

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
ESTUDIO DE REACCIONES DE HIDROBORACIÓN SOBRE SISTEMAS Δ^4 - Δ^5 EN
ANDROSTANOS

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

Caracas, Mayo de 2013

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
ESTUDIO DE REACCIONES DE HIDROBORACIÓN SOBRE SISTEMAS Δ^4 - Δ^5 EN
ANDROSTANOS

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

Tutor
Dr. Cabrera Gustavo

Caracas, Mayo de 2013

Yo Dr. Cabrera Gustavo, Investigador del Laboratorio o Centro de Investigación de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela

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

“ESTUDIO DE REACCIONES DE HIDROBORACION SOBRE SISTEMAS Δ^4 - Δ^5 EN ANDROSTANOS”.

Que presenta la Br. Alvarado T. Riemmar P, C.I. 17.475.609 para aspirar al Título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Productos Naturales, Centro de Química Orgánica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante el año 2011-2013, y con esta fecha se autoriza su presentación.

Caracas, Mayo de 2013

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 REACCIONES DE HIDROBORACION SOBRE SISTEMAS Δ^4 - Δ^5 EN ANDROSTANOS”.

Presentado por el Br. Alvarado T Riemmar P, C.I 17.475.609 certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el Título de Licenciado en Química.

Dr. Cabrera Gustavo

(Director)

Dra. Beth Díaz

(Jurado)

Dr. Carlos Chinaea

(Jurado)

RESUMEN

En el presente Trabajo Especial de Grado se realizaron hidroxilaciones en el anillo A de la testosterona y el anillo B de la dehidroepiandrosterona, con el propósito de crear una base de datos de estos compuestos y su actividad antiviral, específicamente contra el dengue y la fiebre amarilla.

Para obtener la modificación en el anillo A de la testosterona y el anillo B de la dehidroepiandrosterona se realizaron las siguientes reacciones: esterificación del grupo hidroxilo (acetilación), cetalización del carbonilo, formación de la hidrazona (reducción de wolff-kishner), y por último hidroboración-oxidación.

Los productos y los intermediarios fueron caracterizados por sus datos espectrales: IR, ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. Siendo estos: 3β -acetoxi-5-androsten-17-ona, 17β -acetoxi-4-androsten-3-ona, $3\beta,6\xi$ -dihidroxi-5\xi-androstan-17-ona, $4\xi,17\beta$ -dihidroxi-5\xi-androstano.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Central de Venezuela, magna casa de estudios de este país que me brindó los conocimientos necesarios para desempeñarme como profesional, además de experiencias y momentos que me permitieron crecer como persona.

Al Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias UCV por haberme brindado la oportunidad y el lugar de trabajo para realizar el presente Trabajo Especial de Grado.

Al Dr. Gustavo Cabrera por darme la oportunidad de realizar este T.E.G, por su dedicación, apoyo, conocimiento y experiencia transmitidos durante estos años.

Al Profesor Pablo Neacato por confiar en mi capacidad para llevar a cabo el tema de la tesis. Por estar siempre disponible cuando necesitaba de su apoyo, por aclarar las dudas con respecto al tema, y transmitirme sus conocimientos y experiencias. Gracias por brindarme tu amistad y tu apoyo en todo momento.

Al profesor Jairo por el apoyo prestado en la purificación de las muestras obtenidas en la Hidroboración- Oxidación, mediante el equipo de UPLC.

Agradezco a mis familiares, en especial a mi madre Emma Tellechea por brindarme el apoyo incondicional, por ser la voz que siempre decía “Tu Puedes”, por ser mi fuerza antes y durante el desempeño de la carrera. Gracias, por tu comprensión, consejos, por luchar a mi lado y por cada sacrificio que hiciste para que saliera adelante y obtuviera el Título de Licenciada en Química.

A Ángel Vásquez por ser mi compañero de vida, por ser mi amigo, por levantarse a la 3 am para acompañarme a la universidad sin que te correspondiera tener clase, por hacer sacrificios que no te tocaban hacer. Gracias por tener una palabra en los momentos que más necesitaba, por ayudarme a levantarme cuando estaba decaída. Gracias mil Gracias !!!

A mi hermana por su apoyo y estar pendiente en cada paso que daba, por irme a buscar donde fuese con tal que yo estuviese bien, por siempre tratar de hacerme sonreír en los momentos más estresantes y más difíciles. Hermanas como Tú pocas.

A Eubelys Saldivia, por ser la primera amiga que tuve en la universidad, por ser la primera en llamarme *Chiki*, por brindarme el apoyo al dejarme quedar en su casa cuando lo necesitaba y por confiar en mí siempre.

A mi amiga Rosangel Rodríguez por : contagiarme de su buen humor, chistes, contarme sus anécdotas, las cuales me hacían reír y por regalarme la dicha de conocer a unas grandes amigas al igual que ella, Ismenia Jabana y Dayana Paz, con las cuales compartí los momentos más estresantes, bonitos, tristes, alegre durante la realización de la tesis. Con su presencia el Laboratorio se hacía más agradable. Gracias por arriesgarse conmigo durante la Síntesis del etilortoformiato y sobre todo durante el proceso de Hidroboración.

INDICE

1. INTRODUCCION	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GENERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
3. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	18
3.1 Fundamento Teórico	18
3.1.1 Esteroides como antivirales	18
3.1.2 Dengue	19
3.1.3 Fiebre Amarilla	21
3.1.4 Hidroboración.....	23
3.1.5 Mecanismo de hidroboración-oxidación.....	25
3.1.6 Estereoquímica de la hidroboración.....	30
3.1.7 Oxidación de organoboranos	31
3.1.8 Diborano	33
3.1.9 Reducción de Wolff-Kishner.....	35
3.2. Antecedentes	36
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	47
Espectros de Resonancia Magnética de Protones	48
Cromatografía de Columna.....	50
4.1. Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3 β -acetoxi-5-androsten-17-ona). (28).....	50
4.2. Cetalización de la dehidroepiandrosterona. (29).....	50
4.3 Esterificación de la Testosterona. (32).....	51
4.4. Formación de la Hidrazona (33).....	51
4.5. Hidroboración generando el diborano externamente.	52
5. DISCUSION DE RESULTADOS	54
5.1 Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3 β -acetoxi-5-androsten-17-ona). (28).....	55
5.2 Cetalización de la Dehidroepiandrosterona. (29)	57

5.3 Hidroboración-oxidación de DHEA protegida.....	57
5.4 Esterificación de la Testosterona (17 β -acetoxi-4-androsten-3-ona) y formación de la hidrazona	61
5.5 Hidroboración-oxidación de la Testosterona protegida. (33).....	69
6. CONCLUSIONES.....	74
7. RECOMENDACIONES	75
8. BIBLIOGRAFIA	88

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Efectos direccionales en la Hidroboración de olefinas no terminales 20°.....	29
Tabla 2 Relación de borohidruro de sodio y diborano generado	37
Tabla 3 Reactivos empleados en las reacciones.	47
Tabla 4 Solventes empleados en las reacciones.	47
Tabla 5 Cantidades de los reactivos empleadas en la hidroboración-oxidación de ambos esteroides protegidos.	53
Tabla 6 Eluyente y rendimiento empleados en la purificación de 3 β ,6 ξ -dihidroxi-5 ξ -androstan-17-ona (30) y 4 ξ ,17 β -dihidroxi-5 ξ -androstano (34).....	53
Tabla 7 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (30) (Espectro N°3, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.....	60
Tabla 8 Datos espectroscópicos ^1H -RMN del producto (32) (Espectro N°5, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.....	63
Tabla 9 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (32) (Espectro N°6, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.....	64
Tabla 10 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (34) (Espectro N°9, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.	71

INDICE DE ESPECTROS

Espectro IR (N°1; CHCl ₃) Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3β-acetoxi-5-androsten-17-ona). (28)	76
Espectro ¹ H-RMN(N°2, CDCl ₃) Hidroboración-Oxidación de la DHEA protegida (3β,6ξ-dihidroxi-5ξ-androstan-17-ona).....	77
Espectro ¹³ C-RMN (N°3, CDCl ₃) Hidroboración-Oxidación de la DHEA protegida (3β,6ξ-dihidroxi-5ξ-androstan-17-ona).....	78
Espectro IR(N°4, CHCl ₃) Esterificación de la testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona).....	79
Espectro ¹ H-RMN (N°5, CDCl ₃) Esterificación de la Testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona).....	80
Espectro ¹³ C-RMN (N°6, CDCl ₃) Esterificación de la Testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona).....	81
Espectro IR (N°7, CHCl ₃) Formación de la Hidrazona	82
Espectro ¹ H-RMN (N°8, CDCl ₃) Desplazamientos Químicos de Hidroboración-Oxidación de la testosterona protegida (4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano).....	83
Espectro ¹³ C-RMN (N 9, CDCl ₃) Hidroboración-Oxidación de la testosterona protegida (4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano).....	84
Espectro ¹ H-RMN (N°10, CDCl ₃) Testosterona reportada.....	85
Espectro ¹³ C-RMN (N°11, CDCl ₃) Testosterona reportada.	86
Espectro ¹³ C-RMN (N°12, CDCl ₃) Dehidroepiandrosterona reportada.....	87

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estado de transición cíclico de cuatro miembros en la reacción de Hidroboración.....	26
Figura 2 Mecanismo para la formación del alquilborano	27
Figura 3 Estudio de la hidroboración del estireno	28
Figura 4 Representación del factor estérico en la hidroboración.....	28
Figura 5 Resultado de una adición cis en el estudio de la Hidroboración del 3 β -colesterol.....	30
Figura 6 Mecanismo de hidroboración-oxidación	32
Figura 7 Formación de hidrazona de la acetofenona	36
Figura 8 Hidroboración de 3, 20- biscycloethylenedioxy-5 β -pregn-9(11)-ene (biscicloetilendioxi)	38
Figura 9 Hidroboración de trans-(3,20-biscicloetilendioxi-5 β -pregn-9(11) ene (biscicloetilen dioxi))	38
Figura 10 Hidroboración-oxidación de varios esteroides con dobles enlaces en el anillo A	40
Figura 11 Hidroboración-oxidación del a 2-Colestano.....	41
Figura 12 Síntesis de la androsterona.....	42
Figura 13 Síntesis de 19-norandrostano	43
Figura 14 Hidroboración de sistemas esteroidales.....	44
Figura 15 Hidroboración de acetato de ciclohexenilo	45
Figura 16 Hidroboración de 16-androsten-3 β , 17-dioldiacetato	45
Figura 17 Hidroboración de 7-dehidrocolesterol.....	46

Figura 18 Esquema experimental para la obtención de: 4 β ,6 ξ -dihidroxi-5 ξ -androstano-17ona (30) y 4 ξ ,17 β -dihidroxi-5 ξ -androstano(34).....	54
Figura 19 Reacción de esterificación de DHEA.....	55
Figura 20 Mecanismo de esterificación de DHEA	56
Figura 21 Reacción de Cetalización de DHEA.	57
Figura 22 Reacción de Hidroboración- Oxidación de 3 β -acetoxi-5- androsten-17-ona.	57
Figura 23 Numeración designada en 3 β ,6 ξ -dihidroxi-5 α -androstano-17-ona para la asignación de protones y carbonos.....	58
Figura 24 Reacción de esterificación de la testosterona	61
Figura 25 Numeración designada en 17 β -acetoxi-4-androsten-3-ona para la asignación de protones y carbonos.....	62
Figura 26 Reacción de formación de la hidrazona de la testosterona.....	65
Figura 27 Mecanismo de formación de la hidrazona de la testosterona	66
Figura 28 Mecanismo propuesto N°1 en la desprotección del grupo –OH en la hidrazona de la testosterona.	67
Figura 29 Mecanismo propuesto N°2 en la desprotección del grupo –OH en la hidrazona de la testosterona.	68
Figura 30 Reacción de Hidroboración- Oxidación para la formación de 4 ξ 17 β -dihidroxi-5- ξ androstano.....	69
Figura 31 Numeración designada en 4 ξ , 17 β -dihidroxi-5 ξ -androstano para la asignación de protones y carbonos.....	69
Figura 32 Mecanismo de descomposición de la hidrazona.....	72

ABREVIATURAS

Col	Colaboradores
$(\text{CH}_2\text{CO})_2 \text{O}$	Anhídrido Acético
DHEA	Dehidroepiandrosterona
EtOH	Etanol
HB	Hidroboración
H_2O_2	Peróxido de Hidrogeno
IR	Infrarrojo
I_2	Iodo
mmol	Milimol
NaBH_4	Borohidruro de Sodio
NH_2NH_2	Hidracina
py	Piridina
RMN ^{13}C	Resonancia Magnética nuclear de átomo
RMN ^1H	Resonancia Magnética nuclear de protón
THF	Tetrahidrofurano
UPLC	Cromatografía líquida de ultra alta eficiencia

1. INTRODUCCION

En la actualidad muchos esteroides naturales, junto con un número considerable de esteroides sintéticos y semi-sintéticos son habitualmente empleado en medicina debido a las actividades biológicas encontradas. Una de las estructuras de esteroide más estudiada en el ámbito de la farmacología es la de los androstanos, los cuales son terpenos tetracíclicos.

Los terpenos forman una gran familia con diversas estructuras de productos naturales derivados de las unidades de isopreno los cuales contiene cinco átomos de carbono. La clasificación de los Terpenos, se pueden agrupar de acuerdo al número de unidades de isopreno, en Hemiterpenos (una Unidad); Monoterpenos (dos Unidades); Sesquiterpenos (tres Unidades); Diterpenos (cuatro Unidades); Sesterpenos (cinco Unidades); Triterpenos (seis Unidades); y tetraterpenos (siete Unidades). Dentro de los triterpenos están los tetracíclicos y pentacíclicos. De los primeros hay dos series de compuestos principales que se diferencian en su estereoquímica y en la fusión de los anillos: Prostostanos y Apo-eufanos. Entre los prostostanos se encuentran los esteroides, que es un grupo de sustancias que pueden presentar o no, una cadena lateral en C-17, así como los metilos angulares en C-10 y C-13. Se designa como esteroides entonces a los derivados de pregnano, androstano, estrano y gonano.[1]

La principal hormona sexual masculina, o andrógenos, es la testosterona. Esta es secretada por los testículos y es responsable del desarrollo y mantenimiento de las características sexuales masculinas. Los andrógenos también tienen un efecto secundario fisiológico, una actividad anabólica que estimula el crecimiento de huesos y músculos, y promueve el almacenamiento de proteínas.

La dehidroepiandrosterona (DHEA) es un precursor de los andrógenos y los estrógenos, es el esteroide más abundante en la sangre de los humanos, alrededor de 20 años de edad, y luego disminuyendo a medida que la persona envejece. Si bien esta hormona ha demostrado una serie de actividades biológicas, sus funciones fisiológicas precisas aún no se han aclarado. [1]

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 modificaciones sobre el anillo A de la testosterona y el anillo B de la dehidroepiandrosterona mediante reacciones de hidroboración-oxidación, con el propósito de estudiar el comportamiento de los productos generados por dichas modificaciones como agentes antivirales.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

2.1.1 Realizar modificaciones estructurales en el anillo A y B de la dehidroepiandrosterona y testosterona, considerando las condiciones de reacción de hidrobtoración.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Realizar hidrobtoración-oxidación en el anillo B de la dehidroepiandrosterona y reducción e hidrobtoración-oxidación en el anillo A de la testosterona.

2.2.2 Buscar condiciones de reacción óptimas para la obtención de productos hidrobtorados partiendo de dehidroepiandrosterona y testosterona protegidas, llevando un seguimiento de las reacciones mediante TLC y purificación mediante cromatografía de columna.

2.2.3 Caracterizar e identificar compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos.

3. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

3.1 Fundamento Teórico

Los estudios químicos de esteroides comenzaron en 1903 y se dedicaron a la determinación de la estructura del colesterol, el cual había sido aislado un siglo antes (1812) por Chevreul, a partir de la grasa animal.

Debido a su esqueleto plano y relativamente rígido, su alta capacidad de cristalización y el gran número de derivados que se han preparado, los esteroides han sido y son compuestos claves para estudios químicos y fisicoquímicos, al punto de que prácticamente, en el desarrollo de cualquiera de las fases de la química orgánica se encuentran estructuras esteroidales involucradas.[2]

3.1.1 Esteroides como antivirales

Como evidencia de la propiedad antiviral de los compuestos esteroidales, en trabajos previos, donde se realizó estudios *in Vitro*, se ha demostrado que algunos derivados sintéticos de esteroides de origen vegetal (brassinosteroides) presentan actividad frente a diversos virus, entre ellos el virus Junín (JUNV), agente etiológico de la fiebre hemorrágica argentina. Se ha evaluado también la actividad de esteroides de origen animal y de una serie de derivados obtenidos por síntesis química frente a virus patógenos para el hombre. Estos estudios proponen que la dehidroepiandrosterona (DHEA) actúa en el ciclo de replicación de virus como los de la encefalitis japonesa y el virus de la inmunodeficiencia tipo I (HIV-1).

Al estudiar la replicación del Virus de la Encefalitis Japonesa (JEV) en líneas celulares de neuroblastoma de Murina (N18), se encontró que la dehidroepiandrosterona (DHEA) suprime los efectos citotóxicos y la apoptosis inducida por el virus, así como su replicación y propagación dependiente de su concentración (a partir de 50 μ M).

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

Los estudios acerca de la acción inhibidora de DHEA en la infectividad del virus Junín (JUNV) arrojaron que la DHEA no ejercía efectos en los diferentes procesos de adsorción e internalización viral; por otro lado, al examinar el efecto del agregado de DHEA o EA (50 μ g/ml) a distintos tiempos post-infección sobre la expresión de la proteína viral N (proteína de nucleocápside) se apreció un máximo efecto inhibitorio de los compuestos (95% de inhibición) cuando los mismos se encontraban presentes durante las primeras horas de la infección. Se determinó así que el agregado de los compuestos una vez transcurrida la internalización de las partículas virales (2 h post-infección) inhibe la síntesis de proteína N producida a lo largo de un único ciclo de replicación viral.[3]

3.1.2 Dengue

El dengue es una enfermedad rara benigna, de origen vírico, causada por varios virus transmitidos por artrópodos, del tipo de los arbovirus. Se caracteriza por

fiebre bifásica, mialgias (dolores musculares) o artralgias (dolores en las articulaciones), exantema (erupción cutánea, de color rojizo), leucopenia (disminución anormal de las células blancas de la sangre) y linfadenopatías (inflamación de los nódulos linfáticos).

El virus que causan el dengue clásico, son transmitidos por mosquitos de la familia *Stegornyia Aedes aegypti*, un mosquito que pica durante el día. En la mayoría de las áreas tropicales *Aedes aegypti* está muy urbanizado y se cría en el agua almacenada para beber o bañarse, o en el agua de lluvia recogida en cualquier recipiente.

La profilaxis se basa en evitar la picadura del mosquito empleando repelentes e insecticidas, cubriéndose el cuerpo con ropa, protegiendo las casas con mallas metálicas y destruyendo las zonas de reproducción del mosquito *Aedes aegypti*. Cuando debe almacenarse agua, se aconseja usar tapas que ajusten herméticamente o una fina capa de aceite, pues evitan la puesta o la incubación de los huevos. También pueden agregarse al agua potable agentes larvicidas, sin riesgo para la salud.

Las infecciones primarias que produce el dengue o las enfermedades tipo dengue suelen ser de curación espontánea y benignas. La hiperpirexia (elevación de la temperatura corporal por encima de lo normal) y las convulsiones febriles son junto a las pérdidas de líquidos y electrolitos, las complicaciones más frecuentes en lactantes y niños pequeños. El pronóstico puede agravarse por anticuerpos adquiridos de forma pasiva o por la infección previa por un virus muy relacionado.

El tratamiento es sintomático y de sostén. Reposo en cama durante el período febril, paños fríos y antipiréticos para mantener la temperatura por debajo de 40 °C, debe evitarse el uso de aspirina por sus efectos sobre la coagulación. Se aconseja sedación ligera o analgésicos para aliviar el dolor, así como reposición de líquidos y electrolitos para compensar las pérdidas debidas a sudor vómitos, diarrea y ayuno.[4]

La pandemia actual, que también involucra a las Américas, empezó en Asia por la dispersión amplia del *Aedes aegypti* y de los diferentes serotipos del dengue a este continente durante la segunda guerra mundial y por el cambio demográfico, ecológico y económico después de 1945. La primera gran epidemia de Fiebre hemorrágica de dengue y síndrome de choque de dengue se registró en Manila en 1953-1954 seguida por otra en 1956 y la tercera tuvo lugar en Bangkok en 1958.

Hasta la fecha no hay vacuna disponible para proteger contra las infecciones por dengue. La principal preocupación en el desarrollo de la vacuna, es una respuesta inmunológica en el vacunado que pueda llevar a producir Fiebre hemorrágica de dengue ó Síndrome de choque de dengue. [5]

3.1.3 Fiebre Amarilla

La fiebre amarilla es una infección viral aguda de gravedad variable, de declaración internacional obligatoria, causada por un arbovirus y transmitida por un mosquito de la familia Flaviviridae, se manifiesta de dos formas: la selvática, transmitida por diversas especies de *Haemagogus* y la urbana, transmitida por *Aedes aegypti*.

El virus que la produce se presenta en formas epidémicas o endémicas (enfermedad generalmente infecciosa, constante en ciertos países por influencias de una causa determinada) en Suramérica y regiones de África del este.

La enfermedad se conoce desde la antigüedad. Las primeras epidemias de fiebre amarilla fueron descritas, durante el siglo XVI, en los puertos del Caribe, probablemente introducidas por el comercio de esclavos. Carlos J. Finlay, en 1881, plantea por primera vez la hipótesis de que un mosquito transmite la fiebre amarilla. Posteriormente, en 1901 Walter Reed comprueba que la fiebre amarilla era transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*.

El diagnóstico específico se apoya en la detección del virus o sus antígenos en sangre, durante la fase aguda o posteriormente en la determinación de anticuerpos. No existe tratamiento específico para la fiebre amarilla. Se debe mantener a los enfermos en una zona sin mosquitos, empleando mosquiteras si es necesario. El tratamiento sintomático consiste en bajar la fiebre mediante paños húmedos o paracetamol, reposición de líquidos para compensar las pérdidas por ayuno, sed, vómitos o extravasación plasmática y corrección de los desequilibrios ácido-base, aporte nutricional para combatir la hipoglucemia; se deben evitar fármacos de metabolismo hepático o tóxicos para el hígado, el riñón o el sistema nervioso central (sistema formado por el encéfalo y la médula espinal), es habitual el uso de antiácidos para proteger el estómago, si se presenta insuficiencia renal puede ser necesario el uso de diálisis y los sangrados severos pueden requerir transfusiones de sangre, o plasma.

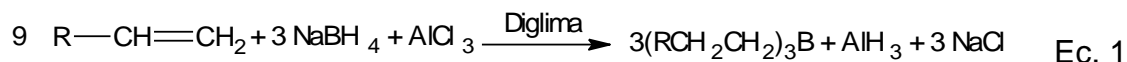
La profilaxis (prevención) se basa en evitar la picadura del mosquito empleando repelentes e insecticidas, cubriéndose el cuerpo con ropa, protegiendo las casas con mallas metálicas y destruyendo las zonas de reproducción del

mosquito *Aedes aegypti*. Esta prevención se realiza mediante la vacuna específica; que se debe administrar al menos 10 días antes de viajar a una zona endémica. La vacunación es válida durante 10 años, aunque la inmunidad dura al menos 40 años y probablemente toda la vida. La vacuna de la fiebre amarilla no debe ser administrada a inmunodeprimidos o en pacientes bajo tratamiento con fármacos inmunodepresores, a embarazadas y a lactantes de menos de 4 meses de edad, ya que casi todas las complicaciones neurológicas se presentan en este grupo de edad. Debe evitarse la vacunación en personas con antecedentes de alergia al huevo, o como alternativa, puede realizarse una prueba cutánea para determinar si existe alergia importante que imposibilite la vacunación. [6]

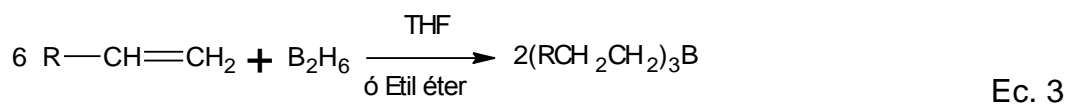
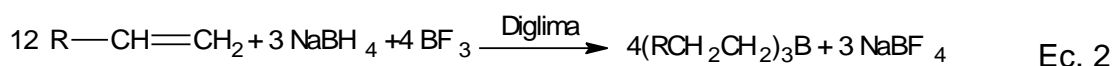
3.1.4 Hidroboración

La reacción de hidroboración-oxidación fue desarrollada por el Dr. Herbert C. Brown y sus colaboradores en la Universidad Purdue, como parte de un programa amplio diseñado a la aplicación de reactivos que contienen boro a la síntesis en química orgánica. El número de aplicaciones es tan grande y el trabajo novedoso que Brown recibió el Premio Nobel de Química en 1979. [7]

Las primeras observaciones en la reacción de diborano con compuestos orgánicos insaturados indicaron que la reacción requería o temperaturas elevadas o mucho tiempo de reacción, y no suministró una ruta sintética y oportuna hacia los organoboranos. Sin embargo, en el transcurso del estudio de la acción reductora de las soluciones de borohidruro de sodio-cloruro de aluminio sobre las moléculas orgánicas, se observó que las moléculas insaturadas tales como etil oleato empleaban más de los dos hidruros necesarios para la reducción del grupo éster. Investigaciones de este fenómeno revelaron que el reactivo reacciona rápidamente con las olefinas para convertirlas en correspondientes organoboranos (Ec.1).



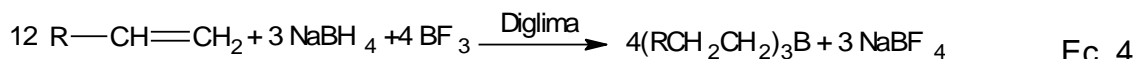
Las investigaciones rápidamente pusieron en evidencia procedimientos alternativos convenientes para la conversión de olefinas en organoboranos (Ec. 2, Ec.3).



Procedimientos de Hidroboración para la conversión de olefinas en organoboranos.

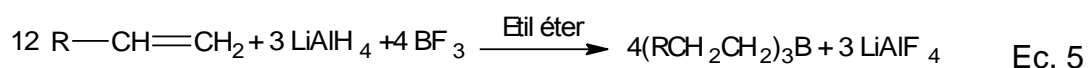
Los siguientes procedimientos permiten la hidroboración de olefinas bajo condiciones suaves, de 0 a 25°.

✓ Cuando el borohidruro de sodio es el agente hidroborante se puede emplear como solvente diglima. El proceso consiste en mezclar el borohidruro de sodio con la olefina en Diglima y agregar lentamente eterato de trifluoroborano (reacción exotérmica) (Ec. 4), bajo atmosfera inerte.



✓ Cuando se desea que el organoborano sea simplemente un intermediario para otras reacciones no necesita ser aislado. De manera que puede ser oxidado *in situ* con peróxido de hidrógeno alcalino siendo de ese modo llevado a alcohol.

✓ Reacción de tetrahidroaluminato de litio con eterato de trifluoroborano puede ser utilizado para llevar a cabo la hidroboreación (Ec. 5).



La reacción de hidroboreación ha sido aplicada a un gran número de olefinas de estructuras ampliamente diferentes, acetilenos y dienos. En prácticamente todos los casos, la hidroboreación procede simple y rápidamente a temperatura ambiente.[8]

3.1.5 Mecanismo de hidroboreación-oxidación

Los estudios realizados sobre hidroboreación indicaron que la reacción de adición debe implicar un estado de transición cíclico de cuatro miembros (Figura 1).

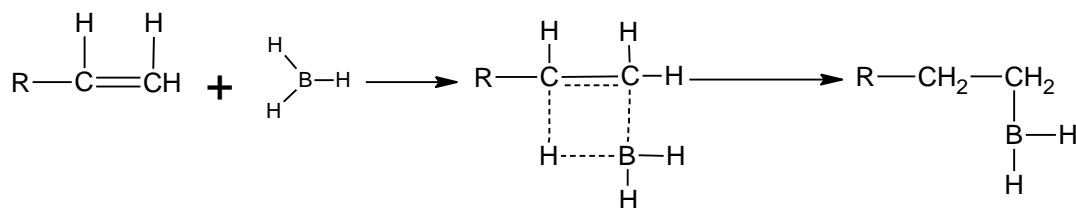
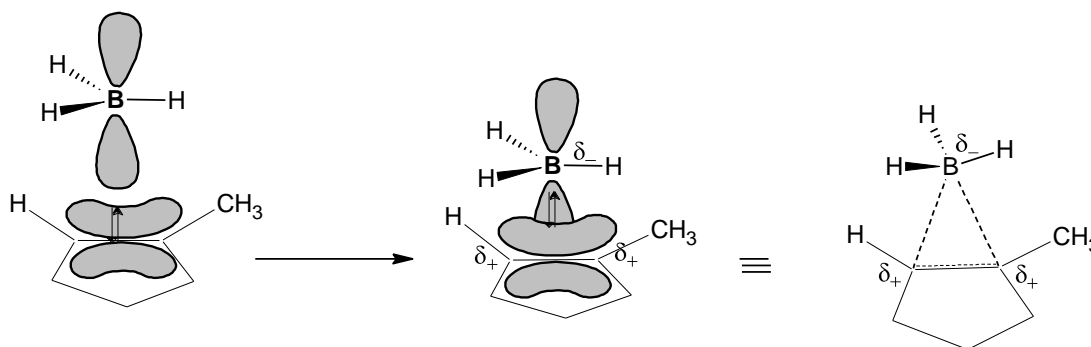


Figura 1 Estado de transición cíclico de cuatro miembros en la reacción de Hidroboración

El borano es electrófilo; tiene un orbital 2p vacío disponible para aceptar un par de electrones. La fuente de este par de electrones es el enlace π de un alqueno. En un primer paso del mecanismo produce un intermediario inestable llamado complejo π . Este complejo π el boro y los dos átomos de carbono del enlace doble se unen por un enlace de tres-dos electrones, con lo que se quiere dar a entender que tres átomos comparten dos electrones. Los enlaces de tres centros-dos electrones se encuentran con frecuencia en la química del boro. El complejo π se forma por una transferencia de densidad electrónica del orbital π del alqueno al orbital 2p del boro. Esta transferencia deja a cada carbono del complejo con una carga positiva pequeña, mientras el boro es ligeramente negativo. El carácter negativo del boro en este intermediario facilita que uno de sus hidrógenos migre con un par de electrones (un desplazamiento de hidruro) del boro al carbono. El estado de transición para este proceso se muestra en el paso 2a del mecanismo mostrado en la (Figura 2); la culminación de la migración en el paso 2b produce el alquilborano. De acuerdo con este mecanismo, el enlace carbono-boro y el enlace carbono-hidrógeno se forman en el mismo lado del alqueno. El hidrogeno es transferido con un par de electrones al átomo de carbono que puede soportar mejor una carga positiva, es decir, aquel que tiene al grupo metilo. [7]

Paso 1: Una molécula de borano (BH_3) ataca al alqueno. Los electrones fluyen del orbital π del alqueno a $2p$ del boro se forma un complejo π .



Representaciones alternativas del complejo π intermediario.

Paso 2: El complejo π se reorganiza a un organoborano. El hidrógeno migra del boro al carbono, llevando con él dos electrones en su enlace al boro.

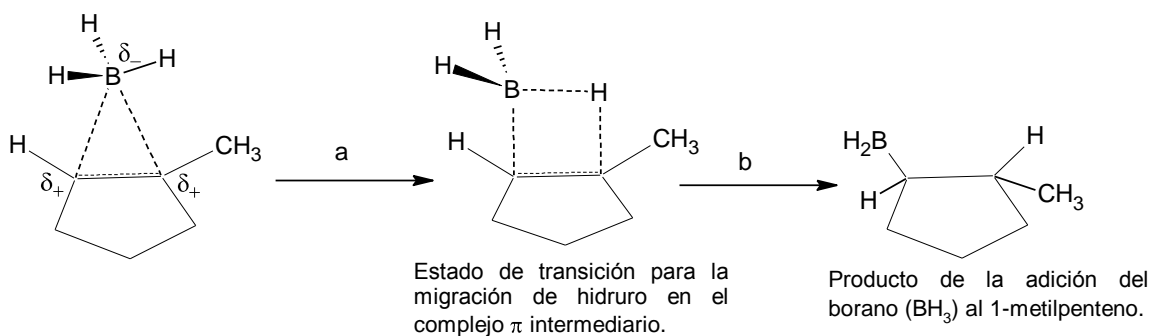


Figura 2 Mecanismo para la formación del alquilborano

3.1.6 Efectos direccionales

El factor estérico es un elemento importante en el control de la regioselectividad de la adición. El boro, con sus sustituyentes unidos, es mucho más grande que un átomo de hidrógeno y se une al carbono menos impedido del doble enlace, mientras el hidrógeno se une al carbono más impedido. (Figura 2). [7]

Mediante un estudio de la hidroboración del estireno, se obtuvo 80 % de la adición del boro en la posición terminal (Figura 3) y 20% en el carbono 2 (Figura 4). La dirección de la adición es controlada primordialmente por el factor electrónico.

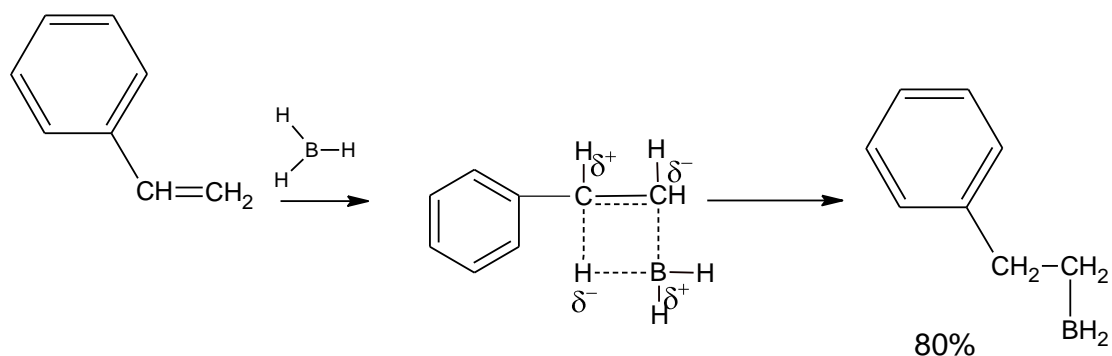


Figura 3 Estudio de la hidroboración del estireno

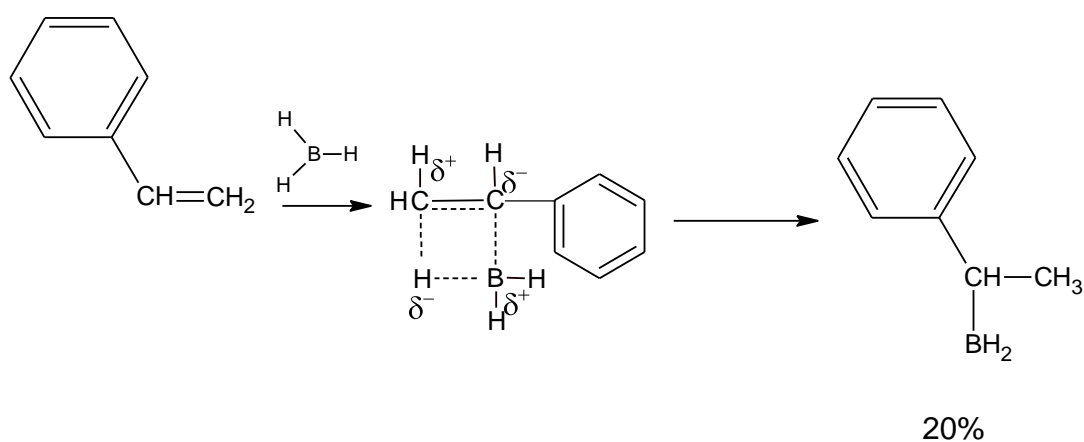


Figura 4 Representación del factor estérico en la hidroboración

La tabla 1 muestra las olefinas que contienen dos sustituyentes alquilo diferentes en el doble enlace como trans-4-metil-2-penteno y trans-4, 4-dimetil-2-penteno, difieren notablemente en sus impedimentos estéricos y la adición procede a localizar el átomo de boro predominantemente sobre el átomo de carbono del doble enlace menos impedido estéricamente. En olefinas que contienen tres

sustituyentes alquilos en el doble enlace, como 2-metil-2-buteno y 2,4,4-trimetil-2-penteno, la adición procede a localizar el átomo de boro predominantemente sobre el átomo de carbono del doble enlace menos sustituido.

Tabla 1 Efectos direccionales en la Hidroboración de olefinas no terminales 20°.

Olefina	Producto Alcohol, %	
	2-ol	3-ol
<i>cis</i> -2-Penteno	55	45
<i>trans</i> -2-Penteno	51	49
<i>cis</i> -2-Hexeno	50	50
<i>trans</i> -2-Hexeno	46	54
<i>cis</i> -3-Hexeno		100
<i>trans</i> -4-Metil-2-Penteno	57	43
<i>trans</i> -4,4-Dimetil-2-Penteno ^a	58	42
Trans-1- Fenilpropeno	85 ^b	15 ^c
2-Metil-2-buteno ^a	2	98 ^d
2,4,4-Trimetil-2-Penteno ^a	2	98 ^e

^a Hidroboración a la etapa del dialquilborano, ^b 1-fenil-1-propanol, ^c 1-fenil-2-propanol, ^d 3-Metil-2-butanol, ^e 2,4,4-Trimetil-3-pentanol.

También es importante tener presente, que el agente selectivo de hidroboración debe presentar una sensibilidad realzada a los impedimentos estéricos de los sustituyentes sobre el doble enlace y de ese modo ejercer una

influencia estérica sobre la dirección de la hidrobioración. El reactivo debería ser particularmente útil para llevar a cabo la hidrobioración selectiva de las moléculas complejas que contienen dos o más centros de reacción. Es evidente que el reactivo debe ser una herramienta sintética útil en el terpeno y esteroides. [8]

3.1.6 Estereoquímica de la hidrobioración

Las investigaciones ^[8] llevadas a cabo sobre el curso estereoquímico de la Hidrobioración sugieren que éstas se llevan a cabo, preferencialmente, en el doble enlace estéricamente menos impedido y la adición es vía *cis*.

Esta generalización se sustenta por un número considerable de observaciones independientes. De ese modo el 3 β -colesterol produce preferencialmente colestano-3 β , 6 α -diol, claramente el resultado de una adición *cis* preferencial desde la parte baja menos obstaculizada de 3 β -colesterol (Figura 5).

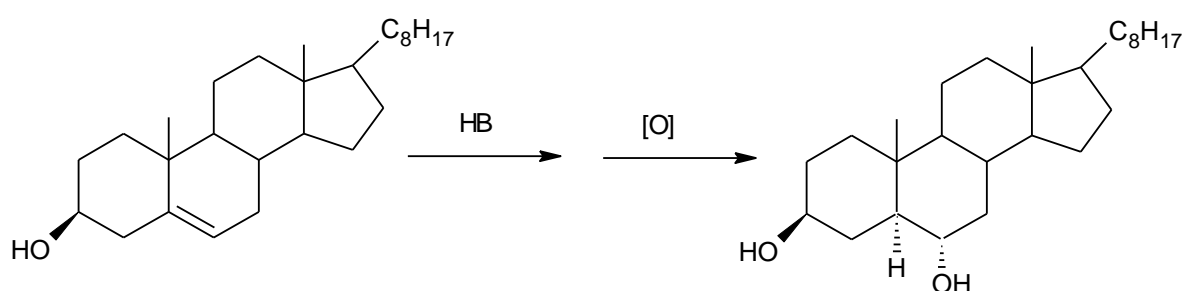


Figura 5 Resultado de una adición *cis* en el estudio de la Hidrobioración del 3 β -colesterol

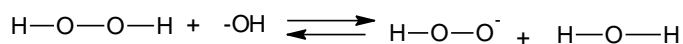
Esta síntesis simple de productos estereoquímicamente definidos debería hacer de la reacción de hidrobioración de especial valor para la síntesis de esteroides relacionados con productos naturales. [8]

3.1.7 Oxidación de organoboranos

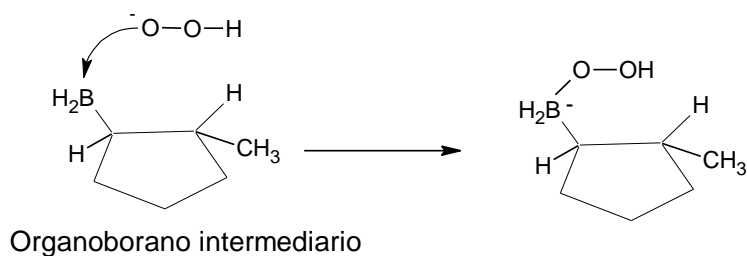
En la fase de oxidación de la secuencia hidroboración-oxidación, como se presenta en (Figura 6), la base conjugada del peróxido de hidrogeno ataca al boro. Se forma un ion hidroperóxido en la reacción ácido-base en el paso 3 que ataca al boro en el paso 4. El orbital $2p$ vacío del boro hace que sea electrofílico y permite que reactivos nucleofílicos como HOO^- se adicionen a él.

La combinación de una carga negativa en el boro y el enlace oxígeno-oxígeno débil causa que un grupo alquilo migre del boro al oxígeno en el paso 4. Esta migración del grupo alquilo ocurre con la pérdida de un ion hidróxido. El alcoxiborano intermedio formado en el paso 5 experimenta la subsiguiente ruptura del enlace oxígeno-boro promovido por una base en el paso 6 para formar como producto el alcohol. [7]

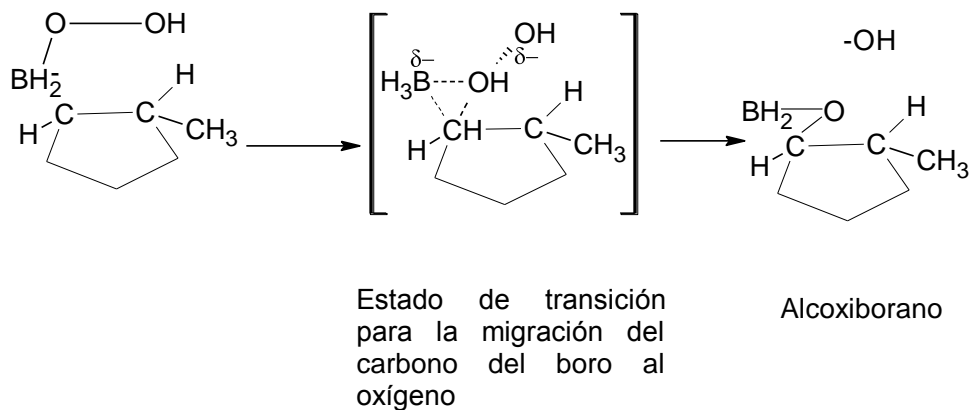
Paso 3: El peróxido de hidrógeno se convierte en su anión en solución básica:



Paso 4: El anión del peróxido de hidrógeno actúa como un nucleófilo, atacando al boro y formando un enlace oxígeno-boro:



Paso 5: La combinación de una carga negativa en el boro y el enlace oxígeno-oxígeno débil causa que el grupo alquilo migre del boro al oxígeno, desplazando al ion hidróxido. El carbono migra con el par de electrones del enlace carbono-boro; éstos se convierten en los electrones del enlace carbono-oxígeno:



Paso 6: La hidrólisis rompe el enlace boro-oxígeno, produciendo el alcohol:

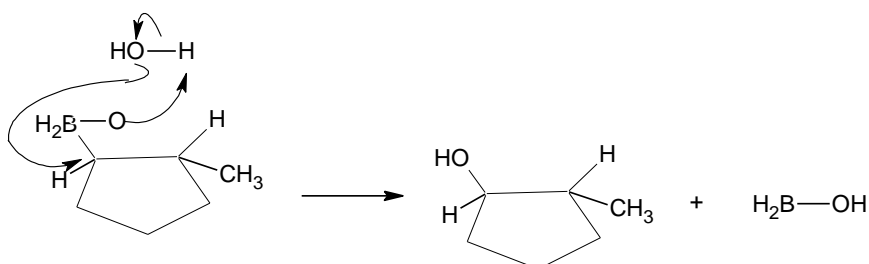


Figura 6 Mecanismo de hidroboración-oxidación

Se ha probado que la oxidación de organoboranos es esencialmente cuantitativa a 25° en los solventes usuales de hidrobtoración: diglima y tetrahidrofurano. Consecuentemente la oxidación puede ser llevada a cabo directamente sobre el organoborano recién sintetizado *in situ*, sin aislamiento. En casos donde el solvente es éter etílico o un medio similar no miscible con agua, la adición de etanol como un co-solvente produce resultados esencialmente cuantitativos.

Numerosas sustancias tales como, olefinas, acetilenos, dienos, éteres, cetonas y nitrilos, pueden estar presentes en la mezcla de la reacción sin influenciar el producto de la oxidación del organoborano, y sin demostrar ningún ataque entre ellas. Esto indica que la reacción será aplicable no sólo a los organoboranos, sino que también a sus derivados funcionales ahora fácilmente disponibles para la hidrobtoración de compuestos insaturados. [8]

3.1.8 Diborano

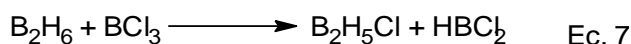
El diborano es un gas incoloro a temperatura ambiente con un olor dulce desagradable. Se mezcla bien con el aire y fácilmente forma mezclas explosivas. Se enciende espontáneamente en la presencia de aire húmedo a temperatura ambiente.

Es usado en propulsores de cohetes, como agente reductor, vulcanizador de caucho, catalizador en la polimerización de hidrocarburos y acelerador de llamas. También es usado en la industria electrónica para conferir propiedades eléctricas a cristales puros. [9]

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

Thakar y Subba Rao mostró que las reducciones con diborano dan el mismo resultado, independientemente de si el diborano es generado externamente o *in situ* producido por la acción de trifluoruro de boro y NaBH₄ o el cloruro de aluminio. Encontraron que las cetonas alicíclicos o dialquil no se reducen más allá de la fase de alcohol, incluso en condiciones drásticas, sin embargo, las cetonas son diaril hidrogenolizadas en condiciones normales, mientras que las cetonas arilo o cetonas α, β-insaturado son hidrogenolizado, en parte, bajo condiciones muy drástica. [10]

En 1999 **Barriola y Col**, mezclaron diborano, B₂H₆ y tricloroborano, BCl₃, con un láser de onda continua de CO₂, obteniendo monoclorodiborano, B₂H₅Cl, y dicloroborano, HBCl₂, en cantidades dependientes de las concentraciones iniciales empleadas. Mediante este trabajo de investigación queda demostrado que el dióxido de carbono no reacciona con el diborano y el tricloroborano.[11]



3.1.9 Reducción de Wolff-Kishner

Esta reacción fue descubierta de manera independiente en 1911 por Ludwig Wolff en Alemania y por N.M Kishner en Rusia. Es un método sintético valioso para la conversión de cetonas o aldehídos en alcanos.

La reacción de Wolff-Kishner frecuentemente se realiza a 240°C en dietiletilenglicol a ebullición como solvente, pero una modificación en la cual se usa dimetilsulfóxido como solvente permite que el proceso ocurra a temperaturas menores a la temperatura ambiente.[12]

3.2. Antecedentes

En 1944 **Lock y Col**, lograron la formación de la hidrazona de la acetofenona mediante el calentamiento de acetofenona en etanol, con hidrato de hidrazina obteniendo un compuesto suficientemente puro para ser utilizado en reacciones posteriores sin purificación adicional. [13]

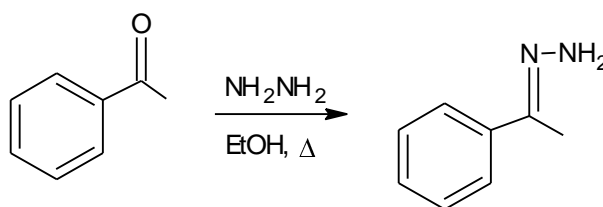
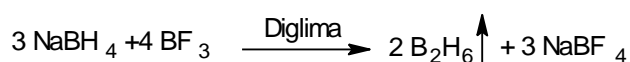


Figura 7 Formación de hidrazona de la acetofenona

En 1958 **H.C. Brown y Col**, observó mediante experimentos realizados que, el borohidruro de sodio en diglima reacciona fácilmente con trifluoruro de boro, ya sea en cantidades estequiométricas o en exceso para liberar diborano cuantitativamente.



Ec. 6

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

Tabla 2 Relación de borohidruro de sodio y diborano generado

mmoles de NaBH ₄	mmoles producidos de diborano	
	Experimental	Calculado
0,60	0,38	0,40
1,20	0,81	0,80
1,80	1,19	1,20
2,40	1,61	1,60

El procedimiento utilizado en este estudio consistió en gotear una solución de borohidruro de sodio en diglima en un leve exceso de eterato de etil trifluoroborano en el mismo disolvente. [14]

En 1959 **Wechter**, realizó el estudio de hidroboreación de 3, 20-biscicloethylenedioxy-5 β -pregn-9(11)-ene (biscicloetilendioxi), llevando a cabo la hidroboreación mediante la adición de una solución etérea de hidruro de litio y aluminio a una disolución de la olefina y eterato de trifluoroborano en éter o tetrahidrofurano o alternativamente pasando gas diborano, seguido por la oxidación con peróxido de hidrogeno alcalino a 0°C, obteniendo resultados desfavorables. Por lo que concluye que se podría deber a la estereoquímica de dicha molécula. [15]

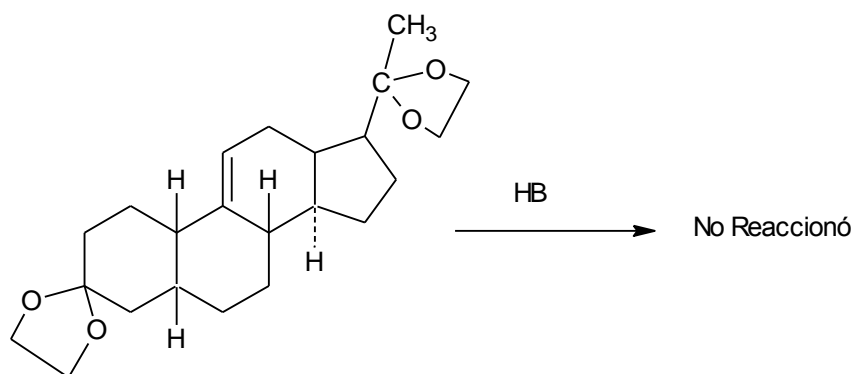


Figura 8 Hidroboración de 3, 20- biscicloethylenedioxy-5 β -pregn-9(11)-ene (biscicloetilendioxi)

Un año después en 1960, **Sondheimer y Col**, estudiaron la hidroboración del compuesto *trans*-(3,20-biscicloetilenedioxi-5 β -pregn-9(11) ene (biscicloetilen dioxi)), llevando a cabo la hidroboración mediante la adición de una solución etérea de hidruro de litio y aluminio a una disolución de la olefina y eterato de trifluoroborano en éter o tetrahidrofurano o alternativamente pasando gas diborano, seguido por la oxidación con peróxido de hidrogeno alcalino a 0°C, logrando el progreso de dicha reacción.

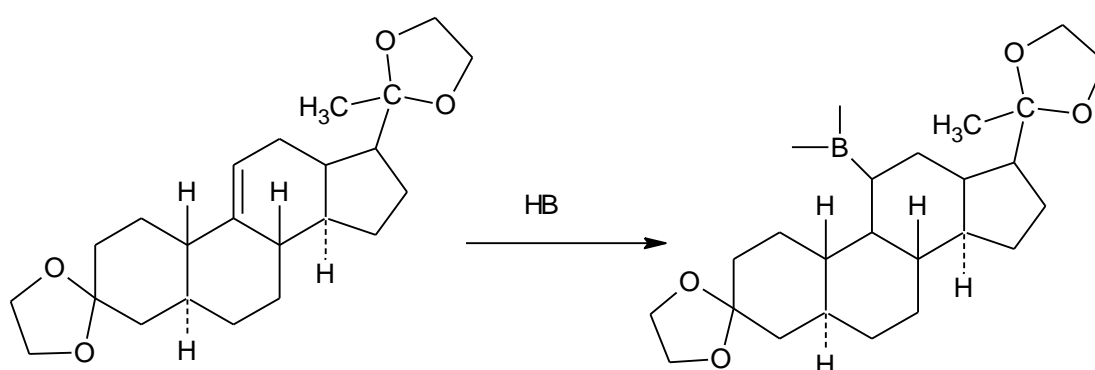


Figura 9 Hidroboración de *trans*-(3,20-biscicloetilenedioxi-5 β -pregn-9(11) ene (biscicloetilen dioxi))

Mediante el experimento realizado pueden concluir que este fenómeno puede ser ampliamente estérico. [16]

En 1961, **Sondheimer y Col**, llevaron a cabo la hidroborcación-oxidación de varios esteroides con dobles enlaces en el anillo A con bis-3-metil-2-butilborano (preparado por hidroborcación de 2-metil-2-buteno, ya sea con hidruro de aluminio litio y trifluoruro de boro en el éter, o con borohidruro de sodio y trifluoruro de boro en diglima), seguido de oxidación con peróxido de hidrógeno. El Δ^1 -Colesteno (1) generó un rendimiento de 75% de Colestan-2 α -ol (3) y ninguna cantidad detectable de Colestan-1 α -ol (2). Por otra parte ningún cambio significativo se observaron a partir del resultado anterior cuando Δ^2 -colesteno (4) y Δ^3 -colesteno (6) se dejaron reaccionar con bis-3-metil-2-butilborano, dando el 35% de colestano-2 α -ol(3) y el 45% de colestano-3 α -ol (5), mientras que la segunda dio 45% de colestano-3 α -ol (5) y 35% de colestano-4 α -ol (7).[17]

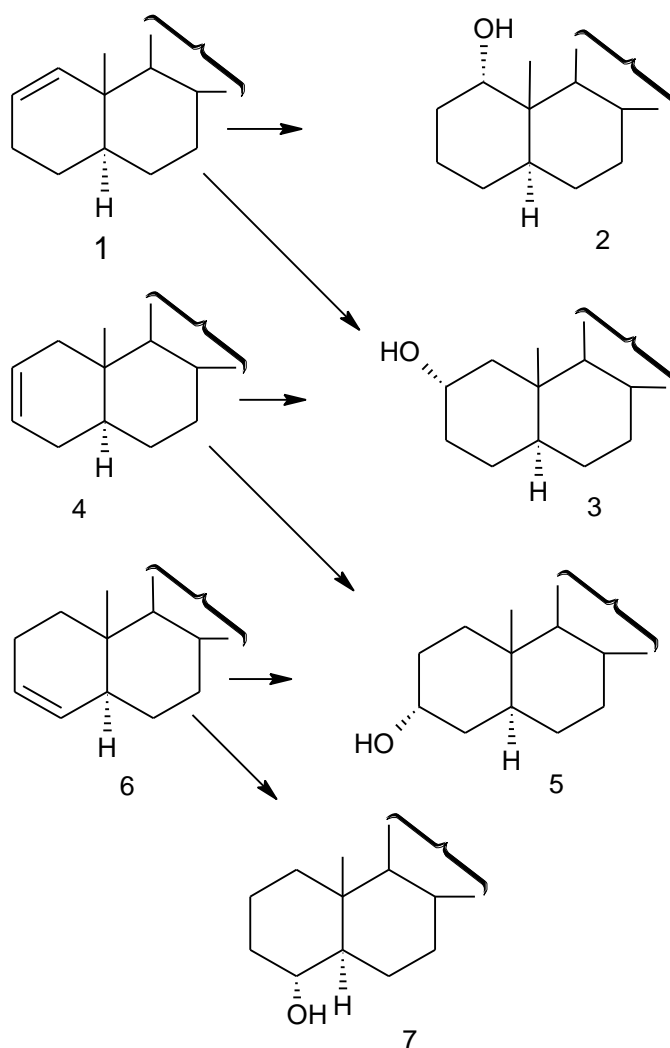


Figura 10 Hidroboración-oxidación de varios esteroides con dobles enlaces en el anillo A

En 1962, **Hassner y Col**, estudió la hidroboración de olefinas esteroidales, donde los efectos de polaridad están en gran medida ausente, con el fin de evaluar los efectos estéricos frente al conformacional.

A partir de la adición de diborano (preparado con borohidruro de sodio, Eterato de trifluoroborano en diglima) a 2-Colestano seguida de la oxidación con peróxido de hidrogeno alcalino, se obtuvo una mezcla de cuatro alcoholes. El 50%

del producto consistió en 3 α -colestanol. El 2 α -colestanol se aisló con un rendimiento de alrededor del 25% y el 3 β -colestanol en 20% de rendimiento. También se encontraron trazas de 2 β -colestanol. Mediante estos resultados pudieron concluir que los α -hidroxi son los productos predominantes, pero también muestra que una cantidad razonable de β -hidroxi se forma en la reacción, indicando que los efectos de conformación no son significativos y que el control estérico es el principal factor en la determinación de la estereoquímica de la hidroborcación de este esteroide. [18].

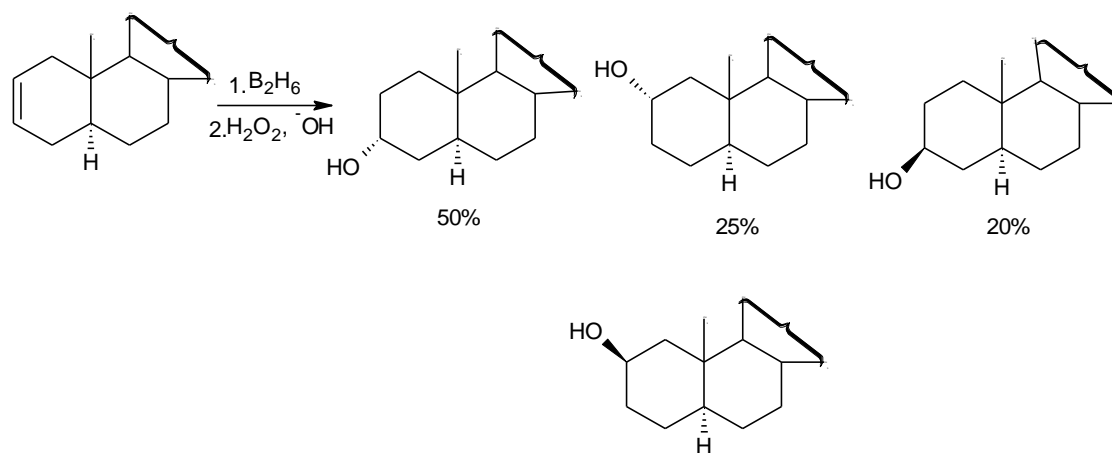


Figura 11 Hidroborcación-oxidación del α 2-Colestano

En 1964, **Caglioti y Col**, se enfocaron en la síntesis de androsterona y 19-Norandrosterona. [19]

Para la síntesis de la androsterona, seleccionaron como material de partida 17-diona-17-monoetilencetal (8), el tratamiento con exceso de diborano y diglima, seguido de la ebullición de la mezcla de reacción con el anhídrido acético produjo la 5 α -androst-3-ene-17-one (9), con un rendimiento de más del 65%. La protección del grupo carbonilo de compuesto (9), se realizó a través de la formación de 5 α -androst-

3-ene-17-one-etilencetal (10), el cual fue tratado a 0° con un gran exceso de diborano en tetrahidrofurano y oxidado con el peróxido de hidrogeno y álcalis, seguido de hidrólisis, obteniendo así la androsterona (11) en una forma casi pura.

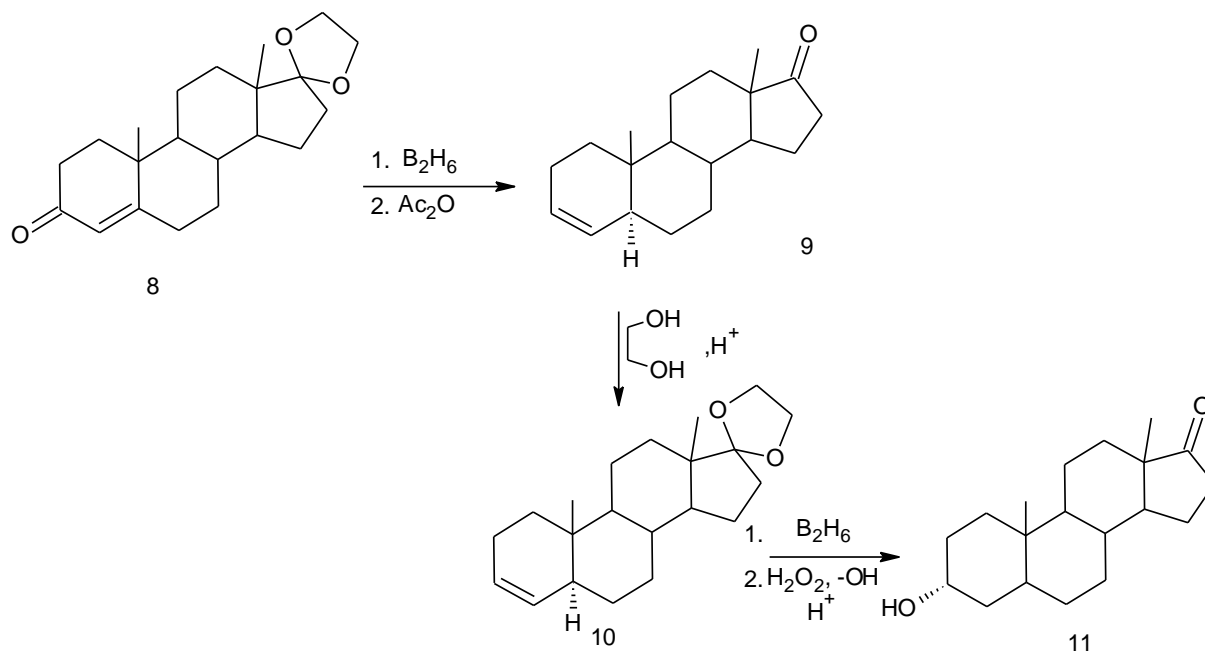


Figura 12 Síntesis de la androsterona

En la síntesis de 19-norandrostano, tomaron como material de partida, 19-nortestosterona (12), llevaron a cabo la hidroboración seguido por el tratamiento con anhídrido acético. Se obtuvo el producto con proporcionando un rendimiento del 60% de 19-nor-5 α -androst-3-ene-17 β -ol-acetato (13a). Este producto fue sometido a hidrólisis con hidróxido de potasio al 5% en metanol, el cual genera el alcohol (13b), que puede ser oxidado a la cetona correspondiente (14) con ácido crómico en acetona. El grupo carbonilo de este compuesto fue protegido mediante acetilación, produciendo 19-nor-5 α -androst-3-ene-17-one-etilencetal (15), éste fue tratado de igual manera que (10). Se obtuvo una mezcla de productos de los que fue posible aislar, el compuesto 19-norandrosterona (16) con un rendimiento del 55-65%. [19]

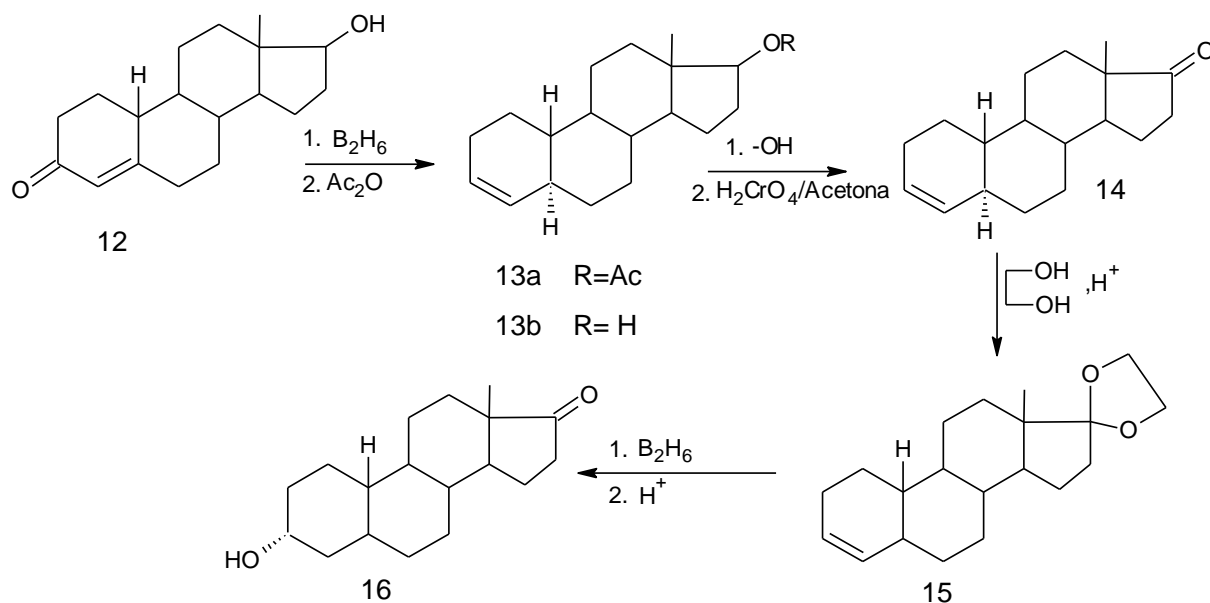


Figura 13 Síntesis de 19-norandrostanone

En 1964 y 1972, **Sondheimer y Col**, estudiaron la hidrobioración de sistemas esteroidales, como los de la serie 5α -H que tienen el anillo A y B fusionados *trans* (17) y los epímeros 5β -H (tienen los anillos fusionados *cis*) (18), obteniendo como resultado que (17) originó un 90 % del alcohol (19), mientras que (18) no fue atacado por el diborano, debido al impedimento estérico del anillo A al ataque del reactivo por la cara alfa.[20], [21]

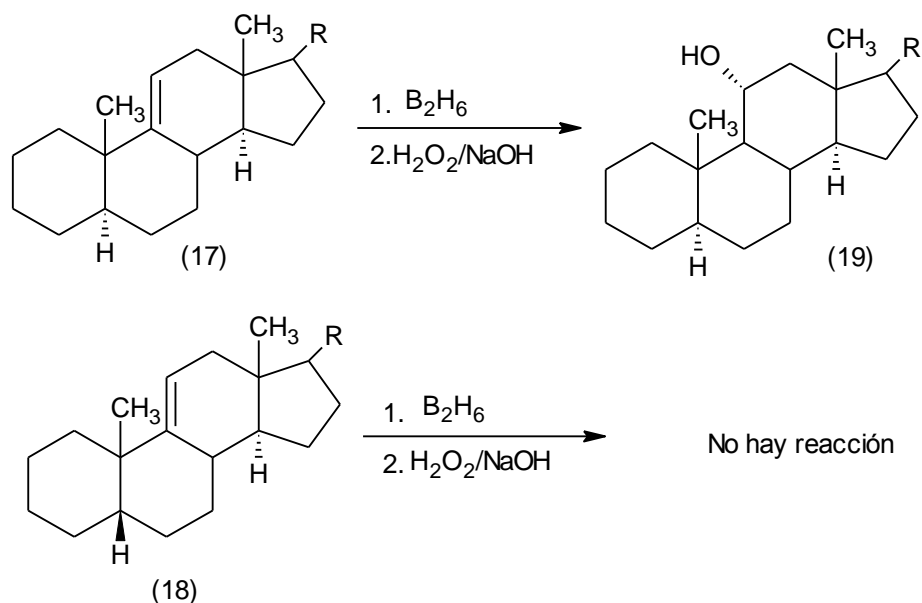


Figura 14 Hidroboración de sistemas esteroidales

En 1969, **Hassnery Col**, estudiaron el efecto director del acetoxi en la hidroboración de olefinas., las cuales serán citados a continuación:

✓ **Hidroboración de acetato de ciclohexenilo (20)**. Se llevó a cabo *in situ*, mediante la adición de borohidruro de sodio o litio en diglima a una solución de la olefina y eterato de trifluoroborano en tetrahidrofurano, en ambos casos con una relación molar 2:1 borano-olefina a 0°, seguidamente la oxidación con peróxido de hidrogeno y álcalis obtuvieron como producto 60 % de trans-1,2-ciclohexadiol (21) y, aproximadamente, 20% de ciclohexanol (22). Por lo que establecieron que el acetato ciclohexenilo se mantuvo estable con eterato de trifluoroborano así como con el borohidruro de sodio en condiciones de reacción. [22]

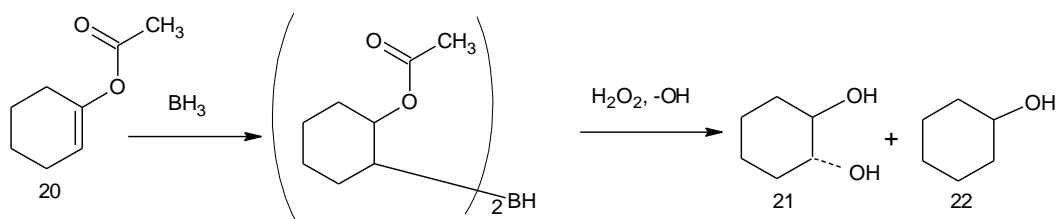


Figura 15 Hidroboración de acetato de ciclohexenilo

✓ **Hidroboración de 16-androsten-3 β , 17-dioldiacetato (23)**, se llevó a cabo generando diborano con eterato de trifluoroborano en tetrahidrofurano, seguido de la oxidación con peróxido de hidrogeno y álcalis, dando como resultado un único producto con un 80% de trans-16 α , 17 β -diol (24). [22]

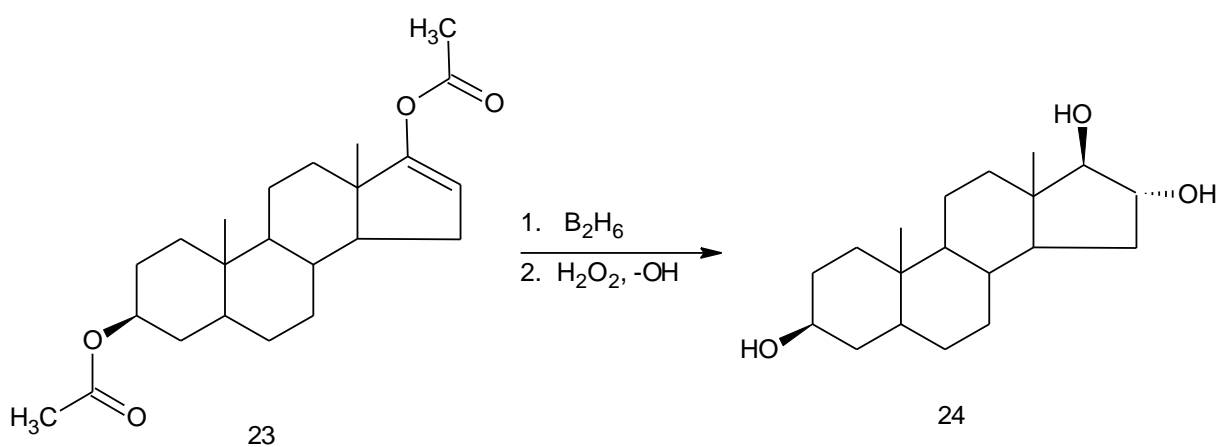


Figura 16 Hidroboración de 16-androsten-3 β , 17-dioldiacetato

En 1991 **Dolle y Col**, realizaron la hidroboración de 7-dehidrocolesterol (25) en exceso de solución borano-tetrahidrofurano, seguido de la oxidación con peróxido de hidrogeno, con un rendimiento del 80% de 5 α -hidroxi (26) y ninguna cantidad detectable de 5 β -hidroxi. Por lo que se puede concluir que el producto predominante en la hidroboración-oxidación es α -hidroxi.

La estereoquímica de la reacción está determinada por la accesibilidad relativa de las dos caras de los dieno conjugado. La cara beta de la molécula está impedida por los grupos metilo angular en C-10 y C-13, dando como resultado un ataque al doble enlace menos obstaculizado de la cara alfa. [23]

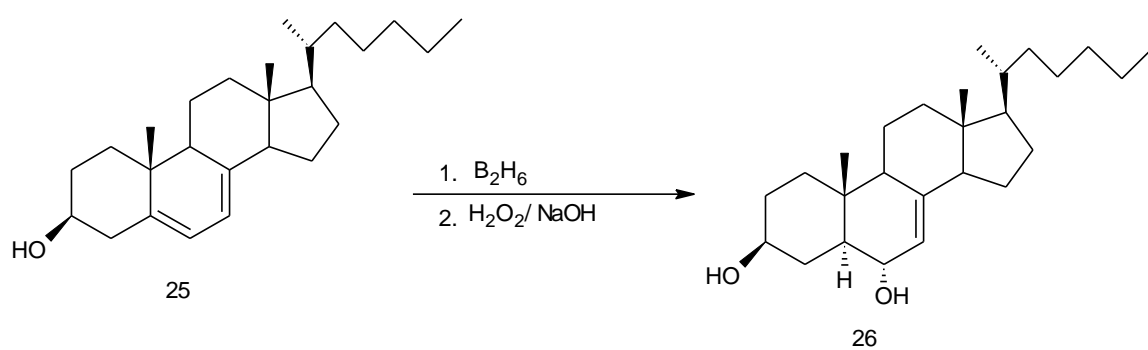


Figura 17 Hidroboración de 7-dehidrocolesterol

4. PARTE EXPERIMENTAL

Especificaciones**Tabla 3** Reactivos empleados en las reacciones.

Nombre	Formula
Acido Clorhídrico	HCl
Anhídrido Acético	(CH ₃ CO) ₂ O
Hidrato de hidracina monohidratado	NH ₂ NH ₂ ·H ₂ O
Acido p-toluensulfónico monohidratado	C ₇ H ₇ SO ₃ H
Borohidruro de Sodio	NaBH ₄
Iodo	I ₂
Piridina	C ₅ H ₅ N

Tabla 4 Solventes empleados en las reacciones.

Solventes
Hexano
Tetrahidrofurano*
Cloroformo
Diclorometano
Etanol*
Metanol*

(*): Destilado

Determinación de datos Físicos

Punto de Fusión (Pf)

Se determinaron en un fusiómetro Electrothermal 9100, 15 v, 45 w, 50/60 Hz. No están corregidos.

Espectros Infrarrojo (IR)

Fueron registrados en un equipo IR-Thermo Nicolet Nexus 470 FT EFP, utilizando una pastilla de KBr.

Espectros de Resonancia Magnética de Protones (RMN¹H)

Se registraron en los siguientes instrumentos:

- JEOL (270 MHz)
- BRUKER (300 MHz)
- 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.

Se utilizan las siguientes abreviaturas:

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
S	Singlete	q	Quinteto
D	Doblete	m	Multiplete
T	Triplete	dd	Doblete de doblete
C	Cuarteto	td	Triplete de doblete

Cromatografía Capa Fina (ccf)

Se utilizó como adsorbente sílica gel Merck DC-60F₅₄, capa de 0,2 mm de espesor en placas de aluminio.

Cromatografía Preparativa

Se utilizó placas 20 x 20 de sílica-gel 60G Merck con indicador fluorescente a 254 nm y 0,25 mm de espesor.

Cromatografía de Columna (cc)

Se 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).

Cromatografía de ultra alta eficiencia (UPLC)

Se utilizó un equipo biotage Isolera, empleando un cartucho biotage SNAP Ultra 50g, con una dimensión de 39x81 mm.

4.1. Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3β-acetoxi-5-androsten-17-ona). (28)

Una mezcla de la dehidroepiandrosterona ((5,00190±0,00001) g; 17,34mmol)), piridina (14ml) y anhídrido acético (3ml), fue calentado a reflujo a 100°C, durante cuarenta y ocho (48) horas. El producto fue purificado mediante cromatografía de placa preparativa, como eluyente se utilizó una mezcla de diclorometano-etanol (99,6:0,4) Se obtuvo ((4,63708±0,00001)g, 14,05mmol)) de un sólido blanco con un Rf de 0,86 y un rendimiento del 81%.

4.2. Cetalización de la dehidroepiandrosterona. (29)

Se hizo reaccionar ((1,73017±0,00001)g; 5,24mmol)) de dehidroepiandrosterona acetilada (**28**), con 80ml de etanol, en presencia de ácido p-toluensulfónico monohidratado ((0,40000±0,00001)g; 2,32mmol) y tamiz molecular.

La mezcla fue calentada en reflujo a 75°C, durante dieciocho (18) horas. Se destiló el etanol y el residuo fue disuelto en diclorometano, lavada con solución salina, hidróxido de sodio al 5% y agua, la capa orgánica fue secada con sulfato de magnesio anhídrido y evaporado el solvente a presión reducida. La reacción fue seguida mediante cromatografía de capa fina empleando anisaldehído-ácido sulfúrico como revelador, indicando numerosa presencia de material de partida y bajo rendimiento del producto esperado.

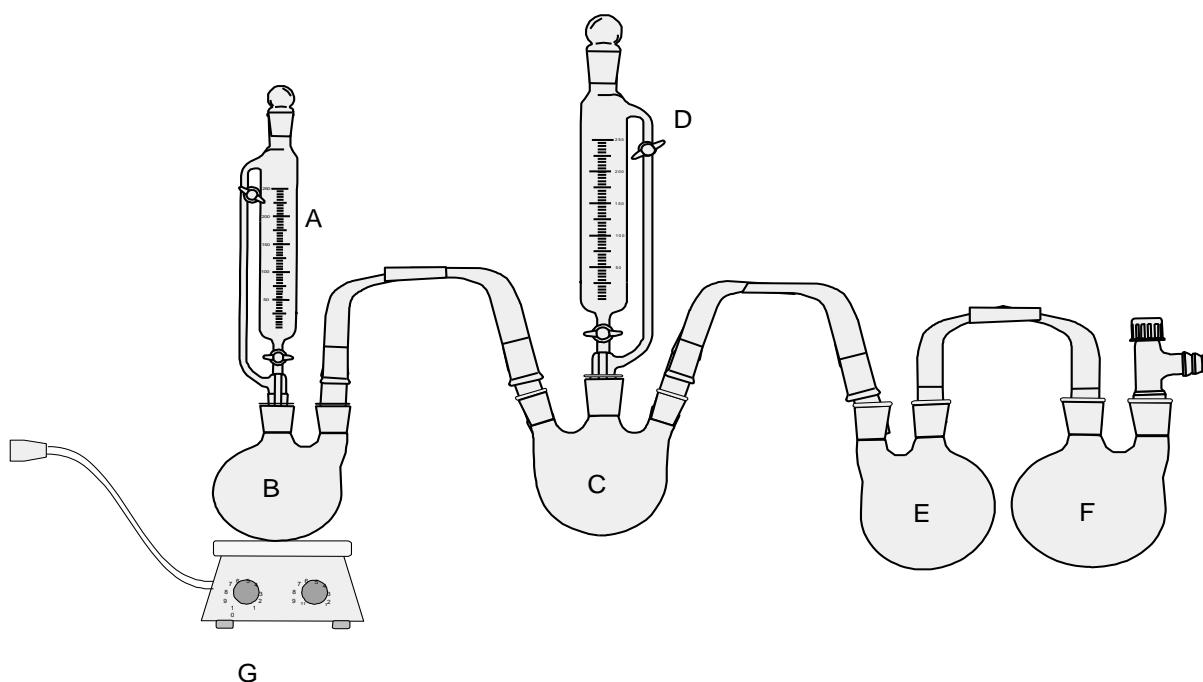
4.3 Esterificación de la Testosterona. (32)

Una mezcla de testosterona (**31**) ((3,70000±0,00001) g; 8,94mmol)), anhídrido acético (5ml) y ácido clorhídrico al 10% (1ml), fue calentado a reflujo a 100°C, durante quince (15) horas. El producto, fue purificado mediante cromatografía de placa preparativa, como eluyente se utilizó una mezcla diclorometano-etanol (99,2:0,8). Se obtuvo ((3,00617±0,00001) g, 9,11mmol)) de un sólido blanco con un R_f de 0,71 y un rendimiento del 71%.

4.4. Formación de la Hidrazona (33)

Una mezcla de testosterona acetilada (**32**) ((2,95575±0,00001) g; 8,95 mmol)), etanol (22ml) e hidrato de hidracina (20ml), se agito setenta y dos horas (72). La reacción generó un precipitado amarillo, se separó de la solución mediante filtración y se lavo con agua y se obtuvo ((2,04226±0,00001) g, 6,76mmol)) de un producto con un rendimiento de 76%.

4.5. Hidroboración generando el diborano externamente.



En un balón aforado de dos bocas (B) se colocó 100 g de bicarbonato de sodio y mediante un embudo de adición (A) se agregó gota a gota ácido clorhídrico al 20 %, el dióxido de carbono generado se hizo pasar al balón generador de diborano (C), el cual contenía borohidruro de sodio y por medio de un embudo de adición (D) se hizo gotear lentamente yodo en etanol, el gas producido (diborano) reaccionó con el esteroide protegido que se encontraba disuelto en tetrahidrofurano (THF) en un tercer balón (E), finalmente el diborano sin reaccionar fue disuelto en una trampa de peróxido de hidrógeno (F), el proceso de reacción se llevó a cabo durante un periodo de diez (10) horas. Transcurrido este tiempo fue calentado a reflujo, durante cuarenta y ocho (48) horas. Se dejó reposar el alquilborano durante un periodo de una (1) hora, se añadió una solución de peróxido de hidrógeno 30% gota a gota y una solución de NaOH 5% con agitación durante (24) hora para completar la oxidación del compuesto. Se separó la capa orgánica, se secó con sulfato de magnesio anhidrido y se evaporó a presión reducida.

Tabla 5 Cantidades de los reactivos empleadas en la hidrobioración-oxidación de ambos esteroides protegidos.

	DHEA protegida (29)	Testosterona protegida (33)
I₂	(13,87848±0,00001)g; 54,68mmol	(11,38312±0,00001)g; 44,85mmol
NaBH₄	(41,18630±0,00001)g; 544,34mmol	(26,62218±0,00001)g; 351,85mmol
Material de partida	(0,57803±0,00001)g; 1,71mmol	(0,47870±0,00001)g; 1,39mmol

La purificación se realizó mediante cromatografía líquida de ultra alta eficiencia (UPLC). El eluyente empleado, el factor de retención y el rendimiento se encuentran reportados en la Tabla N°6.

Tabla 6 Eluyente y rendimiento empleados en la purificación de 3β,6ξ-dihidroxi-5ξ-androstan-17-ona (30) y 4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano (34).

Compuesto	Eluyente	% Rendimiento
Producto 30	Tolueno/AcOEt/Hexano/CH ₂ Cl ₂	3
Producto 34	(6:2:1:1)	6

5. DISCUSION DE RESULTADOS

La testosterona y la dehidroepiandrosterona fueron tratados secuencialmente como lo indica el siguiente esquema:

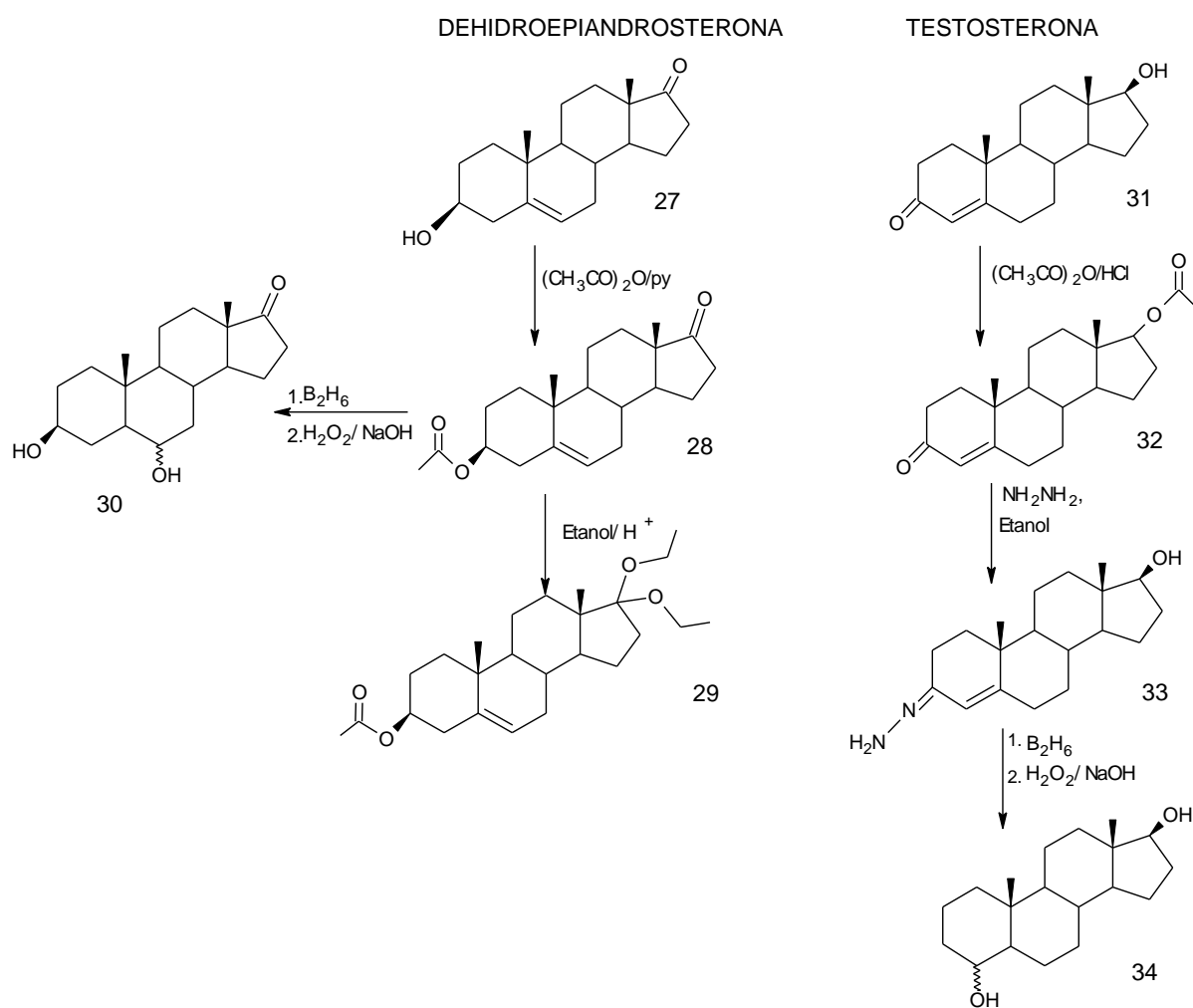


Figura 18 Esquema experimental para la obtención de: 4β,6ξ-dihidroxi-5ξ-androstan-17ona (30) y 4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstan-17ona(34)

5.1 Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3 β -acetoxi-5-androsten-17-ona). (28)

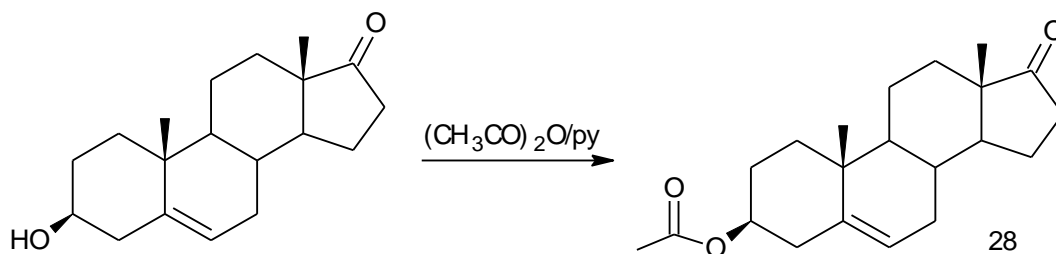


Figura 19 Reacción de esterificación de DHEA

La esterificación del grupo hidroxilo presente en la DHEA (27), se llevó a cabo mediante anhídrido acético en piridina, para obtener el producto (28) con un rendimiento de 81%.

El espectro IR (Espectro N° 1, CHCl₃) mostró una banda aguda de mediana intensidad en 2950 cm⁻¹ asignada a vibraciones de tensión de enlaces C_{sp3}-H y por ultimo una señal centrada aguda e intensa en 1738 cm⁻¹ correspondientes a vibraciones de tensión de un grupo carbonilo (C=O), y una señal aguda de mediana intensidad en 1242 cm⁻¹ asignada a vibraciones de tensión de enlaces COO ambas proveniente del éster. Las señales obtenidas, comprueban que el método empleado fue satisfactorio.

El siguiente mecanismo de reacción puede explicar el resultado obtenido:

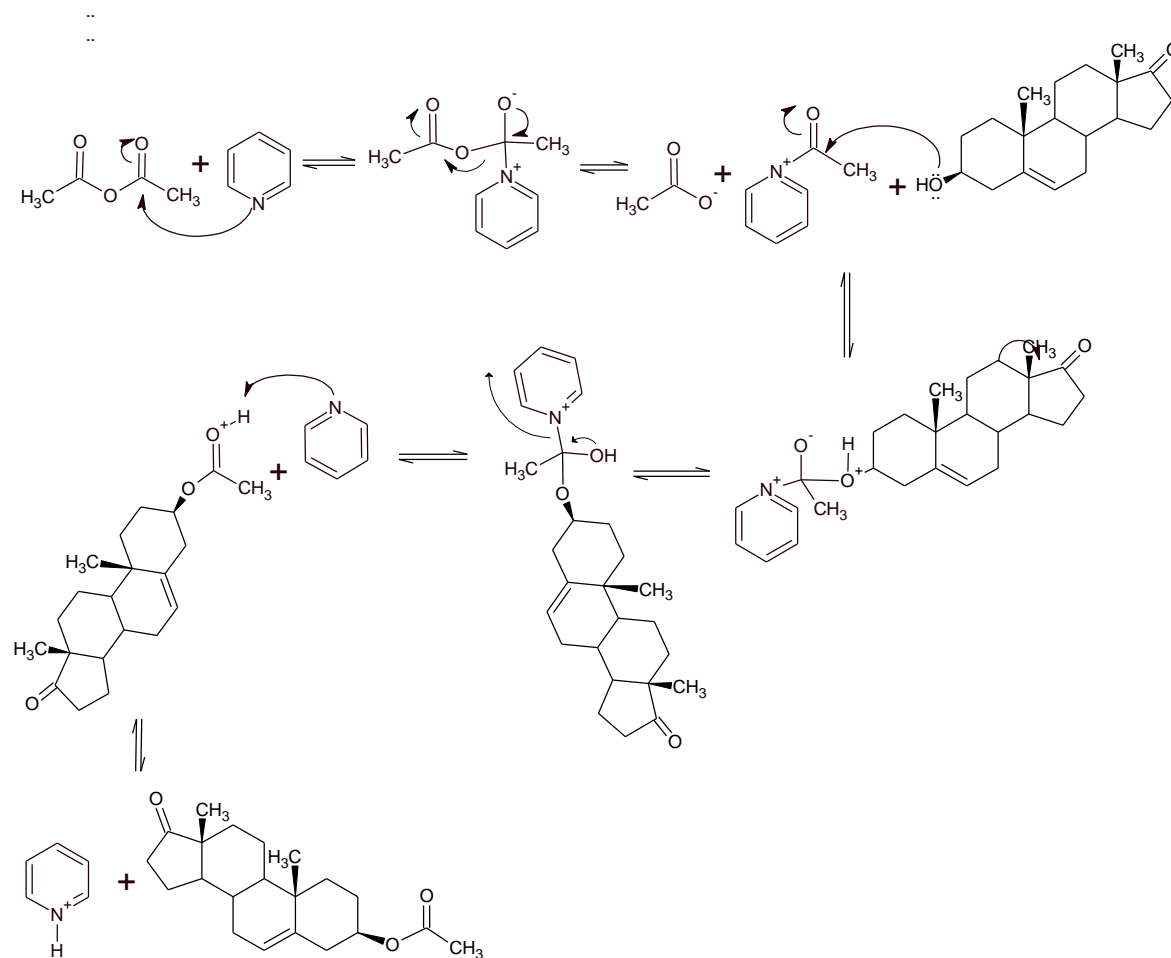


Figura 20 Mecanismo de esterificación de DHEA

En el mecanismo, se puede proponer la formación de un ión acetilpiridinio como intermediario, seguido del ataque de la dehidroepiandrosterona y posterior salida de la piridina o de su derivado ^[24], para formar ácido acético y 3β-acetoxi-5-androsten-17-ona (28).

5.2 Cetalización de la Dehidroepiandrosterona. (29)

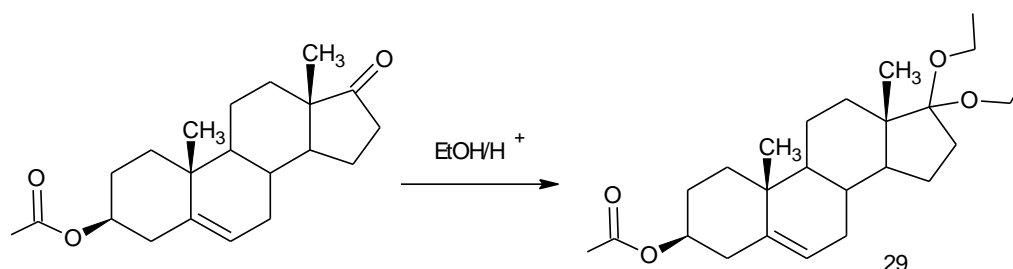


Figura 21 Reacción de Cetalización de DHEA.

La protección del grupo carbonilo presente en la DHEA (27), se intentó con etanol en medio ácido, sin embargo, por medio del seguimiento de la reacción mediante cromatografía de capa fina, se observó gran cantidad de material de partida y baja formación del producto esperado (29). Esto puede ser atribuido, al impedimento estérico que genera la presencia del Me-18 angular, dificultando el ataque del reactivo en el C-17. El crudo obtenido sin purificar fue empleado en la reacción de Hidroboración-Oxidación.

En el espectro ^{13}C -RMN (Espectro N° 3, CDCl_3) se puede observar una señal en 102,06 ppm correspondiente a la cetalización, esta señal indica que una pequeña cantidad del material de partida se cetalizó.

5.3 Hidroboración-oxidación de DHEA protegida.

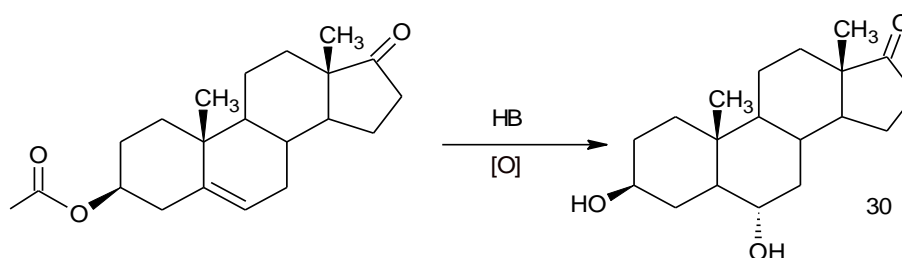


Figura 22 Reacción de Hidroboración- Oxidación de 3β-acetoxy-5- androsten-17-ona.

La Hidroboración-Oxidación de 3β -acetoxi-5- androsten-17-ona se llevó a cabo con diborano, peróxido de hidrógeno e hidróxido de sodio, para obtener el $3\beta,6\xi$ -dihidroxi-androsterona-17-ona (30) con un rendimiento de 3%.

Para confirmar que la reacción de Hidroboración- Oxidación ocurrió, se realizó caracterización del producto obtenido empleando las técnicas de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Para la asignación de protones y carbonos en $3\beta,6\xi$ -dihidroxi-5 ξ -androstan-17-ona, se designo la siguiente numeración:

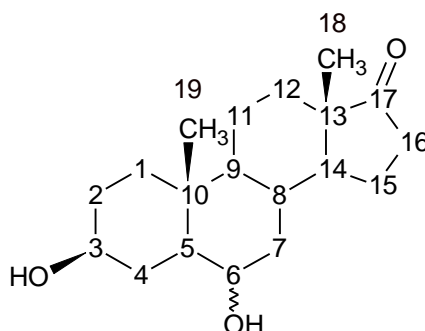


Figura 23 Numeración designada en $3\beta,6\xi$ -dihidroxi-5 α -androstan-17-ona para la asignación de protones y carbonos.

El espectro de ^1H - RMN (Espectro N°2, CDCl_3), mostro un singlete centrado en 0,86 ppm y otro en 0,99 ppm; ambas señales atribuibles a los protones metílicos localizados en C-18 y C-19 respectivamente. En 3,89 ppm se observa dos multiplete correspondientes a los protones (-CH-) de C-3 y C-6.

El espectro de ^{13}C -RMN (Espectro N°3, CDCl_3), mostró una señal en 221,17 ppm asignable al carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) presente en C-17, en 75,98 ppm una señal correspondiente a C-3 unido a un grupo hidroxilo ($-\text{OH}$), indicando la desprotección del grupo hidroxilo. Esto posiblemente se debe, al sometimiento de condiciones ácidas durante el intento de cetalización o bajo las fuertes condiciones básicas durante la reacción de oxidación. La señal 66,66 ppm corresponde a C-6 unido a un grupo hidroxilo ($-\text{OH}$), indicando que la reacción de Hidroboración-Oxidación se llevó a cabo satisfactoriamente. Por medio de estas señales y la modificación de los desplazamientos químicos (31.52, 50.30, 38.93 y 35.85) ppm correspondientes a C-4, C-5, C-10 y C-7 con respecto al material de partida reportado²⁶ en (42.14, 141.17, 36.63 y 32,1) ppm, se puede confirmar que el producto obtenido se encuentra hidroborado y oxidado. (Ver espectro N°11)

En la reacción de Hidroboración-Oxidación del androstano, se esperaba una mezcla de epímeros, obteniendo como producto mayoritario **3 β ,6 α -dihidroxi-androsterona-17-ona**, puesto que la cara beta de la molécula se encuentra impedida por los metilos angulares en C-10 y C13, generando el ataque al doble enlace menos impedido, siendo este por la cara alfa. Mediante estudios realizados por A. Hassner¹⁸ y F. Dolle²³ demuestran que los α -hidroxi son los productos predominantes, indicando que los efectos de conformación no son significativos y que el control estérico es el principal factor en la determinación de la estereoquímica de la Hidroboración. Sin embargo, los datos espectroscópicos obtenidos no son suficientes para afirmar que el hidroxilo en C-6 se encuentra en posición alfa. Por lo que se hace necesario un estudio de RMN en dos dimensiones como por ejemplo: COSY, NOESY, HETCOR.

Tabla 7 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (30) (Espectro N°3, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.

$\delta_{\text{exp}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{cal}}(\text{ppm})^{25}$	Asignación
221,17	219,91	C-17
75,98	71,16	C-3
66,66	70,21	C-6
51,78	51,31	C-14
50,30	50,30	C-5
47,55	47,95	C-13
40,42	47,92	C-9
38,93	38,06	C-10
36,87	35,70	C-16
35,85	35,50	C-7
32,66	33,14	C-1
31,52	32,60	C-4
31,46	31,69	C-12
30,82	31,24	C-8
29,82	29,45	C-2
23,53	21,92	C-15
21,89	21,26	C-11
19,40	20,24	C-19
13,55	13,74	C-18

²⁵Pretsch, E. Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.

5.4 Esterificación de la Testosterona (17β-acetoxi-4-androsten-3-ona) y formación de la hidrazona

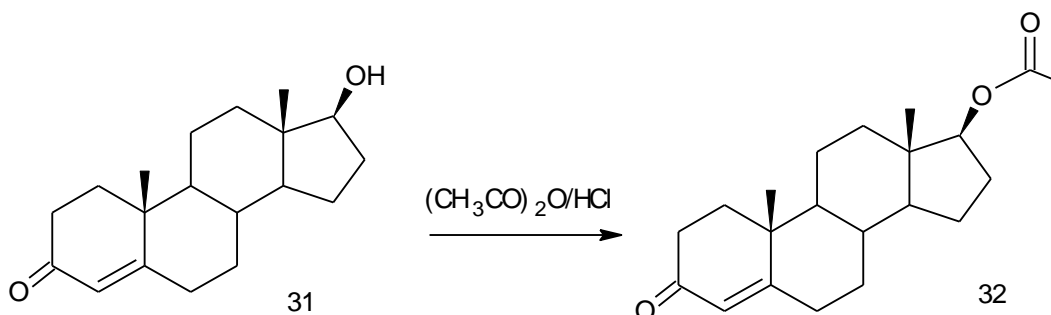


Figura 24 Reacción de esterificación de la testosterona

La esterificación del grupo hidroxilo presente en la testosterona (31) se llevó a cabo con anhídrido acético y ácido clorhídrico. El producto obtenido (con un rendimiento de 71%), se mezcló con hidracina en etanol, para formar la hidrazona en el C-3.

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

El espectro IR (Espectro N°4, CHCl₃) mostró una banda aguda de mediana intensidad en 2935 cm⁻¹, correspondiente a las vibraciones de tensión de enlaces C_{sp³}-H, a 1735 cm⁻¹ una señal centrada aguda e intensa asignada a las vibraciones de tensión de un grupo carbonilo (C=O) característica del éster, a 1675 cm⁻¹ una señal centrada aguda e intensa correspondiente a vibraciones de tensión de un grupo carbonilo (C=O) conjugado, y por último a 1246 cm⁻¹ una señal aguda de mediana intensidad asignada a vibraciones de tensión de enlaces COO del éster.

Para la asignación de protones y carbonos en 17 β -acetoxi-4-androsten-3-ona, se designo la siguiente numeración:

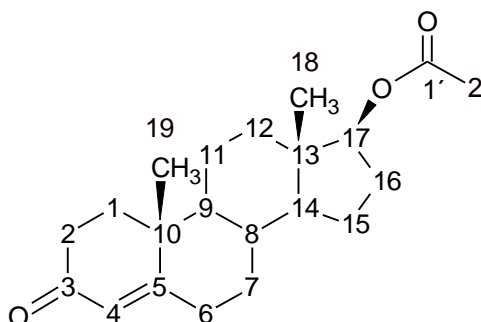


Figura 25 Numeración designada en 17 β -acetoxi-4-androsten-3-ona para la asignación de protones y carbonos.

El espectro de ^1H -RMN (Espectro N°5, CDCl_3), se observa un singlete centrado en 0,79 ppm y otro en 1,14 ppm; ambas señales atribuibles a los protones metílicos localizados en C-18 y C-19 respectivamente. En 1,99 ppm un singlete centrado asignado a los protones (- CH_3 -) del C-2' de la cadena adicionada a la Testosterona. El protón sobre C-17 muestra un triplete centrado 4,55 ppm, a campo más bajo que el desplazamiento reportado²⁶ para el mismo protón en el material de partida a 3,65 ppm, como consecuencia del cambio del grupo oxidrilo por el grupo éster. (Ver espectro N°10

Tabla 8 Datos espectroscópicos ^1H -RMN del producto (32) (Espectro N°5, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.

$\delta_{\text{exp}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{cal}}(\text{ppm})$	Multiplicidad	Asignación
1,14	1,00	Singlete	CH_3 , C-19
0,79	0,81	Singlete	CH_3 , C-18
1,99	2,02	Singlete	CH, C-2'
4,55	4,60	Triplete	CH, C-17

²⁵Pretsch, E. Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.

El espectro de ^{13}C -RMN (Espectro N°6, CDCl_3), mostró en 199,34 ppm y 171,07 ppm dos señales correspondientes a C-3 y C-1' unido al grupo carbonilo. En 21,12 ppm se observa una señal correspondiente a C-2'. Por medio de estas señales y la presencia de la modificación del desplazamiento químico del C-17 (82,43 ppm) con respecto al material de partida reportado²⁶ en 81,56 ppm; se puede confirmar que el producto obtenido está esterificado. (Ver espectro N°11).

Tabla 9 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (32) (Espectro N°6, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.

$\delta_{\text{exp}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{cal}}(\text{ppm})$	Asignación
199,34	197,8	C-3
171,07	170,4	C-5
170,87	170,0	C-1'
123,93	124,3	C-4
82,43	82,5	C-17
53,70	54,3	C-9
50,24	50,8	C-14
42,44	42,9	C-13
38,59	38,9	C-10
36,60	37,1	C-12
35,69	36,1	C-1
35,39	35,8	C-8
33,91	34,2	C-2
32,71	32,9	C-6
31,48	32,0	C-7
27,46	27,9	C-16
23,45	23,8	C-15
21,12	21,0	C-2'
20,51	21,0	C-11
17,38	17,6	C-19
12,00	12,2	C-18

²⁵Pretsch, E. Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.

El producto esterificado (32), fue sometido bajo las condiciones indicadas en la figura 26 para formar la hidrazona en el C-3.

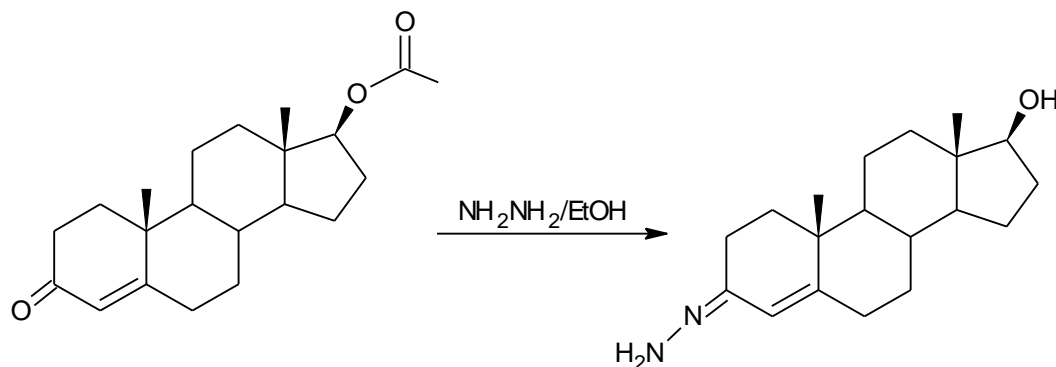


Figura 26 Reacción de formación de la hidrazona de la testosterona

La formación de hidrazona frecuentemente se realiza con hidracina, hidróxido de sodio y etanol (Reacción de Wolff-Kishner), pero en el método empleado se formó agitando la testosterona acetilada en etanol e hidrato de hidracina, obteniendo un producto puro sin purificación adicional.

En el método empleado se puede plantear un mecanismo donde en el último paso de reacción, la hidracina en exceso actúa como la base para tomar el protón y promover la formación de la hidrazona.

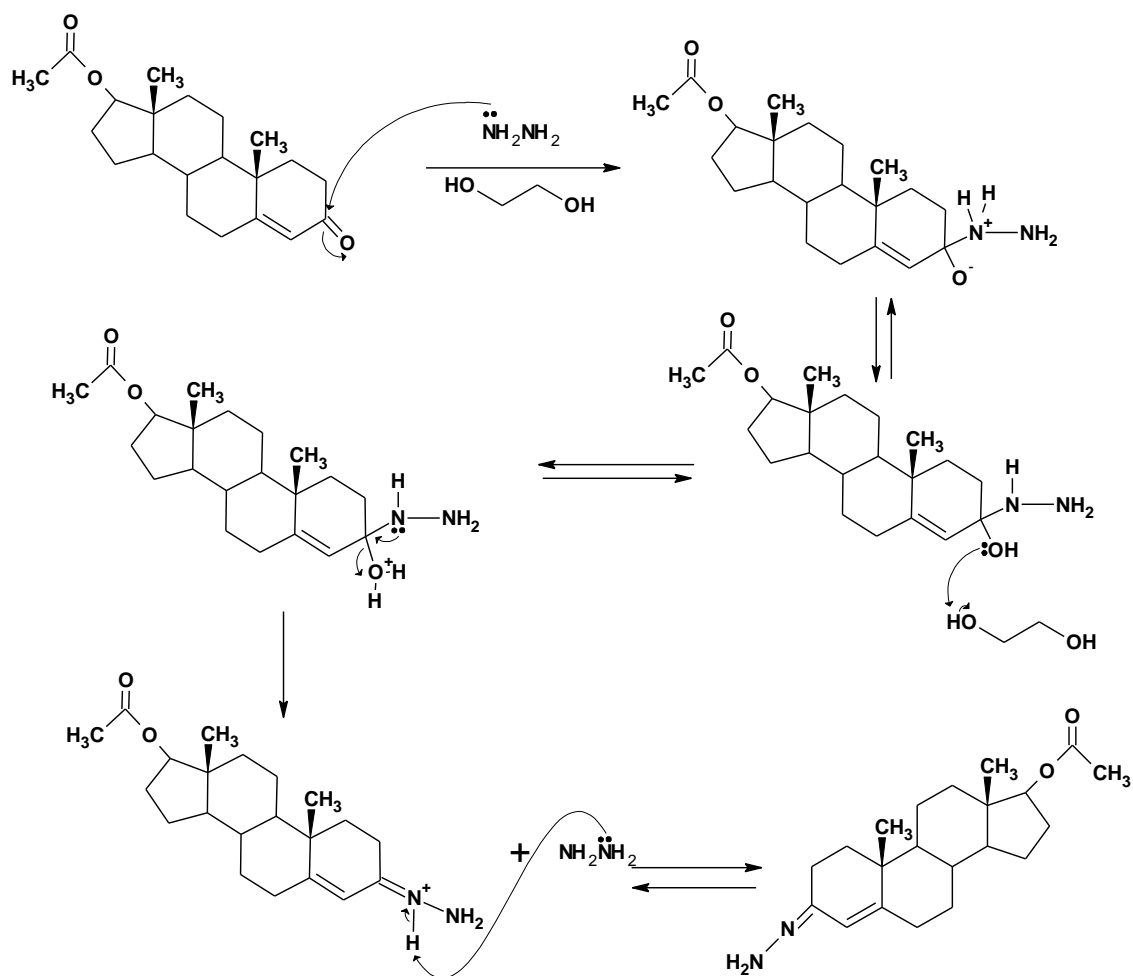


Figura 27 Mecanismo de formación de la hidrazona de la testosterona

El espectro IR (Espectro N°7, CHCl_3) mostró una banda ancha e intensa en 3358 cm^{-1} correspondiente a vibraciones de tensión de grupos hidroxilos ($-\text{OH}$), a 2933 cm^{-1} una señal aguda e intensa asignada a vibraciones de tensión de enlaces $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$; a 1632 cm^{-1} una señal centrada aguda e intensa correspondiente a vibraciones de tensión de enlace $\text{C}=\text{N}$, por último a 1054 cm^{-1} una señal aguda de mediana intensidad correspondiente a vibraciones de tensión de enlaces $\text{C}-\text{O}$ del alcohol.

Por medio del análisis del espectro IR (Espectro N°7, CHCl_3), se pudo apreciar la desprotección del grupo hidroxilo presente en C-17, y la formación de la hidrazona en C-3 del androstano, demostrando que la hidracina en etanol también funciona como una reacción de desprotección de grupo hidroxilo. Debido a este hecho se puede plantear dos mecanismos de reacción, planteado como una transesterificación con la diferencia que en vez de reemplazar el grupo alcoxi por el alcohol, es reemplazado por la hidracina para producir acetohidrazida y el esteroide desprotegido (OH).

Mecanismo 1

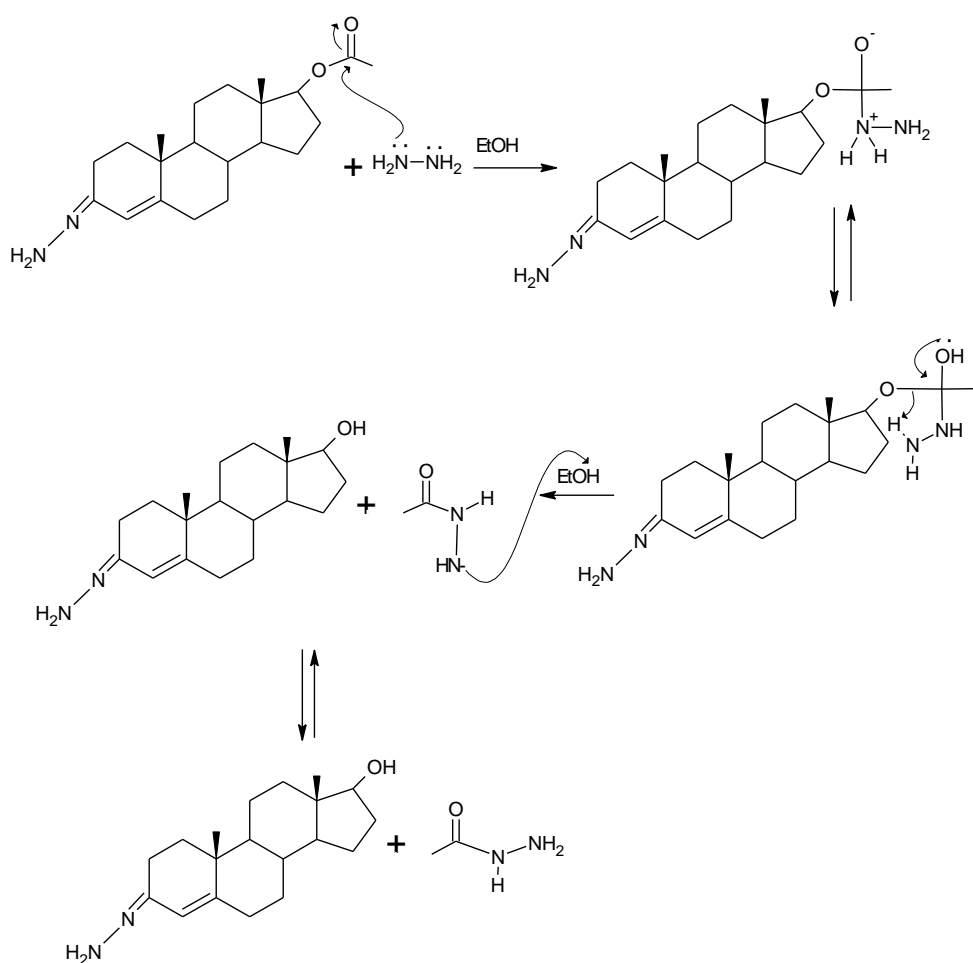


Figura 28 Mecanismo propuesto N°1 en la desprotección del grupo $-\text{OH}$ en la hidrazona de la testosterona.

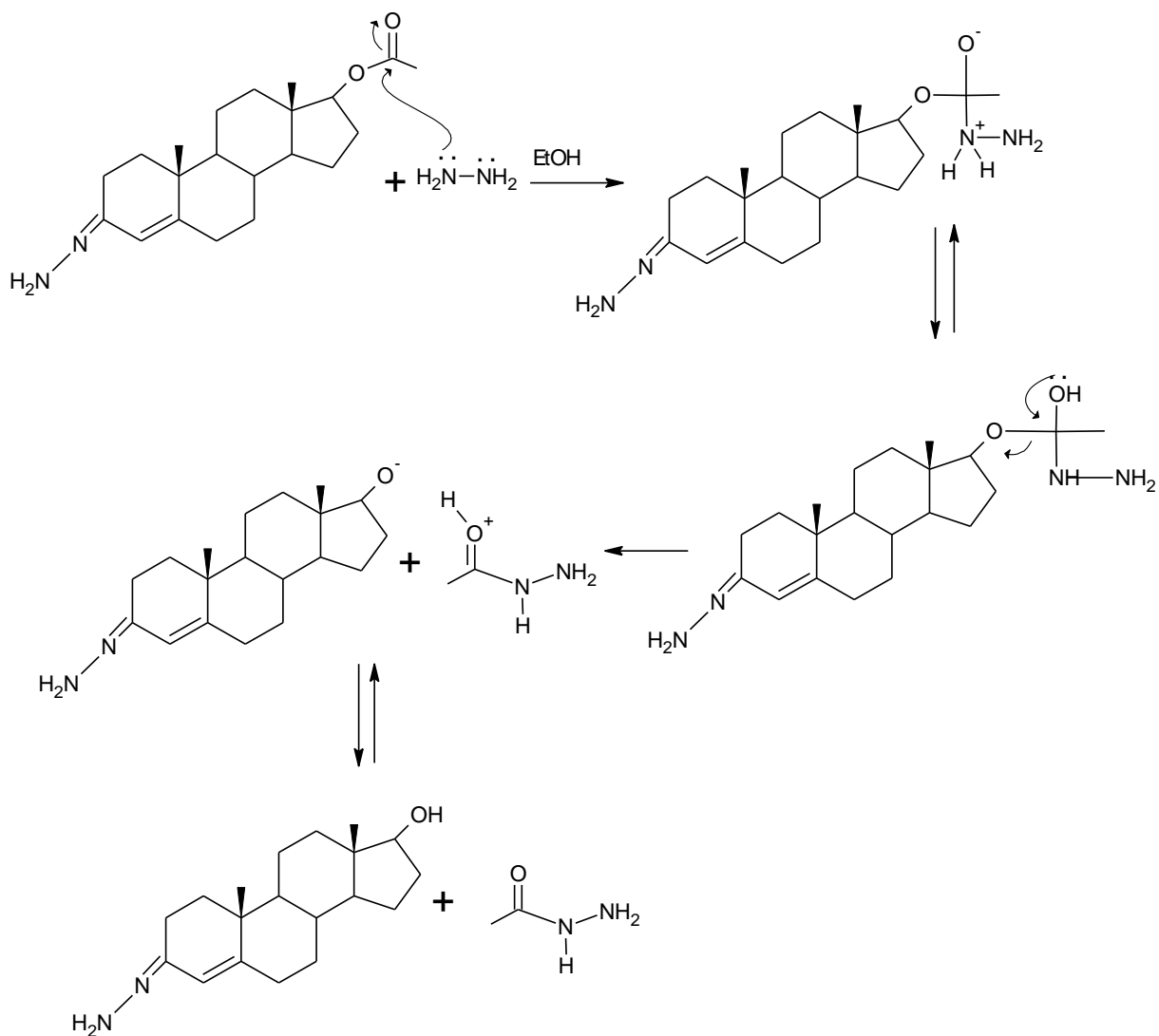
Mecanismo 2

Figura 29 Mecanismo propuesto N°2 en la desprotección del grupo $-\text{OH}$ en la hidrazona de la testosterona.

5.5 Hidroboración-oxidación de la Testosterona protegida. (33)

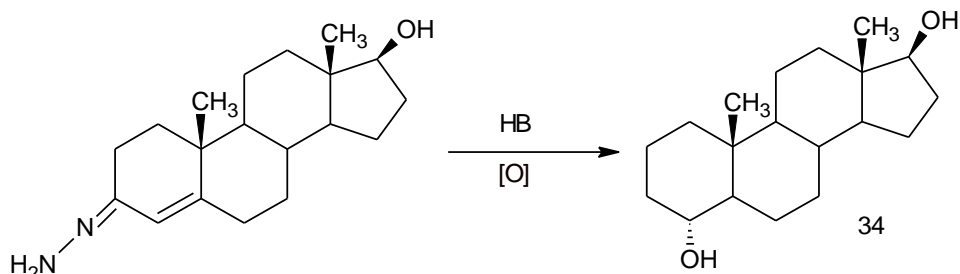


Figura 30 Reacción de Hidroboración- Oxidación para la formación de 4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano.

La reacción de Hidroboración-Oxidación para la formación de 4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano se llevo a cabo con diborano, peróxido de hidrogeno e hidróxido de sodio, para obtener el producto 34 con un rendimiento de 6%.

Para confirmar que la reacción de Hidroboración- Oxidación ocurrió, se realizó caracterización del producto obtenido empleando las técnicas de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Para la asignación de protones y carbonos en 4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano, se designo la siguiente numeración:

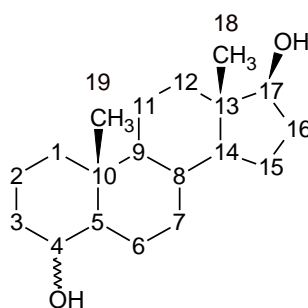


Figura 31 Numeración designada en 4ξ, 17β-dihidroxi-5ξ-androstano para la asignación de protones y carbonos.

El espectro de ^1H -RMN (Espectro N°8, CDCl_3), se observa un singlete centrado en 0,79 ppm y otro en 0,85 ppm; ambas señales atribuibles a los protones metílicos localizados en C-18 y C-19 respectivamente. En 3,69 ppm se observa un multiplete centrado correspondiente a los protones (-CH-) en C-4.

El espectro de ^{13}C -RMN (Espectro N°9, CDCl_3), mostró en 83,46 ppm una señal correspondiente a C-17 unido al grupo hidroxilo (-OH). La señal 71,22 ppm corresponde a C-4 unido a un grupo hidroxilo (-OH), indicando que la reacción de Hidroboración-Oxidación se llevo a cabo satisfactoriamente. El desplazamiento químico 34,74 ppm corresponde a C-3, indicando la pérdida de la hidrazona. Esto se debe, a la descomposición de la hidrazona por la pérdida de nitrógeno, cuando el producto de Hidroboración fue sometió a reflujo en un medio fuertemente básico. Por medio de estas señales y la modificación de los desplazamientos químicos (45,98, 32,01 y 22,69) ppm correspondientes a C-5, C-10 y C-6 con respecto al material de partida reportado²⁶ en (171,35, 38,67 y 32,80) ppm, se puede confirmar que el producto obtenido se encuentra hidroborado y oxidado. (Ver espectro N°12)

En el proceso de Hidroboración Oxidación del androstano, se esperaba una mezcla de epimeros y como producto mayoritario aquel donde el ataque del reactivo ocurriera por la cara alfa (4α , 17β -dihidroxi- 5α -androstano), siendo esta la menos impedida. Por medio del Trabajo de ascenso a profesor Titular de la Dr. Marcano D.²⁷ el desplazamiento químico de protones localizados en el C-4 es 3,4 ppm indicando que el producto mayoritario es el α -hidroxi. Basándose en lo antes mencionado se puede decir que el compuesto obtenido se podría tratar de 4α , 17β -dihidroxi- 5α -androstano, sin embargo, mediante el espectro obtenido no se puede determinar la estereoquímica del compuesto, por lo que se hace necesario un estudio de RMN en dos dimensiones como por ejemplo: COSY, NOESY, HETCOR.

Tabla 10 Datos espectroscópicos ^{13}C -RMN del producto (34) (Espectro N°9, CDCl_3) y sus correspondientes desplazamientos experimentales y calculados.

$\delta_{\text{exp}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{cal}}(\text{ppm})^{25}$	Asignación
83,46	81,68	C-17
71,22	71,61	C-4
54,28	51,26	C14
51,35	50,04	C-9
45,98	46,34	C-5
44,90	43,79	C-13
38,10	38,81	C-1
37,02	37,14	C-12
35,56	35,35	C-8
34,74	33,29	C-3
32,01	32,96	C-10
31,46	31,81	C-7
29,36	30,74	C-16
23,55	23,54	C-15
22,69	22,75	C-6
20,80	20,64	C-11
18,42	20,45	C-2
14,19	14,75	C-19
12,31	11,48	C-18

²⁵Pretsch, E. Tablas Para La Elucidación Estructural De Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos, Editorial ALMAMBRA, S.A, 1ra Edición Española, 1980.

La descomposición de la hidrazona se puede explicar mediante el mecanismo mostrado en la figura 32, donde la base sustrae hidrogeno del nitrógeno produciendo un carbanión que se protona rápidamente, seguido de la pérdida del nitrógeno, formación del carbanión y por último el proceso de protonación.

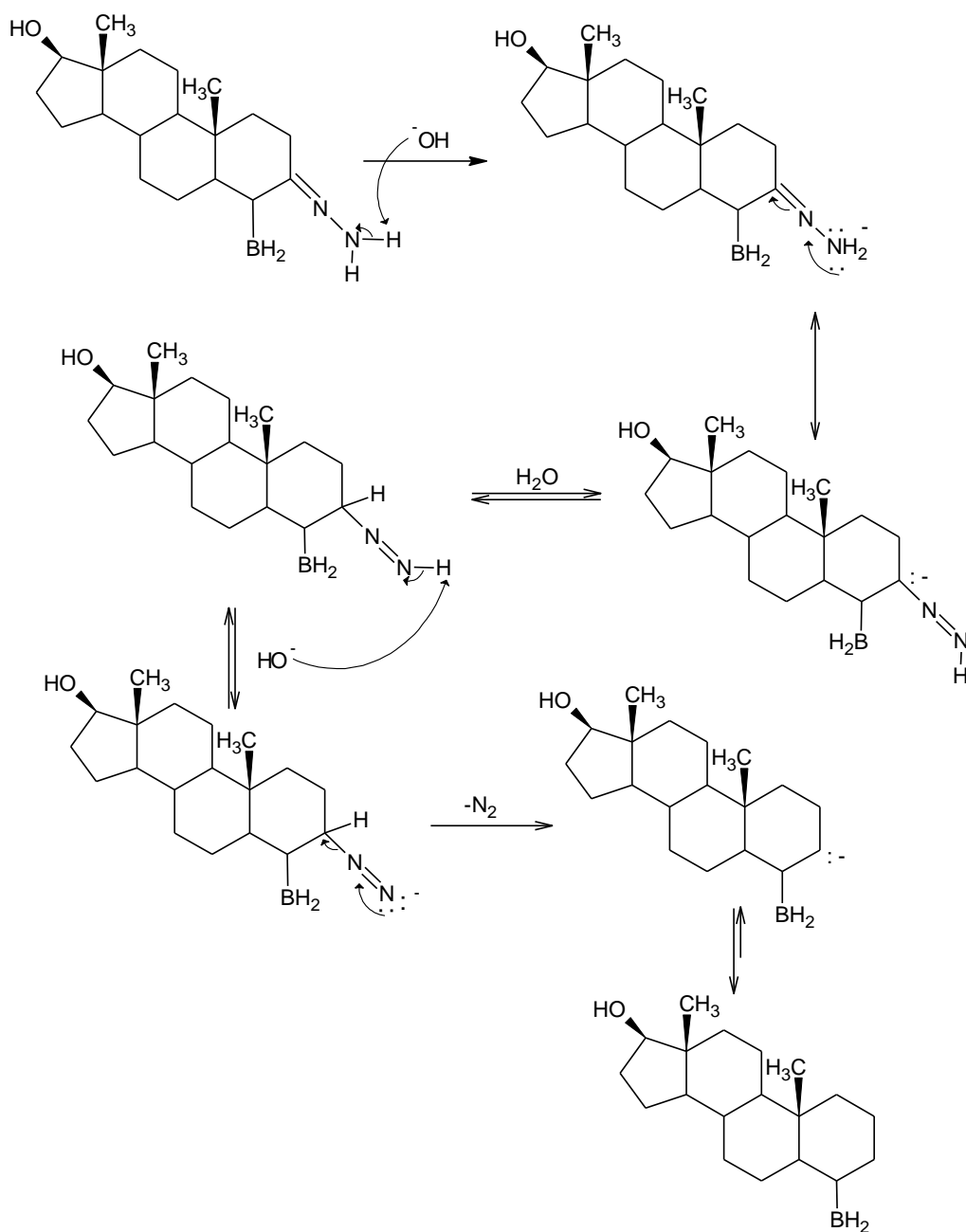


Figura 32 Mecanismo de descomposición de la hidrazona

El proceso de Hidroboración- Oxidación llevado a cabo satisfactoriamente en ambos compuestos protegidos (Testosterona, DHEA), permite desarrollar nuevos proyectos debido que la introducción del grupo hidroxilo en C-4 de la testosterona y en C-6 de la DHEA, activa no sólo estas posiciones sino que además posibilita una serie de modificaciones en el anillo A y B respectivamente. Entre las cuales se puede mencionar: formación del carbonilo por oxidación, expansión del anillo generando lactamas o lactonas, o la formación de un sistema α,β -conjugado.

6. CONCLUSIONES

- ✓ Se llevó a cabo la esterificación del grupo hidroxilo presente en C-3 en la DHEA con un rendimiento de 81%.
- ✓ Se llevó a cabo la esterificación del grupo hidroxilo presente en C-17 en la testosterona con un rendimiento de 71%.
- ✓ Se obtuvieron resultados desfavorables en la cetilización de la DHEA, empleando etanol en medio ácido.
- ✓ La hidracina en etanol hidroliza el éster, permitiendo recuperar el alcohol.
- ✓ En la reacción de Hidroboración-Oxidación de la Dehidroepiandrosterona se obtuvo la formación de 3 β ,6 ξ -dihidroxi-5 ξ -androstano-17-ona con un rendimiento de 3%.
- ✓ En la reacción de Hidroboración-Oxidación de la testosterona protegida se obtuvo la formación de 4 ξ ,17 β -dihidroxi-5 ξ -androstano con un rendimiento de 6%.
- ✓ Mediante la información que arrojó los espectros de protones y carbono en las reacciones de Hidroboración-Oxidación no logró determinar la estereoquímica del alcohol resultante.
- ✓ La introducción del grupo hidroxilo en C-4 de la testosterona y en C-6 de la DHEA, activa no sólo estas posiciones sino que además posibilita una serie de modificaciones en el anillo A y B respectivamente. Entre las cuales se puede mencionar:
 - Formación del carbonilo por oxidación
 - Expansión del anillo generando lactamas o lactonas
 - Formación de un sistema α,β -conjugado.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ El orden de reacción en el caso de la Dehidroepiandrosterona debe ser el siguiente: cetalización, esterificación del grupo oxidrilo y finalmente someter el producto a una reacción de Hidroboración- Oxidación.

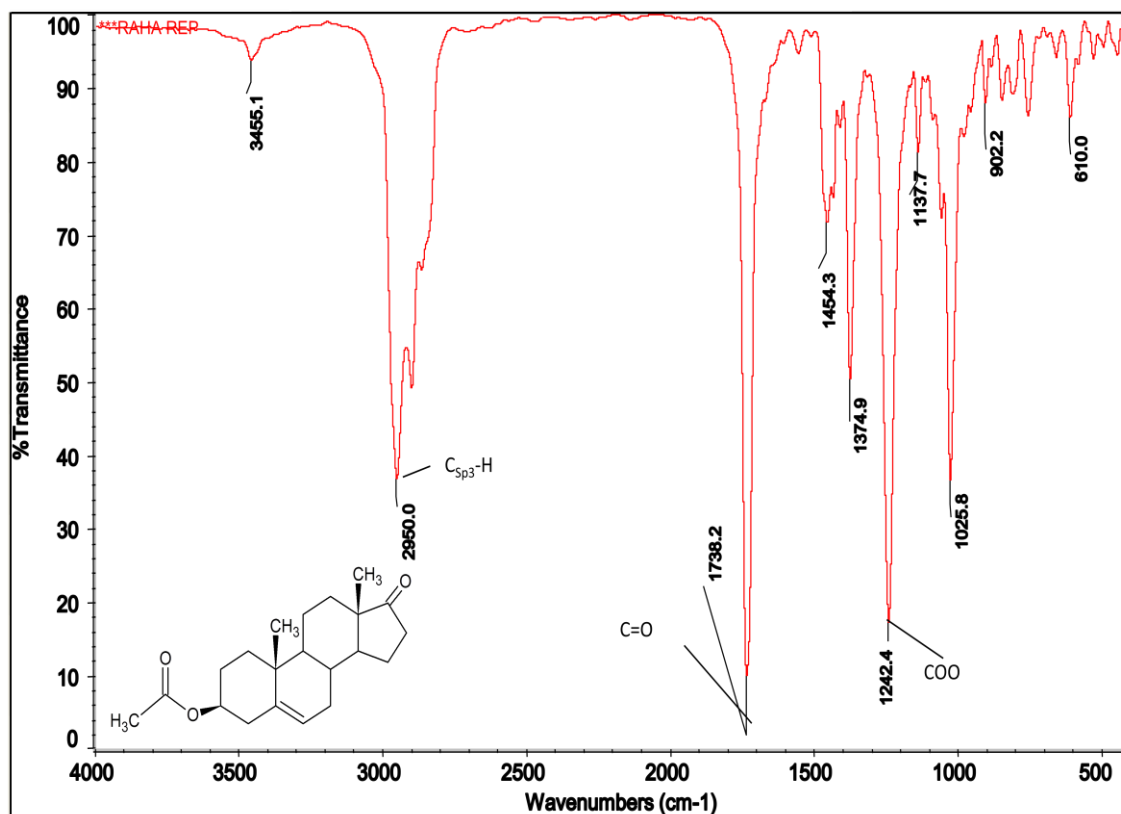
- ✓ Para la obtención de altos rendimientos en la cetalización de la Dehidroepiandrosterona, se puede emplear etilortoformiato comercial en medio ácido.

- ✓ El orden de reacción en el caso de la Testosterona sería:
 1. Formación de la hidrazona empleando hidracina en etanol.
 2. Esterificación del grupo oxidrilo.
 3. Hidroboración-Oxidación.

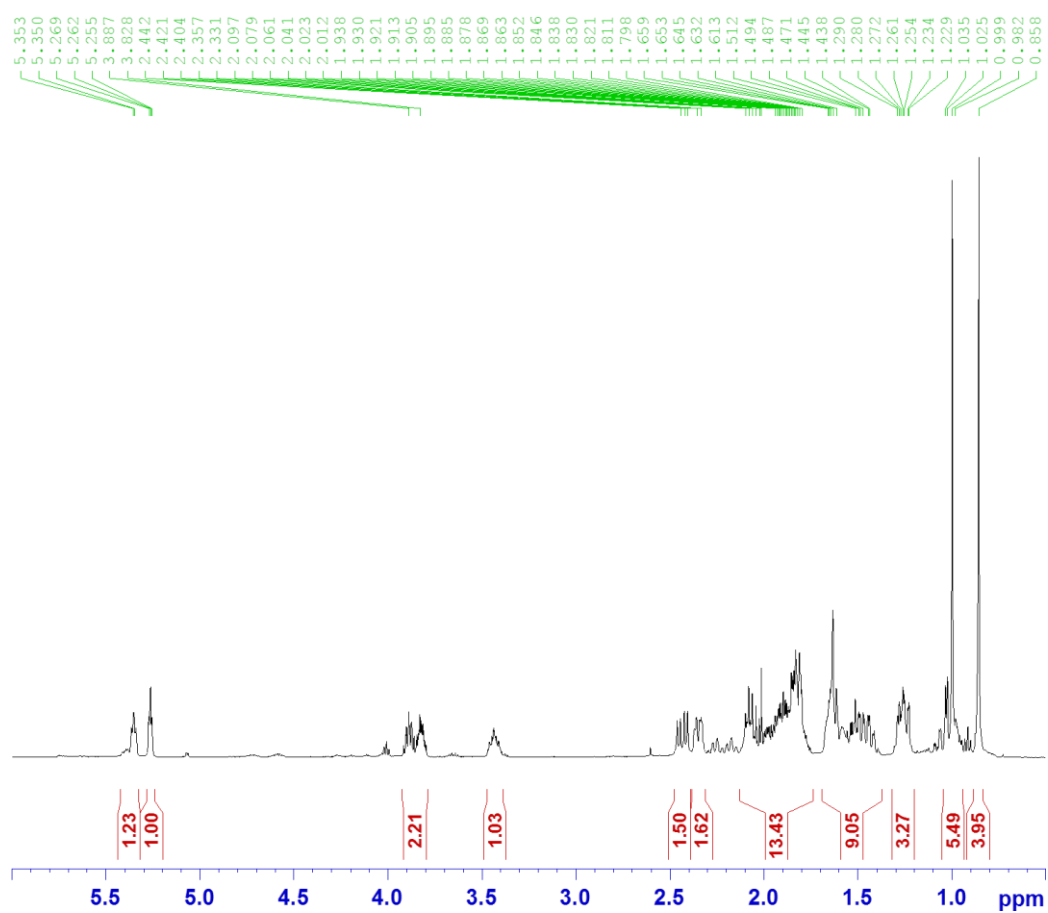
- ✓ Para obtener mejor rendimiento en el proceso de Hidroboración, se podría emplear diborano comercial ó modificar el método de producción de diborano, reemplazando el yodo en metanol por trifluoroborano en diglima.

ESPECTROS

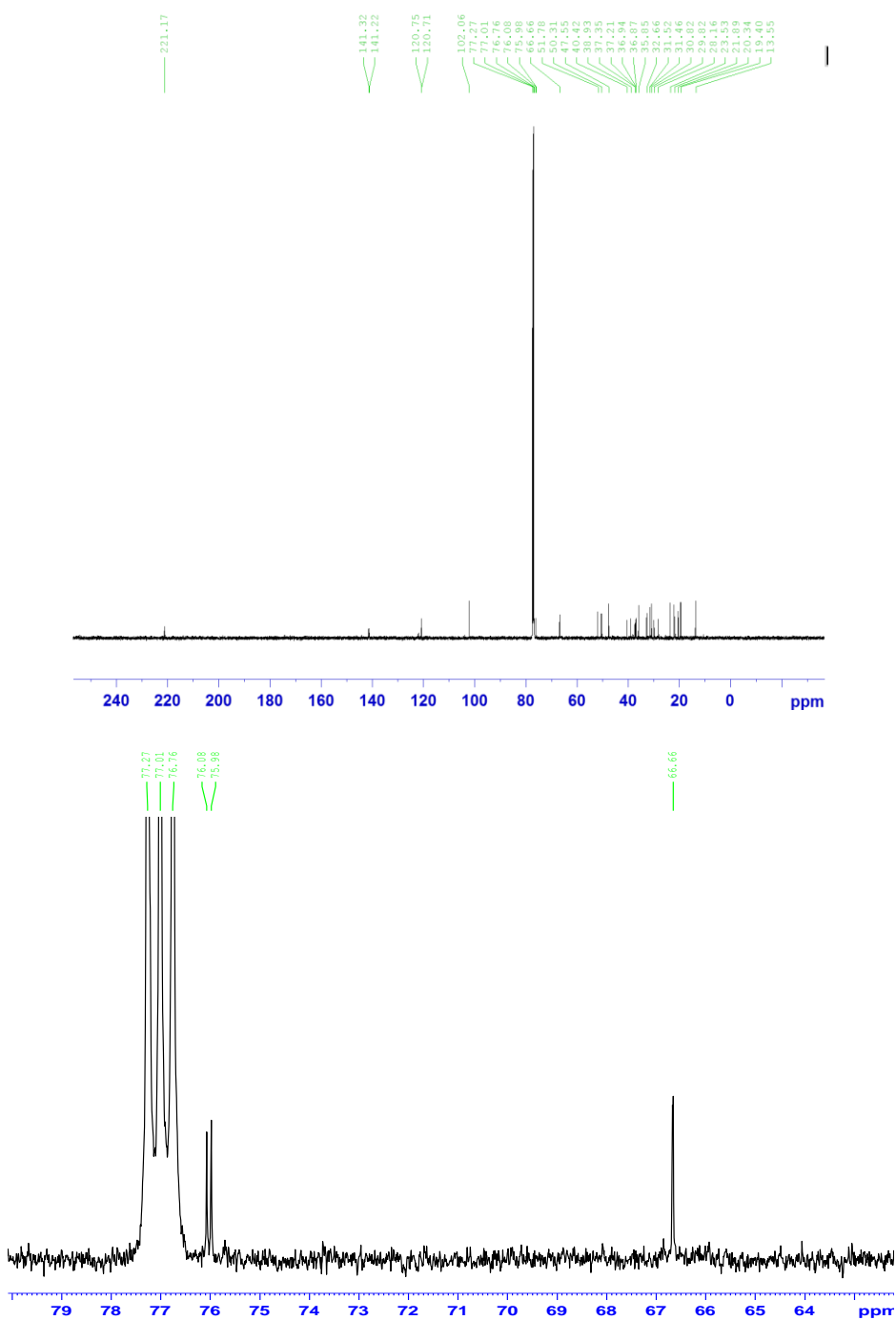
Espectro IR (N°1; CHCl₃) Esterificación de la dehidroepiandrosterona (3β-acetoxi-5-androsten-17-ona). (28)



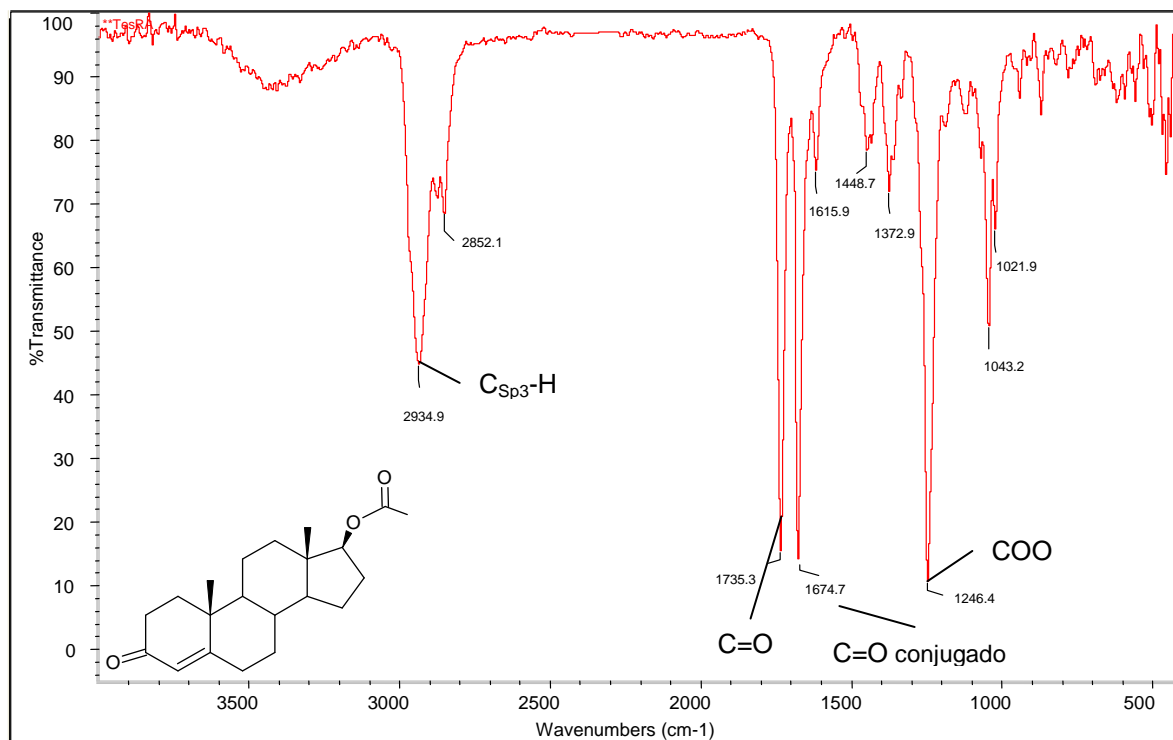
**Espectro $^1\text{H-RMN}(\text{N}^{\circ}2, \text{CDCl}_3)$ Hidroboración-Oxidación de la DHEA protegida
($3\beta,6\xi$ -dihidroxi- 5ξ -androstan-17-ona)**



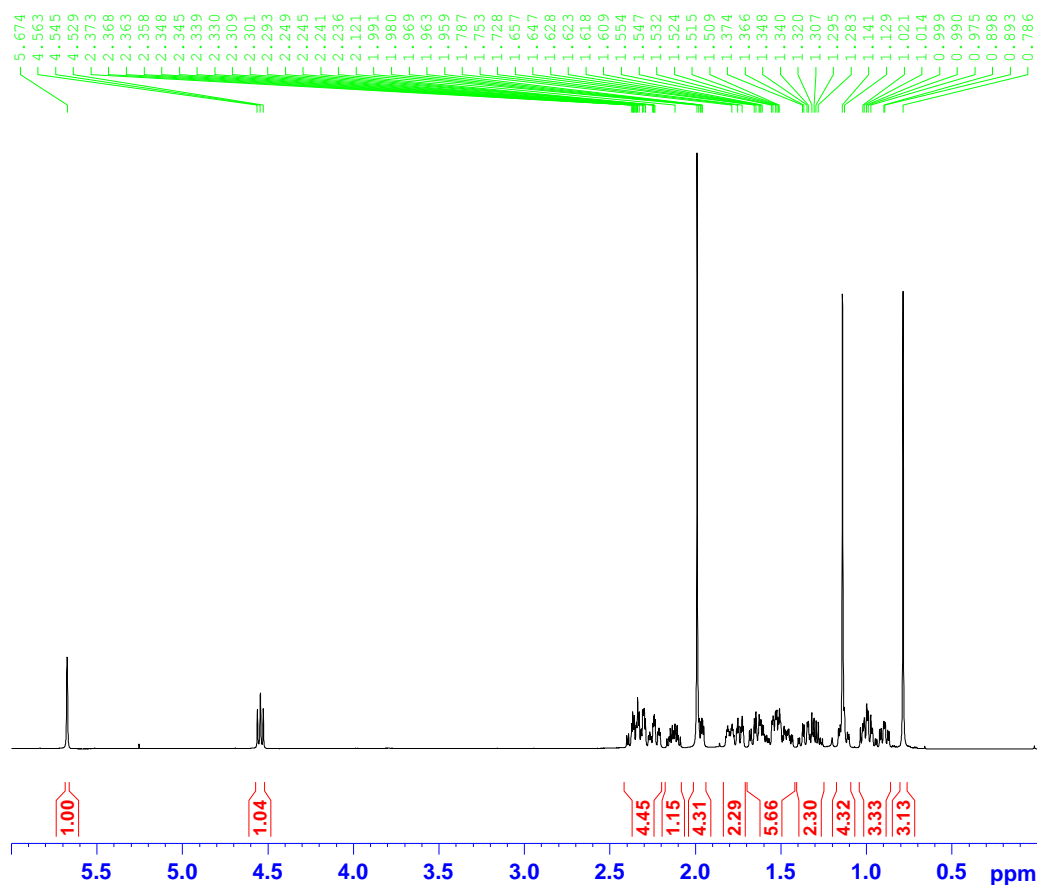
Espectro ^{13}C -RMN (N $^{\circ}$ 3, CDCl_3) Hidroboración-Oxidación de la DHEA protegida (3 β ,6 ξ -dihidroxi-5 ξ -androstan-17-ona)



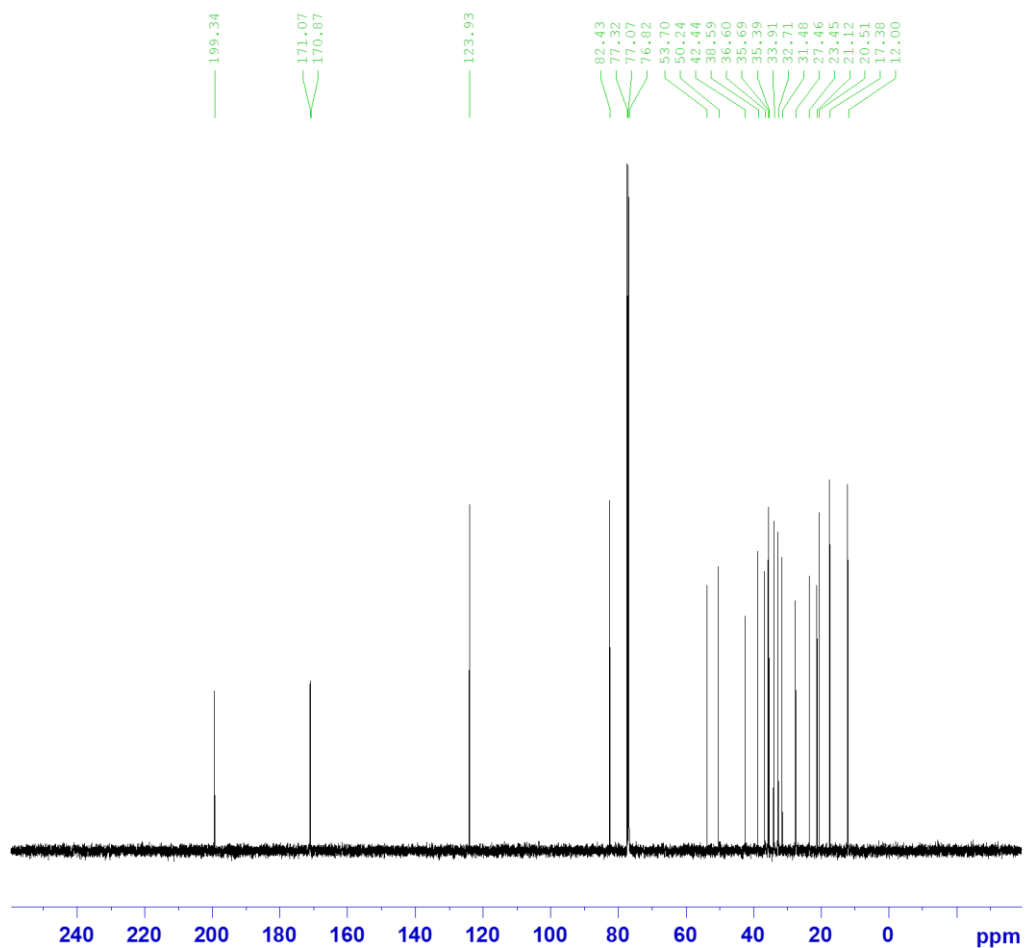
Espectro IR(N°4, CHCl₃) Esterificación de la testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona).



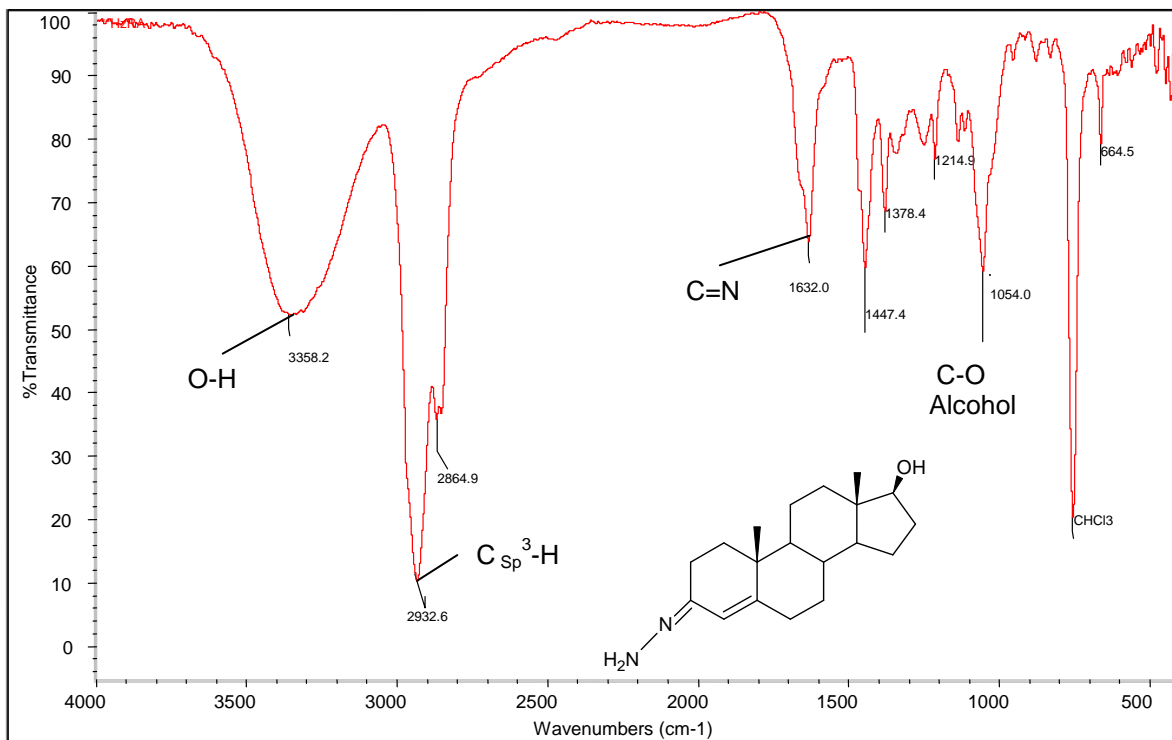
Espectro $^1\text{H-RMN}$ (N°5, CDCl_3) Esterificación de la Testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona)



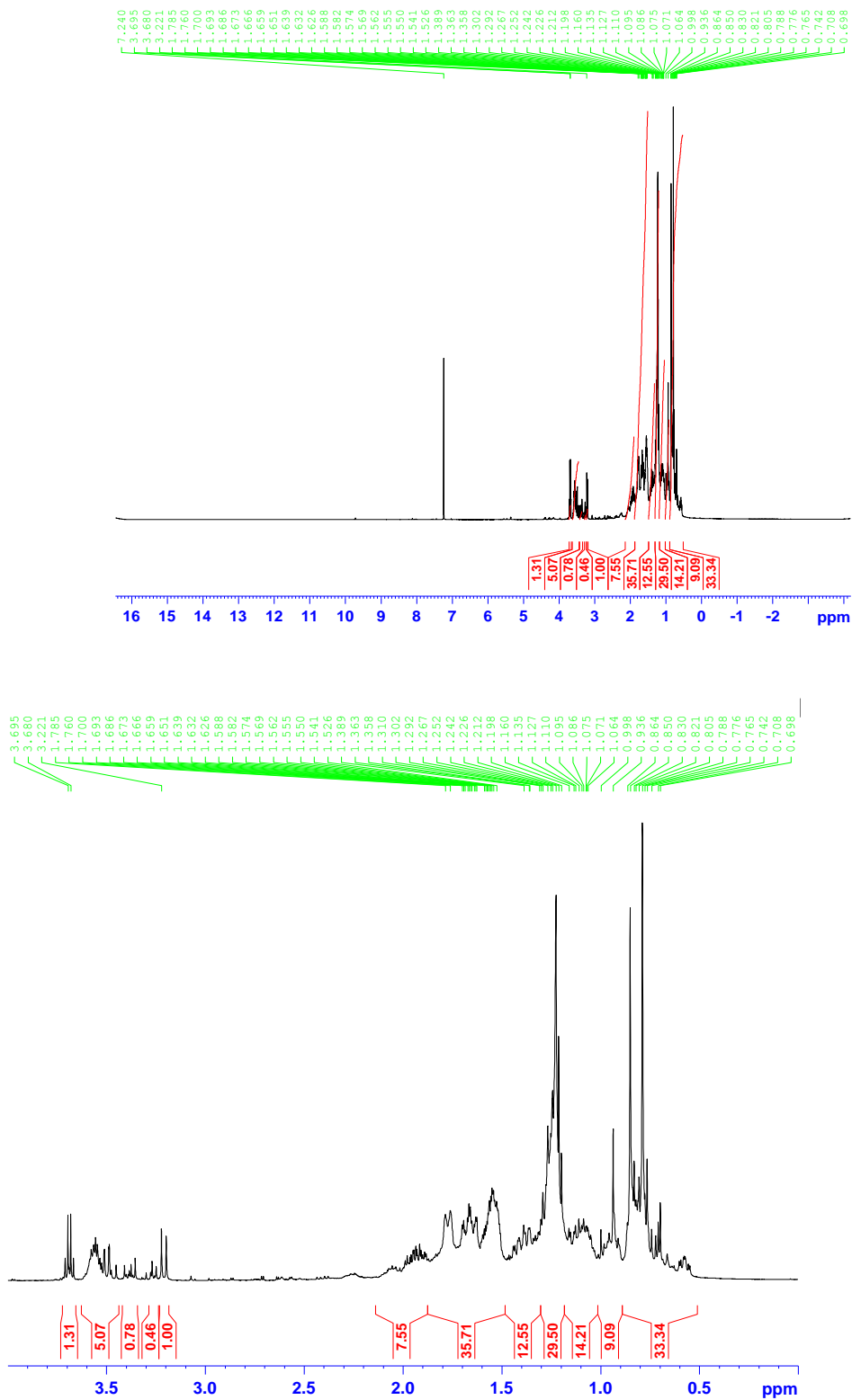
Espectro ^{13}C -RMN (N°6, CDCl_3) Esterificación de la Testosterona (17β acetoxi-4-androsten-3-ona)



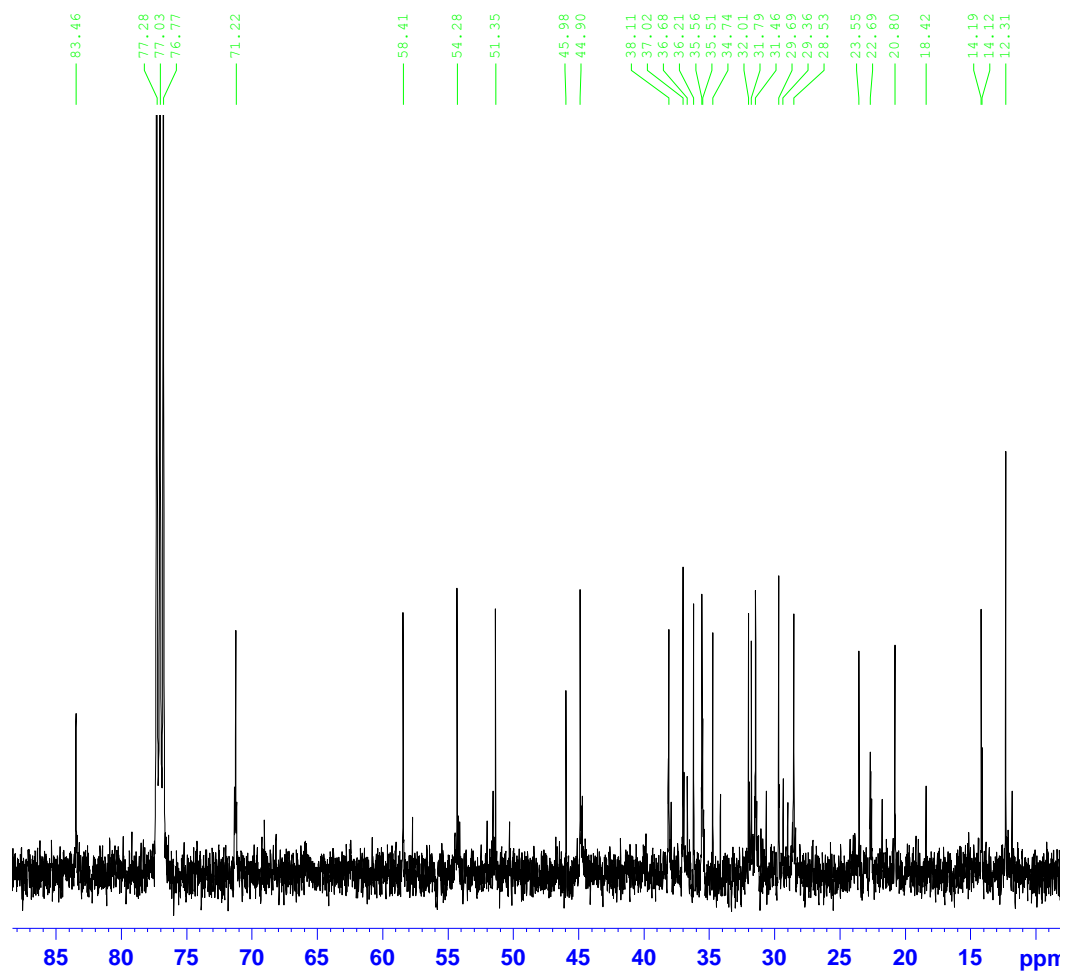
EspectroIR (N°7, CHCl₃) Formación de la Hidrazona



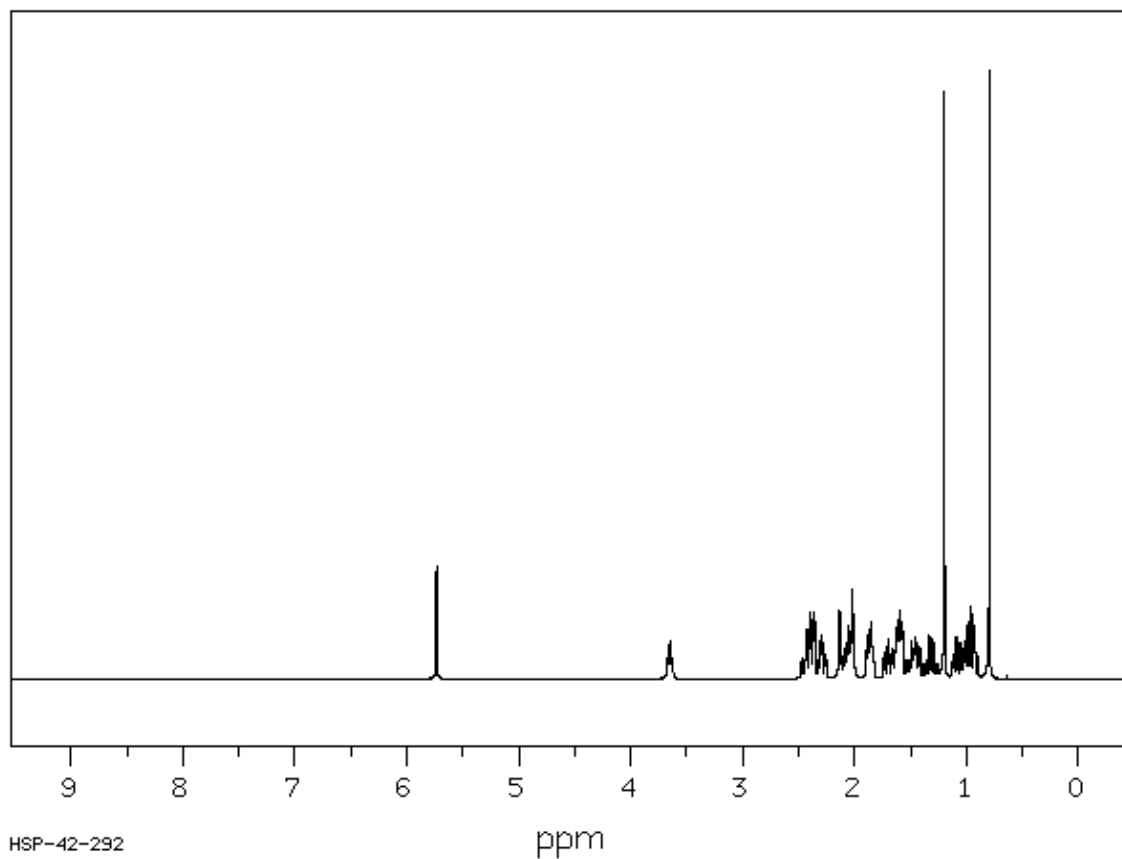
Espectro¹H-RMN (N°8, CDCl₃) Desplazamientos Químicos de Hidroboración-Oxidación de la testosterona protegida (4ξ,17β-dihidroxi-5ξ-androstano)



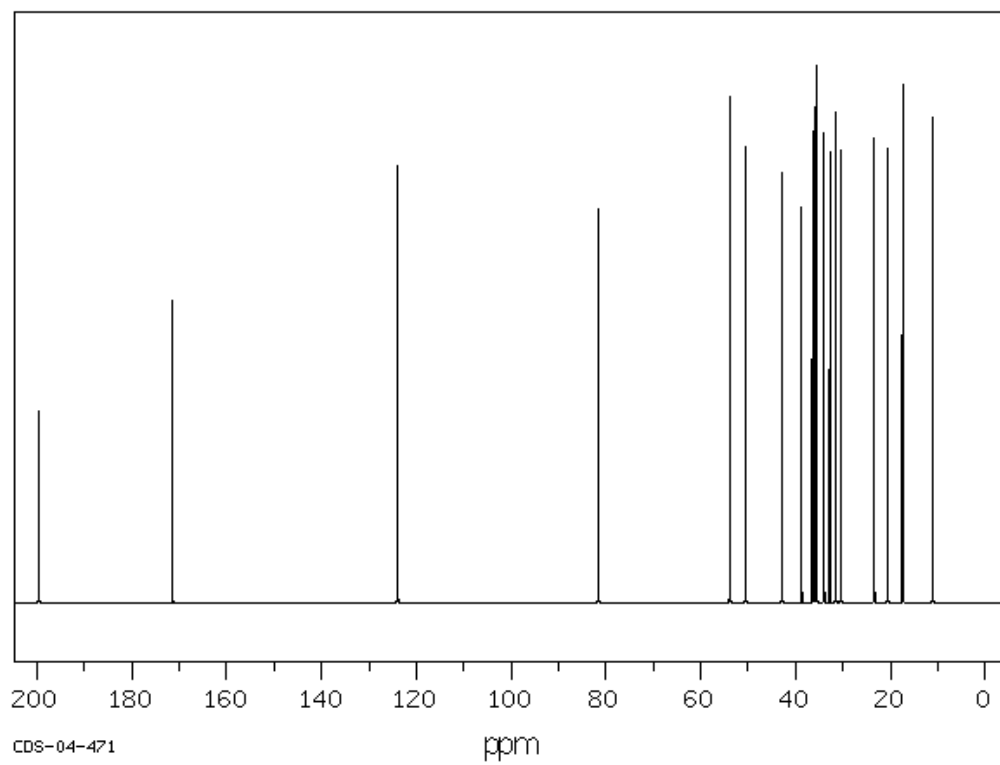
Espectro ^{13}C -RMN (N 9, CDCl_3) Hidroboración-Oxidación de la testosterona protegida (4 ξ ,17 β -dihidroxi-5 ξ -androstando).

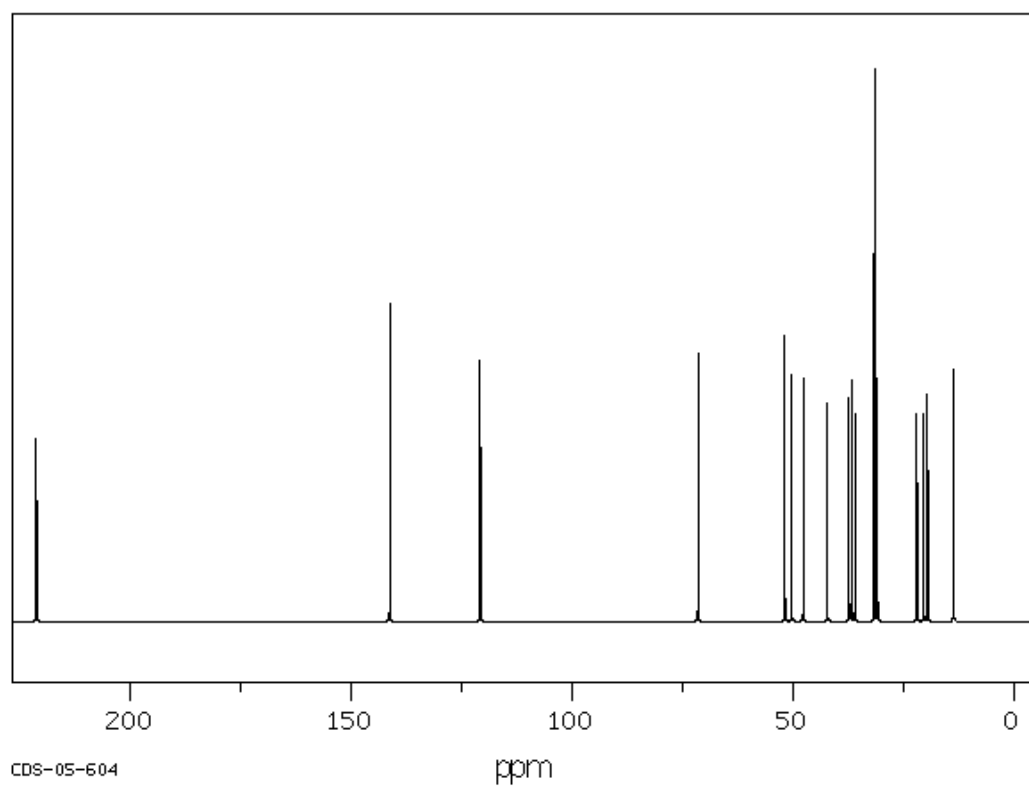


Espectro $^1\text{H-RMN}$ (N°10, CDCl_3) Testosterona reportada²⁶.



Espectro ^{13}C -RMN (N°11, CDCl_3) Testosterona reportada²⁶.



Espectro ^{13}C -RMN (N°12, CDCl_3) Dehidroepiandrosterona reportada²⁶

8. BIBLIOGRAFIA.

- [1]. Dewick. Paul M. **Medicinal Natural Product**. 2^{da} Edición, 167-284, Inglaterra (2002).
- [2] Marcano, D y Hasegawa M, **Fitoquímica**. 1^{era} Edición, 248-249, Caracas-Venezuela. (1991).
- [3] Neacato, Pablo. **Síntesis de derivados de androstanos como posibles agentes antivirales**. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, UCV (2007)
- [4]. Martínez, M y Avellaneda A. **Enfermedades Raras, un enfoque práctico**. 1^{era} Edición, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III y Ministerio de Sanidad y Consumo de España, 25-27, España (2004).
- [5] ASCOFAME ISS. **Guía de práctica clínica basada en la evidencia. Dengue y fiebre amarilla**, 10, 39, Colombia (1998).
- [6]. Martínez, M y Avellaneda A. **Enfermedades Raras, un enfoque práctico**. 1^{era} Edición, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III y Ministerio de Sanidad y Consumo de España, 23-47, España (2004).
- [7]. Carey, Francia A. **Química Orgánica**. Sexta edición, 257-262. México (2006).

[8]. Hebert C. Brown. **Hydroboration a powerful synthetic tool**, Tetrahedron Vol 12, 117-138, (1961).

[9]. Diborano. Pag Web: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts181.html. Consultado el 01 de Febrero de 2011.

[10]. Fried, Edwards. **Organic reactions in steroid Chemistry**, Van Nostrand reinhold company; Vol I, 89-91, (1972).

[11]. Antonio M. Barriola, Zélideth Láser y Carlos Báez. **Fotoquímica láser IR en mezclas de diborano y tricloruro de boro Scientific Journal** from the Experimental Faculty of Sciences, Volumen 7, N° 1, 57-64, Venezuela (1999).

[12]. Reacción Wolff-Kishner. Pag web. <http://es.scribd.com/doc/44575478/REACCION-DE-WOLFF>. Consultado el 27 de mayo de 2011.

[13] G. Lock and K. Stach. **Preparation of hydrazones acetophenone hydrazone**, Ber. Dtsch. Chem. Ges., 77, 293 (1944).

[14]. H.C. Brown y P.A Tierney. **The reaction of Lewis acids of boron with sodium hydride and borohiride**, J. Amer. Chem. Soc. 80, 1552, (1958).

[15]. **Wechter, W. J.** Stereoselective cis-non-Markownikoff hydration of steroid double bonds, Chem. & Ind. 294 (1959).

[16]. F. Sondheimer y M. Nussim **New synthesis of 11-oxygenated steroids**, Chem. & Ind. 400 (1960).

[17]. F. Sondheimer y M. Nussim. **Hydration of steroidal 1,2-Disubstituted ethylenes**, J. Org. Chem. 26, 630 (1961).

[18]. Alfred Hassner y Conrad Piliar, **Stereochemistry of Hydroboration**, J Org Chem, 27(8), 2914 – 2915, (1962).

[19]. L. Caglioti, G. Cainelli, G. Maina y A. Selva, **A new Synthesis of androsterone and 19-norandrosterone**, Tetrahedron, Vol 20, 957-961, (1964).

[20]. M. Nussim, Y. Mazur y F. Sondheimer, **The hydration of unsaturated steroids by the Brown Hydroboration reaction. I monounsaturated steroids**, J. Org. Chem, 29, 1120, (1964).

[21]. Marcano, D y Cortes, L. **Química Orgánica**. 2° Edición. Ediciones del Vicerrectorado Académico CODEPRE – Universidad de Los Andes, Mérida – Venezuela. Cap. XII, P816; y demás capítulos. (2004)

[22]. Hassner, Ronal E. Barnett, P. Catsoulacos, y S.H. Wilen. **Hydroboration of Enol Acetates**, J. Am. Chem Soc, 91(10), 2632-2636, (1969).

[23]. Dolle, C. Hetru y B. Luu. **A new route to precursors of ecdysteroids using a region- and stereoselective hydroboration**, Tetrahedron, Vol 47, N°34, 7059-7066, (1991).

[24] Paz, Dayana. **Estudio de catalizadores en reacciones de esterificación de androstanos como intermediarios clave en la incorporación de cadenas laterales**. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, UCV (2012).

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

[26] Espectro de desplazamiento químico ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de la DHEA y Testosterona, Pagina web: http://sdb.sriodb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi. Consultado el 27 de abril de 2013.

[27] Marcano, D. **D-Homoesteroides, Síntesis y propiedades** (Trabajo de Ascenso a profesor Titular), Facultad de Ciencias, UCV, 23,66-67 (1979).