



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE BIS-DERIVADOS DE ESTRADIOL
PARA DETERMINAR SU POSIBLE ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA
COMO AGENTES HIPOCOLESTEREMIANTES, ANTIANGIÓGENICOS
E INMUNOESTIMULANTES**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA:

RICARDO GONZÁLEZ LUNA

DIRECTOR DE TESIS

FERNANDO LEÓN CEDEÑO



CD. UNIVERSITARIA, CD. MX., AÑO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Fernando León Cedeño**

VOCAL: **Profesor: Ana Adela Sánchez Mendoza**

SECRETARIO: **Profesor José Gustavo: Ávila Zárraga**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Jacinto Eduardo Mendoza Pérez**

2° SUPLENTE: **Profesor: Noé Zúñiga Villarreal**

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN:

LABORATORIO 203 DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA: DR. FERNANDO LEÓN CEDEÑO

SUPERVISOR TÉCNICO: DRA. MARTHA MENES ARZATE

SUSTENTANTE: RICARDO GONZÁLEZ LUNA

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
1.1.Fundamentos básicos.....	1
1.2.Biosíntesis y mecanismo de acción.....	4
1.3.Metabolismo.....	8
1.4.Actividad farmacológica de metabolitos de hormonas.....	9
2. Antecedentes.....	14
2.1.Protección del grupo fenol.....	14
2.2.Bromación de anillo aromático.....	16
2.3.Formación de enlaces éter arilo-arilo.....	17
2.3.1. Büchwald-Hartwig	19
2.3.2. Ullmann.....	22
2.3.3. Cham-Lam-Evans.....	26
3. Objetivos.....	27
4. Hipótesis.....	27
5. Metodología.....	28
6. Resultados y discusión.....	31
6.1.3-metoxiestradiol.....	31
6.2.2-bromo-3-metoxiestradiol.....	36
6.3.4-bromo-3-metoxiestradiol.....	40
6.4.2-O-estradiol-3-metoxiestradiol.....	42
6.5.2-O-estronil-3-metoxiestradiol.....	56

6.6.4-O-estradiol-3-metoxiestradiol.....	59
7. Procedimiento experimental.....	63
8. Conclusiones.....	70
9. Perspectivas.....	71
10.Referencias.....	72
11.Anexos.....	76
11.1. Espectros de IR.....	77
11.2. Espectros de RMN.....	81
11.3. Espectro de masas.....	96
11.4. Visualización de moléculas.....	97

ÍNDICE DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

IR	Infrarrojo (espectro de)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
ER	Receptor de estrógeno
NADP ⁺ /NADPH	Nicotinoamida adenina dinucleótido fosfato
COMT	Catecol-O-metil transferasa
CYP	Citocromo
DMF	N, N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DME	1,2-dimetoxietano
Et ₂ O	Éter dietílico
NBS	N-bromo succinimida
OAc	Ion acetato
dba	Dibenzalacetona
Ar	Arilo
Nu	Nucleófilo
X	Halógeno
Me	Metilo
a.	alta
m.	media
b.	baja

INTRODUCCIÓN

Las hormonas son moléculas biológicamente activas que son liberadas en el torrente sanguíneo, el cual a su vez las transporta hacia su célula blanco o diana, y esta a su vez contiene el receptor específico para dicha hormona.¹

Los órganos que producen dichas hormonas son parte del sistema endócrino (la glándula pituitaria, el hipotálamo, el timo, la tiroides, la corteza adrenal, los testículos y los ovarios) aunque tengan otra función adicional (corazón, hígado, tejido adiposo y riñones).

Las hormonas se pueden clasificar de acuerdo con su estructura química en:

- **Aminas:** Derivadas de los aminoácidos tirosina y triptófano. Por ejemplo, la adrenalina o epinefrina es una hormona relacionada con la respuesta del organismo ante situaciones de alto estrés, (incremento del flujo sanguíneo, hacia los músculos, ritmo cardiaco, nivel de glucosa en sangre, etc.). También es un neurotransmisor del sistema nervioso.

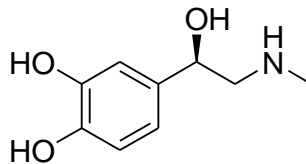


Figura 1. Estructura de la adrenalina

- **Polipéptidos y proteínas:** Los polipéptidos son cadenas que contienen menos de 100 aminoácidos, mientras que las proteínas contienen más de 100. Por ejemplo, una de las hormonas más conocidas es la insulina. Cuando la concentración de glucosa en sangre es alta, células especializadas en el páncreas, los islotes de Langerhans secretan insulina que estimula la síntesis de glucógeno e inhibe su degradación en el hígado y músculos, lo cual permite disminuir los niveles de glucosa en la sangre.²

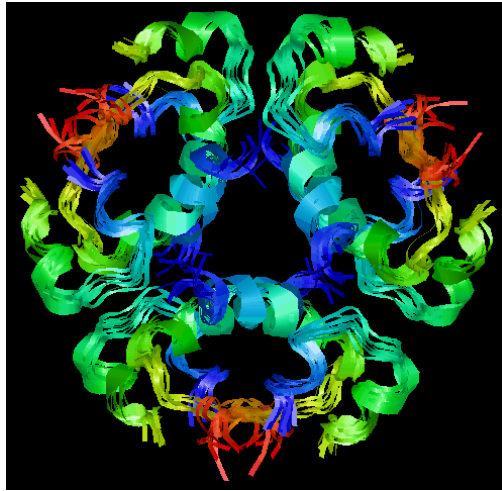


Figura 2. Estructura del hexámero de insulina³

- Glucoproteínas: Consisten en una proteína unida a uno o varios carbohidratos. Los ejemplos más relevantes son la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), que son responsables del desarrollo de las gónadas en ambos sexos.

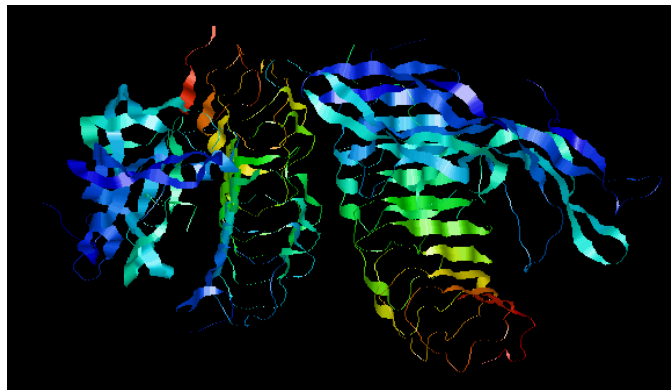


Figura 3. Estructura de la hormona FSH⁴

- Esteroides: Son lípidos derivados del colesterol, los cuales incluyen a las hormonas testosterona, progesterona, aldosterona, cortisol y **estradiol**. El cortisol es la hormona predominante en humanos de un grupo de hormonas llamados glucocorticoides. Sus efectos sobre el metabolismo son: estimular la gluconeogénesis, inhibir el uso de la glucosa para incrementar su nivel en sangre y estimular la lipólisis.

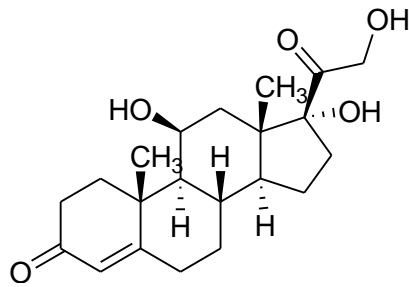
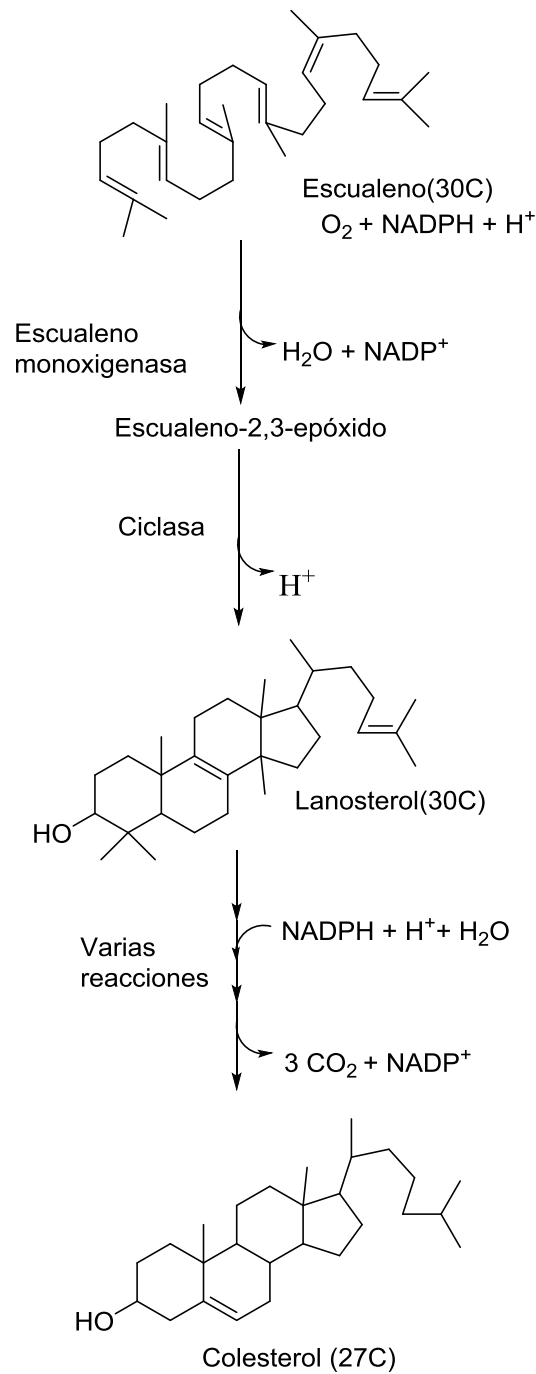


Figura 4. Estructura del cortisol

Las hormonas esteroideas son secretadas únicamente por dos glándulas del sistema endócrino: la corteza adrenal y las gónadas. Las gónadas secretan las hormonas sexuales, mientras que la corteza adrenal secreta corticosteroides (derivados del cortisol) y una pequeña cantidad de las hormonas sexuales.

En los seres vivos, el colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas y se biosintetiza a partir del escualeno, mediante un proceso de ciclación que comprende varios pasos:

- 1) La formación de cuatro anillos.
- 2) El desplazamiento de grupos metilo.
- 3) La saturación de las dobles ligaduras, se forma el lanosterol
- 4) El lanosterol pierde tres grupos metilo, los cuales se eliminan como CO_2 .
- 5) La saturación del doble enlace en la cadena lateral.
- 6) Finalmente con el desplazamiento del doble enlace en la posición 8,9 a la posición 5,6 se forma el colesterol, esquema 1.⁵



Esquema 1. Biosíntesis del colesterol

Las hormonas esteroideas o estrógenos regulan varios procesos fisiológicos como el crecimiento, la reproducción, el desarrollo y la diferenciación celular. Su estructura química base se deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno que tiene 4 anillos denominados A, B, C y D. La convención utilizada para designar la posición de sustituyentes en los anillos se presenta a continuación.

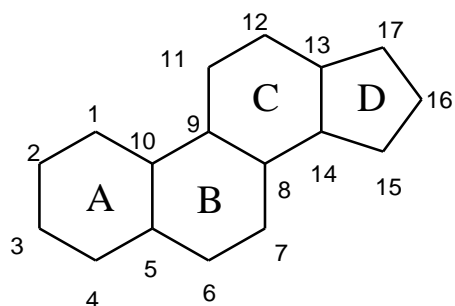


Figura 5. Numeración del ciclo pentanoperhidrofenantreno

Los principales estrógenos que circulan en el cuerpo humano son el 17- β -estradiol y la estrona, así como el 16 α -hidroxiestradiol, el cual también se conoce como estriol, Figura 6. El estradiol es el estrógeno más activo; este se produce en las células foliculares de los ovarios, reguladas por la hormona folículo estimulante (FHS). En los hombres y mujeres postmenopáusicas, la principal fuente de estradiol es la conversión local de testosterona y androstendiona en estradiol por la enzima aromatasa del citocromo P450.⁶

La estrona se transforma reversiblemente en estradiol por la acción de la enzima 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa; el estriol es el estrógeno predominante en las mujeres embarazadas y es el que se encuentra en mayor cantidad en la orina de todas las mujeres.

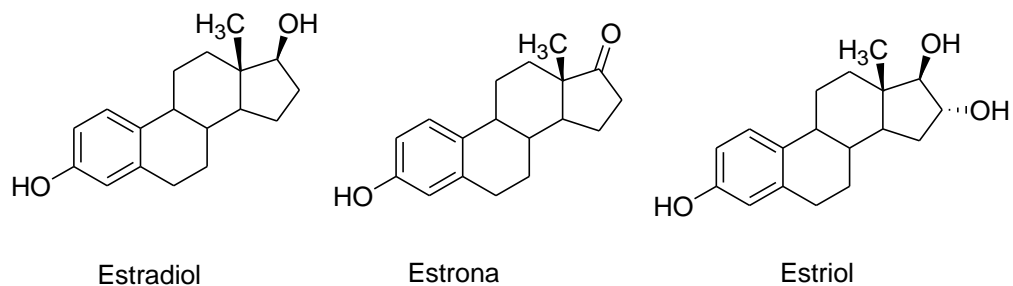
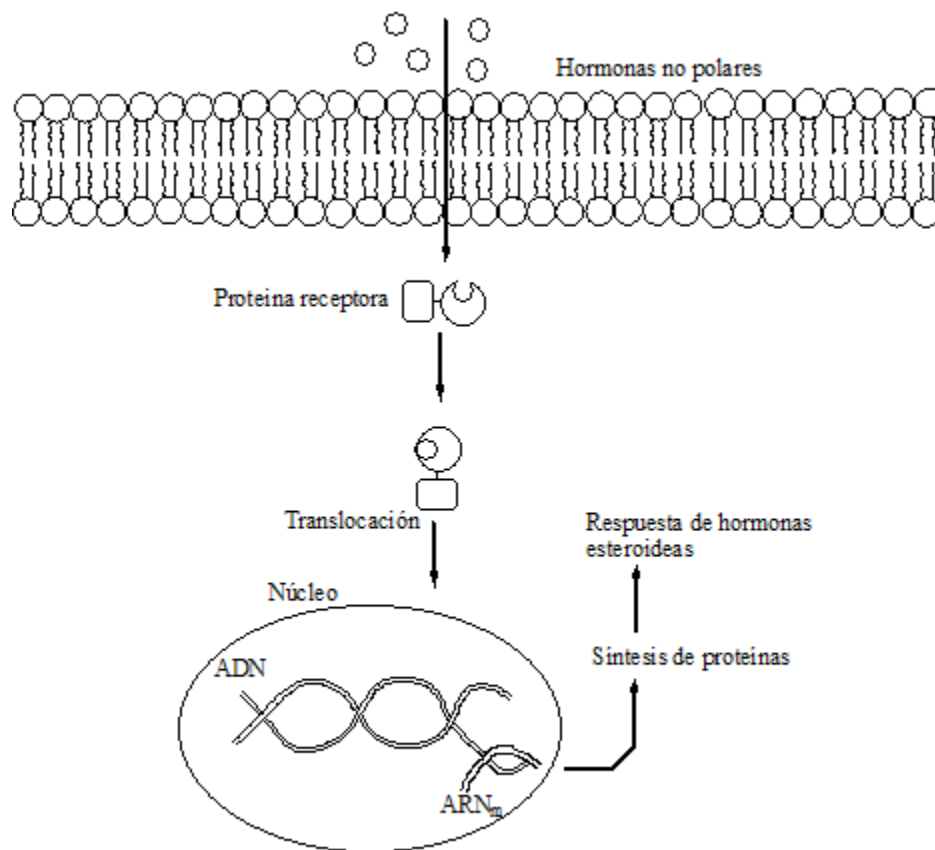


Figura 6. Estructuras de los principales estrógenos.

Los estrógenos promueven su actividad fisiológica después de unirse a sus receptores estrogénicos (ER), de los cuales hay dos subtipos: α y β . Los receptores ER α se expresan principalmente en el hueso, órganos reproductivos, riñones, hígado y tejido adiposo blanco; mientras que el receptor ER β se expresan en la próstata, ovarios, vejiga, útero y sistema nervioso central.⁷

Estos receptores pertenecen a la familia de receptores nucleares activados por ligando. La actividad biológica de los estrógenos se presenta cuando el ligando se une a su receptor para formar un complejo receptor-ligando que a su vez forma un homodímero con otro complejo receptor-ligando; posteriormente este activa la transcripción de ciertos genes que contienen los elementos de respuesta del estrógeno.⁵



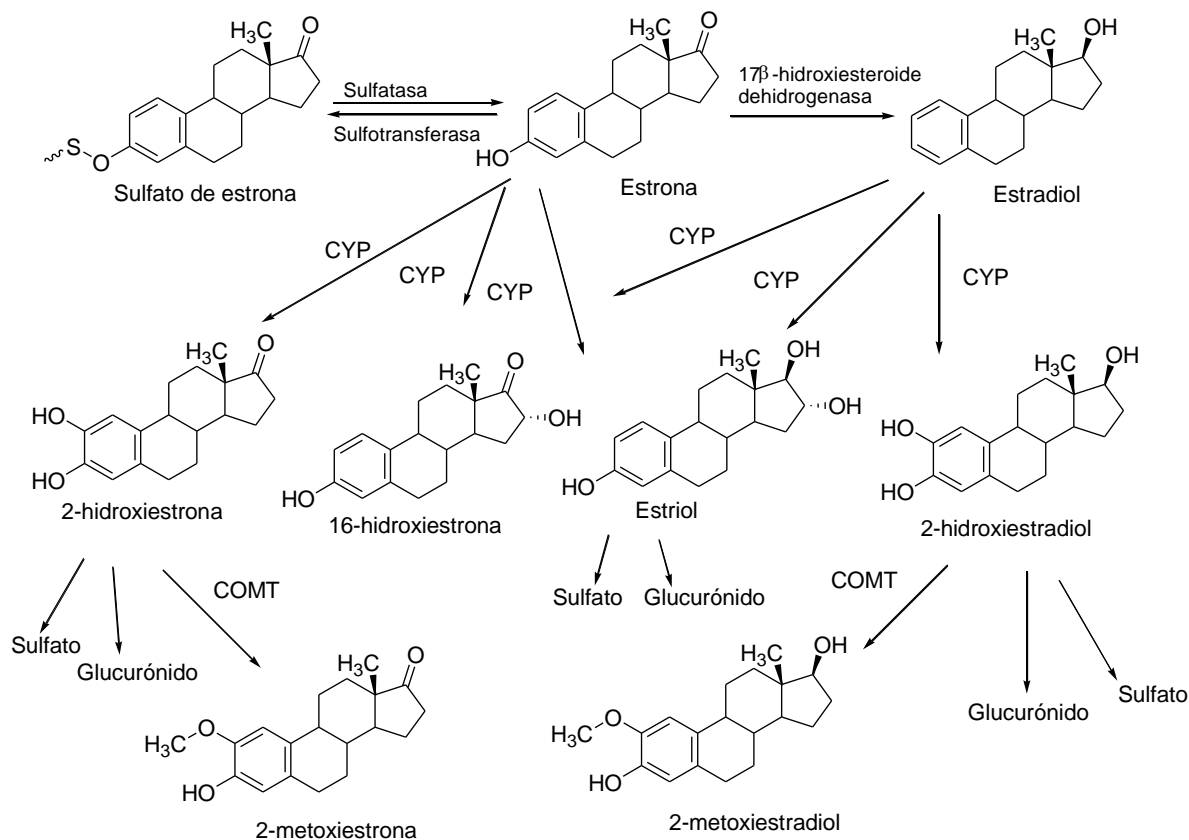
Esquema 2. Mecanismo de acción simplificado de hormonas esteroideas, adaptado de Fox⁹

Los estrógenos también pueden ejercer sus efectos por una vía de señalización no genómica a través de receptores de membrana, que están regulados por moléculas de señalización como proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK) y proteínas quinasas A y C.

El estradiol es removido del torrente sanguíneo por inactivación metabólica mediante biotransformaciones. Dichas conversiones de estradiol en metabolitos

inactivos ocurren principalmente en el hígado, pero también se llevan a cabo en otros órganos como útero, senos, placenta, oviductos y cerebro.¹⁰

Tanto el estradiol como la estrona son metabolizados por 3 vías competitivas que involucran una hidroxilación reductiva, catalizada por enzimas del citocromo P450 dependientes de NADPH: CYP1A1, CYP1B1 y CYP1A2.



Esquema 3. Metabolismo de hormonas, adaptado de Samavat⁶ y colaboradores

Dichas hidroxilaciones ocurren en las posiciones C2, C4 y C16 que convierten a la estrona y al estradiol en estrógenos tipo catecol (2-hidroxiestrona, 4-hidroxiestrona, 2-hidroxiestradiol y 4-hidroxiestradiol) además de la 16α-hidroxiestrona. El 16α-hidroxiestradiol, como ya se dijo antes es un caso especial ya que se trata del estriol.

Posteriormente, la ruta metabólica continúa con la metilación para formar metoxiestrógenos por la enzima catecol-O-metil transferasa (COMT). Además de la metilación, los estrógenos y sus derivados hidroxilados también pueden sufrir conjugación con el ácido glucurónico y sulfato, por medio de enzimas hepáticas fase II que incluyen UDP-glucuronosil transferasas y sulfatotransferasas.

Finalmente, las hormonas que siguen la ruta metabólica de conjugación se vuelven solubles en agua para ser excretadas en orina o heces, como se muestra en el ejemplo 1 de la figura 7, mientras que aquellas que continúan en la ruta metabólica de metilación se vuelven unidades más lipofílicas que tienen elevados tiempos de vida media, como se muestra en el ejemplo 2 de la misma figura.

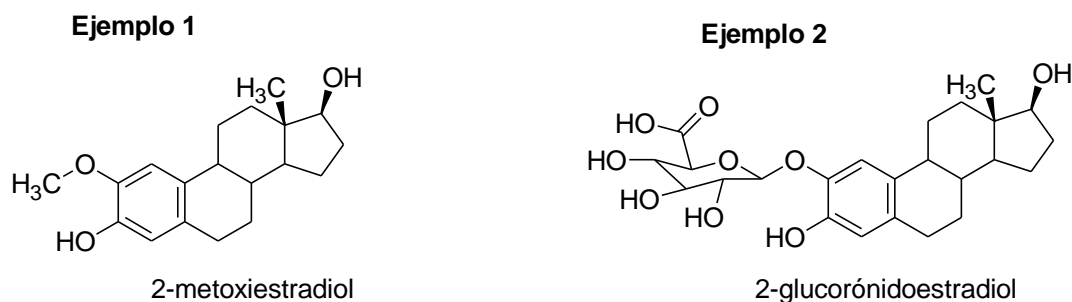


Figura 7. Ejemplos de productos finales del metabolismo de estradiol

Estos metabolitos han demostrado tener una potencia hormonal reducida cuando se comparan con el estradiol, tanto si se refiere a actividad no estrogénica como anti estrogénica. A continuación, se describen brevemente algunos de los efectos reportados.

16 α -Hidroxiestrona

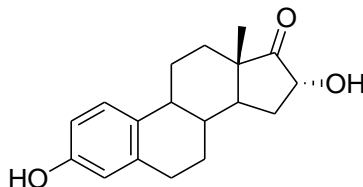


Figura 8. 16 α -hidroxiestrona

Las cantidades relativas de 16 α -hidroxiestrona y estriol excretadas en la orina son aproximadamente iguales, lo que sugiere que ambos son productos terminales del metabolismo humano de estrógenos¹¹. Su actividad estrogénica, se determina con base en el incremento de peso del útero de ratas ovariectomizadas, siendo la de la 16 α -hidroxiestrona más potente que la del propio estradiol.¹²

Estudios de metabolismo de estrógenos en ratones mostraron que, en aquellos especímenes con un alto riesgo de carcinoma mamario, la hidroxilación en la posición 16 se incrementó notablemente comparados con ratones que tenían un

riesgo bajo de desarrollar carcinoma mamario.¹³ Notablemente, en este mismo estudio la hidroxilación en posición 2 no mostro diferencia alguna entre individuos de bajo o alto riesgo.

Estriol (16 α -hidroxiestradiol)

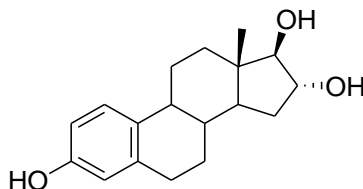


Figura 9. Estriol

Como ya se había mencionado, el estriol es el otro producto final del metabolismo de estradiol. A diferencia de la 16 α -hidroxiestrone, su efecto estrogénico es bajo comparado con el del estradiol. Se ha determinado que este bajo efecto es debido a la baja vida media de unión al receptor estrogénico¹⁴.

Se ha comprobado que los estrógenos en altas concentraciones farmacológicas poseen actividad inhibitoria tumoral. Un estudio *in vitro* en un receptor de estrógenos positivo y otro receptor de estrógenos negativos de células de cáncer de seno, usando altas dosis de estrógenos, revelaron que poseen actividad antiproliferativa tanto el estradiol, como el estriol.¹⁵

4-hidroxiestrone y 4-hidroxiestradiol

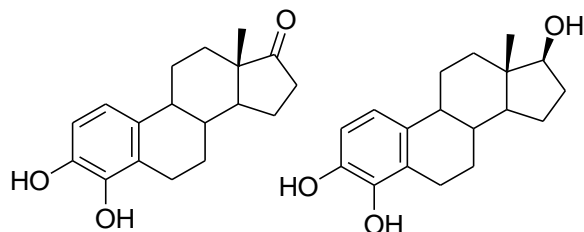


Figura 10. 4-hidroxiestrone y 4-hidroxiestradiol

Ambos metabolitos se han detectado en bajas concentraciones en la sangre humana y conservan la actividad estrogénica.¹⁶

En modelos tumorales con roedores, se lograron inducir efectos carcinogénicos con estos dos compuestos. Esto se puede explicar debido a que los 4-hidroxi estrógenos son relativamente inestables, ya que se pueden transformar, pasando por la formación de semiquinonas, a quinonas que son altamente reactivas. Estas, por medio de ciclos redox pueden inducir la formación de radicales libres de oxígeno, los cuales, es bien sabido que tienen efectos nocivos sobre el ADN.¹⁷

2-hidroxiestrona

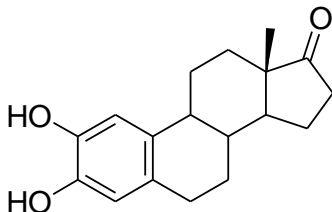


Figura 11. 2-Hidroxiestrona

Los productos de hidroxilación en la posición 2 son los productos mayoritarios del metabolismo, comparados con los productos obtenidos al llevarse a cabo la hidroxilación en las posiciones 4 y 16. La 2-hidroxiestrona es metabolizada más rápido que otros estrógenos en la sangre.¹⁸

La actividad biológica de las formas metilada y no metilada ejercen su efecto antiproliferativo en zonas distintas: la 2-hidroxiestrona inhibe una línea celular de cáncer de seno¹⁹ mientras que la 2-metoxiestrona lo hace en células vasculares endoteliales²⁰.

2-hidroxiestradiol

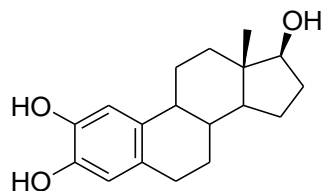


Figura 12. 2-hidroxiestradiol

Al igual que la 2-hidroxiestrona, el 2-hidroxiestradiol posee una muy baja afinidad por el receptor de estrógenos (ER). La potencia hormonal de estos metabolitos

comparados con el estradiol es reducida, y posee actividad no estrogénica y antiestrogénica.²¹

No presenta actividad cancerígena ya que tienen un alto grado de eliminación, es decir, el cuerpo elimina de manera significativa este estrógeno del cuerpo a través de un índice más rápido de O-metilación por la enzima COMT y la antes mencionada potencia estrogénica reducida.²²

2-metoxiestradiol

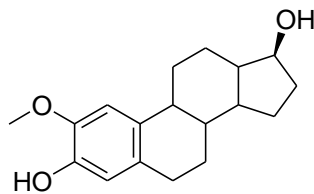


Figura 13. 2-metoxiestradiol

La forma metilada del 2-hidroxiestradiol, tiene una variedad de efectos documentados más ampliamente^{10,20,23,24}

- *Actividad anti proliferativa:* En la mayor parte de las células tratadas con 2-metoxiestradiol, los resultados mostraron detención del ciclo celular en el punto G1 como resultado de la inhibición de la síntesis de ADN.

En las demás células, la detención del ciclo celular en el punto G2/M fue causado debido a que el 2-metoxiestradiol actúa sobre la formación de microtúbulos por interacción directa con la proteína de tubulina durante las fases de nucleación y propagación.

- *Actividad apoptótica:* En células endoteliales de aorta pulmonar bovina, se observó la inducción de apoptosis por la activación de quinasas (JNK) y un incremento en la expresión de varios receptores (Fas y Bcl-2).

En células tumorales de la próstata es por una vía de quinasas p38 dependiente de mitógeno.

En células leucémicas es por medio de una vía independiente del gen p53, posiblemente por inhibición de la enzima superóxido dismutasa, lo cual genera estrés oxidativo.

En células carcinogénicas más grandes, la vía apoptótica es dependiente del gen p53.

Cabe hacer notar que la actividad apoptótica del 2-metoxiestradiol no ocurre en células mamarias epiteliales normales o células endoteliales inactivas, solamente en células tumorales y células endoteliales activas.

- *Actividad anti angiogénica:* ha sido verificada *in vivo* por administración oral de este en ratones. Se observó que esta suprimió el crecimiento de tumores e inhibió la neovascularización.

Como se puede ver, los metabolitos derivados de estrógenos pueden tener una variedad de efectos en el cuerpo humano, independientes de los estrógenos más abundantes (estradiol y estrona) por lo que es necesario profundizar en su estudio.

ANTECEDENTES

Debido a la baja cantidad de esteroides presentes en los organismos vivos y a la relativa dificultad que presenta el aislar e identificar dichos esteroides para estudios más exhaustivos de su actividad biológica, se propone una ruta sintética para obtener dichos compuestos en cantidades que permitan llevar a cabo dichos estudios. A continuación, se presentan algunas de las reacciones necesarias para llevar a cabo su síntesis.

REACCION DE PROTECCION DE GRUPO FENOL

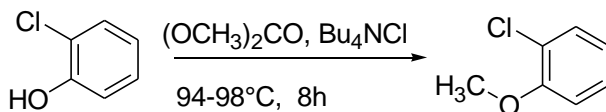
El grupo protector de uso más común para los fenoles son los éteres de alcoholes sencillos, que además tienen la ventaja de ser removidos con facilidad. Los ésteres también son grupos protectores utilizados, pero su uso está severamente limitado debido a su inestabilidad relativa frente a la hidrólisis por ácidos o bases.²⁵

Por las condiciones necesarias para llevar a cabo la remoción del grupo con relativa facilidad en una reacción posterior, por medio de una ruptura con catálisis ácida, el único grupo protector que se consideró utilizar en este trabajo fue un éter metílico.

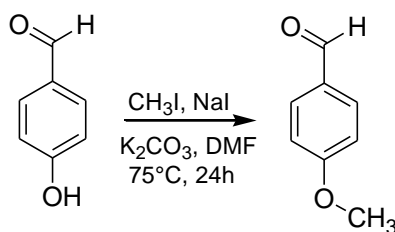
- Reacción de protección con grupo metilo^{26,27,28}



Esquema 4. Metilación con sulfato de dimetilo



Esquema 5. Metilación con carbonato de metilo



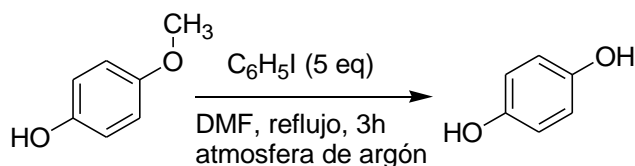
Esquema 6. Metilación con yoduro de metilo

Debido a que el yoduro de metilo es más sencillo de manipular y ya se encontraba purificado en el laboratorio se decidió probar este método.

REACCION DE DESPROTECCION

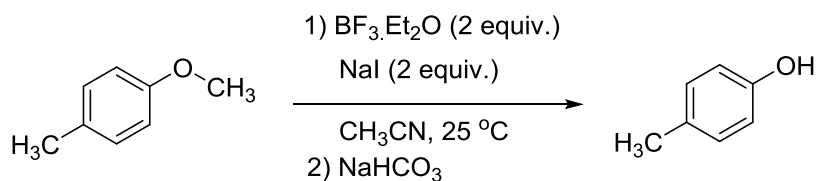
Usualmente se requieren condiciones drásticas ácidas o básicas fuertes, metales alcalinos y agentes oxidantes o reductores fuertes que frecuentemente producen reacciones secundarias indeseables o rendimientos de reacción bajos.

A continuación, se presentan algunos ejemplos que emplean condiciones menos drásticas:



Esquema 7. Desprotección por un yodoalcano

Cabe hacer notar que el rendimiento de esta reacción depende en gran medida del disolvente utilizado, ya que la basicidad del disolvente debe de ser la adecuada para facilitar la generación del ácido yodhídrico a partir del derivado halogenado, aunque la suficiente para neutralizar el ácido generado.²⁹

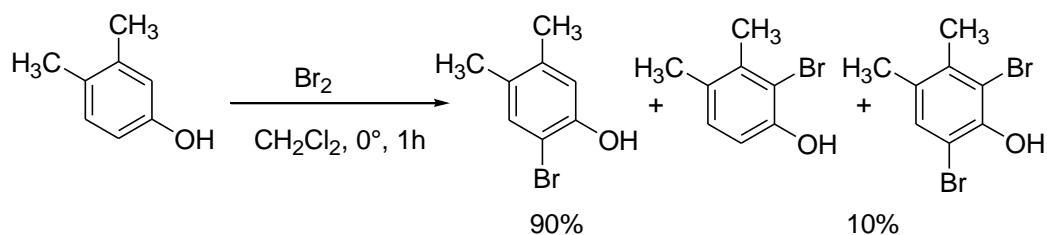


Esquema 8. Ruptura empleando NaI en presencia de BF₃

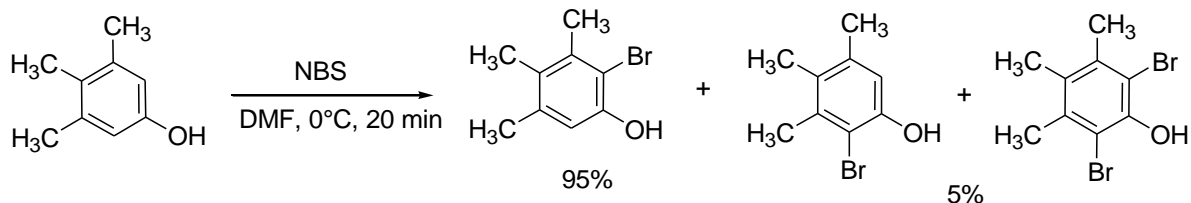
Para este método de desprotección, la reactividad observada, considerando los tiempos de reacción y rendimientos, es la siguiente: carbono 3° > 2° > 1°, aromático.³⁰

REACCION DE HALOGENACION (S_EAr)

En este tipo de reacciones, el principal reto es obtener el producto monohalogenado, o bien, si se llegan a formar varios productos, que estos se puedan separar de manera fácil y rápida^{31,32}.



Esquema 9. Bromación con Br₂ molecular

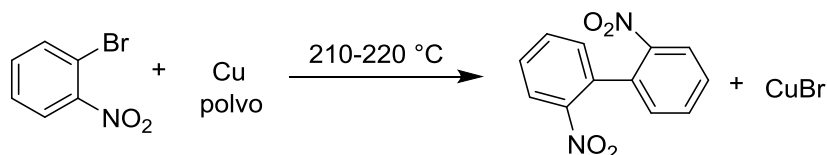


Esquema 10. Bromación con NBS

Si bien ambas reacciones tienen rendimientos similares con condiciones similares incluidos los sustratos, la reacción con NBS tiene una clara ventaja en este caso sobre la que usa bromo elemental, ya que la reacción es más rápida y la separación de los productos es más fácil en esta, ya que el subproducto, la succinimida, se elimina con facilidad a través de lavados acuosos de los cristales de producto obtenidos.³³

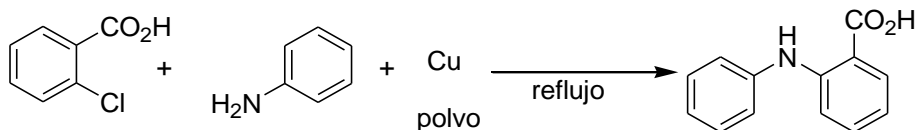
REACCION DE FORMACION DE ENLACE ÉTER ARILO-ARILO

La actividad catalítica del cobre para reacciones de acoplamiento fue reportada por Fritz Ullmann en 1901.³⁴

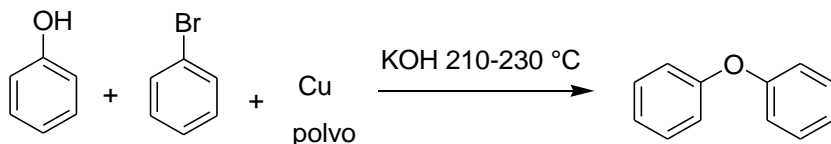


Esquema 11. Reacción original de Ullmann

Entre las reacciones de acoplamiento empleando cobre como catalizador, se encontró que varios haluros de arilo reaccionaron con aminas para formar diaril aminas (esquema 12),³⁵ así como con fenoles para formar éteres diarilo (esquema 13).³⁶



Esquema 12. Reacción de Ullmann para formar diaril aminas



Esquema 13. Reacción de Ullmann para formar diaril éteres

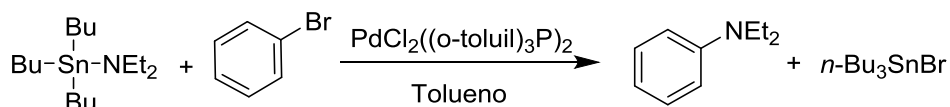
Posteriormente Irma Goldberg publicó sus propios resultados de manera independiente usando cantidades catalíticas de cobre.³⁷



Esquema 14. Reacción original de Goldberg

Sin embargo, debido a la necesidad de utilizar altas temperaturas que eran incompatibles con muchos reactivos, así como tiempos de reacción largos y el empleo de cantidades estequiométricas de cobre, la reacción tenía poca utilidad en síntesis orgánica.

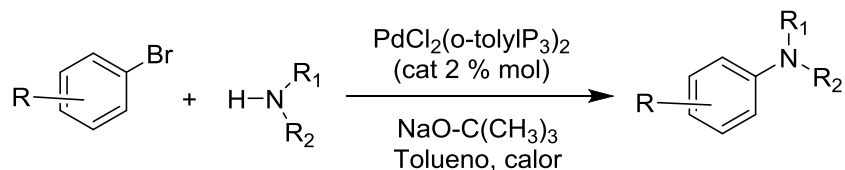
El grupo de Migita reportó la reacción de bromuros de arilo con reactivos de estaño en presencia de un complejo de paladio/fosfina para formar aril aminas.³⁸



Esquema 15. Reacción reportada por Migita

Esta reacción, a diferencia de la de Ulmann, no requiere altas temperaturas y se pueden utilizar cantidades catalíticas de los complejos de paladio. Desafortunadamente, debido a la toxicidad de los reactivos de estaño, esta reacción no tuvo gran impacto.

El grupo de Büchwald y Hartwig logró eliminar el uso de los reactivos de estaño, que eran esenciales en el paso de transmetalación, mediante el uso apropiado de una base³⁹.



Esquema 16. Reacción reportada por Büchwald y Hartwig

Naturalmente esta reacción se puede aplicar a la formación de éteres diarilo simplemente remplazando las aminas por fenoles y usando la base adecuada. Compuestos como Pd (PPh₃)₄, Pd (II)/PPh₃ (exceso) y complejos con arilfosfinas son los catalizadores de uso más común, para las reacciones de acoplamiento ya que estos ligandos han sido capaces de estabilizar a la especie Pd (0).

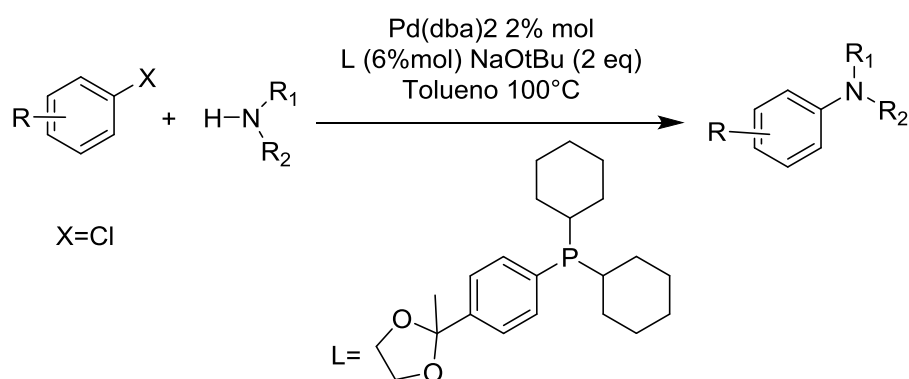
El problema de utilizar fosfinas como ligandos es su sensibilidad al oxígeno y la humedad, por lo que se pueden oxidar, y esta reacción es una gran limitante para su aplicación a escala industrial.

Los ligandos que se emplean en esta reacción deben de cumplir dos requisitos:

- 1) Estos no deben de formar enlaces muy fuertes con Pd (0) ya que el ciclo catalítico se bloquea disminuyendo eventualmente la actividad catalítica
- 2) Si los enlaces del ligando con el Pd (0) son muy débiles, el complejo se vuelve inestable y se descompone para dar “paladio negro”, que es catalíticamente inactivo para esta reacción.

A continuación, se muestran algunos ejemplos de sistemas catalíticos que tratan de superar las desventajas que presentan las fosfinas convencionales:

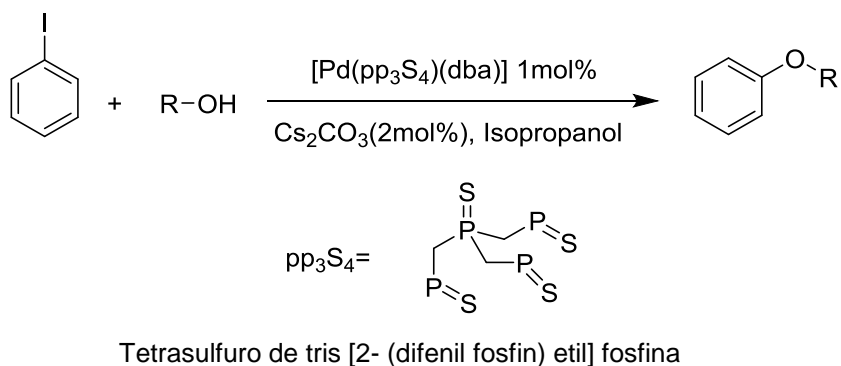
- 1) Derivados de fosfina voluminosos⁴⁰



Diciclohexil 4-metil-1,3-dioxaloano fenil fosfina

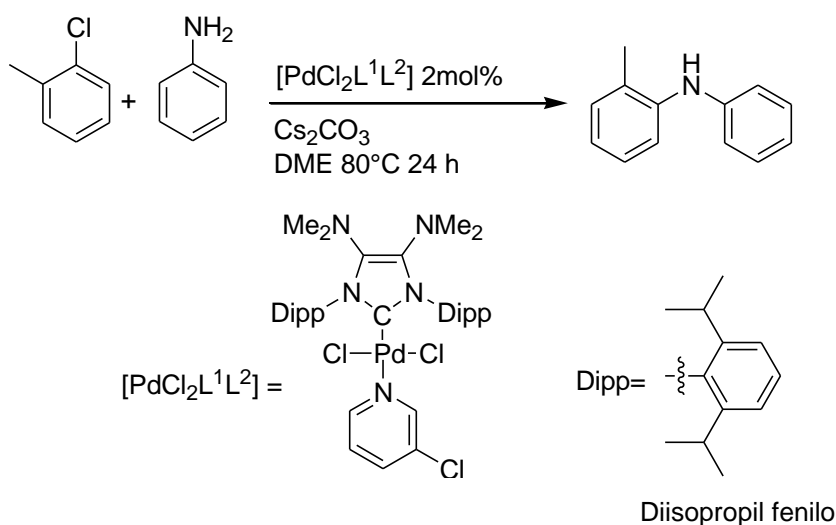
Esquema 17. Ejemplo de derivados de fosfina con sustituyentes voluminosos

2) Derivados azufrados de fosfinas⁴¹



Esquema 18. Ejemplo de derivado de fosfina con azufre

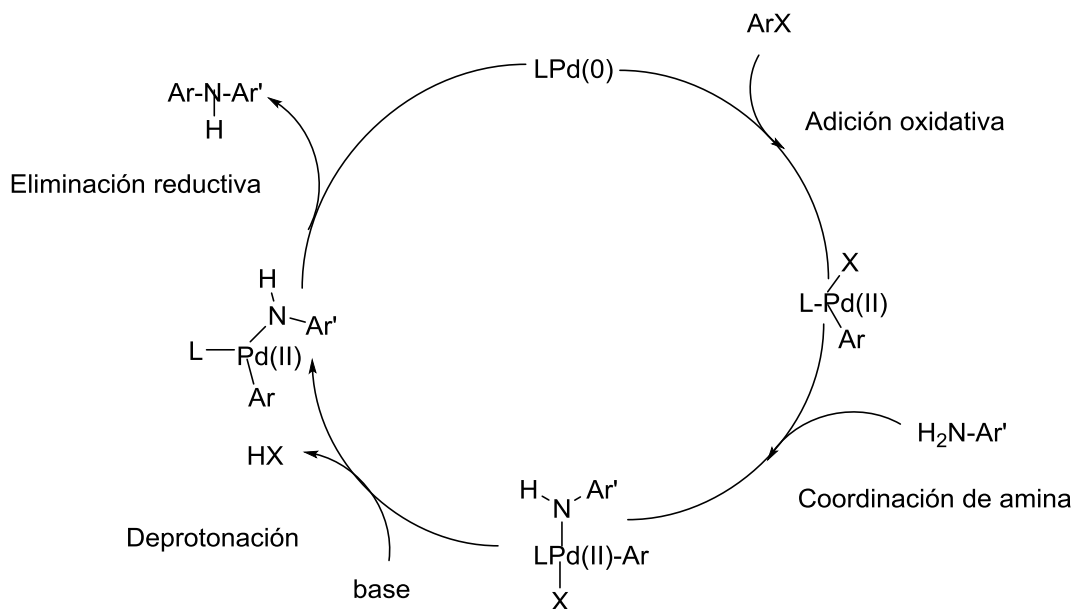
3) Complejos con carbenos N-heterocíclicos⁴²



Esquema 19. Ejemplo de derivado de fosfina con ligando carbeno N-heterocíclico

El mecanismo de reacción probable, reportado en la literatura para la formación de aril aminas o aril éteres, se presenta a continuación el cual como se puede observar utiliza cantidades catalíticas de paladio, debido a que esta especie se regenera:⁴³ Adición oxidativa de un haluro de arilo (ArX) sobre un complejo Pd(0) para obtener el complejo [LPd(II)(Ar)X], el cual sufre transmetalación en la amina o fenol del complejo coordinado con dicha amina o fenol, para dar lugar al complejo [LPd(II)(Ar)(N-Ar')] o [LPd(II)(Ar)(O-Ar')] en presencia de una base. La subsecuente

eliminación reductiva de la N-aryl amina o el éter di arílico para volver a regenerar el complejo catalítico LPd (0).

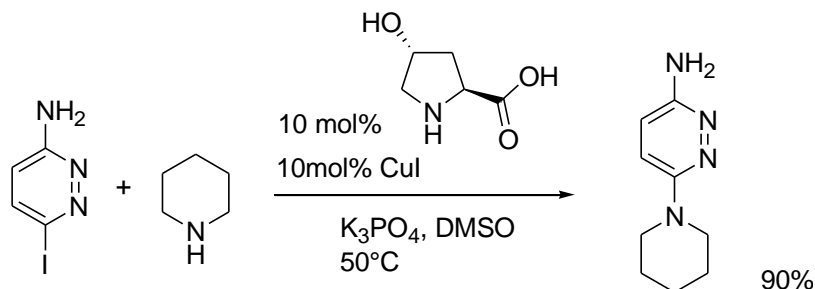


Esquema 20. Mecanismo de la reacción de Buchwald-Hartwig para la formación de aminas

Estudios anteriores⁴⁴ para determinar el mecanismo de la reacción, sugieren que el paso determinante de la rapidez de reacción es la eliminación reductiva y la idea de utilizar ligandos voluminosos es para que desestabilicen el estado basal del complejo [LPd(II)(Ar)(N-Ar')] forzando a que el grupo arilo(Ar) y al grupo amino, en este caso (N-Ar'), se acerquen por medio de una distorsión del estado de transición.

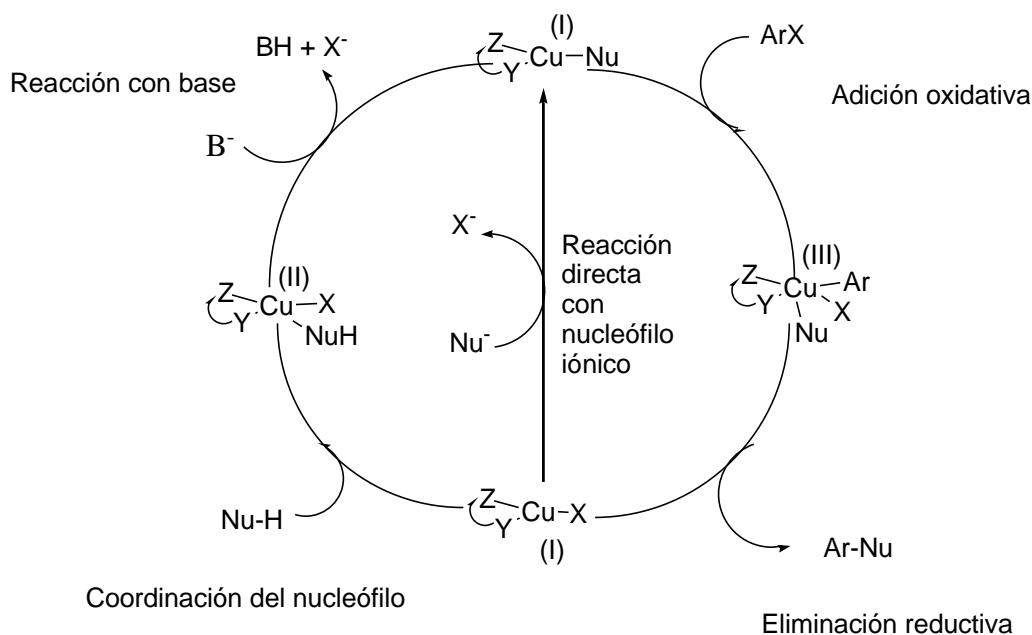
Sin embargo, hay varios inconvenientes que limitan su uso extendido: la sensibilidad a la humedad de los catalizadores, así como el alto costo de estos mismos, además de la toxicidad ambiental. Estos es de particular importancia en la industria farmacéutica, en la cual la contaminación por metales representa un serio problema, ya que el catalizador por lo general está en la misma fase que los reactivos y productos.

Esto último ha provocado un renovado interés en la reacción de Ullmann que se benefició del descubrimiento de ciertos ligandos bidentados que eran capaces de mejorar los tiempos de reacción y disminuir la carga catalítica, así como la temperatura necesaria para que se lleve a cabo la reacción.



Esquema 21. Ejemplo de una reacción de Ullman catalizada

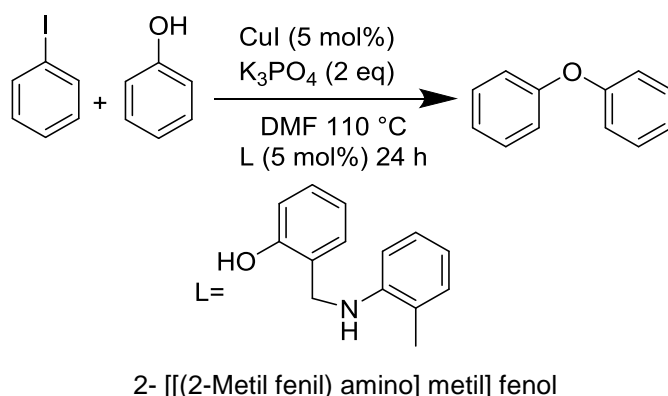
A continuación, se presenta el ciclo catalítico propuesto para la reacción de Ullmann catalizada con cobre:⁴⁵



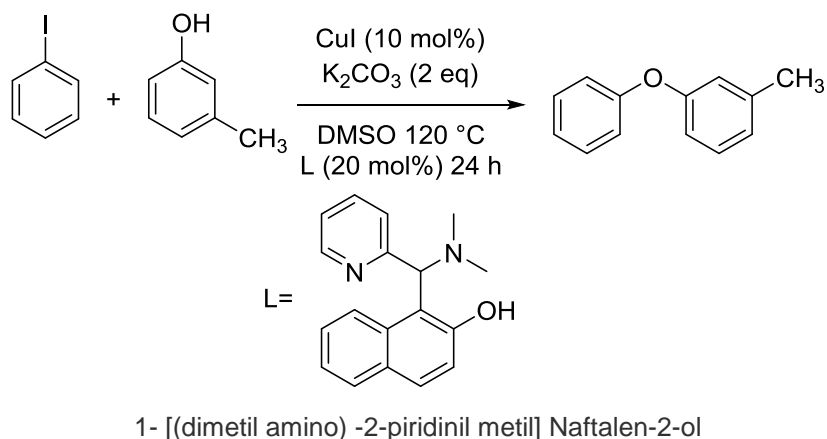
Esquema 22. Mecanismo de la reacción de Ullmann catalizada para ligandos neutros

A diferencia del ciclo catalítico de paladio, este mecanismo propone un ciclo catalítico con las especies reactivas Cu(I)/Cu(III). Siendo “Z” y “Y” ligandos neutros que no se modifican, el complejo de cobre (I) representado como [Cu-X] se coordina con el nucleófilo para dar un intermediario [X-Cu-NuH], el cual reacciona con la base [B] para dar el complejo [Cu-Nu], que también se puede obtener por la reacción directa de [Cu-X] con el nucleófilo desprotonado. Después el haluro de arilo se adiciona oxidativamente para formar un complejo de Cu (III) [Nu-Cu-ArX]. La eliminación oxidativa del producto [Ar-Nu] regenera la especie catalítica.

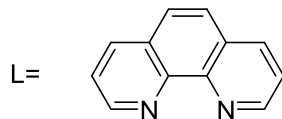
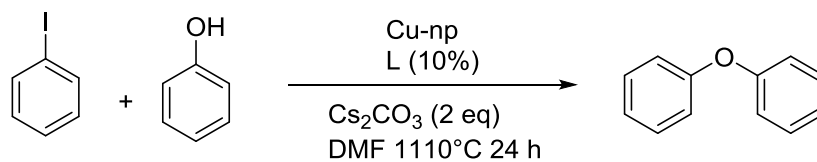
Algunos ejemplos de ligandos utilizados en la reacción de Ullmann catalizada con cobre se muestran en los esquemas 23 a 27.⁴⁶⁻⁵⁰



Esquema 23. Aminofenoles como ligandos en la reacción de Ullmann

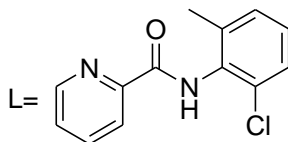
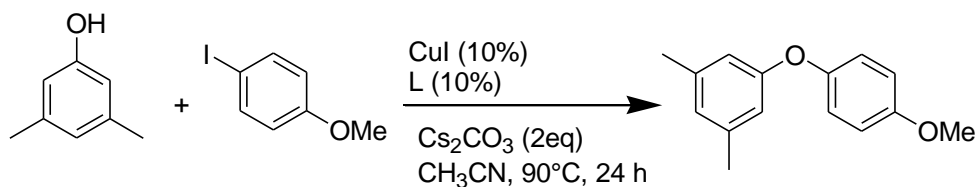


Esquema 24. Bases de Betti en la reacción de Ullmann



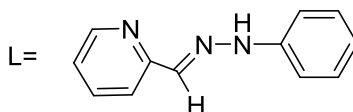
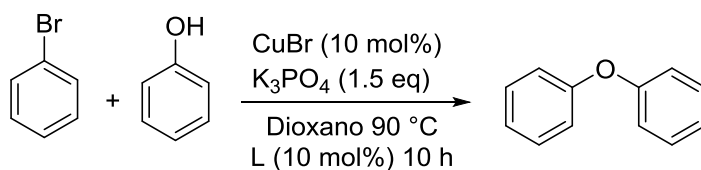
L=1,10-fenantrolina

Esquema 25. Derivados de fenantrolina en la reacción de Ullmann



3-Piridincarboxamida *N*- (2-cloro-6-metil fenilo)

Esquema 26. Derivados de picolinoamidas en la reacción de Ullmann



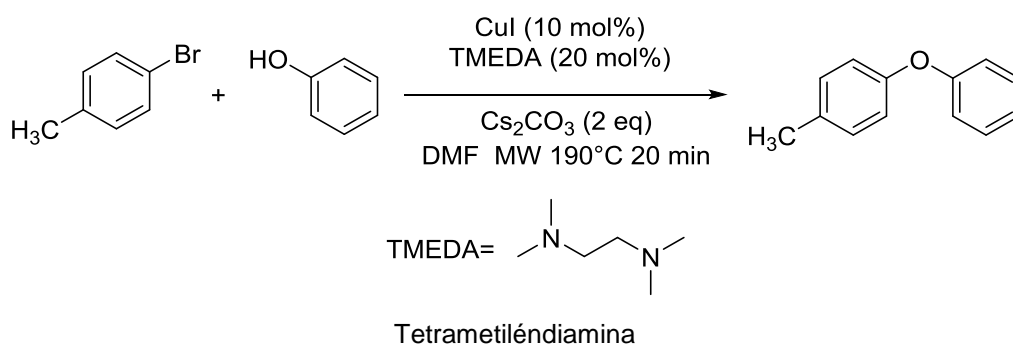
Fenilhidrazona del 2-Piridincarboxialdehido

Esquema 27. Hidrazonas en la reacción de Ullmann

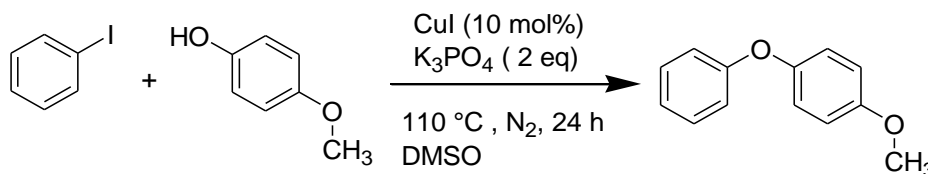
El principal inconveniente de los ejemplos citados anteriormente es la obtención de dichos ligandos; además los propios autores mencionan que al variar las

condiciones de reacción (base utilizada y disolvente), la reacción de acoplamiento se ve afectada de forma drástica en los rendimientos de producto obtenido, aunque se use la misma fuente de cobre y el mismo ligando; esto sólo considerando que la mayoría de los sustratos son moléculas sencillas. La modificación del sustrato con sustituyentes en varias posiciones suele disminuir los rendimientos y en algunos casos la reacción no se lleva a cabo.⁴⁶⁻⁵⁰

Esto quiere decir que, en cada caso particular, habría que realizar un estudio completo de la reacción de acoplamiento. Otros autores han propuesto otras soluciones para evitar la necesidad de sintetizar un ligando específico como el uso de microondas⁵¹, o bien aprovechar las capacidades coordinantes de algunos disolventes.⁵²

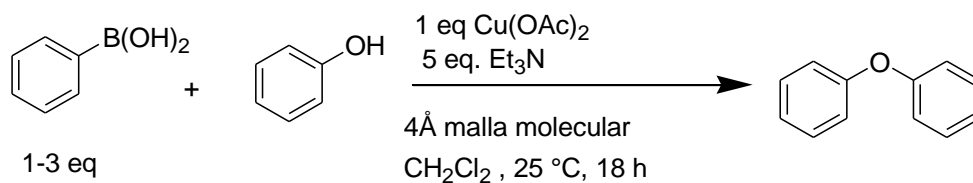


Esquema 28. Reacción de Ullmann utilizando radiación con microondas



Esquema 29. Reacción de Ullmann sin utilizar ligandos

Chan, Lam y Evans⁵³ utilizaron ácidos aril borónicos como electrófilos. La principal ventaja sobre la reacción de Ullmann catalizada con cobre es que generalmente procede a temperatura ambiente y utiliza bases orgánicas.



Esquema 30. Reacción de Chan, Lam, Evans

La desventaja más importante de este método es el largo tiempo de reacción requerido para algunos sustratos y a veces se debe de usar un exceso del ácido borónico para obtener un rendimiento aceptable.

OBJETIVOS

Desarrollar una ruta de síntesis para obtener dímeros esteroideas derivados del estradiol, mediante la formación de un enlace tipo éter arilo-arilo a partir de dos compuestos: el haluro de arilo (3-bromoestradiol) y el estradiol.

Caracterizar dichos compuestos obtenidos por medio de técnicas de RMN de ^1H y ^{13}C , así como espectroscopia de IR y espectroscopia de masas.

Optimizar las condiciones necesarias en la reacción de Ullmann para obtener el éter arilo-arilo con rendimiento aceptable.

Explorar la posibilidad de un procedimiento alternativo para la formación del enlace éter arilo-arilo usando la reacción de Büchwald-Hartwig.

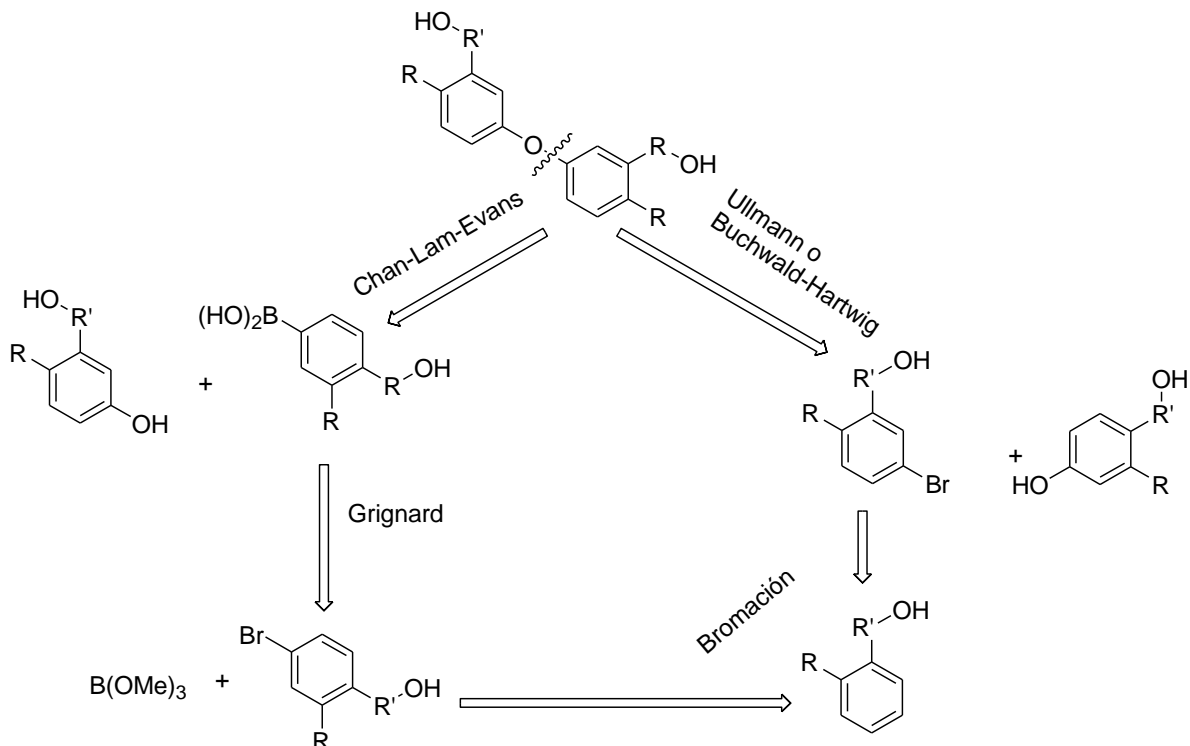
Llevar a cabo cálculos teóricos para optimizar la geometría de la estructura de los dímeros de estradiol.

HIPÓTESIS PROPUESTAS

- 1) No habrá diferencias de reactividad entre los isómeros de bromación en posición 2 y 4 para la formación de los productos de la reacción de Ullman, es decir, los dímeros.
- 2) Considerando que el mecanismo propuesto para la reacción de Ullmann tiene como especie activa al Cu(I) , una forma de mejorar las condiciones de reacción es el uso de una sal de cobre más soluble en disolventes orgánicos, que la que ya fue probada en nuestro grupo de trabajo (CuO).
- 3) El uso de un disolvente orgánico con un punto de ebullición más alto permitirá acelerar la reacción de Ullmann y disminuir el tiempo que toma la síntesis.
- 4) Utilizar un catalizador de paladio permitirá disminuir notablemente la temperatura, carga catalítica y tiempo de reacción para llevar a cabo la formación del enlace éter arilo-arilo.

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo la síntesis de los dímeros se planteó el esquema de reacción que se presenta a continuación. Un análisis retrosintético sencillo nos muestra que el compuesto final se forma a partir de un enlace éter de dos moléculas de esteroide que tengan la funcionalidad de halogenado en una de ellas y de fenol en la otra.



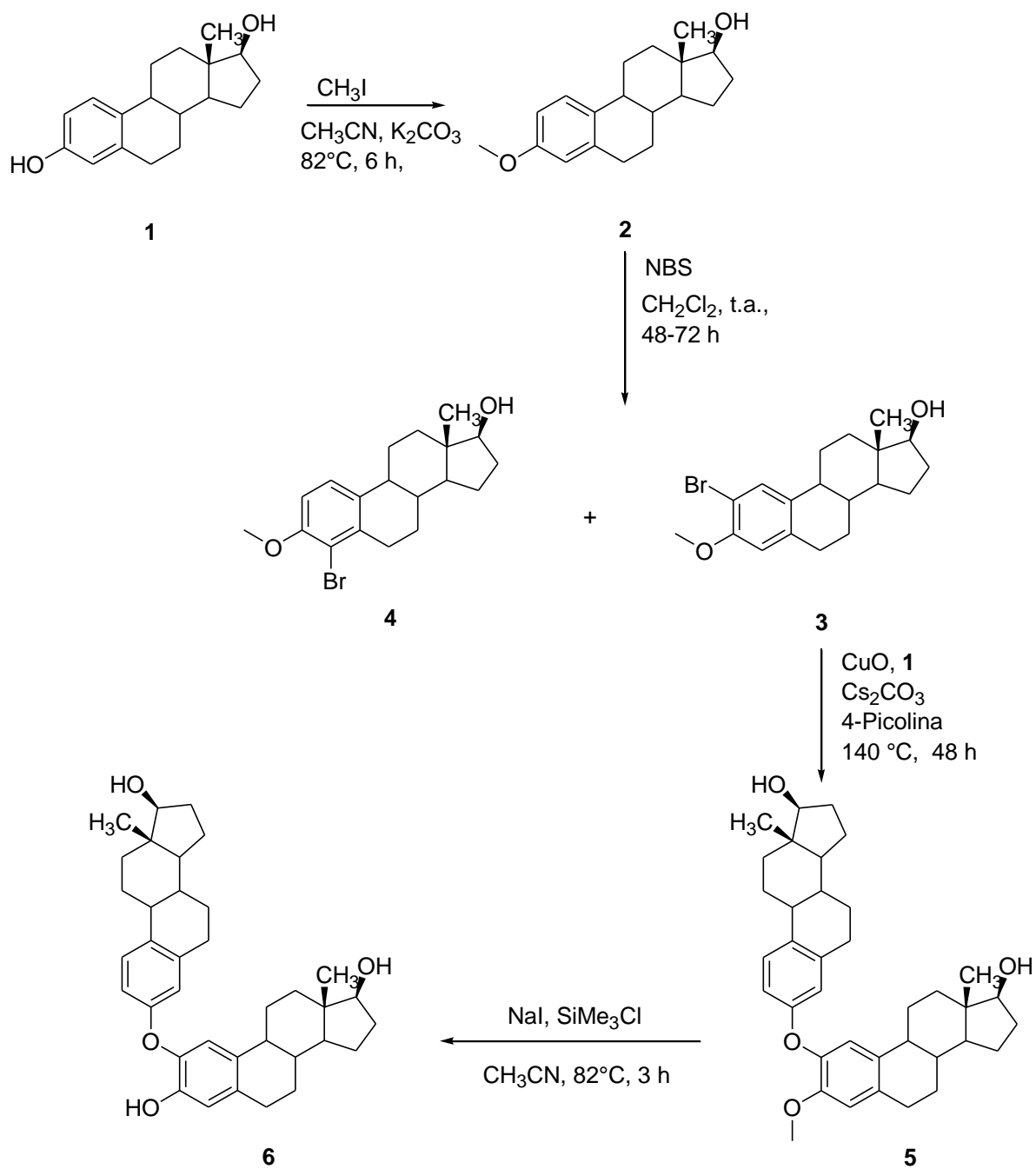
Esquema 31. Análisis retrosintético

La reacción de Chan-Lam-Evans no se consideró, porque no se disponía del derivado de ácido borónico necesario. Introducirlo requeriría de un paso adicional sin mencionar que habría que realizar previamente una protección en el hidroxilo del carbono 17 para poder utilizar el método de Grignard o bien emplear otro método.

De los posibles halógenos a utilizar se descartaron los de cloro, ya que ha habido reportes de que son menos reactivos que los de bromo o yodo para las reacciones de acoplamiento con cobre; al final se terminó por utilizar solo los derivados de

bromo debido a experiencias previas en nuestro grupo de trabajo, en el sentido de que los derivados con yodo no reaccionaron mejor que los de bromo.

Dado que en la mezcla de reacción una molécula de esteroide halogenada puede reaccionar con otra del mismo anillo esteroide sin halogenar, se necesita introducir un grupo protector en el grupo fenol de la molécula halogenada, para poder cuantificar la cantidad de esteroide halogenado que reaccionó con la molécula de esteroide sin halogenar. Esto sencillamente agrega un paso de protección al principio y otro de desprotección al final.

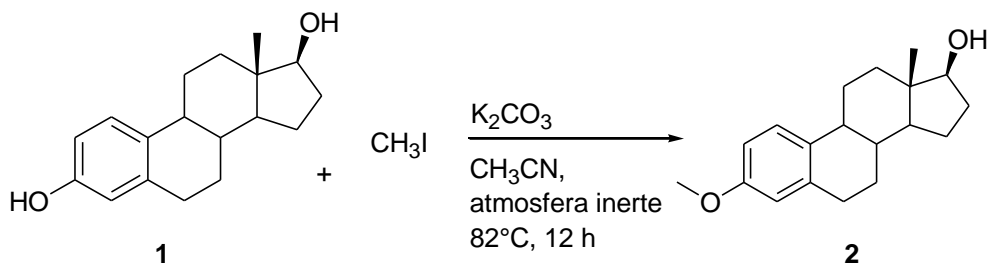


Esquema 32. Propuesta de ruta de síntesis

RESULTADOS

3-metoxiestradiol

La primera reacción que se llevó a cabo fue la protección del grupo fenol del estradiol (**1**) para dar como producto el 3-metoxiestradiol (**2**).



Esquema 33. Reacción de protección

La reacción se llevó a cabo y se obtuvo un único producto con un rendimiento del 90.56% después del proceso de purificación. Esta reacción procede a través de un mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$, en el cual el fenol en forma de ion fenóxido, el que ataca al yoduro de metilo al tiempo que expulsa al grupo saliente como anión yoduro.⁵⁴

Se necesitó usar un exceso de reactivo de yoduro de metilo ya que la temperatura de reacción (82°C) era mayor que el punto de ebullición de este (42°C). En el producto final, después de ser caracterizado, se corroboró que solamente un grupo $-\text{OH}$ reaccionó, ya que la base utilizada solamente podría abstraer un protón al fenol, pero no a un alcohol secundario, cuyo pK_a es mucho mayor que el de un fenol ($\sim 18 > \sim 10$).

Caracterización

IR. Se compara el espectro de infrarrojo de la materia prima con el del producto obtenido y se observó la formación de bandas características del enlace C-O de los éteres en 1282 cm^{-1} .

Espectro 1.

Grupo funcional	Numero de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Intensidad
Alcanos	2959.74	Vibración originada por el estiramiento (stretching) asimétrico del enlace -CH ₃	a.
	2862.31	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del enlace -CH ₃	a.
	1468.19	Vibración originada por la flexión(bending) asimétrica del enlace -CH ₃	m.
	1381.99	Vibración originada por la flexión(bending) simétrica del enlace -CH ₃	b.
	2934.59	Vibración originada por el estiramiento (stretching) asimétrico del enlace -CH ₂	a.
	2862.31	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del enlace -CH ₂	a.
	1448.66	Flexión de tijera(scissoring) originada por el enlace -CH ₂ en cicloalcanos	a.
Aromáticos	3050.24	Vibraciones originadas por el estiramiento (stretching) del enlace C-H	b.
	3018.42		
	1870.24	Sobretonos originados por la flexión del enlace C-H fuera del plano	b.
	1675.34		
	1608.76	Núcleo de fenilo	m.
	1156.18, 1135.52, 1117.36, 1102.16	Flexiones(bending) dentro del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	b.
	872.99	Flexiones(bending) fuera del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	m.
818.76			
Fenoles y alcoholes	3429.14	Vibración originada por el estiramiento (stretching) del enlace O-H	ancha a.
	1249.08	Vibración originada por el estiramiento (stretching) del enlace C-O	a.

Tabla 1. Frecuencias de vibración del estradiol, 1

Espectro 2.

Grupo funcional	Numero de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Intensidad
Alcanos	2921.47	Vibración originada por el estiramiento (stretching) asimétrico del enlace -CH ₃	a.
	2866.53	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del enlace -CH ₃	a.
	1465.81	Vibración originada por la flexión(bending) asimétrica del enlace -CH ₃	m.
	1379.25	Vibración originada por la flexión(bending) simétrica del enlace -CH ₃	b.
	2921.47	Vibración originada por el estiramiento (stretching) asimétrico del enlace -CH ₂	a.
	2846.18	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del enlace -CH ₂	a.
	1444.98	Flexión de tijera(scissoring) originada por el enlace -CH ₂ en cicloalcanos	m.
Aromáticos	3034.68	Vibración originada por el alargamiento(stretching) del enlace C-H	b.
	1877.57	Sobretonos originados por la flexión(bending) del enlace C-H fuera del plano	b.
	1612,49, 1575.50	Núcleo de fenilo	m.-a.
	1217.89, 1203.34, 1180.27, 1150.92, 1131.84, 1115.52,	Flexiones(bending) dentro del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	b.
	814.44	Flexiones(bending) fuera del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	m.
Alcoholes	3504.54	Vibración originada por el estiramiento (stretching) del enlace O-H	a.
	1252.61	Vibración originada por el estiramiento (stretching) del enlace C-O	a.
Éteres	2846.18	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del CH ₃ unido al oxígeno	a.

1465.81, 1345.70	Flexión(bending) originada por los enlaces C-H del grupo metóxido	b.
1282.76	Vibración originada por el estiramiento (stretching) antisimétrico del enlace C-O	m.
1021.04, 1036.53	Vibración originada por el estiramiento (stretching) simétrico del enlace C-O	a.

Tabla 2. Frecuencias de vibración del 3-metoxiestradiol, 2

Espectroscopía RMN ¹H

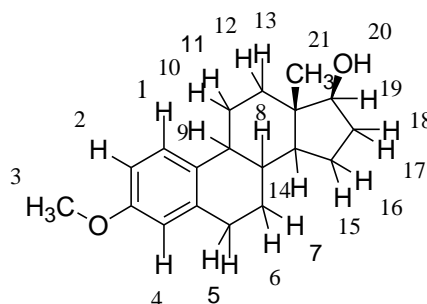


Figura 14. Asignación de protones del 3-metoxiestradiol, 2

En la asignación de las señales observadas en el espectro de RMN-¹H, el punto clave está dado por la señal en 3.79 ppm cuya multiplicidad es un singulete e integra para tres átomos de hidrógeno. Esta señal no está presente en el espectro del estradiol, lo cual confirma la formación de un enlace éter metílico.

Espectro 5.

Señal asignada	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	7.22	d	$J_o=8.5$ Hz 1H
2	6.72	dd	$J_o=8.6$ Hz, $J_m=2.1$ Hz, 1H
3	3.79	s	3H
4	6.64	d	$J_m=2.1$ Hz, 1H
5	2.87	dd	$J=2.1, 10.4$ Hz, 2H
6	2.15	m	1H
7	2.15	m	1H

8	1.41	m	1H
9	2.33	m	1H
10	1.97	m	1H
11	1.71	m	1H
12	1.55-1.15	m	1H
13	1.55-1.15	m	1H
14	1.89	m	1H
15	1.55-1.15	m	1H
16	1.55-1.15	m	1H
17	1.55-1.15	m	1H
18	1.55-1.15	m	1H
19	3.74	t	J=8.56 Hz, 1H
20	1.55-1.15	m	1H
21	0.79	s	3H

Tabla 3. Parámetros de las señales de RMN-¹H del 3-metoxiestradiol, **2**

Espectroscopía RMN ¹³C

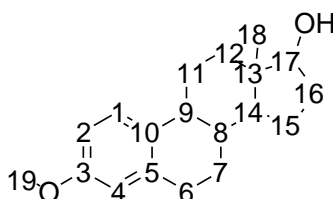


Figura 15. Asignación de los núcleos de carbono del 3-metoxiestradiol, **2**

En la asignación de señales de carbono, lo más importante es la presencia de una señal de carbono adicional en 55.33 ppm, la cual corresponde a un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno O-CH₃.

Espectro 6.

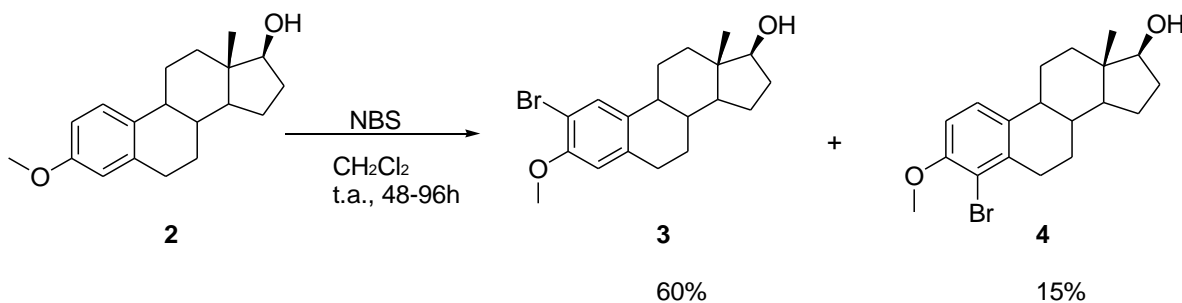
Señal asignada	δ(ppm)	Señal asignada	δ(ppm)
1	126.45	11	26.46
2	111.56	12	36.85

3	157.57	13	43.39
4	113.95	14	50.18
5	138.1	15	23.26
6	29.44	16	30.72
7	27.39	17	82.02
8	38.99	18	11.19
9	44.08	19	55.33
10	132.79		

Tabla 4. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 3-metoxiestradiol, **2**

2-bromo-3-metoxiestradiol y 4-bromo-3-metoxiestradiol

La formación del derivado halogenado se llevó a cabo a temperatura ambiente, bajo agitación vigorosa y con un tiempo de reacción de 48 a 96 horas, dependiendo de la cantidad de materia prima que se pusiera a reaccionar. Después de la purificación se obtuvieron dos isómeros que posteriormente, mediante técnicas de espectroscopía de RMN de ¹H, fueron identificados como el isómero en posición 2 (el de mayor proporción) y el de la posición 4 (el de menor proporción).



Esquema 34. Reacción de bromación

2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**.

IR. Solamente se determinó el espectro de infrarrojo del isómero que se obtuvo en mayor cantidad, dado que la información más importante que se puede obtener de un espectro de infrarrojo son los grupos funcionales, no se determinó para el otro

isómero. La banda más importante se encuentra en 668.40 cm^{-1} , la cual corresponde a la vibración originada por el enlace carbono-bromo.

Espectro 3.

Grupo funcional	Numero de onda (cm^{-1})	Asignación	Intensidad
Alcanos	2992.99	Vibración originada por el estiramiento(stretching) asimétrico del enlace $-\text{CH}_3$	m.
	2905.26	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace $-\text{CH}_3$	a.
	1451.95	Vibración originada por la flexión asimétrica del enlace $-\text{CH}_3$	a.
	1391.89	Vibración originada por la flexión simétrica del enlace $-\text{CH}_3$	m.
	2922.16	Vibración originada por el estiramiento(stretching) asimétrico del enlace $-\text{CH}_2$	a.
	2860.07	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace $-\text{CH}_2$	a.
	1428.85	Flexión de tijera originada por el enlace $-\text{CH}_2$ en cicloalcanos	m.
Aromáticos	3058.20	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace C-H	b.
	1738.94	Sobretonos originados por la flexión del enlace C-H fuera del plano	b.
	1596.44, 1489.87	Núcleo de fenilo	a.
	1200.03, 1181.42, 1159.62, 1104.37, 1132.59, 1072.21,	Flexiones dentro del plano originadas por los átomos de hidrógeno del fenilo	b.
	876.67, 862.07	Flexiones fuera del plano originadas por los átomos de hidrógeno del fenilo	m.

Fenoles	3590.99	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace O-H	a.
	1253.45	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace C-O	b.
Éteres	2841.73	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del CH ₃ unido al oxígeno	a.
	1463.42, 1339.50	Flexión originada por el enlace C-H del grupo metóxido	b.-m.
	1253.45(oculta)	Vibración originada por el estiramiento(stretching) antisimétrico del enlace C-O	a.
	1046.40, 1023.30	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace C-O	a.
Halogenados	668.40	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace C-Br	m.

Tabla 5. Frecuencias de vibración del 2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**

Espectroscopía RMN ¹H

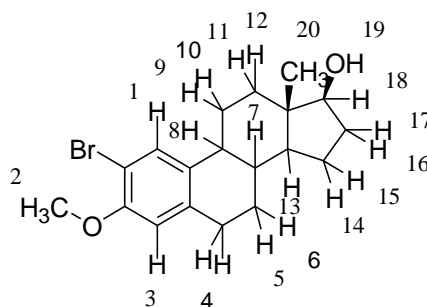


Figura 16. Asignación de los protones del 2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**

La clave en la asignación de cada uno de los isómeros se encuentra en la zona de los protones aromáticos, los cuales en el isómero que se encuentra halogenado en

la posición 2 posee dos protones aromáticos en posición *para* uno respecto al otro. La constante de acoplamiento para un hidrógeno en posición *para* suele ser muy pequeña ($J_{orto} > J_{meta} > J_{para}$) pero el programa de análisis (Mestre Nova) si la detecta.

Espectro 7.

Señal asignada	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	7.41	d	$J_p=1.1$ Hz, 1H
2	3.83	s	3H
3	6.59	s	$J_p=1.1$ Hz, 1H
4	2.85-2.76	m	1H
5	1.52-1.10	m	1H
6	1.52-1.10	m	1H
7	1.52-1.10	m	1H
8	2.30-2.03	m	1H
9	1.98 – 1.82	m	1H
10	1.98 – 1.82	m	1H
11	1.52-1.10	m	1H
12	1.52-1.10	m	1H
13	1.74-1.61	m	1H
14	1.52-1.10	m	1H
15	1.52-1.10	m	1H
16	2.30-2.03	m	1H
17	2.30-2.03	m	1H
18	3,71	t	$J=8.5$ Hz, 1H
19	1.51	s	1H
20	0.76	s	3H

Tabla 6. Parámetros de las señales de RMN-¹H de 2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**

Espectroscopía RMN ¹³C

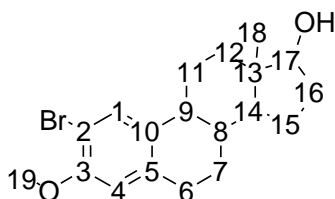


Figura 17. Asignación de núcleos de carbono del 2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**

Dado que en esta reacción no se hacen cambios en el número de átomos de carbono, los espectros de RMN-¹³C de **3** y **2** son muy similares, ya que en ambos observamos las señales correspondientes a los 19 núcleos de carbono.

Espectro 8.

Señal asignada	δ(ppm)	Señal asignada	δ(ppm)
1	130.11	11	26.24
2	108.52	12	36.53
3	153.45	13	43.14
4	112.30	14	49.88
5	137.11	15	23.04
6	29.52	16	30.47
7	27.00	17	81.67
8	38.51	18	10.99
9	43.64	19	56.13
10	134.16		

Tabla 7. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 2-bromo-3-metoxiestradiol, **3**

4-bromo-3-metoxiestradiol, **4**.

Espectroscopía RMN ¹H

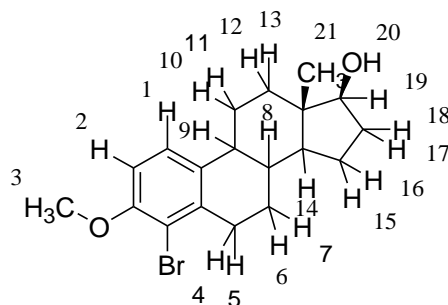


Figura 18. Asignación de los protones del 4-bromo-3-metoxiestradiol, **4**

Al contrario que el isómero en posición 2, el isómero de la posición 4 tiene dos protones adyacentes que se acoplan notablemente. Las señales aparecen como

dos dobletes con una constante de acoplamiento alta, característica de un acoplamiento *orto* (~8.7 Hz).

Espectro 9.

Señal asignada	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	7.23	d	$J_o=8.8$ Hz, 1H
2	6.74	d	$J_o=8.6$ Hz, 1H
3	3.88	s	3H
4	2.99	m	1H
5	2.71	m	1H
6	2.37-2.06	m	1H
7	1.56-1.22	m	1H
8	1.56-1.22	m	1H
9	2.37-2.06	m	1H
10	2.37-2.06	m	1H
11	1.56-1.22	m	1H
12	1.56-1.22	m	1H
13	2.02-1.90	m	1H
14	1.56-1.22	m	1H
15	1.72	dddd	$J = 12.5, 9.9, 7.1, 3.1$ Hz, 1H
16	1.17	ddd	$J = 12.0, 10.6, 7.2$ Hz, 1H
17	1.56-1.22	m	1H
18	2.02-1.90	m	1H
19	3.73	t	$J=8.2$ Hz, 1H
20	-	-	-
21	0.77	s	3H

Tabla 8. Parámetros de las señales de RMN-¹H del 4-bromo-3-metoxiestradiol, **4**

Espectroscopía RMN ¹³C

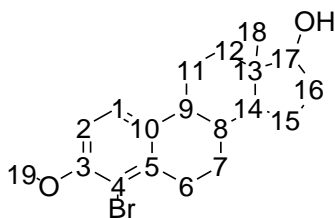


Figura 19. Asignación de núcleos de carbono del 4-bromo-3-metoxiestradiol, **4**

El espectro del producto **4** es muy parecido al de **2** y **3**, ya que poseen el mismo número núcleos de carbono, 19. Ya que el producto **3** y **4** son isómeros, la única forma de identificarlos es por el espectro de protón, los espectros de carbono no proporcionan mucha información útil por sí mismos.

Espectro 10.

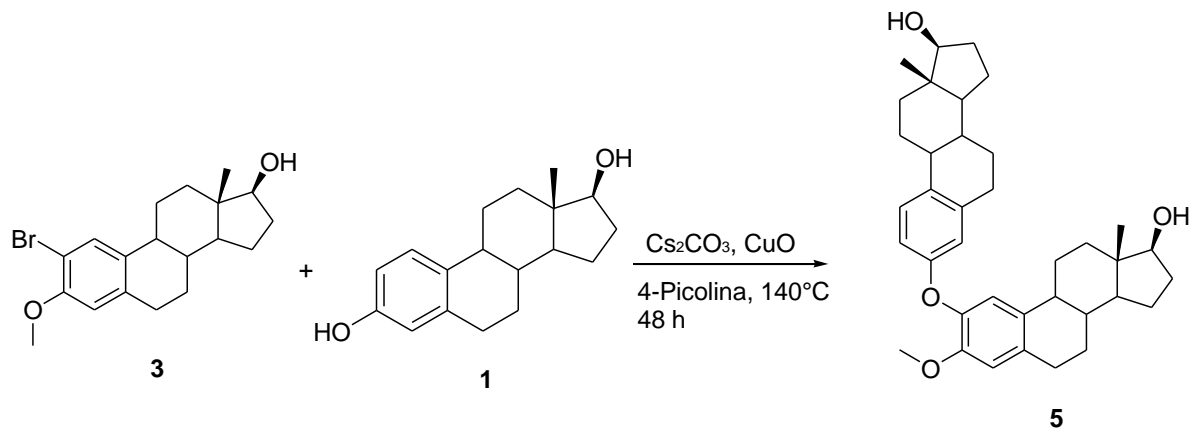
Señal asignada	δ (ppm)	Señal asignada	δ (ppm)
1	124.90	11	27.57
2	109.13	12	36.78
3	153.98	13	43.27
4	114.97	14	50.13
5	134.96	15	23.23
6	26.69	16	31.32
7	30.77	17	81.99
8	38.14	18	11.13
9	44.29	19	56.44
10	137.89		

Tabla 9. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 4-bromo-3-metoxiestradiol, **4**

2-O-estradiol-3-metoxiestradiol

La reacción se llevó a cabo bajo las condiciones experimentales previamente definidas en nuestro grupo de trabajo⁵⁵, las cuales se muestran en el esquema 35. Sin embargo, se tuvo que hacer un estudio sistemático de las principales variables

independientes, así como las adecuaciones pertinentes.



Esquema 35. Reacción de Ullmann en la posición 2 con estradiol

A partir de aquí se trabajaron con varias modificaciones con el propósito de mejorar el rendimiento obtenido; dichos resultados se resumen en la tabla 10.

Catalizador	Disolvente	Base	Temperatura	Tiempo de reacción	Ligando	%Rendimiento
CuO (0.5 eq)	4-Picolina	Cs ₂ CO ₃	140°C	48 h	-	51.7
CuO (0.5 eq)	DMSO	Cs ₂ CO ₃	160°C	48-72h	-	-
CuO (0.5 eq)	DMF	Cs ₂ CO ₃	150°C	48-72h	4-Picolina	-
CuO (0.5 eq)	DMF	Cs ₂ CO ₃	150°C	48-72h	2-hidroxipiridina	-
CuI (0.5 eq)	DMF	Cs ₂ CO ₃	150°C	48-72h	1-10 fenantrolina	-
CuI (0.5 eq)	DMF	K ₂ CO ₃	150°C	48-72h	1-10 fenantrolina	16.7
CuI (0.06 eq)	DMF	K ₂ CO ₃	150°C	48-72h	1-10 fenantrolina	-

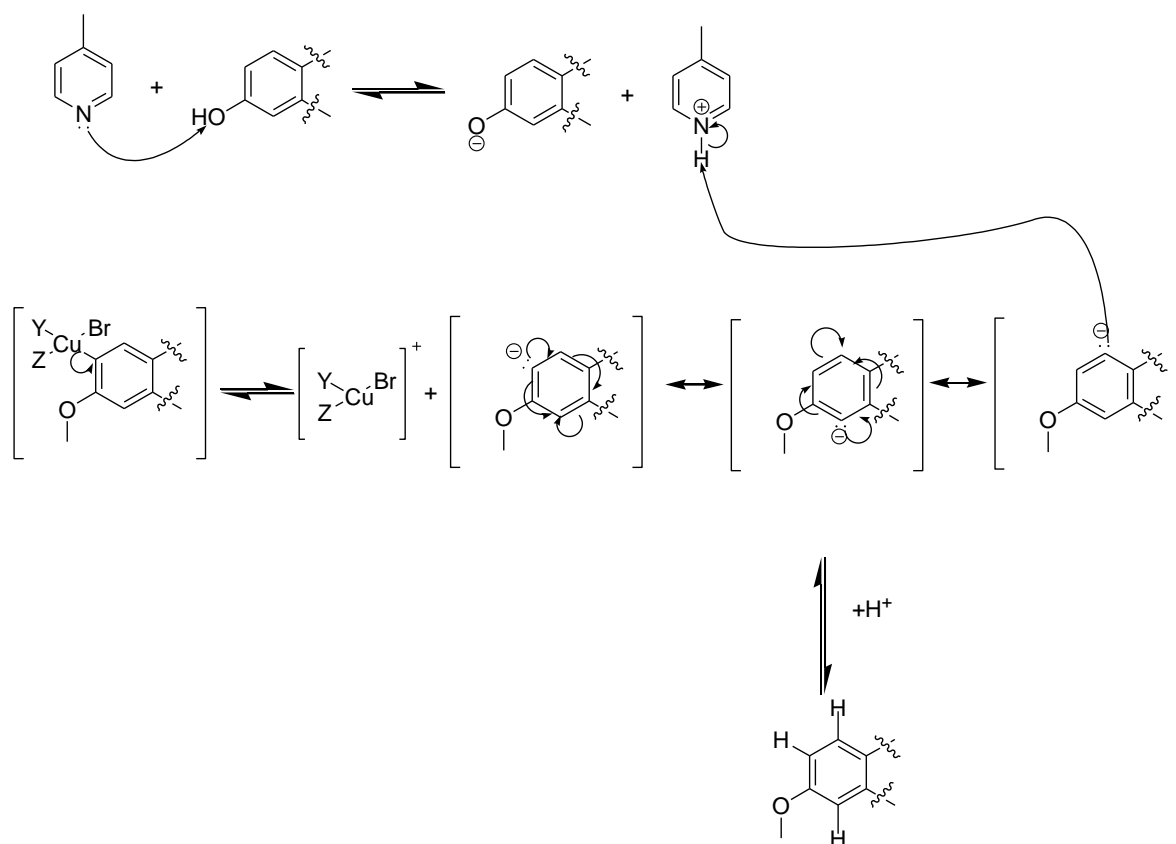
Pd (OAc)₂ (0.02)	Tolueno	CS ₂ CO ₃	100°C	24h	Trifenilfosfina	-
Pd (OAc)₂ (0.02)	Tolueno	K ₃ PO ₄	100°C	24h	Trifenilfosfina	-
Pd (OAc)₂ (0.2)	Tolueno	K ₃ PO ₄	100°C	24h	Trifenilfosfina	-

Tabla10. Variaciones en los experimentos realizados

Como se puede ver en la tabla 10, el disolvente es un factor importante en la reacción, ya que la sustitución de 4-picolina por DMSO o DMF no permite que la reacción se lleve a cabo, a pesar de que estos últimos disolventes tienen puntos de ebullición mucho más altos que la 4-picolina.

Una posible explicación es que el óxido de cobre nanoparticulado forma un complejo para solubilizarse y después reacciona con algún componente del medio para pasar a estado de oxidación (I), generando al fin el catalizador activo. Por ello el tiempo de reacción es muy largo y en general, en las primeras 24 horas no hay señales de producto.

Al examinar la mezcla de reacción mediante un análisis por cromatografía en capa fina, no se aprecia la formación del producto. Sin embargo, se aprecia la formación de otro producto cuyo R_f corresponde al 3-metil estradiol, lo cual nos indica que en lugar de llevarse a cabo la reacción de acoplamiento se lleva a cabo una reacción de deshalogenación. A continuación, se propone un mecanismo para la formación de dicho producto:



Esquema 36. Mecanismo propuesto para la formación del producto deshalogenado

A la hora de tratar la mezcla de reacción no se recuperan las materias primas, ni el estradiol o el bromoestradiol metilado; se recupera parte del 3-metoxiestradiol y el resto es una mezcla de subproductos no identificados que en la primera reacción no se llega a observar.

En la introducción se discutió esta reacción y con base en esto, no se puede asegurar que el único papel que desempeña la 4-picolina es la de ser disolvente que puede alcanzar altas temperaturas y disolver los reactivos; de hecho, se propone que aparte de poder actuar como base, la 4-picolina también podría actuar como ligando auxiliar en el mecanismo de reacción.

Teniendo en cuenta la propuesta anterior se realizaron varias pruebas en las que el disolvente principal sería la DMF por dos motivos: su punto de ebullición es más alto que el de la 4-picolina y su capacidad para disolver sales inorgánicas de cobre es

mayor, posiblemente, por su gran capacidad de solvatación al formar quelatos con los cationes. No se utilizó DMSO, ya que al emplearlo una vez, por medio de análisis por cromatografía en placa fina reveló que la mezcla de reacción contenía una mayor cantidad de subproductos, comparada con la que se obtuvo cuando se realizó en DMF. Esto representaría una mayor dificultad en la separación por cromatografía en columna.

Desafortunadamente los resultados no fueron prometedores y no fue posible aislar algún subproducto de la mezcla de reacción.

Después de esto se consideró la adición de un ligando, con una estructura similar a la de la 4-picolina, pero que fuera más fácil de manipular, ya que la 4-picolina es un líquido susceptible a la oxidación. Utilizando 2-hidroxipiridina se repitió la prueba anterior pero una vez más, no se logró un resultado concluyente, porque al monitorear la reacción no se observó la formación de algún producto y cuando se trató de separar la mezcla de reacción no se pudieron recuperar las materias primas debido a la aparente descomposición de estas.

Tomando otro enfoque, se decidió por cambiar el tipo de catalizador utilizado cambiando óxido de cobre (II) por yoduro de cobre (I) por dos razones:

- 1) El yoduro de cobre (I) es más soluble que el óxido de cobre (II) en una gran cantidad de disolventes orgánicos de uso común, incluida la DMF.
- 2) La mayoría de las referencias encontradas en la literatura coinciden en que la especie catalítica es el ión cobre (I), por lo que la transformación de los iones de cobre (II) a cobre (I) ya no es necesaria antes de la reacción de acoplamiento

Además, como ligando auxiliar se adicionó la 1,10-fenantrolina, de la cual se ha descrito su uso en las reacciones de acoplamiento de Ullmann.

Los resultados de la primera reacción con yoduro de cobre (I) en lugar de óxido de cobre (II) no fueron favorables, ya que la composición de la mezcla de reacción

obtenida fue muy complicada para poderla separar por cromatografía en columna. Sin embargo, en la cromatoplaqueta del análisis por cromatografía en capa fina, si se aprecia la formación de producto, aunque la mancha se observó menos intensa comparada con la primera reacción.

Revisando en la literatura se encontró descrito que además del carbonato de cesio, otra base frecuentemente utilizada en conjunto con el yoduro de cobre es el carbonato de potasio. Al remplazar esta base se logra la formación del producto en cantidades apreciables como para poder separarlo por cromatografía en columna. Al final se obtuvo el producto puro con un rendimiento del 16.7%.

Lo anterior demostró que no se pueden trasladar los resultados previamente obtenidos con el óxido de cobre (II) utilizando la 4-picolina, a este nuevo sistema de yoduro de cobre (I) con DMF/1,10-fenantrolina, por lo que de momento esta línea de investigación queda abierta, ya que queda fuera de los objetivos propuestos al principio de este trabajo.

El hecho de que la mayoría de las mezclas de reacción no se pudieron separar, indica que existe una gran cantidad de reacciones secundarias que dependen de las altas temperaturas para llevarse a cabo. Es por esta razón que, en este caso, el incrementar la temperatura no parece tener un efecto positivo en el rendimiento obtenido, sino al contrario, llegado a cierto punto es perjudicial a este. Dichas reacciones secundarias se atribuyen a la estructura más compleja del sustrato (un esteroide) comparada con los sustratos empleados en la literatura.

Es de particular interés que el estradiol adicionado tiene un grupo fenol susceptible de oxidarse a una benzoquinona, lo cual explica que jamás se pudiera recuperar el estradiol puro de la mezcla de reacción.

A partir de esta idea se decidió probar un metal diferente, paladio (Pd), el cual permitiría utilizar un temperatura mucho más baja y tiempos de reacción más cortos.

Como precursor catalítico se utilizó el acetato de paladio ya que era el reactivo con el que se disponía en el laboratorio. Se volvió a utilizar el carbonato de cesio como base y el resto de las condiciones se establecieron con base en los resultados reportados por Tongjie Hu y colaboradores.⁵⁶

El resultado obtenido fue paladio negro, el cual se forma cuando los iones metálicos están débilmente coordinados, por lo que se aglomeran para formar el paladio metálico, que posee esta coloración. Reemplazando la base por fosfato de potasio tribásico, se obtuvo un mejor resultado, ya que ya no se apreció la formación de paladio negro en la mezcla de reacción y en cambio la disolución pasa por distintos cambios de color hasta quedarse en un color amarillo intenso. Cuando se agregan los sustratos, la reacción cambió de color rápidamente a un color rojo intenso.

Pero a la hora de monitorear el avance de la reacción, por medio de un análisis por cromatografía en capa fina, la placa reveló que no hay reacción después de 6 horas, incluso es posible observar la presencia de ambos sustratos en la placa, sin observarse la formación de algún otro producto o subproducto. Incluso después de 24 horas, la placa de reacción mostró la misma composición, pero ya se comienza a observar la descomposición del catalizador de paladio.

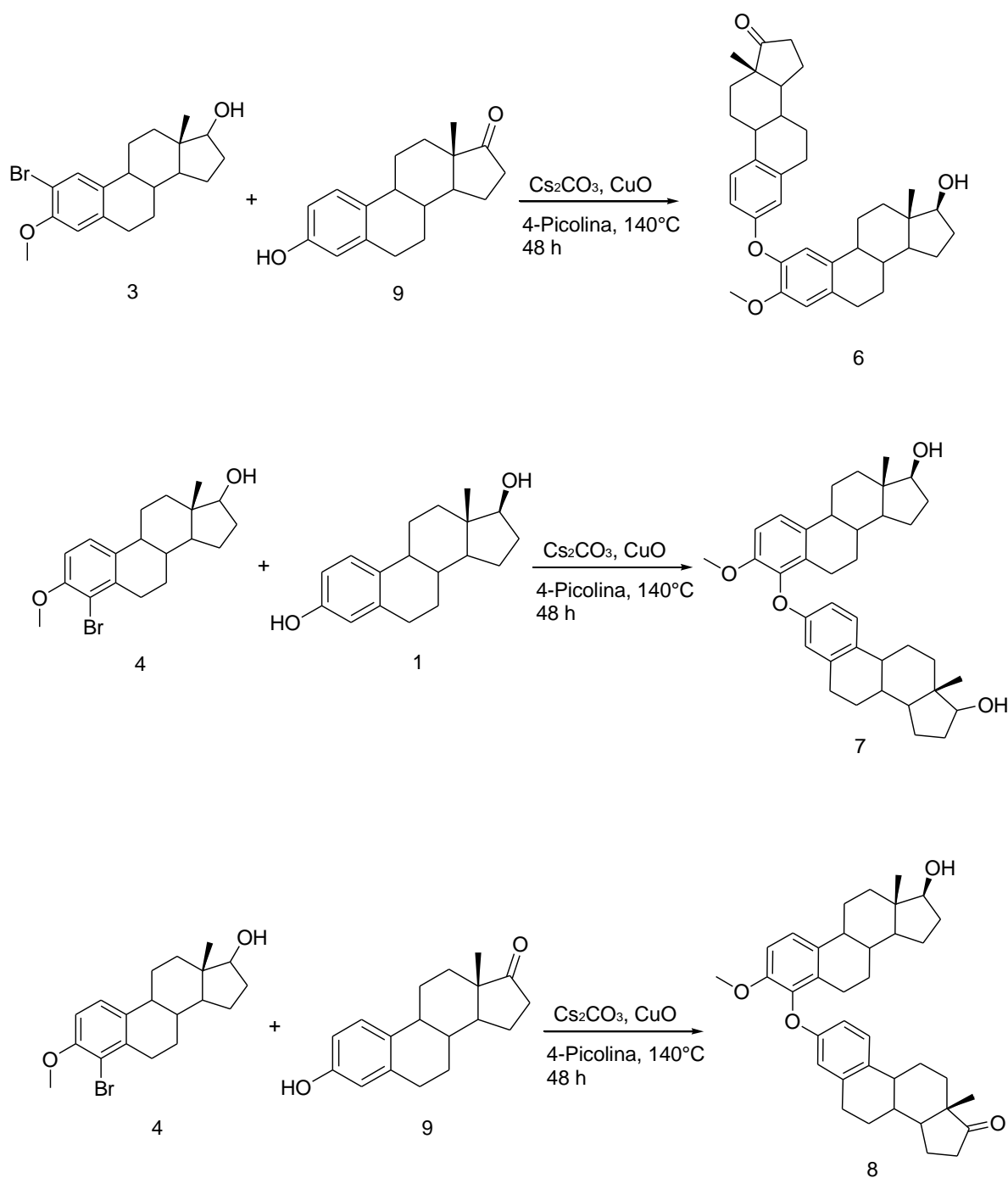
Pensando que tal vez se trataba de un problema de carga catalítica, la reacción se repitió con una mayor cantidad de catalizador, esperando de que al menos se lograra la formación de un producto, aunque no sean las condiciones ideales.

Sorpresivamente esto resultó contraproducente ya que la formación de paladio negro fue mucho más rápida que en el experimento anterior, debido a la mayor masa de paladio presente en el matraz de reacción.

Estaba claro que al incrementar la carga catalítica no servía y el ligando utilizado, trifenil fosfina, es ineficaz comparado con los ligandos que facilitan la eliminación reductiva (estructuralmente hablando suelen presentar un alto impedimento estérico).

De aquí que la única manera de continuar en esta línea de investigación sería la síntesis de un ligando específico derivado de trifenilfosfina que catalice el acoplamiento de moléculas relativamente grandes (esteroides). Dado que esto se sale de los objetivos establecidos, ya no se continuó utilizando paladio como metal catalizador para la reacción de acoplamiento.

Finalmente se regresó a la reacción original, cambiando el sustrato estradiol por el de estrona, así como la reacción con el otro isómero generado en la bromación, lo cual se muestra en el esquema 37.



Esquema 37. Reacciones adicionales de Ullmann realizadas con el 4-bromoestradiol y utilizando estrona

Los rendimientos obtenidos en estas reacciones fueron de alrededor del 10% para las primeras dos reacciones y en la última no se logró aislar el producto. Hay una clara disminución de la reactividad de los sustratos con respecto a la primera

reacción (el estradiol es más reactivo que la estrona). Pero en el caso del isómero 4, es más probable que los bajos rendimientos se deban a la falta de optimización de las condiciones, ya que solamente se realizó un ensayo en cada reacción (por cuestiones de tiempo ya no fue posible hacer un estudio sistemático para optimizar dichas reacciones).

2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, 5.

IR. La banda más importante por observar se encuentra en 1259.26 cm^{-1} debido a la vibración del enlace C-O para carbonos aromáticos; desafortunadamente se encuentra traslapada con la banda del enlace C-O del éter metílico así que no es posible determinar con exactitud cuál es cual.

Espectro 4.

Grupo funcional	Numero de onda (cm^{-1})	Asignación	Intensidad
Alcanos	2951.75	Vibración originada por el estiramiento(stretching) asimétrico del enlace $-\text{CH}_3$	m.
	2914.82	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace $-\text{CH}_3$	a.
	1469.74	Vibración originada por la flexión(bending) asimétrica del enlace $-\text{CH}_3$	a.
	1379.83	Vibración originada por la flexión(bending) simétrica del enlace $-\text{CH}_3$	m.
	2927.77	Vibración originada por el estiramiento(stretching) asimétrico del enlace $-\text{CH}_2$	a.
	2869.01	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace $-\text{CH}_2$	a.

	1447.90	Flexión de tijera(scissoring) originada por el enlace -CH ₂ en cicloalcanos	m.
	3035.91	Vibraciones originadas por el estiramiento(stretching) del enlace C-H	b.
		Sobretonos originados por las flexiones(bending) del enlace C-H fuera del plano	b.
Aromáticos	1602.91,1574.86	Núcleo de fenilo	a.
	1233.49, 1221.06, 1191.27, 1116.47, 1095.28, 1072.93	Flexiones(bending) dentro del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	b.
	869.03, 799.16	Flexiones(bending) fuera del plano originados por los átomos de hidrógeno del fenilo	m.
	3550.34	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace O-H	a.
Fenoles	1259.26	Vibración originada por el estiramiento(stretching) del enlace C-O	a.
	2847.64	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del CH ₃ unido al oxígeno	a.
	1492.25, 1344.82	Flexión(bending) de los enlaces C-H del grupo metóxido	b.-m.
Éteres	1259.26(oculta)	Vibración originada por el estiramiento(stretching) antisimétrico del enlace C-O	a.
	1055.68, 1021.60	Vibración originada por el estiramiento(stretching) simétrico del enlace C-O	a.

Tabla 11. Frecuencias de vibración del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, 5

Espectroscopia RMN ^1H

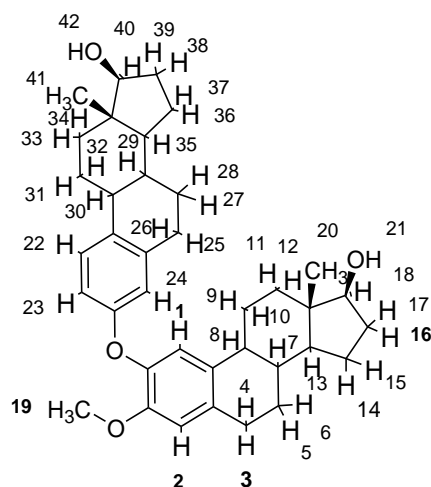


Figura 20. Asignación de protones del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **5**

Dado que la molécula **5** es altamente simétrica, la asignación completa requirió de experimentos adicionales de RMN de 2D, en específico HSQC. La zona más importante nuevamente es la zona de los protones aromáticos, en donde los protones 1 y 2 deberían de aparecer como singuletes ya que la constante de acoplamiento entre ellos es muy pequeña. Los protones 22, 23 y 24 forman un sistema más complicado ya que en teoría deberían aparecer como 3 dobles de dobles. En el espectro las señales se traslapan y se resolvió observando la correlación entre los núcleos de carbono y los protones.

Espectro 11.

Señal asignada	$\delta(\text{ppm})$	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	6.93	s	1H
2	6.69	m	1H
3,25	2.86	m	2H
4,26	2.79	m	2H
5,27	1.87	m	2H
6,28	1.32	m	2H
7,29	1.44	m	2H
8,30	2.17	m	2H
9	2.12	m	1H

10,32	1.41-1.49	m	2H
11,33	1.91	m	2H
12,34	1.25	m	2H
13,35	1.35-1.18	m	2H
14,36	1.70	m	2H
15,37	1.35	m	2H
16,38	2.11	m	2H
17,39	1.46	m	2H
18,40	3.71	ddd	J=8.2, 5.9, 2.6 Hz, 2H
19	3.77	s	3H
20,41	0.77	s	6H
21,42	0.88	m	2H
22	7.16	d	J=8.5, 1H
23	6.64	dd	J=7.2, 2.6 Hz, 1H
24	6.66	d	J=2.8 Hz, 1H
31	2.30	m	1H

Tabla 12. Parámetros de las señales de RMN-¹H del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **5**

Espectroscopía RMN ¹³C

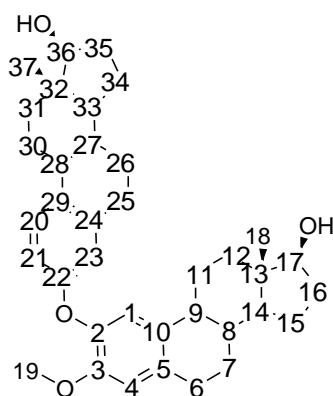


Figura 21. Asignación de núcleos de carbono del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **5**

En este espectro se contabilizaron las señales de carbono que corresponden al producto **5**, cuya asignación se hizo con base a las correlaciones que tienen estos núcleos de carbono con los protones adyacentes.

Espectro 12.

Señal asignada	δ (ppm)	Señal asignada	δ (ppm)
1	118.99	20	126.19
2	142.28	21	116.25
3	149.51	22	156.28
4	113.16	23	113.52
5	133.11	24	138.01
6	29.68	25	29.47
7	27.20	26	27.27
8	38.64	27	38.72
9	43.97	28	44.02
10	133.80	29	138.01
11	25.25	30	26.32
12	36.71	31	36.62
13	43.24	32	43.24
14	50.07	33	49.88
15	23.12	34	23.09
16	30.58	35	30.56
17	81.81	36	81.87
18	11.06	37	11.06
19	56.07		

Tabla 13. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **5**

Espectrometría de masas. En el espectro de masas se alcanza a apreciar el pico del ión molecular con una relación masa carga de 557.3634. El pico base es de 138.0647.

Espectro 20.

Pico (m/z)	Amplitud relativa (%)
138.0647	100
110.0704	30.41
149.0223	12.41
229.0793	9.73
557.3634	9.71
56.0486	8.31
558.3647	4.68
201.0469	3.02
559.3709	1.09

Tabla 14. Masas y valores de amplitud relativa de **5**

2-O-estronil-3-metoxiestradiol

Espectroscopía RMN ^1H

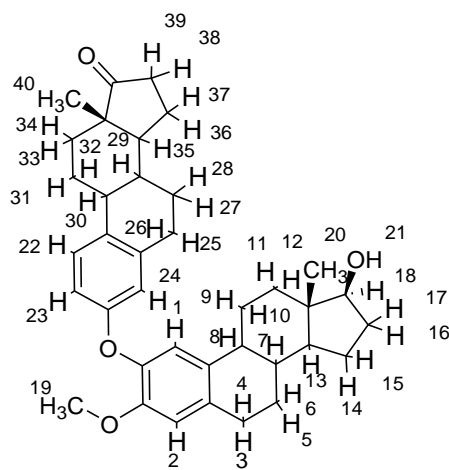


Figura 22. Asignación de protones del 2-O-estronil-3-metoxiestradiol, **6**

La asignación es muy similar a la anterior. En la zona de los hidrógenos aromáticos se observa: un sistema complicado en el anillo superior que denominaremos fragmento proveniente del esteroide 1(FE1) y dos singuletes en el anillo inferior que asimismo se denominará como fragmento proveniente del esteroide 2(FE2).

La diferencia más importante con el espectro anterior es la presencia del grupo carbonilo en FE1, lo que hace a la molécula menos simétrica y su efecto sobre los demás carbonos adyacentes es diferente del de un carbono unido a un átomo de oxígeno por un enlace sencillo.

Espectro 16.

Señal asignada	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	6.93	s	1H
2	6.69	s	1H
3,24	2.84	m	2H
4,25	1.94	m	2H
5,26	1.47	m	2H
6,27	1.57-1.42	m	2H
7,28	2.20	m	2H
8,29	1.95	m	2H
9,30	1.47	m	1H
10,31	1.88	m	2H
11,32	1.22	m	2H
12,33	1.50-1.17	m	2H
13	1.89	m	1H
14	1.33	m	1H
15	1.94	m	1H
16	1.47	m	1H
17	3.71	t	J=8.4 Hz, 1H
18	3.78	s	3H
19	0.76	s	3H
20	5.29	s	1H
21	7.15	d	J=8.5 Hz, 1H
22	6.65	dd	J=12.5, 3.7 Hz, 1H
23	6.66	s	1H
34	1.97	m	1H

35	1.42	m	1H
36	2.49	m	1H
37	2.11	m	1H
38	0.90	s	3H

Tabla 15. Parámetros de las señales de RMN-¹H del 2-O-estronil-3-metoxiestradiol, **6**

Espectroscopía RMN ¹³C

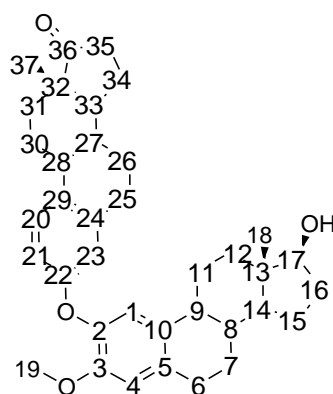


Figura 23. Asignación de núcleos de carbono del 2-O-estronil-3-metoxiestradiol, **6**

Tal y como se había dicho con anterioridad, el aspecto más importante es el carbonilo en la parte superior que afecta los carbonos cercanos para así diferenciar FE1 de FE2.

Espectro 17.

Señal asignada	δ(ppm)	Señal asignada	δ(ppm)
1	118.99	20	126.19
2	142.28	21	116.25
3	149.51	22	156.28
4	113.16	23	113.52
5	133.11	24	138.01
6	29.68	25	29.47
7	27.20	26	27.27

8	38.64	27	38.72
9	43.97	28	44.02
10	133.80	29	138.01
11	25.25	30	26.32
12	36.71	31	36.62
13	43.24	32	48.68
14	50.07	33	49.88
15	23.12	34	26.4
16	30.58	35	35.9
17	81.81	36	220.13
18	11.06	37	13.8
19	56.07		

Tabla 16. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 2-O-estronil-3-metoxiestradiol, **6**

4-O-estradiol-3-metoxiestradiol

Espectroscopía RMN ¹H.

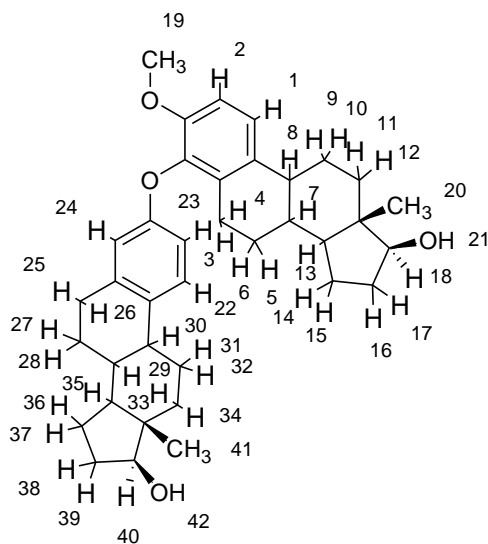


Figura 24. Asignación de protones del 4-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **7**

Comparado con los dos sistemas anteriores, al tener el enlace en la posición 4, una parte de la molécula permanece igual (FE1) y la otra pasa a ser un sistema de dos dobletes (FE2). Nuevamente la asignación se hizo con la ayuda del espectro HSQC.

Espectro 18.

Señal asignada	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento y/o integral
1	7.14	d	J=8.5 Hz, 1H
2	6.55	m	1H
3,25	2.83	m	2H
4,26	2.78	m	2H
5,27	2.10	m	2H
6,28	1.45	m	2H
7,29	1.42-1.36	m	2H
8,30	2.19	m	2H
9	1.85	m	1H
10	1.30	m	1H
11,33	1.95	m	2H
12,34	1.25	m	2H
13,35	2.19	m	2H
14,36	1.68	m	2H
15,37	1.33	m	2H
16,38	2.10	m	2H
17,39	1.45	m	2H
18,40	3.72	t	J=8.5 Hz, 2H
19	3.75	s	3H
20,41	0.77	s	6H
21,42	0.88	m	2H
22	7.14	d	J=7.1 Hz, 1H
23	6.83	d	J=8.3 Hz, 1H
24	6.55	m	1H
31	1.82	m	1H
32	1.20	m	1H

Tabla 17. Parámetros de las señales de RMN-¹H del 4-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **7**

Espectroscopía RMN ¹³C

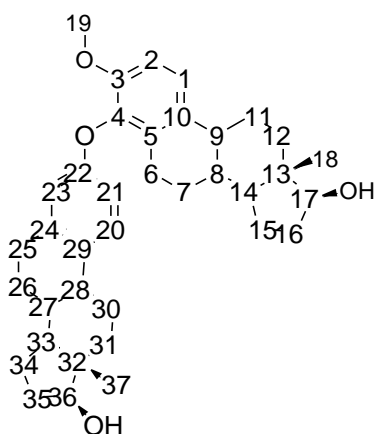


Figura 24. Asignación de núcleos de carbono del 4-O-estradienil-3-metoxiestradiol,
7

El producto **7** comparado con los compuestos **5** y **6** tiene el enlace éter en posición 2 en lugar de la posición 4. Esto se refleja en las diferencias de desplazamiento químico en el espectro de carbono que luego fue corroborado en el espectro HSQC.

Espectro 19.

Señal asignada	δ (ppm)	Señal asignada	δ (ppm)
1	126.1	20	122.0
2	111.6	21	109.8
3	152.20	22	152.70
4	144.73	23	114.5
5	129.80	24	137.80
6	23.7	25	29.7
7	30.6	26	30.6
8	38.7	27	38.3
9	44.0	28	44.0
10	136.79	29	136.93
11	27.3	30	26.6
12	36.7	31	36.7
13	43.24	32	43.2
14	50.1	33	50.1
15	23.1	34	23.1

16	26.3	35	26.3
17	81.9	36	81.9
18	11.1	37	11.1
19	56.1		

Tabla 18. Parámetros de las señales de RMN-¹³C del 4-O-estradiol-3-metoxiestradiol, **7**

Cálculos teóricos

Se llevaron a cabo cálculos teóricos con el propósito de optimizar la geometría de las moléculas sintetizadas en su estado de energía más bajo. Eventualmente, estas geometrías se utilizarían en simulación molecular para verificar que estas moléculas ejercen (o no) su actividad al acoplarse con receptores estrogénicos antes de llevar a cabo las pruebas biológicas (docking). Por falta de tiempo, solamente se presentan aquí, los valores obtenidos en la optimización de la geometría de las moléculas.

Compuesto	Angulo diedro (θ)	Momento dipolar (Debye)
2-O-estradiol estradiol	63.0266°	4.2364
4-O-estradiol estradiol	103.567	4.7293
2-O-estronil estradiol	84.169	5.1417
4-O-estronil estradiol	96.880	4.0704

Tabla 19. Valores teóricos calculados de ángulo diedro y momento dipolar

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los reactivos empleados en la síntesis se utilizaron tal cual, sin ningún tratamiento previo. Los disolventes utilizados se destilaron antes de ser utilizados y en donde fue requerido estos se secaron siguiendo los procesos descritos en la literatura⁴⁰. Las reacciones bajo atmosfera inerte se llevaron a cabo empleando gas argón ultraseco.

Los cálculos teóricos se realizaron en el servidor de la supercomputadora MIZTLI con el programa Gaussian 09W y el programa de visualización Gaussian view 5.0. El funcional utilizado fue RM052X con el conjunto de bases 6-31+G(d)

Los equipos utilizados para la caracterización espectroscópica y espectrométrica de los productos obtenidos fueron los siguientes:

Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro FTIR Spectrum RXI de Perkin-Elmer cuyo rango es de 4000-400 cm^{-1} . Las técnicas utilizadas fueron pastilla de KBr y reflectancia ATR.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se llevaron a cabo en un espectrofotómetro de RMN de 9.4 T marca Varian modelo VNMRS con una sonda de detección indirecta de dos canales de radiofrecuencia (^1H) ($^{31}\text{P}/^{15}\text{N}$).

Los espectros de masas se realizaron en un espectrómetro de masas con analizador másico de tiempo de vuelo, marca Perkin Elmer, modelo AxION 2 TOF.

Formación del 3-metoxiestradiol

En un matraz de fondo redondo de 100 mL con agitador magnético adicionar 1 g (3.6 mmol) de estradiol y 2.54 g (18.4 mmol) de carbonato de potasio, después purgar el sistema mediante desplazamiento del aire por argón y colocar un septum. Posteriormente añadir por medio de una jeringa con cánula 40 mL acetonitrilo previamente destilado sobre malla molecular. Después añadir 1.37 mL (22 mmol) de yoduro de metilo con una jeringa de vidrio (debido a su bajo punto de ebullición se suele añadir un exceso). Colocar el refrigerante y cerrar el sistema. Calentar a reflujo durante 6 horas (tiempo no optimizado).

Esperar que la temperatura del sistema se estabilice y después añadir un poco de ácido clorhídrico diluido (~1 mL) para matar la reacción. Decantar la mezcla de reacción, el sólido blanco obtenido suele ser el exceso de carbonato de potasio. Eliminar el exceso de acetonitrilo por evaporación a presión reducida. Separar el producto del residuo por una extracción ácido-base con un embudo de separación, utilizando como fase orgánica diclorometano y en la fase acuosa una disolución de hidróxido de sodio. Concentrar la fase orgánica para obtener el producto. Si el producto contuviera impurezas, realizar una separación por cromatografía en columna con hexano/acetato proporción 90:10. Recristalizar de etanol/agua (~90:10) para obtener un sólido blanco. Rendimiento= 90.56%. P.f. 122-124 °C

IR. 3670.37, 3644.12, 3504.54, 3319.44, 3196.89, 3083.63, 3034.68, 2997.08, 2921.47, 2866.53, 2846.18, 1877.57, 1612.49, 1500.10, 1444.98, 1465.81, 1431.87, 1401.83, 1379.25, 1345.70, 1332.03, 1318.14, 1282.76, 1252.61, 1217.89, 1203.14, 1180.27, 1150.92, 1115.52, 1131.84, 1099.84, 1072.42, 1049.72, 1036.53, 1021.04, 961.71, 950.24, 887.91, 843.02, 869.44, 814.44, 800.54, 722.66, 650.28, 612.95, 576.83, 563.46, 549.83, 527.45, 490.36, 443.50

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.72 (dt, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1H), 6.64 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 3.81 – 3.69 (m, 4H), 2.87 (dd, $J = 10.1, 6.4$ Hz, 2H), 2.37 – 2.28 (m, 1H), 2.25 – 2.06 (m, 2H), 2.01 – 1.93 (m, 1H), 1.89 (ddd, $J = 10.2, 5.4, 2.6$

Hz, 1H), 1.71 (tdd, $J = 12.2, 8.3, 3.0$ Hz, 1H), 1.41 (s, 1H), 1.58 – 1.14 (m, 7H), 0.79 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 157.57, 138.10, 132.79, 126.45, 113.95, 111.60, 82.02, 77.48, 77.17, 76.85, 55.33, 50.18, 44.08, 43.39, 38.99, 36.86, 30.72, 29.94, 27.39, 26.46, 23.26, 11.19, 1.15.

Formación del 2-bromo-3-metoxiestradiol y 4-bromo-3-metoxiestradiol

En un matraz de fondo redondo de 25 mL con agitador magnético añadir 125 mg (0.43 mmol) de 3-metoxiestradiol y 64.7 mg (0.36 mmol) de NBS previamente recristalizada de agua. Purgar el sistema con argón y sellar el sistema con un septum. Mediante una jeringa con cánula adicionar al sistema 5 mL de diclorometano seco destilado sobre malla molecular. Dejar el sistema en agitación por 24 horas a temperatura ambiente. Seguir el progreso de la reacción por cromatografía en capa fina y en caso de ser necesario, darle más tiempo.

Finalizado el tiempo de reacción, purificar la mezcla mediante cromatografía en columna utilizando como mezcla de elución hexano/acetato de etilo empezando por una proporción 97:3. Lentamente incrementar la polaridad del eluyente hasta 90:10. Usualmente los isómeros se logran separar por completo y es necesario volver a pasar por columna las fracciones mezcladas. Recristalizar ambos isómeros de etanol/agua y ambos son sólidos blancos. Isómero 2. Rendimiento=59.18% P.f. 176-182°C, Isómero 4. Rendimiento=~15% P.f. 196-200°C

Isómero 2.

IR. 3590.99, 3461.07, 3058.20, 2992.99, 2922.16, 2905.26, 2860.07, 2841.73, 1738.94, 1596.44, 1489.87, 1463.42, 1451.95, 1428.85, 1391.89, 1352.06, 1339.50, 1324.38, 1283.51, 1298.15, 1253.45, 1200.03, 1181.42, 1159.62, 1132.59, 1104.37, 1072.21, 1055.88, 1046.40, 1023.30, 1005.30, 985.35, 966.66, 948.95, 904.08, 921.73, 876.67, 862.07, 825.28, 792.44, 722.32, 702.39, 668.40, 646.74, 628.57, 604.82, 578.30, 540.17, 522.01, 496.93, 474.85, 443.04

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.41 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.76 – 3.66 (m, 1H), 2.85 – 2.76 (m, 2H), 2.30 – 2.03 (m, 2H), 1.98 – 1.82 (m, 2H), 1.74 – 1.61 (m, 1H), 1.51 (s, 1H), 1.52 – 1.10 (m, 6H), 0.76 (d, $J = 0.7$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 155.44, 137.11, 134.16, 130.11, 112.30, 108.52, 81.67, 56.13, 49.88, 43.65, 43.14, 38.51, 36.53, 30.47, 29.52, 27.01, 26.24, 23.04, 10.99.

Isómero 4.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.23 (dd, $J = 8.8, 1.2$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.73 (dd, $J = 8.9, 8.0$ Hz, 1H), 3.05 – 2.93 (m, 1H), 2.78 – 2.63 (m, 1H), 2.37 – 2.06 (m, 3H), 2.02 – 1.90 (m, 2H), 1.72 (dddd, $J = 12.5, 9.9, 7.1, 3.1$ Hz, 1H), 1.56 – 1.22 (m, 6H), 1.17 (ddd, $J = 12.0, 10.6, 7.2$ Hz, 1H), 0.77 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 153.98, 137.89, 134.96, 124.90, 114.96, 109.13, 81.99, 56.44, 50.13, 44.29, 43.27, 38.14, 36.78, 31.32, 30.77, 27.57, 26.69, 23.22, 11.13.

Reacción general para la formación de los éteres de estradiol

Método a)

En un matraz de fondo redondo de 50 mL, con agitador magnético, añadir todos los reactivos sólidos: 250 mg (0.68 mmol) del derivado halogenado, 235.2 mg (0.86 mmol) del estradiol, 451.4 mg (1.38 mmol) de Cs_2CO_3 , y el ligando según se requiera. Purgar el sistema con argón. Sellar el sistema con un septum y posteriormente adicionar 10 mL de 4-picolina por medio de una jeringa con cánula. Si hay otros reactivos líquidos adicionar en este momento. Dejar la mezcla de reacción con agitación por 30 minutos y finalmente añadir el catalizador sólido, 27.6 mg (0.35 mmol) de óxido de cobre (CuO). Calentar la reacción hasta 140°C . El tiempo de reacción es de 48 h o más, según se requiera.

Método b)

En un matraz de fondo redondo de 50 mL, con agitador magnético, añadir 9.4 mg (0.04 mmol) de acetato de paladio, 58 mg (0.22 mmol) del ligando (trifenil fosfina) y 117.6 mg (0.55 mmol) de fosfato de potasio tribásico. Purgar el sistema con argón. Sellar el sistema con un septum y posteriormente adicionar 5 mL de tolueno seco por medio de una jeringa con cánula. Posteriormente, añadir bajo atmosfera inerte 100 mg (0.27 mmol) del derivado halogenado. Dejar la mezcla de reacción con agitación por 30 minutos y finalmente adicionar el estradiol, 94.1 mg (0.35 mmol). Calentar la reacción hasta 90°C. El tiempo de reacción es de 6 h.

Purificación

Finalizada la reacción, eliminar el disolvente por evaporación a presión reducida. Llevar a cabo una extracción ácido-base para eliminar la base de la mezcla de reacción. Purificar la fase orgánica por medio de cromatografía en columna y utilizar una mezcla hexano/acetato de etilo 95:5 como eluyente. Incrementar la polaridad por intervalos hasta llegar a ~70:30 que es en donde suele aparecer el producto. El producto es un sólido ligeramente amarillento.

2-O-estradiol-3-metoxiestradiol: Rendimiento=51.7% (190.2 mg) P.f. 150-158°C.

2-O-estronil-3-metoxiestradiol: Rendimiento=10.5% (40.2 mg) P.f. 140-146°C.

4-O-estradiol-3-metoxiestradiol: Rendimiento%= 10.2% (35.1 mg) P.f. 160-172°C

2-O-estradiol-3-metoxiestradiol

IR. 3550.34, 3284.13, 3035.91, 2951.75, 2927.77, 2914.82, 2869.01, 2847.64, 1714.86, 1602.91, 1574.86, 1508.02, 1492.25, 1469.74, 1447.90, 1404.81, 1379.38, 1344.82, 1318.89, 1304.30, 1286.66, 1259.26, 1233.49, 1221.06, 1191.27, 1154.34, 1116.47, 1095.28, 1072.93, 1021.60, 1055.68, 963.68, 949.24, 927.40, 919.00,

902.50, 886.70, 869.03, 799.16, 704.66, 633.70, 610.82, 566.83, 547.63, 516.38, 479.06, 445.58, 410.12

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.20 – 7.09 (m, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.72 – 6.58 (m, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.77 – 3.65 (m, 2H), 2.96 – 2.71 (m, 4H), 2.35 – 1.96 (m, 5H), 1.99 – 1.79 (m, 4H), 1.76 – 1.61 (m, 1H), 1.58 – 1.35 (m, 6H), 1.40 – 1.22 (m, 5H), 1.28 (s, 3H), 1.28 – 1.07 (m, 2H), 0.92 – 0.83 (m, 3H), 0.88 – 0.69 (m, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 156.28, 149.51, 142.28, 138.01, 133.80, 133.11, 126.19, 118.99, 116.25, 113.52, 113.16, 81.87, 81.81, 56.07, 50.07, 49.98, 44.02, 43.97, 43.24, 38.72, 38.64, 36.71, 36.62, 31.56, 30.58, 30.56, 29.68, 29.47, 27.27, 27.20, 26.32, 26.25, 23.12, 23.09, 22.63, 14.10, 11.06.

2-O-estronil-3-metoxiestradiol

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.16 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.68 (dd, $J = 12.5, 3.7$ Hz, 2H), 5.29 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.71 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 2.96 – 2.79 (m, 3H), 2.50 (dd, $J = 18.9, 8.6$ Hz, 1H), 2.38 (dt, $J = 12.0, 3.7$ Hz, 1H), 2.27 (dd, $J = 11.0, 4.5$ Hz, 1H), 2.26 – 2.13 (m, 1H), 2.12 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 2.13 – 1.88 (m, 9H), 1.93 – 1.84 (m, 1H), 1.80 – 1.29 (m, 7H), 1.29 – 1.20 (m, 1H), 1.24 – 1.11 (m, 1H), 0.91 (s, 2H), 0.77 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 220.13, 156.28, 149.51, 142.28, 138.01, 138.01, 133.11, 133.80, 126.19, 118.99, 116.25, 113.16, 113.52, 81.81, 56.07, 50.07, 49.88, 48.68, 44.02, 43.97, 43.24, 38.72, 38.64, 36.71, 36.62, 35.9, 30.58, 29.68, 29.47, 27.27, 27.20, 26.4, 26.32, 25.25, 23.12, 13.8, 11.06.

4-O-estradiol-3-metoxiestradiol

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.14 (dd, $J = 22.2, 4.5$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.59 – 6.50 (m, 2H), 3.74 (d, $J = 10.3$ Hz, 5H), 2.90 – 2.72 (m, 3H), 2.51 (ddd, $J = 18.3, 12.0, 6.9$ Hz, 1H), 2.40 – 2.24 (m, 1H), 2.28 – 2.02 (m, 3H), 2.01 – 1.82 (m,

3H), 1.82 (dt, $J = 11.2, 2.9$ Hz, 1H), 1.76 – 1.48 (m, 3H), 1.52 – 1.09 (m, 9H), 0.78 (d, $J = 3.9$ Hz, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 152.70, 152.20, 144.73, 137.80, 136.93, 136.79, 129.80, 126.1, 122.0, 114.5, 111.6, 109.8, 81.9, 81.9, 56.1, 50.1, 50.1, 44.0, 44.0, 43.24, 43.2, 38.7, 38.3, 36.7, 36.7, 30.6, 30.6, 29.7, 27.3, 26.6, 26.3, 26.3, 23.7, 23.1, 23.1, 11.1, 11.1.

CONCLUSIONES

Se logró la síntesis de tres de los compuestos propuestos al principio de este trabajo. El compuesto **8** (4-O-estronil-3-metoxiestradiol) no se pudo aislar de la mezcla de reacción así que se presume que el rendimiento fue bajo.

Sin embargo, en lo que respecta a la reactividad de los isómeros de halogenación en posición 2 y 4, se observó una clara diferencia de reactividad en la reacción de Ullmann. Los productos derivados del isómero 2 muestran que este es más reactivo frente a la reacción de Ullmann si comparamos los rendimientos obtenidos (**5**, 51.7% y **6**, 10%) comparado con **7**, 10% y **8**, que no se pudo cuantificar.

Asimismo, podemos observar en los rendimientos que el estradiol es un sustrato más reactivo en la reacción de Ullmann comparando **5**(51.7%) y **7**(10%) con **6**(10%) y **8**(no cuantificado).

Los experimentos realizados también mostraron que la temperatura fue una variable importante en la reacción de Ullmann, notablemente, incrementar la temperatura de reacción por encima de los 140°C comienza a tener efectos negativos sobre la reacción por la aparición de reacciones secundarias que llevan a la descomposición del estradiol y el derivado halogenado.

Igualmente se observó que la reacción de Büchwald-Hartwig no dio mejores resultados que la reacción de Ullmann, principalmente por la necesidad de usar ligandos específicos que no se encuentran a disposición. Esto y el hecho de que es difícil remover los residuos de paladio del producto para su uso en pruebas clínicas, llevo a la decisión de utilizar exclusivamente la reacción de Ullmann para la síntesis de los productos.

PERSPECTIVAS

- Llevar a cabo la síntesis del éter que no se pudo aislar por una ruta sintética diferente, por ejemplo, mediante la oxidación selectiva de uno los éteres obtenidos.
- Continuar la investigación de que ligandos podrían ser utilizados para mejorar el rendimiento de la reacción de Ullmann o la de Büchwald-Hartwig
- Realizar los estudios teóricos necesarios (docking molecular) para esclarecer los detalles pertinentes a la actividad farmacológica de los compuestos sintetizados
- Las primeras pruebas biológicas ya se están realizando en el departamento de Farmacología, en la Facultad de Medicina de la UNAM.

REFERENCIAS

1. K. Yakimchuk *et al*, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **2013**, 375, 121–129
2. Reginald H. Garrett, *Biochemistry*, Ed. Brooks Cole, 2° ed, **1999**, pp 758-761
3. Madej T. *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, **2014**, 42, 297-303
4. Fan, Q.R. y Hendrickson, W.A., *Nature*, **2005**, 433, 269-277
5. Antonio Blanco, *Química Biológica*, Ed. El Ateneo, 8° edición, p 274,275
6. H. Samavat, M.S. Kurzer, *Cancer Letters*, **2015**, 356, 231–243
7. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa *et al.*, *Steroids*, **2017**, 118, 93–108
8. J. Russo *et al.*, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, **2003**, 87, 1–25
9. Fox Stuart, *Human Physiology*, Mc Graw Hill, 2003, p 292-298
10. Alexis Parada-Bustamante *et al.*, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2015**, Vol. 15, No. 5, 427-438
11. Adlercreutz H., Tikkanen M.J. y Hunneman D.H., *J. Steroid Biochem.*, **1974**, 5, 211
12. Fishman J. y Martucci C., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1980**, 51, 611
13. A. O. Mueck y H. Seeger, *Climacteric*, **2007**, 10, 62-65
14. Clark J.H. y Markaverich B.M., *Pharm. Ther.*, **1983**, 21, 429
15. Reddel R.R. y Sutherland R.L., *Cancer Res.*, **1987**, 47, 5323
16. Emons G., Ball P. y Knuppen R., *Radioimmunoassays of catechol estrogens*. Raven, New York, 1983, 151
17. Liehr J.G. y Roy D., *Free Radic. Biol. Med.*, **1990**, 8, 415

18. Merriam G.R. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1980**, 51, 1211
19. Schneider J., Huh M.M., Bradlow H.L. y Fishman J., *J. Biol. Chem.*, **1984**, 259, 4840
20. A.O. Mueck *et al.*, *Maturitas*, **2002**, 43, 1-10
21. C.H. van Aswegen, R.H. Purdy y J.L. Wittliff, *J. Steroid Biochem.*, **1989**, 32, 485–492.
22. B.T. Zhu y A.H. Conney, *Carcinogenesis*, **1998**, 19, 1–27.
23. Tara E. Sutherland *et al.*, *Drug Discovery Today*, Volumen 12, tomos 13 y 14, **2007**, 577-584
24. Nehal J. Lakhani *et al.*, *PHARMACOTHERAPY*, Volumen 23, tomo 2, **2003**, 165-172
25. Theodora W. Greene, Peter G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Ed. John Wiley & Sons, Inc, 3° edición, 1999, pp. 250-257
26. Ziran Kexueban, *Journal of Jishou University*, **2008**, 29(6), 84-87.
27. Jingxi Huagong, **2008**, 25(8), 817-820.
28. Armando Córdova y Kim D. Janda, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 8248-8259
29. L. Zuo *et al.*, *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49, 4054–4056
30. Yuqing Cao, *International Journal of Chemistry*, **2011**, Vol. 3, No. 3, 113-117
31. Victor X. Chen *et al.*, *Chem. Eur. J.*, **2013**, 19, 4849 – 4857
32. J. Madec *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 2253–2261
33. Erik Helgstrand, *Acta Chem. Scand.*, **1964**, 18, 1616-1622
34. Ullmann F., Bielecki J., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1901**, 34, 2174
35. Ullmann F., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1903**, 36, 2382

36. Ullman, F., Sponagel P., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1905**, 38, 2211
37. Goldberg I., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1906**, 39, 1691.
38. Kosugi, M., Kameyama, M. y Migita, T., *Chem. Lett.*, **1983**, 12, 927–928.
39. Guram, A. S., Rennels, R. A., Buchwald, S. L., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34, 1348–1350
40. Anil S. Guram, *Org. Process Res. Dev.*, **2016**, 20, 1754–1764
41. A. Majumder *et al.*, *Journal of Organometallic Chemistry*, **2015**, 781, 23-34
42. Nevin Gürbüz *et al.*, *Turk J. Chem.*, **2015**, 39, 1115-1157
43. Attila Aranyos *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121 (18), pp 4369–4378
44. Cunwei Qian *et al.*, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2013**, Vol. 34, No. 12, 3915-3918
45. Subhajit Bhunia *et al.*, *Angewandte Chemie*, **2017**, Vol. 56, Issue51, 16136-16179
46. Li Yang *et al.*, *Synthetic Communications*, **2014**, 44, 2468–2477
47. Mireia Rovira *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2016**, 81, 7315–7325
48. Duangruthai Phithak *et al.*, *APCBEE Procedia*, **2012**, 3, 161 – 166
49. Carlo Sambigiagio *et al.*, *Chem. Eur. J.*, **2014**, 20, 17606 – 17615
50. Liu Yuhua, Li Gang y Yang Lianming, *Chinese Journal of Chemistry*, **2009**, 27, 423—427
51. Zhu, Xin-Hai *et al.*, *Chinese Journal of Chemistry*, **2007**, 25, 546—552
52. Imma Güell y Xavi Ribas, *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 3188–3195
53. Evans, D., Katz, J., West, T., *Tet. Lett.*, **1998**, 39, 2937-2940.
54. Robert Thornton Morrison y Robert Neilson Boyd, *Química Orgánica*, Ed. Addison Wesley Iberoamericana, 1987, USA, pp.689-692

55. Del Valle Peralta, Andrés, Síntesis de o-aril dímeros estrogénicos mediante un acoplamiento tipo Ullmann para su caracterización biológica como metahormonas. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, 2017
56. Tongjie Hu *et al*, *Chem. Commun.*, **2009**, 7330–7332
57. Vogel Arthur, *Vogel's Textbook of practical organic chemistry including qualitative organic analysis*, Longman Group Limited London, 4° ed, USA, 1979, pp 264-279

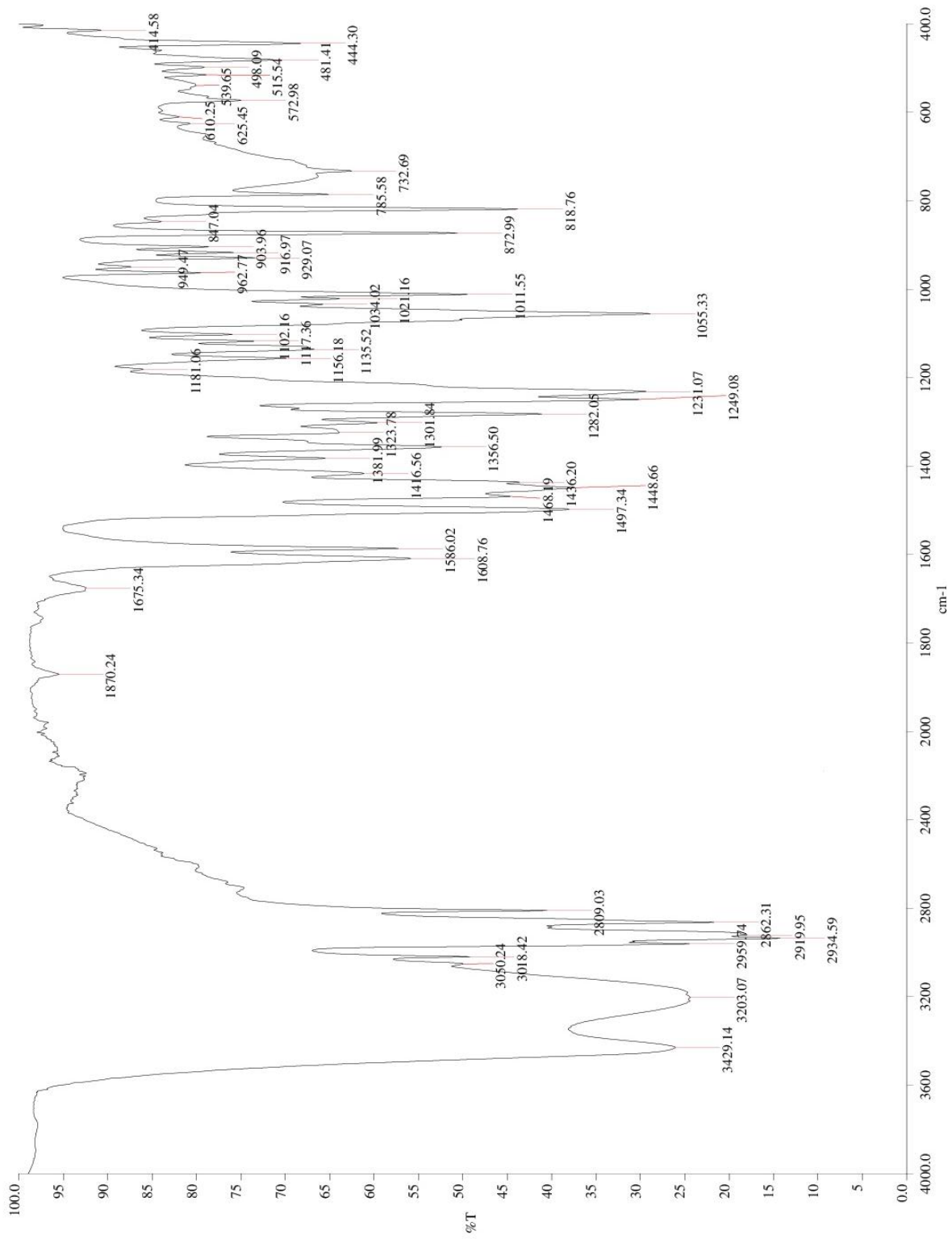
ANEXOS.

- I. Espectros de IR**

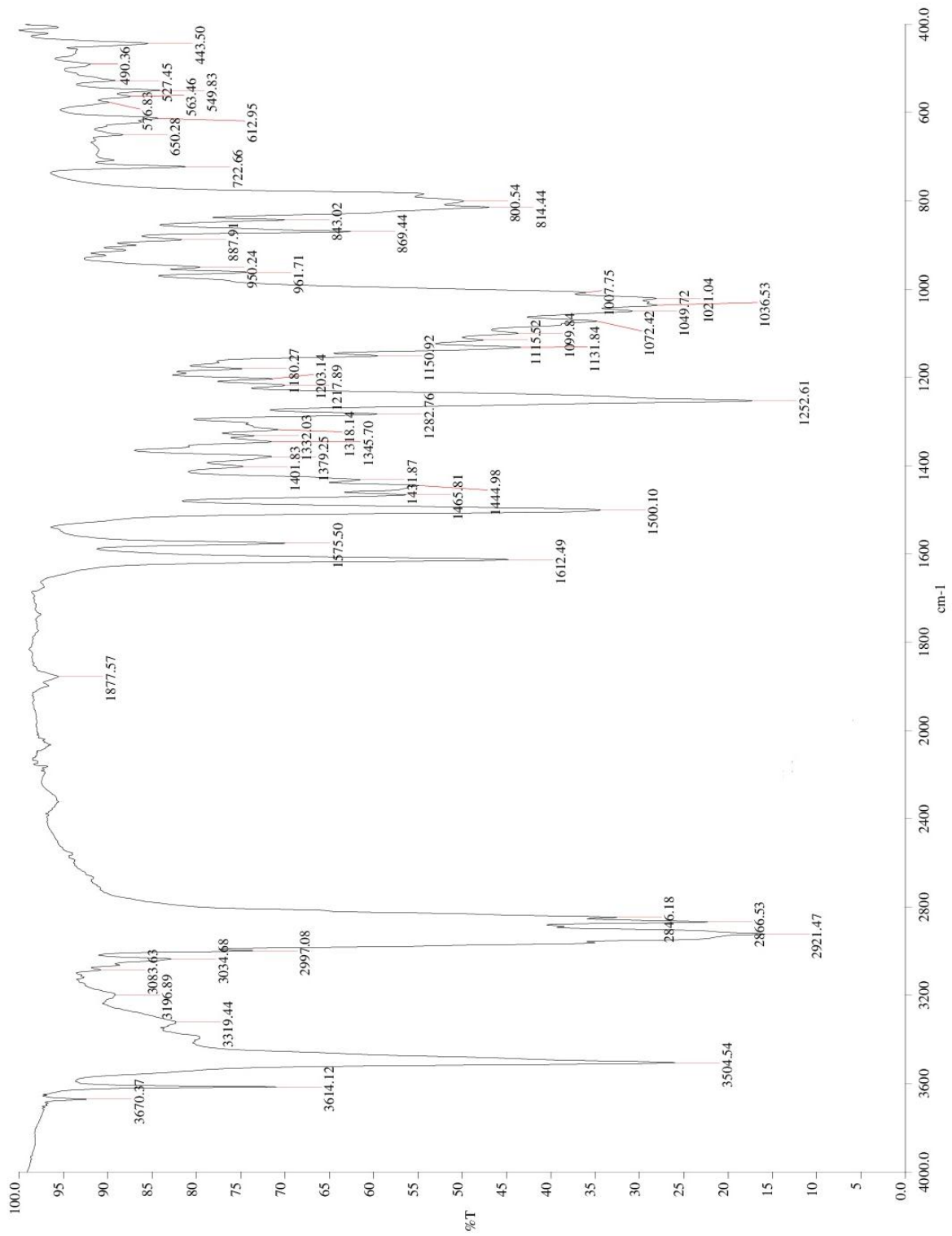
- II. Espectros de RMN ^1H , ^{13}C , 2D**

- III. Espectro de masas**

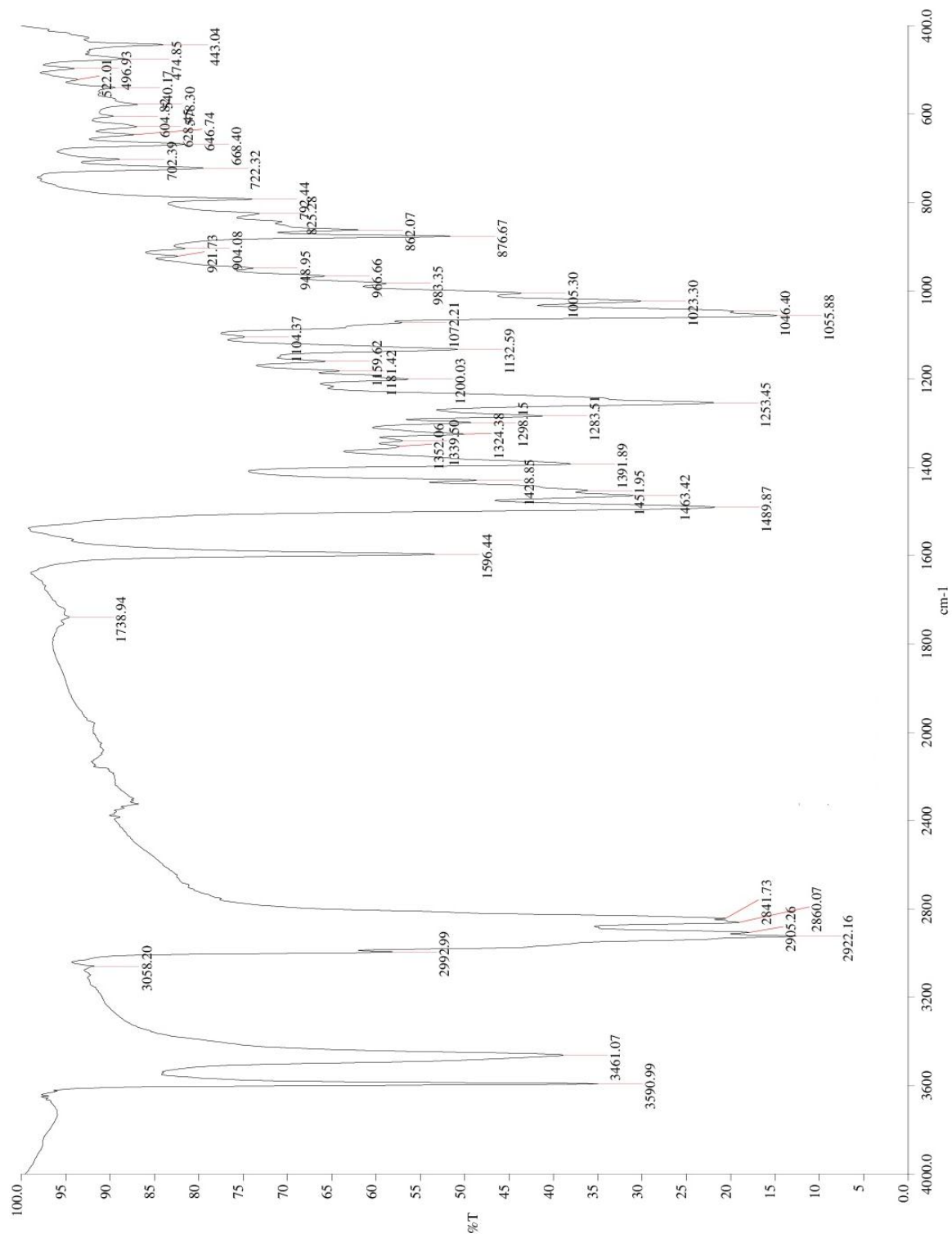
- IV. Visualización de moléculas optimizadas**



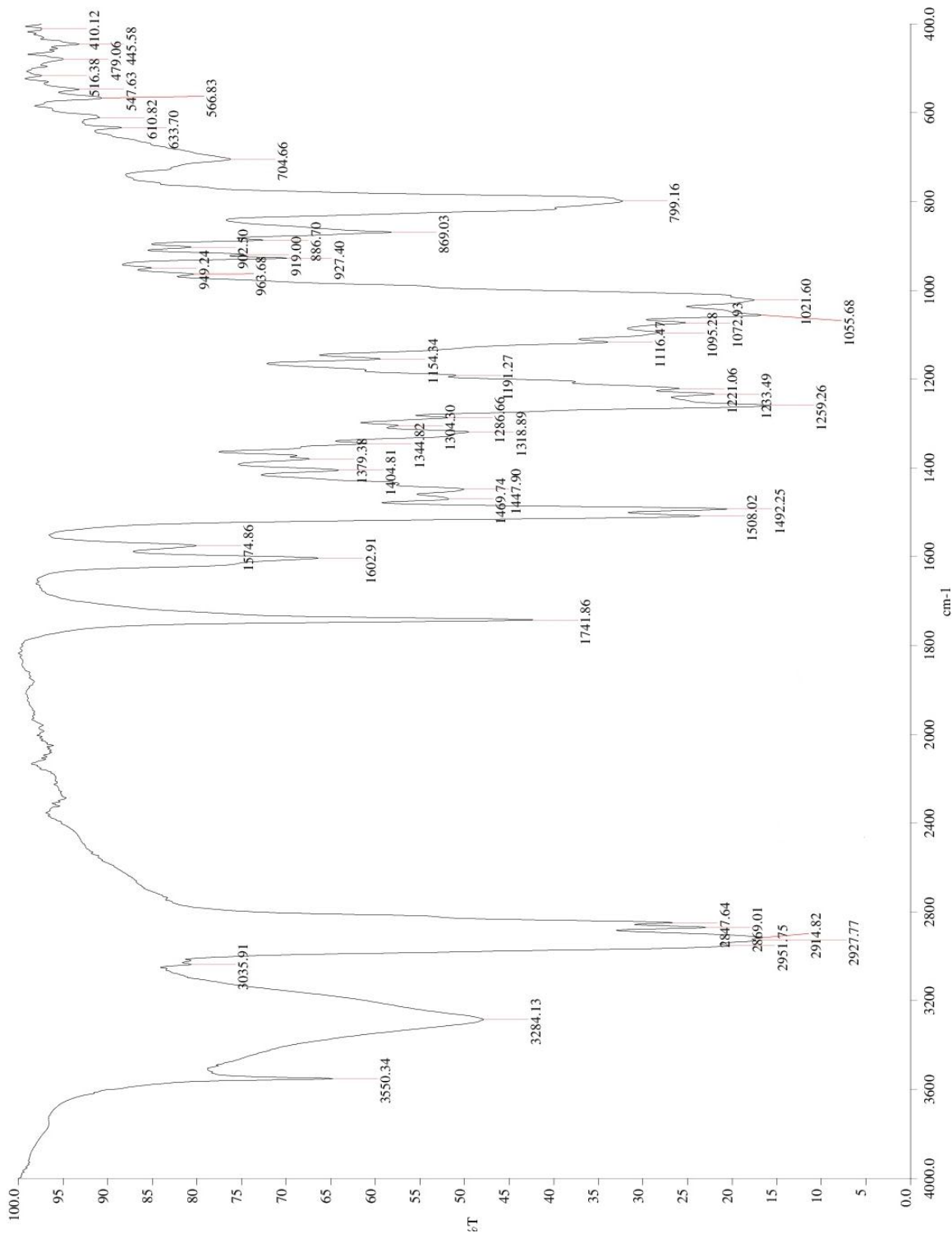
Espectro 1. Espectro de IR del estradiol



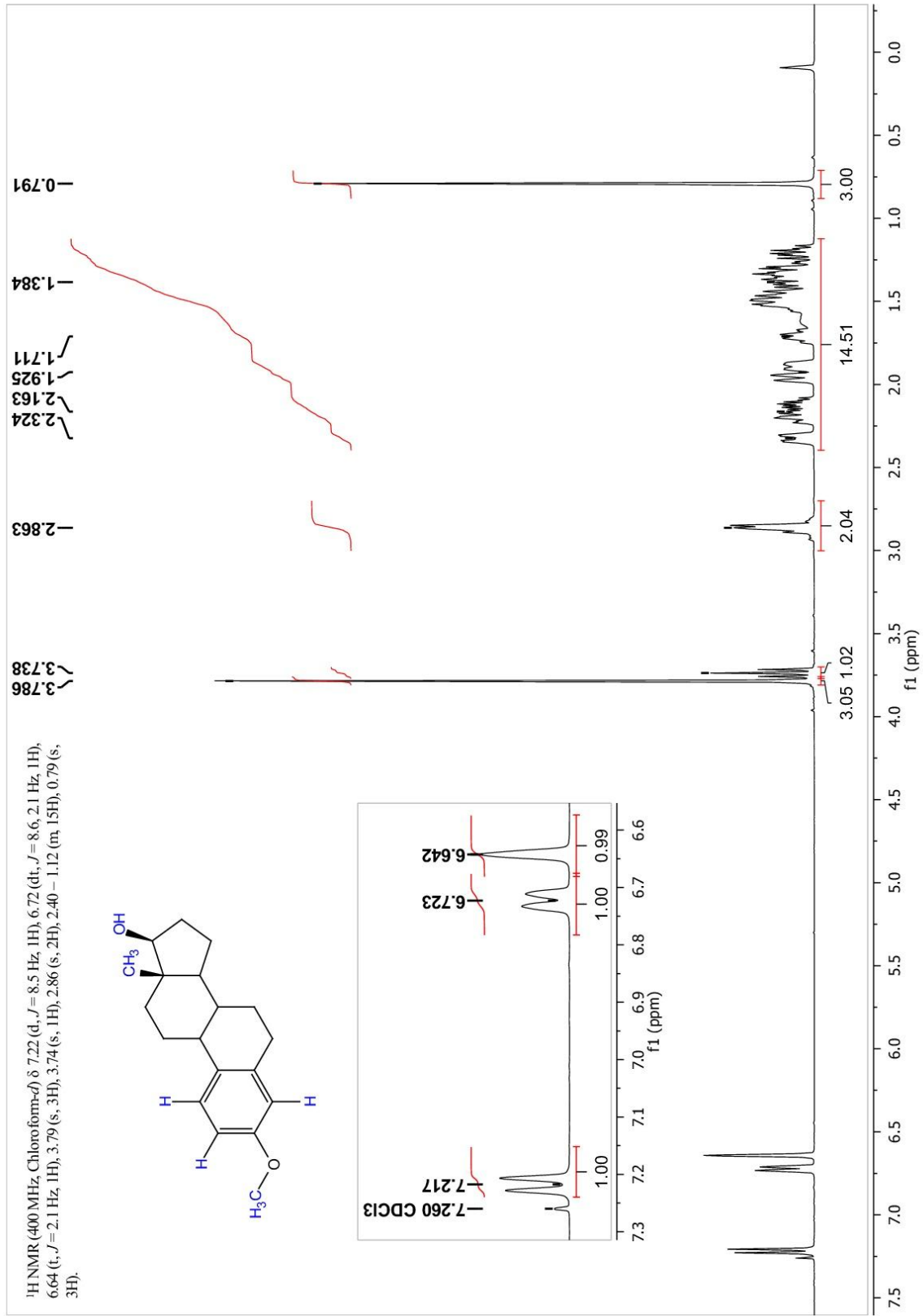
Espectro 2. Espectro de IR del 3-metoxi estradiol



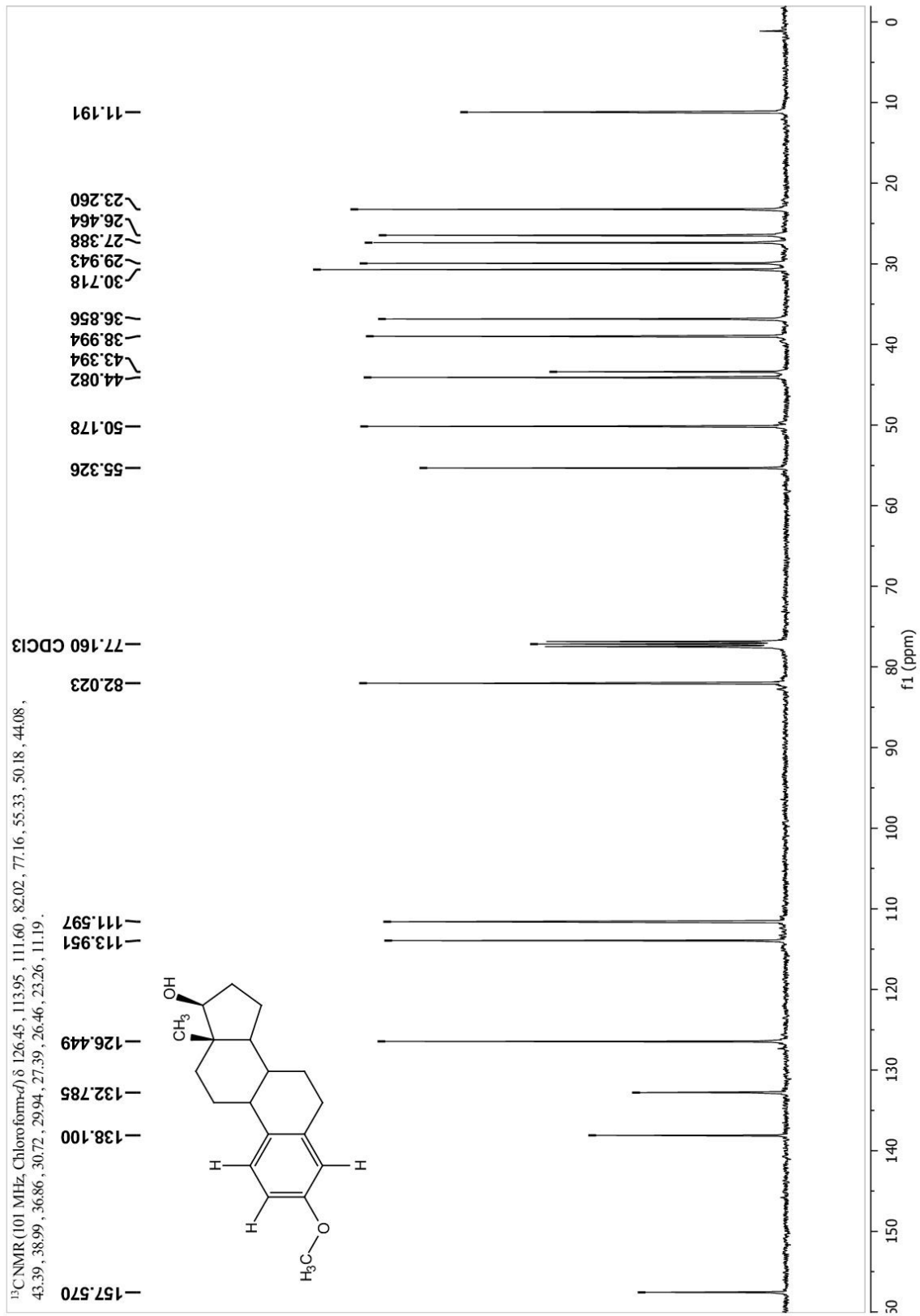
Espectro 3. Espectro de IR del 2-bromo 3-metoxi estradiol



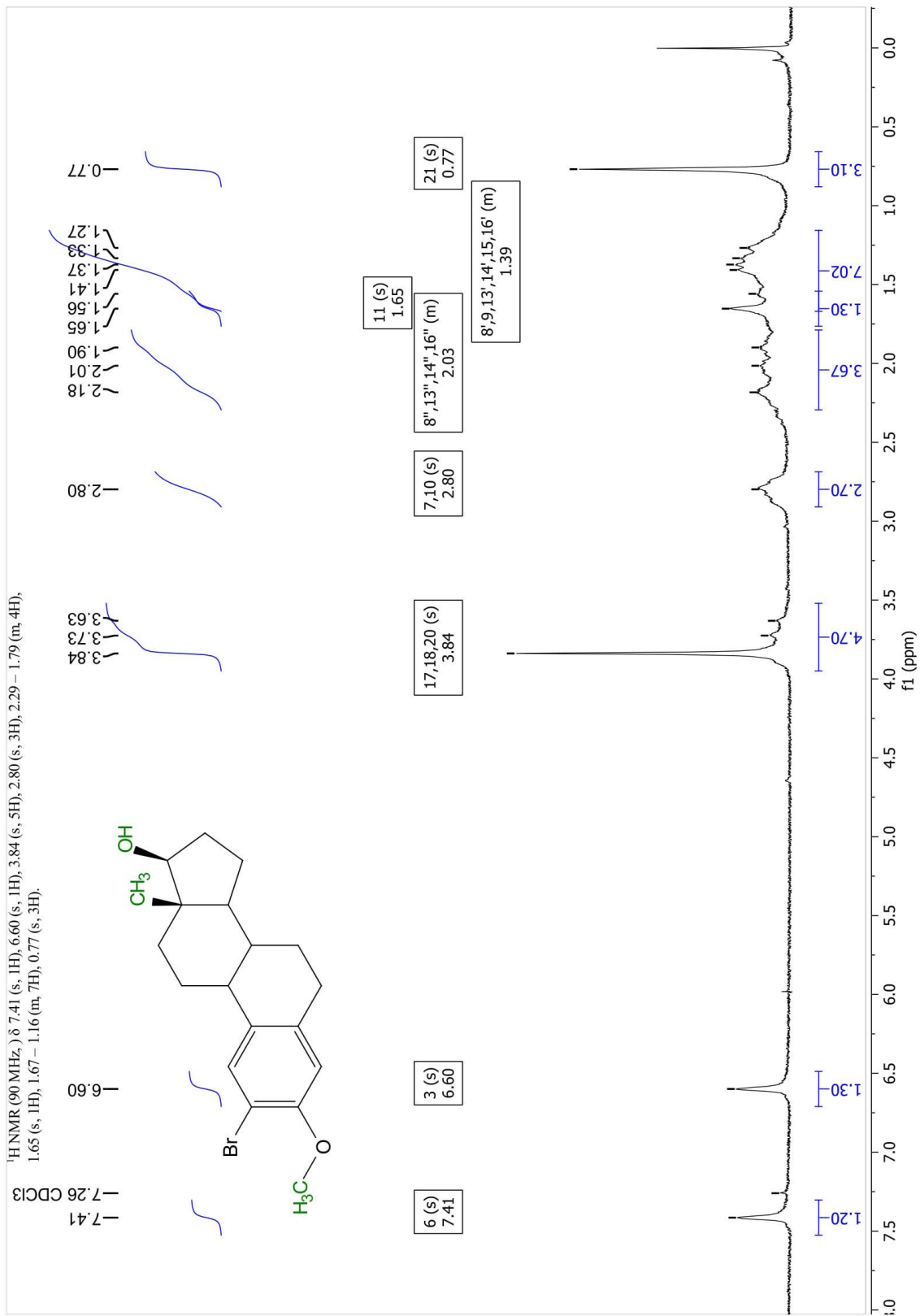
Espectro 4. Espectro de IR del 2-O-estradiol-3-metoxi estradiol



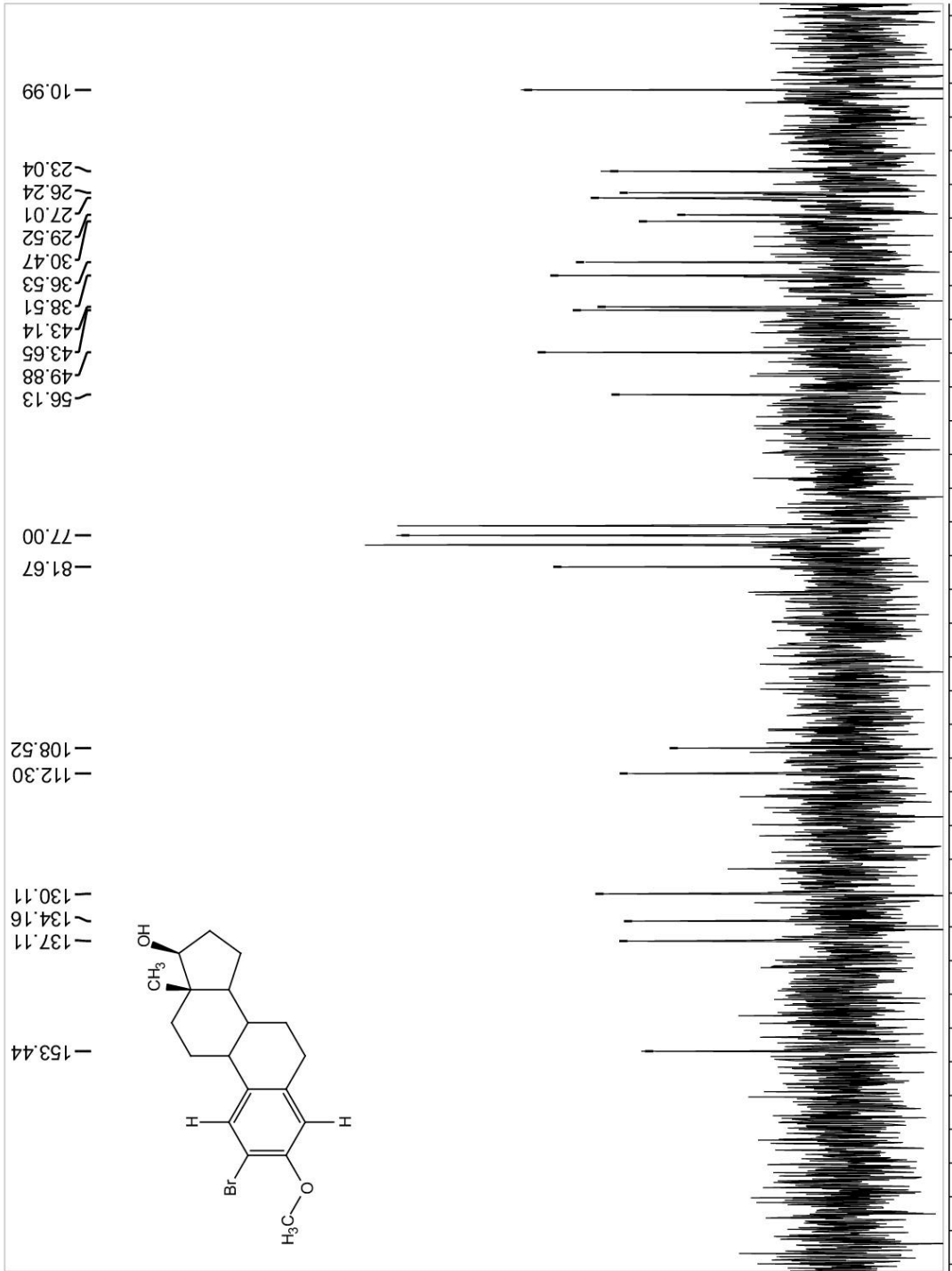
Espectro 5. Espectro de RMN ¹H del 3-metoxi estradiol



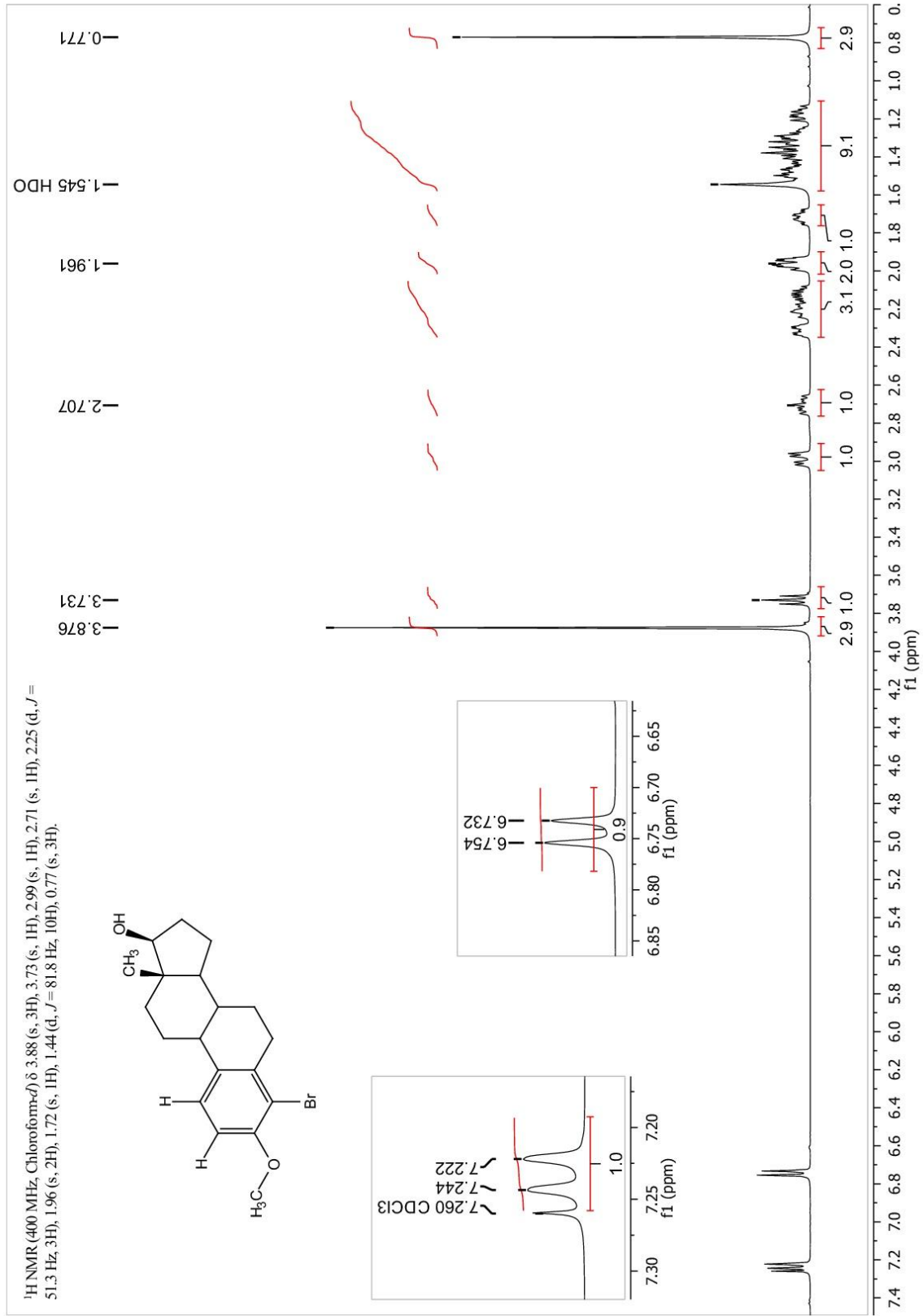
Espectro 6. Espectro de RMN ¹³C del 3-metoxi estradiol



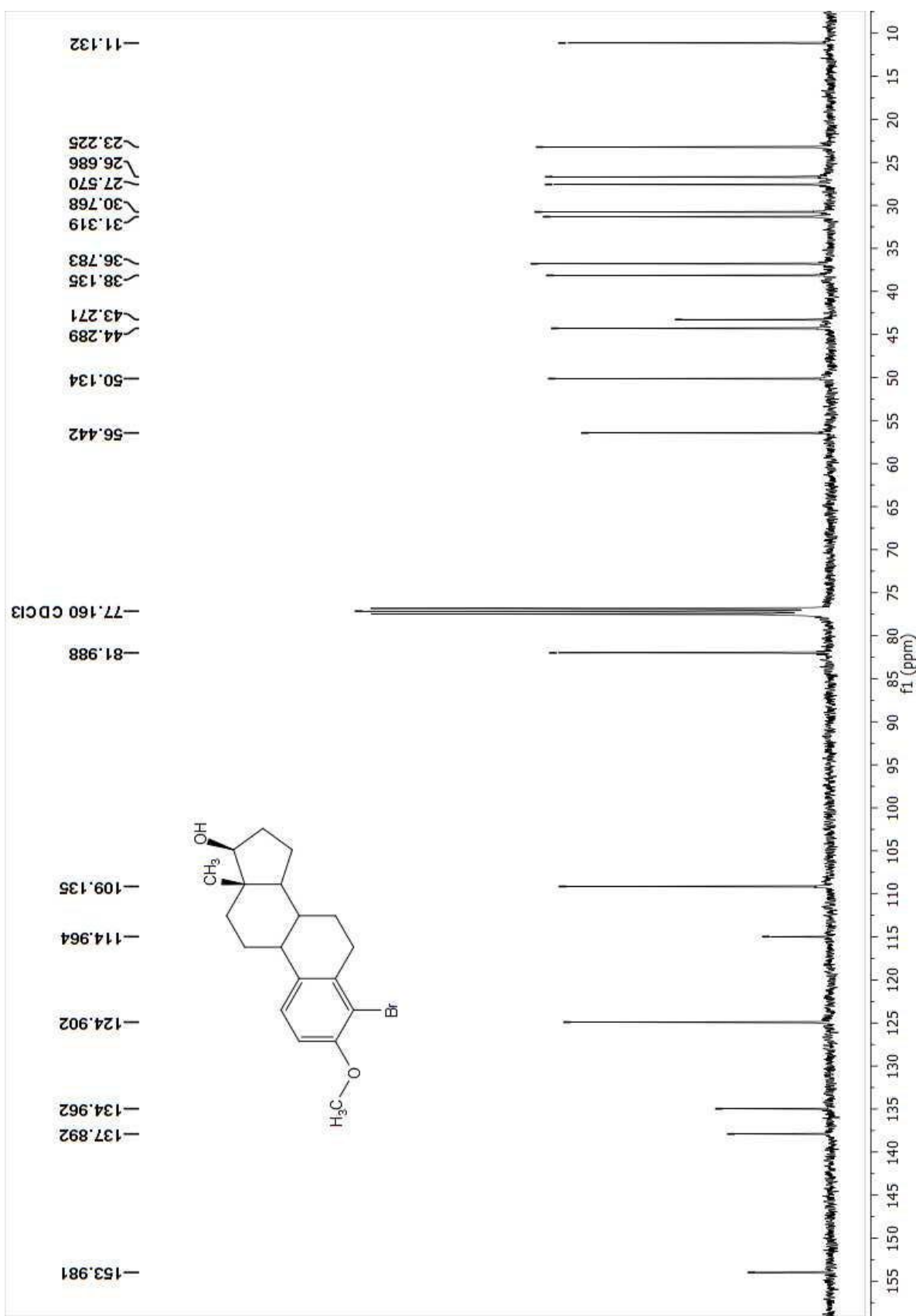
Espectro 7. Espectro de RMN ¹H del 2-bromo-3-metoxi estradiol



Espectro 8. Espectro de RMN ¹³C del 2-bromo-3-metoxi estradiol

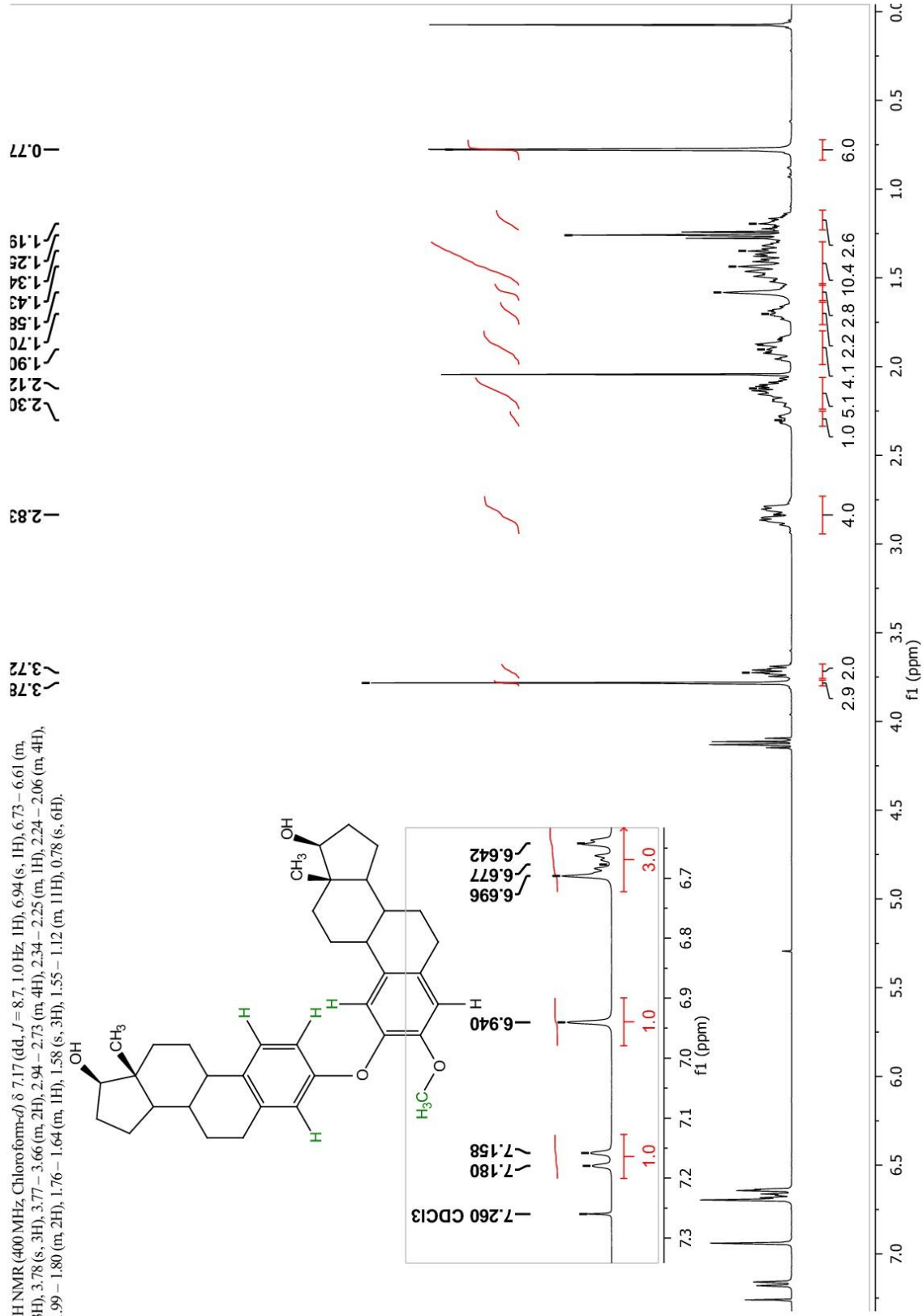


Espectro 9. Espectro de RMN ¹H del 4-bromo-3-metoxi estradiol

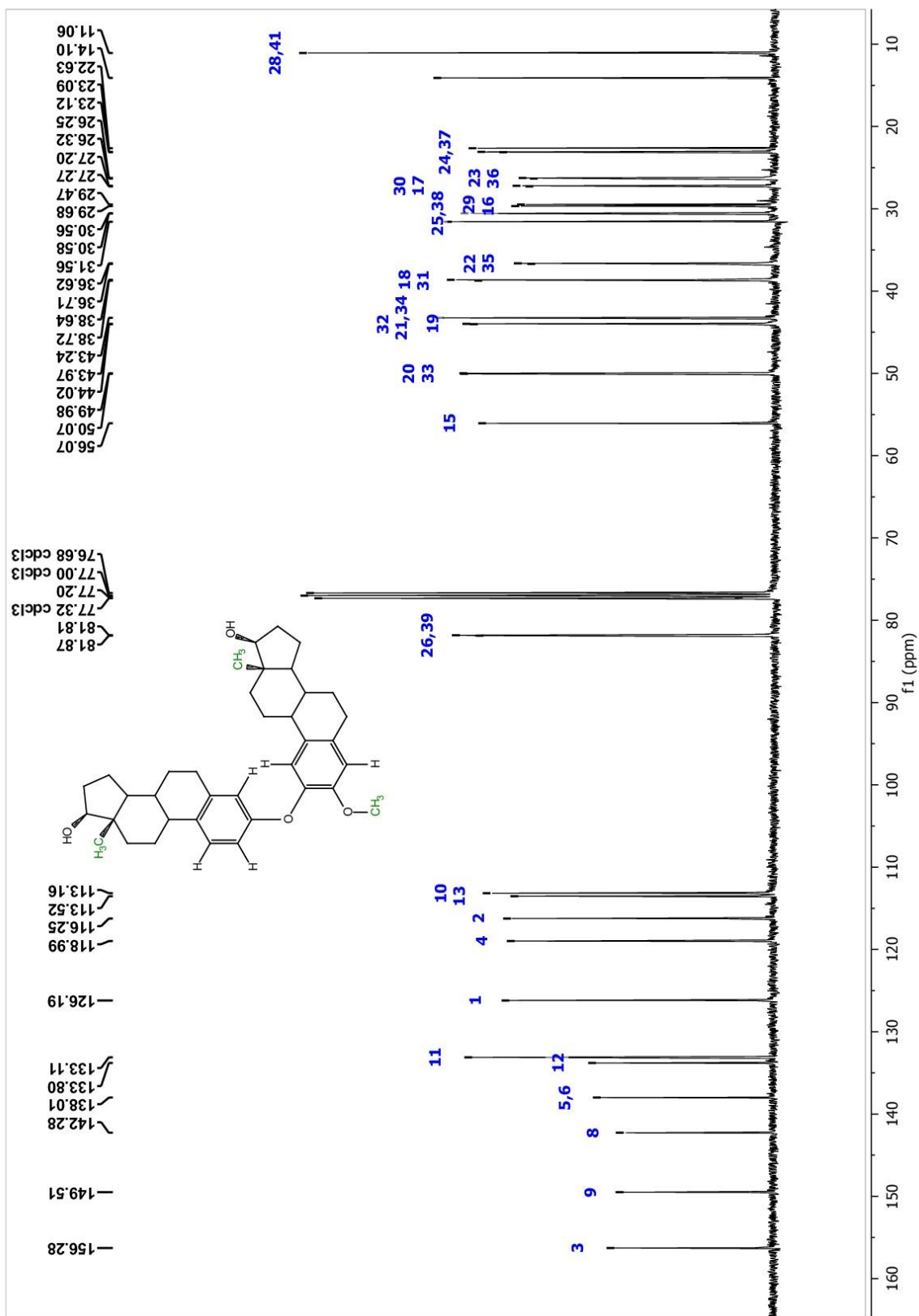


Espectro 10. Espectro de RMN ¹³C del 4-bromo-3-metoxi estradiol

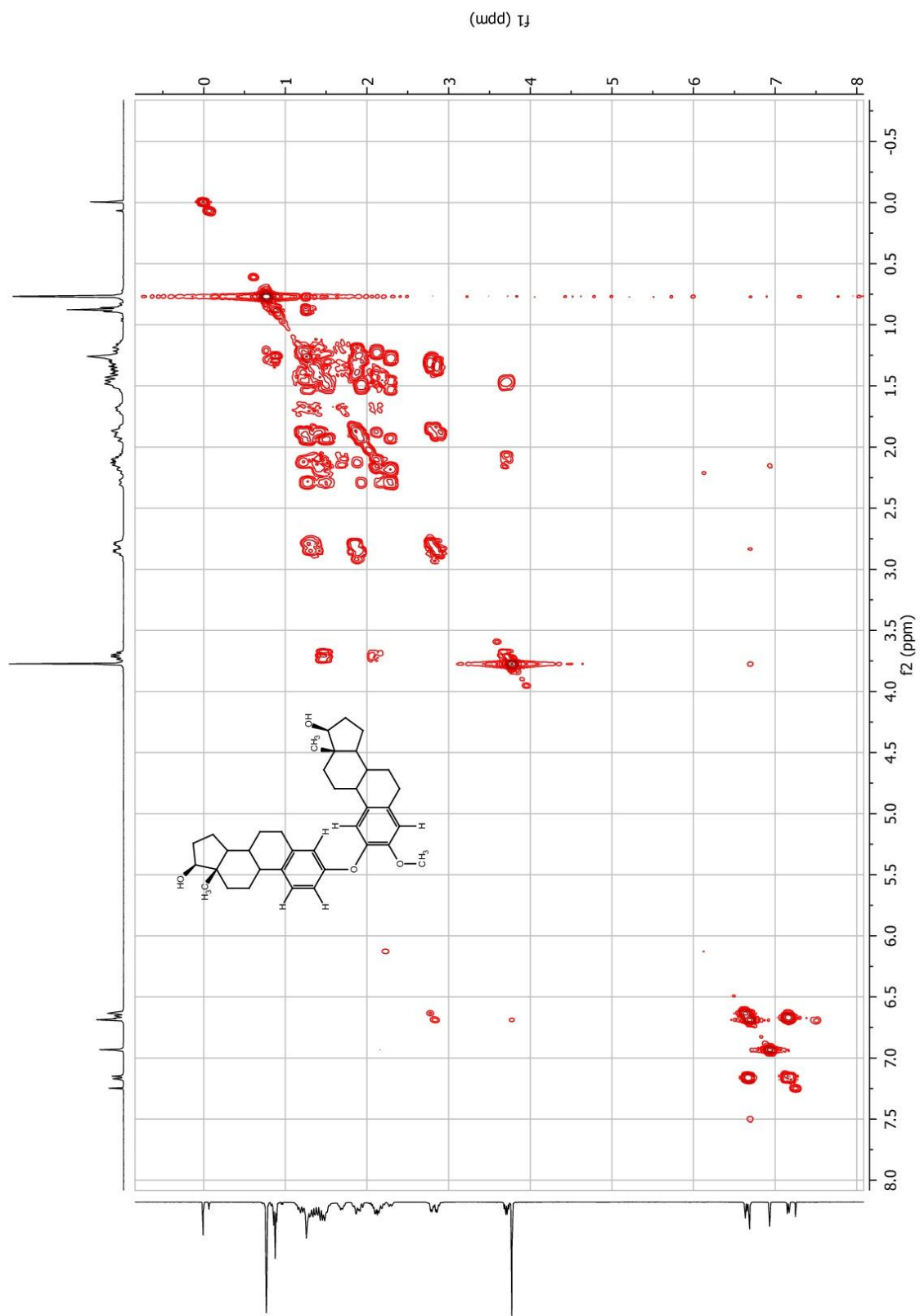
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 7.17 (dd, *J* = 8.7, 1.0 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.73 – 6.61 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.77 – 3.66 (m, 2H), 2.94 – 2.73 (m, 4H), 2.34 – 2.25 (m, 1H), 2.24 – 2.06 (m, 4H), 1.99 – 1.80 (m, 2H), 1.76 – 1.64 (m, 1H), 1.58 (s, 3H), 1.55 – 1.12 (m, 11H), 0.78 (s, 6H).



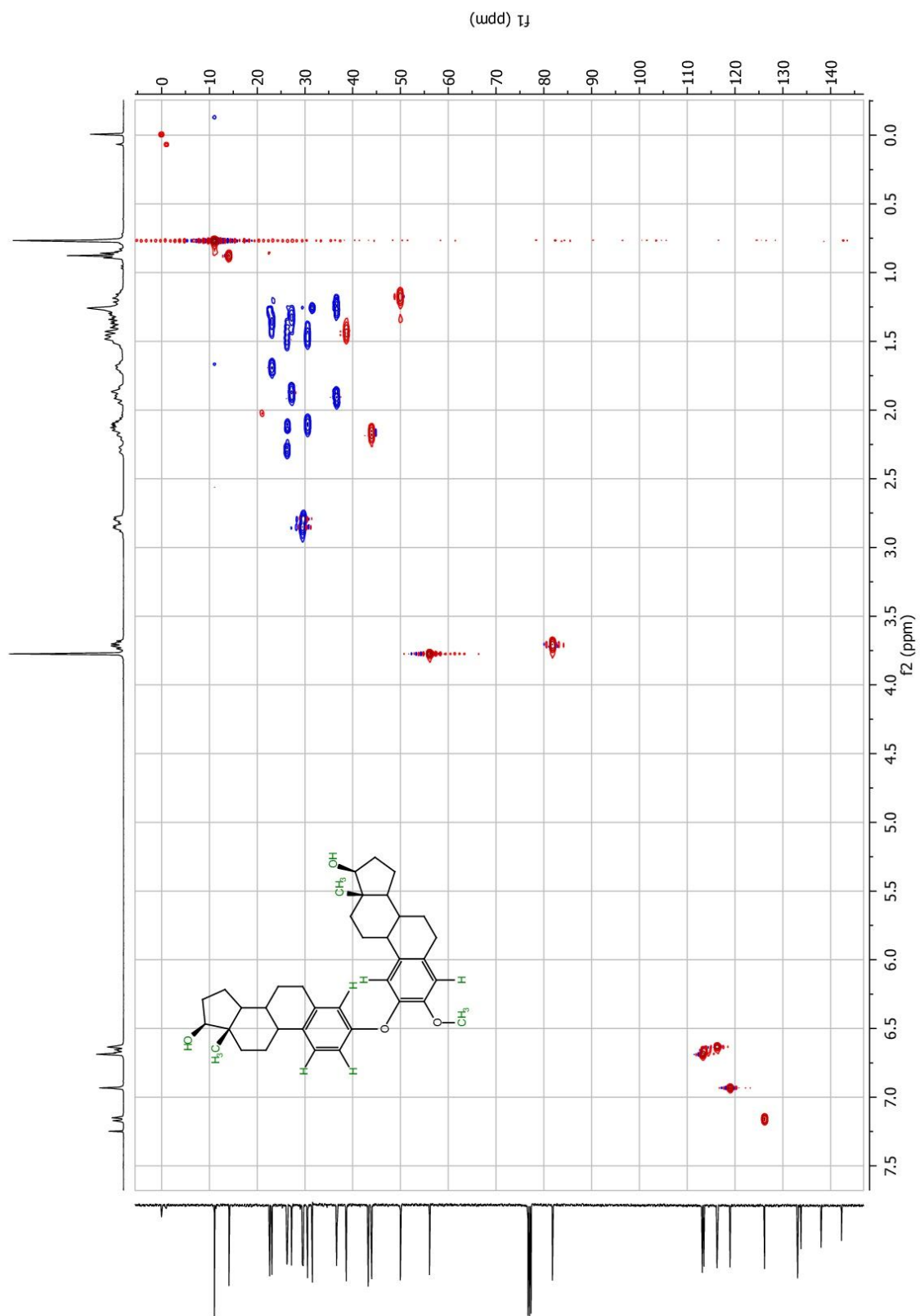
Espectro 11. Espectro de RMN ¹H del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol



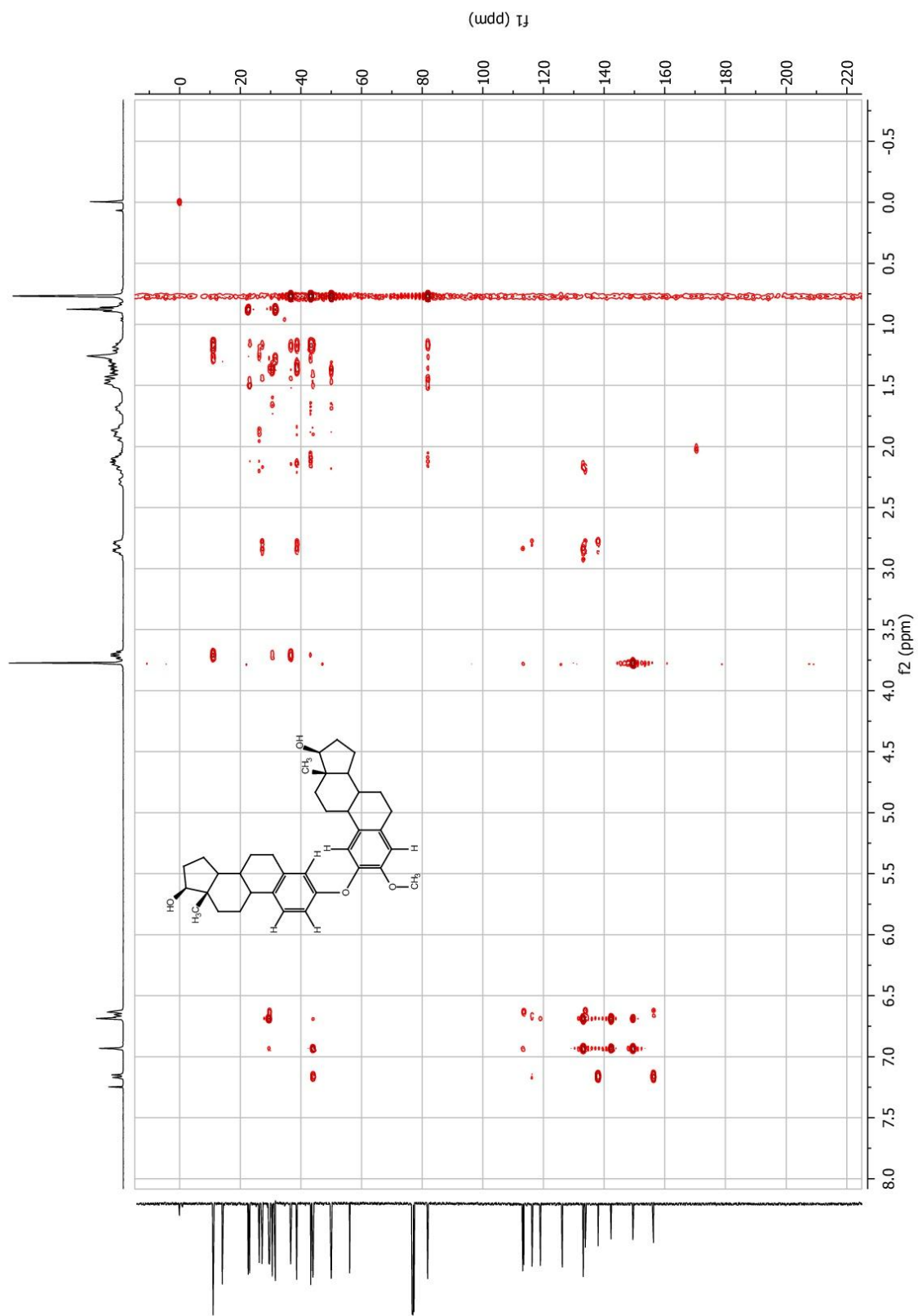
Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol



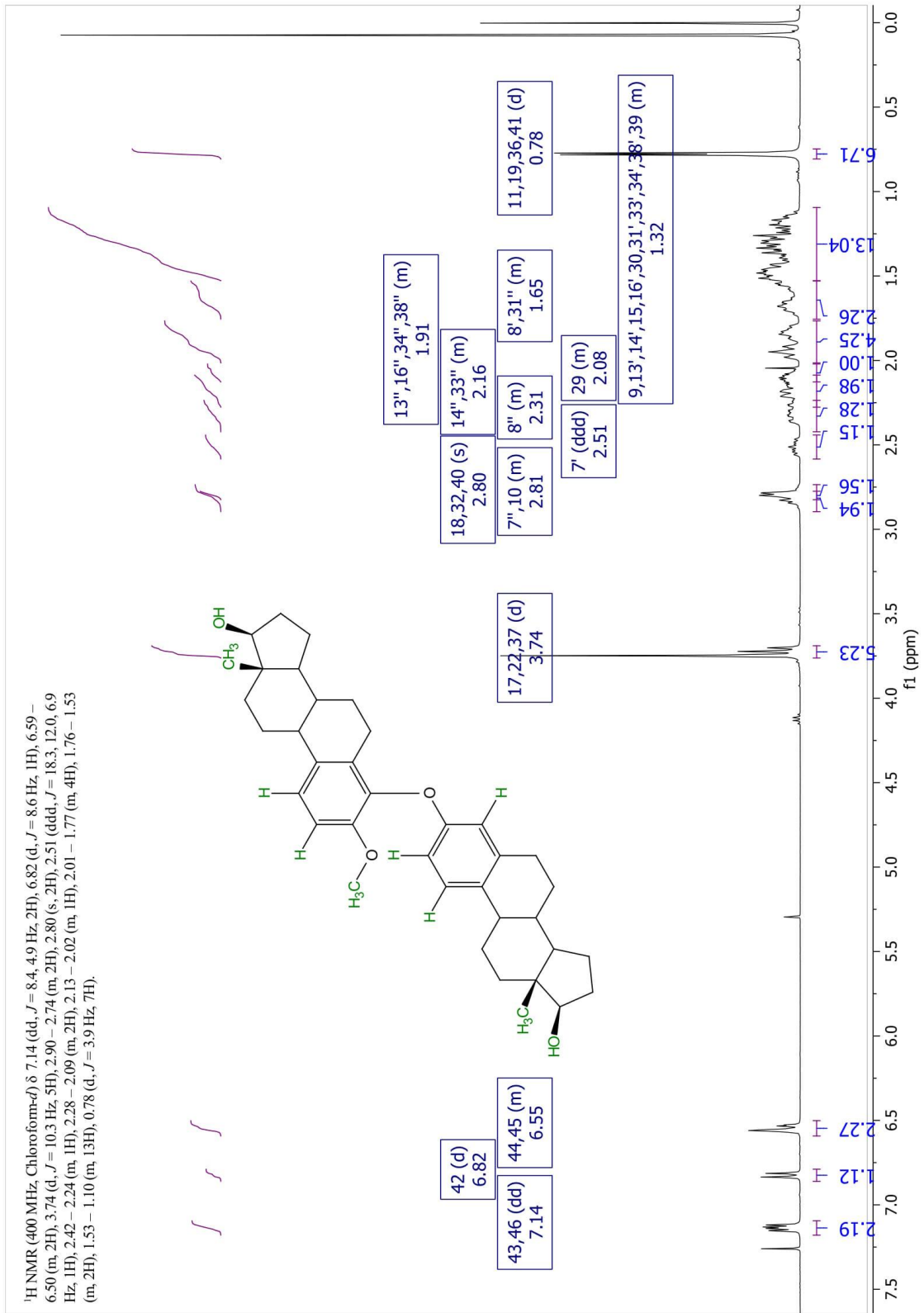
Espectro 13. Espectro COSY del 2-O-estradiol-3-metoxi estradiol



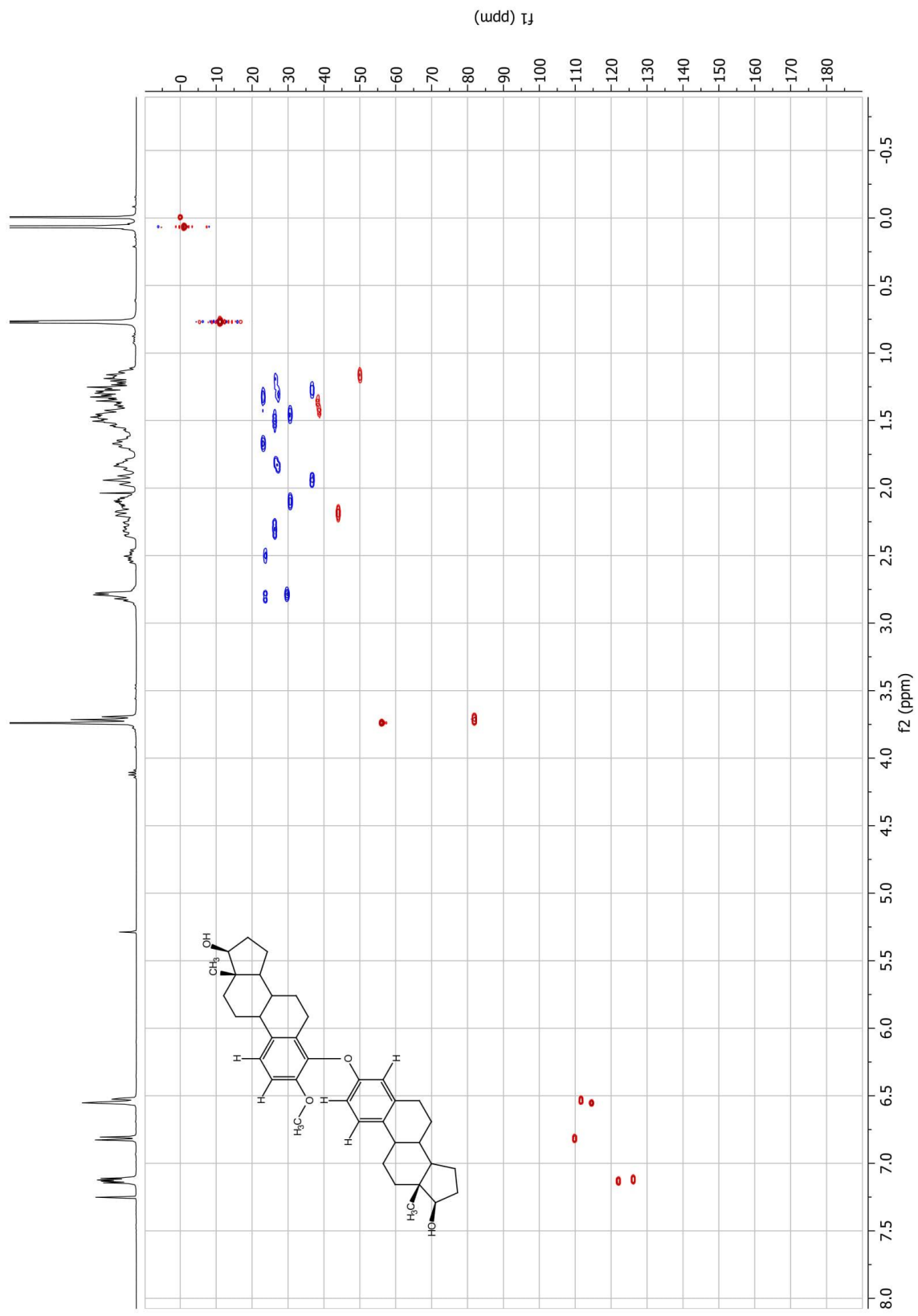
Espectro 14. Espectro HSQC del 2-O-estradiol-3-metoxi estradiol



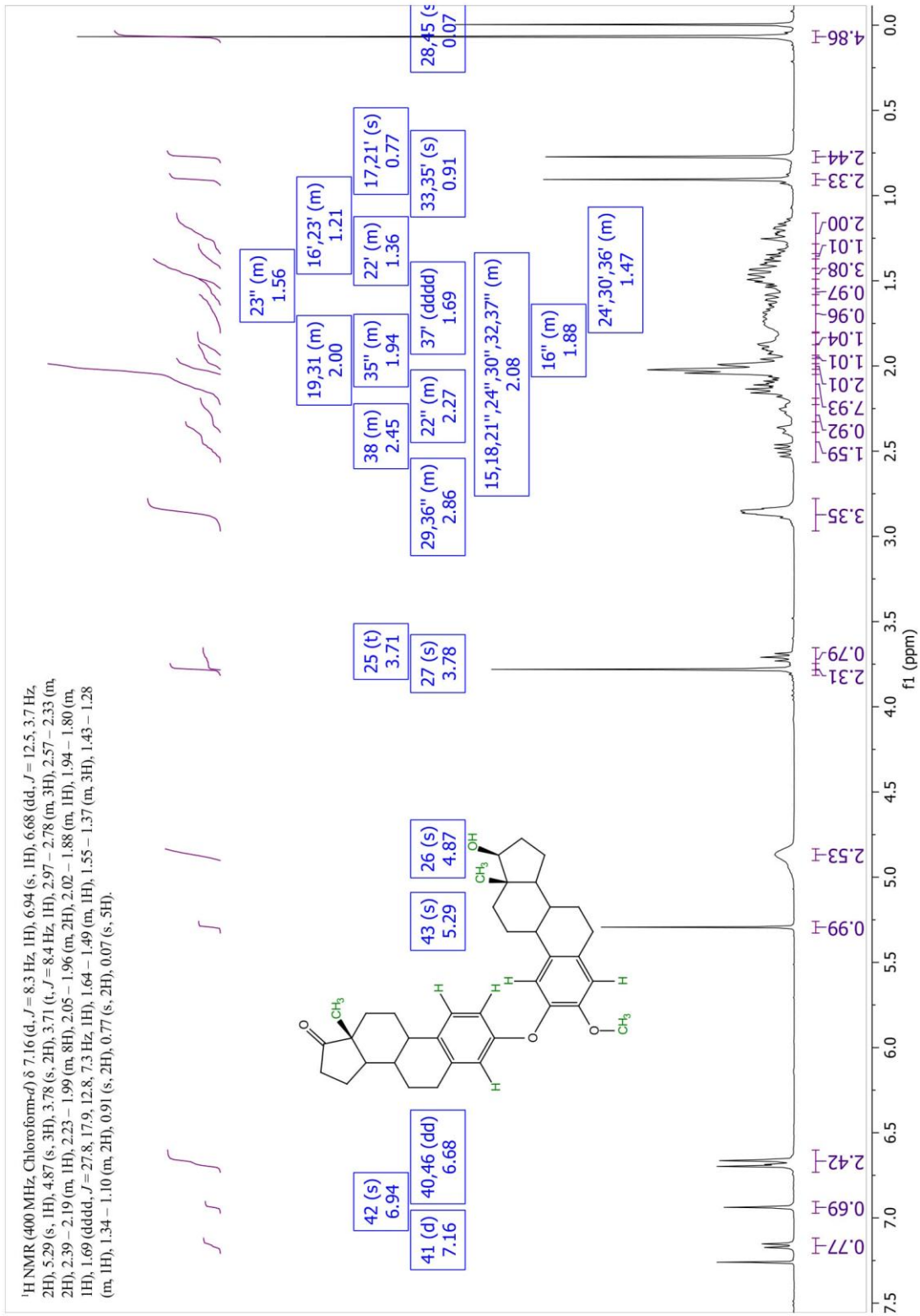
Espectro 15. Espectro HMBC del 2-O-estradiol-3-metoxiestradiol



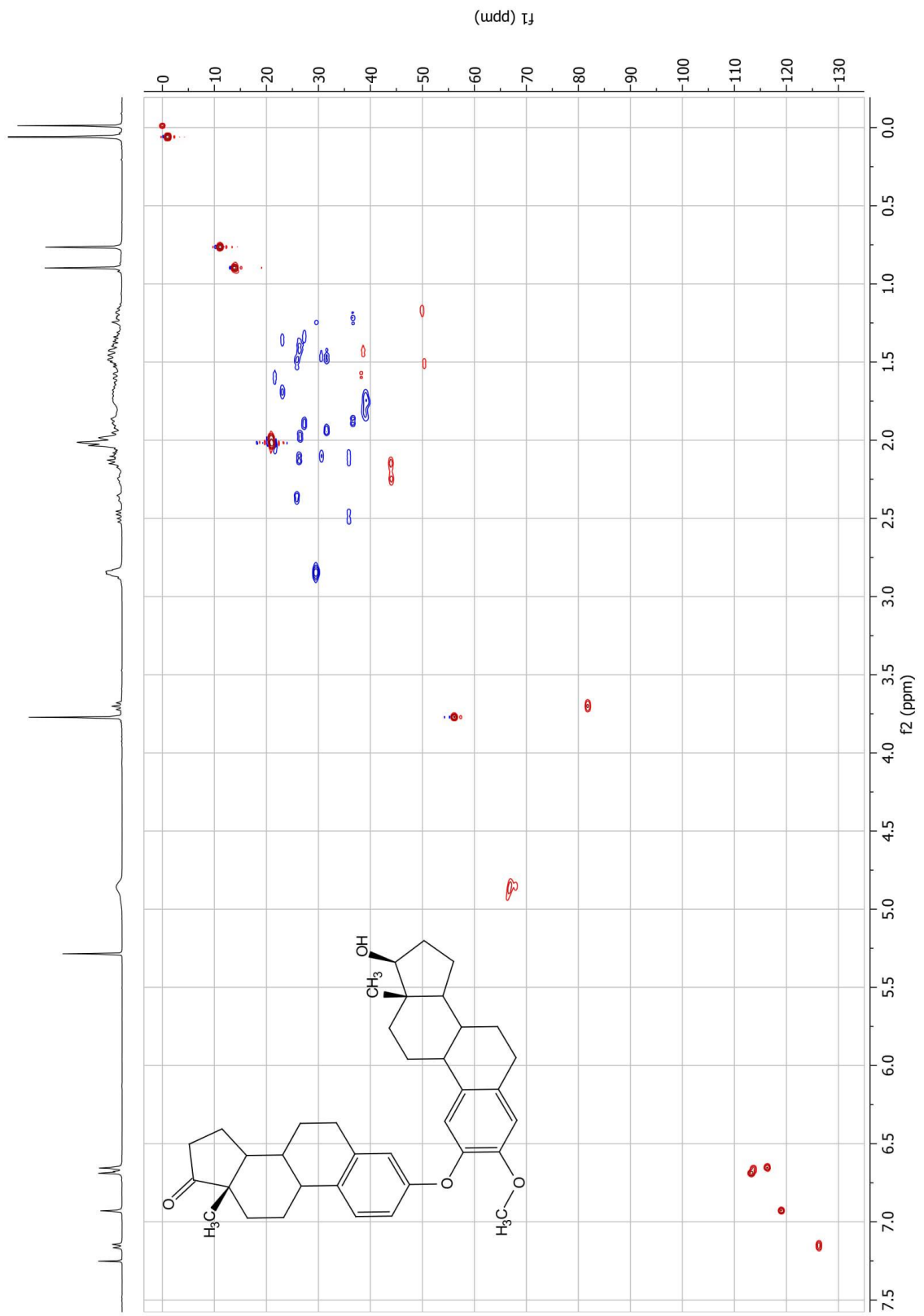
Espectro de RMN ¹H del 4-O-estradiol-3-metoxi estradiol



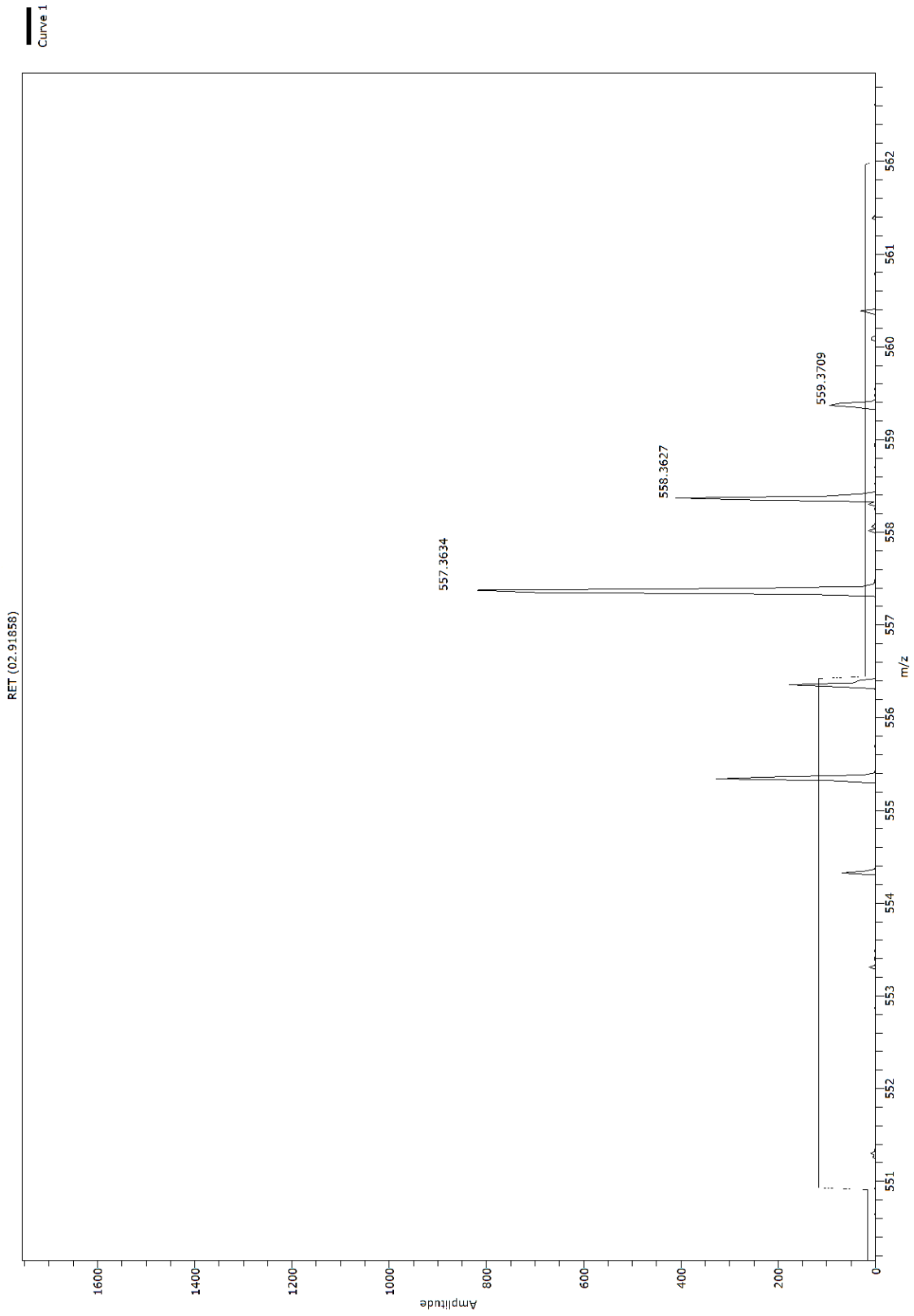
Espectro 17. Espectro HSQC del 4-O-estradiol-3-metoxi estradiol



Espectro de RMN ¹H del 2-O-estronil-3-metoxi estradiol



Espectro 19. Espectro HSQC del 2-O-estronil-3-metoxi estradiol



Espectro 20. Espectro de masas ampliado del 2-O-estradiol-3-metoxi estradiol

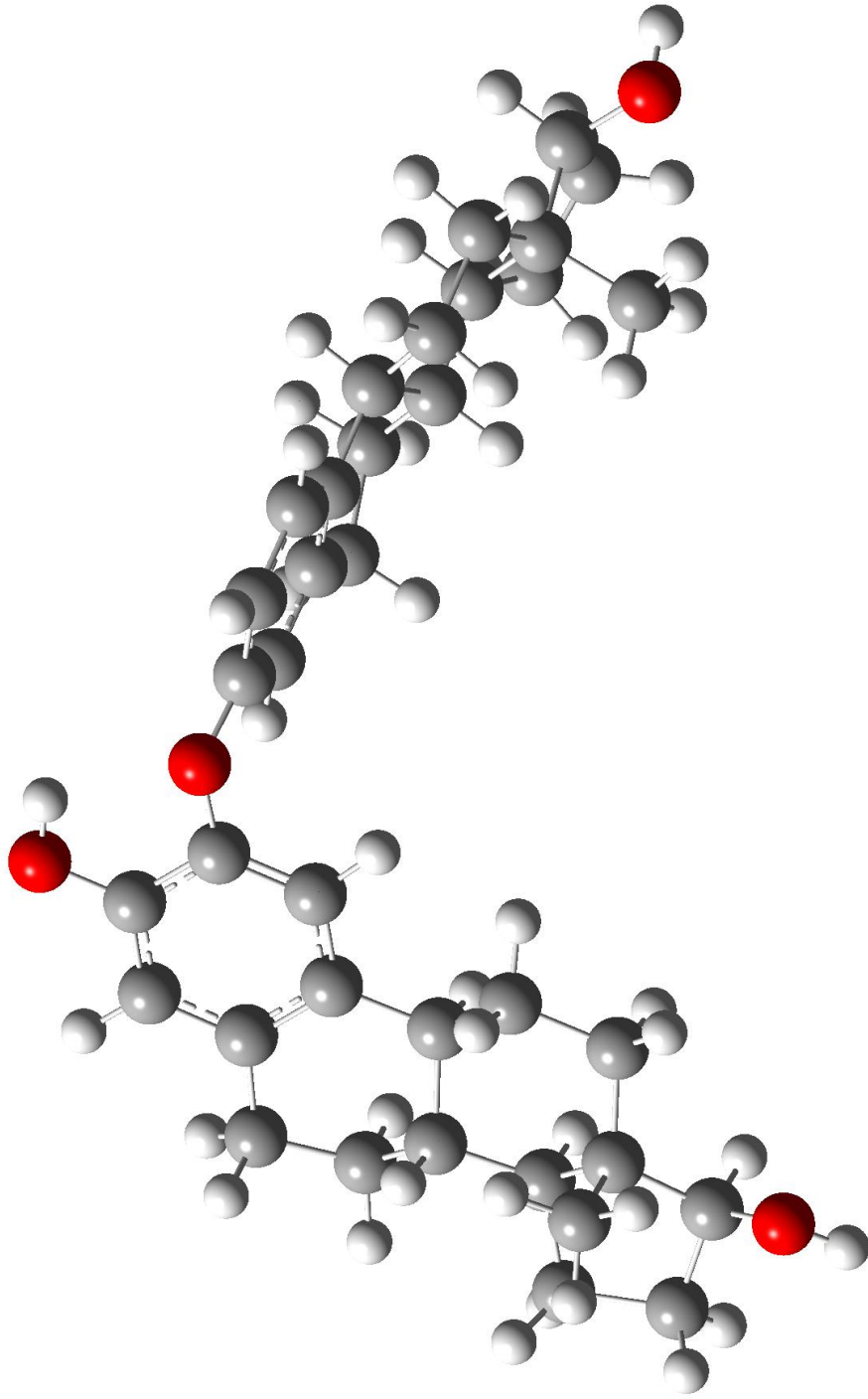


Figura 40. Representación visual del 2-O-estradiol estradiol

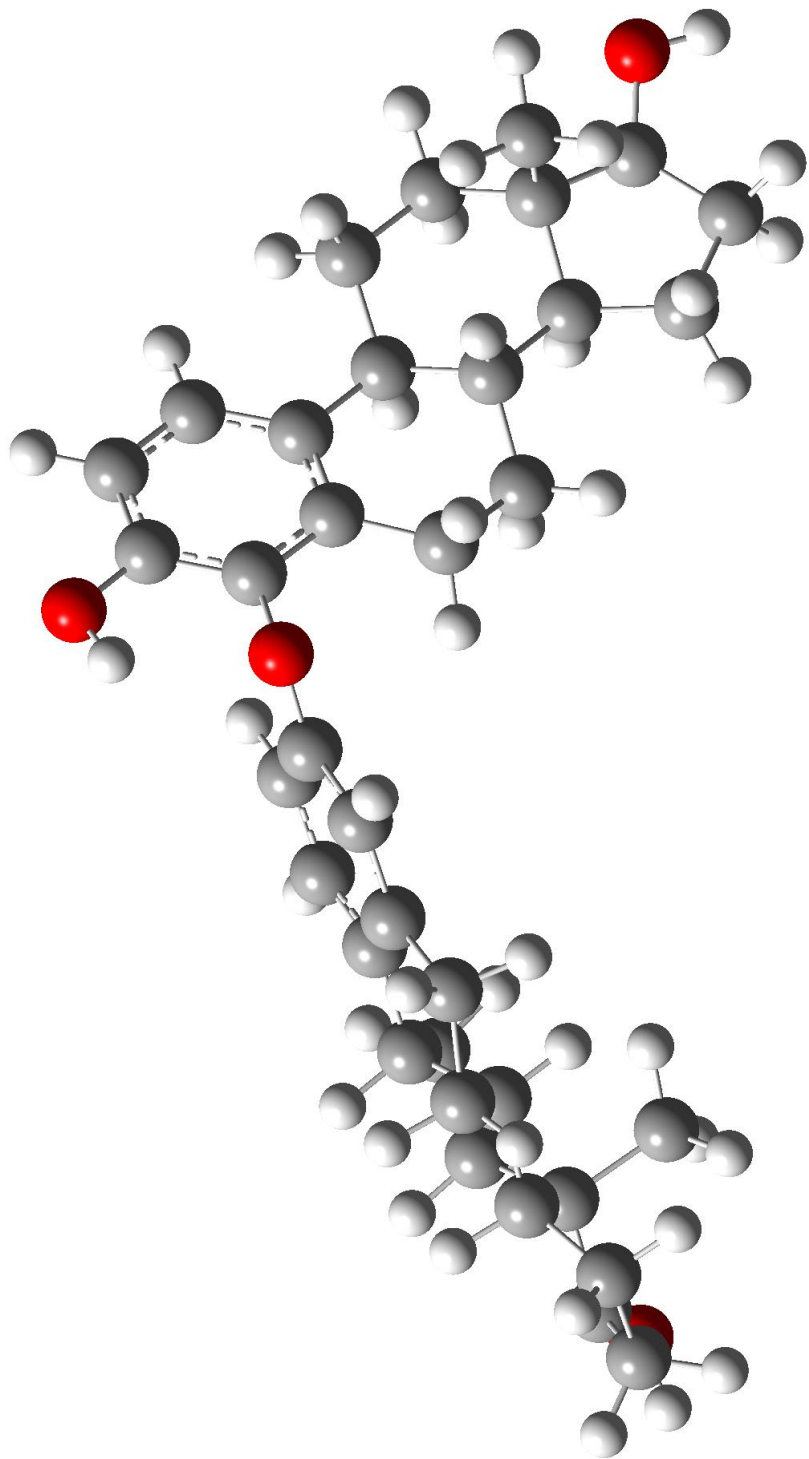


Figura 41. Representación visual del 4-O-estradiol

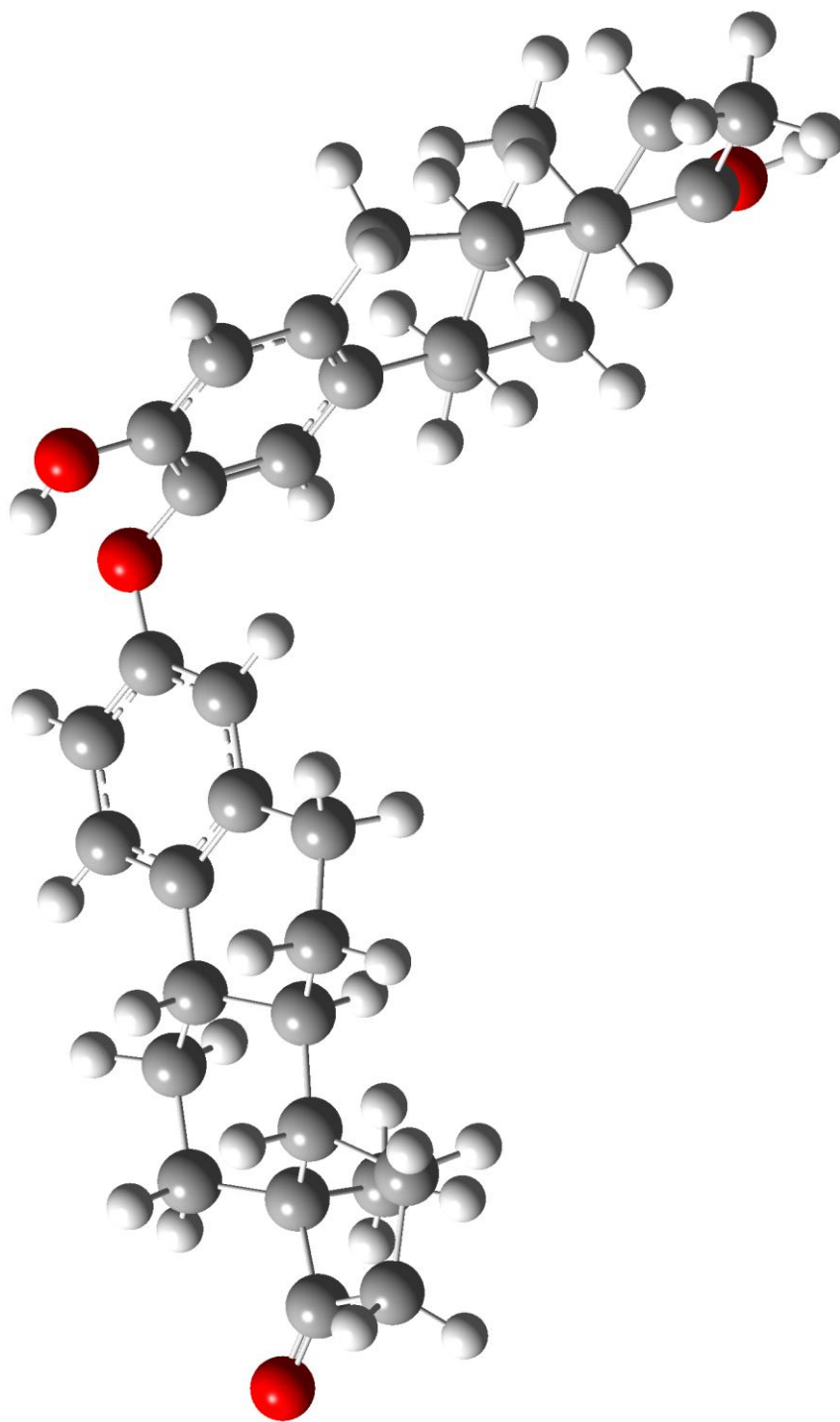


Figura 42. Representación visual del 2-O-estronil estradiol

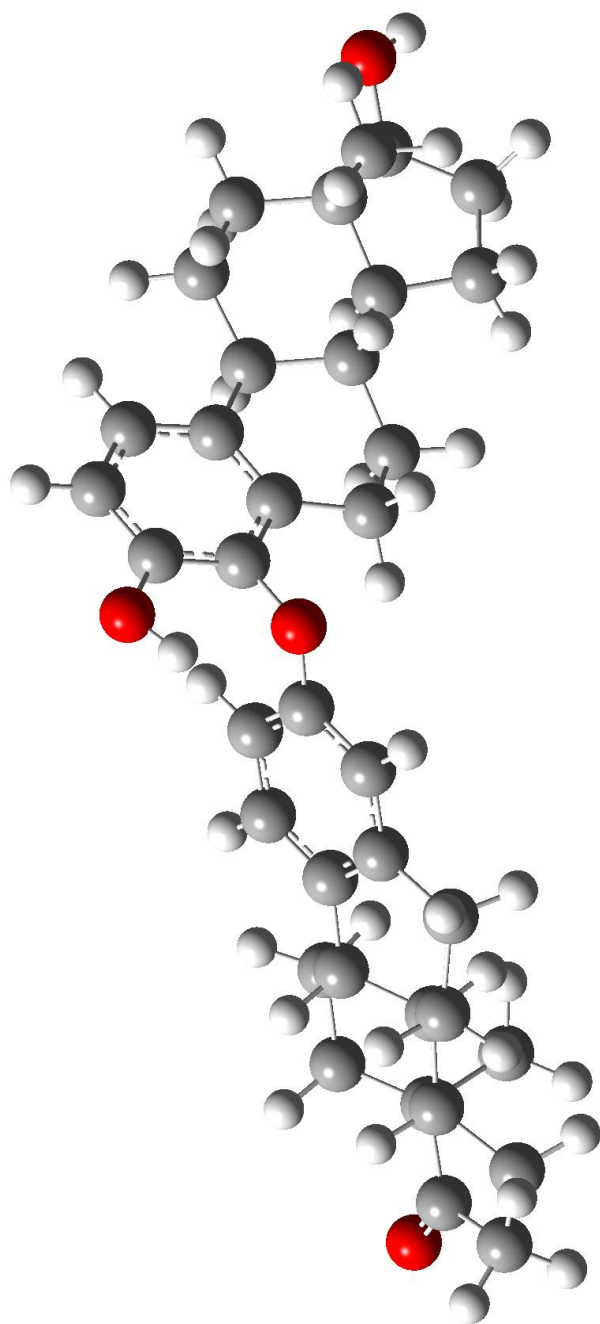


Figura 43. Representación visual del 4-O-estronil estradiol