129

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## FACULTAD DE QUIMICA

# SINTESIS DE 16β-FENIL-17β-METIL-17α-VALEROILOXI-D-HOMOPREGNA-4,6-DIEN-3,17a-DIONA COMO UN ANTIANDROGENO.

297662

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

*QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO*

P R E S E N T A:

RICARDO DAVID ROSALES VARELA.

MEXICO, D.F. 2001

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**
**Tesis Digitales**
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## JURADO ASIGNADO

| | |
|---|---|
| **PRESIDENTE:** | PROF EUGENE ATHANAS BRATOEFF TITEFF |
| **VOCAL:** | PROF. JAIME MEDINA OROPEZA. |
| **SECRETARIO:** | PROF. ANDRÉS GUILLERMO MARTÍNEZ CASAS. |
| **1er. SUPLENTE:** | PROF. LUCIA HERNÁNDEZ GARCIADIEGO. |
| **2do. SUPLENTE:** | PROF. LINO JOEL REYES TREJO. |

## SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Departamento de Farmacia. Edificio E. Lab-125
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Química, U.N.A.M.

**ASESOR:**

Dr. Eugene A. Bratoeff Tittef

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

M. en C. Elena G. Ramírez López

**SUSTENTANTE:**

Ricardo David Rosales Varela

RICARDO D. ROSALES V.

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Eugene A. Bratoeff que con sus valiosos conocimientos, dedicación y paciencia llevó a cabo la dirección de ésta tesis.

A la M. en C. Elena G. Ramírez López que con su invaluable apoyo, amistad y valiosos conocimientos supervisó el trabajo experimental durante el desarrollo de la presente tesis.

Al USAI por la realización de la espectroscopía de UV, IR, RMN $^{1}H$, RMN $^{13}C$ y la espectrometría de masas, en especial a las profesoras Marisela Gutiérrez, Margarita Guzmán, Georgina Duarte y Rosa Isela del Villar.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) que a través del proyecto IN 204198 otorgó el soporte financiero para la realización de este trabajo.

A la Doctora Marisa Cabeza por su valioso apoyo en la determinación de la actividad biológica de los compuestos sintetizados.

A los Profesores integrantes del jurado: Dr. Eugene A. Bratoeff Titeff, Prof. Jaime Medina Oropeza y Prof. Andrés Guillermo Martínez Casas por llevar a cabo la revisión de ésta tesis, así como por los comentarios y sugerencias hechos a éste trabajo.

**DEDICATORIAS:**

**A mis queridos padres Emma Varela de Rosales y Miguel Rosales Cancino por brindarme su amor y su apoyo siempre en todos los aspectos, sin importar sus sacrificios.**

**A mis hermanos Julio César, Lilia Alejandra y Emma. Por apoyarme en todo momento y creer en mí siempre.**

**A la M. en C. Elenita Ramírez López quien siempre me ha apoyado, brindándome su valiosa amistad y sus grandes conocimientos. Gracias por todo.**

**A la Sra. María Elena Ramírez y al Arq. José Luis Arredondo. Por su amistad incondicional, mil gracias.**

**A todos mis compañeros de la Facultad de Química, en especial a José Mendoza B., Vladimir J. Vidaure G. y Héctor M. Cruz M. Gracias por su amistad.**

**A mis compañeros del Laboratorio 125 de Farmacia: Diana Montes, Dra. Isabel Aguilar, Jorge Calleros, Ángel Cruz, Olmo Cabrera, M. en C. Eugenio Flores, Roberto Castro y Andrés Venegas. Por ser un equipo de trabajo tan agradable.**

ÍNDICE.


| CONTENIDO | PÁGINA |
|---|---|
| **ÍNDICE** | 1 |
| **CAPÍTULO 1.** INTRODUCCIÓN | 3 |
| **CAPÍTULO 2.** ANTECEDENTES | 6 |
| 2.1 Andrógenos. | 7 |
| FIGURA 1. Liberación de testosterona en el organismo. | 8 |
| FIGURA 2. Biogénesis de la testosterona en el organismo. | 9 |
| 2.2 Enzima 5α-reductasa | 9 |
| FIGURA 3. Mecanismo de acción de la enzima 5α-reductasa. | 10 |
| 2.3 Cáncer de próstata, métodos de diagnóstico. | 11 |
| 2.4 Tratamiento. | 12 |
| 2.4.1 Antiandrógenos. | 12 |
| FIGURA 4. Ejemplos de Antiandrógenos. | 14 |
| **CAPÍTULO 3.** OBJETIVOS | 17 |
| **CAPÍTULO 4.** PARTE EXPERIMENTAL | 19 |
| FIGURA 5. Ruta general de síntesis. | 20 |
| ETAPA I. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN. | 22 |
| 4.1 Purificación y caracterización de la materia prima (**I**). Acetato de 16-dehidropregnenolona o 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. | 22 |
| TABLA 1. Propiedades físicas y espectroscópicas de la materia prima 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (**I**). | 22 |
| 4.2 Síntesis del derivado (**II**): 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona. | 23 |
| TABLA 2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (**II**). | 24 |
| 4.3 Síntesis del derivado (**III**):3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona. | 24 |
| TABLA 3.Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (**III**). | 25 |
| 4.4 Síntesis del derivado (**IV**): 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno. | 25 |
| TABLA 4.Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno (**IV**). | 26 |
| 4.5 Síntesis del derivado (**V**): 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno. | 27 |
| TABLA 5.Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | 27 |
| 4.6 Síntesis del derivado (**VI**):3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnadien-17a-ona. | 29 |
| TABLA 6. Propiedades físicas y espectroscópicas de ):3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnadien-17a-ona (**VI**). | 29 |

| | |
|---|---|
| 4.7 Síntesis del derivado (**VII**):16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona | 31 |
| TABLA 7. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**VII**). | 31 |
| 4 8 Síntesis del derivado (**VIII**)· 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona | 33 |
| TABLA 8. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**) | 34 |
| ETAPA II. PARTE BIOLÓGICA: Evaluación de la actividad antiandrogénica. | 36 |
| 4.9 Prueba de las vesículas seminales. | 36 |
| TABLA 9. Efecto del esteroide sobre el peso de las vesículas seminales. | 37 |
| FIGURA 6. Efecto antiandrogénico del esteroide sobre el peso de las vesículas seminales. | 37 |
| 4.10 Actividad antiandrogénica en los órganos flanco. | 38 |
| TABLA 10. Efecto del esteroide sobre el crecimiento del diámetro de los órganos flanco. | 38 |
| FIGURA 7. Inhibición del crecimiento del diámero de los órganos flanco. | 39 |
| **CAPÍTULO 5.** DISCUSIÓN DE RESULTADOS. | 40 |
| 5.1 PARTE QUÍMICA: Síntesis y caracterización. | 41 |
| 5.2 PARTE BIOLÓGICA. | 54 |
| 5.2.1Efecto del esteroide sobre el peso de las vesículas seminales. | 54 |
| 5.2.2 Efecto del esteroide sobre en la inhibición del crecimiento de los órganos flanco. | 55 |
| **CAPÍTULO 6.** CONCLUSIONES. | 57 |
| **CAPÍTULO 7.** BIBLIOGRAFÍA. | 59 |
| **CAPITULO 8**. ANEXO EXPERIMENTAL | 63 |
| Lista de espectros. | 64 |

# 1. INTRODUCCIÓN

Dentro de los padecimientos que afectan a la población masculina de edad avanzada se encuentran la hiperplasia prostática benigna y el cáncer prostático, debido a que la próstata es un órgano susceptible de sufrir aumento de tamaño, y que está relacionado con tumores benignos o malignos y enfermedades de tipo infeccioso. Este órgano está localizado en la pelvis debajo de la vejiga rodeando la porción superior de la uretra, por tal razón, cualquier trastorno ocurrido a la próstata puede obstruir el flujo de orina causando que la micción se torne difícil y dolorosa provocando alteraciones graves en la vejiga, los uréteres y los riñones. En ocasiones el daño es tal que puede producir necrosis renal y un aumento en la susceptibilidad a las infecciones. El agrandamiento de la próstata es un trastorno que presenta uno de cada tres individuos de mas de 60 años de edad, en los que el órgano incrementa su tamaño dos o cuatro veces en relación al tamaño normal.

El cáncer de próstata es la segunda neoplasia mas frecuentemente diagnosticada (seguida por el cáncer de piel) y es la segunda causa de muerte por cáncer en la población masculina. Este mal se extiende primero a los ganglios linfáticos por debajo de la próstata y posteriormente, aparece en huesos y otros órganos, presentando dolor intenso en la pélvis y muslos. La Sociedad Americana de Cáncer estimó 40,000 decesos por año en Estados Unidos[1,2].

El Registro Nacional de Patología en México citó 20,000 casos de éste padecimiento al año, de los cuales mueren 3,000 . Se cree que, aproximadamente, un 20% más de individuos no acuden a las clínicas por falta de información o renuncian al examen diagnóstico por el tacto rectal que se realiza en estos casos.[2]

La hiperplasia prostática benigna, el cáncer de próstata y la alopecia androgénica, entre otros padecimientos, están relacionados con una serie de factores etiológicos en común como la raza , la edad, factores ambientales, la dieta y el factor más importante es un exceso de andrógenos en el organismo [1,3].

El tratamiento más aceptado para el cáncer de próstata es la cirugía (prostatectomía), también existen otras formas disponibles para el tratamiento de ésta enfermedad tales como los antagonistas androgénicos. Actualmente los antiandrógenos son un tratamiento útil para un gran número de enfermedades mediadas por andrógenos entre las cuales se encuentran el acné, alopecia androgénica, pubertad precoz así como las ya mencionadas cáncer de próstata e hiperplasia prostática benigna [4].

# 2. ANTECEDENTES

## 2.1 Andrógenos.

Los andrógenos son una clase de hormonas esteroidales responsables de regular la fisiología sexual en el varón, promoviendo y manteniendo las características sexuales primarias y secundarias. Además, poseen actividad anabólica que causa aceleración del crecimiento esquelético, incremento de la masa muscular así como la pérdida de grasa subcutánea. La Testosterona (T) es el andrógeno predominante en la circulación sanguínea, sin embargo, su metabolito 5α-dihidrotestosterona (DHT) es el andrógeno endógeno más potente.[3]

La producción de T en los testículos y su liberación en el organismo se muestra en la figura 1 (página 8). El hipotálamo secreta la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) que controla la síntesis y liberación de las hormonas de las gónadas, su nombre específico es Factor de Liberación de la Hormona Luteinizante, el cual, estimula la secreción de la Hormona Estimulante de las Células Intersticiales (HSCI) y la Hormona Folículo Estimulante (FSH) en el lóbulo anterior de la hipófisis. El siguiente paso es la producción de testosterona, en los testículos, bajo la influencia de HSCI y HFS por las células intersticiales de Leydig.

Aproximadamente un 95% de la T es producida en los testículos y el 5% es liberada en las glándulas suprarrenales. La T es la hormona sexual masculina predominante en circulación y se encuentra relacionada con el desarrollo, crecimiento y conservación de los órganos genitales masculinos.[1,3]

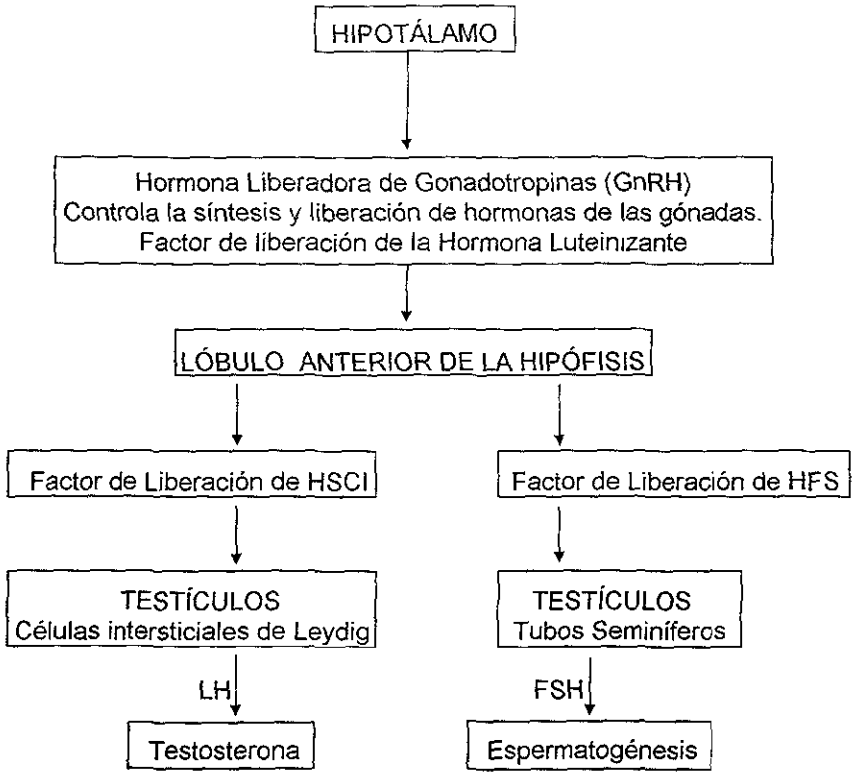



**FIGURA 1. Liberación de testosterona en el organismo.**

La biogénesis de testosterona en el organismo (figura 2, página 9)[3] se lleva a cabo mediante la degradación enzimática parcial de la cadena lateral del colesterol (C-20) dando lugar a la formación de la pregnenolona (**1**) y posteriormente la producción de progesterona (**2**) que es el precursor de la testosterona (**3**).[5,6]

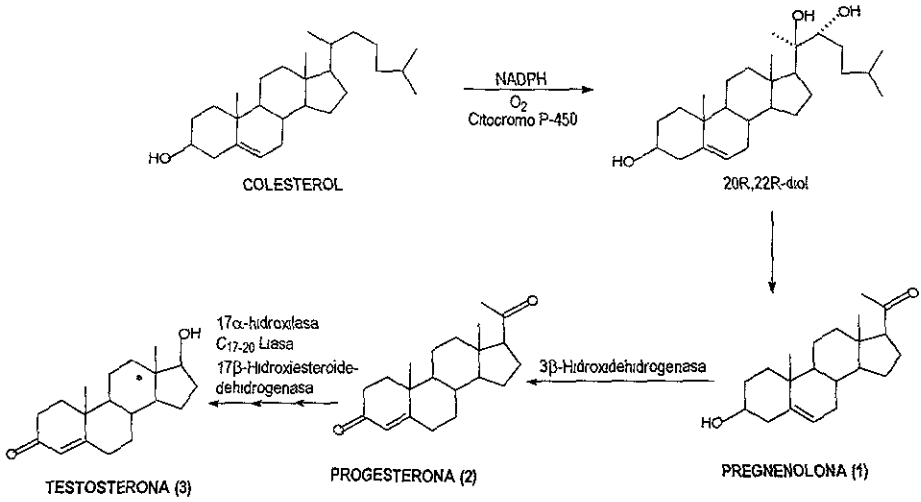



**FIGURA 2. Biogénesis de Testosterona en el organismo.** Reacciones enzimáticas de degradación de la cadena lateral del colesterol que dan origen a la pregnenolona y testosterona. (Tomado de Brueggemier R.W.)

## 2.2 Enzima 5α-reductasa

El cáncer de la próstata y la hiperplasia prostática benigna están relacionados con la transformación de T a su metabolito reducido 5α-dihidrotestosterona (DHT (**4**)) (figura 3, página 10) en presencia de la enzima 5α-reductasa (presente en el citoplasma de las células prostáticas) dependiente del cofactor NADPH (forma reducida de la Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato). El mecanismo de acción para esta transformación consiste en la reducción regio y estereoespecífica por la adición del hidruro del NADPH a la posición 5 de T. El enolato formado en C3-C4 se estabiliza por algún residuo electrofílico ($E^+$) de la enzima 5α-reductasa. Posteriormente, por tautomerismo, se da la formación de la 5α- dihidrotestosterona (DHT) y la liberación de NADPH (figura 3, página 10) [7,8].

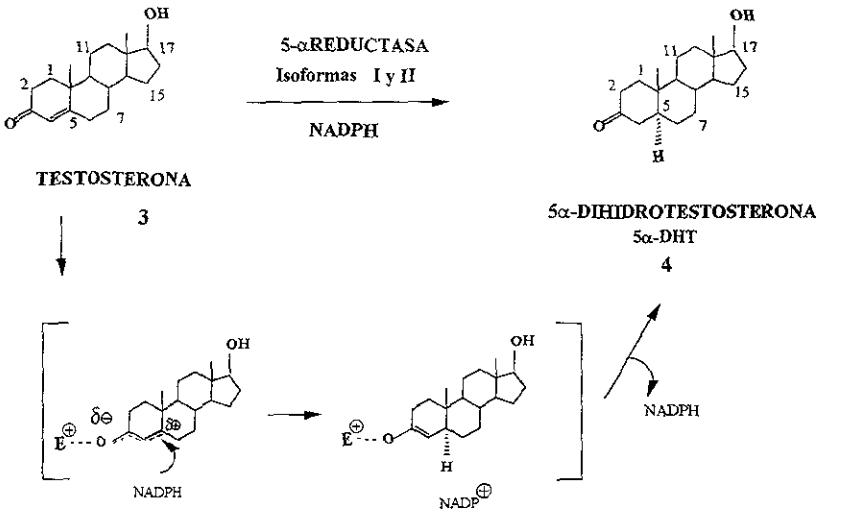



**Figura 3. Mecanismo de Acción de la Enzima 5α-Reductasa.**

La enzima 5α-reductasa se encuentra en dos isoformas denominadas Tipo I y Tipo II; las cuales difieren en sus propiedades bioquímicas, tejido de localización y su función[3,7,8]. La isoenzima 5α-reductasa Tipo I se encuentra predominantemente en la piel no genital y en el hígado, tiene un pH óptimo ligeramente alcalino (pH=6-8.5), requiere de concentraciones elevadas de T para saturarse (Km=3μM), funcionando de un modo catabólico en la remoción de andrógenos por el hígado y la piel no genital. La isoenzima 5α-reductasa Tipo II tiene un pH óptimo ácido (pH=5) y requiere de concentraciones bajas de T para saturarse (Km=0.5μM). Se encuentra presente predominantemente en la próstata y testículos relacionándose directamente al cáncer de próstata y a la hiperplasia prostática benigna; funciona de manera anabólica en la expresión de los andrógenos por la conversión efectiva de T a DHT. [3,9-11] También se menciona

la relación inversa que presenta la actividad de las dos isoenzimas frente a un mismo tipo de inhibidor, pues mientras un compuesto resulta ser muy activo sobre la isoenzima Tipo II, en la mayoría de los casos es poco activo sobre la isoenzima Tipo I. Por ejemplo, en la figura 4 (página 14) se muestra la estructura de la finasterida (**12**) considerada como un potente inhibidor de la enzima 5α-reductasa y que presenta alta actividad sobre la isoenzima Tipo II y el efecto contrario sobre la isoenzima Tipo I.[3]

**2.3 Cáncer de próstata, métodos de diagnóstico.**

El cáncer de próstata es un padecimiento que se origina cuando los eventos que regulan el ciclo celular se encuentran desrregulados por diversos factores, promoviendo un crecimiento inadecuado de la glándula prostática. Dentro de los signos y síntomas que caracterizan este mal son: flujo de orina lento o interrumpido, frecuente necesidad de orinar y dolor pélvico o en la espalda. Estos síntomas se deben precisamente al agrandamiento de la próstata ocasionando una obstrucción de el paso de la orina por la uretra.

El diagnóstico por tacto rectal consiste en detectar mecánicamente tumores en la glándula prostática, sin embargo solo se identifican tumores no microscópicos. Otro método de diagnóstico es la prueba del Antígeno Prostático Específico (PSA) en Sangre (80% de sensibilidad); el PSA es una glucoproteína producida por las células epiteliales de la próstata tanto en estado normal como maligno, pero cuando se presenta cáncer su concentración es mayor de 4 ng/mL en sangre. Actualmente, también se utiliza una modificación al método del PSA, que consiste

en dividir su concentración entre el volumen de la glándula prostática, determinado por ultrasonografía transrectal. La diagnosis definitiva se realiza a través de una biopsia que nos permite determinar la etapa del padecimento[2].

**2.4 Tratamiento.**

Algunos de los métodos disponibles para el tratamiento del cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna, son la prostatectomía, la orquiectomía bilateral (extirpación de testículos en donde se sintetiza el 95% de la T endógena), tratamientos con láser como el ILC (Interstitial Laser Coagulation), terapias con microondas como TUMT (Transurethral Microwave Therapy of the Prostate) y las terapias hormonales utilizando agonistas androgénicos (agentes esteroídales y no esteroidales), que actúan al reducir o modificar la producción de andrógenos a través de la inhibición de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante o por la inhibición de la enzima 5α-reductasa responsable de la conversión de T a DHT, o bien con la competencia antagonista por el receptor androgénico, entre otros métodos. La elección de la terapia es influida por la etapa de la enfermedad en que se encuentre el individuo, así como la edad, condición física y respuesta al tratamiento.[2,12]

**2.4.1 Antiandrógenos.**

Actualmente, el desarrollo de agentes hormonales antiandrogénicos se ha enfatizado debido a su amplia utilidad en la terapia médica, pues se emplean en el tratamiento del cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, hipersexualidad en el hombre, pubertad precoz en niños, virilización en la mujer,

alopecia androgénica, en el tratamiento del acné y como anticonceptivos en el hombre. [3, 11] Un compuesto antiandrogénico es aquel que antagoniza los efectos de la testosterona en los órganos o tejidos sensibles a los andrógenos. El efecto inhibitorio de los agentes antiandrogénicos debe diferenciarse de los compuestos que disminuyen la síntesis o liberación de gonadotropinas del hipotálamo y la hipófisis. Existen sustancias como los estrógenos que son antagonistas de los andrógenos, pero no son considerados como antiandrógenos. Estos compuestos, como el Dietilestilbestrol (**6**) (figura 4, página 14), ejercen su acción a nivel gonadotrópico. Los antiandrógenos pueden ser de origen natural como la progesterona (**2**) (figura 2, página 9), o bien de origen sintético (esteroidal y no esteroidal). Los antiandrógenos esteroidales son los de mayor interés terapéutico, en especial los derivados de la progesterona, por ser homólogos de los esteroides de origen natural. Dentro de los compuestos de tipo esteroidal se encuentran el Acetato de Ciproterona (**11**), Finasterida (Proscar) (**12**), Acetato de osaterona (**13**), Oxendolona (**14**), Epristerida (**15**), y Caproato de gestonorona (**16**). Entre los antiandrógenos de tipo no esteroidal se encuentran los siguientes: Flutamida (**5**), Bifluranol (**7**), Tamsulosina (**8**), Mepartricina (**9**), Terazosina (**10**). Los compuestos antes mencionados se presentan en la figura 4 (página 14). [2,3,13] No obstante la gran importancia de los antiandrógenos en la terapia médica, su uso es restringido debido a los efectos colaterales que generalmente ocasionan, como diarrea, intolerancia al alcohol, efectos hepatotóxicos severos, alteraciones hormonales, fallas cardiacas, retención de líquidos y pérdida del deseo sexual, entre otras.

ANTIANDRÓGENOS

NO ESTEROIDALES

ESTEROIDALES

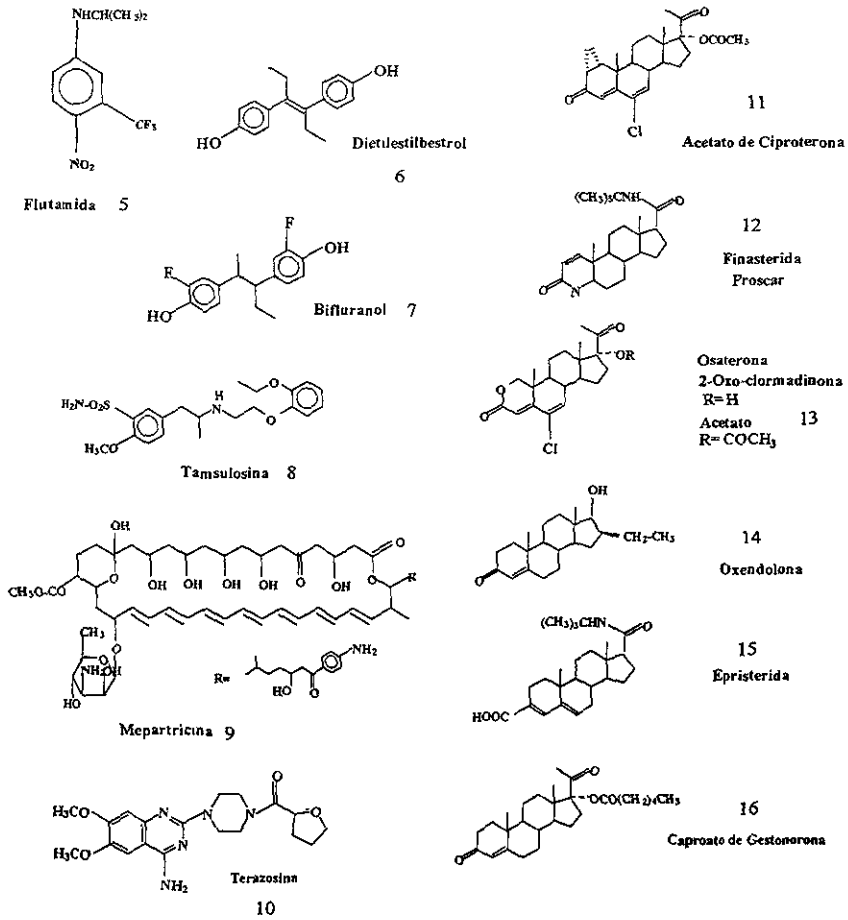



**FIGURA 4. Ejemplos de Antiandrógenos.**

Los efectos nocivos provocados por estos fármacos constituyen un factor que estimula el esfuerzo para buscar nuevas entidades químicas con mayor potencia antiandrogénica y menores efectos colaterales.[2,3,9]

Para la síntesis de nuevos antiandrógenos, se pueden seguir dos vías:

1. Modificación de la molécula de testosterona (**3**) (figura 2, página 9) para eliminar efectos androgénicos y anabólicos de esta hormona).

2. Modificar la molécula de progesterona (**2**) (figura 2, página 9), que es un antiandrógeno natural para eliminar el efecto anabólico y aumentar el efecto antiandrogénico

La modificación de la molécula de progesterona resulta atractiva para obtener un derivado esteroidal con posible actividad antiandrogénica que presente además baja actividad hormonal, baja toxicidad y no disminuya el deseo sexual. [2, 3, 5] En años recientes se han sintetizado, en nuestro laboratorio bajo la dirección del Dr. Bratoeff, varias moléculas esteroidales derivadas de la progesterona con actividad antiandrogénica.[14-20] Entre los compuestos sintetizados recientemente se encuentran los siguientes derivados del D-homopregnano (donde el anillo D cuenta con seis miembros): 17α-Benzoiloxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona, 17α-Benzoiloxi-6α,7α-epoxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4-pregnen-3,17a-diona, 17α-Benzoiloxi-6-bromo-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona y 17α-Benzoiloxi-6-cloro-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona.[22] Estos compuestos presentaron una actividad antiandrogénica considerable frente a la Finasterida (Proscar) (**12**) (figura 4, página 14), que es el fármaco inhibidor más potente frente la enzima 5α-reductasa comercializado actualmente.

Con base a estudios de relación estructura-actividad realazados en derivados de la progesterona se estableció una relación empírica entre el carácter antiandrogénico de cada molécula y su estructura. Tomando en consideración esta relación se plantean enseguida los requerimientos estructurales para el diseño de un nuevo fármaco antiandrogénico basado en la molécula de progesterona.

1.-La presencia del sistema conjugado 4, 6-dien-3-ona en la molécula.

2.-Introducción de un grupo electronegativo y voluminoso en C-17 (esterificación).

3.- Presencia de un grupo fenilo beta orientado en C-16 para evitar la hidrólisis enzimática del grupo éster en C-17 [22]

Para la síntesis de la molécula planteada en éste trabajo, 16β-fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona, se consideró la relación estructura-actividad mencionada anteriormente y el mecanismo de acción del fármaco.

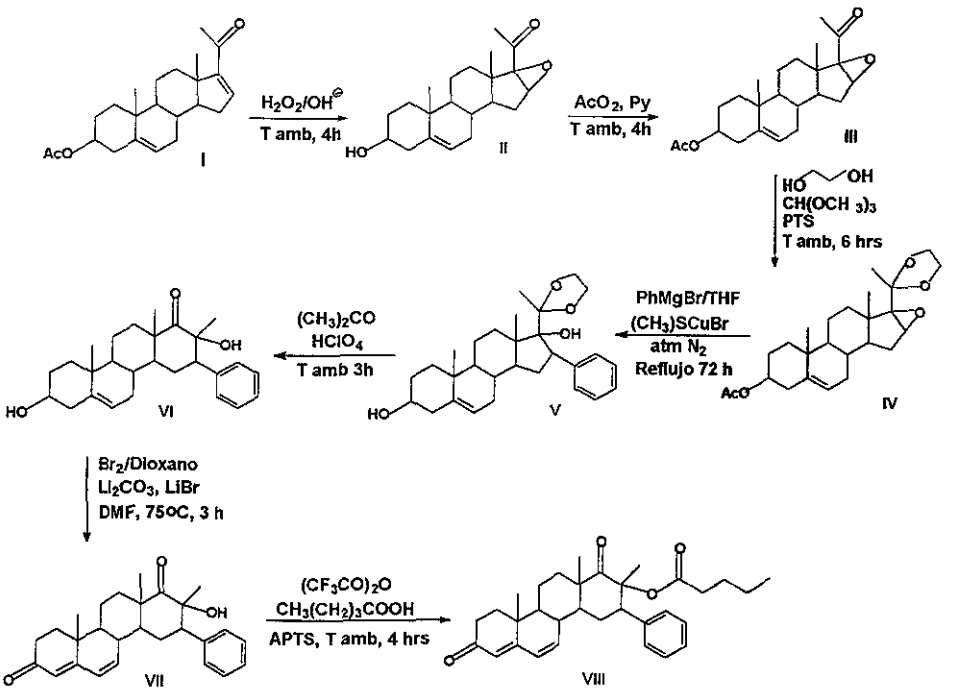
## 3. OBJETIVOS

Con base a los estudios de Relación Estructura Química-Actividad Biológica de una serie de derivados del pregnano sintetizados en nuestro laboratorio se ha encontrado que se necesitan diversos requerimientos estructurales necesarios para que una molécula presente actividad antiandrogénica, por lo que en este trabajo se propone:

- La síntesis de un derivado del D-Homopregnano: 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**), como un compuesto con posible actividad antiandrogénica.
- Purificar y caracterizar el compuesto final e intermediarios mediante el uso de técnicas químicas, cromatográficas y espectroscópicas.
- Realizar una evaluación biológica *in vivo* del compuesto final y algunos intermediarios.
- Comparar la actividad antiandrogénica evaluada del compuesto **VIII** frente a un fármaco antiandrogénico de uso actual: la Finasterida (Proscar (**12**)) (figura 4, página 14).
- También se contempla la optimización del proceso de síntesis para la introducción de un grupo fenilo β-orientado en C-16 y un éster valeroiloxi α-orientado en C-17, para así obtener las características estructurales requeridas en el esqueleto del D-homopregnano planteadas en este trabajo.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL.

La parte experimental del presente trabajo se llevó a cabo en dos etapas. La primera etapa involucró la síntesis química y caracterización física y espectroscópica de los intermediarios y el producto final. La ruta de síntesis planteada para la preparación de los derivados esteroidales y el producto final, se muestra en la figura 5.




$Ac_2O$/Py: Anhídrido acético/piridina, DMF: dimetilformamida, APTS: ácido p-toluensulfónico.

**Figura 5. Ruta general de síntesis.**

El equipo empleado para determinar la Espectrofotometría de Absorción al Ultravioleta fue el Perkin-Elmer Hitachi modelo 200, utilizando como disolvente metanol.

La Espectrofotometría de Absorción al Infrarrojo se determinó empleando el espectrofotómetro IR de transformada de Fourier Perkin-Elmer modelo 1600. Las determinaciones se realizaron en película Para indicar la intensidad de las bandas se emplearon las siguientes abreviaturas : (S) fuerte, (M) media y (W) débil. Los tipos de vibración se abreviaron así. oop (vibración fuera del plano), st (vibración de tensión), si (simétrico), as (asimétrico) y δ (vibración de deformación).

La Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN $^{1}H$) y Carbono (RMN $^{13}C$) para los derivados y el producto final, se determinaron en el aparato de RMN Varian VXR-300s, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Las muestras se disolvieron en cloroformo deuterado. Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón (ppm). Los patrones de acoplamiento se designaron con las siguientes abreviaturas : s (señal simple), d (señal doble), t (señal triple), dd (señal doble de dobles), m (señal múltiple), J (constante de acoplamiento), δ (desplazamiento químico).

La Espectrometría de Masas se realizó en un espectrómetro de masas HP 5985-B CG/MS mediante la técnica de Impacto Electrónico. Los valores se expresan en relación m/z (masa/carga).

Los puntos de fusión de los compuestos sintetizados se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

El compuesto final fue purificado por cromatografía en capa fina (C.C.F) utilizando gel de sílice Merck 7730 Silica Gel 60 GF254 y Silica Gel 60 G

En la segunda etapa, parte biológica, se efectuó la evaluación de la actividad antiandrogénica de los derivados esteroídales y el producto final utilizando sistemas *in vivo* tomándose como parámetros de actividad (respuestas biológicas), la capacidad de inhibir el crecimiento de las vesículas seminales y órganos flanco en hámsters gonadoctemizados.

## ETAPA I. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.

### 4.1 Purificación y caracterización de la materia prima (I): Acetato de 16-dehidropregnenolona o 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona.

La materia prima **(I)** se encontraba como polvo amarillo el cual se recristalizó con metanol. El producto se obtuvo como cristales en forma de agujas de color blanco con punto de fusión 170-172 °C. Como paso previo a la síntesis del compuesto **II**, se caracterizó a la materia prima por sus propiedades físicas y espectroscópicas comparándolas con las reportadas en la literatura.[14,23]

**Tabla 1. Propiedades físicas y espectroscópicas de la materia prima 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (I).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 170-172 |
| Fórmula molecular | $C_{23}H_{32}O_3$ |
| Peso molecular (uma) | 356 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **UV (nm)** | |
| λmax 238 | CO α,β insaturado en C-20 |
| **IR($cm^{-1}$)** | |

| | |
|---|---|
| 2942 (M) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1729 (S) | C=O de éster en C-3 |
| 1661 (S) | C=O α,β insaturado en C-20 |
| 1583 (W) | C=C conjugado en C-16 |
| 1451 (W) | $-CH_2-$ (δ) |
| 1440 (W) | $CH_3$-CO (δ) en C-20 |
| 1373 (S) | $CH_3-$ (δ) |
| 1246 (S) | C-O (st as) de $CH_3CO$ en C-3 |
| 1036 (S) | C-O (st si) de $CH_3CO$ en C-3 |
| **RMN $^1$H (ppm)** | |
| 0.92 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-18 |
| 1.05 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-19 |
| 2.03 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-21 |
| 2.26 (s, 3H) | $CH_3COO-$ en C-3 |
| 4.60 (m, 1H) | -CH base de $CH_3COO-$ en C-3 |
| 5 40 (dd, 1H; $J_1$=4Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-6 |
| 6.7 (t, 1H, J=3Hz) | C=CH en C-16 |

**4.2 Síntesis del derivado (II): 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona.**

En un matraz bola de 100 mL, se disolvió la materia prima **(I)** (1 g, 2.8 mmol) en 66 mL de metanol caliente. Posteriormente se adicionaron 2 mL de una solución de hidróxido de sodio 4 N y 4 mL de peróxido de hidrógeno al 30 %. Esta mezcla se agitó por espacio de 4 horas a temperatura ambiente. Se monitoreó el curso de la reacción mediante cromatografía en capa fina. Transcurrido el tiempo de reacción se destiló el metanol en exceso (por destilación a presión reducida en un rotavapor) y se agregó hielo a la mezcla. Por filtración al vacío se separó un sólido blanco **(II)**, el cual se lavó con agua hasta pH neutro. El producto se secó a temperatura ambiente y después se recristalizó con metanol. Rendimiento: 99% (0.92g, 2.79 mmol). Punto de fusión reportado (°C): 180-181 [14,23].

**Tabla 2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (II).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 180-182 |
| Formula molecular | $C_{21}H_{30}O_3$ |
| Peso molecular (uma) | 330 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 3355 (M) | -OH (st) en C-3 |
| 2937 (S) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1691 (S) | C=O en C-20 |
| 1446 (W) | $-CH_2-(\delta)$ |
| 1374 (M) | -CH3 (δ) |
| 1053 (M) | C-O (st) de -OH secundario en C-3 |
| 855 (W) | C-O-C (st) de epóxido en C-16-C-17 |
| **RMN $^1H$ (ppm)** | |
| 1.02 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-18 |
| 1.05 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-19 |
| 2.03 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-21 |
| 3.20 (s, 1H) | -CH- base de epóxido en C-16 |
| 3.52 (m, 1H) | -CH base en C-3 |
| 3.68 (s, 1H) | -OH en C-3 |
| 5.34 (dd, 1H $J_1$=4Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-6 |

**4.3 Síntesis del derivado (III): 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona.**

En un matraz bola de 25 mL, se disolvió 1g (3.0 mmol) del producto **(II)** en 5 mL (61.9 mmol) de piridina. Se agregaron bajo agitación constante 10 mL (106 mmol) de anhídrido acético. La mezcla de reacción se agitó por 6 horas a temperatura ambiente, monitoreando su avance mediante cromatografía en capa fina. Al término de la reacción, la mezcla se vertió en un vaso de precipitados con hielo y se agitó vigorosamente por 30 minutos. El precipitado blanco **(III)** se lavó

con agua hasta un pH neutro y se dejó secar. El producto se recristalizó con metanol. Rendimiento : 91% (1.02g, 2 75 mmol) Punto de fusión reportado (°C): 160-162.[14]

**Tabla 3.Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (III).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 157-159 |
| Fórmula molecular | $C_{23}H_{32}O_4$ |
| Peso molecular (uma) | 372 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 2967 (M) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1733 (S) | C=O de $CH_3COO-$ en C-3 |
| 1702 (S) | C=O en C-20 |
| 1374(S) | $-CH_3$ (δ) |
| 1249 (S) | C-O (st as) de $CH_3COO-$ en C-3 |
| 1039 (M) | C-O (st si) de $CH_3COO-$ en C-3 |
| 857 (W) | C-O-C de epóxido en C-16 y C-17 |
| **RMN $^1H$ (ppm)** | |
| 1.03 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-18 |
| 1.04 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-19 |
| 2.03 (s, 6H) | $-CH_3$ en C-21 y $CH_3$-COO- en C-3 |
| 3.68 (s, 1H) | H base del epóxido en C-16 |
| 4.59 (m, 1H) | H base de $CH_3$-COO- en C-3 |
| 5.36 (dd, 1H $J_1$=4Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-6 |

**4.4 Síntesis del derivado (IV): 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno.**

En un matraz bola de 50 mL se disolvió 1g (2.6 mmol) del producto III en 6 mL de tolueno. Bajo agitación constante se agregaron, 0.020g (1.13mmol) de ac. p-toluensulfónico, 3.2 mL (53 mmol) de etilenglicol y 4 mL (45 mmol) de ortoformiato

de trimetilo . La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente y en condiciones anhídras, el curso de la reacción se determinó mediante cromatografía en capa fina. Al término de la reacción la mezcla se neutralizó con 0.097 g (1.18 mmol) de acetato de sodio y se vertió en un embudo de separación que contenía 20 mL de agua. Esta mezcla se extrajo con tres porciones de cloroformo (20 mL c/u). La fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro y se trató con sulfato de sodio anhidro. Por filtración se separó la sal del disolvente el cual se evaporó a sequedad por destilación a presión reducida en el rotavapor. El producto **(IV)** se recristalizó con metanol. Rendimiento: 75% (0.84g, 2.01 mmol). Punto de fusión reportado (°C): 192-194 [14]

**Tabla 4. Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendoxi-5-pregneno (IV).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 193-195 |
| Fórmula molecular | $C_{25}H_{36}O_5$ |
| Peso molecular (uma) | 416 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 2941(M) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1719 (S) | C=O de $CH_3COO-$ en C-3 |
| 1465 (W) | $-CH_2-$ (δ) |
| 1440 (W) | $CH_3$-CO (δ) en C-20 |
| 1371 (M) | $-CH_3$ (δ) |
| 1248 (S) | C-O (st as) de $CH_3$-COO- en C-3 |
| 1033 (S) | C-O (st si) de $CH_3$-COO- en C-3 |
| **RNM $^1$H (ppm)** | |
| 0.99 (s, 3H) | $CH_3$- en C-18 |
| 1.04 (s, 3H) | $CH_3$- en C-19 |
| 1.44 (s, 3H) | $CH_3$- en C-21 |
| 2.03 (s, 1H) | $CH_3$-COO- en C-3 |
| 3.39 (s, 1H) | H base del epóxido en C-16 |
| 3.97 (m, 4H) | $-O-CH_2-CH_2-O-$ en C-20 |

| | |
|---|---|
| 4.60 (m, 1H) | H base de $CH_3$-COO- en C-3 |
| 5.30 (dd, 1H, $J_1$=4Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-6 |

**4.5 Síntesis del derivado (V): 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno.**

En un matraz de 50 mL de dos bocas equipado con un refrigerante en posición de reflujo se colocaron 1.0 g (2.4 mmol) del producto **IV**, 0.3 g (1.4 mmol ) de complejo de bromuro de dimetilsulfuro de cobre como catalizador y 14 mL de una solución de bromuro de fenilmagnesio 1.0 M en tetrahidrofurano . La mezcla se mantuvo a reflujo por 5 días, bajo atmósfera de nitrógeno y con agitación constante. Después la mezcla se vertió lentamente en un embudo de separación que contenía 20 mL de una solución saturada de cloruro de amonio. Esta mezcla se extrajo con tres porciones de cloroformo (20 mL c/u). La fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro, se trató con sulfato de sodio anhídro, se separó la sal por filtración y el disolvente se evaporó. El producto **(V)** se recristalizó con metanol. Rendimiento: 68% (0.74g, 1.63 mmol). Punto de fusión reportado ($^{o}$C): 221-222. [21,22]

**Tabla 5. Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión ($^{o}$C) | 221-223 |
| Fórmula molecular | $C_{29}H_{40}O_4$ |
| Peso molecular (uma) | 452 |

| | |
|---|---|
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 3374 (M) | -O-H (st) en C-17 y C-3 |
| 2937 (S) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 2894 (M) | $-O-CH_2-$(st) de etilendioxi en C-20 |
| 1598 (W) | C=C aromático en C-16 |
| 1493 (W) | C=C aromático en C-16 |
| 1453 (W) | $-CH_2-$ (δ) |
| 1367 (W) | $-CH_3$ (δ) |
| 1048 (S) | C-OH (st) en C-3 y C-17 |
| 898 (W), 756 (S) y 698 (M) | C=CH (oop) arom (patrón de monosustitución del grupo β-fenilo en C-16) |
| **RMN $^1H$ (ppm)** | |
| 1.07 (s, 3H) | $CH_3-$ en C-18 |
| 1.12 (s, 3H) | $CH_3-$ en C-19 |
| 1.23 (s, 3H) | $CH_3-$ en C-21 |
| 2.65 (m, 1H) | C-H bencílico en C-16 |
| 3.50 (m, 2H) | $-O-CH_2-CH_2-O-$ en C-20 |
| 3.62 (m, 2H) | $-O-CH_2-CH_2-O-$ en C-20 |
| 5.40 (dd, 1H; $J_1$=4Hz y $J_2$=2H) | C=CH en C-6 |
| 7.2 (m, 5H) | H's aromáticos del grupo β-fenilo en C-16 |
| **RMN $^{13}C$ (ppm)** | |
| 16.64 | C-18 ($-CH_3$) |
| 19.41 | C-19 ($-CH_3$) |
| 20.24 | C-21 ($-CH_3$) |
| 56.74 | C-16 base del grupo β-fenilo |
| 63.67 | $-O-CH_2-CH_2-O-$ en C-20 |
| 71.61 | C-3 base de -OH |
| 93.38 | C-20 base del grupo etilendioxi |
| 121.31 | C-6 vinílico |
| 126.78-128.61 | CH's aromáticos del grupo β-fenilo |
| 140.79 | C ipso del grupo β-fenilo |
| **EMIE (m/z)** | |
| 452 | $M^+$ |
| 434 | $M^+$ -18 ($H_2O$) |
| 419 | 434-17 (OH) |
| 87 (100% Ab. rel.) (pb) | $C_4H_7O_2$ |

**4.6 Síntesis del derivado (VI): 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona.**

Se preparó en un matraz bola de 100 mL, una solución del producto **V** (1g, 2.2 mmol) en 80 mL de acetona. Se agregó gota a gota y con agitación 1.0 mL (0.11 mol) de ácido perclórico. La mezcla se agitó durante tres horas a temperatura ambiente siguiendo el curso de la reacción por cromatografía en capa fina. Transcurrido el tiempo de reacción se destiló la acetona hasta un volumen mínimo el cual se vertió a un vaso de precipitados que contenía 150 mL de solución saturada de bicarbonato de sodio y hielo Por filtración al vacío se separó un sólido blanco **(VI)**, el cual se lavó con agua hasta pH neutro. El producto se secó a temperatura ambiente y después se recristalizó con metanol. Rendimiento: 90% (0.81g, 1.98 mmol). Punto de fusión reportado (°C): 209-211.[22,23,24]

**Tabla 6. Propiedades físicas y espectroscópicas de 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 210-212 |
| Fórmula molecular | $C_{27}H_{36}O_3$ |
| Peso molecular (uma) | 408 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 3455 (M) | -O-H (st) en C-17 |
| 2935 (S) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1694 (S) | CO de cetona en C-17a |
| 1601 (W) | C=C arom en C-16 |
| 1452 (M) | $-CH_2-(\delta)$ |
| 1378 (M) | $-CH_3$ (δ) |
| 1047 (M) | C-OH (st) en C-17 |
| 1005 (M) | C-OH (st) en C-3 |
| **RMN $^1H$ (ppm)** | |

| | |
|---|---|
| 1 03 (s, 3H) | -C<u>H</u>$_3$ en C-18 |
| 1 10 (s, 3H) | -C<u>H</u>$_3$ en C-19 |
| 1.21 (s, 3H) | -C<u>H</u>$_3$ β en C-17 |
| 1.52 (m, 1H) | -C<u>H</u> en C-14 |
| 1.71 (m, 1H) | -C<u>H</u> en C-8 |
| 1 98 (m, 2H) | -C<u>H</u>$_2$- en C-15 |
| 2 23 (m, 2H) | -C<u>H</u>$_2$- en C-7 |
| 2.33 (m, 1H) | -C<u>H</u>$_2$- en C-4 |
| 2.93 (m, 1H) | -C<u>H</u> bencílico en C-16 |
| 3.52 (m, 1H) | -C<u>H</u> base de -OH en C-3 |
| 5.32 (dd, 1H; $J_1$=4Hz y $J_2$=2Hz) | C=C<u>H</u> vinílico en C-6 |
| 7.3 (m, 5H) | H's del grupo β-fenilo en C-16 |
| **RMN $^{13}$C** | |
| 15.99 | C-18 (-<u>C</u>H$_3$) |
| 19.36 | C-19 (-<u>C</u>H$_3$) |
| 23.96 | <u>C</u>H$_3$- β en C-17 |
| 19.46 | C-11 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 26.48 | C-15 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 31.51 | C-2 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 31.73 | C-1 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 33.05 | C-7 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 36.77 | C-12 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 41.93 | C-4 (-<u>C</u>H$_2$-) |
| 31.00 | C-8 (-<u>C</u>H-) |
| 49.03 | C-9 (-<u>C</u>H-) |
| 51.00 | C-14 (-<u>C</u>H-) |
| 54.49 | C-16 base del grupo β-fenilo |
| 71.51 | C-3 base de -OH |
| 120.87 | C-6 vinílico |
| 126.84 | <u>C</u>H para del grupo β-fenilo en C-16 |
| 127.87 | <u>C</u>H orto del grupo β-fenilo en C-16 |
| 129.11 | <u>C</u>H meta del grupo β-fenilo en C-16 |
| 36.81 | C-10 (cuaternario) |
| 47.05 | C-13 (cuaternario) |
| 78.24 | C-17 base de -CH$_3$ y -OH |
| 139.75 | <u>C</u> ipso del grupo β-fenilo |
| 140.60 | C-5 vinílico |
| 218.16 | <u>C</u>=O en C-17a |
| **EMIE (m/z)** | |
| 408 (100% Ab. rel.) (pb) | $M^+$ |
| 390 | M-H$_2$O |
| 380 | M-28 (CO) |
| 365 | 380-15 (CH$_3$) |
| 347 | 365-18 (H$_2$O) |

| | |
|---|---|
| 91 | Ion tropilio |

**4.7 Síntesis del derivado (VII): 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil- D-homo- 4,6-pregnadien-3, 17a-diona.**

En un matraz de dos bocas equipado con un embudo de adición y un refrigerante en posición de reflujo se colocaron 1g (2.4 mmol) del producto **VI**, 3g (40 mmol) de carbonato de litio, 2g (22 mmol) de bromuro de litio y 14 mL de dimetilformamida. La suspensión se agitó por espacio de 30 minutos. A través del embudo se adicionó lentamente una solución de bromo (0.93 g, 0.30 mL, 5.82 mmol) en 8.5 mL de dioxano. La mezcla resultante se agitó durante 2.30 horas a 75°C, siguiendo el curso de reacción mediante cromatografía en capa fina. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró y las sales precipitadas se lavaron con dimetilformamida. Al filtrado se le agregaron 70 mL de una solución de bisulfito de sodio (0.5 g) y bicarbonato de sodio (0.5 g) en 100 mL de agua. Se obtuvo un precipitado amarillo que se separó por filtración a vacío. El producto **(VII)** se recristalizó con mezcla Hexano-Acetato de etilo (80:20) Rendimiento: 70% (0.70g, 1.73 mmol).[22,23]

**Tabla 7. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16β-fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (VII).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 277-280 |
| Fórmula molecular | $C_{27}H_{32}O_3$ |
| Peso molecular (uma) | 404 |
| | |
| **Valor espectroscópico** | **Asignación** |

| | |
|---|---|
| **UV (nm)** | |
| λmax 282.29 | CO α,β,γ,δ insaturado en C-3 |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 3445 (M) | -O-H (st) en C-17 |
| 2946 (M) | -C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1694 (M) | CO de cetona en C-17a |
| 1652 (S) | CO α,β,γ,δ insaturado en C-3 |
| 1616 (M) | C=C arom en C-16 y C=C dieno conjugado en C-5 y C-6 |
| 1452 (M) | $-CH_2-(\delta)$ |
| 1354 (W) | $-CH_3$ (δ) |
| 879 (M), 757 (M) y 701 (M) | C=C-H (oop) arom (patrón de monosustitución del grupo β-fenilo en C-16) |
| **RMN $^1$H (ppm)** | |
| 1.13 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-18 |
| 1.14 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-19 |
| 1 29 (s, 3H) | $-CH_3$ β en C-17 |
| 2.99 (dd, 1H; J=3 Hz) | -CH bencílico en C-16 |
| 5.69 (s, 1H) | C=CH en C-4 |
| 6.18 (dd, 1H; $J_1$=10 Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-6 |
| 6.31 (dd, 1H; $J_1$=10 Hz y $J_2$=2Hz) | C=CH en C-7 |
| 7.3 (m,5H) | H's arom del grupo β-fenilo en C-16 |
| **RMN $^{13}$C (ppm)** | |
| 16.16 | C-18 ($-CH_3$) |
| 16.23 | C-19 ($-CH_3$) |
| 23.95 | $-CH_3$ β en C-17 |
| 19.22 | C-11 ($-CH_2-$) |
| 26.13 | C-15 ($-CH_2-$) |
| 33.01 | C-2 ($-CH_2-$) |
| 33.52 | C-1 ($-CH_2-$) |
| 33.79 | C-12 ($-CH_2-$) |
| 36.32 | C-8 (-CH-) |
| 48.03 | C-9 (-CH-) |
| 49.55 | C-14 (-CH-) |
| 54.16 | C-16 base del grupo β-fenilo |
| 123.98 | C-4 vinílico |
| 127.02 | CH para del grupo β-fenilo C-16 |
| 127.96 | CH orto del grupo β-fenilo C-16 |
| 129.06 | CH meta del grupo β-fenilo C-16 |
| 129.13 | C-6 vinílico |
| 137.68 | C-7 vinílico |
| 36.09 | C-10 (cuaternario) |

| | |
|---|---|
| 47.39 | C-13 (cuaternario) |
| 78.13 | C-17 base de -OH y $-CH_3$ |
| 139.30 | C ipso del grupo β-fenilo en C-16 |
| 162.23 | C-5 vinílico |
| 199.22 | C=O en C-3 |
| 217.21 | C=O en C-17a |
| **EMIE (m/z)** | |
| 404 (100% Ab. Rel.) (pb) | $M^+$ |
| 376 | $M^+$-28 (CO) |
| 361 | 376-15 ($CH_3$) |
| 343 | 361-18 ($H_2O$) |
| 91 | Ion tropilio |

**4.8 Síntesis del derivado (VIII): 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona.**

En un matraz de 50 mL se mezclaron 0.8 mL ( 0.75g, 7.3 mmol) de ac. valérico, 1.0 mL (1.487g, 7.07 mmol) de anhidrido trifluoroacético y 0.10 g (0.52 mmol) de ac. p-toluensulfónico como catalizador. La mezcla se agitó por dos horas a temperatura ambiente. Después se agregó una solución del producto **VII** (1g, 2.47mmol) en 30 mL de cloroformo. La mezcla de reacción se agitó por dos horas a temperatura ambiente y en condicones anhídras, siguiendo su curso mediante cromatografía en capa fina. Al termino de este tiempo la mezcla de reacción se neutralizó con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Esta mezcla se extrajo con tres porciones de cloroformo (20 mL c/u). La fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro, se trató con sulfato de sodio anhidro. Se separó la sal por filtración y el disolvente se evaporó. El producto **(VIII)** se purificó por cromatografía en capa fina con un sistema de elución Hexano-Acetato de etilo (80:20).

Rendimiento: 70% (0.85g, 1.74 mmol). No existe punto de fusión reportado por ser un producto nuevo [14,25-27]

**Tabla 8. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).**

| Propiedad | Valor |
|---|---|
| Punto de fusión (°C) | 221-224 |
| Fórmula molecular | $C_{32}H_{40}O_4$ |
| Peso molecular (uma) | 488 |
| | |
| **Valor espectróscopico** | **Asignación** |
| **UV (nm)** | |
| λmax 282.10 | C=O α,β,γ,δ insaturado en C-3 |
| **IR ($cm^{-1}$)** | |
| 3030 (W) | C=C-H (st) aromático |
| 2950 (S) | C-H (st) de $-CH_3$ y $-CH_2-$ |
| 1727 (S) | $CH_3-(CH_2)_3-CO-O-$ α en C-17 |
| 1712 (S) | CO cetona en C-17a |
| 1663 (S) | CO α,β,γ,δ insaturada en C-3 |
| 1617 (M) | C=C dieno conjugado en C-5 y C-6 |
| 1452 (M) | $-CH_2-$ (δ) |
| 1375 (M) | C-O (st as)éster |
| 1266 (M) | C-O (st si) éster |
| 874 (M), 767 (W) y 701 (M) | C=C-H (oop) aromático (patrón de monosustitución del grupo β-fenilo en C-16) |
| **RMN $^1$H (ppm)** | |
| 0.93 (s, 3H) | $-CH_3$ del éster valérico |
| 1.11 (s, 3H) | C-18 ($-CH_3$) |
| 1.12 (s, 3H) | C-19 ($-CH_3$) |
| 1.26 (s, 3H) | $-CH_3$ en C-17 |
| 2.38 (m, 6 H) | ($-CH_2-$)'s de la cadena del éster |
| 3.84 (m, 1H) | C-H bencílico en C-16 |
| 5.68 (s, 1H) | C=CH en C-4 |
| 6.17 (dd, 1H; $J_1$=10 Hz, $J_2$= 2Hz) | C=CH en C-6 |
| 6.32 (dd, 1H; $J_1$=10 Hz, $J_2$= 2Hz) | C=CH en C-7 |
| 7.16 (m, 2H) | H's orto del grupo β-fenilo en C-16 |
| 7.32 (m, 2H) | H's meta del grupo β-fenilo en C-16 |
| 7.35 (m, 1H) | H para del grupo β-fenilo en C-16 |
| **RMN $^{13}$C (ppm)** | |
| 14.17 | C-18 ($CH_3-$) |

| | |
|---|---|
| 16.21 | C-19 ($\underline{C}H_3$-) |
| 17.80 | $\underline{C}H_3$- del éster |
| 22.84 | -$\underline{C}H_3$ β en C-17 |
| 19.27 | C-11 (-$\underline{C}H_2$-) |
| 22.23 | C-4'(-$\underline{C}H_2$- en la cadena del éster) |
| 25.84 | C-15 (-$\underline{C}H_2$-) |
| 26.74 | C-3' (-$\underline{C}H_2$- en la cadena del éster) |
| 33.04 | C-2 (-$\underline{C}H_2$-) |
| 33.81 | C-1 (-$\underline{C}H_2$-) |
| 34.20 | C-12 (-$\underline{C}H_2$-) |
| 34.45 | C-2' (-$\underline{C}H_2$- en la cadena del éster) |
| 36.15 | C-8 (-$\underline{C}$H-) |
| 44 41 | C-9 (-$\underline{C}$H-) |
| 48.58 | C-14 (-$\underline{C}$H-) |
| 49.46 | C-16 base del grupo β-fenilo |
| 123.80 | C-4 vinílico |
| 127.19 | $\underline{C}$H para del grupo β-fenilo en C-16 |
| 128.17 | $\underline{C}$H orto del grupo β-fenilo en C-16 |
| 128.82 | $\underline{C}$H meta del grupo β-fenilo en C-16 |
| 128.92 | C-6 vinílico |
| 138.26 | C-7 vinílico |
| 36.10 | C-10 (C cuaternario) |
| 48.50 | C-13 (C cuaternario) |
| 83.56 | C-17 base de -OVal y -$CH_3$ |
| 139.61 | $\underline{C}$ ipso del grupo β-fenilo en C-16 |
| 162.68 | C-5 vinílico |
| 173.17 | O-C=O de éster valérico en C-17 |
| 199.48 | C=O en C-3 |
| 211.76 | C=O en C-17a |
| **EMIE (m/z)** | |
| 488 | $M^+$ |
| 404 | $M^+$-84 ($CH_3$-$(CH_2)_3$-COOH) |
| 386 | 404-17 (HO) |
| 358 | 386-28 (CO) |
| 343 | 358-15 ($CH_3$) |
| 91 | Ion tropilio |

**ETAPA II. PARTE BIOLÓGICA: Evaluación de la actividad antiandrogénica.**

Para realizar la evaluación del efecto antiandrogénico *in vivo* del intermediario **VII** y el producto final **VIII** se emplearon dos bioensayos:

a) Efecto antiandrogénico sobre vesículas seminales.

b) Actividad antiandrogénica en órganos flanco

En los experimentos fueron empleados como material biológico hámsters machos de la cepa Syrian Golden, mantenidos a una temperatura controlada de 22°C y en periodos de luz oscuridad de 12h.

**4.9 Prueba de las vesículas seminales.**

Debido a que la enzima 5α-reductasa presenta dos isoformas (I y II), este método se fundamenta en que la isoenzima tipo II tiene un efecto mas profundo sobre los tejidos que expresan esta isoenzima tales como la próstata, los testículos y las vesículas seminales. De esta manera, los compuestos que tienen la capacidad de inhibir dicha isoenzima entonces reducirán el peso de las vesículas seminales.

Se utilizaron grupos de cuatro animales para cada experimento, estos fueron gonadectomizados 15 días antes del ensayo, manteniéndolos a una temperatura controlada de 22°C y en periodos de luz oscuridad de 12 h. A cada animal de los diversos grupos, le fue administrado por vía subcutánea 200 μg de testosterona y 200 μg de cada uno de los esteroides a evaluar disueltos en 0.5 mL de aceite de castor como vehículo en periodos de 24 horas, durante 3 días. Como control se utilizó: uno de grupo de animales al cual se le administró Finasterida más testosterona, y otro al que se le administró únicamente testosterona disuelta en el

vehículo. Posteriormente al tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante la anestesia con éter y se realizó la disección de las vesículas seminales para ser pesadas.[19,20]

| GRUPO | TRATAMIENTO | PESO DE LA VESÍCULA SEMINAL (mg) |
|---|---|---|
| 1 | T + vehículo | 317 |
| 2 | T + Finasterida | 216 |
| 3 | T + 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**VII**) | 127 |
| 4 | T + 17α-Benzoiloxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**IX**)[22] | 214 |
| 5 | 16β-fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**) | 231 |

**Tabla 9. Efecto del esteroide sobre el peso de las vesículas seminales.**

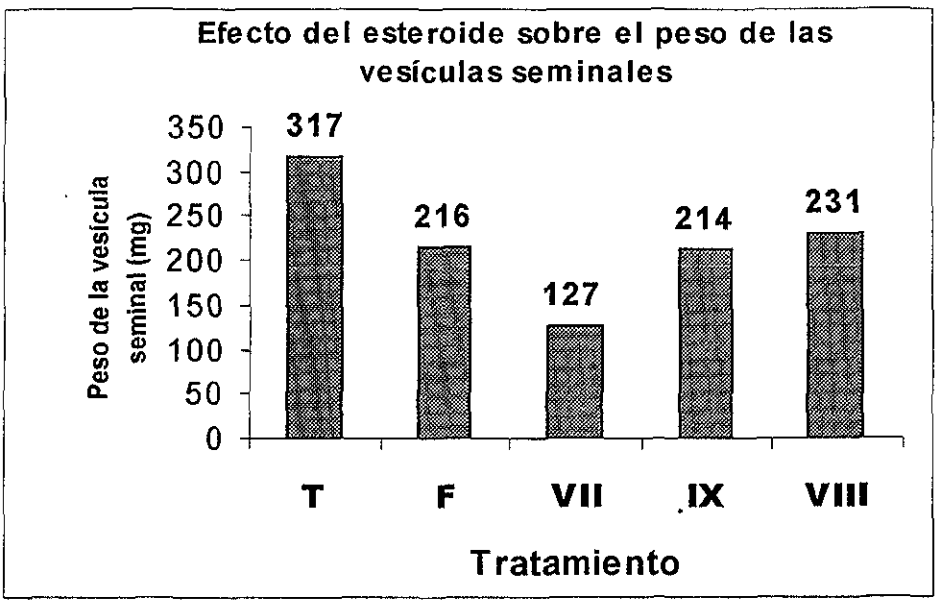



**Figura 6. Efecto antiandrogénico de T**: Testosterona, **F**: Finasterida, **VII, IX**[22] y **VIII sobre el peso de las vesículas seminales.**

**4.10 Actividad antiandrogénica en los órganos flanco.**

Los órganos flanco son dos nódulos localizados en la superficie de la piel dorsal de los animales, en dichos órganos se lleva a cabo la transformación de testosterona a 5α-dihidrotestosterona, esta transformación provoca un aumento en el tamaño o diámetro de estos. En los Hámsters hembra el diámetro de los nódulos midió 2 mm, y en los machos 8mm, aunque después de realizar la gonadectomía en estos últimos el diámetro era muy semejante al registrado en las hembras. La administración diaria de testosterona o 5α-dihidrotestosterona restauró el tamaño de los nódulos a su tamaño original. Los grupos de animales utilizados fueron previamente gonadectomizados, ocho días previos al ensayo. Ambos órganos flanco de cada animal fueron rasurados. Al órgano flanco derecho de cada animal, se le administró diariamente mediante vía tópica, 200μg de cada esteroide solubilizado en 40 μL de AcOEt como vehículo, tales aplicaciones se realizaron con micropipetas (modelo E2 100, distribuidor: Rainin Inst). El tratamiento esteroidal se llevó a cabo durante 15 días, posteriormente, se determinó el diámetro de cada órgano flanco. A cada órgano flanco izquierdo se le administró solamente el vehículo 40μL de AcOEt para utilizarlos como control. [28,29]

| Grupo de animales | TRATAMIENTO | DIÁMETRO DE ÓRGANOS FLANCO(mm). |
|---|---|---|
| 1 | T + vehículo | 4.25 |
| 2 | T + finasterida | 3.00 |
| 3 | 16β-fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**) | 2.90 |

**Tabla 10. Efecto del esteroide sobre el crecimiento del diámetro de los órganos flanco.**

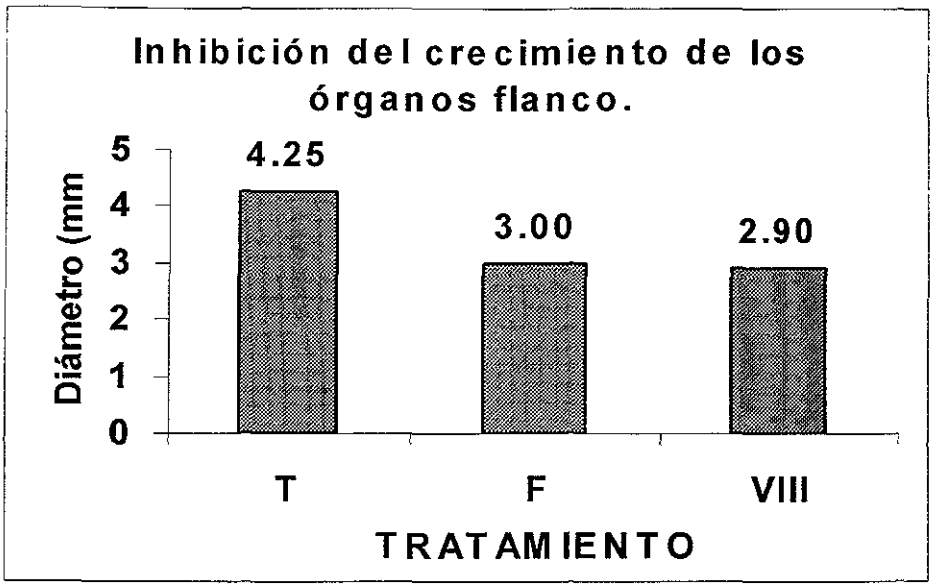



**Figura 7. Efecto antiandrogénico sobre el crecimiento del diámetro de los órganos flanco por efecto de T**: Testosterona, **F**: Finasterida y **VIII.**

# 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

## 5.1 PARTE QUÍMICA: Síntesis y caracterización.

Para el desarrollo de este trabajo se planteó la secuencia de síntesis presentada en la figura 5 (página 20), la cual permitió obtener el compuesto final (**VIII**) con las características estructurales requeridas.

Para la síntesis del nuevo compuesto fue empleado como materia prima el acetato de 16-dehidropregnenolona (**I**) por su costo accesible, disponibilidad comercial y la presencia de las funciones químicas necesarias para la transformación en siete pasos al compuesto final. En primer término se caracterizó a la materia prima por sus propiedades físicas y espectroscópicas.

El análisis por UV (espectro 1) mostró la existencia del cromóforo correspondiente a la cetona $\alpha,\beta$-insaturada en C-20 ($\lambda$max= 238 nm).

Mediante espectroscopía de IR (espectro 2) se observó la presencia de las bandas en 1661 y 1729 $cm^{-1}$ correspondientes a la cetona $\alpha,\beta$-insaturada en C-20 y al carbonílo del acetoxi en C-3 respectivamente.

De acuerdo al espectro de RMN $^1H$ (espectro 3) se observaron cuatro señales simples en 0.92, 1.05, 2.03 y 2.26 ppm, cada señal integra para tres hidrógenos, asignados a los grupos metilos C-18, C-19, C-21 y el metilo del grupo acetoxi en C-3. Se observó un multiplete en 4.60 ppm asignado al protón base del grupo acetoxi en C-3. En la zona de protones vinílicos se presentó un doblete en 5.40 ppm y una señal en 6.7 ppm que integraron cada una para un protón en C-6 y C-16, respectivamente.

En la ruta de síntesis se propuso la introducción de un grupo fenilo en C-16 orientación beta y un hidroxilo en C-17 orientación alfa (para ser esterificado posteriormente) con el fin de impedir la reducción enzimática del grupo carbonilo en C-20, la cual provocaría disminución en la actividad antiandrogénica. Para tal propósito, el primer paso de la síntesis implicó la epoxidación de la doble ligadura en C16-C17. Se utilizó peróxido de hidrógeno al 30% en un medio básico para promover la adición nucleofílica (adición de tipo Michael) del anión hidroperóxido sobre la ligadura en C-16 viéndose favorecida por la conjugación con la cetona en C-20. El compuesto obtenido **(II)** se caracterizó por sus constantes físicas y espectroscópicas. Los resultados se compararon con los reportados en la literatura [11,23].

En el espectro de IR (espectro 4) de este compuesto se observó una banda débil en 855 $cm^{-1}$ correspondiente al epóxido en C16-C17 así como una banda intensa en 1691$cm^{-1}$ correspondiente al carbonílo de la cetona en C-20. La banda en 3355 $cm^{-1}$ se asignó al hidroxilo en el C-3, el cual se formó mediante la reacción de hidrólisis en medio básico del grupo acetoxi en C-3. En 1053 $cm^{-1}$ se observó una banda de intensidad media que correspondió al enlace C-O de alcohol secundario en C-3. Se observó la desaparición de la señal en 1661.90 $cm^{-1}$ correspondiente a la cetona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$-insaturada.

El espectro de RMN $^1H$ (espectro 5) mostró la señal en 3.20 ppm que integró para un protón base del epóxido en C-16 y la desaparición de la señal en 6.7 ppm correspondiente al protón vinílico en C-16. Se observó una señal simple en 3.68 ppm correspondiente al grupo hidroxilo en C-3. También se

registraron tres señales simples que integraron, cada una, para tres hidrógenos en 1.02, 1.05 y 2.03 ppm que correspondieron a los metilos C-18, C-19 y C-21, respectivamente.

Como siguiente paso en la síntesis fue la reacción de acetilación del alcohol en C-3 que impidiera la descomposición del reactivo organometálico (bromuro de fenil magnesio), el cual sería utilizado para la subsecuente inserción del grupo fenilo en C-16. Para realizar la introducción del grupo acetoxi en C-3, se empleó la técnica de acetilación convencional en la cual se emplea una mezcla de anhidrído acético y piridina dando lugar a la especie electrófilica acetilpiridinio que es el agente acetilante El derivado acetoxi **(III)**, se caracterizó por sus constantes físicas y espectroscópicas. Los resultados se compararon con los reportados en la literatura.[14]

En el espectro de IR (espectro 6) se observaron dos bandas intensas, una en 1733 $cm^{-1}$ correspondiente al carbonílo del éster en C-3 y otra banda en 1702 $cm^{-1}$ asignada al carbonílo en C-20. Las bandas en 1249 y 1039 $cm^{-1}$ se asignaron a las vibraciones C-O-C características del grupo acetoxi en C-3. La ausencia de la señal en 3355 $cm^{-1}$ correspondiente al alcohol, confirmó la acetilación en C-3.

El espectro de RMN $^{1}H$ (espectro 7), presentó dos señales en 1.03 y 1.04 ppm, que integraron para tres protones cada una y corresponden a los metilos angulares C-18 y C-19 respectivamente. En 2.03 ppm se observó una señal que integró para seis protones y correspondió al metilo en C-21 y al metilo del acetoxi en C-3. El protón base del anillo de oxirano se localizó en 3.68 ppm y el protón base del acetoxi en C-3 se observó a 4.59 ppm. Por último, se observó una señal

doble de dobles en 5.36 ppm característico del protón vinílico en C-6 acoplado a los protones vecinos en C-7.

En el paso siguiente, se llevó a cabo la protección del grupo carbonilo en C-20 mediante la formación de su cetal, puesto que es un centro susceptible al ataque del reactivo de Grignard (bromuro de fenilmagnesio el cual se utilizó para insertar el grupo fenilo en C-16 orientación beta).

La formación del cetal, se llevó a cabo empleando etilenglicol, ortoformiato de trimetilo y ácido p-toluensulfónico como catalizador. El producto obtenido **IV**, se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas.

El análisis de IR (espectro 8) para este compuesto indicó la desaparición de la banda intensa en 1702 $cm^{-1}$ del carbonilo en C-20, confirmando así la transformación También se apreció la banda intensa de 1719 $cm^{-1}$ correspondiente al carbonilo del acetoxi en C-3.

En el espectro de RMN $^{1}H$ (espectro 9), se observaron cuatro señales a 0.99, 1.04, 1.44 y 2.03 ppm correspondientes a los metilos C-18, C-19, metilo en C-21 y metilo del acetoxi en C-3 respectivamente. En 3.39 ppm se ubicó el protón base del epóxido en C-16. La señal múltiple, que integró para cuatro protones en 3.97 ppm confirmó la formación del grupo dioxolano en C-20. La señal múltiple en 4.60 ppm se asignó al protón base del grupo acetoxi en C-3 y la señal doble de dobles en 5.30 ppm se asignó al protón vinílico en C-6.

Con el objetivo de introducir un grupo β-fenilo en el C-16 y simultáneamente generar un hidroxilo con configuración α en el C-17, el paso siguiente de la síntesis fue la apertura del anillo de oxirano de **IV**, mediante una reacción de

sustitución nucleofílica bimolecular ($Sn^2$). Se empleó el bromuro de fenil magnesio 1.0 M en THF ( reactivo de Grignard ) y complejo de bromuro de dimetil sulfuro de cobre ($(CH_3)_2S{\bullet}CuBr$) como catalizador. La mezcla de reacción se mantuvo bajo atmósfera de nitrógeno ($N_2$), con el propósito de evitar la descomposición del reactivo de Grignard, el cual con oxígeno atmosférico forma alcoholes y peróxidos vía radicales libres. Una vez terminada la reacción, se neutralizó con solución de $NH_4Cl$ para regenerar los grupos hidroxilo en C-3 y C-17. El producto obtenido **(V)** se caracterizó por sus constantes físicas y espectroscópicas.[18,19,22]

El espectro de IR (espectro 10) confirmó la hidrólisis del acetilo en C-3 por el reactivo organometálico y la apertura del epóxido en C16-C17, al detectar la presencia de la banda correspondiente al alcohol libre en C-17 y C-3 a 3374 $cm^{-1}$. Se presentó una banda intensa en 1048 $cm^{-1}$ asignada al enlace C-OH en C-3 y C-17. Se observan las bandas de intensidad débil en 1598 y 1493 $cm^{-1}$ indicativas del alargamiento C=C del grupo β-fenilo en C-16. Las señales en 898, 756 y 698 $cm^{-1}$ indican el patrón de monosustitución de anillo aromático confirmándose su presencia en C-16

El espectro de RMN $^1H$ del compuesto **V** (espectro 11) mostró tres señales en 1.07, 1.29, y 1.23 ppm correspondientes a los metilos en C-18, C-19 y el metilo en C-21 respectivamente. Se confirma la presencia del grupo β-fenilo insertado en C-16 por la presencia de la señal múltiple en 7.29 ppm que integra para 5 protones en la zona de aromáticos. Las señales en 3 50 y 3.62 ppm se asignaron a los metilenos del grupo etilendioxi en C-20. En la zona de protones vinílicos se

observó una señal doble de dobles en 5.40 ppm perteneciente el protón vinílico en C-6 acoplado a los dos protones en C-7

En RMN $^{13}C$ (Espectro 12) las señales en 16 64, 19.41 y 20.24 ppm que en el espectro DEPT (Distortionless Enhacement by Polarization Transfer) (Espectro 13) se apreciaron como metilos, se asignaron a los carbonos C-18, C-19 y C21 respectivamente. La señal en 63.67 ppm que apareció como metileno, se asignó a los carbonos del grupo etilendioxi en C-20. Se observó una señal en 71.61 ppm característica del carbono base de alcohol en C-3. Existe una señal en 93.38 ppm la cual no aparece en el espectro DEPT, la cual se asignó a C-20 que soporta el grupo etilendioxi. En la zona de carbonos vinílicos se aprecia una señal en 121.31 ppm correspondiente a C-6. Aparecen un conjunto de señales entre 126.78 y 128.61 ppm las cuales se asignan a los carbonos del grupo β-fenilo en C-16 y otra en 140.79 ppm correspondiente al carbono ipso

En espectroscopia de masas EMIE (Espectro 14) se observó un ion molecular de 452 m/z el cual coincide con el peso molecular del compuesto **V**. Se observa un pico en 434 m/z el cual es originado por la pérdida de 18 unidades las cuales corresponden probablemente a $H_2O$, la siguiente pérdida de 17 unidades (OH) generan el pico en 419 m/z. El pico base del espectro en 87 unidades de m/z corresponde probablemente a la pérdida del fragmento $C_4H_7O_2^+$.

En la siguiente etapa se regeneró el grupo carbonilo que se protegió en C-20 mediante hidrólisis ácida del grupo dioxolano. Esto se llevó a cabo en acetona adicionando lentamente ácido perclórico con lo cual se promovió la transacetilación de **V**, quedando regenerado el grupo carbonilo en C-20. Debido a

las condiciones ácidas en que se lleva a cabo esta transformación, se ha reportado que enseguida de la regeneración del carbonilo en C-20 ocurre la expansión del anillo D del esteroide, dando lugar a la formación del derivado D-homo: 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona **(VI)**. La expansión del anillo se explica por la protonación del carbonilo en C-20 para formar el ion carbonio, que seguido de una transposición de tipo Wagner Meerwein del enlace 16-17 da lugar a la formación de la especie D-homo.[24]

El espectro de IR del compuesto **VI** (espectro 15) mostró una banda de alargamiento de O-H en 3455 $cm^{-1}$ la cual indica la existencia de oxhidrilos en C-3 beta y C-17 alfa. Se observa una banda de alargamiento C-H en 2935 $cm^{-1}$ las cuales indican la presencia de metilos y metilenos. Las señales en 1601 y 1452 $cm^{-1}$ se asignaron al alargamiento C=C confirmando la presencia del grupo fenilo. La banda intensa en 1694 $cm^{-1}$ característica del alargamiento C=O de cetonas fue asignada al carbonilo regenerado en C-17a de **VI**.

En el espectro de RMN $^1H$ (espectro 16) se verificó la hidrólisis del grupo dioxolano al no registrarse la señal múltiple alrededor de 3.6 ppm que integraba para cuatro hidrógenos correspondiente a los metilenos del grupo cetal. Se observaron las señales en 1.03 y 1.10 ppm que integran para tres protones cada una, las cuales se asignaron a los protones de los metilos C-18 y C-19 respectivamente. La señal simple en 1.21 ppm que integra también pera tres protones fue asignada para el metilo en C-17, confirmando con esto el cambio de posición del metilo C-21 debido a que la señal de los protones de una metilcetona aparece alrededor de 2.1 ppm. Por otra parte, también se asignó la señal múltiple

en 3.52 ppm, al protón base del alcohol en C-3. La señal en 5.32 ppm es característica para el protón vinílico en C-6. De nuevo aparece la señal múltiple en 7.3 ppm que integró para 5 protones asignados a los protones del grupo β-fenilo en C-16.

En espectroscopía de RMN $^{13}C$ (espectro 17) también se confirma la hidrólisis del cetal puesto que desapareció la señal de los metilenos del grupo etilendioxi en 63.67 ppm observándose una nueva señal en 218.16 ppm lo cual indica el carbonilo regenerado en C-17a. Las demás señales del esteroide aparecen sin mostrar grandes cambios, sin embargo se aprecian nuevas señales producidas por la expansión del anillo D. En el espectro DEPT (Espectro 18) aparece la señal en 23.96 ppm la cual se asignó al metilo que se encuentra en C-17, difiriendo de las señales correspondientes para las metil cetonas que por lo regular aparecen en 30 ppm. Puede observarse también que la señal del carbono C-17 base de oxhidrilo y metilo se desplazó a un campo de menor intensidad en 78.24 ppm por encontrarse unido al carbonilo C-17a.

En EMIE (espectro 19) se observa un ion molecular de 408 unidades m/z el cual a demás de ser el pico base, también corresponde al peso molecular de **VI**. La pérdida de 18 unidades del ion molecular, dada por la deshidratación ($-H_2O$) de cualquiera de los dos alcoholes en C-3 o C-17, genera el pico en 390. Como puede observarse el ion molecular puede perder 28 unidades por descarboxilación (-CO) en C-17a para así formar el pico en 380. La pérdida de 15 unidades ($-CH_3$) del pico de 380 m/z generó el pico en 365. La pérdida de otra molécula de agua genera el pico de 347.

La formación del sistema 4,6-dien-3-ona para la obtención del compuesto **VII** se realizó conforme al método reportado por Shapiro [23] el cual permitió en una sola etapa, la oxidación del alcohol en C-3 y la formación de las dobles ligaduras en C-4 y C-6. La reacción involucra una bromación-deshidrobromación, al emplear bromo como agente oxidante y carbonato de litio como base para sustraer el protón en C-7. El producto **VII** se obtuvo con un 70% de rendimiento y se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas y físicas, las cuales se contrastaron con las propiedades reportadas en la literatura para este compuesto.[23,27]

La presencia del cromóforo 4,6-pregnadien-3-ona se confirmó en el espectro de ultravioleta (espectro 20) con la presencia de un máximo de absorción en 282.29 nm correspondiente al sistema 4,6-dien-3-ona,con lo cual se afirma la oxidación de **VI**.

En el espectro de infrarrojo del compuesto **VII** (espectro 21) se observó una banda de alargamiento en 3445 $cm^{-1}$ correspondiente a C-O de alcohol confirmando la presencia del alcohol terciario en C-17. En la zona de carbonilos, en 1694 $cm^{-1}$ se aprecia una banda de intensidad fuerte correspondiente a carbonilo en C-17a y sobresale una señal de alargamiento de C=O en 1652 $cm^{-1}$ de intensidad fuerte la cual se asignó al carbonilo $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ insaturado en C-3.

El análisis por RMN $^1H$ (espectro 22) las señales de los protones de los metilos permanecen constantes, así como los de los protones aromáticos cerca de 7.3 ppm. Cabe resaltar que en el espectro se aprecia la generación de la especie 4,6-dien-3-ona ya que desapareció la señal múltiple en 3.52 ppm asignada al

protón base del oxhidrilo en C-3, y en su lugar se observa en la zona de los protones vinílicos tres señales: una simple que integra para un protón en 5.69 ppm asignada al protón vinílico en C-4 $\alpha$ al carbonilo generado y otras dos doble de doble en 6.18 y 6.31 ppm las cuales forman parte de un sistema. La primera señal de dicho sistema que integra para un protón, se asignó al protón vinílico en C-6 y la segunda que integra para un protón fue signada al protón en C-7. Este último protón se encuentra desprotegido en consecuencia al carácter electropositivo del carbono C-7 inducido por la resonancia que ejerce el carbonilo en el sistema 4,6-dien-3-ona.

En RMN $^{13}C$ normal y DEPT (espectros 23 y 24) también se aprecia la especie 4,6-dien-3-ona, puesto que en la región de los carbonilos a demás de la señal en 217.21 ppm asignada al carbonilo en C-17a, se aprecia otra en 199.22 ppm indicativa del grupo carbonilo generado en C-3 por la oxidación del alcohol, y desapareció la señal en 71.15 ppm asignada al mismo carbono base de un alcohol para el compuesto VI. En la zona de los protones vinílicos se pudo observar la presencia del sistema de carbonos diénicos generados, puesto que la señal en 123.13 ppm se asignó a C-4, para C-6 se asignó la señal en 129.13 ppm, para el C-7 se asignó la señal en 137.68 ppm y para el C-5 (vinílico y cuaternario) se asignó la señal en 162.23 ppm. Los 5 carbonos metínicos del grupo $\beta$-fenilo aparecen como tres señales de intensidad diferente en el espectro DEPT, la señal en 127.02 ppm corresponde al carbono en para, la señal en 127.96 ppm se asignó a los metinos en orto, mientras que la señal en 129.06 ppm corresponde a los

metinos en meta. La señal correspondiente al carbono ipso del grupo β-fenilo se observó en 139.30 ppm.

En EMIE (espectro 25) se encontró un ion molecular en 404 m/z correspondiente al peso molecular de **VII** y al pico base. El pico en 376 unidades m/z es generado por la contracción del anillo D mediante la descarboxilación (-CO). Por la pérdida de 15 unidades m/z ($CH_3$) se generó el pico en 361 m/z. Debido a la deshidratación (-$H_2O$) de este último fragmento se formó el pico en 343 m/z. Entre otras señales se observó la presencia del ion tropilio en 91 unidades m/z, indicando la presencia del grupo β-fenilo.

La última etapa de la síntesis consistió en la esterificación del alcohol en C-17 para obtener el compuesto final (**VIII**). La reacción se llevó a cabo empleando ácido valérico, anhidrido trifluoroacético y el ácido p-toluensulfónico como catalizador. [14,27] En la primera etapa de la reacción se formó el anhídrido mixto valeroil-trifluoroacético que reaccionó con el alcohol en C-17 del esteroide, originando un éster nuevo no reportado en la literatura: 16β-Fenil-17βmetil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). Su estructura se elucidó por sus propiedades físicas y los datos espectroscópicos encontrados experimentalmente. El rendimiento proporcionado por la reacción fue del 70%.

El cromóforo 4,6-dien-3-ona se determinó por espectroscopía de UV (espectro 26), en donde se observó un máximo de absorción en 282.10 nm.[30]

El espectro de IR (espectro 27) corroboró la esterificación del hidroxilo α en C-17 debido a la desaparición de la banda de alargamiento en 3445 $cm^{-1}$ correspondiente al alcohol libre, por otra parte se observó una banda nueva en

1727 $cm^{-1}$ asignada al carbonilo del éster valérico y las correspondientes bandas de alargamiento C-O en 1375 y 1266$cm^{-1}$ del mismo éster. Se observaron bandas características del alargamiento C-H de tipo aromático en 3030 $cm^{-1}$ y de tipo $CH_3$- y -$CH_2$- en 2950 $cm^{-1}$. Se observó una señal en 1712 correspondiente al carbonilo de cetona en C-17a. La señal característica del grupo 4,6-pregnadien-3-ona se observó en 1663 $cm^{-1}$. Con las bandas en 1617 y 1583 $cm^{-1}$ de tensión C=C se confirma nuevamente la presencia de dieno conjugado y anillo aromático.[30]

En el espectro de RMN $^1H$ (espectro 28) se corrobora la presencia del éster valérico ya que a demás de la señales de los protones de los metilos C-18, C-19 y en C-17 (1.11, 1.12 y 1.26 ppm respectivamente), se registró otra señal en 0.93 ppm que también integra para 3H la cual se asignó a los protones del metilo del éster (C-5'). Aparece otra señal que integra para 6H en 2.38 ppm y se asignó a los protones de los metilenos de la cadena del éster (C-2', C-3' y C-4'). Las señales restantes que producen los grupos funcionales presentes en el esteroide permanecen constantes.[30]

En el análisis por RMN $^{13}C$ normal y DEPT (espectros 29 y 30) para **VIII** también se corroboró la esterificación del alcohol $\alpha$ en C-17, puesto que en la región de los carbonilos además de las señales en 199.48 y 211.76 ppm correspondientes a los carbonilos en C-3 y C-17a, también se observó otra en 173.17 ppm la cual se asignó al carbonilo del éster valérico. La señal para C-17, que es base de un metilo y el éster, se vio desplazada a un campo mas bajo (83.56 ppm). Las señales para el sistema de carbonos diénicos (C-4, C-5, C-6 y C-7) continuaron apareciendo en la zona de carbonos vinílicos, así como también las

de los carbonos del grupo β-fenilo en C-16 y la del C-16 base del grupo fenilo Además de las señales para los carbonos de los metilenos C-1, C-2, C-11, C-12 y C-15, se aprecian nuevas señales en 22.23, 26.74 y 34.45 ppm las cuales se asignaron a los carbonos de los metilenos de la cadena del éster en C-4', C-3' y C-2' respectivamente.[30]

En EMIE (espectro 31) se observó un ion molecular en 488 m/z que confirma el peso molecular de **VIII**. A partir de ésta señal y por la pérdida de 88 unidades m/z correspondientes a la entidad ($CH_3(CH_2)_3COOH$) se originó el pico en 404 m/z. La pérdida de 17 unidades m/z (-OH) dio lugar al pico en 386 m/z. La subsecuente pérdida de 28 unidades (-CO) originó el pico en 343 m/z. El pico en 343 unidades es originado a partir de la pérdida de 15 unidades m/z ($-CH_3$). El pico base aparece en 174 m/z. Se observó también la presencia del ion tropilio en 91 m/z.

## 5.2 PARTE BIOLÓGICA.

### 5.2.1 Efecto del esteroide sobre el peso el peso de las vesículas seminales.

La evaluación del efecto antiandrogénico *in vivo* del producto final y algunos intermediarios se llevó a cabo primeramente empleando el bioensayo en vesículas seminales en Hámsters. La prueba está basada en el hecho de que la enzima 5α-reductasa tipo II presenta un efecto más acentuado sobre los tejidos que expresan esta isoenzima dentro de los cuales encontramos la próstata y las vesículas seminales. Por lo anterior, los compuestos capaces de inhibir dicha isoenzima reducen el peso de las vesículas seminales. Los resultados obtenidos, mostrados en la tabla 9 y la figura 6, indicaron que cuando los animales (hámsters gonadoctemizados previmente) son sometidos al tratamiento con T, ésta realiza su función androgénica aumentando el peso de las vesículas seminales. En este bioensayo se evaluaron los intermediarios **I-VII**, el producto final **VIII**, así como el producto **IX** [22] sintetizado previamente en nuestro laboratorio.

El intermediario **VII** es un D-homo derivado del pregnano de la serie de compuestos que presentan un grupo β fenilo en C-16 y el sistema 4,6-dien-3-ona, el cual presenta un carácter antiandrogénico muy marcado con respecto a la Finasterida. Sin embargo, al llevar a cabo la esterificación del alcohol en C-17 de este intermediario con ácido valérico para la obtención de 16β-Fenil-17βmetil-17α-valeroioloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**), o con ácido benzóico para obtener 17α-Benzoiloxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**IX**) [22], se observó una disminución en la actividad

antiandrogénica al esterificar con un ácido alifático con respecto al ácido aromático

**5.2.2 Efecto del esteroide en la inhibición del crecimiento de los órganos flanco.**

Anteriormente se mencionó que la enzima 5α-reductasa presenta dos isoformas, la tipo I encontrada en piel y la isoforma tipo II encontrada en próstata y vesículas seminales. Por lo cual el bioensayo de los órganos flanco (nódulos en la piel dorsal de los Hámsters) permitió evaluar el efecto inhibitorio del esteroide sobre la isoenzima tipo I. El bioensayo se fundamenta en lo siguiente: en los órganos flanco se lleva a cabo la transformación de testosterona a dihidrotestosterona y dicha conversión se manifiesta por el aumento en el tamaño (diámetro) de estos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 10 y la figura 7, se observó que al administrar T se registra un diámetro de 4.25 mm el cual es el mayor registrado, debido a que T ejerció su efecto androgénico. Pero cuando se administró finasterida a demás de T se vió un efecto antiandrogénico disminuyendo el diámetro de la zona pigmentada a 3.00 mm.

En esta evaluación se observó que los intremediarios **I-VII** no presentan un efecto antiandrogénico apreciable sobre la isoenzima tipo I con respecto a la Finasterida,[14,15] por lo que solamente se presenta en la figura 7 el producto final de la síntesis 16β-Fenil-17βmetil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**) encontrándose que presenta una actividad inhibitoria considerable frente la isoenzima 5α-reductasa tipo I (diámetro de la zona pigmentada: 3.9

mm) mayor que el control (Finasterida (Proscar)). Este resultado puede deberse a que el esteroide sintetizado presenta en su estructura un grupo β fenilo en C-16, el éster valeroiloxi en C-17 α orientado y el sistema conjugado 4,6-dien-3-ona, los cuales como ya se mencionó anteriormente incrementan la actividad antiandrogénica.

## 6. CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó la síntesis y evaluación farmacológica de un compuesto nuevo derivado del D-homopregnano: 16-βFenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).

La síntesis de dicho compuesto no ha sido reportada anteriormente por lo cual se caracterizó mediante sus propiedades físicas (p.f, apariencia) y datos espectroscópicos (UV, IR, RMN $^{1}H$, RMN $^{13}C$ y EMIE).

Se efectuó la evaluación biológica *in vivo* del compuesto sintetizado y de acuerdo con los resultados obtenidos se estableció lo siguiente:

- La presencia de un grupo fenilo β-orientado en C-16 así como el sistema conjugado 4,6-dien-3-ona en la estructura del producto VIII, ejerce una actividad antiandrogénica, siendo aún más activo que Finasterida.
- Ahora bien cuando aumentamos el volumen estérico en el anillo D a través de la introducción del éster valérico en C-17 α-orientado, la actividad antiandrogénica permanece aunque se observó una disminución.

Los resultados de la evaluación farmacológica en la prueba de los órganos flanco muestran que el compuesto VIII presenta una actividad inhibitoria frente a la enzima 5α-reductasa tipo I, mostrando una mayor actividad que Finasterida. Los estudios de actividad de este derivado deberían concentrarse frente a la isoenzima tipo I.

## 7. BIBLIOGRAFÍA


1. Tortora G., Anagnostakos N., "Principios de Anatomía y Fisiología", Editorial Harla. 3ª Edición. México, D.F., 1984.
2. Cesorsimo R., Carr D., Therapy Update: Am. J. Health-Syst Pharm., (1996), v. 53 : 381.
3. Brueggemeier R.W., "Male sex hormones analogs and antagonists" in Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, John Wiley Inc., 5ª Ed. USA, 1996. Capítulo 42.
4. Drugs of Today 1995, v. 31: 537-544.
5. Tayler V., "Pharmacognosy", Editorial Lea & Febiger, 8ª Ed. Philadelphia, USA, 1981. Capítulo 7.
6. Shulster D., Burstein s. and Cooke B. A., Molecular endocrinology of Steroid Hormones, Wiley, London 1976
7. Bratoeff E., Flores G., Ramírez E., Valencia N., Chimica Oggi/Chemistry today.(1997), v.15, 67-69.
8. Holt D., Levy M., J.Med.Chem, (1990), v. 33, 943.
9. Labrie F., Sugimoto Y., Endocrinology, (1992), v. 131, 1571.
10. Isaacs J., Drugs of today, (1993), v 29, 335.
11. Shankar M., Li X., Leplante S., J.Med.Chem, (1995), v. 38 : 1456.
12. Jepsen J., Bruskewitz R., Drugs of today, (1998), v. 34 : 353.
13. The Merck Index, 12th Edition. Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, NJ.

14. Bratoeff E., Flores G., Ramírez E., Calderón D. y Hernández E. Rev. Mex. Cienc Farm. (1997), v. 28, 13-19.

15. Bratoeff E., Rubio M., Ramírez E., Flores G., García J. y Ramírez G. Chemistry Today. (1998) November/december, p.33-35.

16. Cabeza M., Gutierrez E., Miranda R., Hueze I., Breatoeff E., Flores G. y Ramírez E. Steroids. 1999, v. 64, 413-421.

17. Bratoeff E., Ramírez E., Murillo E., Flores G. and Cabeza M. Current Medicinal Chemistry. (1999) v.6, p.1107-1123.

18. Bratoeff E., Herrera H., Ramírez E., Solórzano K., Murillo E., Quiroz A. y Cabeza M. Chemical Pharmaceutical. Bulletin. (2000), v. 48 (9), 1249-1255.

19. Cabeza M., Quiroz A., Heuse I., Bratoeff E., Herrera H., Ramírez E., Murillo E. y Proc. West. Pharmacological Soc. (2000), v. 43, 1-2.

20. Cabeza M., Heuze I., Bratoeff E., Ramírez E. y Martínez R. Chemical Pharmaceutical. Bulletin. (2001), v. 49, 525-530.

21. Valencia N., Síntesis de derivados del pregnano con un grupo fenilo en configuración β en C-16 como antiandrógenos potenciales para el tratamiento del cáncer de próstata. Tesis de Maestría en la Facultad de Química, UNAM 1997.

22. Herrera H., Síntesis y evaluación antiandrogénica de nuevos derivados del D-Homopregnano: 17α-Benzoiloxi-16β-fenil-6-halo-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona. Tesis de maestría en la Facultad de Química, UNAM 1999.

23. Shapiro E. L., Weber L., Harris H. J. Med. Chem, 1972, 15: 716-720.

24. Soriano M., Hernández S., Bratoeff E., Valencia N., Ramírez E and Flores G. J.Chem Cryst. 1998, 28 (6): 487-491

25. Bratoeff E., Trejo A., Hernández J., Rev.Mex.Ciencias Farm., (1992), v. 22, 14.

26. Muller J. Steroids (1979), v. 34, 793

27. Ramírez E. Síntesis de 6-Halo-16β-metil-17α-valeriloxi-4,6-pregnadien-3,20-diona como antiandrógenos. Tesis de maestría en la Facultad de Química, UNAM 1998.

28. Sánchez N., Síntesis de 17α-butiroiloxi-16β-metil-pregna-4,6-dien-3,20-diona como un antiandrógeno esteroidal. Tesis de licenciatura en la Facultad de Química, UNAM 2000

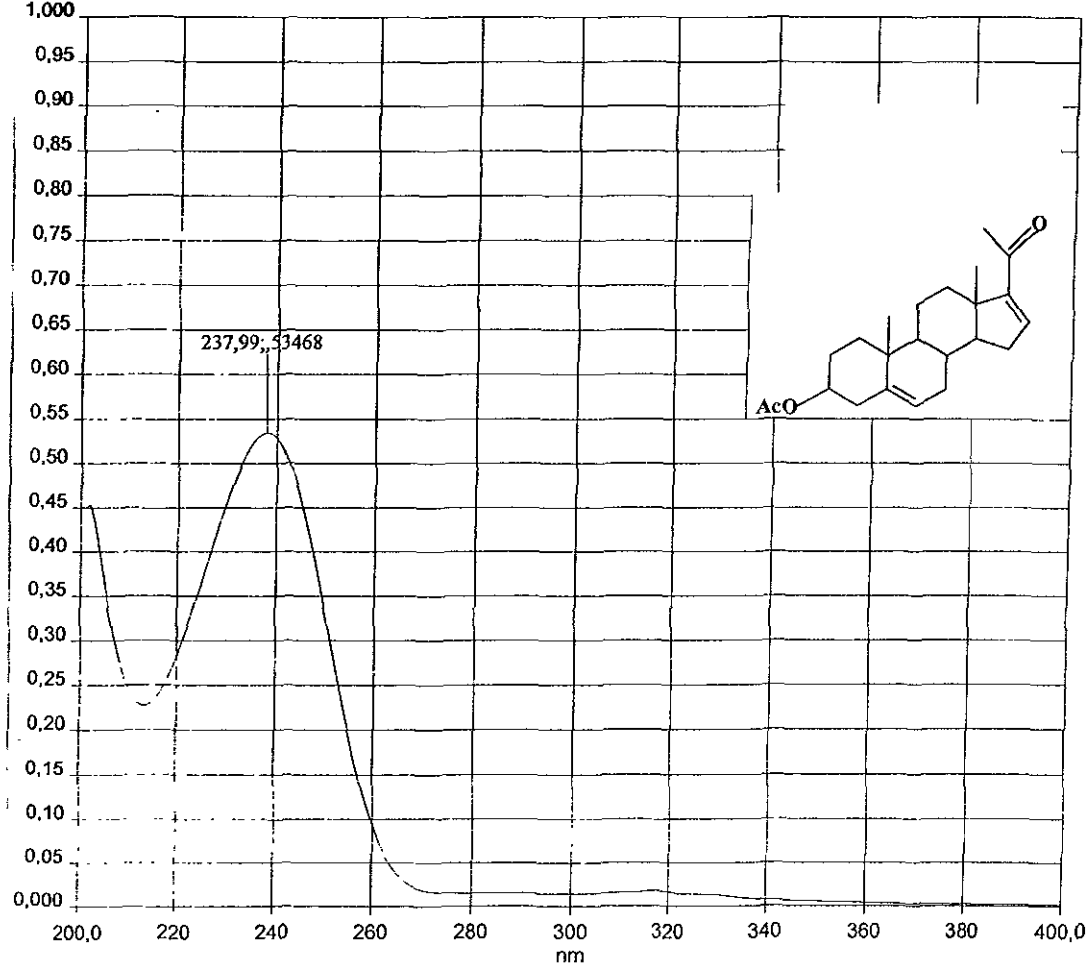
29. Vermoken AJM, Goos, CMAA, Wirtz P. Br. J. Dermatol , 106. P. 99-101 1982.

30. Pretsch E., Clerc T., Seibl J. and Simon W. Tables of Spectral Data for Stucture Determination of Organic Compounds., Springer-Verlag. Second Edition. USA 1989.

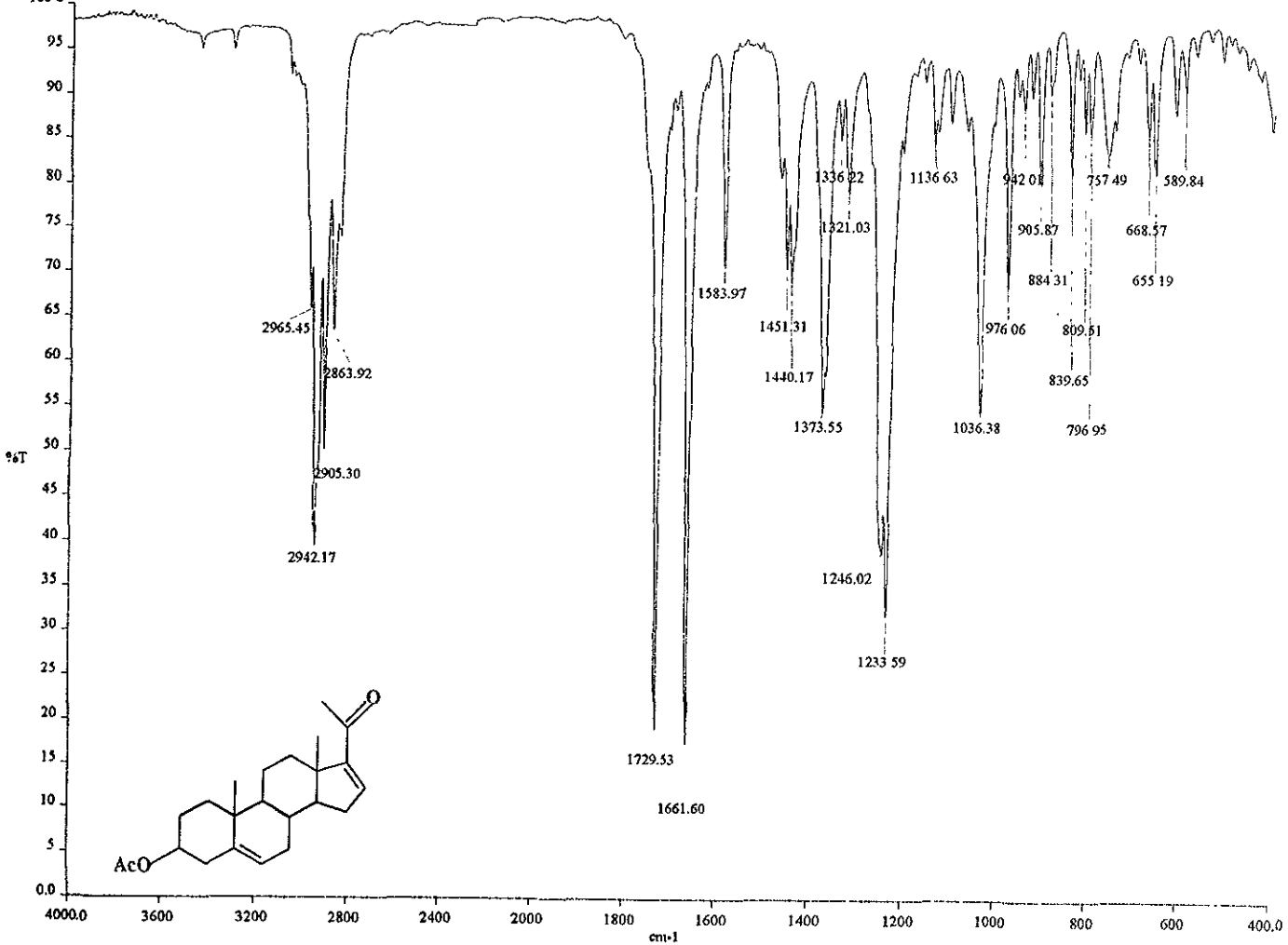
## 6. ANEXO EXPERIMENTAL: LISTA DE ESPECTROS.


| Espectro | Contenido | Página |
|---|---|---|
| 1 | Ultravioleta de la materia prima: Acetato de 16-dehidropregnenolona (**I**). | **66** |
| 2 | Infrarrojo de la materia prima. Acetato de 16-dehidropregnenolona (**I**). | **67** |
| 3 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ de la materia prima: Acetato de 16-dehidropregnenolona (**I**). | **68** |
| 4 | Infrarrojo del compuesto 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (**II**). | **69** |
| 5 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (**II**). | **70** |
| 6 | Infrarrojo del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (**III**). | **71** |
| 7 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (**III**). | **72** |
| 8 | Infrarrojo del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno (**IV**). | **73** |
| 9 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno (**IV**). | **74** |
| 10 | Infrarrojo del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | **75** |
| 11 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | **76** |
| 12 | Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | **77** |
| 13 | DEPT del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | **78** |
| 14 | Espectrometría de Masas del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (**V**). | **79** |
| 15 | Infrarrojo del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (**VI**). | **80** |
| 16 | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (**VI**). | **81** |
| 17 | Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (**VI**). | **82** |
| 18 | DEPT del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (**VI**). | **83** |
| 19 | Espectrometría de Masas del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (**VI**). | **84** |
| 20 | Ultravioleta del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**VII**). | **85** |
| 21 | Infrarrojo del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**VII**). | **86** |

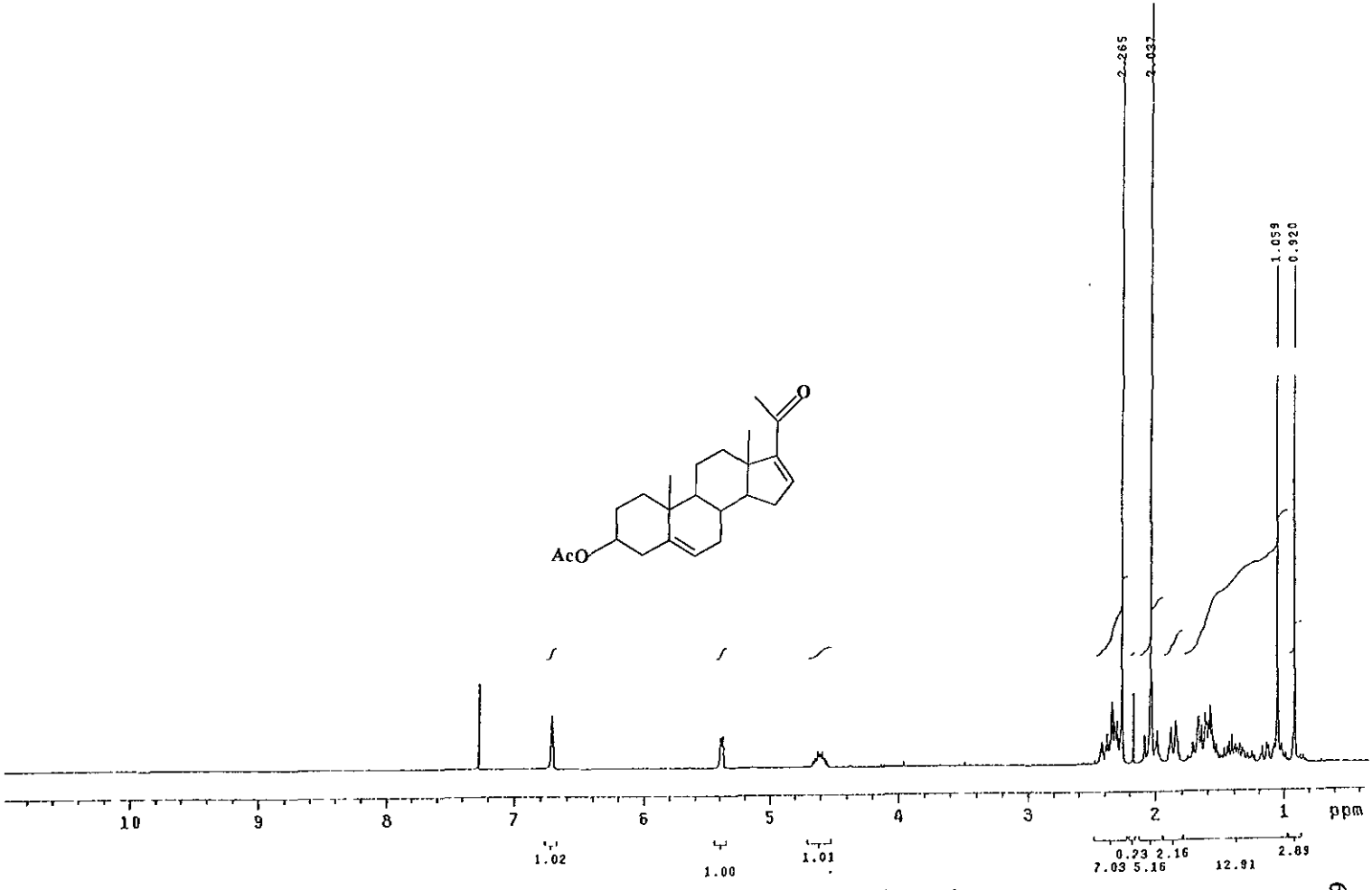
| | | |
|---|---|---|
| **22** | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17 a-diona (**VII**). | **87** |
| **23** | Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17 a-diona (**VII**) | **88** |
| **24** | DEPT del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (**VII**). | **89** |
| **25** | Espectrometría de Masas del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17 a-diona (**VII**). | **90** |
| **26** | Ultravioleta del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **91** |
| **27** | Infrarrojo del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **92** |
| **28** | Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **93** |
| **29** | Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **94** |
| **30** | DEPT del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **95** |
| **31** | Espectrometría de Masas del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (**VIII**). | **96** |



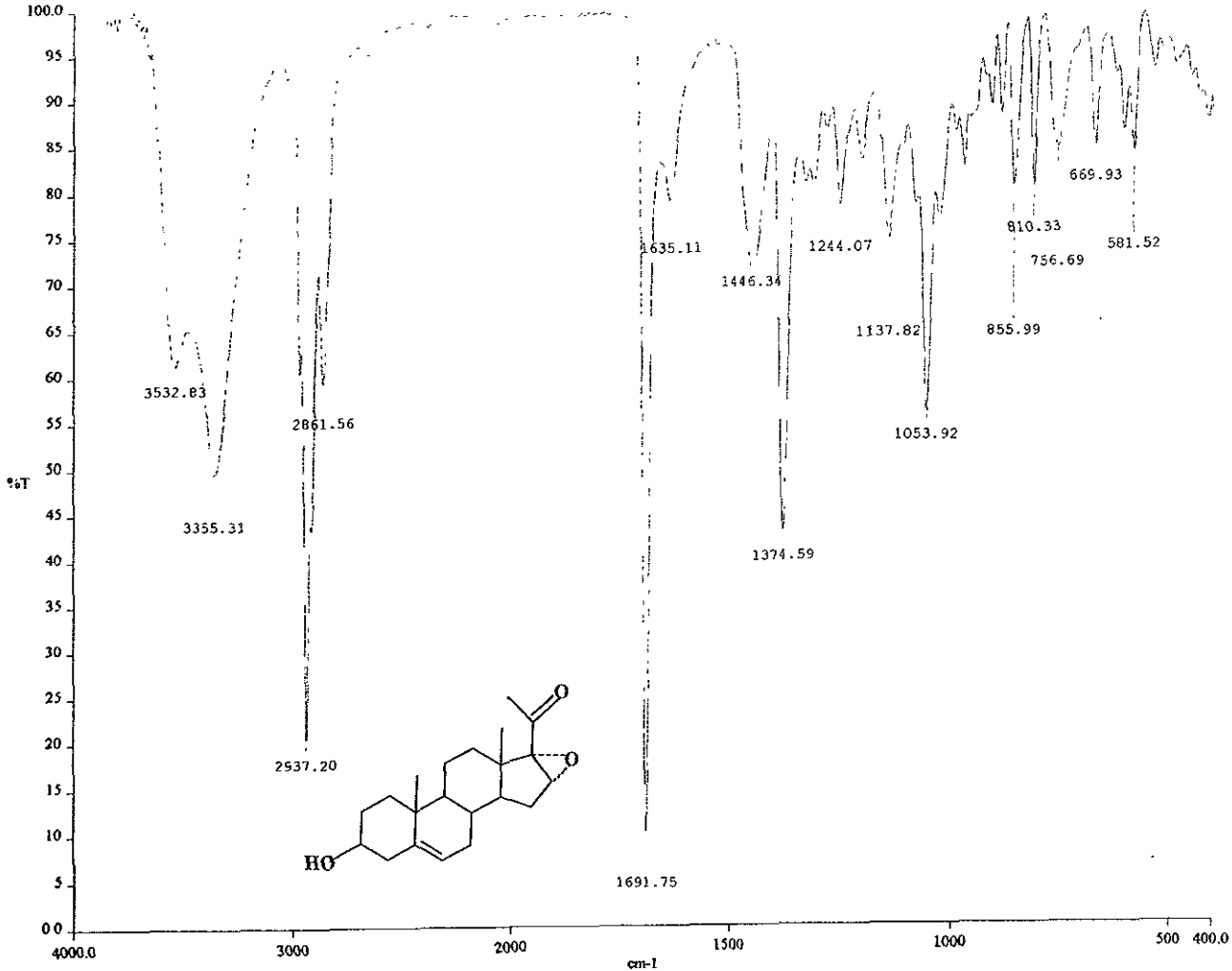

ESPECTRO 1. Ultravioleta de la materia prima: Acetato de 16-dehidropregnenolona (I).



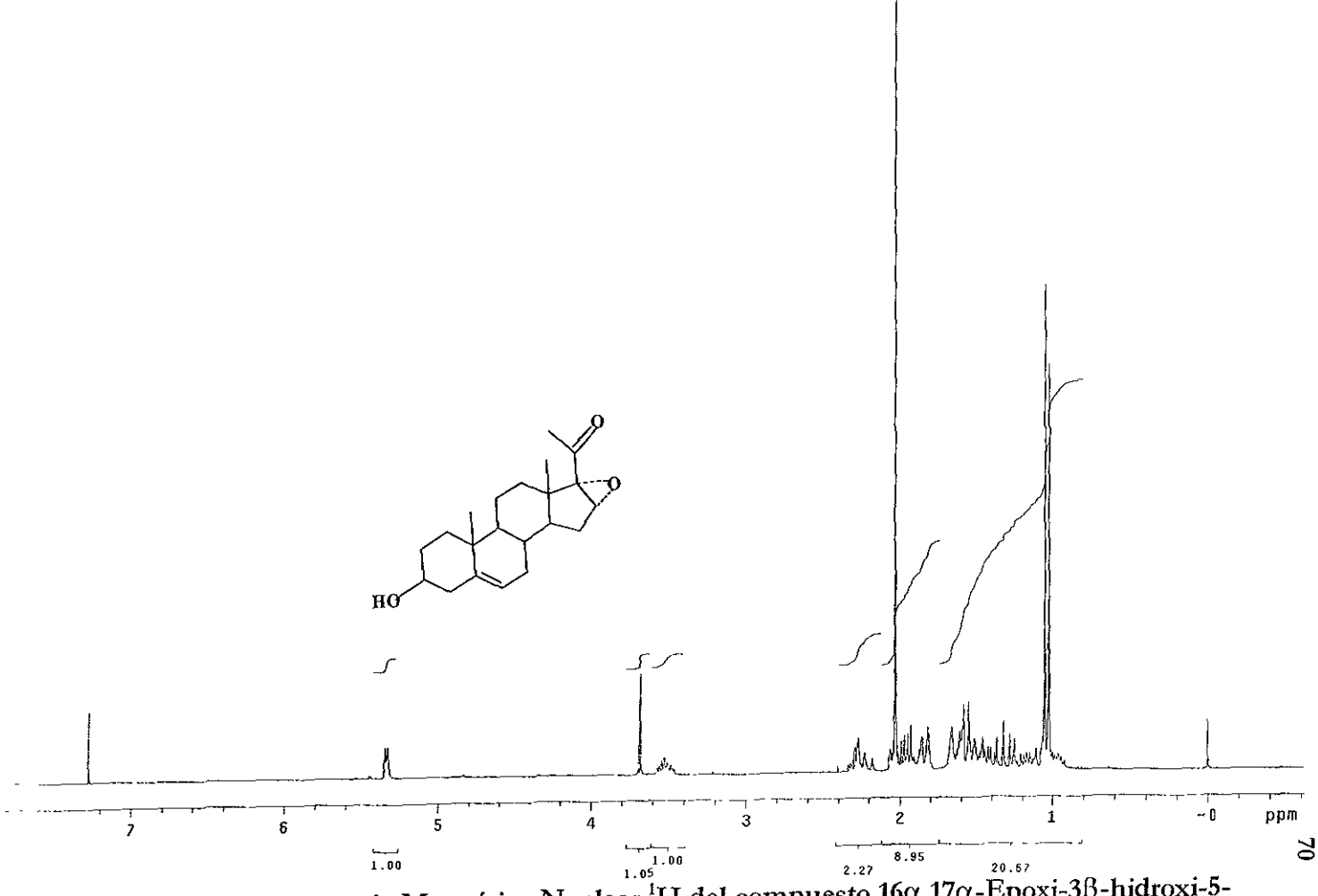

ESPECTRO 2. Infrarrojo de la materia prima: Acetato de 16-dehidropregnenolona (I).



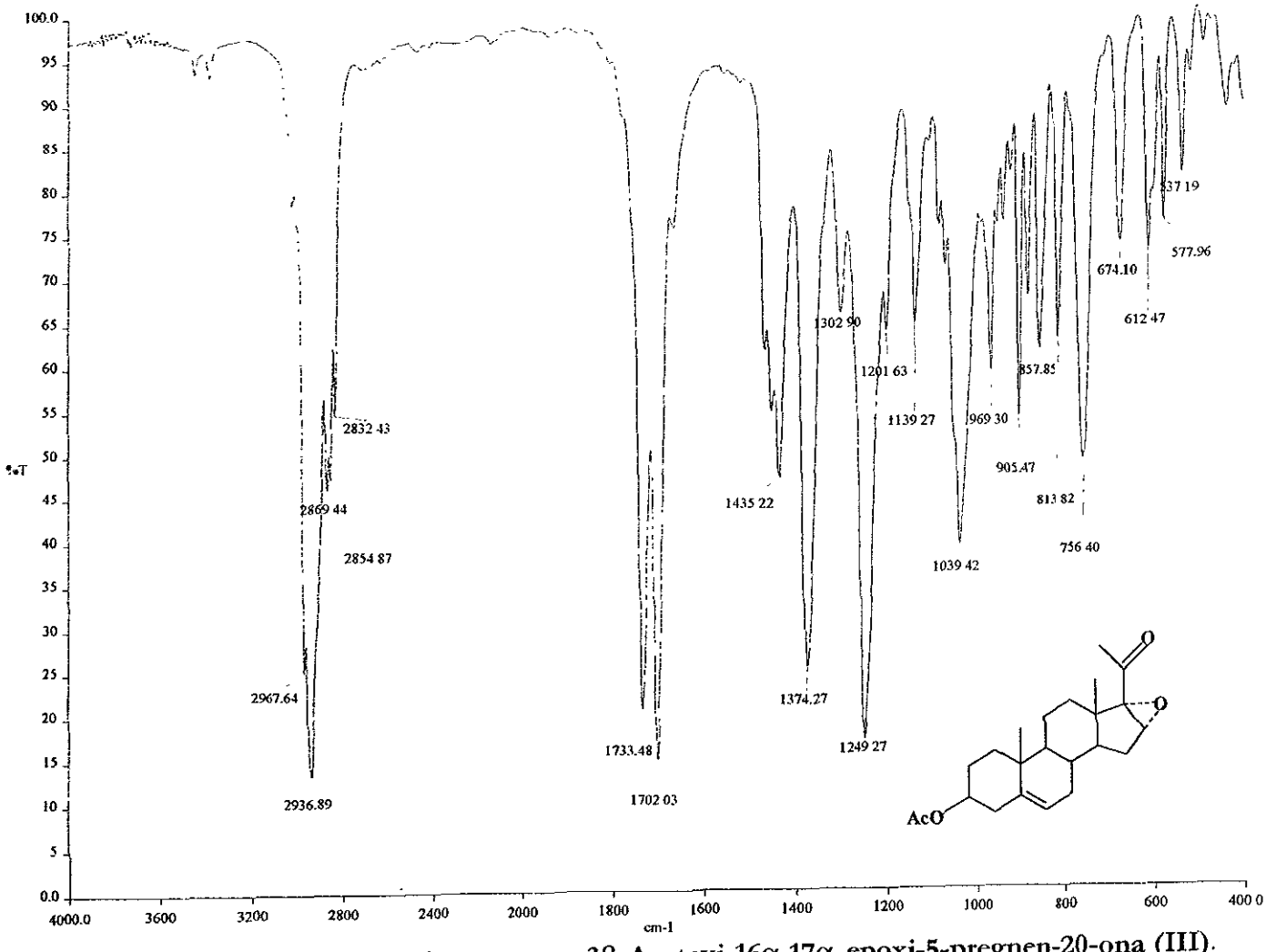

**ESPECTRO 3. Resonancia Magnética Nuclear de la materia prima: Acetato de 16-dehidropregnenolona (I).**



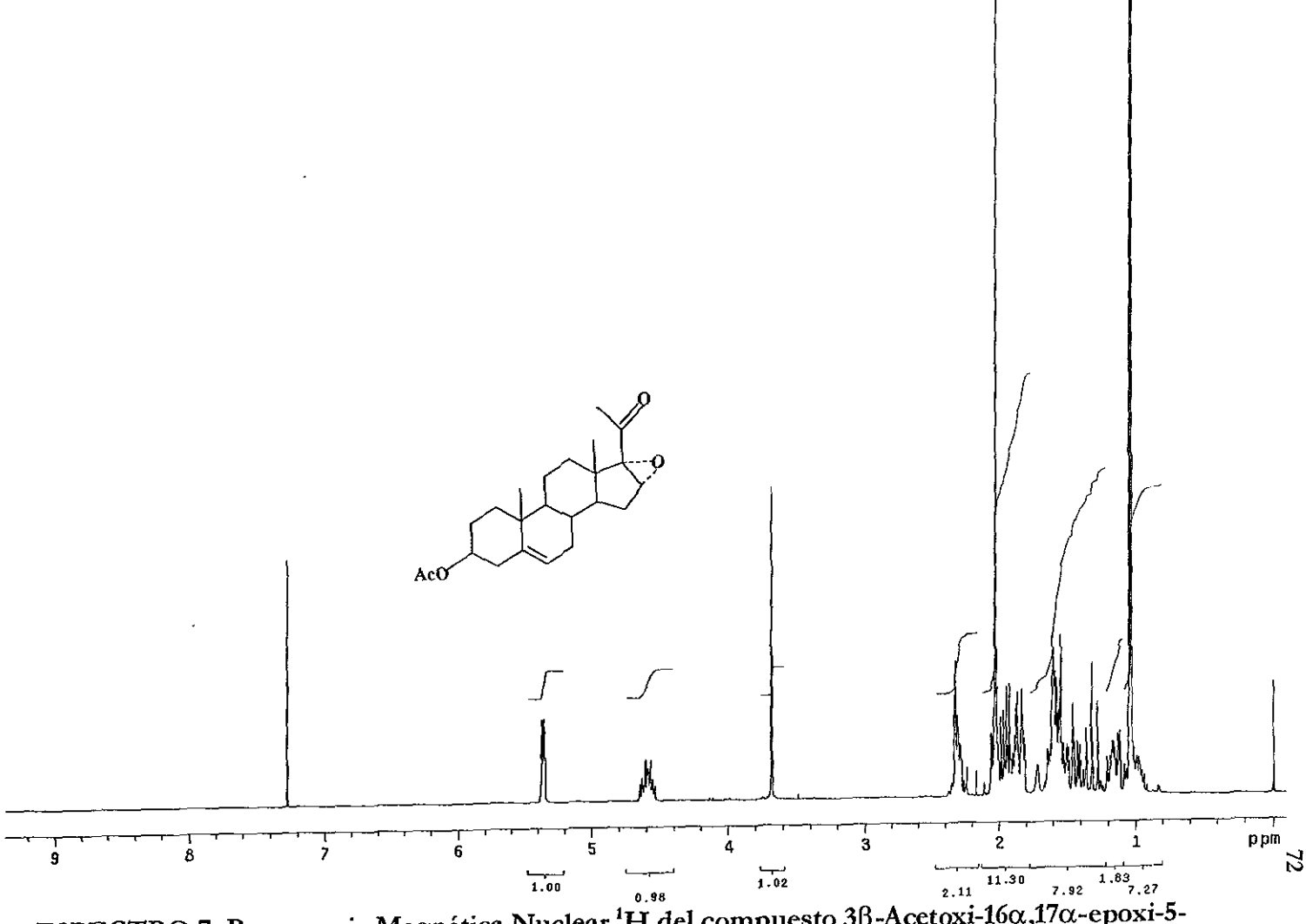

ESPECTRO 4. Infrarrojo del compuesto 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (II).



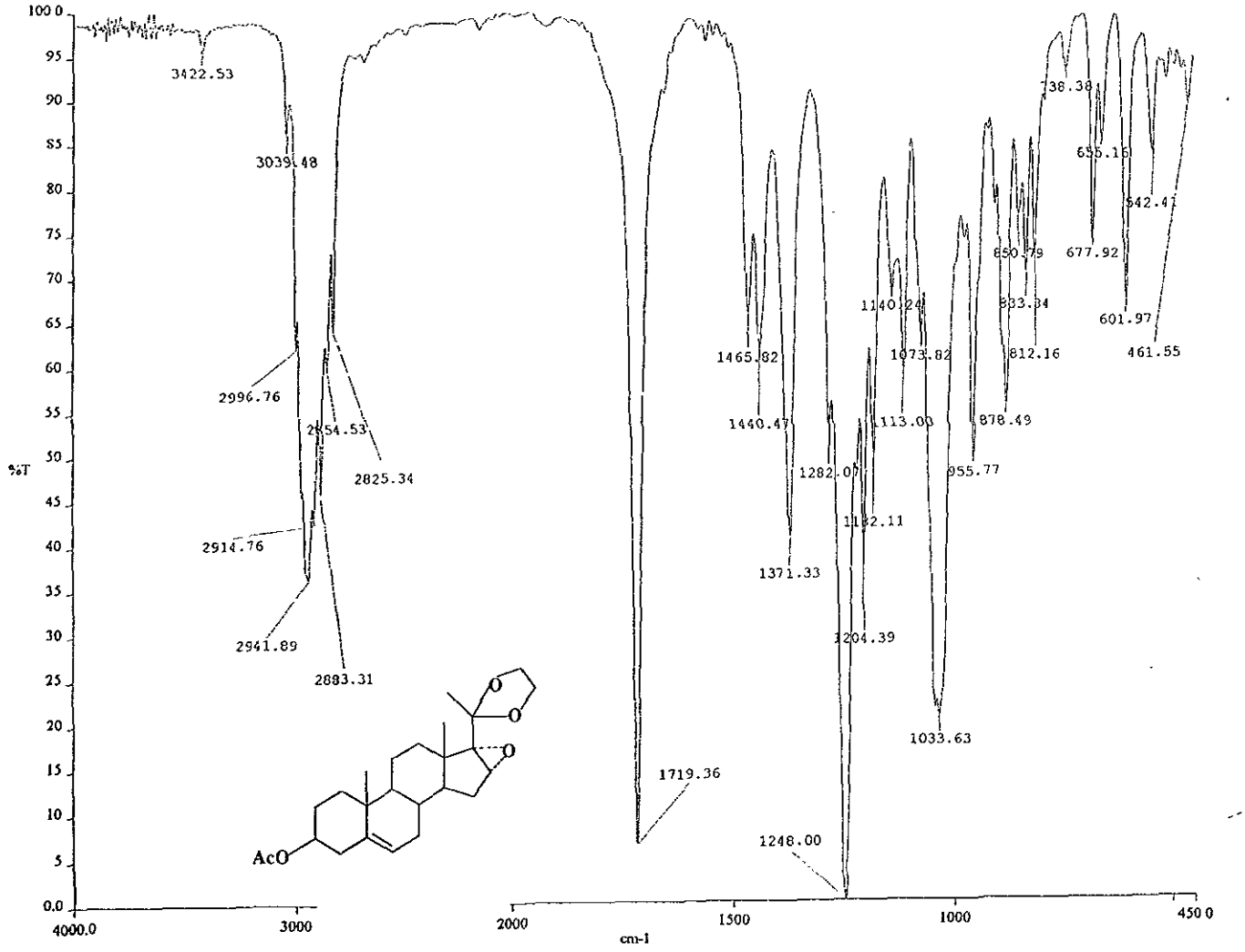

ESPECTRO 5. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16α,17α-Epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (II).



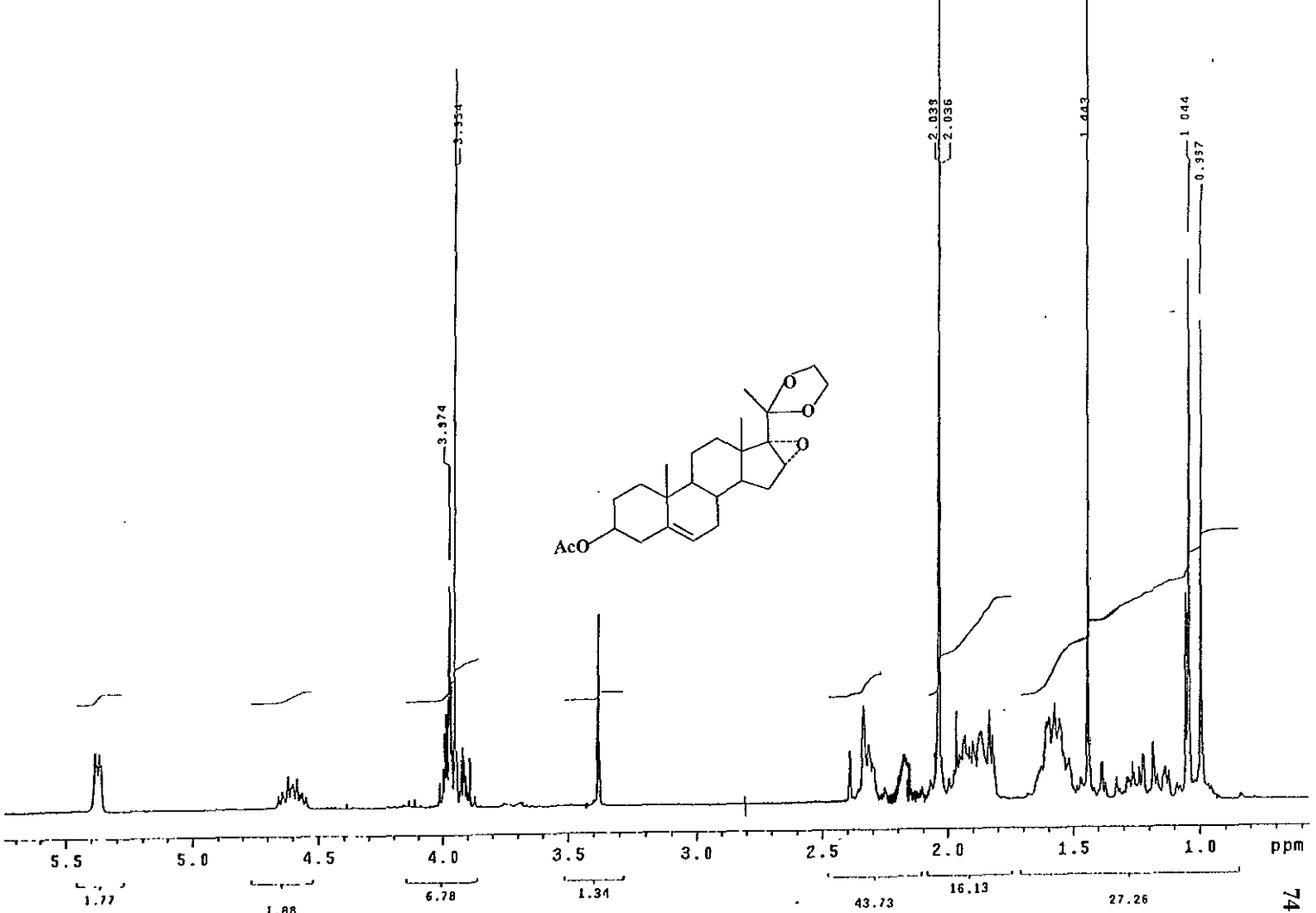

ESPECTRO 6. Infrarrojo del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (III).



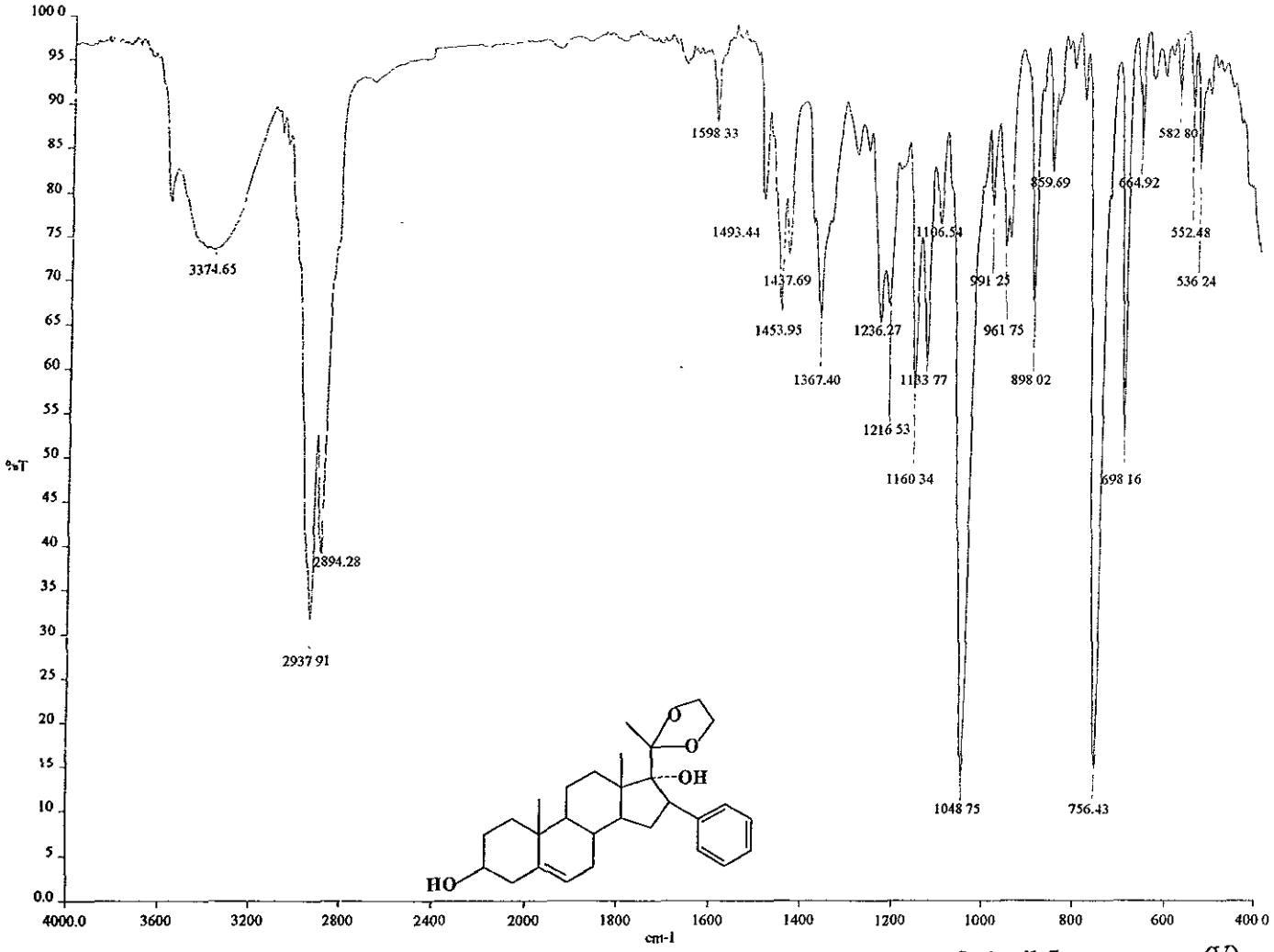

ESPECTRO 7. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona (III).



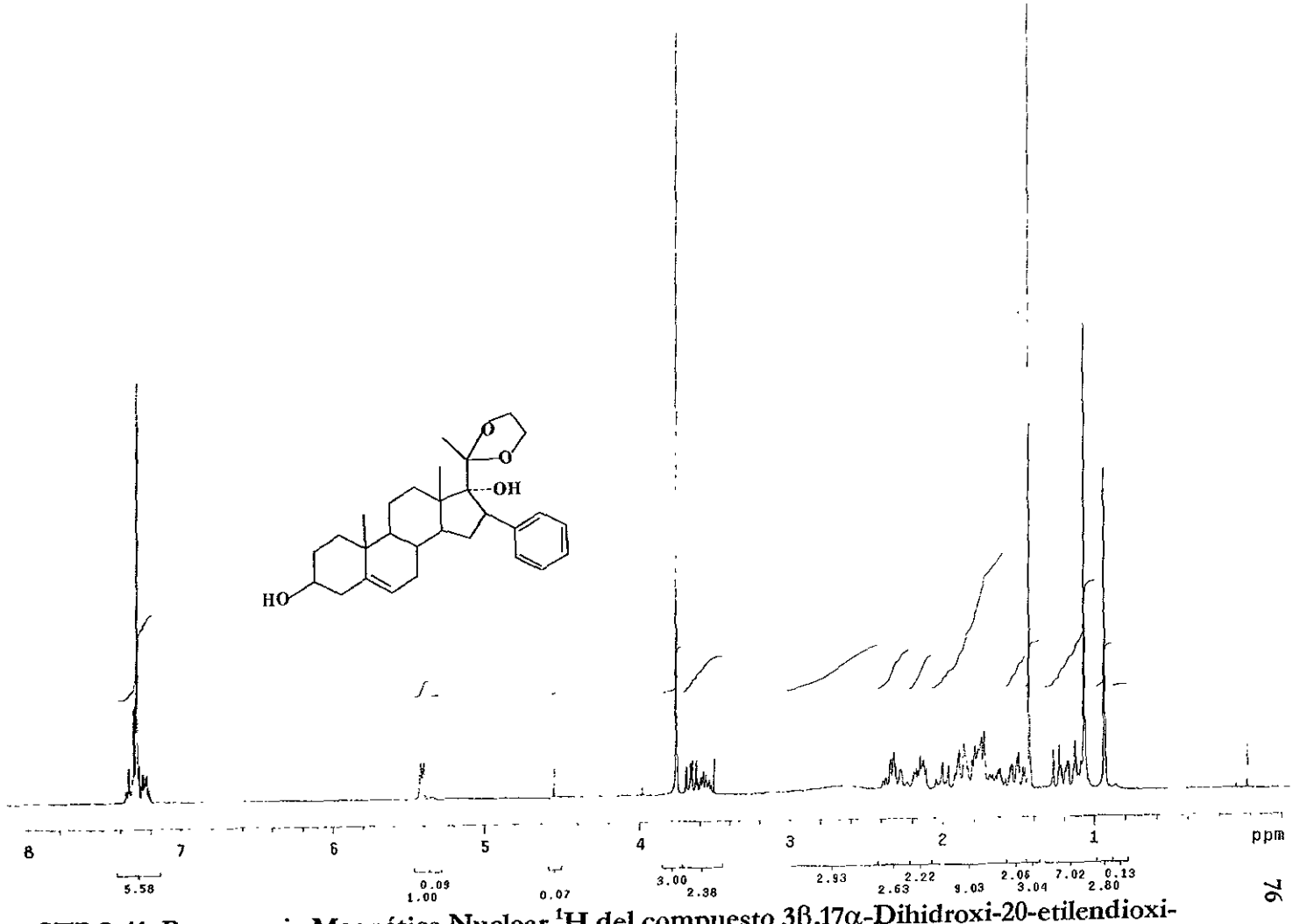

ESPECTRO 8. Infrarrojo del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno (IV).



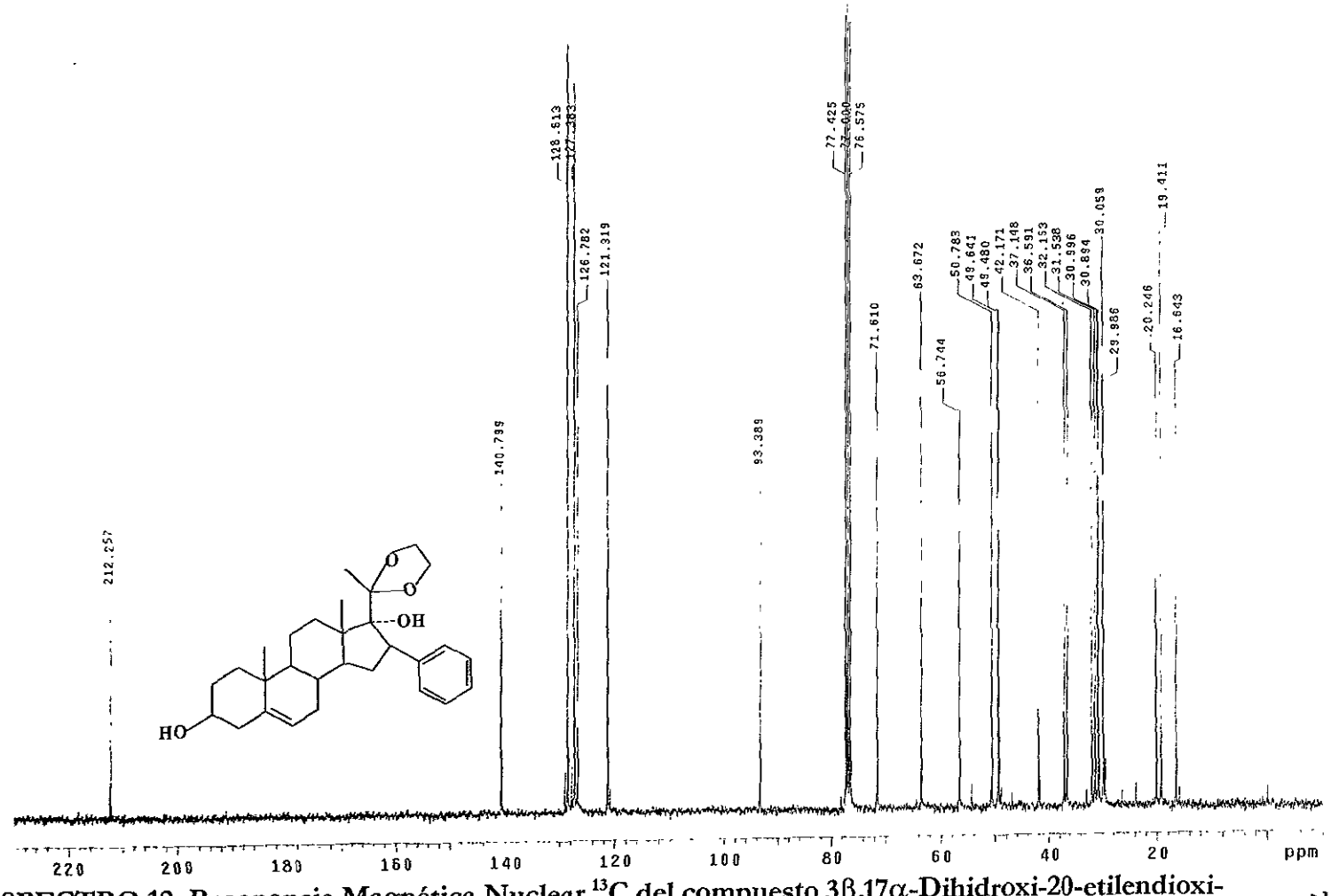

**ESPECTRO 9. Resonancia Magnética Nuclear $^1$H del compuesto 3β-Acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno (IV).**



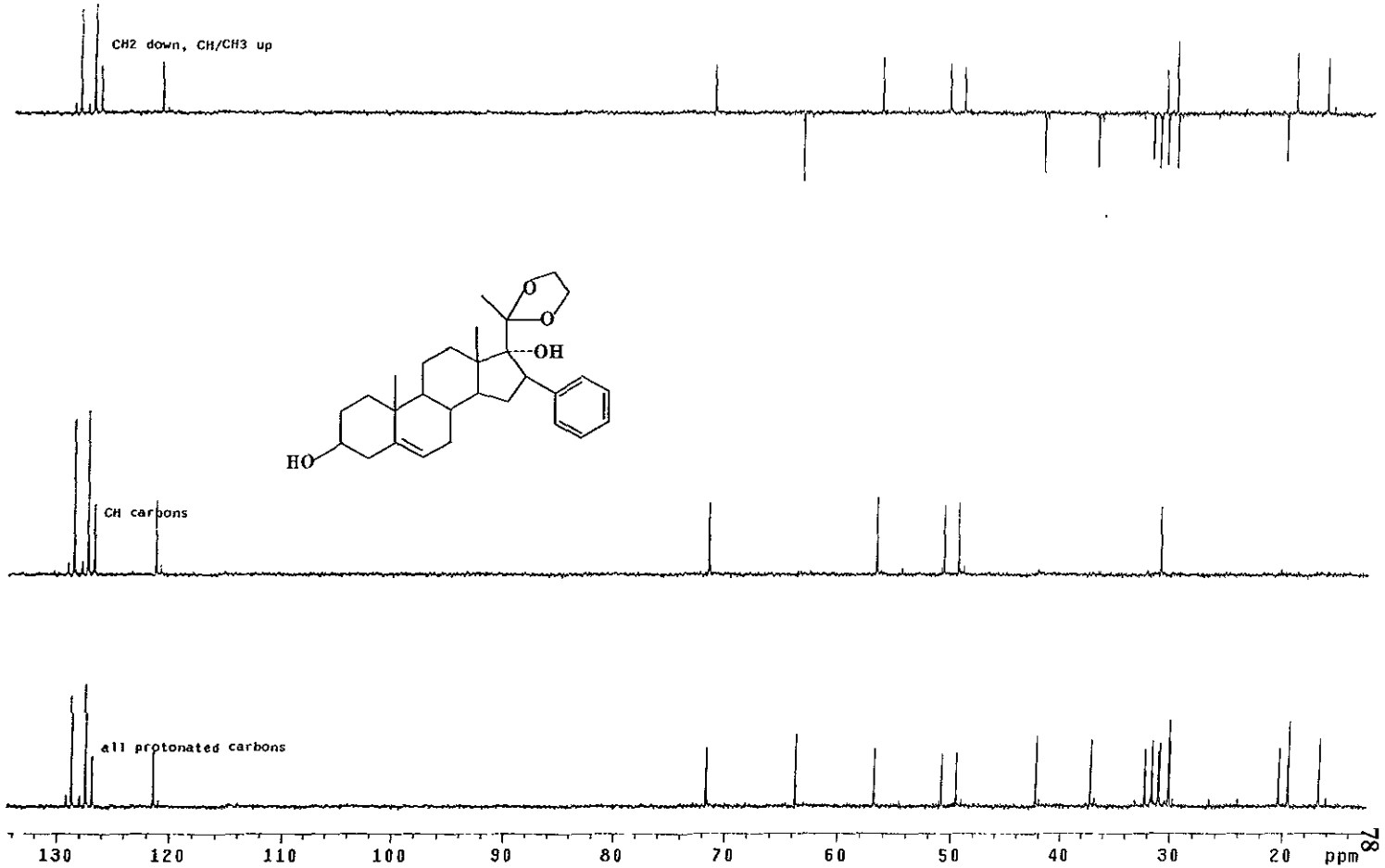

ESPECTRO 10. Infrarrojo del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).



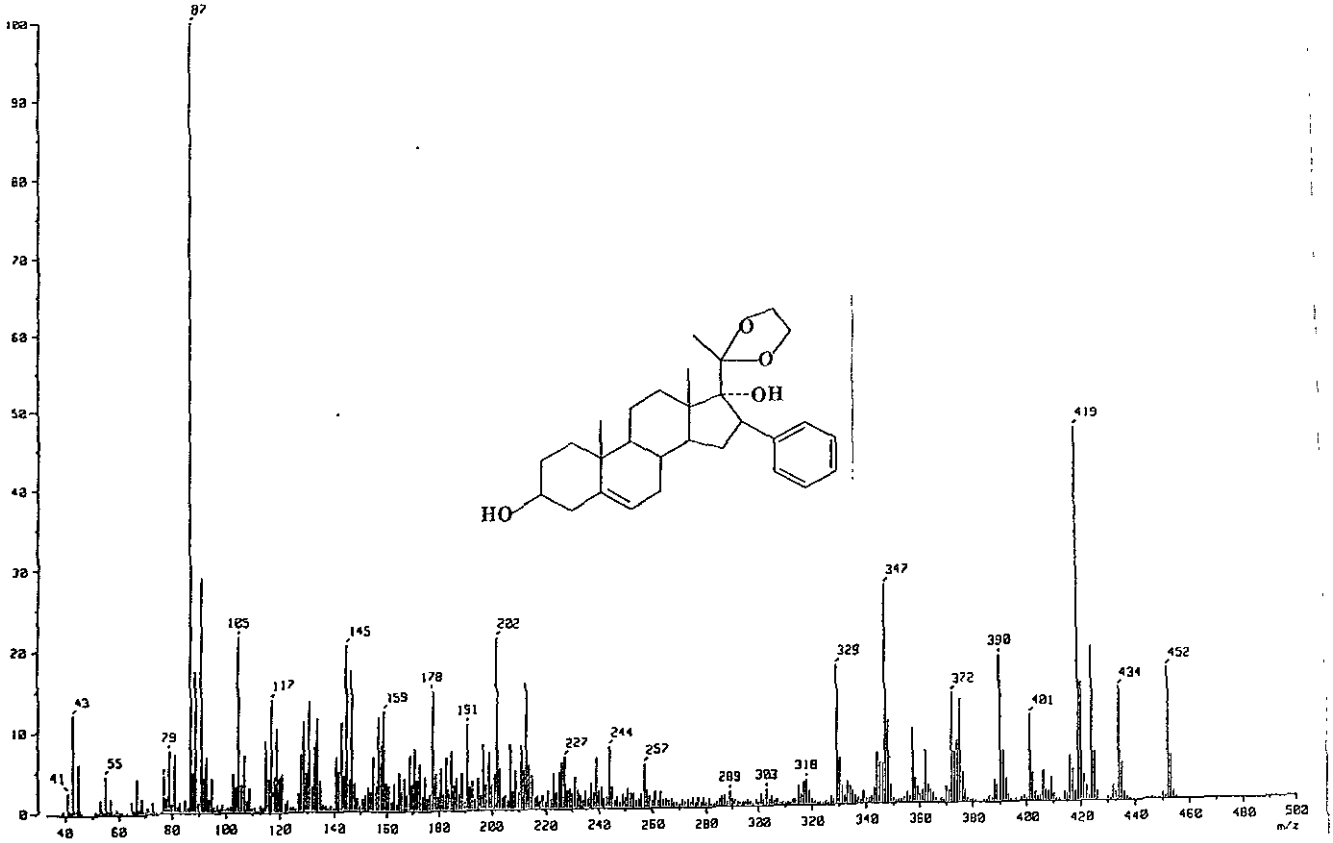

**ESPECTRO 11. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).**



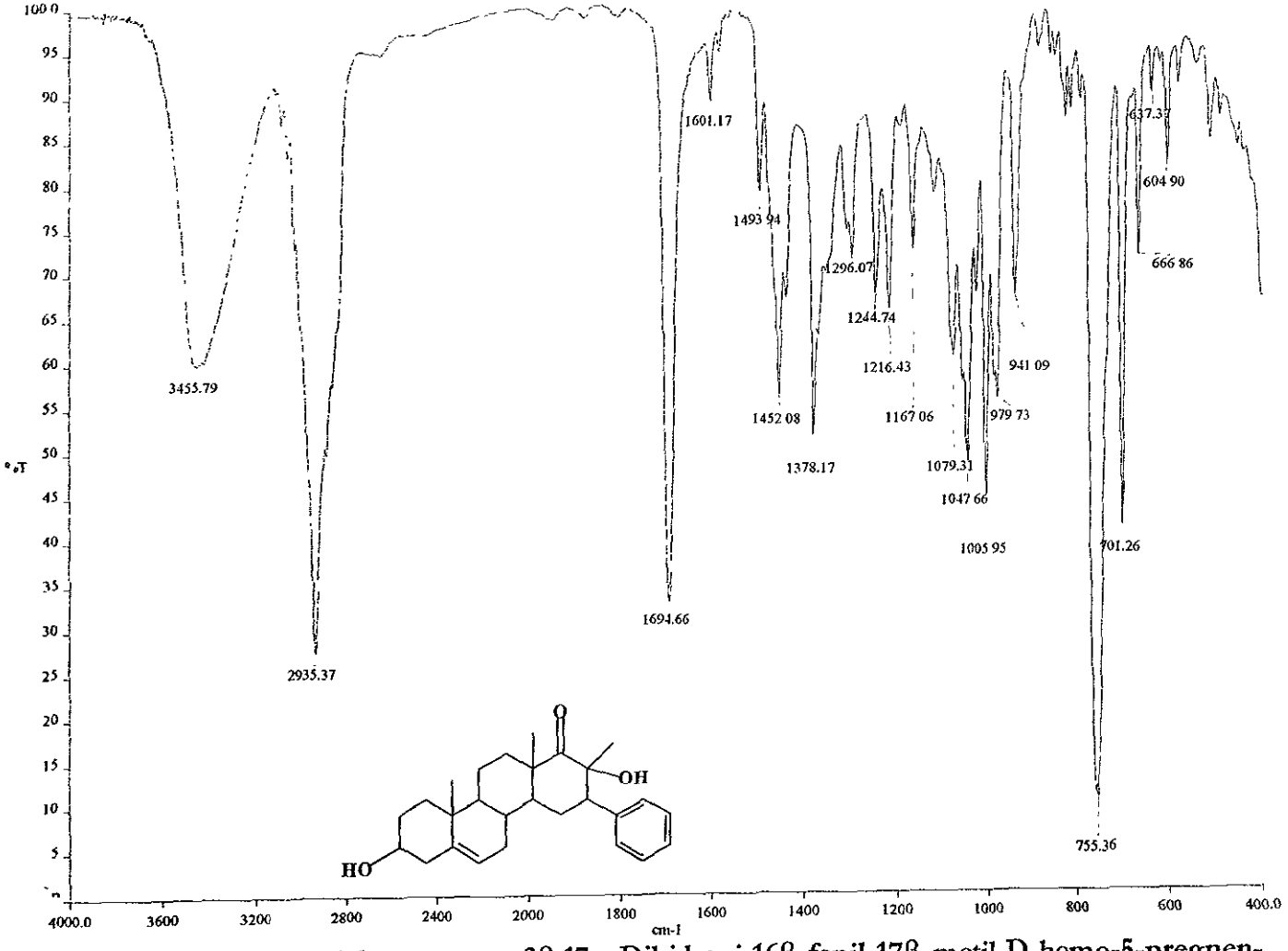

**ESPECTRO 12. Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).**



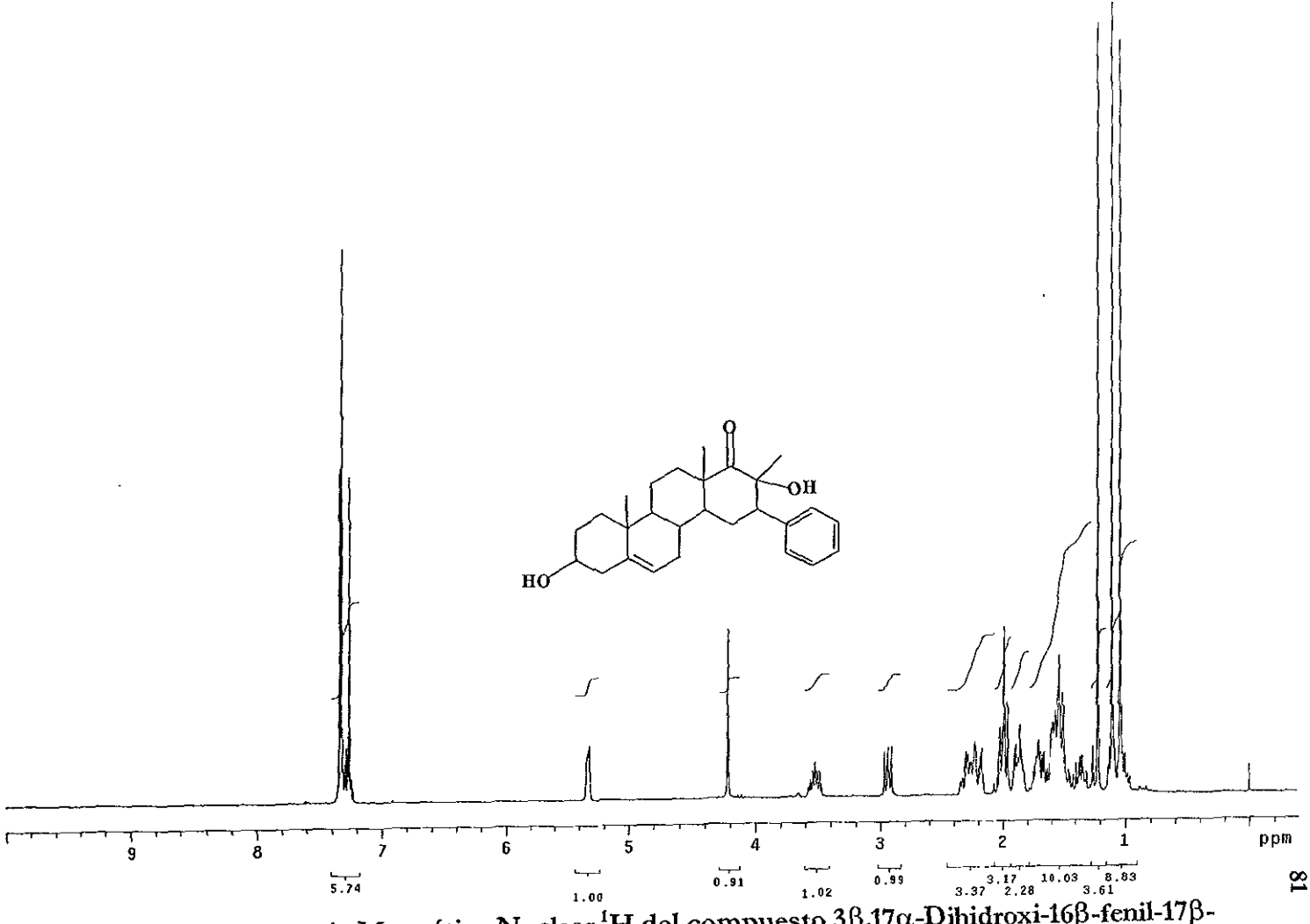

ESPECTRO 13. DEPT del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).



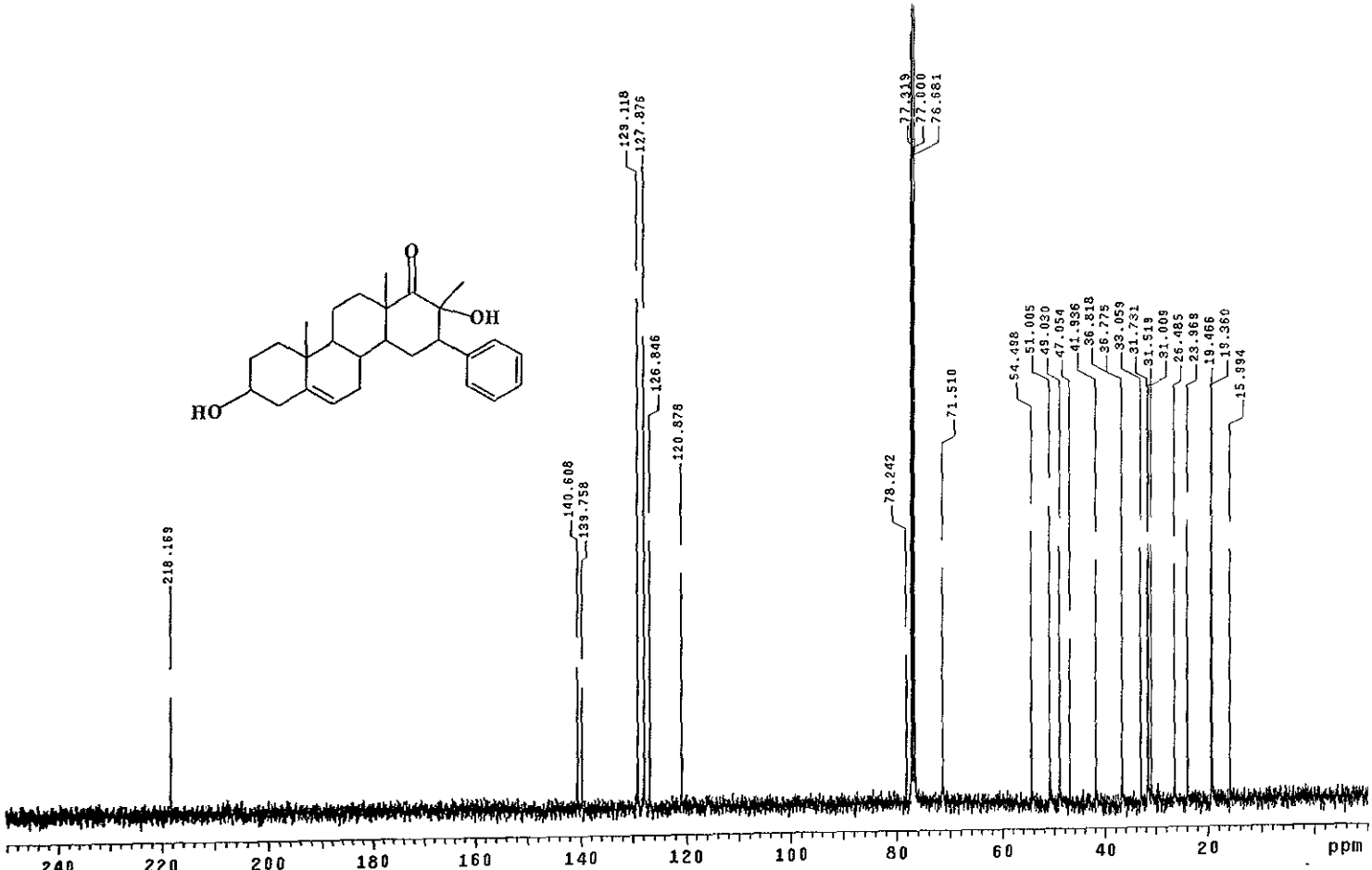

**ESPECTRO 14. Espectrometría de Masas del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-20-etilendioxi-16β-fenil-5-pregneno (V).**



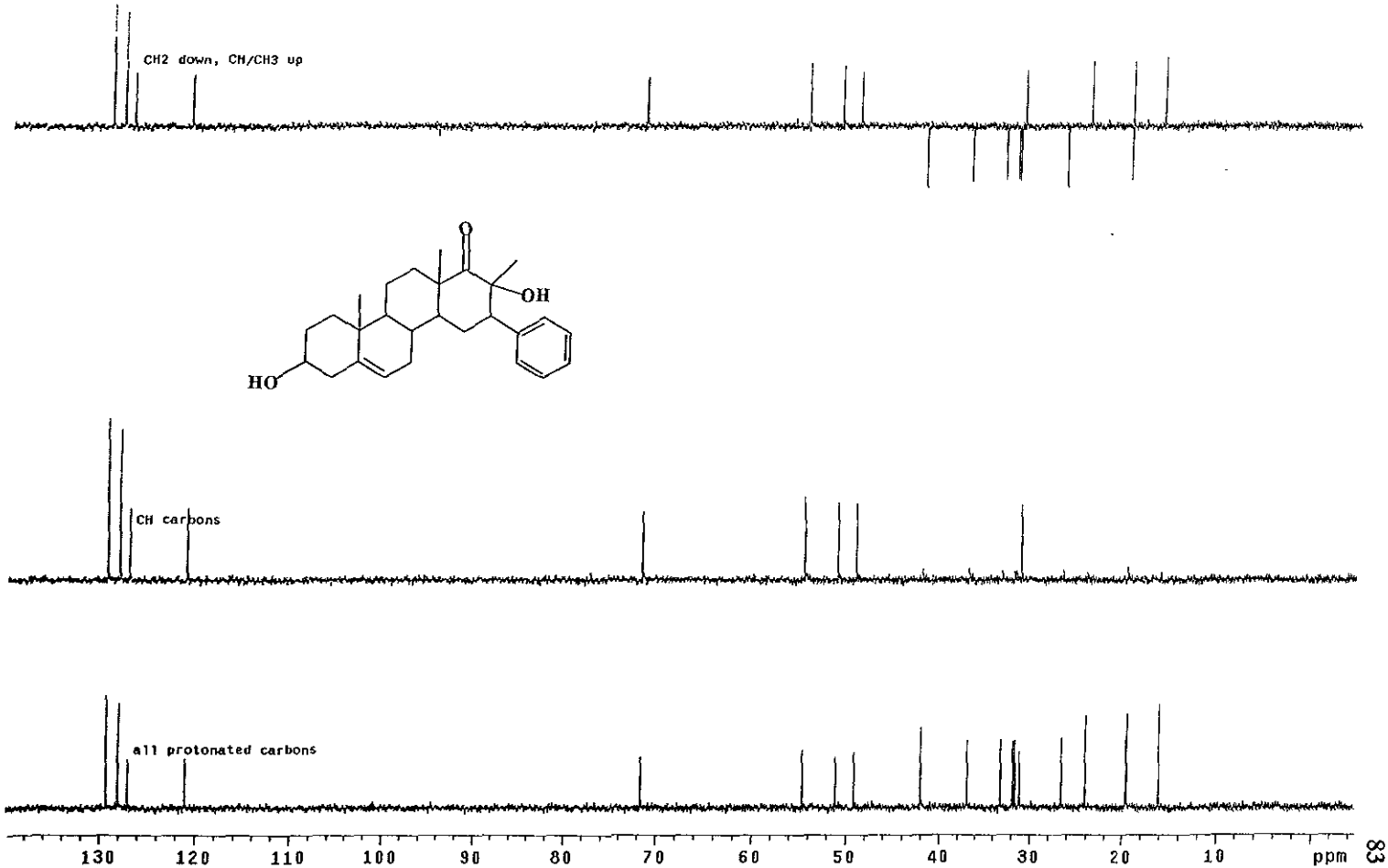

**ESPECTRO 15. Infrarrojo del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).**



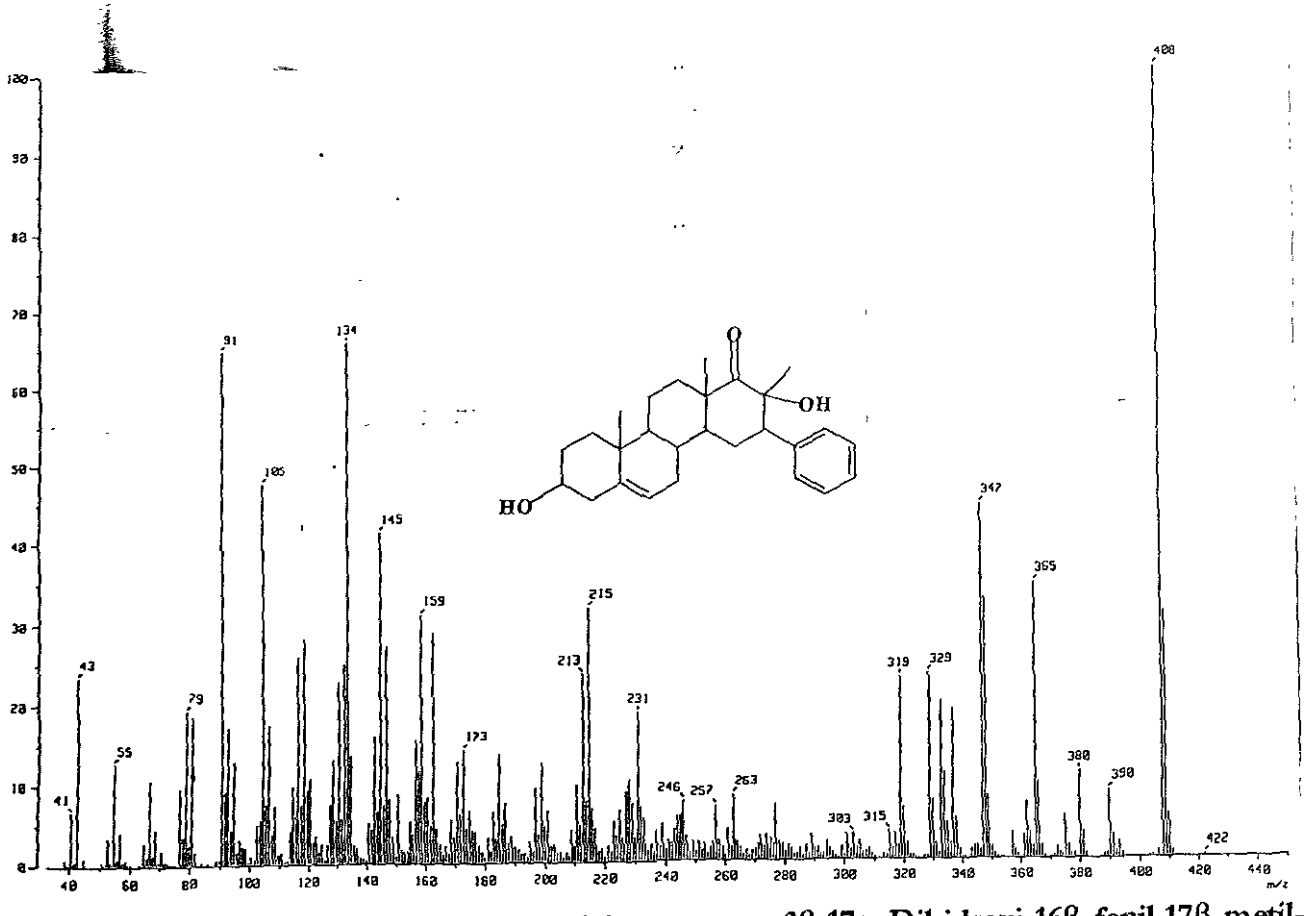

ESPECTRO 16. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).



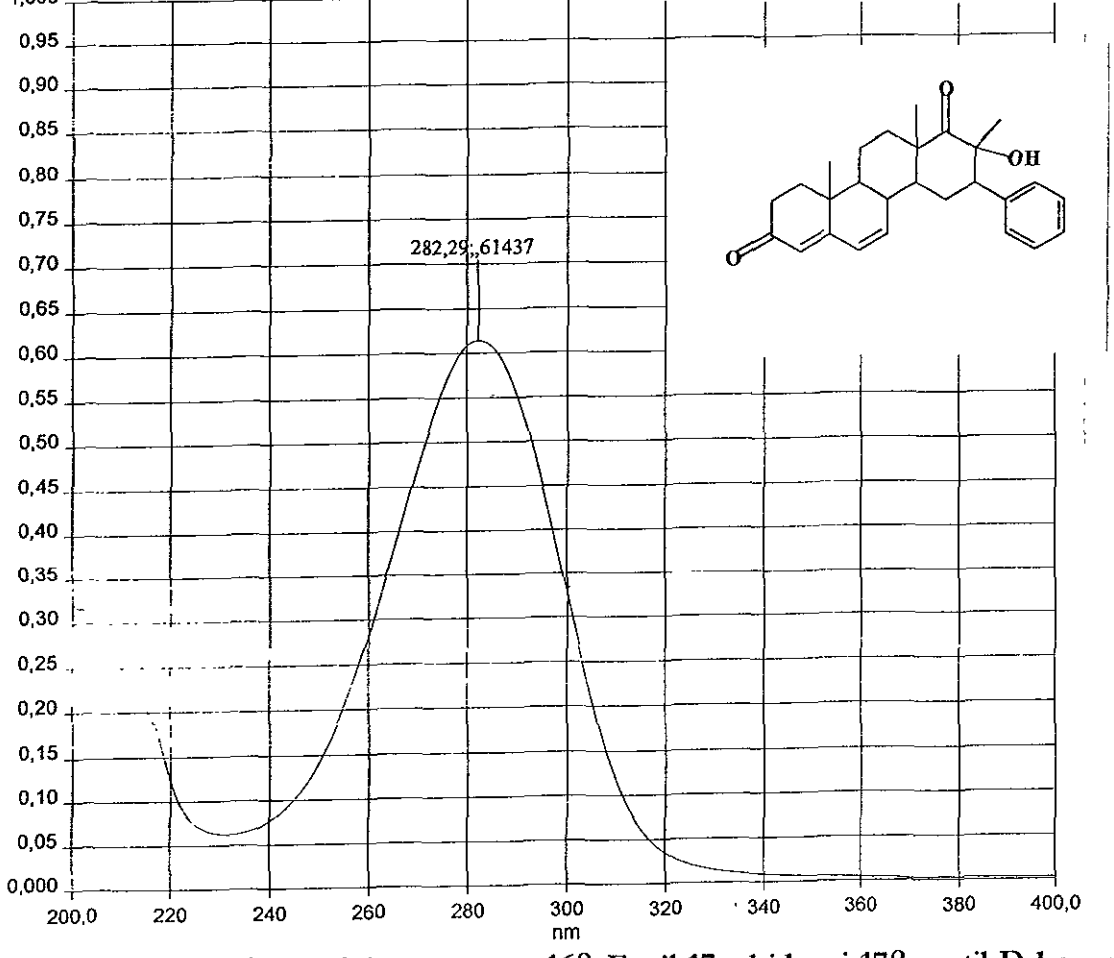

ESPECTRO 17. Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).



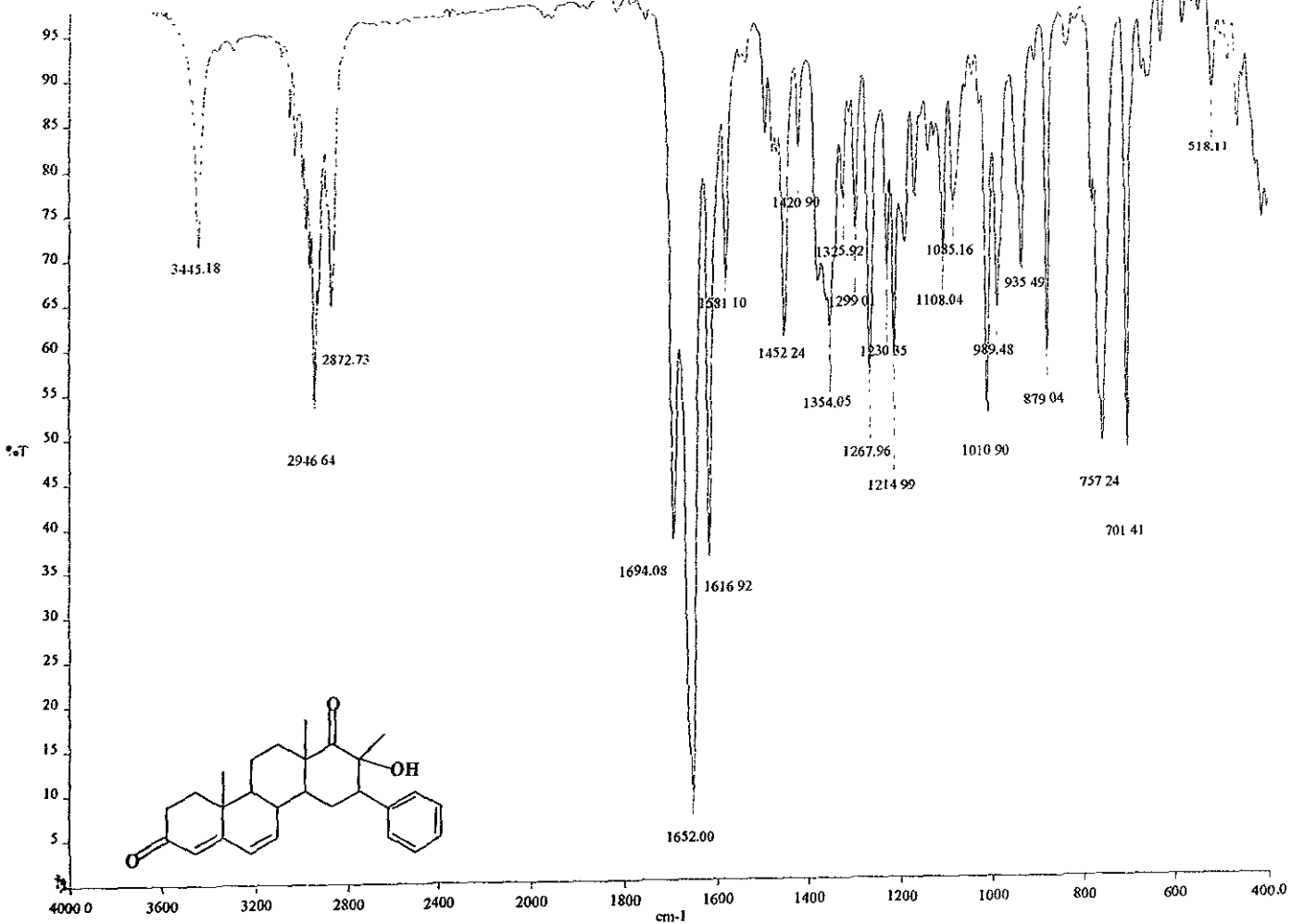

ESPECTRO 18. DEPT del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).



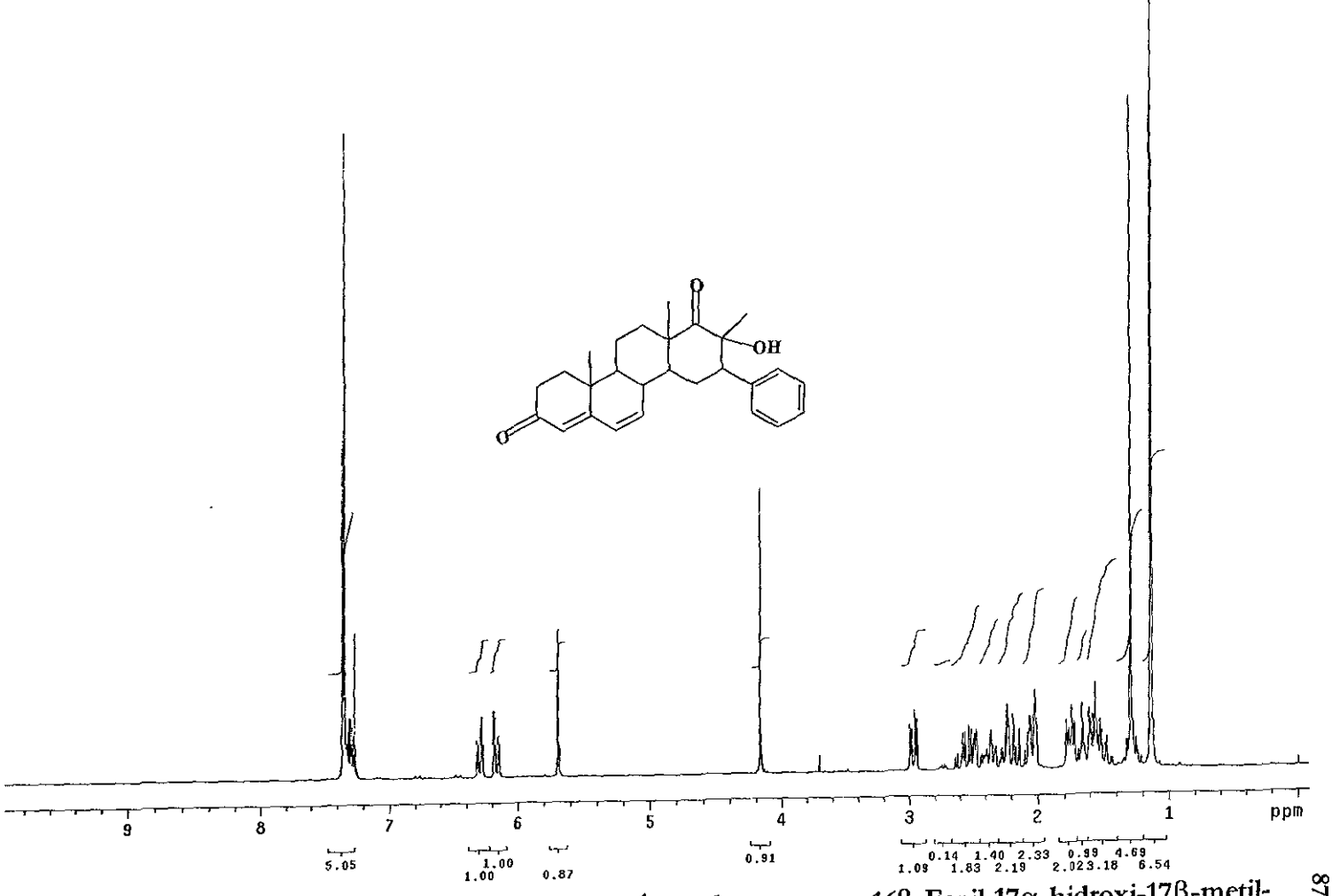

ESPECTRO 19. Espectrometría de Masas del compuesto 3β,17α-Dihidroxi-16β-fenil-17β-metil-D-homo-5-pregnen-17a-ona (VI).



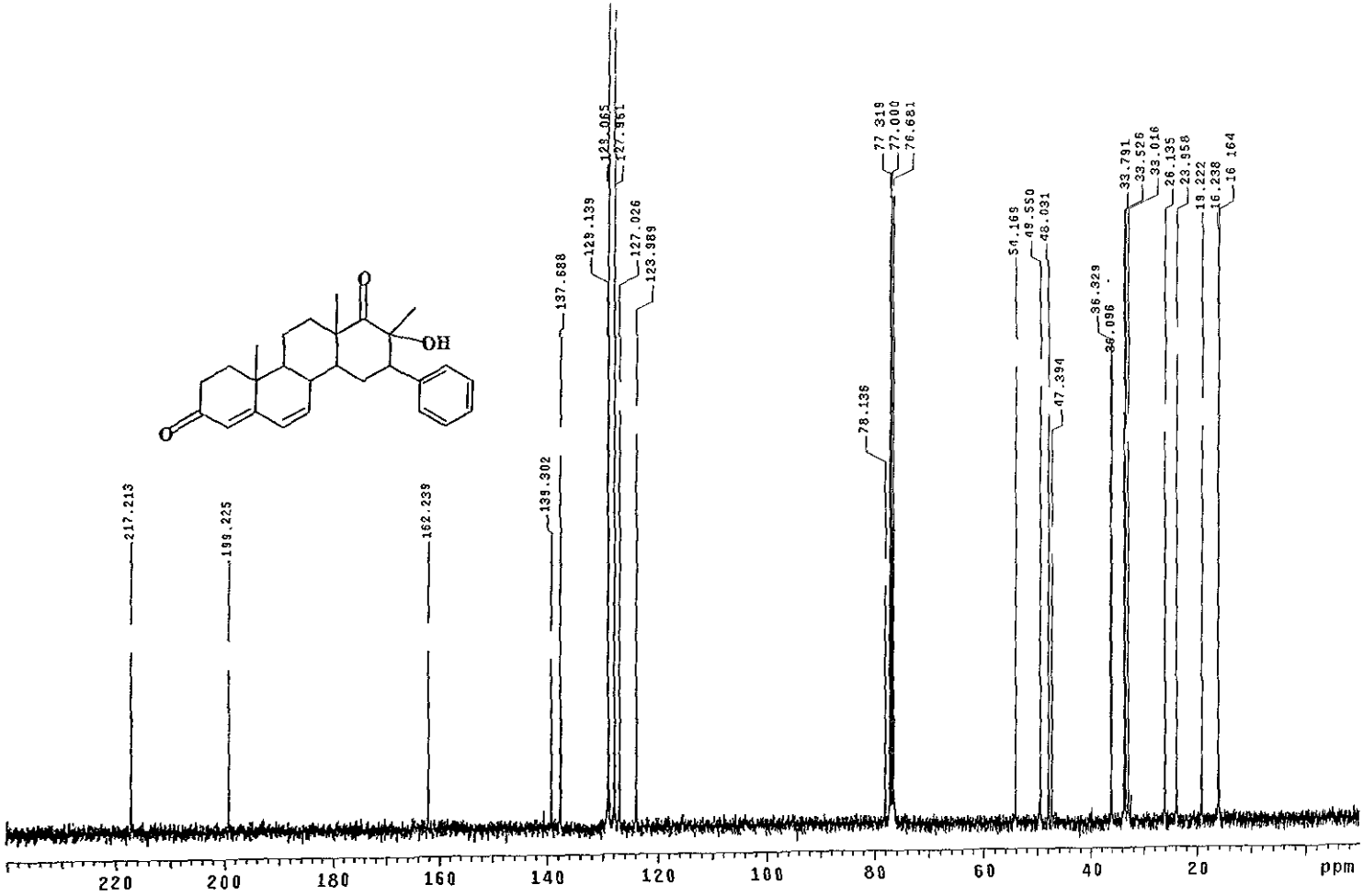

**ESPECTRO 20. Ultravioleta del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (VII).**



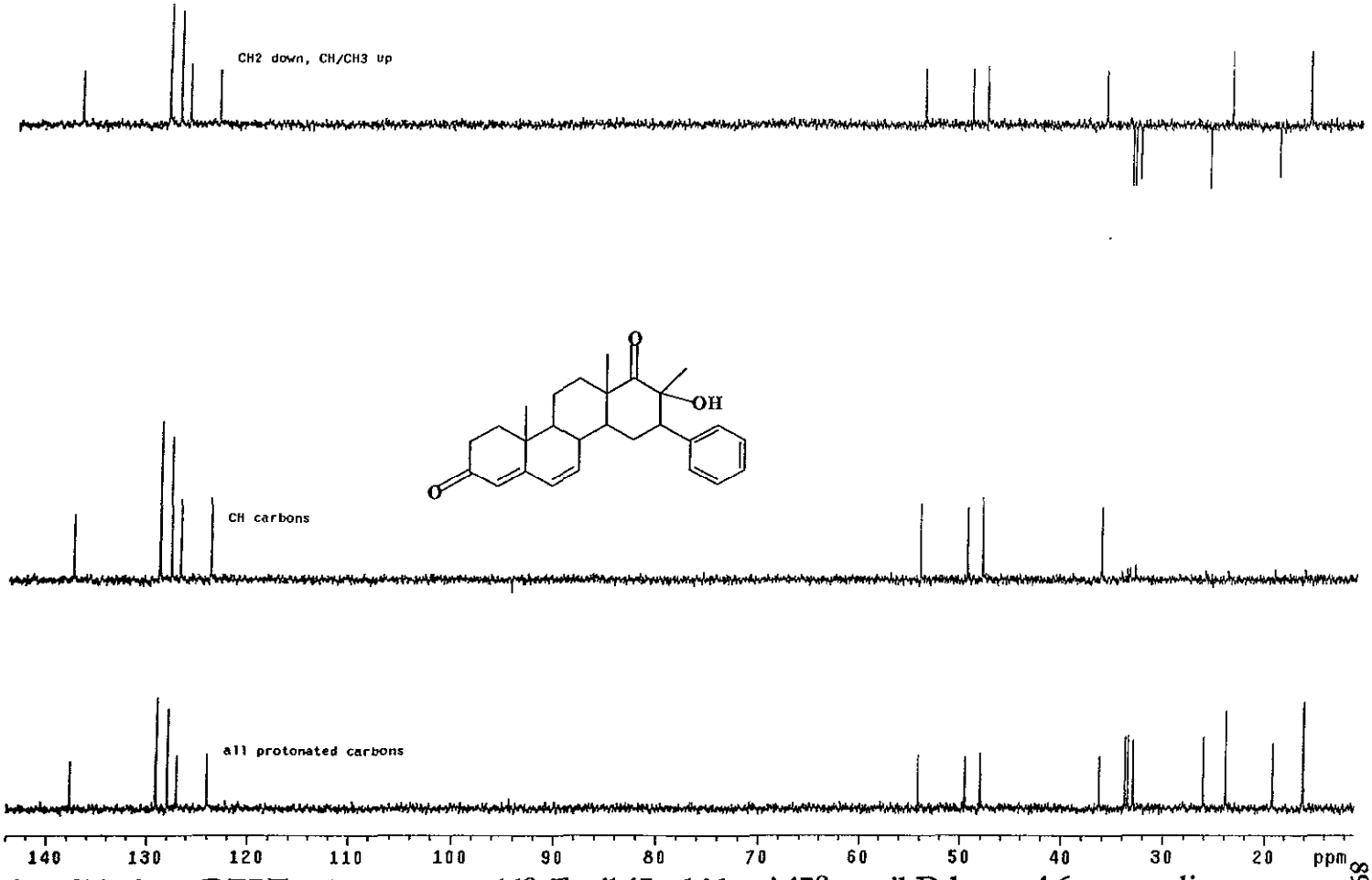

**ESPECTRO 21. Infrarrojo del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (VII).**



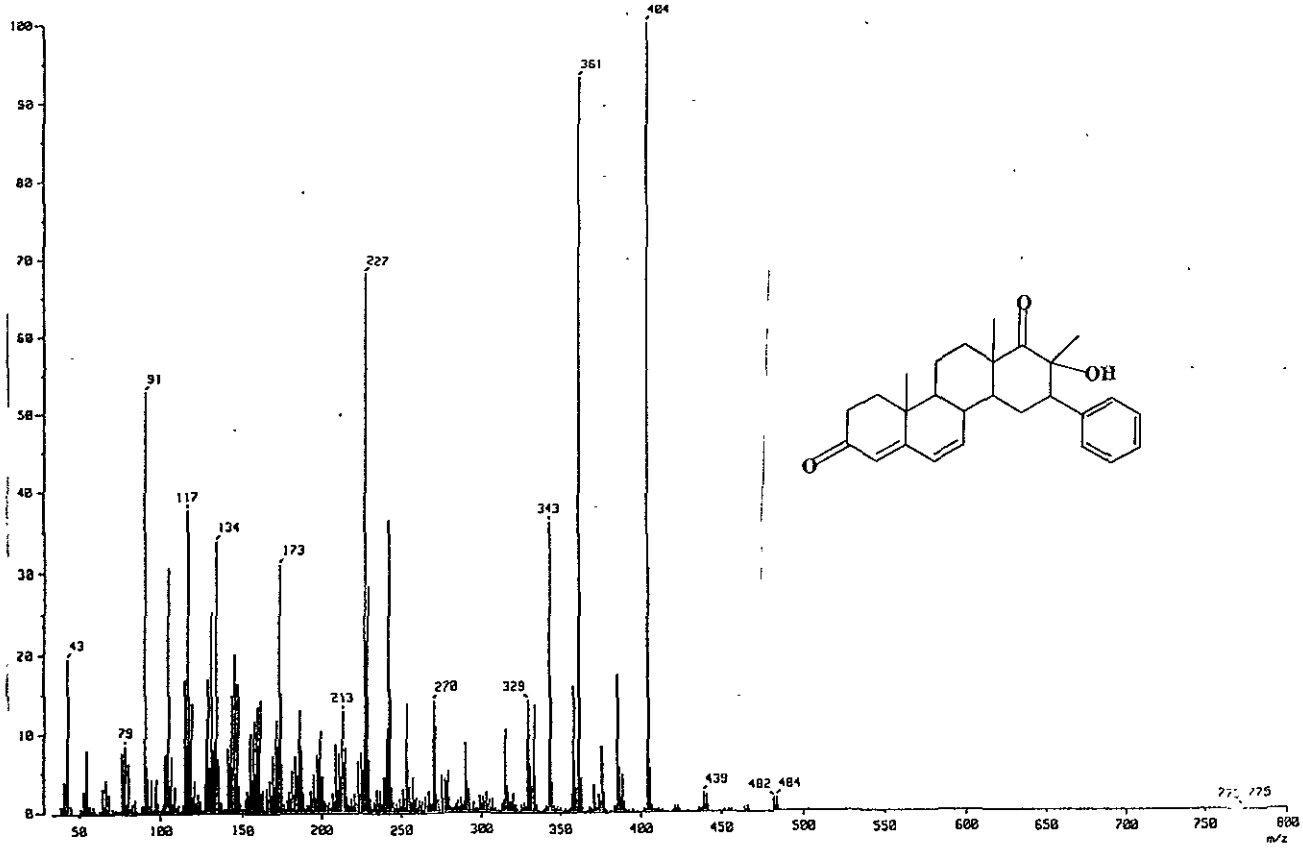

ESPECTRO 22. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17 a-diona (VII).



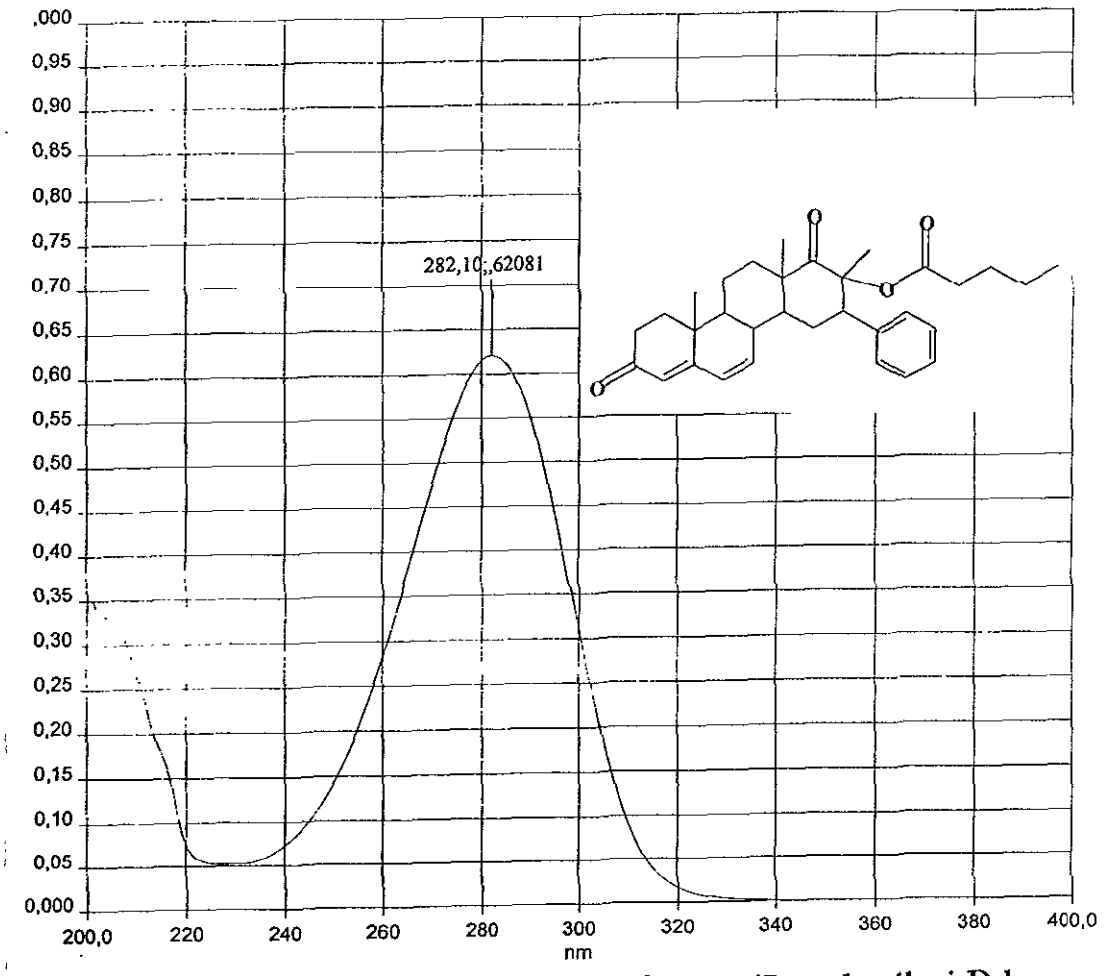

ESPECTRO 23. Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17 a-diona (VII).



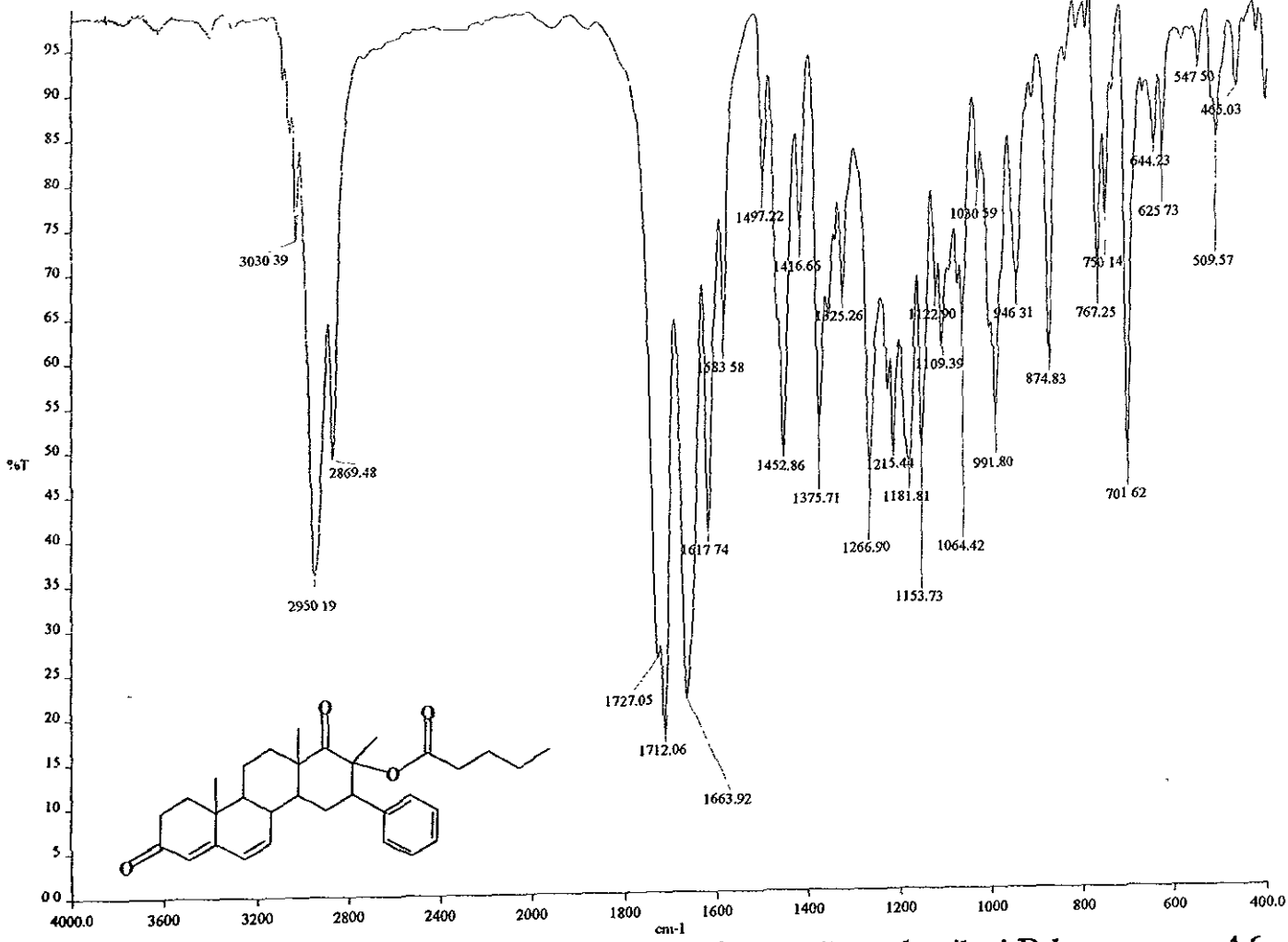

ESPECTRO 24. DEPT del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (VII).



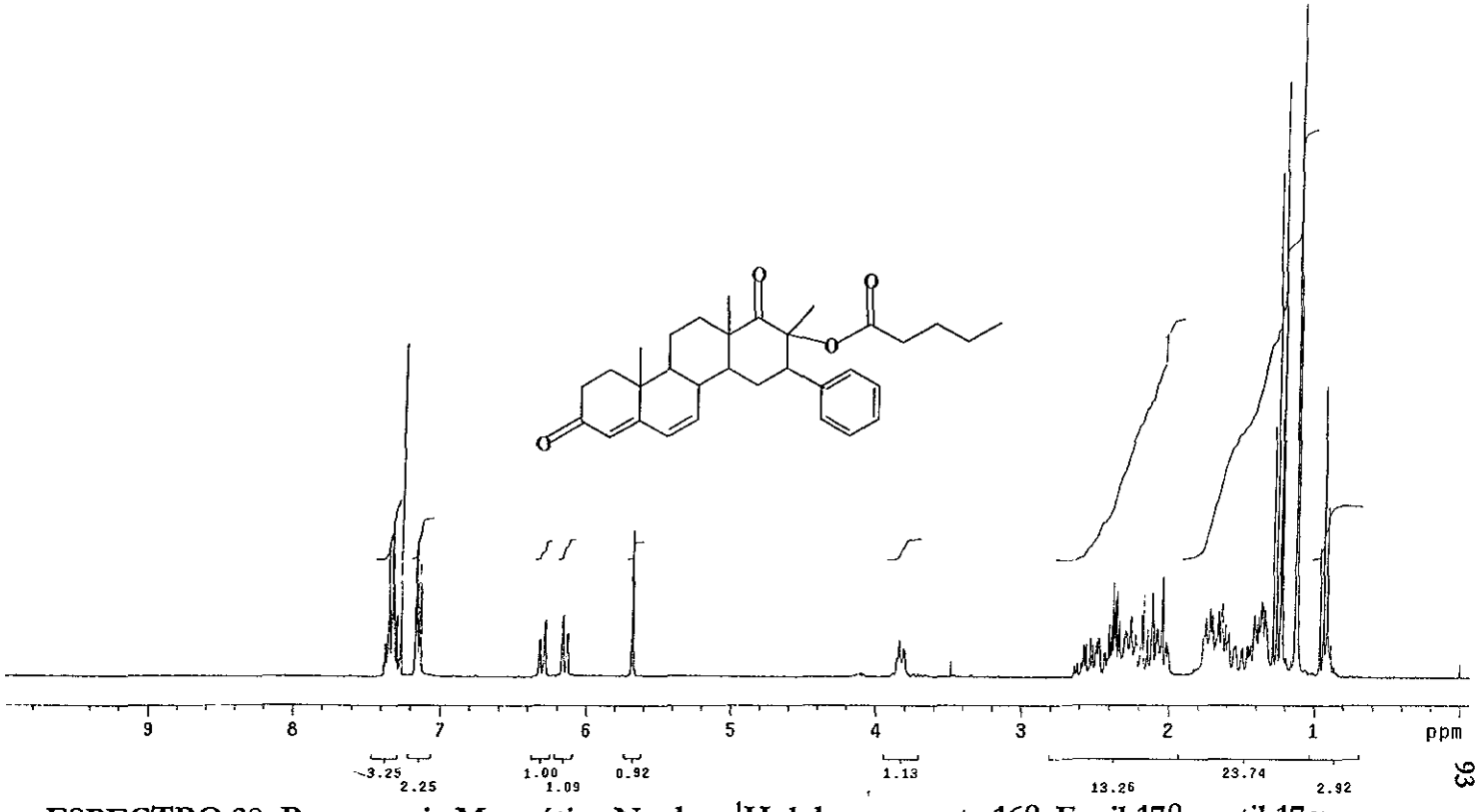

ESPECTRO 25. Espectrometría de Masas del compuesto 16β-Fenil-17α-hidroxi-17β-metil-D-homo-4,6-pregnadien-3,17a-diona (VII).



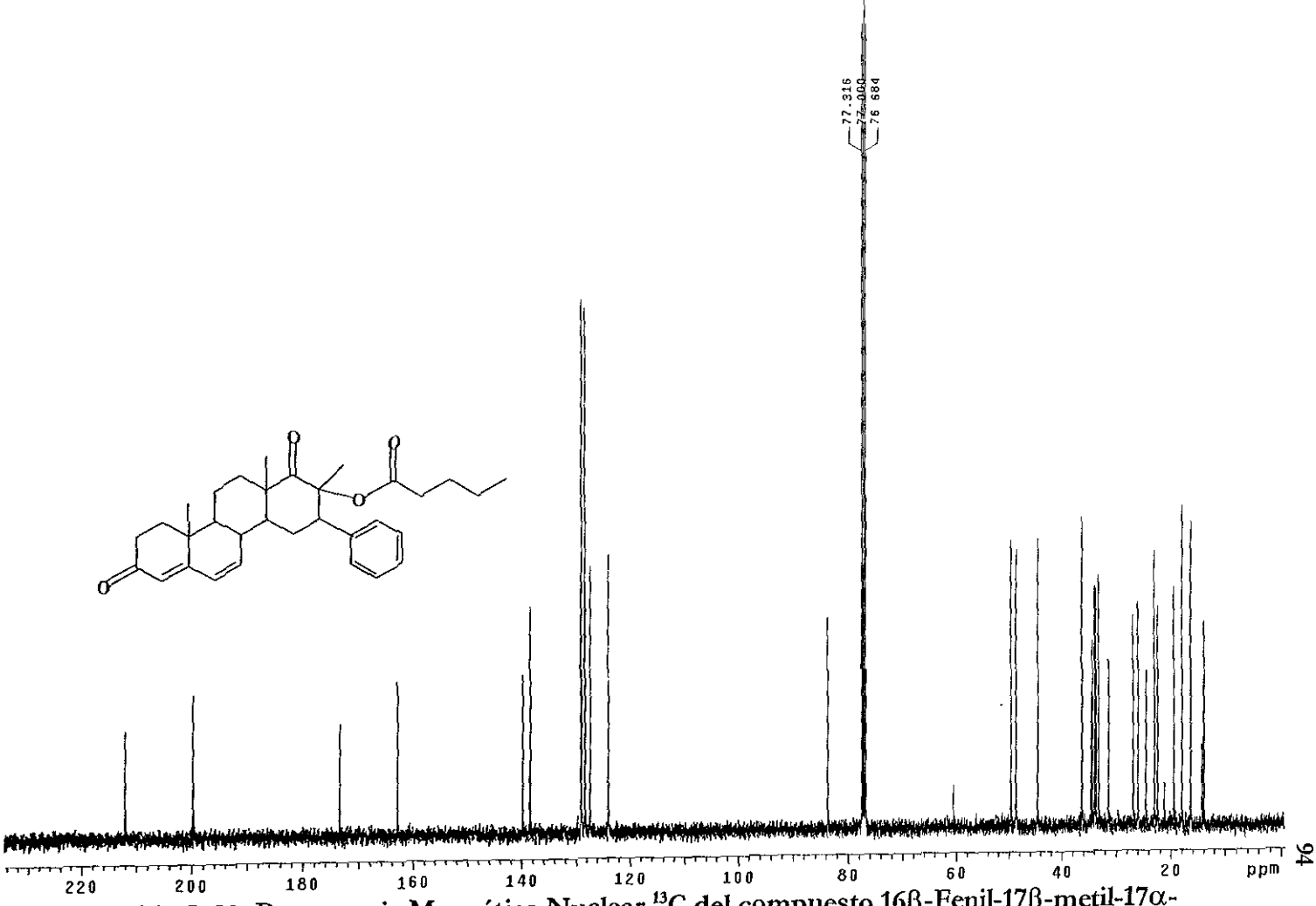

ESPECTRO 26. Ultravioleta del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).



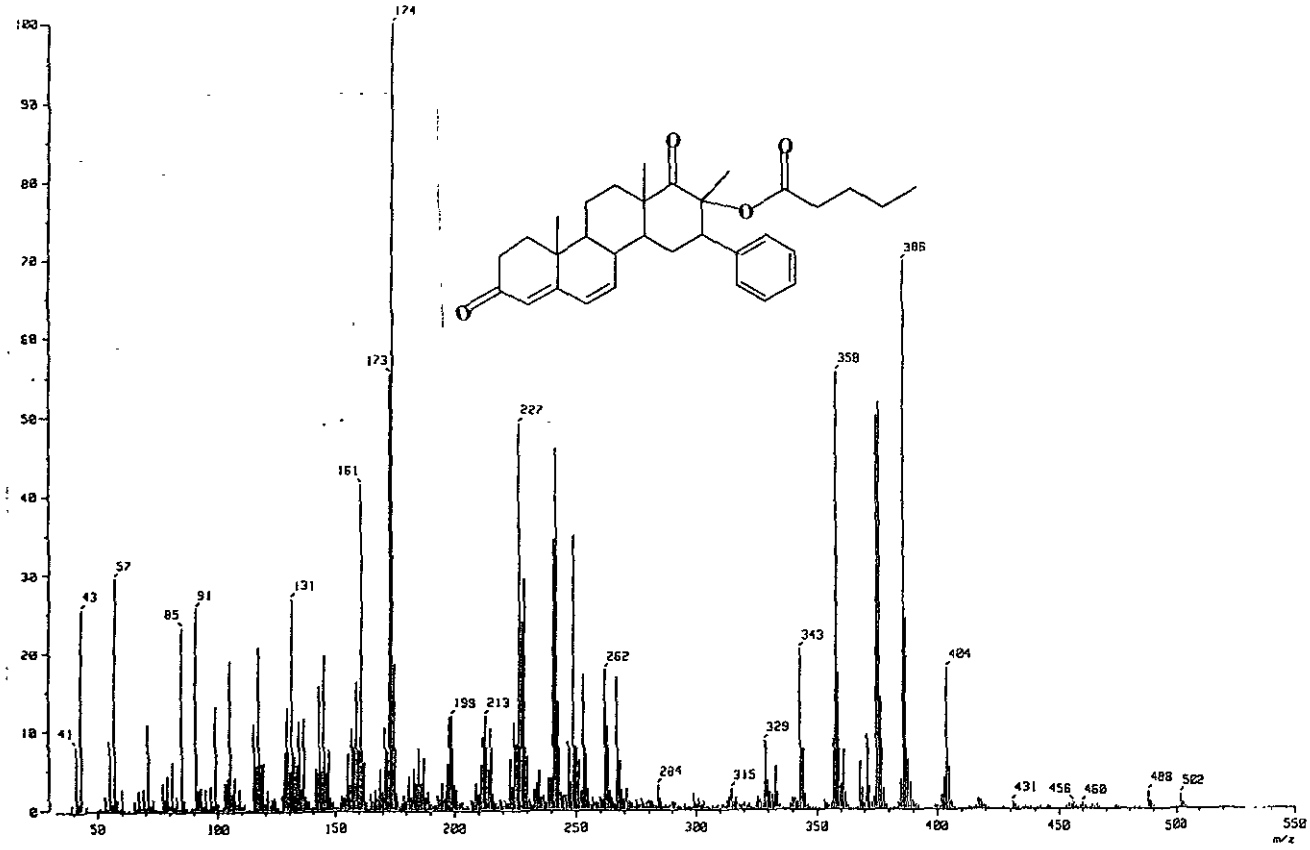

ESPECTRO 27. Infrarrojo del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).




ESPECTRO 28. Resonancia Magnética Nuclear $^{1}H$ del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).




ESPECTRO 29. Resonancia Magnética Nuclear $^{13}C$ del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).




**ESPECTRO 31. Espectrometría de Masas del compuesto 16β-Fenil-17β-metil-17α-valeroiloxi-D-homopregna-4,6-dien-3,17a-diona (VIII).**