.180 ppm, t, ($J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz), 1H ($\text{C}=\text{CH}\text{-CH}_2$, 22); 5.726 ppm, s, 1H ($\text{OC-CH}=\text{C}$, 4).

RMN- ^{13}C (CDCl_3): 12.883 ppm, CH_3 (18); 14.401 ppm, CH_3 (24); 17.363 ppm, CH_3 (19); 17.648 ppm, CH_3 (21); 20.796 ppm, CH_2 (23); 123.705 ppm, $\text{OC-CH}=\text{C}$ (4); 127.477 ppm, CH (22); 133.385 ppm, $\text{-C}=\text{CH}$ (20); 171.565 ppm, $\text{-C}=\text{CH}$ (5); 199.536 ppm, $\text{CH-C}=\text{O}$ (3).

EM (IE/GC; m/z): 340, 325, 296, 269, 245.

UV (MeOH): $\lambda = 241.28$ nm, $\epsilon = 17872.65$.

V) Oxidación con el reactivo de Corey (PDC).

En un matraz de fondo redondo de 100 mL, 1 mmol de *II_c* se disolvió en 26 mL de cloruro de metileno (CH_2Cl_2) y se adicionaron 1.80 mmol de PDC en agitación a temperatura ambiente por aproximadamente ocho horas. La mezcla de reacción se mantuvo en refrigeración por aproximadamente quince días, y después de este tiempo por c.c.f. se observa la conversión del compuesto oxidado Δ^5 -3-hidroxi-pregнено al pregna- Δ^4 ,20(22)-propilen-3,6-diona; *IV_c*.

Oxidación con el reactivo de Swern.

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 mL, con agitación, trampa de humedad, tapón y corriente de nitrógeno, se adicionaron 18.7 mmol de cloruro de oxalilo a 25 mL de CH_2Cl_2 (recién destilado) a una temperatura de -78°C (baño hielo seco-acetona), y después se agregó (con jeringa) una disolución de 23.29 mmol de DMSO (recién destilado de CaH_2) en 5 mL de CH_2Cl_2 .

Después de cinco minutos se adicionó 1 mmol de *II'_b* disuelto en la mínima cantidad de CH_2Cl_2 y DMSO. Finalmente, después de diez minutos se adicionaron 50 mmol de trietilamina.

La mezcla de reacción se dejó en agitación por 15 minutos más hasta alcanzar la temperatura ambiente; se diluyó con agua y se aisló en una extracción líquido-líquido con cloruro de metileno.

La fase orgánica se lavó con HCl (1%), agua, y bisulfito de sodio (5%), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente con ayuda de un rotavapor.

El producto crudo, se redisolvió en metanol y se llevó a pH 12 con KOH (10%) a una temperatura de 50-60°C durante cinco minutos. El medio de reacción se neutralizó con HCl al 10%.

Después de evaporar el metanol y extraer de la forma usual el producto se purificó por cromatografía en columna con una mezcla hexano-acetato de etilo (75:25) y se obtuvieron 147.1 mg de producto (49.03% de rendimiento).

Capítulo VI

REFERENCIAS

- 1) Berliner, D. L., Monti-Bloch, L. Jennings-White C., Adams N.W., Bondani A., Leong, G. F. *Pharmaceutical News*, **4**, 1, 1997, 7-10.
- 2) Berliner, D. L. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **58**, 1, 1996, 1-2.
- 3) Moran, D. T., Jafek, B. W., Rowley, J. C. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **39**, 4B, 1991, 542-552.
- 4) Stensaas, L. J., Lavker, R. M., Monti-Bloch, L., Grosser, B. I., Berliner, D. L., *J. Steroid Biochem. Molec. Boil.* **39**, 4B, 1991, 553-560.
- 5) Monti-Bloch, L., Díaz-Sánchez, V., Jennings-White, C., Berliner, D. L., *J. Steroid Biochem. Molec. Boil.* **65**, 1-6, 1998, 237-242.
- 6) Herrada, G., Dulac, C. *Cell.* **90**, 1997, 763-773.
- 7) Mc. Clintock, M. K. *Nature.* **291**, 1971, 244-245.
- 8) Gower, D. B., Ruparelia, B. A. *J. Endocrinol.* **13**, 1993, 167-187.
- 9) Lehninger, Albert L. *Bioquímica*. 2ª. Edición. Omega. Barcelona, 1985.
- 10) Kishi Y. *Pure App. Chem.* **61**. 1989, 313.
- 11) Barton, Campos-Neves, Cookson. *J. Chem. Soc.*, 1956, 3500.
- 12) Bowden, K., Heilbron, I. M., Jones, E. R. H., *J. Chem. Soc.* **39**, 1946.
- 13) Corey, E. J., Schmidt, G. *Tetrahedron Letters.* **5**, 1979, 399-402.

- 14) Maercker, A. *Organic Reactions*. Vol. 14. Chapter 3. Wiley Sons, N. Y., 1979.
- 15) Corey, E. J., Chaykovsky, M., *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1962, 866-867.
- 16) Schmit, J. P., Piraux, M., Pilette, J. F., *J. Org. Chem.*, **40**, 11, 1975, 1586-1588.
- 17) Djerassi C., Engle, R. R., Bowers, A. *J. Org. Chem.* **21**, 1956, 1547-1549.
- 18) March, J. *Advanced Organic Chemistry*. 3rd. Edition. John Wiley & Sons. N. Y., 1985.
- 19) Mancuso, A. J., Huang, S-L., Swern, D. *J. Org. Chem.*, **43**, 12, 1978, 2480-2482.
- 20) García de la Mora, G. Resultados no publicados.
- 21) Collins, J. C. *Tetrahedron Letters*. **30**, 1968, 3363-3366.
- 22) Morrison, R. y Boyd R. *Química Orgánica*. 3^{ra}. Edición. Fondo Educativo Interamericano. USA, 1976.
- 23) Omura, K., Swern D. *Tetrahedron*. **34**, 1978, 1651-1660.
- 24) Pretsch, E., Bühlmann, P., Affolter, C. *Structure Determination of Organic Compounds*. 3rd. Edition. Springer Verlag. N. Y., 2000.