

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA**



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO:

**“ESTUDIO DE CATALIZADORES EN REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN DE
ANDROSTANOS COMO INTERMEDIARIOS CLAVE EN LA INCORPORACIÓN DE
CADENAS LATERALES”**

Trabajo Especial de Grado presentado
ante la ilustre Universidad Central de
Venezuela por la Br. Dayana Elizabeth
Paz Martinez para optar al título de
Licenciado en Química

Caracas, Octubre 2012.

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA**



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO:

**“ESTUDIO DE CATALIZADORES EN REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN DE
ANDROSTANOS COMO INTERMEDIARIOS CLAVE EN LA INCORPORACIÓN DE
CADENAS LATERALES”**

Presentado por:

Br. Dayana E. Paz Martínez.

Tutor:

Dr. Gustavo Cabrera.

Caracas, Octubre 2012.

Yo, Gustavo Cabrera, Profesor Investigador del Laboratorio de Productos Naturales, de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

“ESTUDIO DE CATALIZADORES EN REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN DE ANDROSTANOS COMO INTERMEDIARIOS CLAVE EN LA INCORPORACIÓN DE CADENAS LATERALES”

Que presenta la Br. Dayana E. Paz Martínez, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Productos Naturales, de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante los años 2010 - 2012, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, Octubre de 2012.

Dr. Gustavo Cabrera
(Tutor)

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: **“ESTUDIO DE CATALIZADORES EN REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN DE ANDROSTANOS COMO INTERMEDIARIOS CLAVE EN LA INCORPORACIÓN DE CADENAS LATERALES”**. Presentado por la Br. Dayana E. Paz Martínez, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Dr. Gustavo Cabrera
(Director)

Dra. María Lupe Márquez
(Jurado)

Dr. Carlos Chinaa
(Jurado)

RESUMEN

En la búsqueda de encontrar las mejores condiciones experimentales para la esterificación de compuestos esteroidales del tipo androstano, la 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona (Epiandrosterona), se llevaron a cabo una serie de reacciones en las cuales fueron ajustadas algunas variables como: el medio de reacción, la temperatura y el uso de catalizadores básicos y nucleofílicos. En primera instancia se sintetizó la 4-N,N-dimetilaminopiridina (4-DMAP) debido a sus conocidas características catalíticas, estudiándose su influencia como base auxiliar en presencia de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) en posibles esterificaciones con cuatro agentes acilantes distintos: anhídrido acético, anhídrido ftálico y los ácidos ftálico y malónico.

Debido a que se trabajó con ácidos dicarboxílicos los resultados obtenidos para el sistema DCC/4-DMAP difieren de los reportados en la literatura. En efecto, cuando se utilizó el anhídrido ftálico como agente acilante se obtuvo el producto de esterificación descarboxilado. En los otros casos se encontró que las mejores condiciones de reacción están, en gran medida, determinadas por el agente acilante utilizado. Para el anhídrido acético y el ácido malónico, los mejores resultados se obtuvieron con dicitclohexilcarbodiimida en cloroformo a temperatura ambiente con un 98% y 78% de rendimiento respectivamente. Por su parte el anhídrido ftálico bajo las condiciones de piridina, 4-DMAP, DCC y reflujo generó mayor cantidad de producto esterificado descarboxilado. Los productos sintetizados fueron caracterizados y/o identificados por sus datos espectrales: Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética de Protones (^1H - RMN) y Resonancia Magnética de Carbono (^{13}C - RMN)

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	P.1
1.1 Fundamento Teórico	P. 3
1.1.1 Arbovirus	P. 4
1.1.2 Terpenos	P. 8
1.1.3 Esteroides	P. 10
1.1.4 Androstanos	P. 14
1.1.5 Catálisis Básica y Nucleofílica	P. 15
2. ANTECEDENTES	P. 20
2.1 DMAP y DCC como catalizadores en reacciones de esterificación	P. 20
2.2 Utilización de anhídridos como agentes esterificantes	P. 27
2.3 Empleo de otros catalizadores	P. 28
2.4 Ejemplo de modificación estructural y reactividad	P. 29
3. OBJETIVOS	P. 30
3.1 Objetivo General	P. 30
3.2 Objetivos Específicos	P. 30
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	P. 31
4.1 Síntesis de la 4-N,N-Dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 31
4.2 Esterificaciones de 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona	P. 32
4.2.1 Acetilación en piridina	P. 33
4.2.2 Acetilación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 34
4.2.3 Acetilación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/ N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 34
4.3 Esterificación del 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con Anhídrido Ftálico	P. 35
4.3.1 Esterificación en Piridina	P. 35
4.3.2 Esterificación en N,N – Dimetilformamida	P. 35

4.3.3 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 36
4.3.4 Esterificación en cloroformo /Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 36
4.3.5 Esterificación en piridina/Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 36
4.3.6 Esterificación en N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 37
4.3.7 Esterificación en Piridina / Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 37
4.4 Esterificación del 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con ácido ftálico	P. 38
4.4.1 Esterificación en cloroformo / Diciclohexilcarbodiimida (DCC) / N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 38
4.4.2 Esterificación en piridina/Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 38
4.4.3 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 39
4.4.4 Esterificación en N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 39
4.5 Esterificación de la 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con ácidomalónico	P. 39
4.5.1 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)	P. 39
4.5.2 Esterificación en N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 40
4.5.3 Esterificación en cloroformo /Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/ N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)	P. 41
4.5.4 Esterificación en piridina	P. 41
4.5.5 Esterificación en tolueno / Diciclohexilcarbodiimida (DCC) / N,N,N-dimetilaminopiridina (DMAP).	P. 42
4.6 Esterificación del 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con ácido benzoico	P. 42
5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	P. 44
5.1 Síntesis de la 4- N,N-Dimetilaminopiridina	P. 44
5.2 Síntesis de la 3 β -acetoxi-5 α -androst-17-ona	P. 48
5.3 Síntesis del producto esterificado con anhídrido ftálico (producto descarboxilado)	P. 54
5.4 Síntesis del producto esterificado con ácido malónico	P. 64
5.5 Síntesis del producto de deshidratación de la Epiandrosterona o	

producto de eliminación	P. 70
6. CONCLUSIONES	P. 76
7. RECOMENDACIONES	P. 78
8. ESPECTROS	P. 79
9. BIBLIOGRAFÍA	P. 91

INDICE DE ESPECTROS

Espectro Nº 1: IR, CHCl ₃ de la 4-DMAP.	P. 79
Espectro Nº 2: ¹ H-RMN, CDCl ₃ de la 4-DMAP.	P. 80
Espectro Nº 3: IR, CHCl ₃ de la 3β-acetoxi-5α-androst-17-ona.	P. 81
Espectro Nº 4: IR, CHCl ₃ de la Epiandrosterona (3β-Hidroxi-5α-androstan-17-ona).	P. 82
Espectro Nº 5: IR, KBr del producto esterificado con anhídrido ftálico.	P. 83
Espectro Nº 6: ¹ H-RMN, CDCl ₃ del producto esterificado con anhídrido ftálico.	P. 84
Espectro Nº 7: C ¹³ -RMN, CDCl ₃ del producto esterificado con anhídrido ftálico.	P. 85
Espectro Nº 8: IR, KBr del producto esterificado con anhídrido malónico.	P. 86
Espectro Nº 9: ¹ H-RMN, CDCl ₃ del producto esterificado con anhídrido malónico.	P. 87
Espectro Nº 10: C ¹³ -RMN, CDCl ₃ del producto esterificado con anhídrido malónico.	P. 88
Espectro Nº 11: IR, KBr del producto de Eliminación (Deshidratación).	P. 89
Espectro Nº 12: C ¹³ -RMN, CDCl ₃ del producto de deshidratación de la Epiandrosterona.	P. 90

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1. Relación Potencia Antiinflamatoria – Vida Media (Esteroides Naturales).	P. 11
Tabla N°2. Relación Potencia Antiinflamatoria – Vida Media (Esteroides Sintéticos).	P. 12
Tabla N°3. Efecto de varias bases sobre tasas relativas de benzoilación de la m-cloroanilina y alcohol bencílico.	P. 17
Tabla N°4. Condiciones empleadas experimentalmente para las diferentes síntesis.	P. 33
Tabla N° 5. Propiedades Físicas de la 4-DMAP.	P. 46
Tabla N° 6. Comparación de desplazamientos protónicos y experimentales para la 4-DMAP.	P. 48
Tabla N°7. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis de la 3β-acetoxi-5α-androst-17-ona.	P. 49
Tabla N° 8. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis del producto esterificado con anhídrido ftálico y ácido benzoico.	P. 55
Tabla N° 9. Datos espectroscópicos ¹ H-RMN, en CDCl ₃ , del producto sintetizado (Espectro N° 6).	P. 59
Tabla N° 10. Datos espectroscópicos ¹³ C-RMN del producto esterificado con anhídrido ftálico (Espectro N°7, CDCl ₃), y sus correspondientes desplazamientos teóricos.	P. 60
Tabla N° 11. Comparación de R _f y P. _f para los productos obtenidos en las reacciones 1,2,3 y 4 en la esterificación de la EA con anhídrido ftálico y ácido benzoico	P. 61
Tabla N° 12. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis del	P. 65

producto esterificado con ácido malónico.

Tabla N° 13.Datos espectroscópicos ^1H -RMN, en CDCl_3 , del producto sintetizado (Espectro N° 9). P. 68

Tabla N° 14.Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto esterificado con ácido malónico (Espectro N°10, CDCl_3), y sus correspondientes desplazamientos teóricos. P. 69

Tabla N° 15.Condiciones de reacción empleadas que generan como producto colateral la deshidratación de la Epiandrosterona o producto de eliminación. P. 70

Tabla N° 16.Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto de eliminación (Espectro N°12, CDCl_3), y sus correspondientes desplazamientos teóricos calculados para los productos posibles. P. 74

INDICE DE FIGURAS

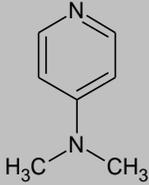
Figura N° 1. Unidad de Isopreno. P. 9

Figura N° 2. Estructura del Ciclopentanoperhidrofenantreno o Esterano.	P. 10
Figura N° 3. Esqueleto de Androstanos.	P. 14
Figura N° 4. Estructura de la 4- DMAP y análogo con dos anillos de seis miembros.	P. 16
Figura N° 5. Obtención de la 4- DMAP a partir de la formación de la sal de piridilpiridinio seguida por el ataque de un nucleófilo como la dimetilamina (DMA) o la N,N-dimetilformamida (DMF).	P. 16
Figura N° 6. Hidrólisis del anhídrido acético en piridina como ejemplo de catálisis nucleofílica.	P. 18
Figura N° 7. La 4-DMAP usada como base auxiliar del DCC para la catálisis nucleofílica, en el mecanismo de esterificación de ácidos.	P. 18
Figura N° 8. Acetoacetilación.	P. 21
Figura N° 9. Acetilación de un grupo fenólico.	P. 21
Figura N° 10. Acetilación de alcoholes cis-alílicos.	P. 21
Figura N° 11. Acetilación de alcoholes utilizando cloruro de acetilo.	P. 22
Figura N° 12. Acetilación de 1-metilciclohexanol.	P. 22
Figura N° 13. Acetilación del mesitol.	P. 22
Figura N° 14. Síntesis de un intermediario fundamental para la Pravastatina.	P. 23
Figura N° 15. Síntesis de 2,3-dioxo-2,3-dihidrobenzofuranos.	P. 23
Figura N°16. Conversión del ácido racémico N-trifluoroacetilpípecólico en	

ácido (S)-N-Boc-pipecolico y el (S)-N-Boc-2-piperidinemetanol mediante la esterificación estereoespecífica con DCC-DMAP y (S)- α -metilpantolactona, seguido por la hidrólisis o reducción del éster y protección del grupo amino.	P. 24
Figura N° 17. Procedimientos de esterificación bajo distintas condiciones de reacción para el estudio sobre la síntesis y solubilidad de derivados hidrofílicos de β -sitosterol.	P. 25
Figura N° 18. Relación molar de ácidos grasos, β -sitosterol, DCC y DMAP establecidas como condiciones óptimas que suelen ofrecer productos con buenos rendimientos.	P. 26
Figura N° 19. Obtención de di-esteres a partir de anhídridos y el tratamiento de este producto con hidrogenación catalítica.	P.27
Figura N° 20. Reacciones de esterificación utilizando catalizadores ácidos sólidos heterogéneos en condiciones de disolventes menos severas.	P. 28
Figura N° 21. Reacciones de esterificación en presencia de ácidos Lewis.	P. 28
Figura N° 22. Reacciones de esterificación en presencia de ácidos Lewis.	P. 28
Figura N° 23. Intercambio de sustituyentes esenciales del glucósido esteroideo aglicona para la obtención de un importante precursor en la síntesis de esteroides cardiosselectivos.	P. 29
Figura N° 24. Representación esquemática de la obtención de la 4-DMAP a nivel industrial.	P. 44
Figura N° 25. Posible ruta para la formación la sal de cloruro de piridinpiridinio empleando piridina y SOCl_2 .	P. 46
Figura N°26. Representación esquemática de la síntesis de la 3 β -acetoxi-	

5 α -androst-17-ona.	P. 49
Figura N° 27. Mecanismo de esterificación de la Epiandrosterona con anhídrido acético en piridina o derivados.	P. 50
Figura N° 28. Estabilidad del intermediario formado en la catálisis nucleofílica.	P. 51
Figura N° 29. Mecanismo de esterificación de la Epiandrosterona con anhídrido acético para el sistema DCC/4-DMAP.	P. 52
Figura N° 30. Mecanismo de esterificación de la Epiandrosterona con anhídrido acético y dicitclohexilcarbodiimida (DCC).	P. 53
Figura N° 31. Representación esquemática de la síntesis del producto esterificado esperado con anhídrido ftálico.	P. 55
Figura N° 32. Representación esquemática de la síntesis del producto esterificado obtenido con anhídrido ftálico.	P. 55
Figura N° 33. Esterificación de la EA empleando N,N-DMF como solvente.	P. 57
Figura N° 34. Numeración designada para la asignación de protones y carbonos del producto esterificado con anhídrido ftálico.	P. 58
Figura N° 35. Descarboxilación de ácidos dicarboxílicos anhidros donde el dióxido de carbono es eliminado y una cetona o el grupo lactona es formado	P. 62
Figura N° 36. Mecanismo de descarboxilación de ácidos carboxílicos aromáticos catalizadas por ácido o base.	P. 63
Figura N° 37. Mecanismo de descarboxilación de ácidos carboxílicos aromáticos vía radicales libres.	P. 64

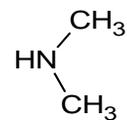
Figura N° 38. Representación esquemática de la síntesis del producto esterificado con ácido malónico	P. 64
Figura N° 39. Posible producto colateral formado para el sistema 4-DMAP/DCC en la esterificación de la Epiandrosterona utilizando ácido malónico como agente acilante.	P. 66
Figura N° 40. Numeración designada para la asignación de protones y carbonos del producto esterificado con ácido malónico.	P. 68
Figura N° 41. Representación esquemática de la síntesis del producto de eliminación.	P. 70
Figura N° 42. Mecanismo de deshidratación de la Epiandrosterona con DCC.	P. 73
Figura N° 43. Numeración designada para la asignación de carbonos del producto de eliminación.	P. 74

COMPUESTO	ABREVIATURA	ESTRUCTURA
4-N,N-Dimetilaminopiridina	4-DMAP	

LISTADO DE ABREVIATURAS EMPLEADAS

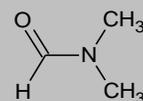
Dimetilamina

DMA



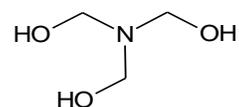
N,N-Dimetilformamida

DMF



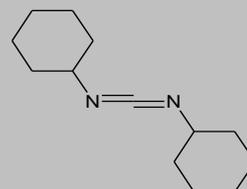
Trietanolamina

TEA



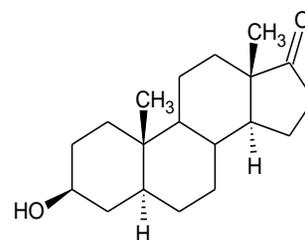
Diciclohexilcarbodiimida

DCC



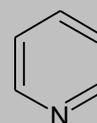
Epiandrosterona

EA



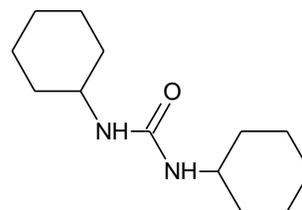
Piridina

Py



Diciclohexilurea

DCU



1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, para un gran número de enfermedades existen vacunas muy eficaces, pero en muchos casos no son fáciles de adquirir o de sintetizar. Para el caso particular de las infecciones virales, una intervención farmacológica eficaz es extremadamente difícil ya que como los virus son parásitos intracelulares y su replicación puede generar mutaciones, esto trae como consecuencia que los virus desarrollen inmunidad frente a los fármacos. El objetivo de la terapéutica es obtener el efecto máximo sobre las células infectadas por virus con acción tóxica mínima sobre las demás células del huésped.

Algunos virus, como los arbovirus, provocan enfermedades que en muchas regiones pueden convertirse en epidemias (desarrollo de una enfermedad o de un fenómeno patológico que afecta simultáneamente a numerosas personas en un territorio más o menos extenso y sometido a influencias idénticas e inhabituales), entre las que podemos mencionar la Fiebre Amarilla y el Dengue que particularmente afectan a la población venezolana.¹

Esto ha motivado a que en la actualidad se dedique una gran inversión de tiempo y dinero en la búsqueda de fármacos que puedan ser eficaces para este tipo de enfermedades y epidemias. Esta búsqueda abarca metabolitos secundarios, productos de síntesis y en algunos casos modificaciones estructurales de compuestos de origen natural.

Hoy en día, es frecuente encontrar excelentes revisiones dedicadas al estudio de compuestos de origen natural como los metabolitos secundarios (aquel que es propio de una especie y en la mayoría de los casos no tienen utilidad aparente para la especie que lo sintetiza)² o de algunos de los tópicos relacionados con su estructura, bioformación, reacciones, síntesis y perspectivas farmacológicas. Una de las estructuras esteroidales más estudiada en el ámbito de la farmacología es la de los androstanos, pertenecientes a la familia de los terpenos tetracíclicos.

Los androstanos son esteroides de gran importancia farmacológica pues comprenden sustancias vitales como: hormonas sexuales, vitamina D, hormonas corticoides, compuestos cardiotónicos, hormonas de mudas de los insectos, antibióticos, toxinas y otros. Se ha desarrollado un gran número de análogos sintéticos con intenciones, entre otras cosas, de modificar o comprobar las estructuras de aquellos aislados de la naturaleza.²

Este trabajo de investigación está enmarcado dentro de un proyecto en el que se llevan a cabo modificaciones estructurales en androstanos, con el fin de generar una serie de compuestos a los que posteriormente se le realizarán ensayos biológicos y estudios de modelaje molecular. Basándose en resultados previamente obtenidos en el trabajo en conjunto entre el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias-UCV y el Instituto de Biomedicina Facultad de Medicina, UCV; sobre el uso de androstanos como antivirales, específicamente contra el dengue y la fiebre amarilla, se ha planteado realizar una serie de esterificaciones sobre el carbono 3 del anillo A de la Epiandrosterona mediante el empleo de distintas condiciones de reacción, con el propósito de estudiar el comportamiento de los productos generados por dichas modificaciones como agentes antivirales que desarrollen actividad biológica y disminuyan la citotoxicidad o los efectos secundarios.

1.1 Fundamento Teórico

Hasta comienzos del siglo XIX, se consideraba que los compuestos orgánicos eran sintetizados solamente por organismos vivos, que le imprimían una “fuerza vital” para su formación. La síntesis de la úrea por Wholer (1828) marcó el comienzo de la química sintética y ello condujo a la conjugación entre la química orgánica y los productos naturales. De hecho se desarrolló una química de productos naturales que ha pasado por diferentes etapas:

1. Utilización de plantas enteras o parte de ellas en pócimas curativas y/o religiosas.
2. Tratamiento, cocción, maceración y mezclado para ciertas acciones específicas, lo que implica conocimiento acerca del uso de las especies y su mejor aprovechamiento (alteración de su acción).
3. Extracción de los productos causantes de la acción. Aunque esto es con frecuencia, la justificación principal de la mayoría de los trabajos fitoquímicos, por razones de complejidad, no se alcanza muchas veces, lográndose solamente en el mejor de los casos, aislar el componente principal y estudiar su estructura, sus características espectroscópicas y su actividad biológica.
4. Determinación estructural, modificaciones de las estructuras y síntesis.²

En estudios biológicos más recientes se determinó que la mayoría de los metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, actúan como agentes alelopáticos (que son liberados para ejercer efectos sobre otras plantas), o para atraer a los polinizadores o a los dispersores de las semillas (Swain 1973³, Levin 1976⁴, Cronquist 1975⁵). El reconocimiento de propiedades biológicas de

muchos metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas.

1.1.1 Arbovirus

Algunos virus persisten en la naturaleza por medio de ciclos en los que se alternan un hospedero invertebrado (vector) y otro vertebrado (reservorio). El vector es un artrópodo hematófago, generalmente un mosquito o garrapata, mientras que el reservorio puede ser un réptil, mamífero o ave. El término *arbovirus* (de arthropod-borne) se utiliza para denominar estos agentes que pasan de un vertebrado a otro por medio de picaduras de artrópodos.

Con la excepción del dengue, los humanos no son reservorio de arbovirus. El reservorio y el vector mantienen el ciclo vital de los arbovirus usualmente sin sufrir enfermedad. El hombre se puede infectar al intervenir en el ecosistema en que se mueven vector y reservorio constituyéndose en hospedero accidental, lo cual puede resultar en enfermedad o en infección asintomática.

Los arbovirus causan principalmente tres tipos de síndromes en el hombre y un mismo arbovirus puede producir varios de estos cuadros.

- Cuadro febril acompañado de exantema, artralgias, mialgias y/o linfadenopatías.
- Fiebre hemorrágica.
- Encefalitis.

Los arbovirus no constituyen un grupo taxonómico definido. La mayoría de los que afectan al hombre pertenecen a las familias *Flaviviridae*, *Togaviridae* y *Bunyaviridae*. Se conocen actualmente más de 400 arbovirus, de los cuales unos 80 han sido detectados en humanos, la mitad de ellos causando enfermedad.⁶

Las enfermedades causadas por los arbovirus más importantes en Latinoamérica, en específico, Venezuela son la fiebre amarilla y el dengue.

La fiebre amarilla es una enfermedad infecciosa aguda producida por un agente del género *flavivirus* que puede producir compromiso hepático, hemorrágico, renal y cerebral; frecuentemente fatal. Tiene dos patrones de transmisión: el selvático de presentación esporádica o en pequeños brotes y el urbano generalmente epidémico. Esta enfermedad es una de las grandes plagas de la historia de la humanidad; durante años azotó a los habitantes y colonizadores de África y la América Tropical. A mediados de este siglo disminuyó su incidencia por las campañas de erradicación del vector y la introducción de la vacunación en 1934. Actualmente se estiman 200.000 infecciones anuales. En Suramérica se reportan entre 100 y 500 casos cada año.

El agente de la fiebre amarilla (*Familia Flaviviridae*, género *Flavivirus*) fue el primer virus reconocido transmitido por un artrópodo y fue el arbovirus más importante hasta mediados del siglo XX. Le dio su nombre a la familia y al género (Flavus= amarillo). Todos los Flavivirus tienen una estructura común. La forma es esférica con un diámetro entre 40 y 50 nm. El genoma es un RNA de cadena sencilla que está recubierto por una cápsideprotéica y una envoltura lipídica de la cual sobresale la denominada glicoproteína E. Esta es responsable de la adhesión a la célula.

Los seres humanos y otros primates adquieren la infección por la picadura de mosquitos infectados. Después de un período de incubación de 3-6 días, el virus aparece en sangre y sirve como fuente de infección para otros mosquitos. Para que el mosquito sea capaz de transmitir el virus, éste tiene que replicarse en su intestino y pasar a las glándulas salivares.⁷

La infección por el virus de la fiebre amarilla puede cursar asintómicamente, como un cuadro febril inespecífico (forma abortiva) o con todos los síntomas clásicos en los casos más severos. El período de incubación suele durar entre 3 y 7 días. La enfermedad se inicia con el llamado período de infección que corresponde a la fase virémica, el cual se presenta con fiebre, escalofrío, cefalea, mialgias, dolor lumbar, náuseas, inyección conjuntival y decaimiento severo. Luego, aparece la segunda fase clínica llamada período de intoxicación. El vómito negro o marrón es un síntoma clásico de esta fase y puede venir acompañada oliguria, hipotensión, compromiso de la conciencia acompañada con delirio, estupor o coma.

Las aminotransferasas de alanina y aspartato se elevan considerablemente y su nivel se correlaciona con la severidad de la enfermedad. En los casos terminales suele haber hipoglicemia, acidosis metabólica e hiperkalemia.

La inmunización activa con la vacuna 17D es la forma más eficaz de prevención contra esta enfermedad. Esta consiste en un virus vivo atenuado preparado en embrión de pollo. No existen antivirales efectivos disponibles para esta enfermedad y el tratamiento se realiza durante el período de infección sintomático. En el período de intoxicación la terapia de sostén puede ayudar al paciente a sobrevivir aunque no siempre es efectiva.⁶

El Dengue, es una enfermedad infecciosa aguda producida por los virus del dengue y transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*. Se caracteriza por fiebre, cefalea, dolores osteomusculares, exantema y leucopenia. El dengue hemorrágico (DH), es una variante de la enfermedad que cursa con alteraciones hemostáticas y vasculares potencialmente fatales. El síndrome de choque del dengue (SCD) es la forma más severa del DH.

El dengue está presente en casi todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo. En este momento es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en términos de mortalidad y morbilidad. Los cuatro serotipos circulan actualmente en las Américas y la enfermedad se ha convertido en una prioridad de la salud pública en la región.

Por lo general, este tipo de enfermedades infecciosas provocan patologías en el hombre que varía de unos a otros siendo cuatro los mecanismos principales de patogenocidad:

- Daño Vascular originado bien por la invasión directa de las células endoteliales por el virus, bien por la acción del complemento y determinadas citocinas, así como por el depósito de inmunocomplejos.
- Coagulación irregular, caracterizada por la presencia de trombocitopenia, función plaquetaria anormal, desajustes en la producción hepática de factores de coagulación, y la presencia de coagulación intravascular determinada (CID).
- Desajuste Inmunológico que provoca la inhibición de la respuesta inmunitaria permitiendo así una replicación viral incontrolada.

- Daño celular directo en determinados órganos debido bien a la acción del virus o a la respuesta inflamatoria del huésped.

El dengue es producido por cuatro virus (o cuatro serotipos) denominados dengue 1 a dengue 4. Estos también pertenecen al género *Flavivirus* y todas las características morfológicas y moleculares descritas para el virus de la fiebre amarilla se aplican a ellos. Los serotipos están cercanamente relacionados entre sí, y lejanamente con el virus de la fiebre amarilla y otros flavivirus. Los cuatro comparten algunos de sus determinantes antigénicos para la inmunidad dejada por cualquiera de ellos es específica de serotipo y no confiere protección de larga duración contra los otros tres.

Actualmente no existen antivirales contra Filovirus y Flavovirus; el único tratamiento posible hasta el momento es el de soporte o tratamiento sintomático (balance hidroelectrolítico, oxigenación, antibióticos para las sobreinfecciones, transfusiones, etc).⁸

1.1.2 Terpenos

Los terpenos abarcan una amplia familia de compuestos con gran diversidad estructural lo que dificulta resumir sus características más comunes, pues no solo se trata de la diversidad de grupos funcionales sino también del número de átomos de carbono que conforman el esqueleto. La unidad fundamental de éstos esqueletos es el Isopreno (Figura N° 1), que contiene cinco átomos de carbono. Los terpenos obedecen a la regla del isopreno, es decir, la sección de átomos que conforman a un terpeno es tal que pueden localizarse varias unidades consecutivas de isopreno.

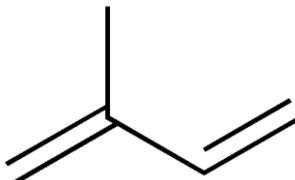


Figura N° 1

Debido a degradaciones o rearrreglos no siempre el número de átomos de carbono es múltiplo de cinco, debido a que se generan secuencias anormales de la unidad de C5. Los terpenos de acuerdo a éste número de unidades de isopreno pueden clasificarse en: Hemiterpenos (una Unidad); Monoterpenos (dos Unidades); Sesquiterpenos (tres Unidades); Diterpenos (cuatro Unidades); Sesterpenos (cinco Unidades); Triterpenos (seis Unidades); Carotenoides (ocho Unidades) y Politerpenos (Varias unidades de C5n, n>9).

En particular los triterpenos se clasifican en tetracíclicos y pentacíclicos. Los tetracíclicos de acuerdo a la estereoquímica y la forma en que se fusionan los anillos se derivan los Apo-eufanos y los Protostanos.

Entre los Protostanos encontramos los esteroides que de acuerdo al número de átomos de carbono hallamos a los androstanos que serán el material de partida para esterificaciones. Estos esqueletos modificados serán parte de la base empleada en futuros estudios en pro de encontrar una relación lineal entre estructura y actividad biológica.⁹

1.1.3 Esteroides

Los esteroides son derivados del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano (Figura N° 2), compuesto de carbonos e hidrógenos, formando cuatro anillos (tres hexagonales y uno pentagonal). Posee diecisiete átomos de carbono. En los esteroides ésta estructura básica se ve modificada por la adición de diversos grupos funcionales como carbonilos e hidroxilos (hidrófilos) o cadenas carbonadas (hidrófobas). El núcleo de esterano es bastante rígido y con una estructura prácticamente plana.

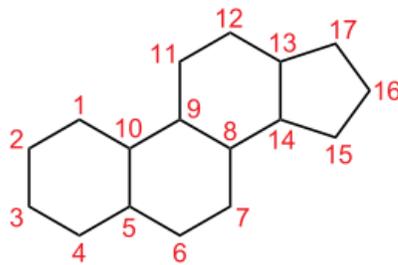


Figura N° 2

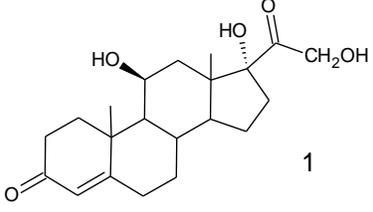
Los esteroides tienen funciones reguladoras (algunas regulan niveles de sal y secreción de la bilis), estructurales (como el colesterol que forma parte de la membrana de la célula junto con los fosfolípidos) y hormonales que son sintetizadas a partir del colesterol, son lipófilas y atraviesan libremente la membrana plasmática, algunos ejemplos de éstas son los corticoides, hormonas sexuales femeninas y masculinas, Vitamina D y sus derivados.

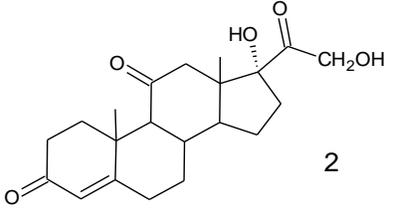
Las hormonas esteroidales según el número de átomos de carbono pueden dividirse en pregnanos (21 átomos de carbono), androstanos (19 átomos de carbono), estranos (18 átomos de carbono).²

Esteroides como antiinflamatorios

El cortisol o cortisona, que son glucocorticoides naturales, se han empleado como antiinflamatorios. Modificaciones químicas sistemáticas de la estructura de los glucocorticoides han conducido a una serie de derivados esteroidales cuya actividad antiinflamatoria se ha potenciado, siendo la diferencia principal entre estos glucocorticoides sintéticos su potencia antiinflamatoria relativa y la duración de su efecto. A continuación se presenta una relación aproximada entre esteroides sintéticos y naturales como antiinflamatorios y la vida media de estas drogas en el cuerpo. (Tablas N° 1 y N° 2)¹⁰

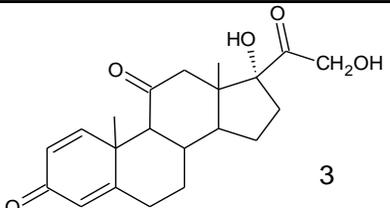
Tabla N°1. Relación Potencia Antiinflamatoria – Vida Media (Esteroides Naturales)¹⁰

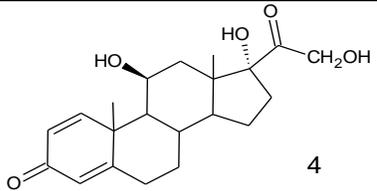
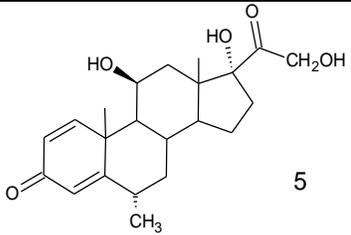
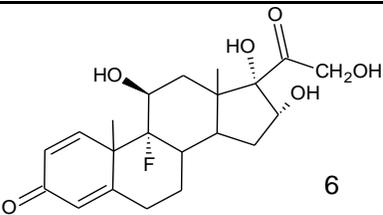
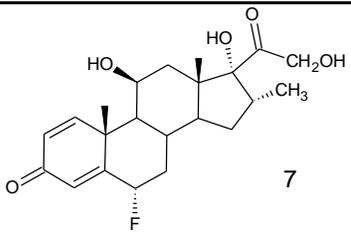
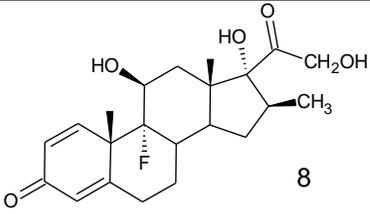
Esteroides suprarrenocorticoides naturales	Potencia antiinflamatoria relativa (en función del cortisol)	Vida media biológica
 <p style="text-align: center;">1</p> <p style="text-align: center;">Cortisol</p>	1	

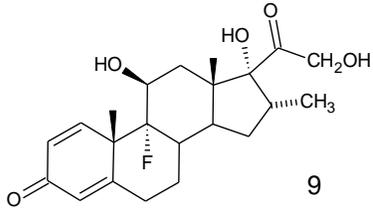
 <p style="text-align: center;">2</p> <p style="text-align: center;">Cortisona</p>	0,8	8-12 horas
---	-----	------------

Estos estudios mencionados para los glucocorticoides naturales se pueden llevar a cabo sobre otro tipo de esqueletos esteroidales, de forma que modificaciones conlleven a notables e impredecibles variaciones en su actividad biológica (de especial interés en su actividad antiviral), definiendo la motivación de esta investigación, en vías establecer una relación entre estructura y actividad biológica.

TablaN°2. Relación Potencia Antiinflamatoria – Vida Media (Esteroides Sintéticos)¹⁰

Esteroides Sintéticos	Potencia antiinflamatoria relativa (en función del cortisol)	Vida media biológica
 <p style="text-align: center;">3</p> <p style="text-align: center;">Prednisona</p>	4	12-36 Horas

 <p>Prednisolona</p>	4	
 <p>Metil-prednisolona</p>	5	12-36 Horas
 <p>Triamcinolona</p>	5	
 <p>Parametasona</p>	0	36-72 Horas
 <p>Betametasona</p>	25	

 <p>Dexametasona</p>	25	
---	----	--

1.1.4 Androstanos

Son hormonas esteroidales con 19 átomos de carbono pertenecientes a la familia de los terpenos, específicamente terpenos tetracíclicos, la cual ha sido ampliamente investigada en el ámbito de la farmacología.

Entre los androstanos se encuentran los esteroides, que es un grupo de sustancias que poseen el núcleo del ciclopentano-perhidrofenantreno, que pueden presentar o no presentar una cadena lateral en C-17, así como los metilos angulares en C-10 y C-13 (Ver figura N°3). Se designa como esteroides entonces a los derivados de pregnano, androstano, estrano y gonano.¹

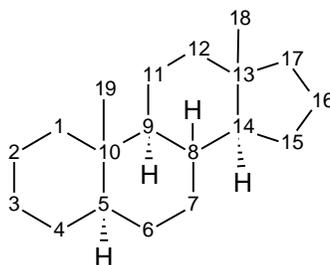


Figura N° 3

1.1.5 Catálisis Básica y Nucleofílica

El tratamiento de aminas, alcoholes y fenoles con anhídrido acético ($(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$), en presencia de piridina ha proporcionado un método general de acetilación desde principios del siglo pasado. Sin embargo, este procedimiento provee rendimientos poco satisfactorios para sustratos desactivados. Las reacciones entre un alcohol y un ácido carboxílico o su derivado, generalmente un cloruro de ácido o anhídrido, puede ser afectada si el alcohol posee un impedimento estérico importante que disminuya su reactividad. El mejorar los rendimientos de las reacciones de acilación mediante el uso de piridina fue establecido por **Von Doering y McEwen**, quienes además propusieron el mecanismo de la acción catalítica de la piridina. No fue hasta 1960 que las 4-dialquilaminopiridinas fueron utilizadas como catalizadores en acilaciones más complejas y reacciones relacionadas.¹¹

Steglich y col.¹¹ reportaron que los análogos de la 4-dimetilaminopiridina (DMAP) con dos anillos de seis miembros adicionales enlazados como los mostrados en la figura N° 4 son más efectivos en la catálisis nucleofílica que el DMAP para la reacción de esterificación de alcoholes terciarios, lo cual puede estar racionalizado con la mayor estabilidad del intermediario acilpiridinio obtenido con DMAP y el análogo con fijación conformacional en el 4-N, donde el orbital con el par de electrones libres del nitrógeno se encuentran paralelo a los orbitales p de la piridina, facilitando la conjugación extendida y amplificando sus características nucleofílicas. Estas observaciones sugieren la posibilidad de que análogos con dos anillos de seis miembros semejantes al presentado en la Figura N° 4, con mayor rigidez y planaridad, pueden ser más potentes como catalizadores.¹²

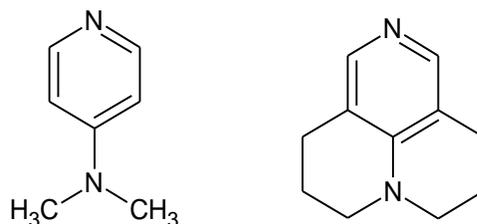


Figura N° 4

La obtención de la 4-DMAP se fundamenta en un esquema general de preparación de piridinas 4-sustituidas, cuyo proceso puede ser altamente costoso a nivel industrial debido a la naturaleza de los procesos experimentales y los bajos rendimientos. Se plantearon dos procesos factibles para su preparación a nivel industrial, uno de los cuales explora la obtención de la 4-DMAP a partir de la formación de la sal de piridilpiridinioseguida por el ataque de un nucleófilo como la dimetilamina (DMA) o la N,N-dimetilformamida (DMF).Figura N°5.¹³

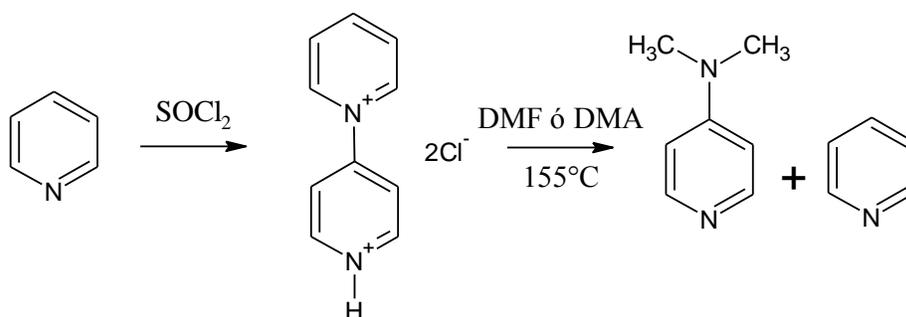


Figura N° 5

Al comparar el uso de la 4-DMAP como catalizador en la benzoilación de la m-cloroanilina y el alcohol bencílico con otras bases, Kirichenko, L. M y col.; encontraron

que la actividad catalítica no está directamente relacionada con el pka y disminuye con la presencia de un sustituyente en el carbono α al nitrógeno de la piridina.

Tabla N°3. Efecto de varias bases sobre tasas relativas de benzoilación de la *m*-cloroanilina y alcohol bencílico.

Catalizador	Pka	Tasa relativa*	
		<i>m</i>-cloroanilina	Alcohol bencílico
3-piridincarbonitrilo	1,39	14	12
quinolina	4,87	138	545
Piridina	5,23	568	$9,29 \times 10^3$
Isoquinolina	5,40	$2,62 \times 10^3$	$3,39 \times 10^3$
2-metilpiridina	5,96	29	4,35
3-metilpiridina	5,63	$1,12 \times 10^3$	$2,29 \times 10^4$
4-metilpiridina	6,02	$2,96 \times 10^3$	$3,98 \times 10^4$
4-fenoxipiridina	6,25	$4,80 \times 10^3$	$7,98 \times 10^4$
2,6-dimetilpiridina	6,72	8	115
4-DMAP	9,70	$3,14 \times 10^6$	$3,45 \times 10^8$
TEA	10,65	21	—

*Tasa relativa = Tasa de reacción catalizada / Tasa reacción no catalizada^{14'15'16}

Como ejemplo de un proceso de *catálisis nucleofílica* tenemos la hidrólisis del anhídrido acético en piridina. Se puede proponer la formación de un ión acetilpiridinio como intermediario, seguido de la salida de la piridina y formación de ácido acético como ilustra la figura N°6; donde $R=H,(CH_3)_2N$.

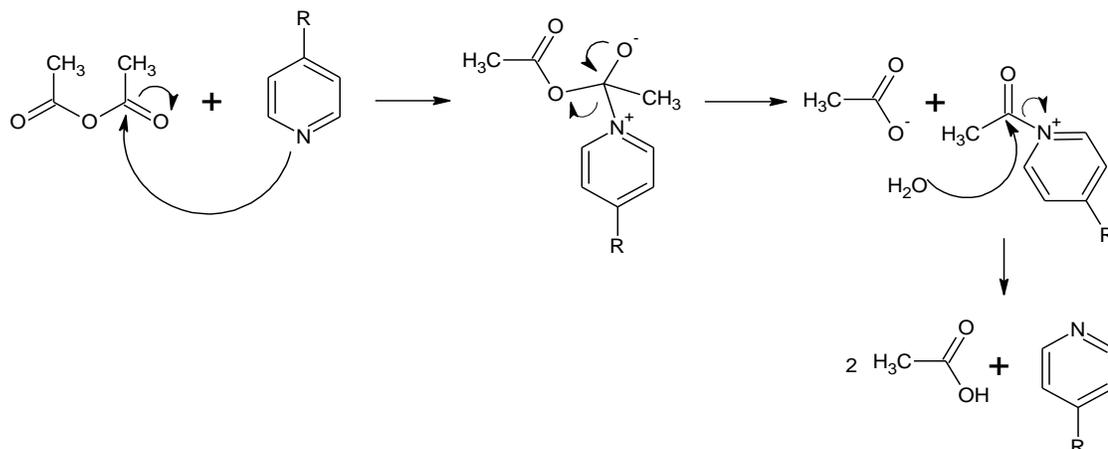


Figura N° 6

En el caso de la 4-DMAP se puede entonces proponer el mismo esquema de catálisis nucleofílica (considerando que posee pK_a mayor a la piridina) ilustrado en figura N° 4, teniendo éste la ventaja de estabilizar en mayor proporción la carga formada en el estado de transición.

Por otra parte, la 4-DMAP puede ser usada como base auxiliar del DCC para la catálisis nucleofílica, en el mecanismo de esterificación de ácidos. Se sabe que el DCC funciona como un activador de ácidos carboxílicos y es uno de los reactivos de acoplamiento más utilizados en la formación de enlaces peptídicos.¹³

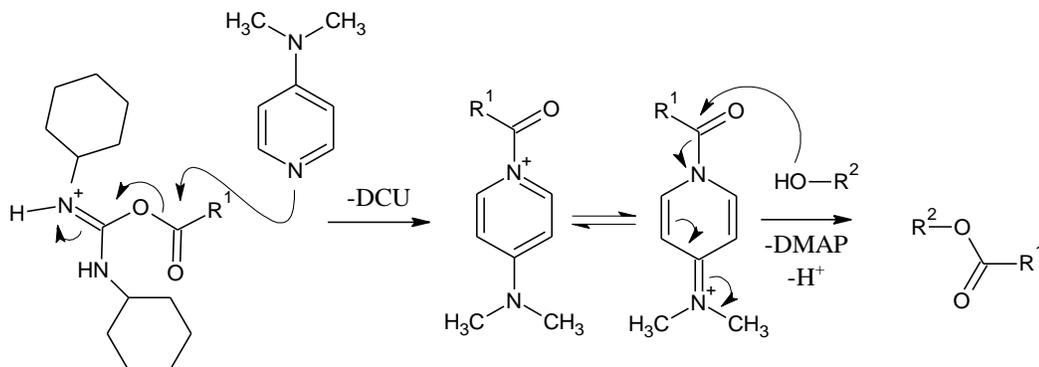


Figura N° 7

Sin duda, considerando la amplia variedad de compuestos orgánicos, la búsqueda de un fármaco o compuestos con propiedades biológicas de interés en particular puede volverse complicado. Tomando en cuenta los resultados parciales alentadores, obtenidos en trabajos anteriores donde se ensayó la actividad antiviral de una serie de derivados de androstanos, se ha incrementado la disposición de estudiar las propiedades biológicas de compuestos esteroidales. Se planteó la introducción de cadenas laterales mediante procedimientos de esterificación, sobre esqueletos de tipo androstano con el fin de establecer una base para la comprensión de la acción de los mismos sobre un virus modelo, u otras actividades biológicas relevantes.

2. ANTECEDENTES

2.1 4-DMAP Y DCC COMO CATALIZADORES EN REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN:

En 1978, **Höfle, G. y col.**; propusieron un método innovador para la preparación de la 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) y aplicaciones de la misma en diversas síntesis. La síntesis del DMAP puede ser racionalizada en dos pasos partiendo de la piridina. Comparada con la piridina, este derivado es 10^4 veces más activo cuando es usado como catalizador para acilaciones. Las dialquilaminopiridinas suelen emplearse frecuentemente cuando las reacciones de acilación son incompletas por procesos convencionales en piridina. Los autores realizaron además una revisión de las posibles aplicaciones del DMAP en terpenos, esteroides, carbohidratos y nucleosidos, o bien en la transformación de amino ácidos en α -acilaminocetonas y la polimerización de isocianatos. Adicionalmente, las sales de 4-dialquilaminopiridinio N-sustituidas pueden ser usadas en transferencias de grupos sensibles a nucleófilos en medios acuosos.¹¹ Ver figura N°7.

En 2001, **Donald J. Berry, y col.**; exponen una recopilación de varios procedimientos experimentales representativos de los tipos de reacciones más importantes catalizadas por 4-dimetilaminopiridina (DMAP); entre ellas: la acetoacetilación, (Figura N° 8), acetilación de un grupo fenólico (Figura N° 9), acetilación de alcoholes cis-alílicos (Figura N° 10), acetilación de alcoholes utilizando cloruro de acetilo (Figura N° 11), acetilación de 1-metilciclohexanol (Figura N° 12), acetilación del mesitol (Figura N° 13), síntesis de un intermediario fundamental para la Pravastatina (Figura N° 14), síntesis de 2,3-dioxo-2,3-dihidrobencofuranos (Figura N° 15).¹⁷

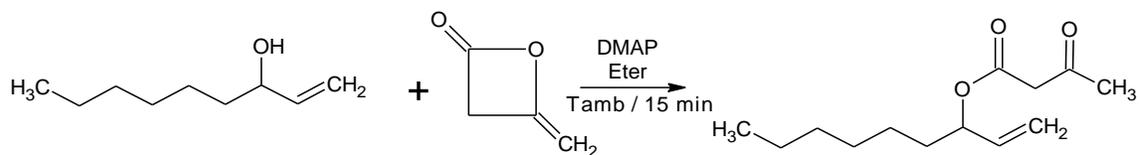


Figura N° 8

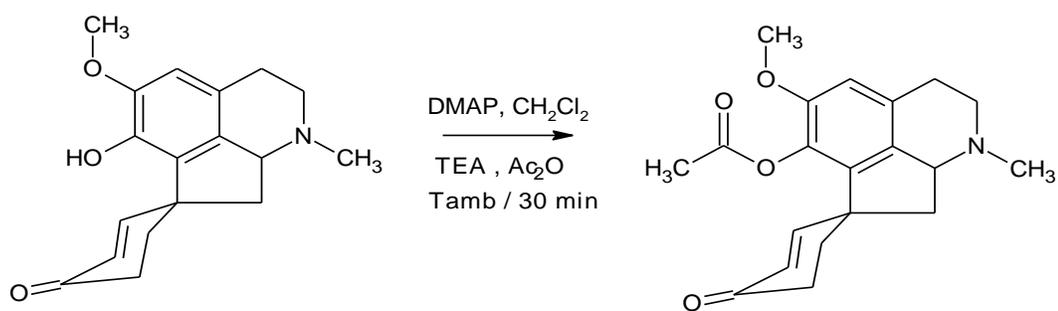


Figura N°9

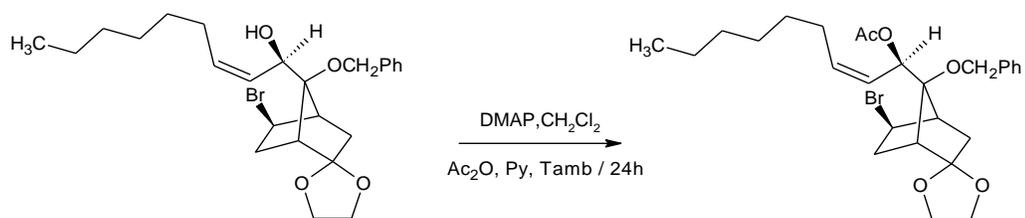


Figura N° 10

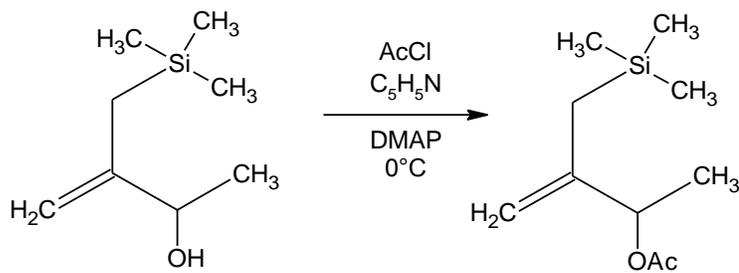


Figura N° 11

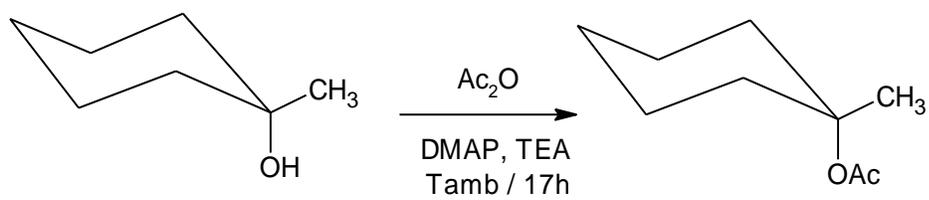


Figura N° 12

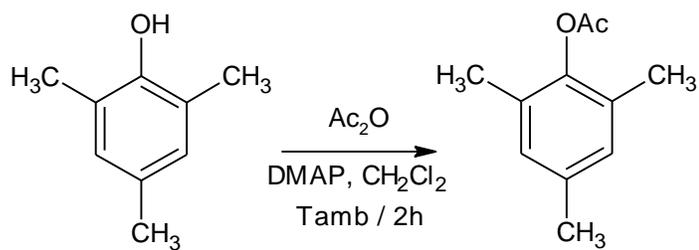


Figura N° 13

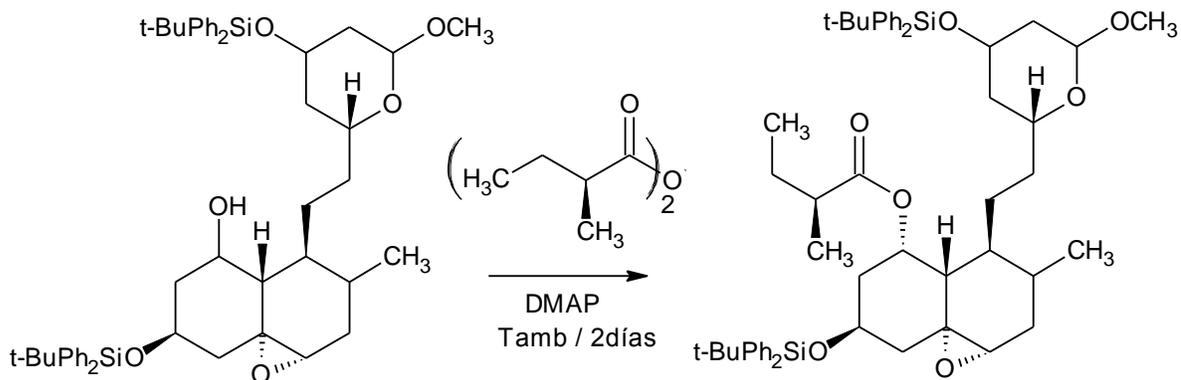


Figura N° 14

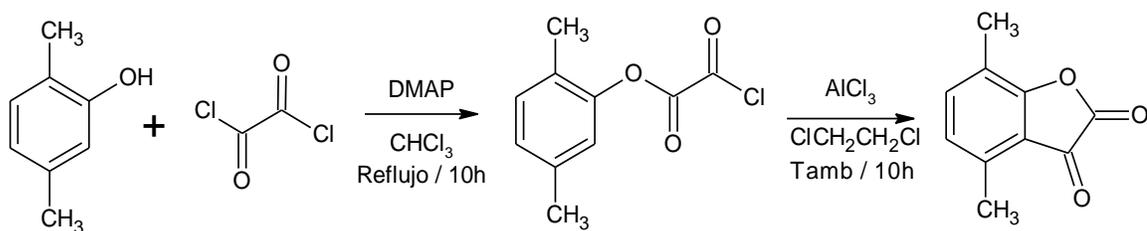


Figura N° 15

En 2003, **Calmes, M. y col.**; el ácido racémico N-trifluoroacetilpípecólico fue convertido en el ácido (S)-N-Boc-pípecólico y el (S)-N-Boc-2-piperidinemetanol mediante la esterificación estereoespecífica con DCC-DMAP y (S)- α -metilpantolactona, seguido por la hidrólisis o reducción del éster y protección del grupo amino, ilustrado en la Figura N° 16.¹⁸

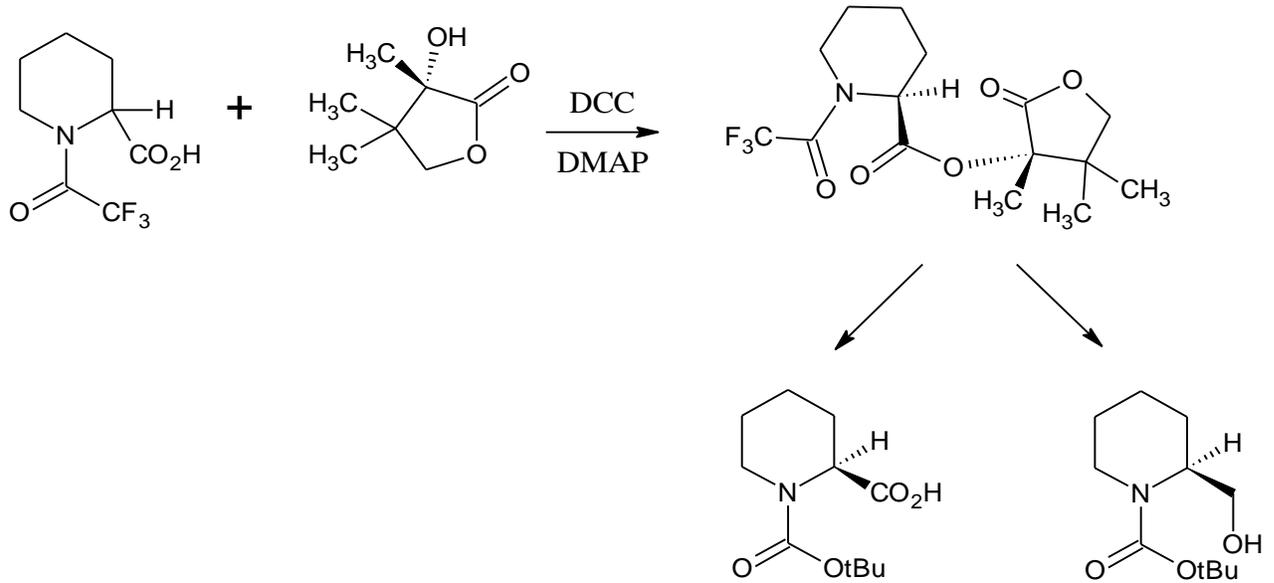


Figura N°16

Es de importancia mencionar los buenos rendimientos obtenidos empleando tolueno a diferencia de métodos convencionales que emplean cloruro de metileno y la asistencia diastereoselectiva en la esterificación.

En 2007, **Dae-won Chung y col.**; presentaron sus estudios sobre la síntesis y solubilidad de derivados hidrofílicos de β -sitosterol, los cuales son conocidos por su potencial para reducir los niveles de colesterol en sangre. Los procedimientos de esterificación se realizaron con anhídrido succínico, TEA y β -sitosterol. La segunda esterificación se llevó a cabo con un glicol, un agente deshidratante como el DCC y catálisis básica por 4-DMAP.¹⁹

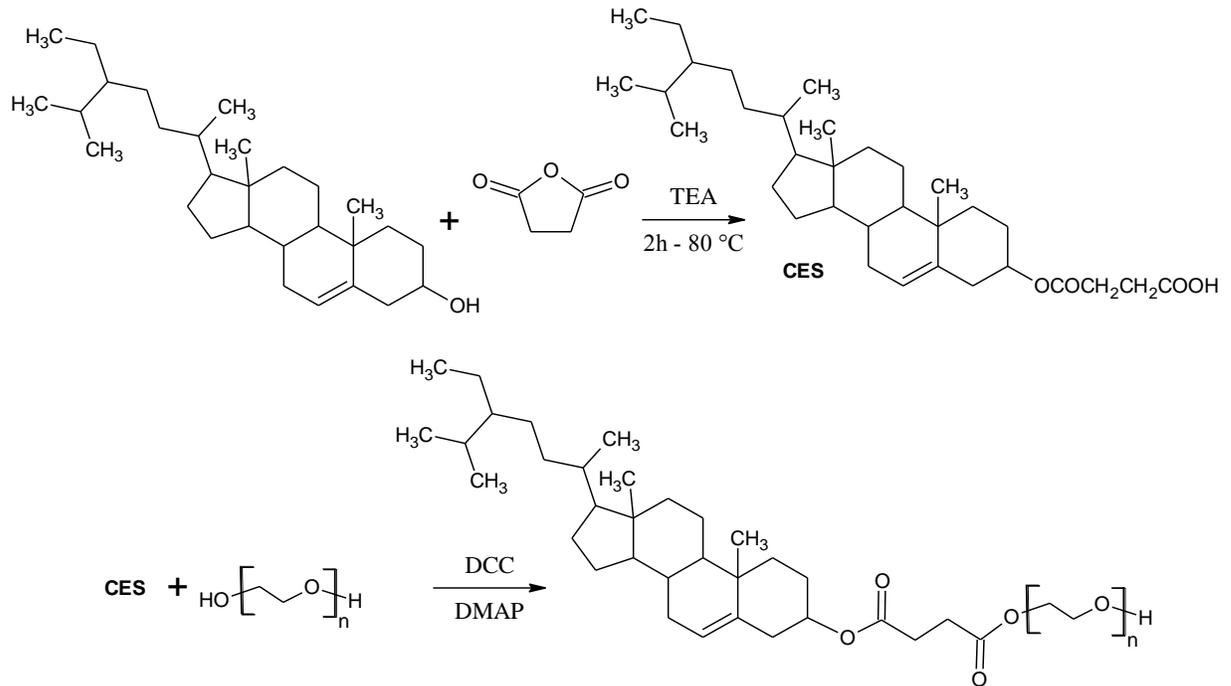


Figura N° 17

En 2009, **Zbigniew P. y col.**; trabajaron en el radiomarcage de 5-yodo-30-O-(17β-succinil-5α-androstan-3-ona)-20-desoxiuridina y sus 5'-monofosfatasa para imágenes y terapia de receptores positivos andrógenos del cáncer, tanto en su síntesis como en la evaluación. Desde el punto de vista químico son relevantes los resultados del procedimiento de esterificación, aunque este proceso solo corresponde a un paso intermediario de la síntesis reflejándose buenos rendimientos generales. La 17β-succinato-deshidroandrosterona es sometida a condiciones de esterificación con azúcares, mediante trietilamina, piridina seca y 4-DMAP entre 0°C a temperatura ambiente por un periodo de 6 horas, además al emplearse el ácido 4-oxopentanoico se trata con DCC/DMAP en cloruro de metileno a temperatura ambiente por 3 horas²⁰.

En 2010, **Farshori, N. y col.**; estudiaron la bioactividad de ésteres sitosteriles. Se comentó que derivados del β -sitosterol podrían tener actividad antimicrobiana. En vista de la importancia de los ácidos grasos de cadena larga como potenciales farmacóforos presentaron la síntesis de estudios espectrales de nuevos análogos del β -sitosterol que contenían C11 y C18 ácidos grasos, junto con su evaluación in vitro frente a un panel de Gram-positivas, las cepas de bacterias Gram-negativas de las bacterias y algunas cepas de hongos. Emplearon catalizadores para explorar la probabilidad de obtener farmacóforos importantes de productos naturales con aumento de los rendimientos y en menor tiempo de reacción. Así, para la relación molar de ácidos grasos, β -sitosterol, DCC y 4-DMAP fueron establecidas como condiciones óptimas que suelen ofrecer productos con buenos rendimientos.

La investigación de los datos de detección anti-bacteriano reveló que todos los compuestos probados mostraron de moderada abuenainhibiciónbacteriana.²¹

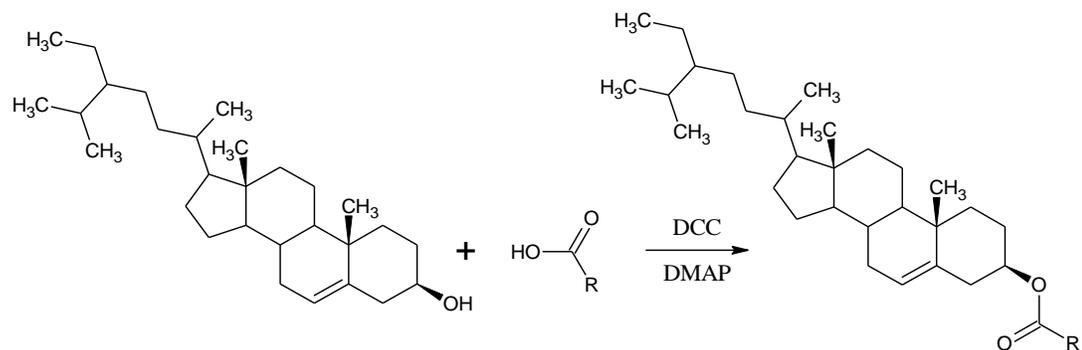


Figura N° 18

2.2 UTILIZACIÓN DE ANHÍDRIDOS COMO AGENTES ESTERIFICANTES:

En 1950, **Cope, A. y col.**; trabajaron en la obtención de di-ésteres a partir de anhídridos y el tratamiento de este producto con hidrogenación catalítica. En particular, la síntesis del dietilcis- tetrahidroftalato y dietil cis-hexahidroftalato.²²

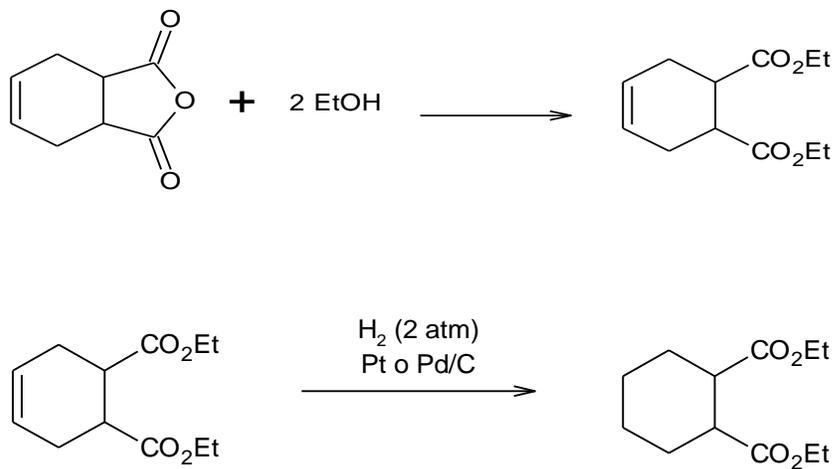


Figura N° 19

En 2005, **Firdovsi, T. y col.**; realizaron reacciones de esterificación utilizando catalizadores ácidos sólidos heterogéneos en condiciones de disolventes menos severas. Se ha investigado la preparación de di-(2-etilhexil)ftalato (DOP), a través de la reacción de esterificación del anhídrido ftálico por 2-etilciclohexanol en presencia de sólidos catalizadores ácidos, como zeolita natural y zeolitas sintéticas.²³

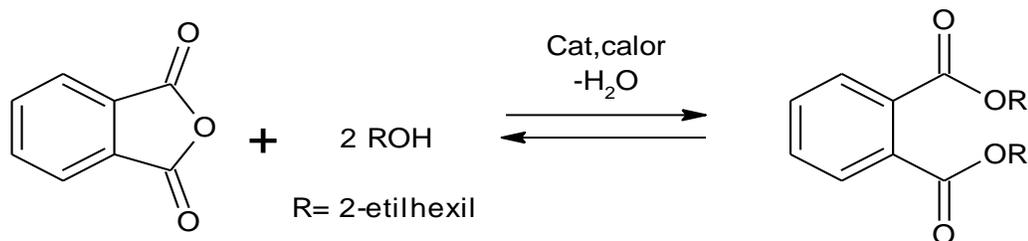


Figura N° 20

2.3 EMPLEO DE OTROS CATALIZADORES:

Las reacciones de esterificación no sólo se llevan a cabo en presencia de catalizadores básicos, sino también en presencia de ácidos Lewis. En tal sentido **S. Chandrasekhar, T. y col.**; partiendo del hecho de la utilización de TaCl₅ y TaCl₅ sílica gel como catalizadores ácidos de Lewis para la acetilación de alcoholes, realizaron estudios específicos para la acilación de alcoholes a partir de anhídrido acético catalizada por TaCl₅ y algunas implicaciones en la resolución cinética.²⁴

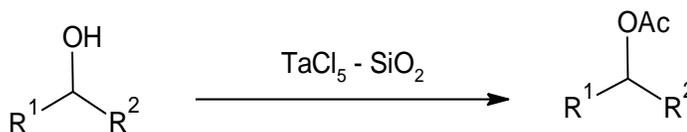


Figura N°21

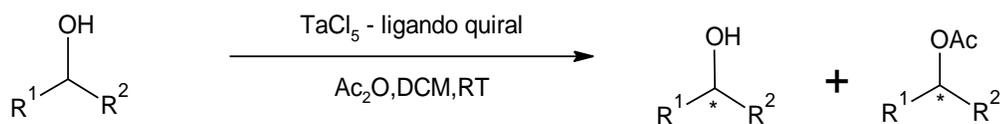


Figura N° 22

2.4 EJEMPLO DE MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL Y REACTIVIDAD:

En 2006, **Lumbu, S. y col.**; trabajaron en la preparación de un importante precursor en la síntesis de esteroides cardiosselectivos. El paso clave, la introducción de un grupo 21-hidroxi en un derivado 14,15-deshidropregnano se logró por la reacción del éterenólico con dimetildioxirano en busca de análogos de glucósidos cardiacos que son altamente tóxicos se cambiaron sustituyentes esenciales del glucósido esteroideo aglicona, como se muestra en la figura N°23. Se emplearon diversas condiciones de reacción como: A = funcionalización remota en presencia de dicloruro de yodobenceno (PhICl_2), base y oxidación con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$; B = oxidación con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ e hidrólisis selectiva; C = reducción e hidrólisis selectiva; D = epoxidación y rearreglo.²⁵

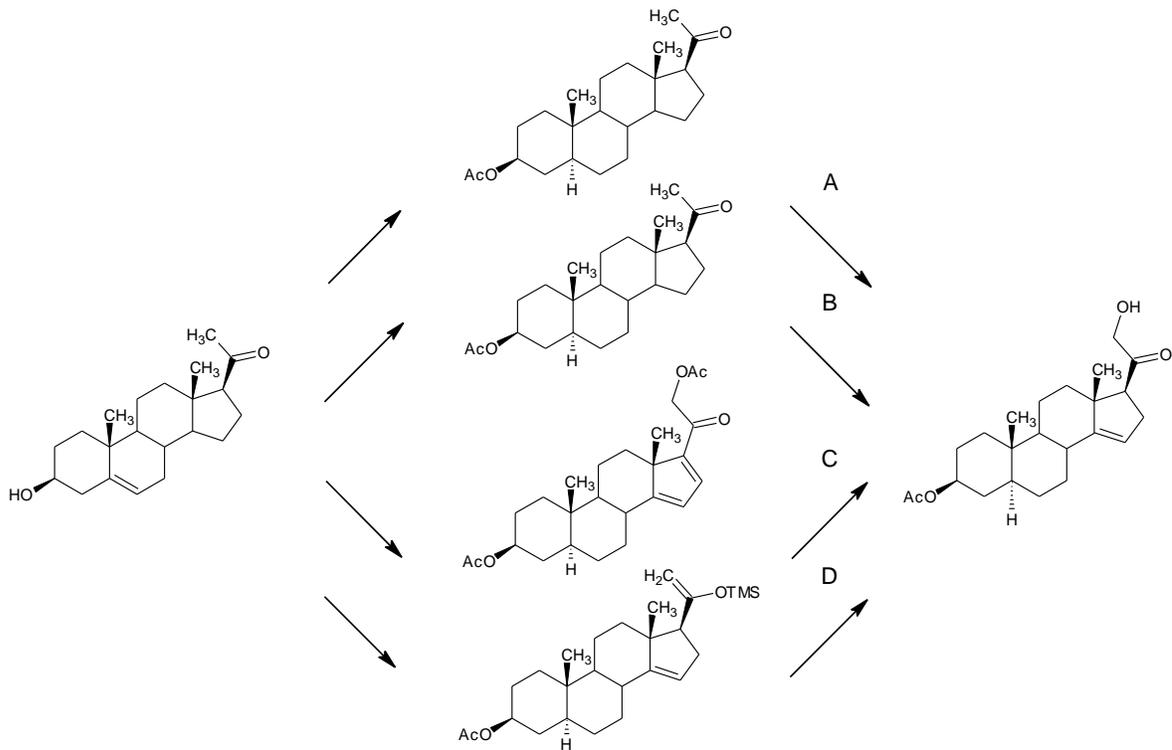


Figura N° 23

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

Estudiar el uso de catalizadores en reacciones de esterificación de Androstanos para generar intermediarios claves en la incorporación de cadenas laterales.

Objetivos específicos:

- Sintetizar la 4-N,N-dimetilaminopiridina para su utilización como catalizador en reacciones de esterificación.
- Realizar esterificaciones en el carbono 3 del anillo A del esqueleto esteroide de la Epiandrosterona.
- Variar los parámetros de reacción, utilizando diferentes sistemas: 4-DMAP, DCC/4-DMAP, piridina y diferentes agentes de esterificación: anhídrido ftálico, ácido ftálico y ácido malónico.
- Caracterizar e identificar los compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos.

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

- ✓ Los solventes y reactivos empleados provienen de Sigma-Aldrich Co., Ltd, Grado HPLC y Síntesis respectivamente.
- ✓ Los Espectros Infrarrojo (IR) fueron registrados en un equipo IR-ThermoNicolet Nexos 470 FT EFP, utilizando una pastilla de KBr.
- ✓ Los Espectros de Resonancia Magnética de Protones (1 HRMN), se registraron en los instrumentos JEOL (270 MHz) , BRUKER (300 MHz) y BRUKER (500 MHz). Se utilizó como referencia interna tetrametilsilano (TMS) y los desplazamientos químicos vienen dados en ppm hacia campos bajos de la señal del TMS. Los solventes vienen especificados en cada espectro.
- ✓ Para la Cromatografía Capa Fina (CCF) se utilizó como adsorbente silica gel Merck DC-60F54, capa de 0,2 mm de espesor en placas de aluminio.
- ✓ Para la Cromatografía Preparativa se utilizó placas 20 x 20 de silica-gel 60G Merck con indicador fluorescente a 254 nm y 0,25 mm de espesor.
- ✓ La Cromatografía de Columna utilizó como soporte silica-gel de Aldrich, 60 Å, con un área de superficie de 500 m²/g y un volumen de 0,75 cm³/g (70-230 MESH ASTM).

4.1 SÍNTESIS DE LA 4-N,N-DIMETILAMINOPIRIDINA:

En un balón de tres bocas se colocaron 10 mL de piridina anhidra con 50 ml de cloroformo. Mediante un embudo de adición se dejó gotear cloruro de tionilo (5 mL; 8,19 g; 68,82mmol) lentamente durante 15 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 25 °C para evitar la polimerización de la piridina. Terminado el goteo se mantuvo la solución en agitación durante dos horas observándose la formación de un

sólido marrón correspondiente a la sal de cloruro de piridinpiridinio, sensible a la humedad. Luego, el exceso de SOCl_2 fue destilado y al producto remanente en el balón se le colocaron 15 mL de N,N-dimetilformamida (DMF), a temperatura de reflujo durante tres horas a 155 °C. Se dejó enfriar la mezcla observándose una coloración parda rojiza, se añadieron 10 mL de solución de hidróxido de potasio al 10% asegurándose de mantener un pH básico cercano a doce. La mezcla de reacción fue extraída con benceno. Una vez unidos los extractos orgánicos fueron secados con sulfato de sodio y evaporados a presión reducida. El producto final fue purificado mediante cromatografía de columna con una mezcla de solventes cloroformo/hexano (1:1). Obteniendo ($5,32452 \pm 0,00001\text{g}$; $43,58\text{mmol}$) de un producto aceitoso insoluble en solventes orgánicos correspondiente a la 4-N,N-dimetilaminopiridina con un punto de fusión ($110\text{-}114$)°C y un rendimiento del 35%.

4.2 ESTERIFICACIONES DE LA 3β -hidroxi- 5α -androstan-17-ona [EA]:

El procedimiento experimental que se plantea con el fin de lograr los objetivos propuestos, es realizar una reacción sobre un sustituyente en el anillo A del esqueleto esteroideal de la Epiandrosterona que involucraba la esterificación del grupo hidroxilo en el C-3 con el anhídrido y ácidos de interés. Se considera así, la realización de una metodología experimental que contempla en un primer término un sustrato y tres agentes acilantes distintos estudiados bajo diferentes condiciones de reacción, comparando la eficiencia de la 4-DMAP, con la piridina y el DCC como agentes catalizadores de dichas esterificaciones.

Tabla N°4. Condiciones de reacción empleadas para las diferentes síntesis.

Reacción	Sustrato	Agentes Acilantes	Condiciones
1	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/reflujo 2h.
2	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	N,N-DMF/reflujo 2h.
3	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	DCC/CHCl ₃
4	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
5	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC
6	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	4-DMAP/CHCl ₃
7	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC/4-DMAP/Reflujo 4h
8	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
9	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	Py/DCC
10	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	DCC/CHCl ₃
11	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	4-DMAP/CHCl ₃
12	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/CHCl ₃
13	Epiandrosterona	Ácido Malónico	4-DMAP/CHCl ₃
14	Epiandrosterona	Ácido Malónico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
15	Epiandrosterona	Ácido Malónico	Py/reflujo 2h.
16	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/4-DMAP/tol/reflujo 2h
17	Epiandrosterona	Ácido Benzoíco	4-DMAP/DCC/CHCl ₃

4.2.1 Acetilación en piridina

En un balón de 50 mL se adicionaron 10 mL de cloroformo, (1,02163 ± 0,00001g; 3,523mmol) de 3β-hidroxi-5α-androst-17-ona y (0,4mL; 0,432g; 4,232mmol) de anhídrido acético. Se adicionó 10 mL de piridina y se agitó durante veinticuatro horas a

temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo necesario se destiló la piridina y el solvente restante, recuperándose un producto crudo que fue recristalizado con una mezcla ácido acético/agua. Obteniéndose (0,94405 ± 0,00001g; 2,840mmol) de 3β-acetoxi-5α-androst-17-ona con un punto de fusión (112-114)°C y un rendimiento del 81%

4.2.2 Acetilación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)

En un balón de 50 mL fueron añadidos 10 mL de cloroformo, (1,02633 ± 0,00001g; 3,533 mmol) de 3β-hidroxi-5α-androst-17-ona con 10 mL de anhídrido acético. Por último se adicionó (0,71339 ± 0,00001g; 3,677mmol) de DCC. Se sometió durante 3 horas a reflujo con agitación continua. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se destiló el solvente. Se obtuvo así un producto crudo recristalizado con una mezcla ácido acético/agua. (1,15404 ± 0,00001g; 3,47mmol) de 3β-acetoxi-5α-androst-17-ona. Punto de fusión (112-114)°C y rendimiento del 98%.

4.2.3 Acetilación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/ 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)

En un balón de 50 mL se adicionaron 10 mL de cloroformo, (1,04255 ± 0,00001g; 3,590 mmol) de 3β-hidroxi-5α-androst-17-ona y 10 mL de anhídrido acético, se añadieron finalmente (0,71003 ± 0,00001g; 3,670mmol) de DCC y cantidades catalíticas de DMAP. Se sometió durante 3 horas a reflujo. Una vez transcurrido el tiempo necesario se destiló el solvente a presión reducida. Obteniéndose un producto crudo recristalizado con una mezcla ácido acético/agua (1,12042 ± 0,00001g; 3,37mmol) de 3β-acetoxi-5α-androst-17-ona. Punto de fusión (110-112)°C y rendimiento del 94%.

4.3 Esterificación del 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con Anhídrido Ftálico:

4.3.1 Esterificación en Piridina:

Para la preparación del producto esterificado se colocaron (1,00029 \pm 0,00001g; 3,444 mmol) de 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona, junto con (0,51804 \pm 0,00001 g; 3,498 mmol) de anhídrido ftálico y 15 mL de piridina. Después de 72 horas de reacción a temperatura ambiente, mediante cromatografía de capa fina (CCF) y utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador no se observó desaparición del material de partida ni aparición de producto alguno. Luego se sometió la mezcla a reflujo durante 6 h. Transcurrido este tiempo de reacción, se destilaron los solventes a presión reducida y se purificó el crudo mediante cromatografía en columna con aumento paulatino de polaridad. Recuperándose (0,55777 \pm 0,00001g; 1,414mmol) del producto obtenido de la 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona con anhídrido ftálico con $R_f = 0,82$ (CHCl₃). Punto de fusión: (115-119)°C y un rendimiento del 41%.

4.3.2 Esterificación en N,N – Dimetilformamida:

Para la preparación del producto esterificado se mezclaron (0,99024 \pm 0,00001g; 3,409 mmol) de 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona, (0,51202 \pm 0,00001g; 3,457 mmol) de anhídrido ftálico y 15 mL de DMF. Se sometió la mezcla a reflujo durante 6h. La reacción se siguió por TLC utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. Una vez transcurridas las dos horas, se destilaron los solventes a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna con aumento paulatino de polaridad del cual se obtuvo (0,20245 \pm 0,00001g; 0,513mmol) del producto esterificado con $R_f = 0,83$ (CHCl₃). Punto de fusión: (114-118)°C y un rendimiento del 15%.

4.3.3 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC):

Para la síntesis del compuesto de interés se mezclaron ($0,99382 \pm 0,00001\text{g}$; $3,422 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, junto con ($0,50521 \pm 0,00001\text{g}$; $3,411 \text{ mmol}$) de anhídrido ftálico y colocados con ($0,70144 \pm 0,00001$; 3.399 mmol) de DCC en 20 mL de cloroformo. La reacción se siguió por TLC, utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. Una vez transcurridas 72 horas se no se observó la aparición del producto esperado.

4.3.4 Esterificación en cloroformo/Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación del producto esterificado se añadieron ($0,99705 \pm 0,00001\text{g}$; $3,433 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, ($0,51863 \pm 0,00001\text{g}$; $3,502 \text{ mmol}$) de anhídrido ftálico, se colocaron además ($0,70187 \pm 0,00001$; $3,62\text{mmol}$) de DCC y cantidades catalíticas de 4-DMAP. Se añadieron 20 mL de cloroformo y se sometió la mezcla a reflujo durante 6h. El curso de la reacción fue monitoreado por CCF, utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. Se obtuvo un producto de carácter menos polar correspondiente a la deshidratación de la Epiandrosterona.

4.3.5 Esterificación en piridina/Diciclohexilcarbodiimida (DCC):

Para la preparación del producto esterificado se mezclaron ($0,99996 \pm 0,00001\text{g}$; $3,443 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, junto con ($0,50264 \pm 0,00001\text{g}$; $3,394$

mmol) de anhídrido ftálico y ($0,71844 \pm 0,00001$; 3,482 mmol) de DCC. Por último se añadieron 15 mL de piridina a temperatura ambiente con agitación continua durante 72h. La reacción se siguió por CCF utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador, durante siete días. De las observaciones se aprecia que, bajo estas condiciones no existió reacción de esterificación. Se obtuvo un producto de carácter menos polar correspondiente a la deshidratación de la Epiandrosterona.

4.3.6 Esterificación en 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para ésta síntesis se adicionó ($0,99796 \pm 0,00001$ g; 3,436mmol) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, con ($0,52796 \pm 0,00001$ g; 3,564 mmol) de anhídrido ftálico y cantidades catalíticas de DMAP, adicionándose por último 20 mL de cloroformo en agitación continua durante 72h. El curso de la reacción fue monitoreada por CCF utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador; donde se apreció que no hubo reacción.

4.3.7 Esterificación en Piridina/Diciclohexilcarbodiimida (DCC)/4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación del producto esterificado fueron adicionados ($0,45417 \pm 0,00001$ g; 1,564mmol) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-onaa ($0,50521 \pm 0,00001$ g; 3,411mmol) de anhídrido ftálico y ($0,31989 \pm 0,00001$; 1,550 mmol) de DCC con cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 15 mL de piridina y se sometió la mezcla a reflujo durante 6h. La reacción siguió mediante CCF, utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. Una vez transcurrido este tiempo, se destilaron los solventes a presión reducida, el producto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna con aumento paulatino de polaridad. Se obtuvo ($0,30324 \pm 0,00001$ g; 0,769mmol) de

producto esterificado con $R_f = 0,81$ (CHCl_3). Punto de fusión: $(115-117)^\circ\text{C}$ y un rendimiento del 49%.

4.4 Esterificación del 3β -Hidroxi- 5α -androst-17-ona con ácido ftálico:

4.4.1 Esterificación en cloroformo / Diciclohexilcarbodiimida (DCC) / 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación del producto esterificado se añadieron $(0,99439 \pm 0,00001\text{g}; 3,424\text{mmol})$ de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona y $(0,70130 \pm 0,00001\text{g}; 3,434\text{mmol})$ de ácido ftálico. Se mezclaron con $(0,70073 \pm 0,00001; 3,396 \text{ mmol})$ de DCC y cantidades catalíticas de DMAP en 20 mL de cloroformo con agitación continua. La reacción se siguió por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. Transcurrido un tiempo de catorce días en constante agitación se concluye que no hay reacción.

4.4.2 Esterificación en piridina/Diciclohexilcarbodiimida (DCC):

Para la preparación del producto esterificado se adicionó $(1,00454 \pm 0,00001\text{g}; 3,459\text{mmol})$ de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, $(0,70360 \pm 0,00001\text{g}; 3,445\text{mmol})$ de ácido ftálico y $(0,70140 \pm 0,00001; 3,399\text{mmol})$ de DCC en 15 mL de piridina a temperatura ambiente con agitación continua. La reacción se monitoreó por CCF utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. De las observaciones se concluye que luego de catorce días no hubo reacción de esterificación.

4.4.3 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC):

Para ésta síntesis se mezclaron (0,99630 ± 0,00001g; 3,431 mmol) de 3β-hidroxi-5α-androst-17-ona con (0,70463 ± 0,00001g; 3,450mmol) de ácido ftálico. Se adicionaron además (0,70238 ± 0,00001; 3,404mmol) de DCC y 20 mL de cloroformo. El curso de la reacción fue monitoreada por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. De las observaciones se apreció y concluyó que no hubo reacción, más allá de la aparición de un sólido insoluble en el medio de reacción correspondiente a la diciclohexilurea (DCU) y un producto de carácter menos polar correspondiente a la deshidratación de la Epiandrosterona.

4.4.4 Esterificación en 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para sintetizar el producto deseado se mezclaron (1,00054 ± 0,00001g; 3,445mmol) de 3β-hidroxi-5α-androst-17-ona con (0,70497 ± 0,00001g; 3,452mmol) de ácido ftálico y cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 20 mL de cloroformo en agitación continua durante catorce días. El curso de la reacción fue monitoreada por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. Se apreció que no hubo reacción.

4.5 Esterificación del 3β-Hidroxi-5α-androst-17-ona con ácido malónico:

4.5.1 Esterificación en Diciclohexilcarbodiimida (DCC):

Para la preparación del producto esterificado se adicionaron ($1,00491 \pm 0,00001\text{g}$; $3,460 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, ($0,39660 \pm 0,00001\text{g}$; $3,811 \text{ mmol}$) de ácido malónico y ($0,71405 \pm 0,00001$; $3,461 \text{ mmol}$) de DCC con 15mL de cloroformo. La solución permaneció en agitación continua cinco días. El seguimiento de la reacción se llevó por CCF, utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. De las observaciones se apreció la aparición de dos nuevos productos con distintos R_f ; uno menos polar y otro más polar que el material de partida. Además de un sólido blancuzco insoluble en el medio de reacción, el cual fue separado y caracterizado como dicitclohexilurea (DCU) y un producto de carácter menos polar correspondiente a la deshidratación de la Epiandrosterona. Finalizada el tiempo de reacción, se purificó mediante placas preparativas. Se obtuvo ($1,01859 \pm 0,00001\text{g}$; $2,706\text{mmol}$) del producto esterificado con ácido malónico con $R_f = 0,43$ (CHCl_3). Punto de fusión: $(140-145)^\circ\text{C}$ y un rendimiento del 78%.

4.5.2 Esterificación en 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación del producto esterificado se tomó ($1,01092 \pm 0,00001\text{g}$; $3,481\text{mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona, junto con ($0,37626 \pm 0,00001\text{g}$; $3,616 \text{ mmol}$) de ácido malónico y cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 15mL de cloroformo en agitación continua durante cinco días. El curso de la reacción fue monitoreada CCF, utilizando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador. Finalizada la síntesis, se purificó mediante placas preparativas. Obteniéndose ($0,12395 \pm 0,00001\text{g}$; $0,329\text{mmol}$) de producto esterificado con ácido malónico con $R_f = 0,42$ (CHCl_3). Punto de fusión: $(140-146)^\circ\text{C}$ y un rendimiento del 9%.

4.5.3 Esterificación en cloroformo / Diciclohexilcarbodiimida (DCC) / 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación de este producto esterificado se mezclaron ($1,02200 \pm 0,00001\text{g}$; $3,519 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-ona con ($0,37180 \pm 0,00001\text{g}$; $3,573 \text{ mmol}$) de ácido malónico, ($0,73081 \pm 0,00001$; $3,542 \text{ mmol}$) de DCC y cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 15mL de cloroformo y se sometió la mezcla a agitación continua por un período de cinco días. La reacción se siguió por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. Se observó la aparición de dos productos intensos con polaridades diferentes, una menor y otra mayor a la del material de partida respectivamente. Además de un sólido blancuzco insoluble en el medio de reacción, el cual fue separado mediante filtración y caracterizado como diciclohexilurea (DCU) además de un producto de carácter menos polar correspondiente a la deshidratación de la Epiandrosterona. Finalizados los cinco días de reacción, se purificó mediante el empleo de placas preparativas. Se obtuvo ($0,55424 \pm 0,00001\text{g}$; $1,472\text{mmol}$) del producto de esterificación con ácido malónico con $R_f = 0,40$ (CHCl_3). Punto de fusión: $(140-146)^\circ\text{C}$ y un rendimiento del 42%.

4.5.4 Esterificación en piridina:

Para la preparación del producto esterificado se adicionó ($1,01612 \pm 0,00001\text{g}$; $3,498 \text{ mmol}$) de 3β -hidroxi- 5α -androst-17-onn, ($0,38523 \pm 0,00001 \text{ g}$; $3,702 \text{ mmol}$) de ácido malónico en 15mL de piridina y se sometió la mezcla a agitación constante por cinco días La reacción se siguió por CCF y una vez finalizada este tiempo de reacción, se destilaron los solventes a presión reducida y se purificó el producto mediante cromatografía en columna con aumento paulatino de polaridad. Obteniéndose

(0,03118± 0,00001g; 0,083mmol) de producto esterificado con ácido malónico con $R_f=0,43$ (CHCl_3). Rendimiento del 2%.

4.5.5 Esterificación en tolueno / Diciclohexilcarbodiimida (DCC) / 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP):

Para la preparación de este último producto esterificado se adicionaron (1,00084 ± 0,00001g; 3,446 mmol) de 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona, (0,38701 ± 0,00001g; 3,719 mmol) de ácido malónico con (0,71411± 0,00001; 3,461 mmol) de DCC y cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 25mL de tolueno y se sometió la mezcla a reflujo durante 7 h.. La reacción se siguió por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. No se apreció aparición alguna de nuevos productos de interés con respecto al material de partida, sólo uno menos polar, además de un sólido blancuzco insoluble en el medio de reacción, el cual fue separado y caracterizado como diciclohexilurea (DCU) el correspondiente producto de deshidratación de la Epiandrosterona.

4.5.6 Esterificación del 3 β -Hidroxi-5 α -androst-17-ona con ácido benzoico:

Este último producto esterificado se sintetizó adicionando (0,54386± 0,00001g; 1,873mmol) de 3 β -hidroxi-5 α -androst-17-ona, (0,46801± 0,00001g; 3,836mmol) de ácido benzoico con (0,74146± 0,00001; 2,268mmol) de DCC y cantidades catalíticas de DMAP. Se añadieron 25mL de cloroformo y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se siguió por CCF, utilizando anisaldehído- ácido sulfúrico como revelador. Fue purificado mediante el empleo de placas preparativas. El

producto de esterificación obtenido fue de $(0,19333 \pm 0,00001\text{g}; 0,490\text{mmol})$ con $R_f = 0,80$ (CHCl_3). Punto de fusión: $(115-118)^\circ\text{C}$ y un con un rendimiento del 26%.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 SÍNTESIS DE LA 4-N,N-DIMETILAMINOPIRIDINA:

Para la obtención de la 4-DMAP se trasladó el modelo propuesto por Höfle y col¹¹a microescala donde se hizo reaccionar la piridina con cloruro de tionilo para obtener la sal de piridinpiridinio que mostró marcada sensibilidad a la humedad. Por lo que se hizo reaccionar, sin previa purificación, con DMF. Seguida de una hidrólisis alcalina. De acuerdo a la representación esquemática siguiente:

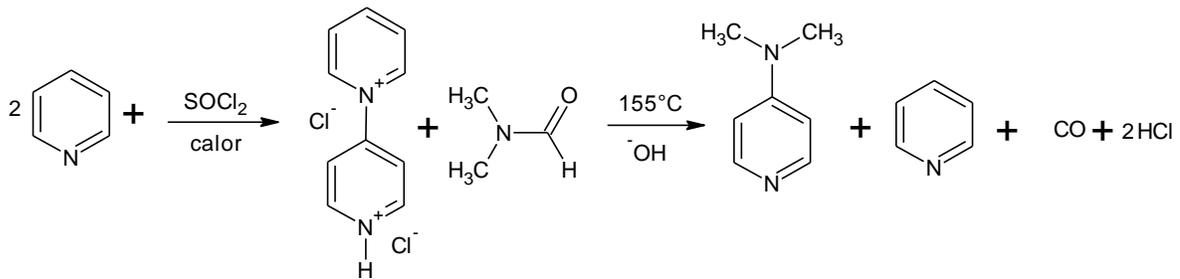
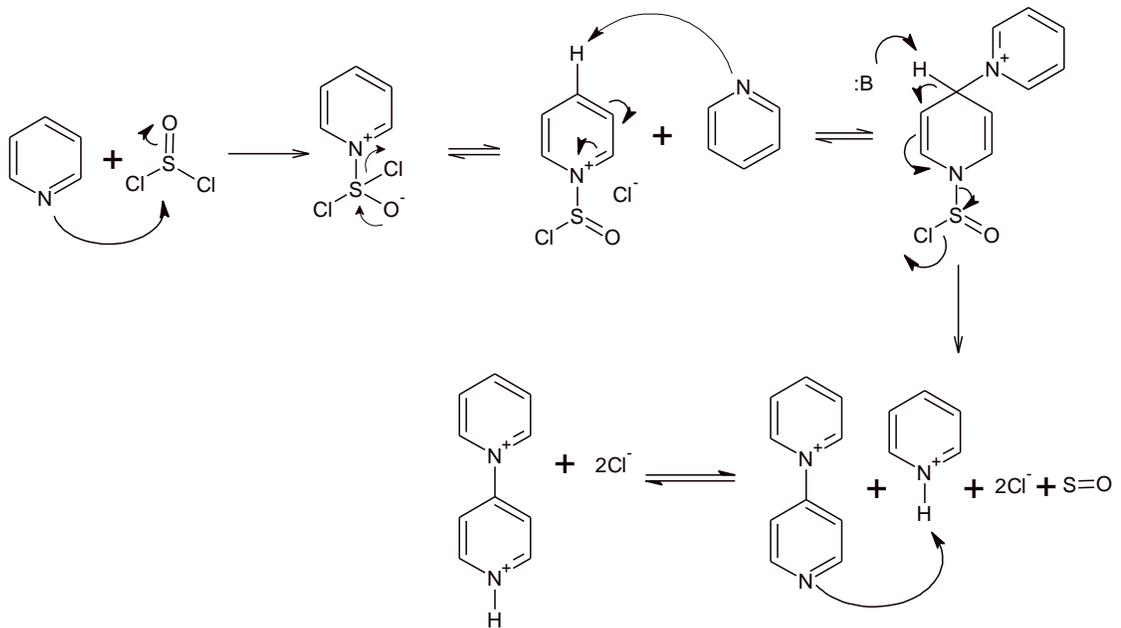


Figura N° 24

El rendimiento del producto sólido obtenido fue del 35%. Para explicar las posibles causas asociadas al bajo rendimiento de la reacción, se encontró que podría estar relacionada con el aislamiento y purificación del intermediario formado, la sal de cloruro de piridinpiridinio, ya que dicho compuesto es delicuescente²⁶. El inconveniente con respecto a la estabilidad de esta sal viene dada por el hecho de que se encuentra activada para un ataque nucleofílico, haciendo a la estructura propensa incluso a la humedad (H_2O como nucleófilo).

En 1960, McElvain y col.²⁶, encontraron que al emplear Br₂/piridina para formar el intermediario bromuro hidrobromuro de N-[4-piridilo]piridiniola producción del sólido negro e insoluble durante la síntesis es debido a la polimerización de la piridina como consecuencia de una fuerte activación de las posiciones 2 y 4 del anillo piridínico, cuya reactividad se ve favorecida por efecto de la temperatura. Por esta razón, puede considerarse que un control en la temperatura puede disminuir la formación del polímero de la piridina favoreciendo así la síntesis de la sal intermediaria generando mejores rendimientos, por lo que para la preparación de ésta se realizó un control de la temperatura al ser añadido el cloruro de tionilo gota a gota lentamente.

Aunque el mecanismo no ha sido bien establecido^{27,28}, los resultados indican que la temperaturas un factor importante en el curso de la reacción, lo cual se pudo corroborar al obtener el producto esperado con un rendimiento de 35%, rendimiento que duplicó al reportado en 2004 por **M. Kumar** y colaboradores²⁹. Algunos autores han planteado un posible mecanismo para la síntesis la 4-DMAP como lo ilustra la Figura N°25.



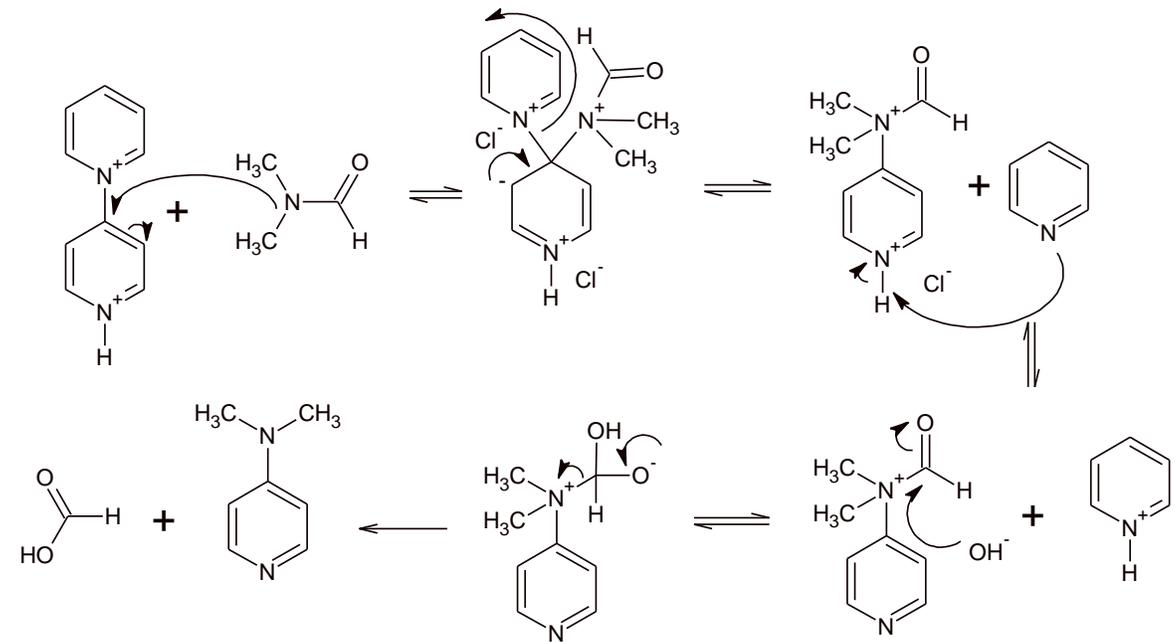


Figura N° 25

Para la caracterización del compuesto sintetizado se determinaron las propiedades físicas que evidencian la similitud del producto sintetizado con respecto a la 4-DMAP (registradas en la tabla N° 5), se identificó luego mediante análisis espectroscópico, para ello se emplearon las técnicas de resonancia magnética nuclear de protones (RMN-H^1) e Infrarrojo (IR).

Tabla N° 5. Propiedades Físicas de la 4-DMAP.

Apariencia	Sólido cristalino brillante de aspecto ligeramente aceitoso, color Naranja amarillento
-------------------	--

Punto de Fusión (°C)	110-114 (dos replicas)	
Solubilidad*	Hexano	Muy soluble
	Diclorometano	Muy soluble
	Benceno	Muy soluble
	Acetato de etilo	Muy soluble
	Cloroformo	Muy soluble
	Ácido acético	Muy soluble
	Metanol	Muy soluble
	Agua	Muy soluble
	Diisopropiléter	Poco soluble

*estimaciones cualitativas.

El espectro de IR de la 4-DMAP (Espectro N° 1, CHCl_3), muestra una banda ancha de intensidad a $2922,7\text{cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones de tensión en el plano de enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$. A $1735,9\text{cm}^{-1}$ se observa una banda aguda de intensidad baja que corresponde residuos de la N,N-DMF. A $1647,4\text{cm}^{-1}$ se aprecia una banda aguda intensa correspondiente a vibraciones $\text{Csp}^2\text{-N}$ del anillo piridinico y en $1604,6\text{cm}^{-1}$ una banda intensa y aguda atribuible a vibraciones de tensión $\text{Csp}^2\text{-C}$ también del anillo piridinico. Mientras que a $1445,0\text{cm}^{-1}$ se observa una señal aguda que pertenece a la vibración de enlace fuera del plano Csp^2 de la piridina. Por último, se observa una señal aguda a $1103,5\text{cm}^{-1}$ que corresponde a la tensión de enlace entre el nitrógeno del grupo amino y el carbono C-4 de la piridina.

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Espectro N° 2, CDCl_3) muestra tres señales, una señal a 8,20 ppm con una integral relativa a un protón que puede ser asignada a los protones H-2 y H-6 de la piridina que son químicamente y magnéticamente equivalentes al igual que para la señal correspondiente a 6,20 ppm asignada a los protones menos

apantallados H-3 y H-5 de la piridina. Por último, la señal a 2,90 ppm con una integral relativa a 6 protones, se asigna a los protones metílicos del grupo amino en la posición 4 del anillo de piridina. Es importante destacar la simetría relativa a las integrales obtenidas, lo que evidencia que es una molécula simétrica dividida por un plano perpendicular al plano del papel, que atraviesa los metilos sobre el nitrógeno y el anillo. La Tabla N° 6 muestra una comparación de los desplazamientos experimentales para la 4-DMAP con el valor teórico, según la literatura.

Tabla N° 6. Comparación de desplazamientos protónicos teóricos³⁰ con los experimentales, en CDCl₃ para la 4-DMAP:

Desplazamiento Reportado δ (ppm) [*]	Desplazamiento Experimental δ (ppm)
8,44	8,20
6,64	6,50
2,78	2,90

³¹Pretsch, E. Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.

5.2 Síntesis de la 3 β -acetoxi-5 α -androst-17-ona:

Para la acetilación de la 3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona (Figura N° 26), se ensayaron tres procedimientos estándares diferentes, en busca del método más efectivo para la obtención del producto acetilado y poder trasladar esos resultados a reacciones de esterificación partiendo del mismo material de partida, pero variando el agente acilante utilizado.

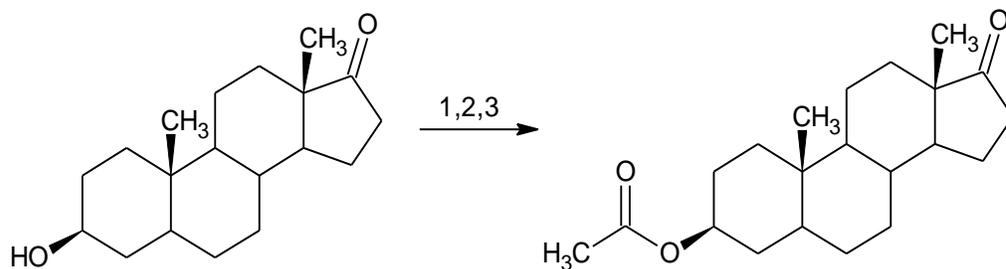


Figura N°26

Tabla N°7. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis de la 3β-acetoxy-5α-androst-17-ona.

Reacción	Sustrato	Agente Acilante	Condiciones	Rendimiento
1	Epiandrosterona	Anhídrido Acético	Py/ T amb/ 24h	81%
2	Epiandrosterona	Anhídrido Acético	DCC/ Reflujo 3h	98%
3	Epiandrosterona	Anhídrido Acético	DCC/ 4-DMAP/Reflujo 3h	94%

La diferencia en los rendimientos obtenidos cuando se utilizan los sistemas catalíticos: DCC y DCC/4-DMAP no son tan apreciables como para poder concluir cual sistema resulta más efectivo.

En la esterificación de la Epiandrosterona con anhídrido acético en piridina o con un derivado de ésta, se puede proponer la formación de un ión acetilpiridinio como intermediario, seguido del ataque de la Epiandrosterona y posterior salida de la piridina o de su derivado.

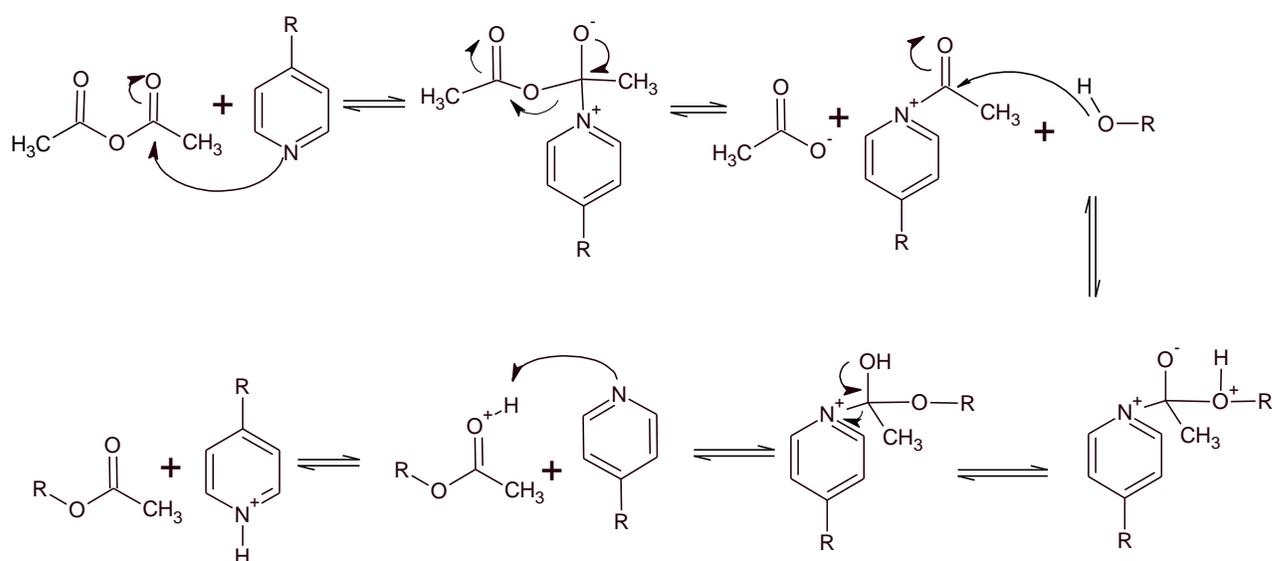


Figura N° 27

De igual manera para la 4-DMAP se puede entonces proponer el mismo esquema de catálisis nucleofílica (considerando que posee pKa de 9,12; mayor que el de la piridina, de 5,21). Ésta tiene la ventaja de estabilizar mejor la carga formada en el intermediario, como lo muestra la Figura N° 28 y además generar reacciones más eficientes y limpias.

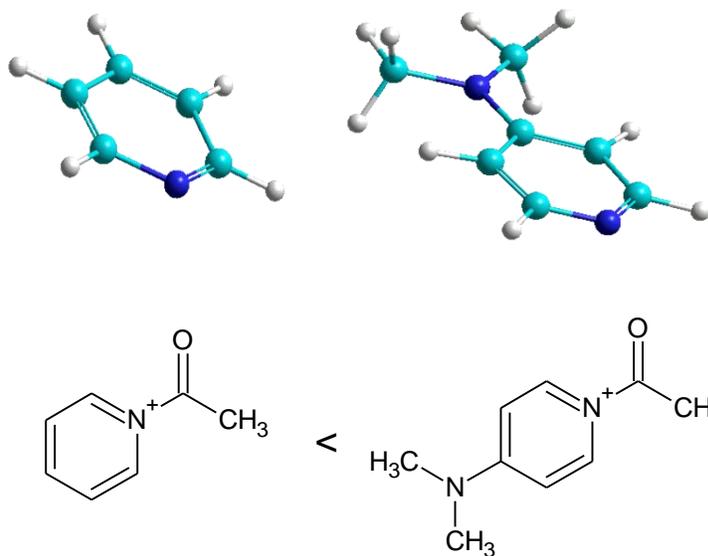


Figura N° 28

Para el sistema 4-DMAP/DCC en la acetilación de la epiandrosterona podemos proponer un mecanismo de reacción donde igualmente en un primer paso el ión acetilpiridinio es formado:

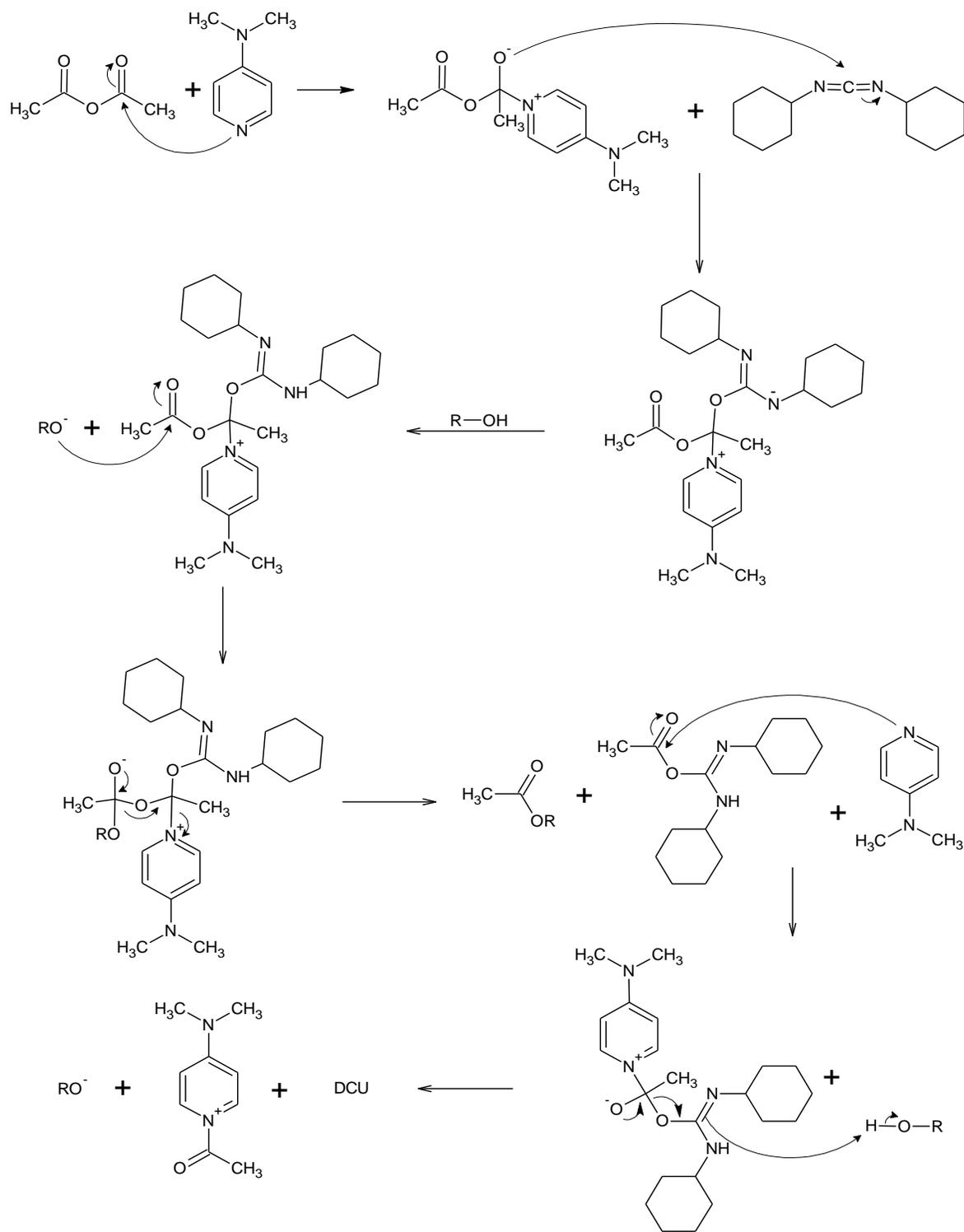


Figura N° 29

Por último, el mecanismo probable para la reacción donde el DCC actúa como único catalizador en la acetilación de la epiandrosteronapartimos de la estructura resonante del anhídrido acético de acuerdo a la siguiente figura:

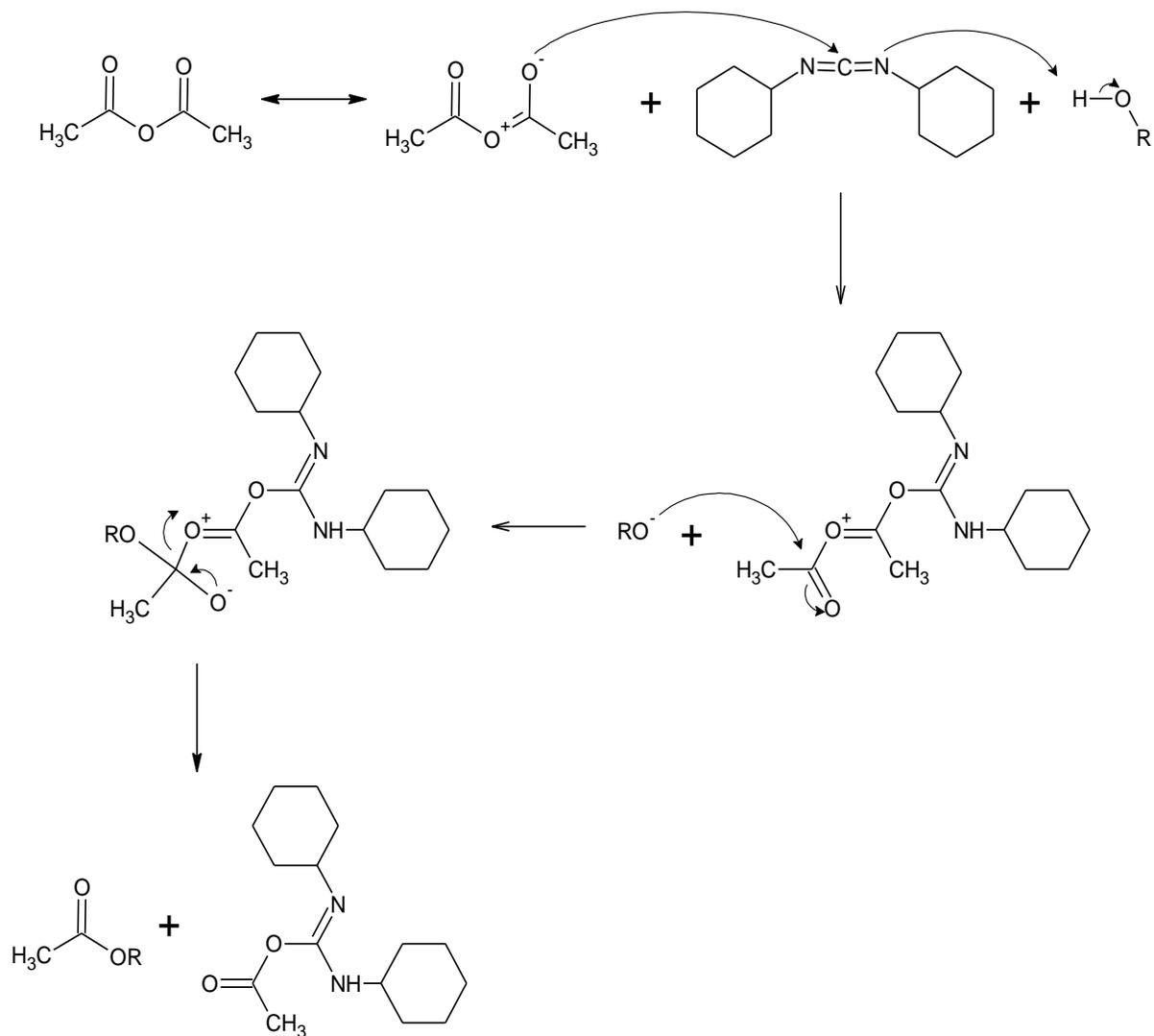


Figura N° 30

El espectro (Espectro N°3 IR, CHCl_3) no se observa la señal intensa y aguda en $3469,10 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a vibraciones de tensión de un enlace del tipo O-H observadas en el espectro del material de partida (Espectro N°4). Se evidencian señales agudas e intensas centradas entre $2972,4 \text{ cm}^{-1}$; $2930,6 \text{ cm}^{-1}$ y $2847,1 \text{ cm}^{-1}$ asignadas a vibraciones de tensión de enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$ de la estructura esteroideal y al metilo del acetilo en el C-3. Se observa además, la presencia de dos señales carbonílicas a diferente número de onda, una señal intensa y aguda en $1735,6 \text{ cm}^{-1}$ proveniente del carbono carbonílico C-17 de la epiandrosterona, otra señal aguda de mediana intensidad en $1716,9 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al carbonilo del acetilo. Por último una señal en $1247,6 \text{ cm}^{-1}$ aguda de igual intensidad a las carbonílicas atribuida a una vibración en el plano del enlace tipo O-C(O)-C del éster.

5.3 Síntesis del producto esterificado con anhídrido ftálico (producto descarboxilado):

El producto esterificado esperado utilizando anhídrido ftálico como agente acilante mostrado en la figura N° 31, no logró ser obtenido bajo las condiciones de reacción empleadas. El producto sintetizado se muestra en la figura N° 32, el cual corresponde a una esterificación exitosa en las condiciones señaladas.

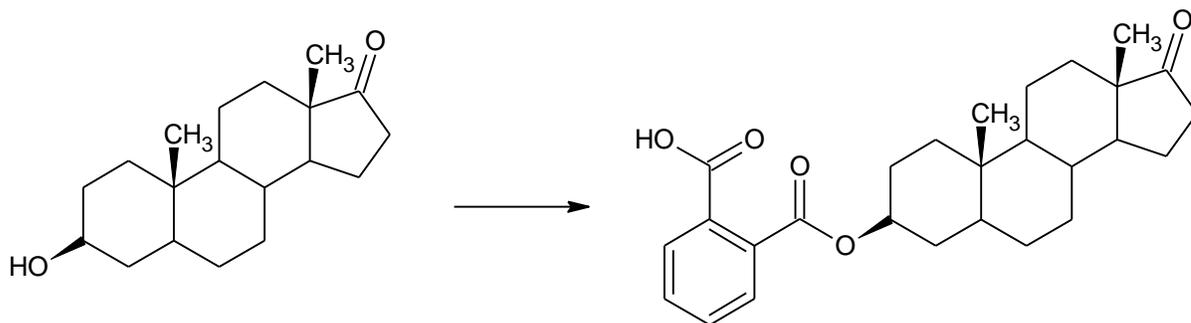
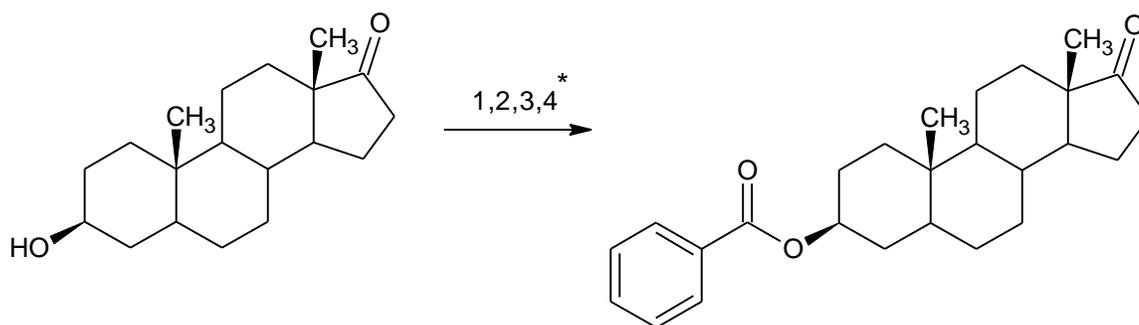


Figura N° 31



* Ver tabla N° 8

Figura N°32

Tabla N°8. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis del producto esterificado.

Reacción	Sustrato	Agente Acilante	Condiciones	Rendimiento
1	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/reflujo 2h.	41%
2	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	N,N DMF/reflujo 2h.	15%

3	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC/4-DMAP	49%
4	Epiandrosterona	Ácido Benzoico	DCC/4-DMAP/CHCl ₃	26%
5	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	DCC/CHCl ₃	-
6	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	DCC/4-DMAP/CHCl ₃	-
7	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC	-
8	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	4-DMAP/CHCl ₃	-
9	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	DCC/4-DMAP/CHCl ₃	-
10	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	Py/DCC	-
11	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	DCC/CHCl ₃	-
12	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	4-DMAP/CHCl ₃	-

B. Neises y col.;³² trabajaron en la esterificación de ácidos carboxílicos con DCC/4-DMAP y encontraron que, con impedimento estérico creciente, la tasa de esterificación se reduce y la formación de N-acilureas pueden llegar a ser una reacción secundaria importante. Esto puede explicar que para el caso particular de las esterificaciones llevadas a cabo con distintos agentes acilantes no se obtuvieran mejores rendimientos que los reportados.

En este caso el anhídrido ftálico es un agente acilante más voluminoso que el anhídrido acético, lo que evidencia su diferencia en reactividad y rendimiento bajo las condiciones de reacción empleadas. Esto se verifica al evaluar la condición DDC/ CHCl_3 en la esterificación de la EA, donde la acetilación tiene un rendimiento del 98% mientras que la esterificación con anhídrido ftálico no tiene lugar. Esto puede señalar que la reacción de esterificación está determinada en gran medida por el agente acilante utilizado afectando los rendimientos.

Los rendimientos más altos fueron obtenidos en las reacciones 1 y 3 mostradas en la tabla N° 8; producto de la catálisis nucleofílica de la piridina y de la 4-DMAP. A temperatura del laboratorio bajo ninguna condición evaluada se apreció producto. Al calentar la mezcla de reacción a reflujo durante dos horas, el seguimiento mediante de CCF reveló la presencia de un compuesto menos polar y de material de partida. Se encontró que bajo estas condiciones de reacción, la esterificación de la EA con anhídrido ftálico es incompleta ya que no se apreció la desaparición del material de partida. El rendimiento para el sistema DCC/4-DMAP en la reacción N° 3 se vio favorecido por la presencia de la piridina como solvente, que además actúa como catalizador de la reacción. (figura N°33)

La esterificación de la EA empleando DMF como solvente puede considerarse una reacción promovida por calor:

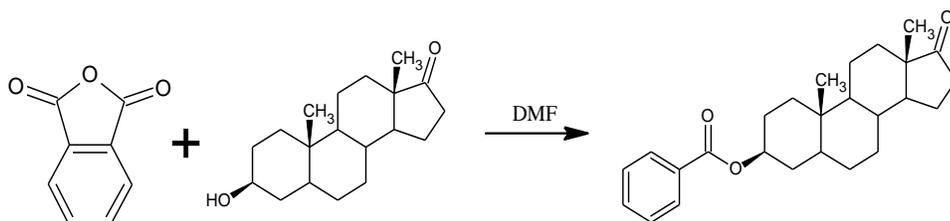


Figura N° 33

Para confirmar la estructura del producto esterificado con anhídrido ftálico, se realizó su caracterización por las técnicas de IR, ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

En el espectro de IR del producto sintetizado (Espectro N°5, KBr) se aprecia entre 2941,7 y 2849,9 (cm^{-1}) señales agudas e intensas, correspondientes a las vibraciones de tensión simétricas y asimétricas de enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$. Se observan además dos señales agudas e intensas en $1738,7 \text{ cm}^{-1}$ y $1702,8 \text{ cm}^{-1}$ asignadas a vibraciones de tensión de enlaces C=O . En $1178,9 \text{ cm}^{-1}$ señal aguda e intensa correspondiente a la vibración de tensión asimétrica de enlaces O-C(O)-C (característica de los ésteres).

Para la asignación de protones y carbonos del producto esterificado se designó la siguiente numeración:

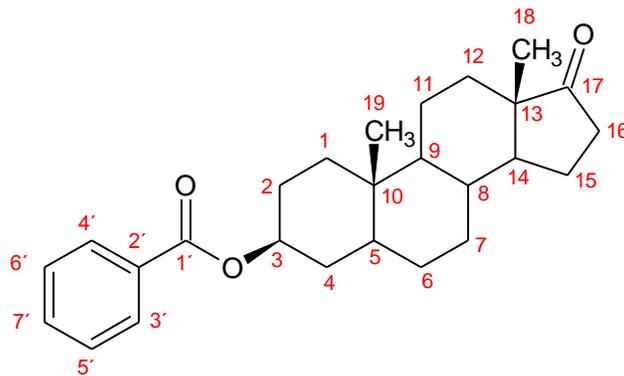


Figura N° 34

En el espectro de ^1H -RMN (Espectro N° 6, CDCl_3), se aprecia un singlete centrado en $\delta=0,89 \text{ ppm}$ y otro en $\delta=0,94 \text{ ppm}$; ambas señales atribuibles a los protones metílicos localizados en C-18 y C-19 respectivamente. El protón sobre C-

3muestra un multiplete centrado en $\delta=5,49$ ppm, a campo más bajo que el desplazamiento reportado para el mismo protón en el material de partida a 3,98 ppm, como consecuencia del cambio del grupo hidroxilo por el grupo éster. Se observan además una serie de multipletes entre 7,72 ppm; 7,61ppm y 7,58 ppm con una integración relativa a cinco protones del anillo aromático, lo cual podría dar indicios de que se encuentra monosustituido, y por ende haber ocurrido una descarboxilación. Las señal a $\delta=4,01$ ppm se atribuye a la presencia de dicitclohexilurea (DCU).

Tabla 9. Datos espectroscópicos $^1\text{H-RMN}$, en CDCl_3 , del producto sintetizado (Espectro N° 6).

δ (ppm)Exp.	Multiplicidad	Asignación
0,89	Singlete(s)	CH_3 , C-18
0,94	Singlete(s)	CH_3 , C-19
4,01	Multiplete(m)	DCU
5,49	Multiplete(m)	CH, C-3
7,24	Singlete(s)	CDCl_3
7,72	Multiplete(m)	CH,C-4'
7,72	Multiplete(m)	CH,C-3'
7,61	Multiplete(m)	CH,C-6'
7,59	Multiplete(m)	CH,C-5'
7,58	Multiplete(m)	CH,C-7'

El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ (Espectro N° 7, CDCl_3), muestra dos carbonos carbonílicos, además de la modificación del desplazamiento químico del C-3 alrededor de 76 ppm con respecto al material de partida reportado en 68,88 ppm; lo que confirma que el producto obtenido está esterificado. Además, aparecen cinco señales entre

135,6 y 129,0 (cm^{-1}) correspondientes a los carbonos del anillo aromático, confirmando que está monosustituido.

Tabla N° 10. Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto esterificado con anhídrido ftálico (Espectro N°7, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos teóricos calculados.

δ (ppm)Exp.	δ (ppm)Calculados	Asignación
220,8	220,9	C-17
168,0	166,5	C-1'
133,5	135,6	C-7'
131,8	130,4	C-2'
130,8	130,3	C-4'
125,4	130,3	C-3'
125,3	129,0	C-6'
122,3	129,0	C-5'
~76	75,26	C-3
51,2	52,0	C-9
50,6	51,6	C-14
47,4	47,8	C-13
41,2	43,1	C-5
35,5	36,0	C-1
34,9	35,9	C-16
34,8	35,2	C-8
34,5	35,2	C-10
31,3	31,8	C-12
30,4	31,4	C-4

30,0	29,8	C-6
28,2	28,1	C-7
25,7	26,3	C-2
21,5	21,8	C-15
20,1	20,2	C-11
13,4	14,2	C-19
11,6	13,8	C-18

De acuerdo al análisis espectroscópico del producto sintetizado en las reacciones 1, 2 y 3 mostradas en la tabla N°8, parece tratarse del producto descarboxilación y no el éster esperado. Para corroborarse se realizó una reacción adicional (Reacción N° 4), utilizando ácido benzoico como agente acilante empleando el sistema DCC/4-DMAP en cloroformo.

Para saber si, en efecto los productos obtenidos en las reacciones 1,2,3 y 4; se trataban del mismo compuesto, éstos fueron comparados a través de su P.f y de su R_f a partir de cloroformo, obteniéndose que efectivamente se trataban del mismo producto. Estos resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla N°11. Comparación de R_f y P.f para los productos obtenidos en las reacciones 1,2,3 y 4 en la esterificación de la EA con anhídrido ftálico y ácido benzoico:

Producto de reacción	R_f (cloroformo)	P.f (°C)
1	0,82	115-119
2	0,83	114-118
3	0,81	115-117

4

0,80

115-118

Lawrence y col.³⁴ encontraron que el anhídrido ftálico en presencia de agua y elevadas temperaturas se descarboxila a ácido benzoico.

De igual manera, el trabajo de Courtney Conover y col.³⁵; está relacionado con la descarboxilación de ácidos dicarboxílicos anhídros según los cuales el dióxido de carbono es eliminado y una cetona o el grupo lactona es formado.

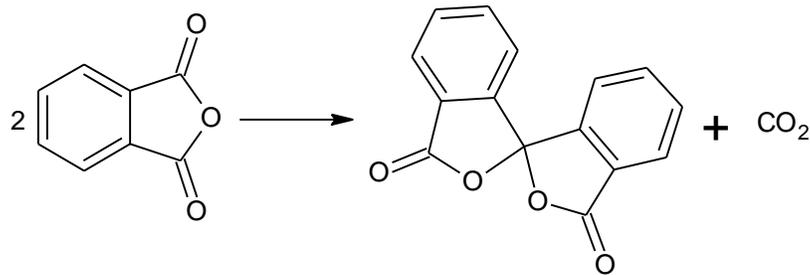


Figura N° 35

Anteriormente, se había propuesto la formación de ácidos monocarboxílicos por la eliminación de dióxido de carbono en presencia de agua. Por ejemplo, el anhídrido ftálico puede reaccionar con calor en presencia de un catalizador, para formar el ácido benzoico y CO₂.

En 2008, Phillip, F. y col.³⁶; realizaron investigaciones sobre el mecanismo de descarboxilación de ácidos aromáticos encontrando que las vías son sorprendentemente complejas y dependen de las condiciones de reacción. Las dos vías principales para reacciones de descarboxilación aromáticos son iónicas y de radicales libres. En solución acuosa, las descarboxilaciones iónicas pueden ser catalizadas por ácido o base. Las reacciones catalizadas por ácido son más comunes y

depende de la concentración de ácido, la fuerza iónica, y los sustituyentes en el anillo aromático. En ácido diluido, la protonación ipso del anillo aromático es la etapa determinante de velocidad. (Ec 1 – Figura N° 36), mientras que en soluciones altamente ácidas, el determinante de la velocidad es el paso de descarboxilación del catión aromático. En la ausencia de un catalizador ácido, la descarboxilación de sales de carboxilatos es el paso determinante de la velocidad de eliminación unimolecular, se genera dióxido de carbono (Ec 2- Figura N° 36).

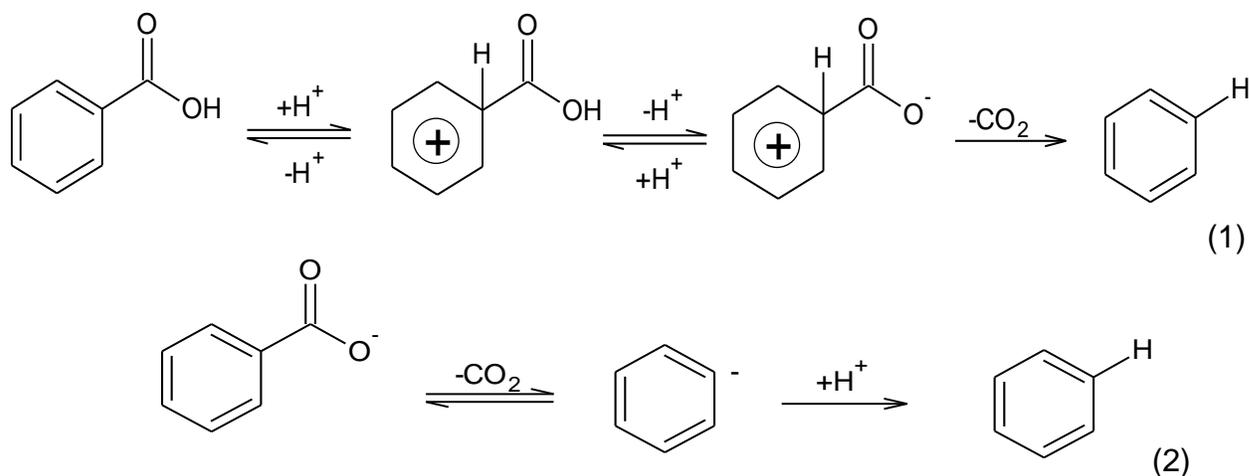


Figura N° 36

La descarboxilación de ácidos carboxílicos aromáticos también se puede producir vía radicales libres. Dado que se forman como intermedios reactivos en la termólisis de carbón. La vía descarboxilación de radicales libres ha sido visto como una posible ruta de la reticulación. La abstracción de hidrógeno o transferencia de electrones a un aceptor puede formar el radicalbenzoyloxyl (PhCOy), que rápidamente se descarboxila para formar un radical arilo. Este intermediario altamente reactivo puede extraer un hidrógeno o competir para añadir un anillo aromático y formar biarilos. Esta vinculación arilo-arilo es térmicamente estable a T 400 ° C y constituiría una baja temperatura de reticulación.

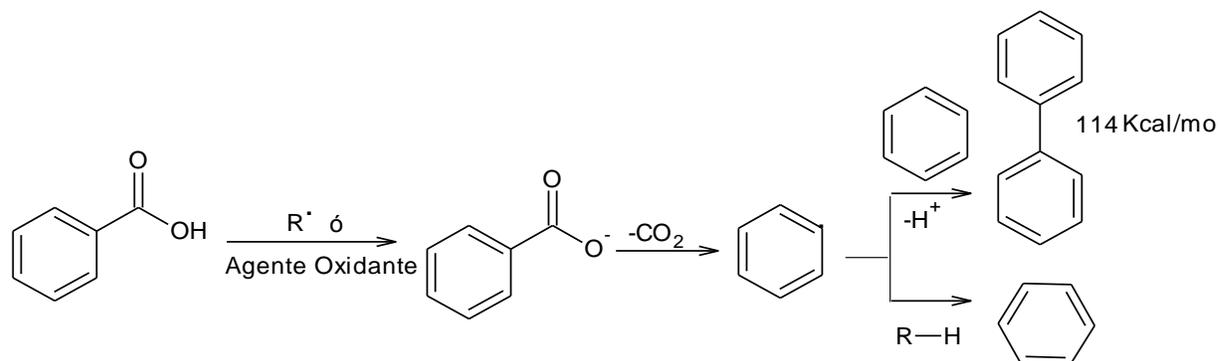
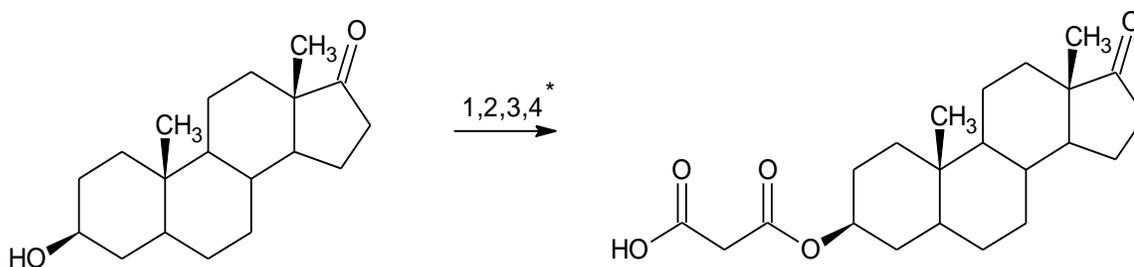


Figura N° 37

En nuestro caso, los catalizadores usados fueron básicos y las temperaturas mayores a 100°C y el resultado obtenido en la esterificación sugiere que en algún paso de la reacción, antes de la esterificación o luego de que el androstano fue esterificado, se llevó a cabo una descarboxilación. La reacción planteada en la ecuación dos (Ec 2- Figura N° 36) podría servir de modelo para explicar el hecho experimental observado.

5.4 Síntesis del producto esterificado con ácido malónico:

El producto de esterificación observado en la Figura N° 37 se logró sintetizar con éxito en las condiciones de reacción ilustradas a continuación:



* Ver tabla N° 11

Figura N° 38

Tabla N° 12. Condiciones de reacción empleadas para la síntesis del producto esterificado.

Reacción	Sustrato	Agente Acilante	Condiciones	Rendimiento
1	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/CHCl ₃	78%
2	Epiandrosterona	Ácido Malónico	4-DMAP/CHCl ₃	9%
3	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/4-DMAP/CHCl ₃	42%
4	Epiandrosterona	Ácido Malónico	Py	2%
5	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/4-DMAP/tol/reflujo 2h	-

En la literatura aparecen numerosos ejemplos del uso del sistema DCC/ 4-DMAP para la esterificación de ácidos carboxílicos^{11,17,18}. En nuestro caso, se emplearon ácidos dicarboxílicos, donde los resultados obtenidos difieren con los reportados. De acuerdo a esto, al emplear ácido malónico como agente acilante se esperaba que para el sistema DCC/ 4-DMAP el rendimiento fuese mayor. Sin embargo, se obtuvo un 48% de producto esterificado. Una posible explicación puede estar asociada al hecho de que puede generar productos colaterales tal como el que se muestra en la figura N° 38.

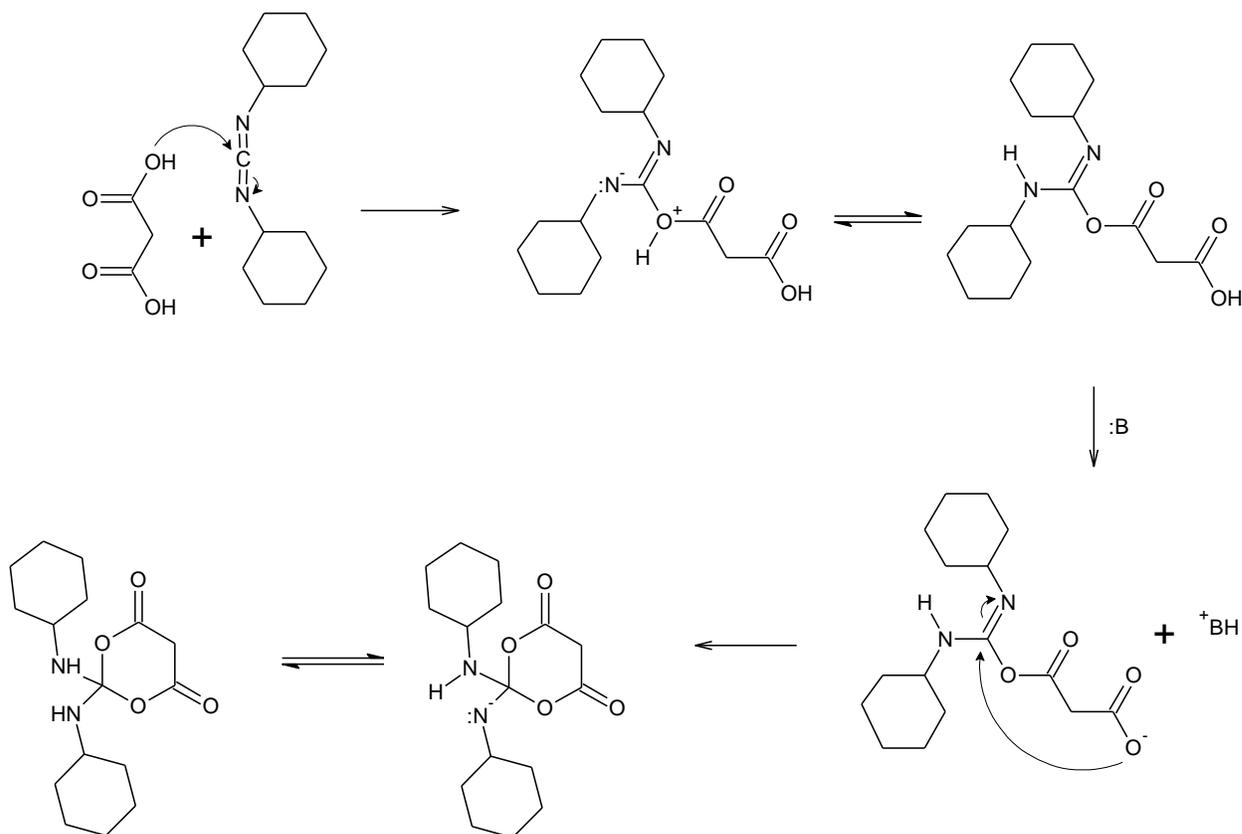


Figura N° 39

Los rendimientos más bajos se evidencian en las reacciones donde se utiliza 4-DMAP y Py como únicos catalizadores en la esterificación de la EA con ácido malónico, lo cual puede deberse a la ausencia de DCC, responsable de activar al ácido, volviéndolo más reactivo.¹³

Desde 1960 las 4-dialquilaminopiridinas fueron utilizadas como catalizadores en acilaciones más complejas y reacciones relacionadas evidenciando su mayor eficiencia catalítica teniendo éste la ventaja de estabilizar en mayor proporción la carga formada

en el estado de transición ofreciendo mejores rendimientos para las reacciones de acilación en las que se utilizaba piridina. Von Doering y col.¹¹; propusieron el mecanismo de la acción catalítica de la piridina que aplica de igual manera a la 4-DMAP. Ver figura N°6.

Por último, el sistema DCC/4-DMAP en tolueno bajo reflujo mostró como único producto la deshidratación de la epiandrosterona probablemente debido que al disminuir la polaridad del solvente se pierde la estabilización de cargas generadas en los intermediarios ya que al aumentarla temperatura favorece la reacción de eliminación.

Para confirmar la estructura del producto esterificado con ácido malónico, se realizó su caracterización por las técnicas de IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN.

En el espectro de IR del producto (Espectro N° 8, KBr) se aprecia una señal ancha de intensidad media entre 3700 y 2500 cm⁻¹ correspondiente a vibraciones de tensión originadas por enlaces de tipo O-H, del ácido carboxílico; entre 2928,3 y 2852,2 cm⁻¹ se observan señales agudas e intensas, correspondientes a las vibraciones de tensión simétricas y asimétricas de enlaces Csp³-H (-CH₂- y CH₃). En 1737,2 cm⁻¹ se observa una señal ancha e intensa asignada a vibraciones de tensión de enlaces C=O. Aunque las señales observadas permiten suponer la existencia del grupo ácido carboxílico no se puede confirmar la presencia del éster.

Para la asignación de protones y carbonos del producto esterificado se designó la siguiente numeración:

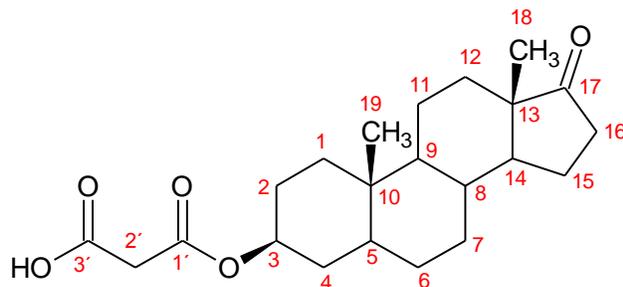


Figura N° 40

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Espectro N° 9, CDCl_3), se puede observar un singlete centrado en $\delta=0,84$ ppm y otro en $\delta=1,23$ ppm; ambas señales atribuibles a los protones metílicos localizados en C-18 y C-19 respectivamente. Se aprecia un singlete centrado en $\delta=3,36$ ppm asignado a los protones ($-\text{CH}_2-$) del C-2' de la cadena adicionada a la Epiandrosterona. El protón sobre C-3 muestra un multiplete centrado en $\delta=4,77$ ppm, a campo más bajo que el δ apreciado para el mismo protón en el material de partida reportado en 3,58 ppm; esto como consecuencia del cambio del grupo hidroxilo por el grupo éster.

Tabla 13. Datos espectroscópicos $^1\text{H-RMN}$, en CDCl_3 , del producto sintetizado (Espectro N° 9).

δ (ppm)Exp.	Multiplicidad	Asignación
0,84	Singlete(s)	CH_3 , C-18
1,23	Singlete(s)	CH_3 , C-19
7,25	Singlete(s)	CDCl_3
3,36	Singlete(s)	CH_2 , C-2'

4,77	Multiplete(m)	CH, C-3
------	---------------	---------

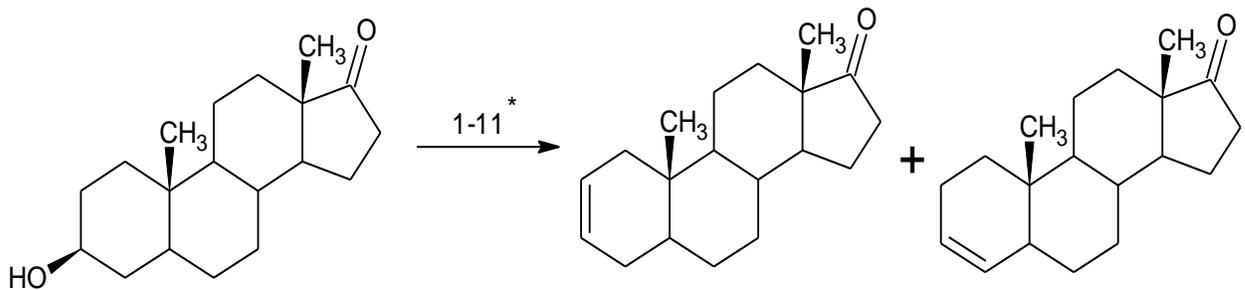
El espectro de ^{13}C -RMN (Espectro N°10, CDCl_3), muestra tres carbonos carbonílicos, además de la modificación del desplazamiento químico del C-3 con respecto al material de partida reportado en 68,88 ppm; lo que confirma que el producto obtenido está esterificado.

Tabla N°14. Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto esterificado con ácido malónico (Espectro N°10, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos teóricos calculados.

δ (ppm)Exp.	δ (ppm) Calculados	Asignación
221,2	220,9	C-17
166,8	171,7	C-3'
166,3	161,6	C-1'
74,7	75,1	C-3
54,3	52,0	C-9
51,4	51,6	C-14
47,8	47,8	C-13
44,6	43,1	C-5
42,0	41,9	C-2'
36,6	36,0	C-1
35,8	35,9	C-16
35,6	35,2	C-8
35,0	35,2	C-10
31,5	31,7	C-12

30,8	31,4	C-4
29,7	29,8	C-6
28,2	28,1	C-7
27,2	26,3	C-2
21,8	21,8	C-15
20,5	20,2	C-11
13,8	14,2	C-19
12,2	13,8	C-18

5.5 Obtención del producto colateral de deshidratación o de eliminación de la Epiandrosterona:



* Ver tabla N° 14

Figura N° 41

La deshidratación de la EA fue obtenida en distintas condiciones, como producto colateral de reacciones en presencia de dicitohexilcarbodiimida (DCC).

Tabla N° 15. Condiciones de reacción empleadas que generan como producto colateral la deshidratación de la Epiandrosterona o producto de eliminación.

Reacción	Sustrato	Agente Acilante	Condiciones
1	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	DCC/CHCl ₃
2	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
3	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC
4	Epiandrosterona	Anhídrido Ftálico	Py/DCC/4-DMAP/Reflujo 4h
5	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
6	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	Py/DCC
7	Epiandrosterona	Ácido Ftálico	DCC/CHCl ₃
8	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/CHCl ₃
9	Epiandrosterona	Ácido Malónico	4-DMAP/DCC/CHCl ₃
10	Epiandrosterona	Ácido Malónico	DCC/4-DMAP/tol/reflujo 2h
11	Epiandrosterona	Ácido Benzoíco	4-DMAP/DCC/CHCl ₃

La deshidratación de la Epiandrosterona (EA) fue obtenida como producto colateral en reacciones de esterificación donde se empleó dicitclohecilcarbodiimida (DCC) en presencia de los distintos agentes acilantes y medios de reacción utilizados. Presenta las mismas características de solubilidad de la EA e inclusive a la de los productos esterificados (insoluble en agua, pero muy soluble en disolventes orgánicos comunes como diclorometano, acetonitrilo, dimetilformamida, y tetrahidrofurano) y su diferencia en los *R_f* es muy pequeña lo que hace compleja su purificación.

Es conocido que las carbodiimidas se utilizan como agentes de deshidratación y activación de ácidos carboxílicos para formar ésteres o amidas. Las carbodiimidas forman como producto colateral N-acilureas. Un número de métodos reportados para la esterificación requiere condiciones ácidas o básicas o la aplicación del calor, en busca de aumentar los rendimientos, y dado que las N-acilureas presentan características de solubilidad distintas a la de los productos de esterificación, material de partida y deshidratación, son fácilmente removidos siendo estos insolubles en el medio de reacción.³²

La posibilidad de obtener productos de deshidratación/eliminación del material de partida, en este caso un alcohol, producen una disminución en los rendimientos de esterificación al emplear carbodiimidas. Esto puede ser apreciado mediante el mecanismo mostrado en la figura N° 34, donde el DCC, es atacado por el grupo hidroxilo de la EA, seguido de la pérdida del H α lo cual genera el producto de eliminación, tanto para los casos donde el DCC actúa solo como en presencia de una base auxiliar.

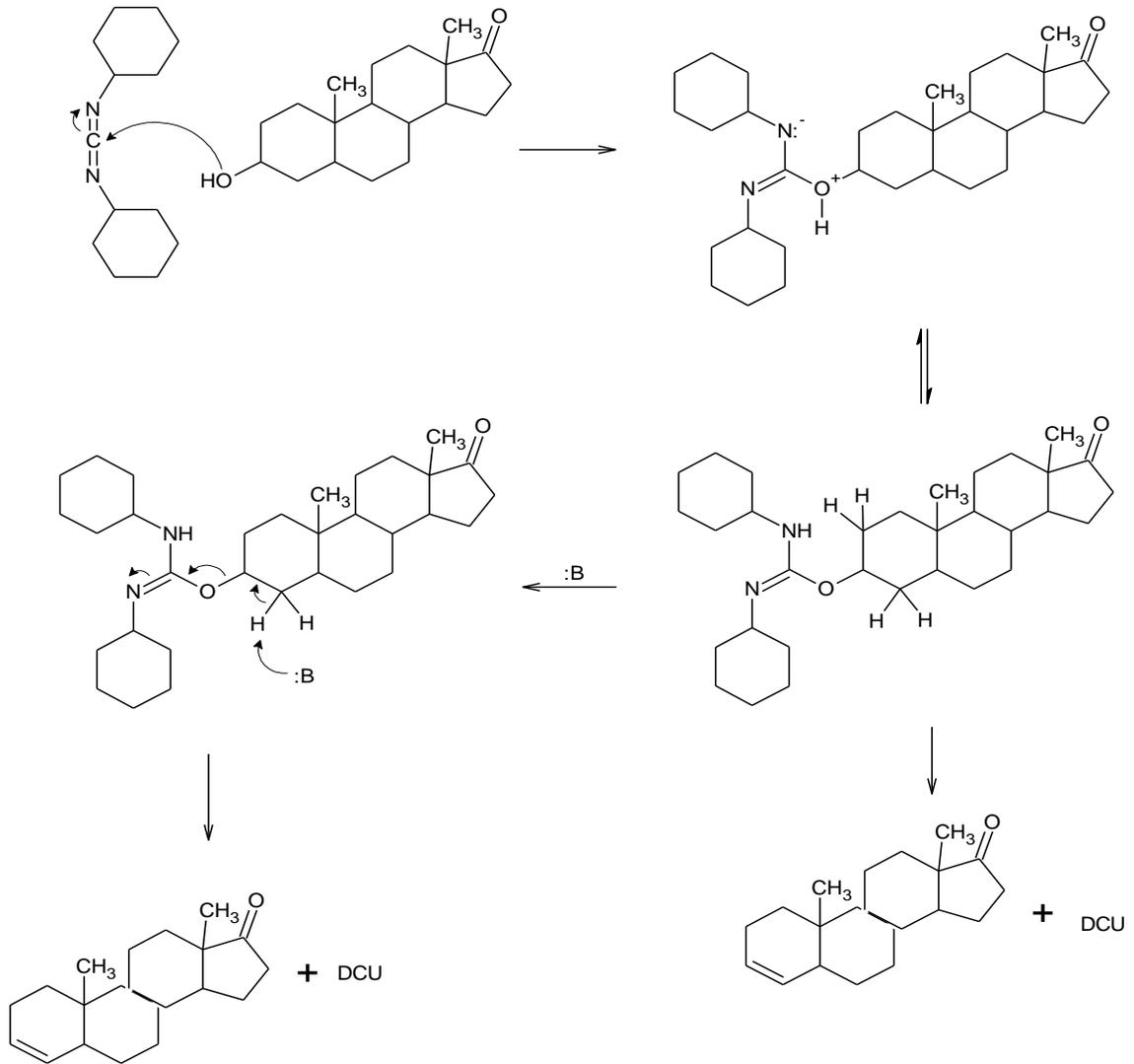


Figura N° 42

En el espectro de IR del producto sintetizado (Espectro N°11, KBr) se observa la desaparición de la señal intensa y aguda en $3469,10 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a vibraciones de tensión de un enlace del tipo O-H observadas en el espectro del material de partida (Espectro N°4). Se observan además entre $2931,2$ y $2855,1 \text{ (cm}^{-1})$ señales agudas e intensas, correspondientes a las vibraciones de tensión simétricas y asimétricas de enlaces $\text{Csp}^3\text{-H}$. Se aprecia una señal intensa y aguda en $1739,1 \text{ cm}^{-1}$ proveniente del

carbono carbonílico C-17 de la epiandrosterona y una señal aguda poco intensa en $1624,1 \text{ cm}^{-1}$ que pertenece a la vibración de flexión de los enlaces C-C sp^2 , lo que puede señalar una posible deshidratación del material de partida.

Para la asignación de protones y carbonos de eliminación se designó la siguiente numeración:

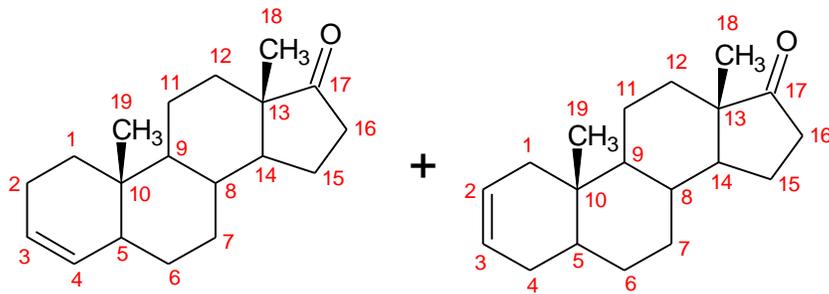


Figura N° 43

El espectro de ^{13}C -RMN (Espectro N°12, CDCl_3), muestra un carbono carbonílico correspondiente al C-17 de la Epiandrosterona, además en 130,5 y 128,9 ppm señales correspondientes a carbonos olefínicos indicio de una eliminación en el anillo A del esqueleto esteroide. A continuación se reportan los desplazamientos teóricos encontrados para los dos productos de eliminación posibles.

Tabla N° 16. Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto de eliminación (Espectro N°12, CDCl_3), y sus correspondientes desplazamientos teóricos calculados para los productos posibles.

δ (ppm) Exp.	δ (ppm) Calculados para eliminación en Δ^2	Asignación	δ (ppm) Calculados para eliminación en Δ^3	Asignación
221,2	220,5	C-17	220,5	C-17
130,5	125,8	C-3	130,9	C-4
129,8	125,8	C-2	124,9	C-3
54,2	56,3	C-9	56,8	C-9
51,4	51,5	C-14	51,5	C-14
47,8	47,8	C-13	47,8	C-13
44,6	41,6	C-5	45,9	C-5
35,8	40,1	C-1	35,8	C-16
35,6	35,8	C-16	35,4	C-8
35,0	35,1	C-8	35,0	C-10
33,8	34,7	C-10	34,2	C-1
31,5	31,7	C-12	32,2	C-7
31,4	30,4	C-4	31,7	C-12
28,2	29,3	C-7	27,5	C-6
24,8	28,8	C-6	23,5	C-2
21,8	21,8	C-15	21,8	C-15
20,4	20,3	C-11	20,1	C-11
13,8	13,8	C-18	13,8	C-18
12,2	11,9	C-19	11,7	C-19

De acuerdo a la tabla N° 16, parece existir una mayor correspondencia entre los desplazamientos experimentales y los calculados para eliminación en Δ^3 . Ciertamente, este hecho no es criterio suficiente para establecer la formación de un único producto por lo cual debe considerarse la obtención de una mezcla de productos de eliminación Δ^2 , Δ^3 . El porcentaje de cada uno puede estar sujeto a consideraciones termodinámicas y cinéticas similares a las tomadas en cuenta en la obtención de enolacetatos, donde el producto termodinámicamente más estable es el dirigido a Δ^3 .³³

6. CONCLUSIONES

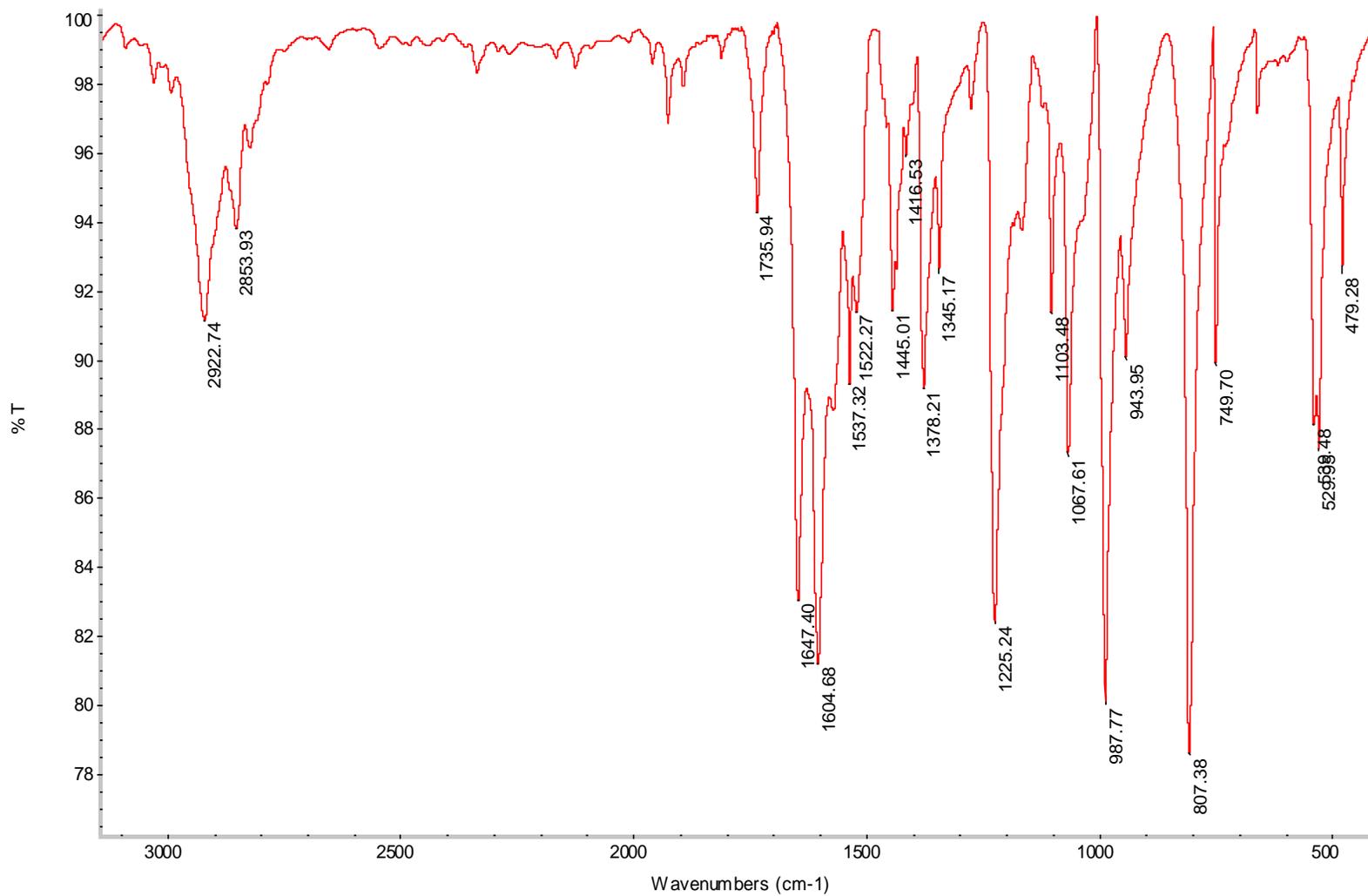
- ✓ Se sintetizó la 4-DMAP con un rendimiento del 35% y fue empleado como catalizador en distintas reacciones de esterificación.
- ✓ Se realizaron tres esterificaciones exitosas en el anillo A del esqueleto esteroideal de la Epiandrosterona.
- ✓ Para los cinco agentes acilantes empleados se variaron los parámetros de reacción utilizando diferentes sistemas, donde los mejores rendimientos varían dependiendo del agente acilante utilizado.
- ✓ El sistema Py/DCC/4-DMAP/CHCl₃ en reflujo proporcionó mejores rendimientos en la esterificación de la Epiandrosterona utilizando anhídrido ftálico como agente acilante.
- ✓ Utilizando un ácido dicarboxílico, específicamente, ácido malónico como agente acilante se obtienen mejores rendimientos empleando únicamente dicitohexilcarbodiimida en el proceso de esterificación.
- ✓ El sistema DCC/4-DMAP se aplica exitosamente en reacciones de esterificación, donde el agente acilante utilizado es un ácido monocarboxílico. Para el caso de ácidos dicarboxílicos el rendimiento se ve disminuido por la obtención de productos colaterales.
- ✓ Las carbodiimidias además de ser conocidos por activar ácidos carboxílicos también son importantes agentes de deshidratación de alcoholes que generan

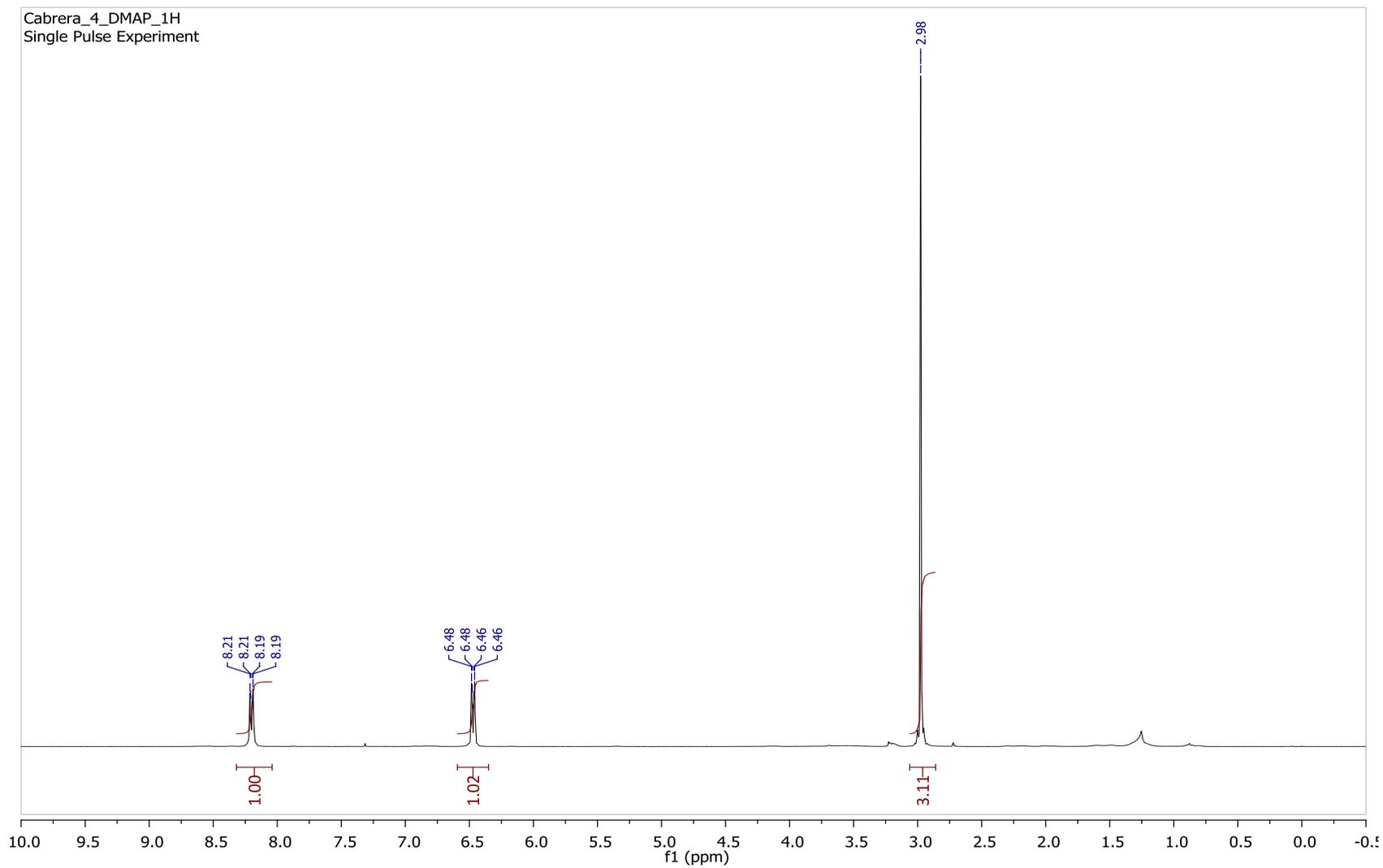
productos colaterales como N-acilureas que afectan los rendimientos de las reacciones de esterificación.

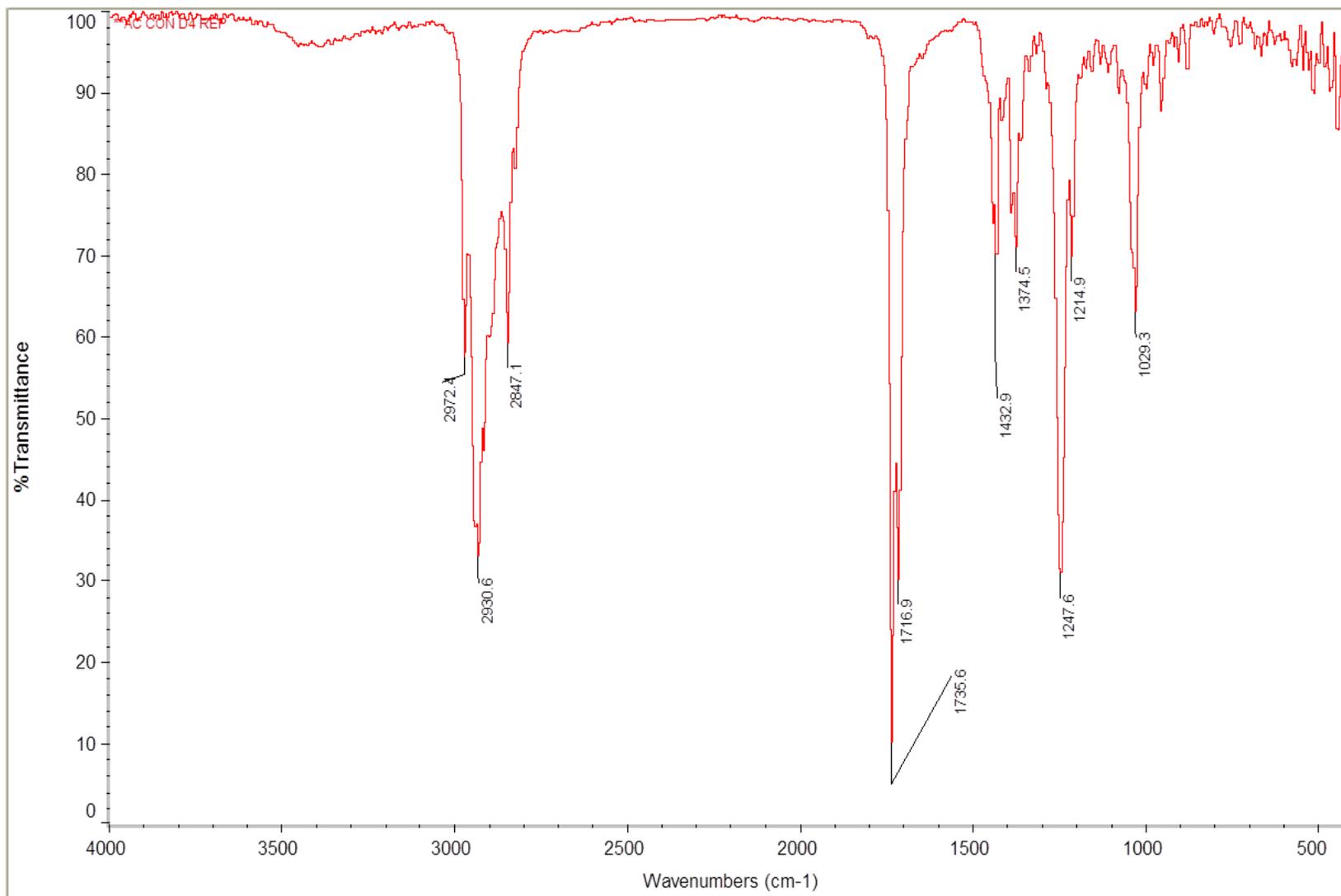
7. RECOMENDACIONES

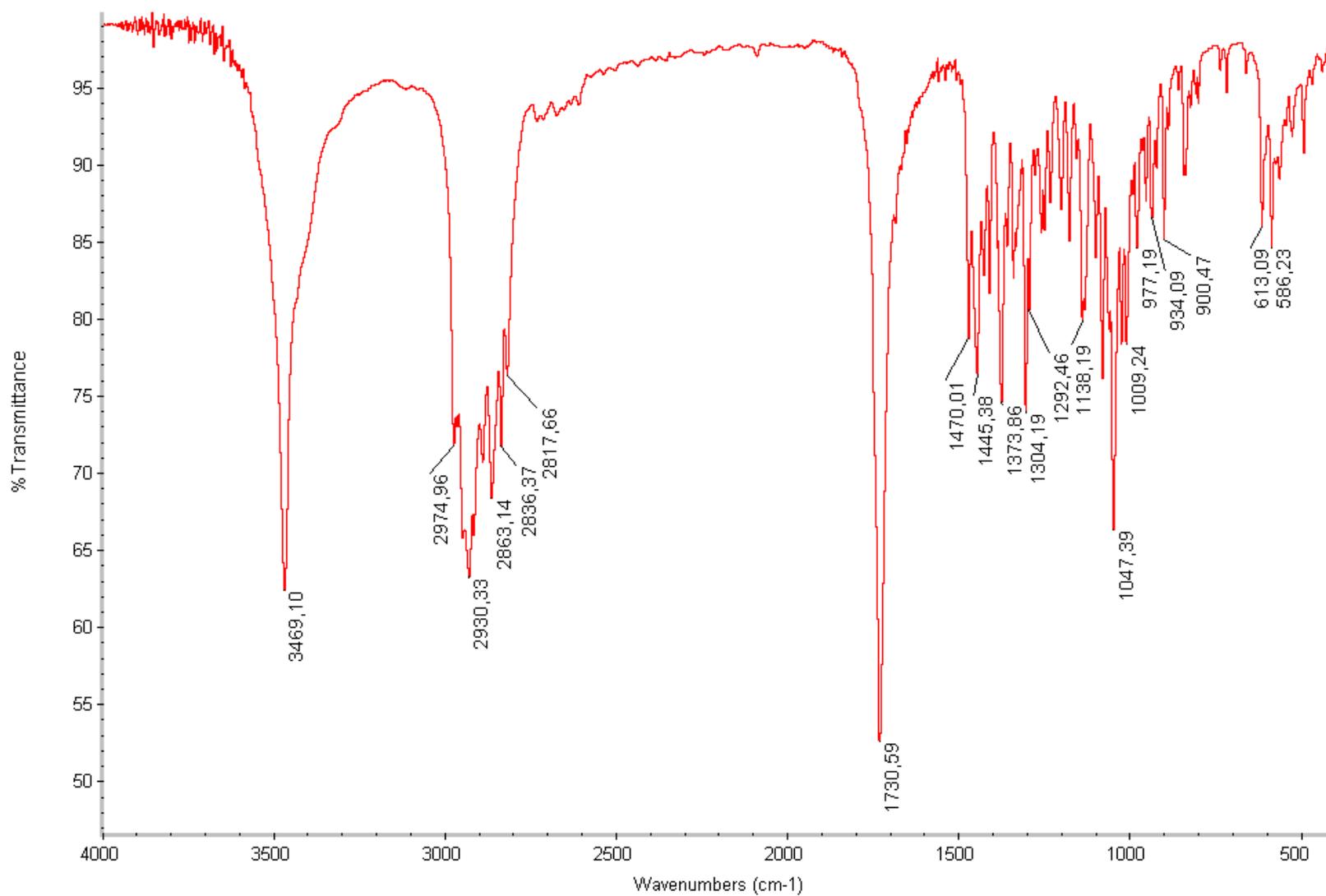
- ✓ En procedimientos de esterificación empleando ácidos dicarboxílicos como agentes acilantes, el uso de bases auxiliares podría mejorar los rendimientos de reacción en sistemas DCC/4-DMAP.
- ✓ Continuar los estudios en este tipo de procedimientos de esterificación de androstanos variando nuevos parámetros de reacción como la estequiometría, temperatura y estudio de solventes.

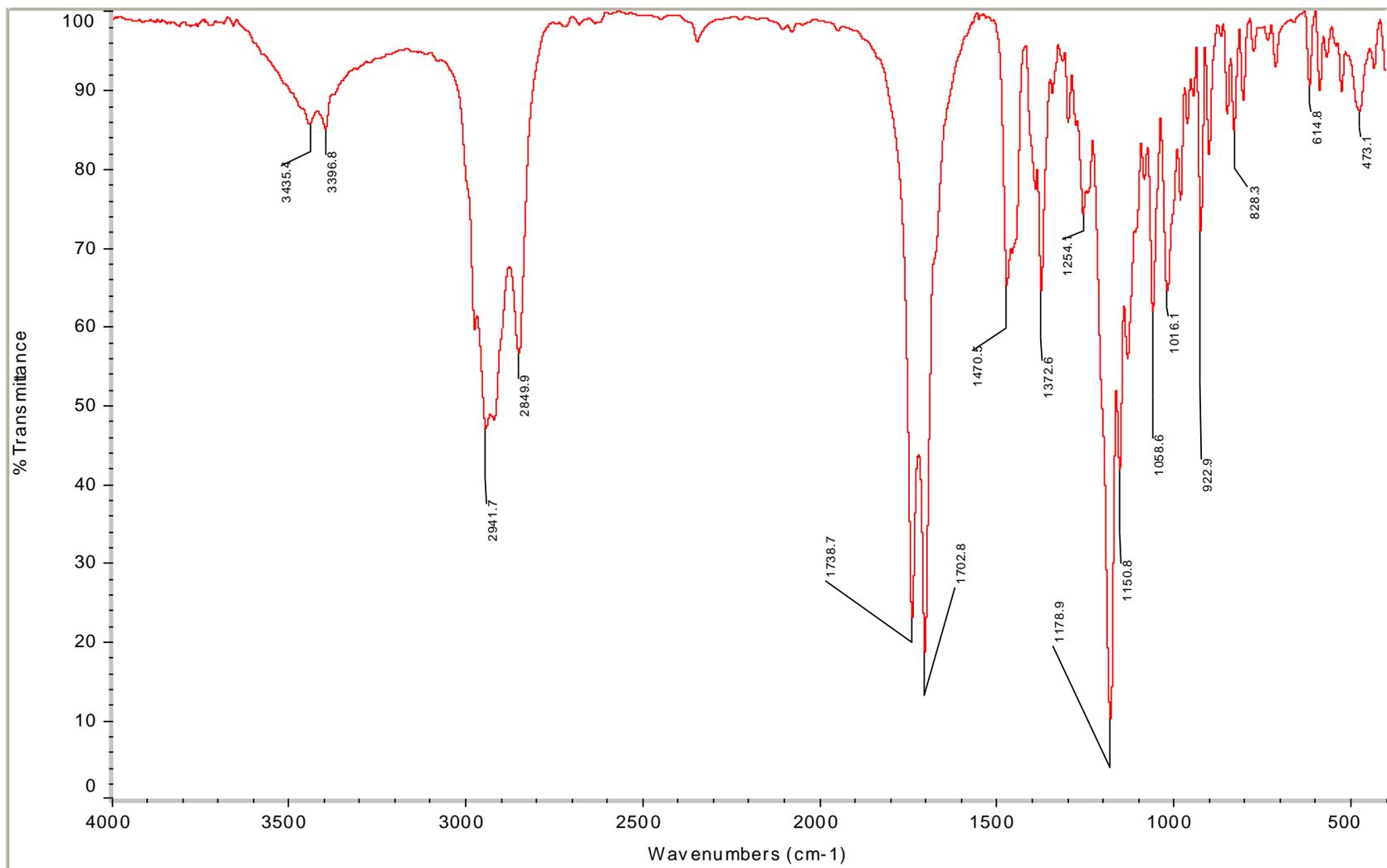
8. ESPECTROS

Espectro N° 1. IR, CHCl_3 de la 4-DMAP.

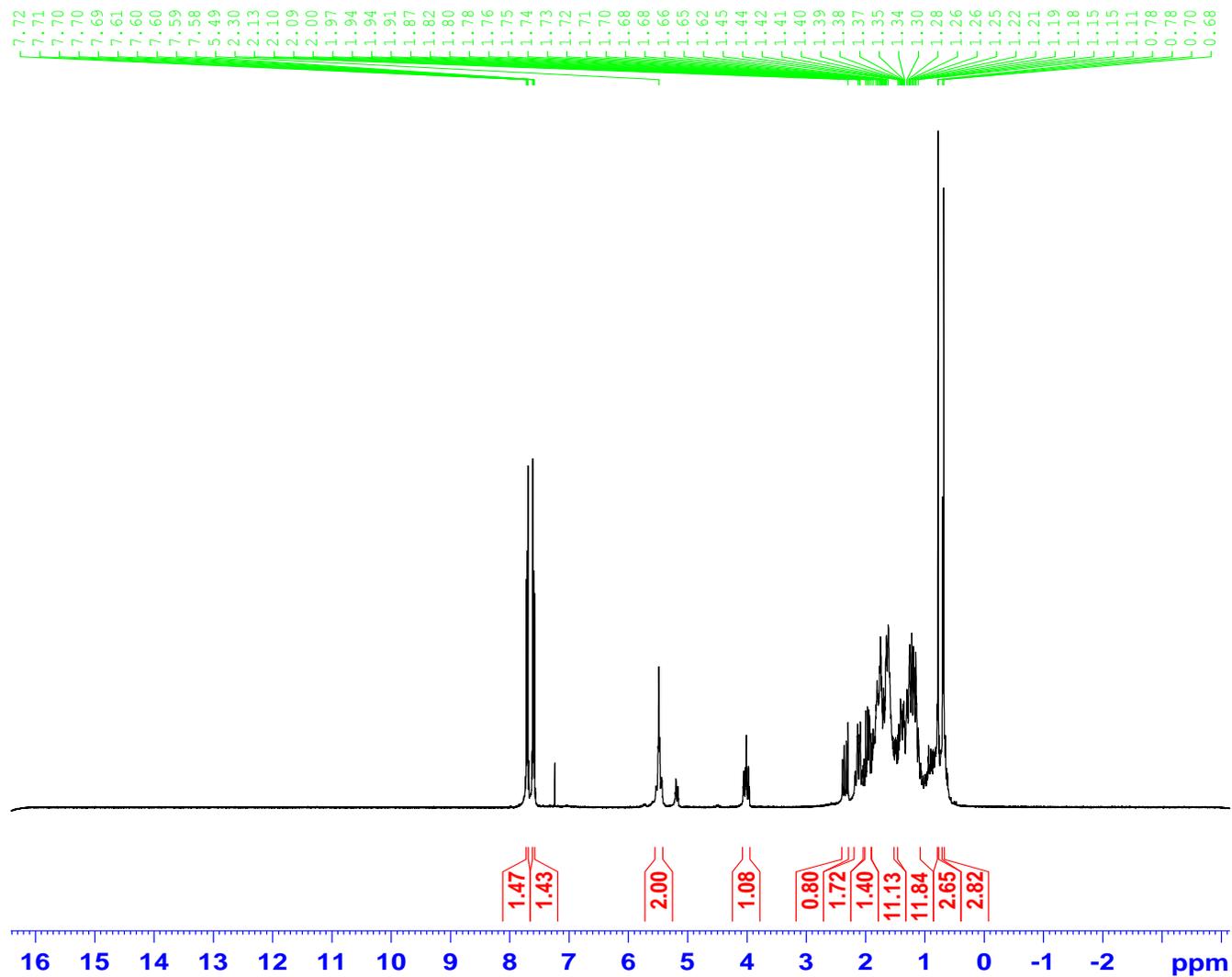
Espectro N° 2. ^1H -RMN, CDCl_3 de la 4-DMAP.

Espectro N° 3. IR, CHCl₃ de la 3 β -acetoxi-5 α -androst-17-ona.

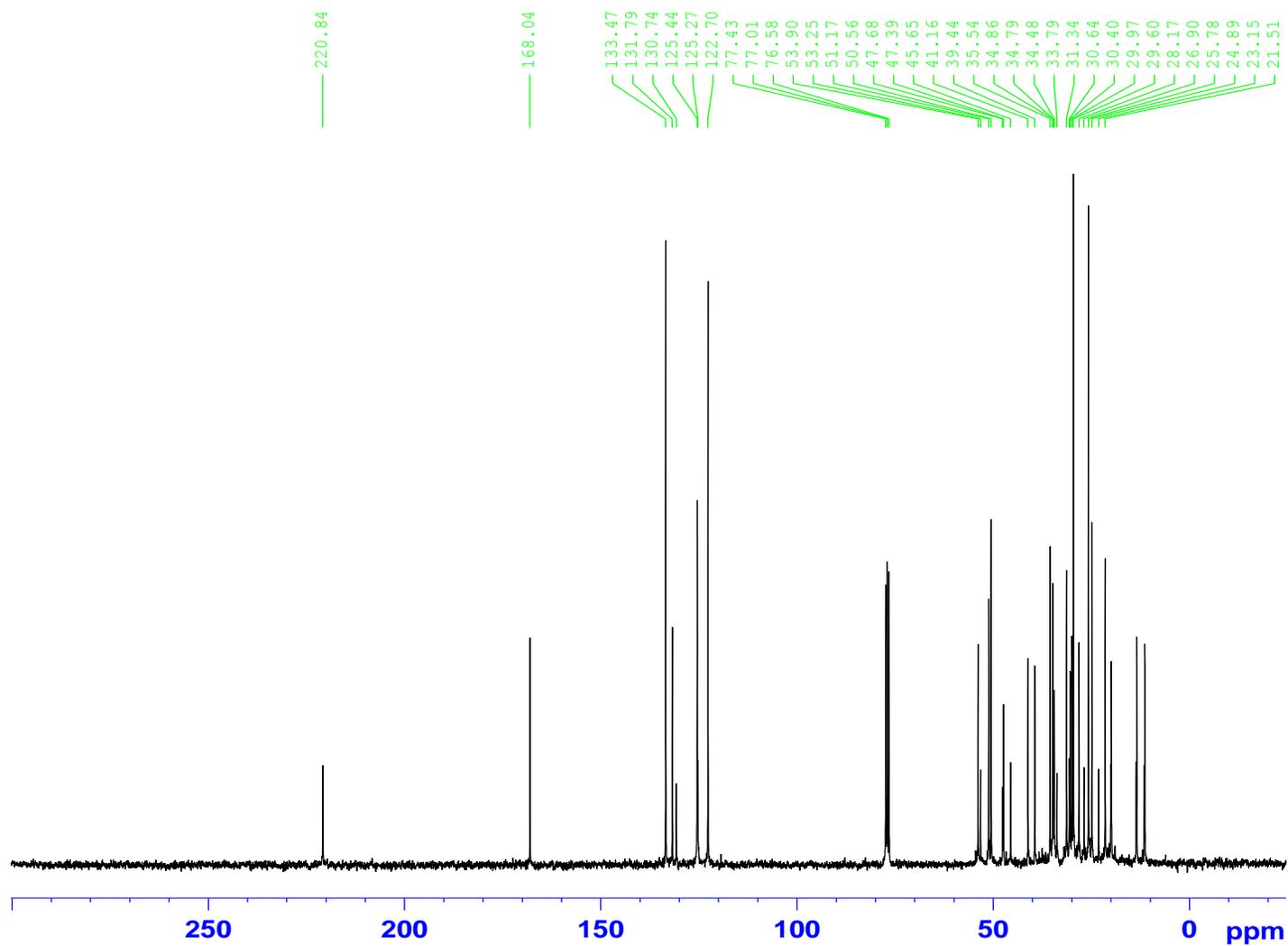
Espectro N° 4. IR, CHCl₃ de la Epiandrosterona (3 β -Hidroxi-5 α -androstan-17-ona).

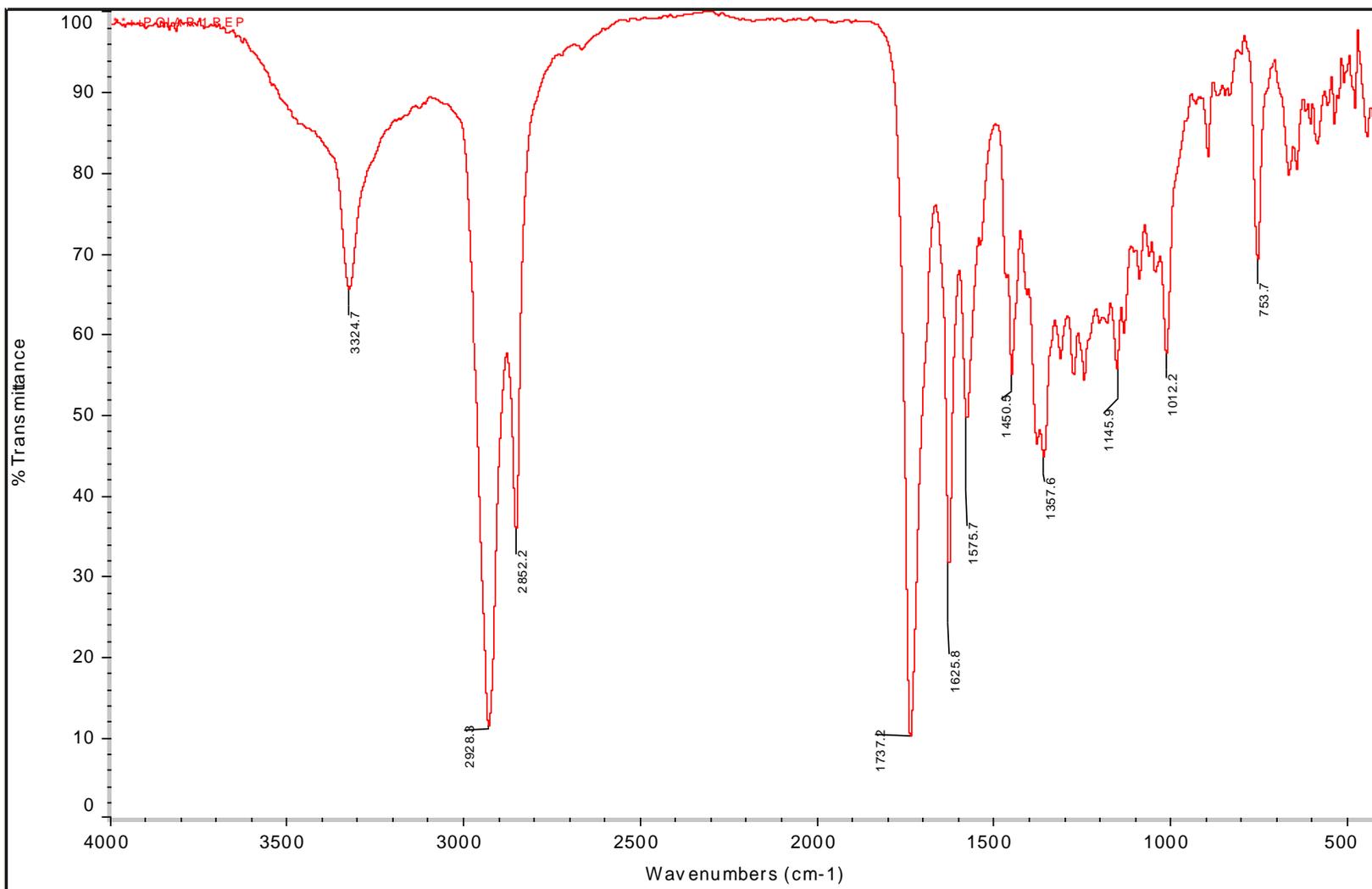
Espectro N° 5. IR, KBr del producto esterificado con anhídrido ftálico (Descarboxilación).

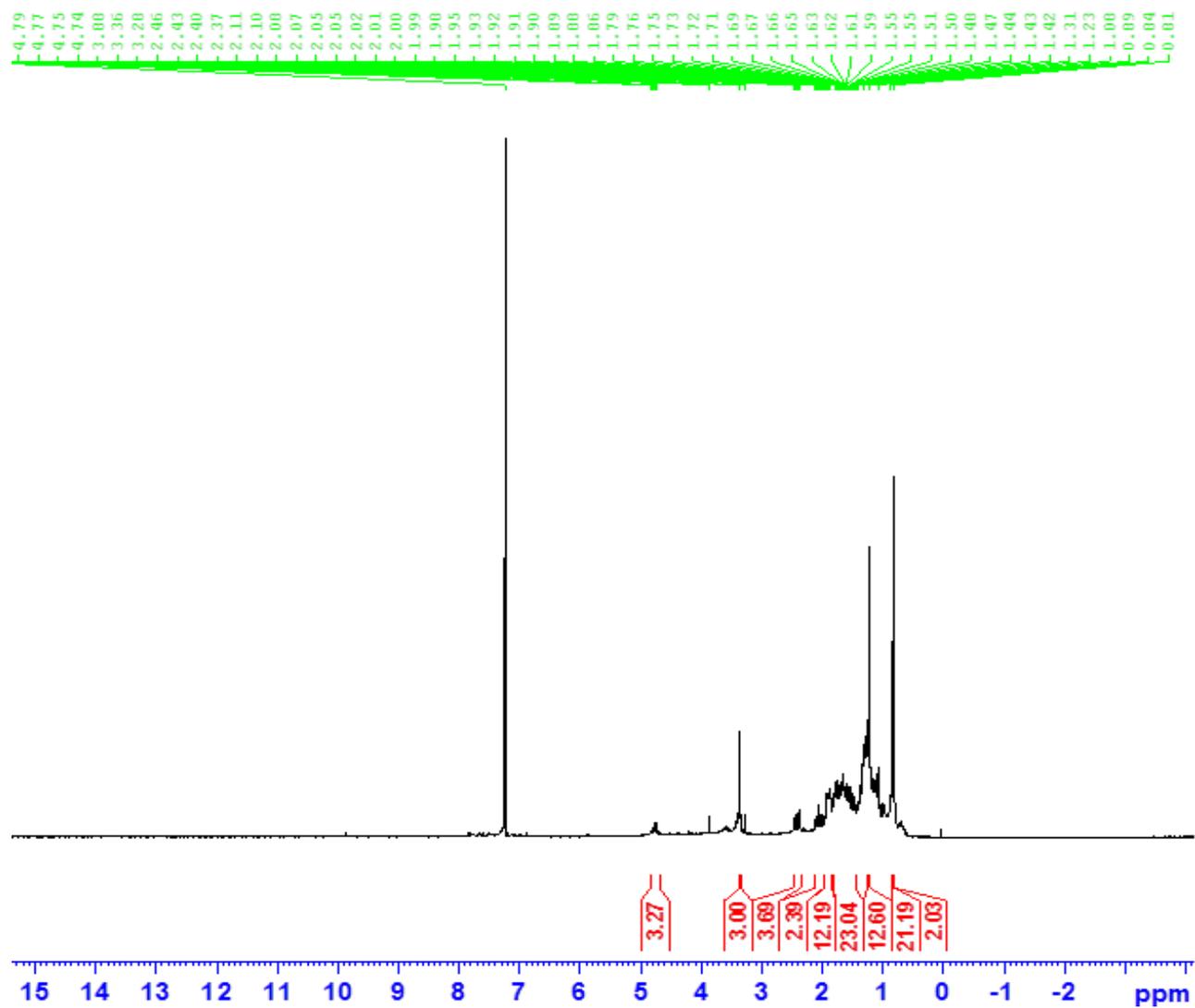
Espectro N° 6. ^1H -RMN, CDCl_3 del producto esterificado con anhídrido ftálico (Descarboxilación).



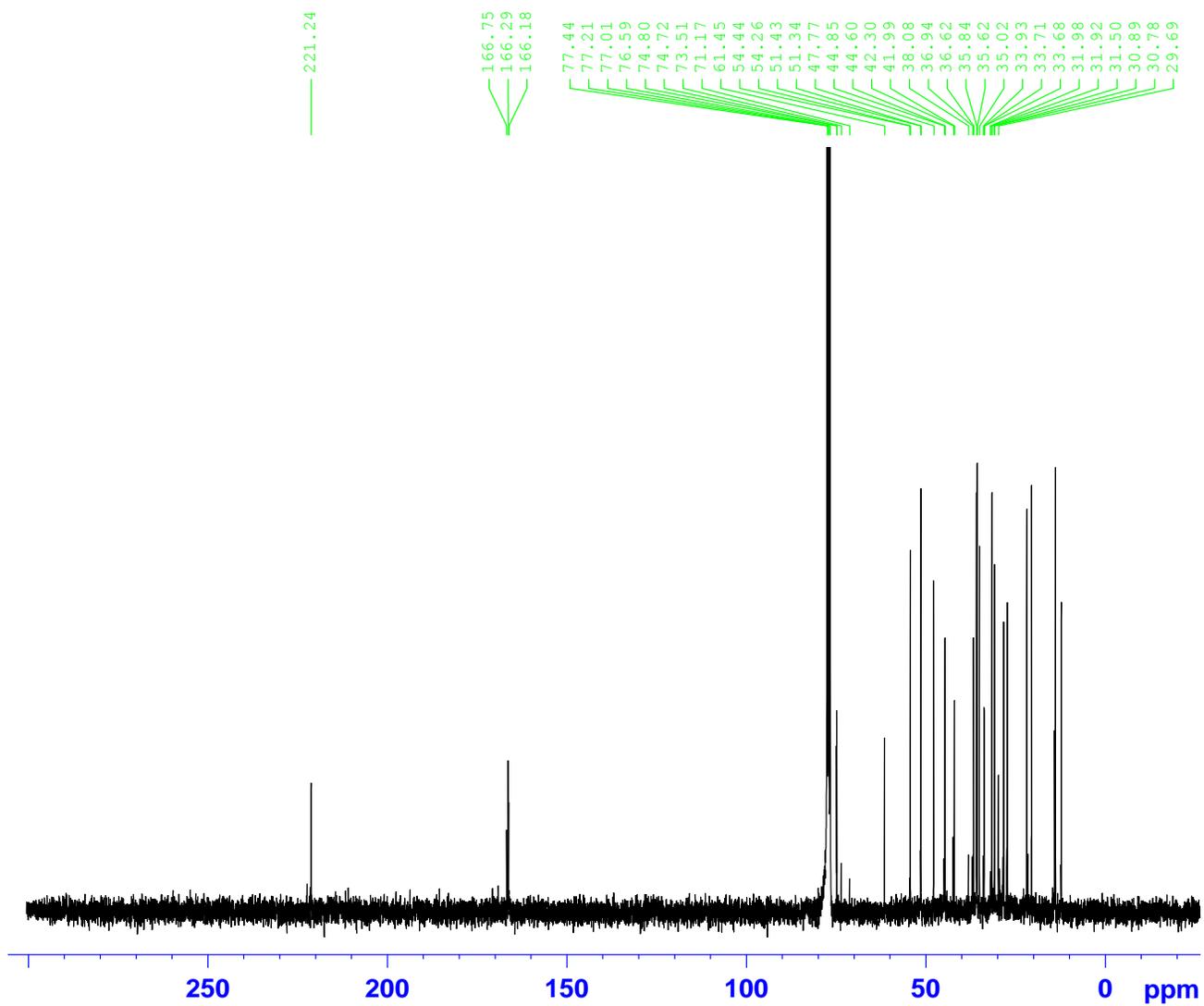
Espectro N° 7. C¹³-RMN, CDCl₃ del producto esterificado con anhídrido ftálico (Descarboxilación).

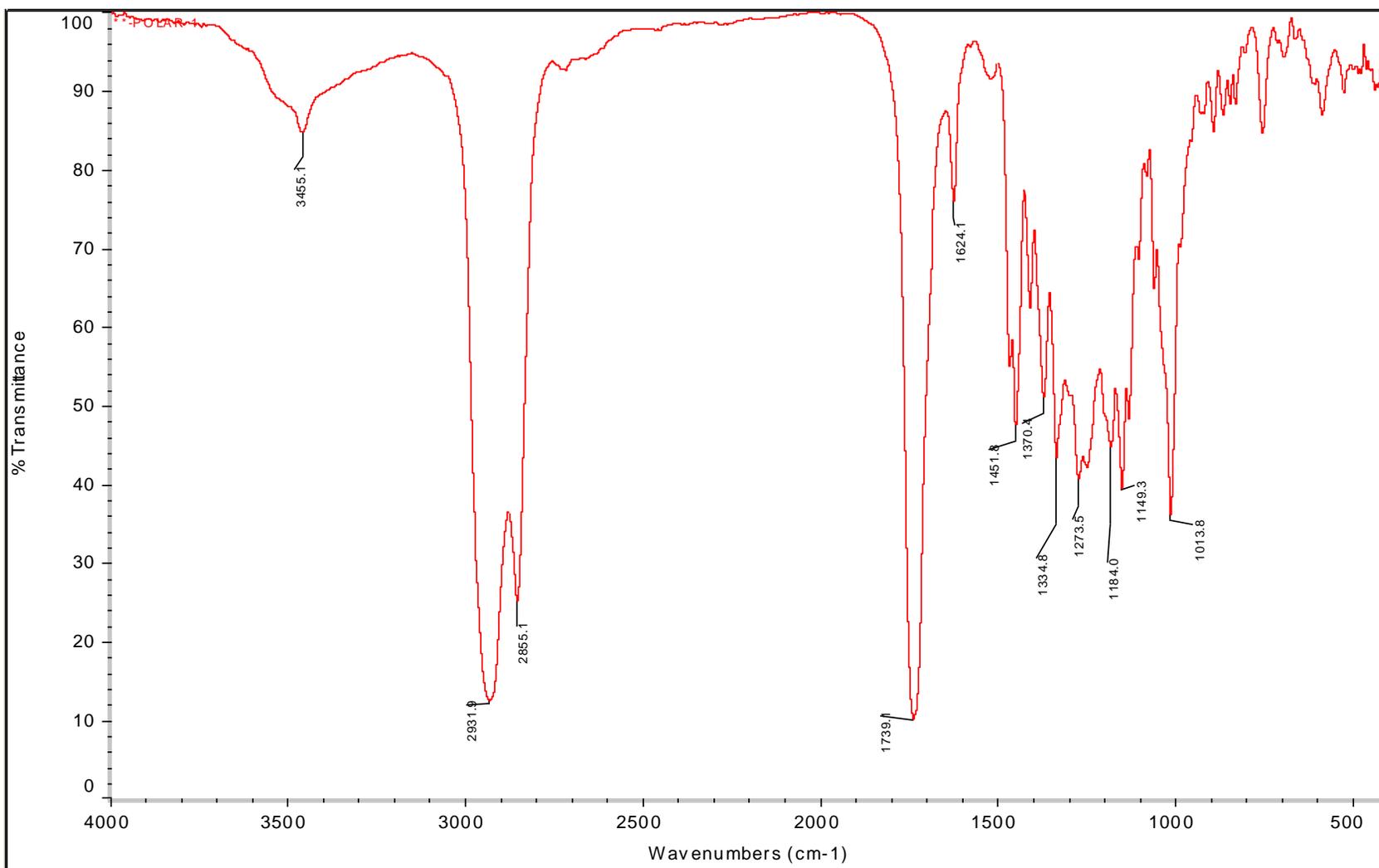


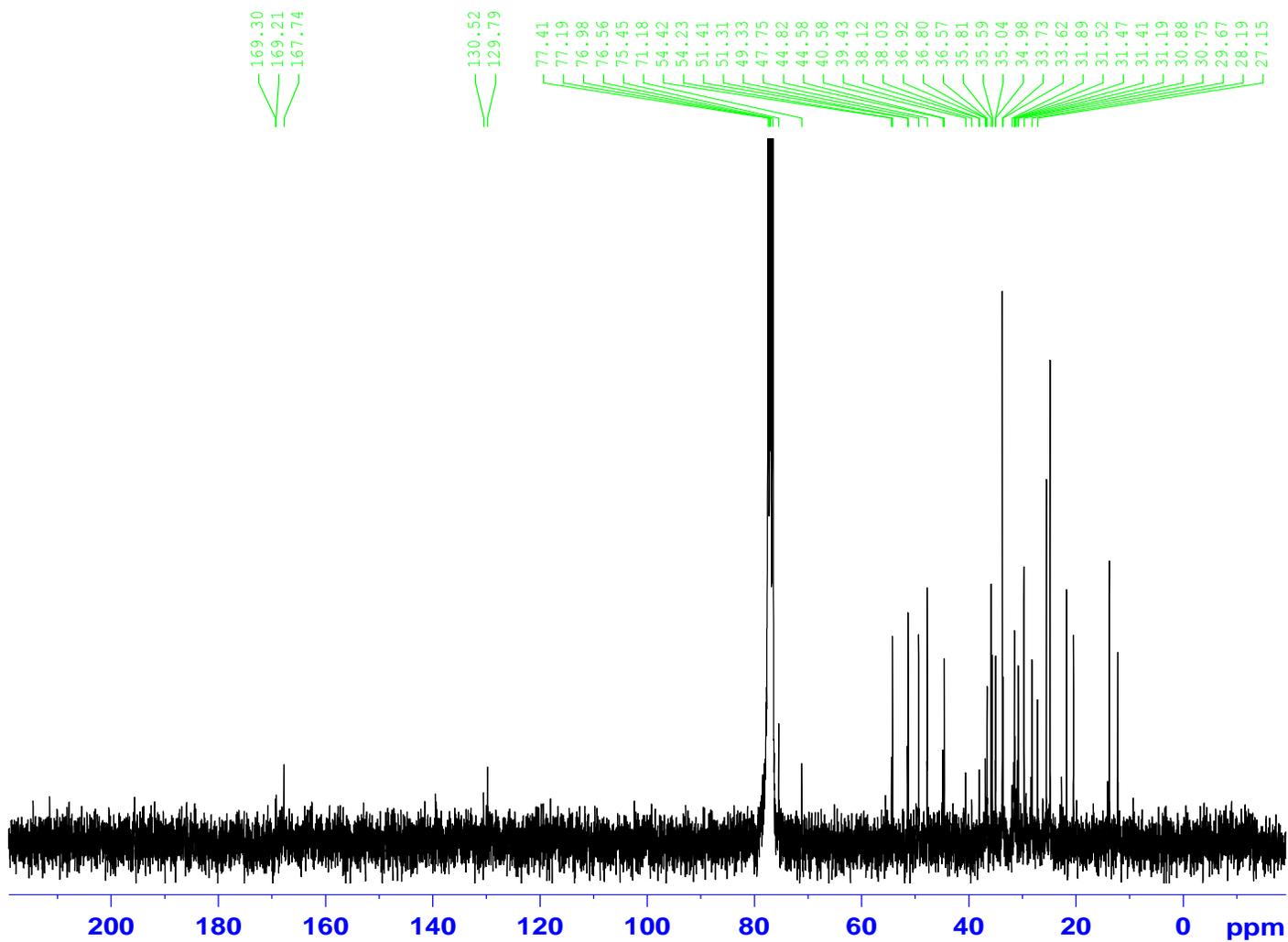
Espectro N° 8. IR, KBr del producto esterificado con ácido malónico.

Espectro N° 9. ^1H -RMN, CDCl_3 del producto esterificado con ácido malónico.

Espectro N° 10. C¹³-RMN, CDCl₃ del producto esterificado con ácido malónico.



Espectro N° 11. IR, KBr del producto de Eliminación (Deshidratación).

Espectro N° 12. C¹³-RMN, CDCl₃ del producto deshidratación de la Epiandrosterona.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Neacato, P; TEG *Síntesis de Derivados de Androstanos como posibles agentes antivirales*. UCV.(2007).
2. Marcano, D y Hasegawa, M. *Fitoquímica Orgánica*. 2° Edición. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico - UCV, Cáp. 6 , p265-374, Cáp. 7 p375-422, (2002).
3. Swain, T. *Chemistry in evolution and systematics*. Butterworth, Londres. (1973).
4. Levin, DA. *The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores*. Ann Rev. Ecol. Syst. 7: p121-159. (1976).
5. Cronquist, A. *On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms*. PlantSystEvol., suppl 1: p179-189. (1977).
6. Restrepo, A; Robledo, J; Leiderman, E; Restrepo, M; Botero, D; Bedoya, V. *Fundamentos de Medicina/Enfermedades Infecciosas*. 6° Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Cap. 67 p783-795.(2003).
7. Martínez, M y Avellaneda A. *Enfermedades Raras, un enfoque práctico*. 1era Edición, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III y Ministerio de Sanidad y Consumo de España, 23-27, España (2004).
8. Domingo-Carrasco, C. *EnfermInfeccMicrobiolClin*. Volumen 23. Número 10. p615-626 (2005).
9. Dewick, P; *Medicinal Natural Products*. Editorial Wiley. 2° Edición. 167. p167-285 (2002).

10. Conn, M; Spratt, J; Shires, T. *Principios de Farmacología*. 2° Edición, Editorial El Manual Moderno. p293-347, p387-435. (1991).
11. Gerhard Höfle, Wolfgang Steglich & Helmut Vorbrüggen, *Angew. Chem. Int. Engl.*, N° 17, p 569-583.(1978).
12. Satwinder Singh, Goutam Das, Om V. Singh and Hyunsoo Han. *Conformationally restricted 4-dimethylaminopyridine (DMAP) analogs: synthesis and evaluation of catalytic effectiveness*. *Tetrahedron Letters* 48, p1983–1986 (2007).
13. Gerhard Höfle and Wolfgang Steglich, *Synthesis*. p 619-621(1972).
14. I. Kirichenko, L. M. Litvinenko, I. N. Dotsenko, N. G. Kotenko, E. Nikkel'sen, and V. D. Berestetskaya, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* p244p1125 (1979).
15. I. Kirichenko, L. M. Litvinenko, I. N. Dotsenko, N. G. Kotenko, E. Nikkel'sen, and V. D. Berestetskaya *Chem. Abstr.* 90, 157-601 (1979).
16. L. I. Bondarenko, A. I. Kirichenko, L. M. Litvinenko, L. N. Dmitrenko, and V. D. Kobets, *J. Org. Chem. (USSR)*, p2310 (1982).
17. Donald J. Berry, Charles V. DiGiovanna, Stephanie S. Metrick, and Ramiah Murugan. *Catalysis by 4-dialkylaminopyridines*. *ARKIVOC* (2001).
18. Monique Calmes, Françoise Escale, Marc Rolland y Jean Martinez; *Diastereoselective esterification of (±)-N-trifluoroacetylpipecolic acid using (S)-_-methyl pantolactone: synthesis of (S)-N-Bocpipecolic acid and (S)-N-Boc-2-piperidinemethanol*. *Tetrahedron: Asymmetry* 14 (2003).

19. Dae-won Chung y Young Tai Choi; *Synthesis and Solubility of Hydrophilic Derivates of β -Sitosterol*. J. Ind. Eng. Chem; Vol 13.(2006).
20. Zbigniew P. Kortylewicz, Jessica Nearman y Janina Baranowska-Kortylewicz; *Radiolabeled 5-Iodo-3 α -O-(17 β -succinyl-5 α -androstan-3-one)-20-deoxyuridine and Its 5'-Monophosphate for Imaging and Therapy of Androgen Receptor-Positive Cancers: Synthesis and Biological Evaluation*. J. Med. Chem.(2009).
21. Nida N. Farshori, Mudasir R. Banday, Zeeshan Zahoor y Abdul Rauf, *DCC/DMAP mediated esterification of hydroxy and non-hydroxyolefinic fatty acids with β -sitosterol: In vitro antimicrobial activity* . Chinese Chemical Letters 21. p646–650. (2010).
22. Arthur C. Cope and Elbert C. Herrick. *Diethyl cis- δ 4-tetrahydrophthalate and diethyl cis-hexahydrophthalate*. Organic Syntheses, Coll. Vol. 4, p304 (1963); Vol. 30, p.29 (1950).
23. Firdovsi Tataroglu Sejidov, Yagoub Mansoori, Nadereh Goodarzi; *Esterification reaction using solid heterogeneous acid catalysts under solvent-less condition*. Journal of molecular catalysis (2005).
24. S. Chandrasekhar, T. Ramachander y Mohamed Takhi. *Acylation of Alcohols with Anhydride Catalyzed by TaCl₅: Some Implications in Kinetic resolution*. Tetrahedron Letters.(1998).
25. Lumbu Simbi y Fanie R. Van Heerden; *A procedure for the preparation of cardioactive steroid precursors: synthesis of 3 α -acetoxy-21-hydroxy-5 α -pregn-14-en-20-one*. Perkin. (2006).
26. McElvain, S. M. & Goese, M. A. "The Halogenation of Pyridine". Laboratory of Organic Chemistry of the University of Wisconsin. Nov. 1943, Vol 65, pag 2227-2233.

27. Klingsberg, E. *Pyridines and Its Derivatives part 2*. Interscience Publishers, Inc., New York. 1961; pag 305.
28. KATRITZKY, A. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. Editorial Advisory Board. ACADEMIC PRESS, INC. University of Florida. Gainesville, Florida. Vol. 49;1990, pag 132.
29. Kumar, M. et. al. *European Patent Office EP1424328A1*. Jubilant Organosys. June 2004. *Process for Producing 4-dimethylaminopyridine (DMAP)*.
30. Wyatt, P. *Organic Synthesis: Strategy and Control*. John Wiley & Sons Ltd, University of Bristol, UK, 2007, pag 765.
31. Pretsch, E. *Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos*, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.
32. Neises B; Steglich, W. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 7, p.93 (1990); Vol. 63, p.183 (1985). Esterification of Carboxylic Acids with dicyclohexylcarbodiimide/ 4-dimethylaminopyridine: Tert-butyl ethyl fumarate[(E)-2-Butenedioic acid, ethyl 1,1-dimethylethyl ester]*.
33. Fried, J; Edward, J. *Organic Reactions in Steroids Chemistry*. Vol 1. Van Nostrand Reinhold Company. New York 1972, pag 271.
34. Fertel, L; O'Reilly, N; Lin, H. *Preparation of Halogenated Phthalic Anhydrides*. United States Patent. Occidental Chemical Corporation, Grand Island, New York 1991.
35. Conover, C; Smith, F; Benz, C. *Manufacture of Carboxylic Acid Ketones and Derivatives Thereof*. United States Patent. Monsanto Chemical Company, Delaware 1935.

36. Britt, P; Buchanan, A; Eskay, T; Mungallt, W. Mechanistic Investigations into the Decarboxylation of Aromatic Carboxylic Acids.web. anl.gov/.../44_3_NEW%20ORLEANS_08-9. Fecha:12/09/2012. Hora: 11:09 am.