

13



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE DERIVADOS DE PROGESTERONA CON
UN ATOMO DE BROMO EN C-16, COMO
ANTIANDROGENOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

JORGE ALBERTO CALLEROS DIAZ



MEXICO, D.F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Prof. Rubén Trinidad Sánchez Obregón.

Vocal: Profa. Elba Rojas Escudero.

Secretaria: Prof. Elena Guadalupe Ramírez López.

1er Suplente: Prof. Lino Joel Reyes Trejo.

2do Suplente: Prof. Javier Alfredo Carballo Perea.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 125, Edificio E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

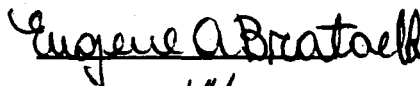
Asesora:

M. en C. Elena Guadalupe Ramírez López



Supervisor Técnico:

Dr. Eugene Athanas Bratoeff Titeff



Sustentante:

Jorge Alberto Calleros Díaz



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mis Padres Benigno y Martha, mi Hermano José Benigno, Abuelos, Tíos y demás parientes que en todo momento me soportaron, orientaron y aconsejaron, brindándome su paciencia y tolerancia.

Für Sie mein schönes Mädchen, daß Sie mein Leben auch erleuchtet haben. Ich liebe dich Gabriela.

A todos mis amigos, conocidos y compañeros con los cuales conviví dentro y fuera de la Facultad.

A la Sra. María Elena López y al Arq. José Luis Arredondo que me brindaron su amistad de forma incondicional.

A ti Elena por tu cariño, amistad y orientación con los cuales te ganaste un lugar muy especial en mí. No te defraudaré.

Al Dr. Eugene Bratoeff por su confianza y conocimientos brindados.

A la USAI por la realización de la espectroscopía de UV, IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y la EM.

A la DGAPA que a través del proyecto IN 204198 otorgó el soporte financiero para la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.	3
2. Generalidades.	6
2.1 Esteroides.	6
2.1.1 Clasificación.	6
2.1.2 Efectos Fisiológicos.	6
2.2 Andrógenos.	6
2.2.1 La Testosterona.	7
2.2.2 Mecanismo de Acción de la Testosterona.	8
Tabla 1. Ejemplos de los usos o actividades de algunos esteroides.	8
2.2.3 La enzima 5 α -reductasa.	9
Tabla 2. Comparación de las enzimas 5 α -reductasa isotipo 1 y 2.	10
2.2.4 Cáncer de Próstata e Hiperplasia Prostática Benigna.	11
Tabla 3. Clasificación de tumores.	11
2.3 Antiandrógenos.	11
2.3.1 Acción Biológica.	12
2.3.1.1 Inhibidores de la Síntesis de Andrógenos.	12
2.3.1.2 Inhibidores de la Enzima 5 α -reductasa.	13
2.3.1.3 Antagonistas de los receptores androgénicos.	13
2.3.2 Síntesis de Antiandrógenos.	14
2.3.3 Clasificación Química de los Antiandrógenos.	14
3. Objetivos.	17
4. Reactivos y Equipos.	18
5. Parte experimental y resultados.	19
5.1 Síntesis de los compuestos.	19
5.1.1 Ruta de Síntesis.	19
3 β -ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA. (J11)	
Tabla 4. Características físicas.	21
Tabla 5. Datos espectroscópicos experimentales.	21
16 α -17 α -EPOXI-3 β -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (J12)	
Tabla 6. Características físicas.	22
Tabla 7. Datos espectroscópicos experimentales.	22
16 β -BROMO-3 β -17 α -DIHIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (J13)	
Tabla 8. Características físicas.	23
Tabla 9. Datos espectroscópicos experimentales.	24
16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA. (J14)	
Tabla 10. Características físicas.	25
Tabla 11. Datos espectroscópicos experimentales.	25
16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA. (J15)	
Tabla 12. Características físicas.	27
Tabla 13. Datos espectroscópicos experimentales.	27
5.2 Ensayos biológicos de la actividad antiandrogénica.	29

5.2.1 Ensayos en Vesículas Seminales.	29
5.2.2 Análisis de la velocidad de formación de DHT en V.S.	30
6. Discusión de Resultados.	31
6.1 Discusión de la síntesis de los compuestos.	31
6.2 Discusión de la evaluación farmacológica.	39
7. Conclusiones.	40
8. Glosario.	41
9. Bibliografía.	42
10. Apéndice.	44

ESPECTROS

3β-ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA. (J11)	
Espectro 1. UV.	44
Espectro 2. IR.	45
Espectro 3. RMN ¹ H.	46
16α-17α-EPOXI-3β-HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (J12)	
Espectro 4. IR.	47
Espectro 5. RMN ¹ H.	48
16β-BROMO-3β-17α-DIHIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).	
Espectro 6. IR.	49
Espectro 7. RMN ¹ H.	50
Espectro 8. RMN ¹³ C.	51
Espectro 9. RMN ¹³ C en versión DEPT.	52
Espectro 10. EM(IE).	53
16β-BROMO-17α-HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).	
Espectro 11. UV.	54
Espectro 12. IR.	55
Espectro 13. RMN ¹ H.	56
Espectro 14. RMN ¹³ C.	57
Espectro 15. RMN ¹³ C en versión DEPT.	58
Espectro 16. EM(IE).	59
16β-BROMO-17α-CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15)	
Espectro 17. UV.	60
Espectro 18. IR.	61
Espectro 19. RMN ¹ H.	62
Espectro 20. RMN ¹³ C.	63
Espectro 21. RMN ¹³ C en versión DEPT.	64
Espectro 22. EM(IE).	65

1. INTRODUCCIÓN

Una hormona es una sustancia química secretada en los líquidos corporales internos por una célula o grupo de células que ejercen un efecto de *control* fisiológico sobre otras células del organismo.¹

Los testículos, además de producir espermatozoides, secretan hormonas esteroidales (andrógenos), cuyo prototipo es la testosterona (T), (Esquema B, pág. 10), la cual regula la diferenciación sexual, la expresión de las características sexuales secundarias y los modelos de comportamiento sexual.² Está bien establecido que los andrógenos juegan un papel importante en los desórdenes prostáticos como en la hipertrofia prostática benigna (HPB) y en el cáncer de próstata.³

El cáncer de próstata y la HPB son enfermedades muy comunes en hombres con edad promedio de 55 años. En 1996, se estimó en los Estados Unidos de Norteamérica que alrededor de 317,000 hombres fueron diagnosticados con estas enfermedades y 41,000 murieron.⁴

Entre los factores que dan origen al cáncer se encuentran la predisposición genética, los factores ambientales (ocupacionales, dietas, fármacos, contaminantes), interaccionando con predisposiciones genéticas y los factores desconocidos.⁵

Por otra parte, la HPB (hiperplasia nodular o hipertrófica) se caracteriza por la formación de nódulos voluminosos bien delimitados en la región periuretral de la próstata. Cuando estos nódulos alcanzan el tamaño suficiente, se comprimen estrechando el conducto uretral, en forma parcial y a veces total.⁶

El andrógeno activo intracelular no es la T, sino su metabolito, la 5 α -dihidrotestosterona (DHT),⁷ (Esquema B, pág. 10) y al disminuir la concentración de ésta, puede ayudar considerablemente a controlar la evolución del cáncer y/o el desarrollo de la HPB. Es por esta razón, que surgen nuevas estrategias terapéuticas para buscar compuestos sintéticos que sean capaces de actuar sobre el receptor androgénico. De esta manera, estos compuestos se utilizan como fármacos en el tratamiento de varias enfermedades provocadas por andrógenos como el acné, seborrea, alopecia androgénica, pubertad precoz, así como del cáncer de próstata y la HPB.⁸

Con base en lo anterior, la inhibición de la síntesis de los metabolitos activos de los andrógenos, constituye una opción en el tratamiento de la HPB y del cáncer de próstata. Los tratamientos actuales incluyen la cirugía y la radiación, empleados principalmente para eliminar el cáncer local. También, la terapia hormonal empieza a utilizarse más ampliamente, principalmente en hombres con cáncer de próstata metastático. Sin embargo, los tratamientos empleados presentan efectos secundarios como incontinencia, lesión intestinal, impotencia sexual, así como los efectos propios de la radiación.⁹ Otro tratamiento que será utilizado en los años próximos en contra de este cáncer será la terapia génica, mediante la transducción de genes para crear una vacuna.¹⁰

En la actualidad se dispone de compuestos sintéticos para inhibir la acción androgénica de la T y de la DHT. Uno de ellos es el acetato de ciproterona (Fig. 6, pág. 13), fármaco con actividad antigonadotrópica y antiandrogénica periférica, que se utiliza comercialmente para el tratamiento de cáncer de próstata en el ser humano, cuyo mecanismo de acción es la reducción en la transformación de la T a DHT por unión al receptor androgénico. Existe otro esteroide que ha sido ampliamente utilizado para el hombre con HPB, la finasterida (Fig. 5, pág. 13), fármaco que inhibe la actividad de la enzima 5α -reductasa isotipo 2, presente en la glándula prostática.⁷

El análisis de relación estructura-actividad biológica (REA) de los antiandrógenos esteroídales como el acetato de ciproterona (Fig. 6, pág. 14) y sus derivados, ha concluido que su actividad se debe a la estructura casi plana de la molécula, conferida por la presencia del 1α - 2α -ciclometilo en C-1 y C-2 y, a las insaturaciones entre los carbonos C-4 y C-5, C6- y C-7; a un grupo electronegativo en C-6; a la presencia de un grupo alquilo en C-16; al tamaño del sustituyente en C-17; así como a los grupos cetónicos en C-3 y C-20.¹¹

Tomando en consideración algunas de las características anteriores desprendidas del análisis de REA, se propuso desarrollar la síntesis de compuestos derivados de progesterona con un átomo de bromo en C-16 como antiandrógenos. Para obtener los compuestos de interés se siguió una ruta de síntesis con un total de 4 pasos, empleando como materia prima el acetato de 16-dehidropregnenolona (J11, pág. 21). Los compuestos se evaluaron farmacológicamente como inhibidores de la

enzima 5α -reductasa, así como en su actividad antiandrogénica. Dichos compuestos se caracterizaron por sus propiedades físicas (p.f.) y espectroscópicas (UV, IR, RMN¹H, RMN¹³C y EM(IE)).

2. GENERALIDADES

2.1. Esteroides.

Los esteroides son compuestos que contienen en su estructura base el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno (Fig. 1). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, tanto en el reino vegetal como en el animal.

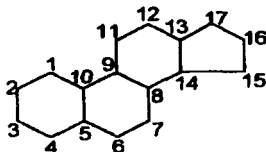


Figura 1. Núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno.

2.1.1. Clasificación.

Los esteroides se clasifican de acuerdo a su esqueleto base. Por lo general, se encuentran sustituidos en C-10 y C-13 por grupos metilos y un grupo oxhidrilo o carbonilo en C-3. Para nombrarlos se toma en cuenta la cadena presente en posición C-17. Los esqueletos se muestran en el esquema A (pág. 7).

Las hormonas esteroidales se agrupan en 5 categorías: progestinas, glucocorticoides, corticoides minerales, andrógenos y estrógenos.

2.1.2. Efectos Fisiológicos.

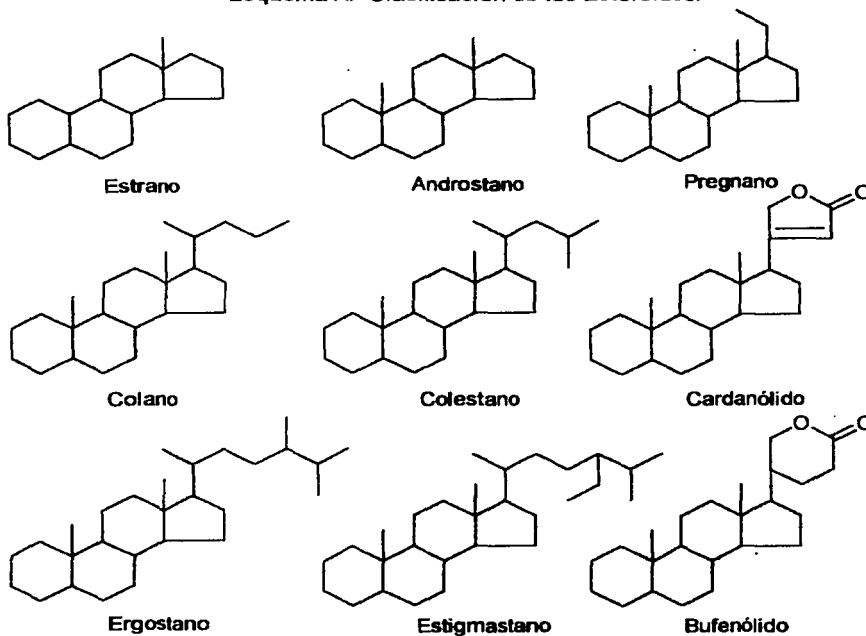
Los efectos fisiológicos de los esteroides varían considerablemente de unos compuestos a otros, desde actividades de vitaminas hasta hormonas sexuales. En la Tabla 1 se muestran algunos ejemplos (pág. 8).

2.2. Andrógenos.

Los testículos secretan varias hormonas sexuales masculinas, que colectivamente reciben el nombre de andrógenos y que son la T, la DHT y la androstendiona. La cantidad de T es tan superior a la de las otras, que se puede considerar como la hormona testicular más importante, y la mayoría de ella es

convertida a DHT, que es una hormona más activa en los tejidos blanco o tejidos diana.¹

Esquema A. Clasificación de los Esteroides.



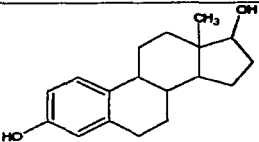
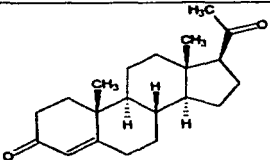
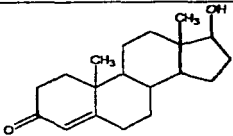
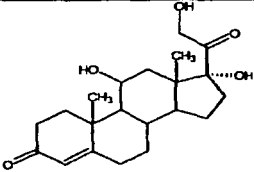
2.2.1. La Testosterona.

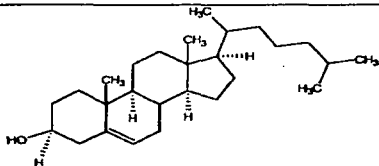
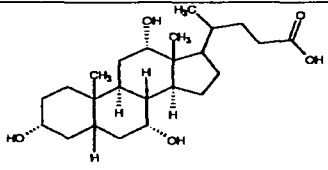
La T se forma en las *células intersticiales* o *células de Leydig*, que están situadas en los intersticios que quedan entre los túbulos seminíferos y que constituyen aproximadamente el 20% de la masa de los testículos adultos.¹

2.2.2. Mecanismo de acción de la testosterona.

La T es convertida irreversiblemente a DHT a través de la acción de la enzima 5 α -reductasa, la cual está localizada en la membrana nuclear y es dependiente de NADPH. El mecanismo de acción consiste en la formación del complejo 5 α -reductasa-NADPH, que posteriormente se une a la T para realizar una transferencia esteroespecífica de hidruro del NADPH a la posición 5 de la T. El enolato resultante

Tabla 1. Ejemplos de los usos o actividades de algunos esteroides.

 <p style="text-align: center;">Estradiol</p>	<p>Hormona estrogénica más importante de la mujer, secretada por los ovarios.</p>
 <p style="text-align: center;">Progesterona</p>	<p>Hormona del embarazo, es secretada por el cuerpo lúteo. Es la progestina más abundante, es un precursor de los glucocorticoides, de los mineralocorticoides y de la testosterona.</p>
 <p style="text-align: center;">Testosterona</p>	<p>Hormona sexual masculina, regula la diferenciación sexual, la expresión de las características sexuales secundarias y los modelos de comportamiento sexual.</p>
 <p style="text-align: center;">Cortisol</p>	<p>Posee múltiples funciones metabólicas para el control del metabolismo de las proteínas, de los hidratos de carbono y de las grasas y electrolitos como la aldosterona, que es un corticoide.</p>

 <p style="text-align: center;">Colesterol</p>	<p>Precursor de las hormonas esteroidales y de los ácidos biliares. Se encuentra en casi todos los tejidos de los vertebrados y es el principal constituyente de los cálculos o piedras biliares.</p>
 <p style="text-align: center;">Ácido Cólico</p>	<p>Principal ácido biliar sintetizado en el hígado, secretado en forma de conjugado de glicerina o de taurina a la vesícula biliar.</p>

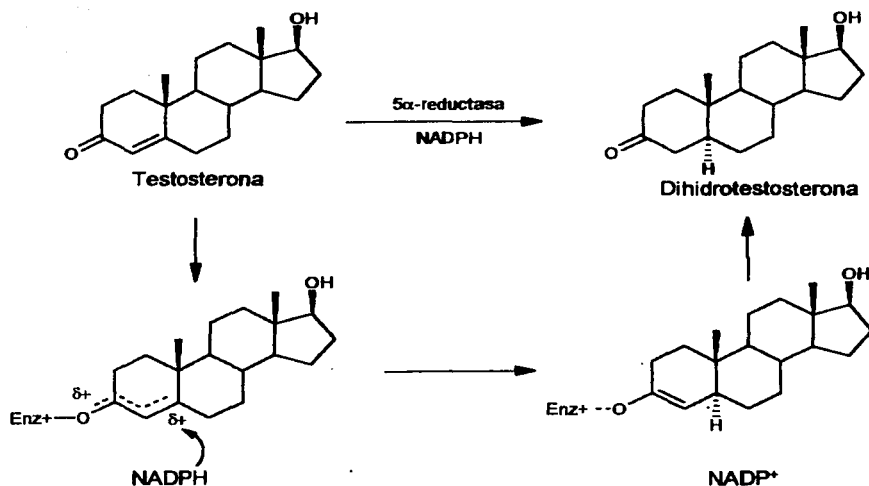
en C-3 y C-4 se estabiliza por un residuo electrofílico (E+) de la enzima. (Esquema B, pág. 10).¹²

La T penetra en las células en pocos minutos tras la secreción, se convierte a DHT y, se enlaza a una "proteína receptora" citoplasmática. Esta combinación emigra después al núcleo, donde se une a una proteína nuclear e induce el proceso de transcripción de ADN a ARN. En los 30 minutos siguientes, se ha activado la polimerasa de ARN y la concentración de ARN comienza a aumentar en las células; esto va seguido de un aumento progresivo de la proteína celular. Tras varios días, la cantidad de ADN de la glándula también se ha incrementado y, se ha producido un aumento simultáneo del número de células prostáticas. Por tanto, la T estimula mucho la producción de proteínas en casi cualquier lugar del organismo, aunque aumenta más específicamente las proteínas en órganos o tejidos "diana" responsables del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios.¹

2.2.3. La enzima 5 α -reductasa.

Existen dos tipos de la enzima 5 α -reductasa: el isotipo 1 y el isotipo 2, las cuáles difieren en sus propiedades bioquímicas, su localización en tejido y su función.¹⁴ La enzima de isotipo 1 se encuentra predominantemente en piel no genital y en el hígado,

Esquema B. Mecanismo de Conversión de la T en DHT



mientras que el isotipo 2 se encuentra predominantemente en los tejidos blancos de andrógenos, incluyendo a la próstata y a los testículos. Éste isotipo se relaciona directamente al cáncer de próstata e HPB. En la tabla 2 se muestran las diferencias entre los 2 isotipos.

Tabla 2. Comparación de los isotipos 1 y 2 de la enzima 5 α -reductasa.¹⁰

	Isotipo 1	Isotipo 2
pH óptimo	7.5	5.0
Localización del gene	Cromosoma 5	Cromosoma 2
Distribución en tejidos	Hígado y piel no genital	Hígado y tracto urogenital masculino
K _m * para testosterona	4 μ M	1 μ M

*K_m = Constante de Michaelis-Menten.

2.2.4. Cáncer de Próstata y HPB.

El cáncer de próstata surge cuando las células del tejido glandular presentan un crecimiento anormal, situación que es transmitida a células hijas y que se manifiesta por una reducción en el control del crecimiento y en la función celular. Este crecimiento celular sin control puede originar 2 tipos de tumores, los benignos y los malignos, cuyas diferencias se mencionan en la tabla 3.⁵

Tabla 3. Clasificación de tumores.

Tumor Benigno	Tumor Maligno
Encapsulado	No encapsulado
No invasivo	Invasivo
Poca división celular	Divisiones celulares comunes
Altamente diferenciados	Poca diferenciación
Escasa anaplasia	Presentan anaplasia
No hay metástasis	Hay metástasis
Material genético estable	Inestabilidad en el material genético
Poca secreción de proteasas	Alta secreción de proteasas
Requiere factores de crecimiento	No requiere factores de crecimiento

Cabe resaltar que ambos tumores presentan un crecimiento lento en los cánceres de próstata y pulmón. Sin embargo, en las demás afecciones por cáncer, el tumor benigno presenta una tasa de crecimiento lenta, a diferencia del tumor maligno, el cual su tasa de crecimiento es rápida.

2.3 Antiandrógenos.

Son compuestos que bloquean la síntesis o la acción de los andrógenos y pueden ser usados en el manejo de la HPB o del cáncer de próstata, acné, calvicie masculina, síndrome de virilización de la mujer, pubertad precoz en varones, así como en la inhibición del impulso sexual en varones con tendencias a cometer delitos sexuales.^{10,15}

2.3.1. Acción Biológica

2.3.1.1. Inhibidores de la síntesis de andrógenos.¹⁰

La inhibición más efectiva en la síntesis de T se lleva a cabo, cuando se bloquea la acción del **factor liberador de la gonadotropina (GnRF)** sobre la adenohipófisis, resultando una baja en la liberación de la **hormona luteinizante (LH)** y en la **hormona estimulante del foliculo (FSH)**. También se utilizan agonistas como el *leuprolida* o la *gonadorelina* (Fig. 2).

5-oxoPro-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-ProNH₂, 5-oxoPro-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-GlyNH₂

Figura 2. Estructuras de la leuprolida y la gonadorelina.

Algunos agentes antifúngicos del tipo imidazol, como el ketoconazol (Fig. 3), tienen, como efectos secundarios, la propiedad de bloquear al citocromo P450, complejo enzimático involucrado en la biosíntesis de hormonas esteroidales. Éste fármaco inhibe las enzimas 17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa, que convierten la pregnenolona y la progesterona en andrógenos.

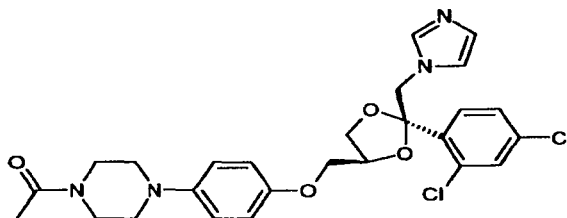


Figura 3. Ketoconazol

La espironolactona (Fig. 4), antagonista de aldosterona, actúa como un inhibidor débil de la unión del andrógeno con su receptor.

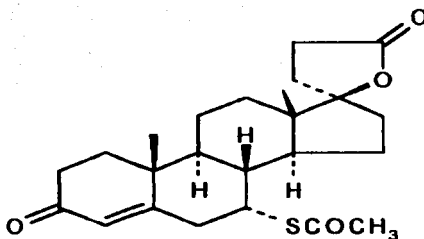


Figura 4. Espironolactona

2.3.1.2. Inhibidores de la enzima 5α -reductasa.

La inhibición de esta enzima, puede ser selectiva al bloquear la acción del andrógeno en un tejido específico (próstata, folículo piloso) en donde es esencial la producción continua de DHT. Un ejemplo de un fármaco que tiene este mecanismo de acción es la finasterida (Fig. 5).

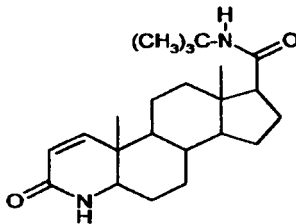


Figura 5. Finasterida

2.3.1.3. Antagonistas de los receptores androgénicos.

Existen numerosos fármacos que son antagonistas específicos en la unión del andrógeno con su receptor. Entre ellos está el acetato de ciproterona y la flutamida (Fig. 6).

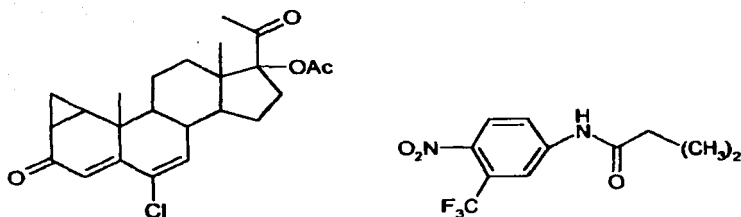


Figura 6. Acetato de Ciproterona y Flutamida.

2.3.2. Síntesis de antiandrógenos.

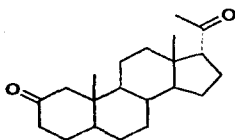
Básicamente existen 2 métodos para sintetizar un esteroide con características antiandrogénicas. Ambos métodos se describen a continuación:^{9,11}

1. Se toma como esqueleto base a la molécula de T y se efectúan en ella diversas modificaciones estructurales, de manera que se tenga un efecto antagónico. Así, el nuevo compuesto sintetizado tendrá la capacidad de unirse al receptor sin producir efecto androgénico, bloqueando la formación del complejo andrógeno-receptor.
2. Se modifica la molécula de progesterona, pues ésta tiene cierto carácter antiandrogénico natural y se esperaría que sus análogos sintéticos presentaran la misma actividad biológica.

2.3.3. Clasificación química de los antiandrógenos.

Los antiandrógenos se clasifican en 2 grupos: esteroidales y no esteroidales.¹⁶

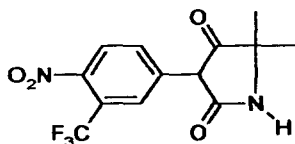
Los antiandrógenos de tipo esteroidal son compuestos que se derivan de la progesterona. Estos compuestos son de mayor interés terapéutico, debido a que actúan específicamente sobre el receptor androgénico. La desventaja que presentan es la reducción del tamaño de los órganos sexuales. Algunos ejemplos de este tipo de antiandrógenos son el acetato de ciproterona (Fig. 6, pág. 14), la finasterida (Fig. 5, pág. 13) y la anorprogesterona (Fig. 7).



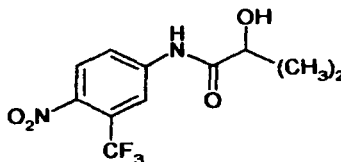
Anorprogesterona

Figura 7. Antiandrógeno Esteroidal.

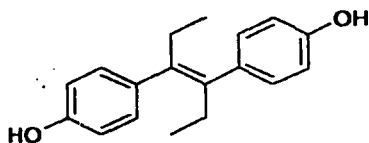
Los antiandrógenos no esteroidales tienen afinidad por el receptor, debido a su estructura química con geometría semejante y reducen de un 25% a 30% el tamaño de la próstata. Como desventajas presentan la inhibición de la erección e insuficiencia hepática entre otras. Como ejemplos de éstos antiandrógenos tenemos a la flutamida (Fig. 6, pág. 14), anandrón, hidroxiflutamida y dietilestilbestrol (Fig. 8).



Anandron



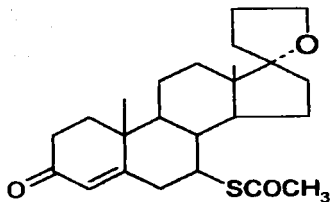
Hidroxiflutamida



Dietilestilbestrol

Figura 8. Antiandrógenos no esteroidales.

Existen antiandrógenos esteroidales que no se derivan de la T ni de la progesterona, los cuales poseen características similares al acetato de ciproterona, como son la espironolactona (Fig. 4, pág. 13) y la espirixazona (Fig. 9).



Espirixazona

Figura 9. Antiandrógeno que no deriva de la progesterona o testosterona.

3. OBJETIVOS

Tomando en consideración la relación existente entre la estructura química y la actividad biológica de los antiandrógenos de tipo esteroidal, se plantean los objetivos del presente trabajo:

Objetivo General.

Sintetizar compuestos que presenten actividad antiandrogénica considerable con respecto a la Finasterida.

Objetivo Específico.

Sintetizar compuestos que contengan en su estructura un átomo de bromo en C-16.

Aislar, purificar y caracterizar mediante sus propiedades físicas (p.f.) y espectroscópicas (UV, IR, RMN¹H) los intermediarios de la ruta sintética; además de caracterizar el compuesto final por RMN¹³C y EM(IE).

Probar la actividad antiandrogénica de los compuestos sintetizados como inhibidores de la enzima 5 α -reductasa en Hámsteres machos adultos, utilizando sus vesículas seminales.

4. REACTIVOS Y EQUIPOS

Reactivos utilizados.

- Gel de sílice 69 F254 Merck para CCF, grado estándar, Merck, Alemania.
- Gel de alúmina, grado estándar, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- Acetato de etilo, 99.5%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- Hexano, 99.0%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- Metanol, 99.8%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- CDCl_3 , 99.8%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- CoCl_2 , 99.9%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- H_2SO_4 , 95.0 - 98.0%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- Anhídrido trifluoroacético, 99.0%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- ACPC, 99.0%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- DDQ, 98.0%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- APTS, 98.5%, Aldrich Chemical Company, Inc., USA.
- Na_2SO_4 , 100.7%, J. T. Backer, USA.
- Dioxano, 99.5%, J. T. Backer, USA.

Equipos empleados.

- Punto de fusión: Fisher-Jones sin corrección por curva de calibración.
- Espectrofotometría de Absorción Ultravioleta: Perkin Elmer 200s, utilizando metanol como disolvente.
- Espectrofotometría de Absorción de Infrarrojo: Perkin Elmer 549B, utilizando la técnica de película con KBr.
- Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno y Carbono 13: Varian Gemini 200 y Varian VRX-300s, utilizando CDCl_3 como disolvente. Los desplazamientos están con respecto a TMS o DMSO como referencias internas.
- Espectrometría de Masas: Hewlett Packard 5985-B, inserción directa utilizando la técnica de impacto electrónico.

5. PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

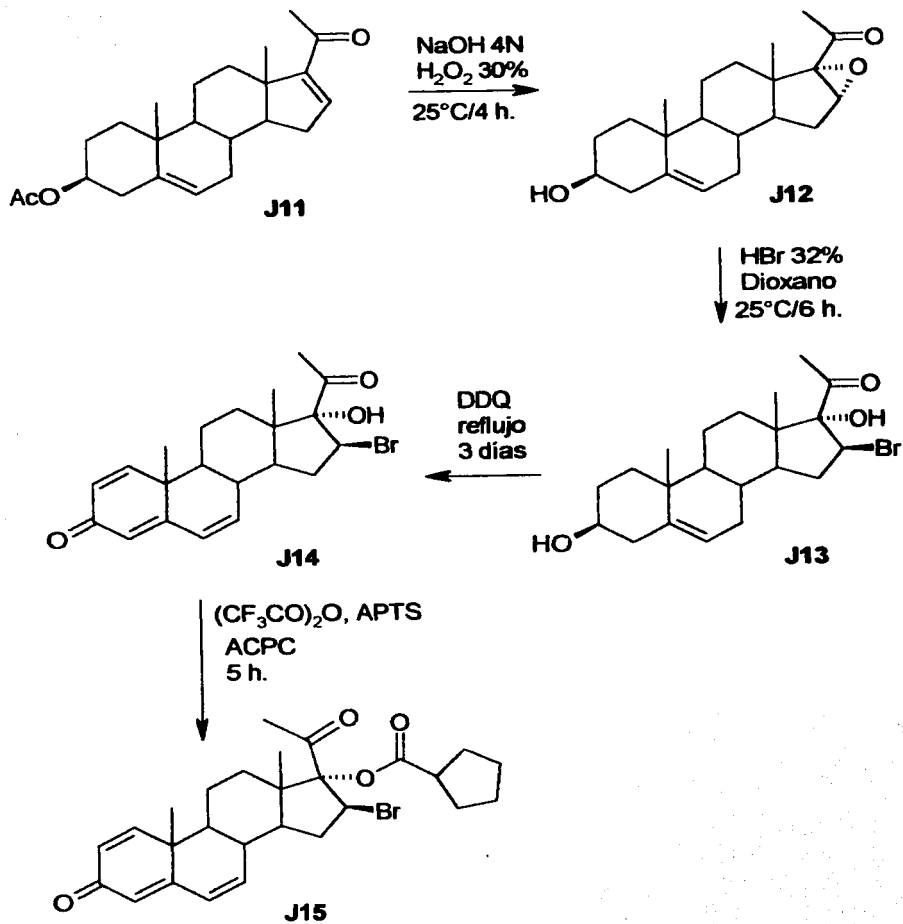
5.1 Síntesis de los Compuestos.

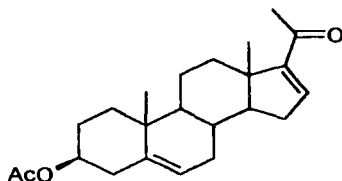
En este capítulo se describe el procedimiento experimental para la síntesis de cada uno de los intermediarios hasta el producto final, así como las técnicas utilizadas para su purificación. También se presentan las características físicas y espectroscópicas determinadas a cada uno de los compuestos.

5.1.1 Ruta de Síntesis.

La ruta de síntesis planteada para la obtención del producto final se muestra en el esquema C, pág. 20.

- La pureza de los compuestos se comprobó, al igual que el curso de las reacciones, por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando como soporte gel de sílice 69 F254 Merck, empleando un sistema de elución basado en una mezcla de hexano / acetato de etilo en proporción 8:2 % v/v.
- El compuesto final se purificó por una cromatografía en columna utilizando como adsorbente gel de alúmina y un sistema de elución hexano / acetato de etilo 8:2 % v/v.
- Los compuestos se detectaron con una disolución de CoCl_2 al 1% en H_2SO_4 (2N) y/o luz ultravioleta a $\lambda=254$ nm.

ESQUEMA C: RUTA DE SÍNTESIS

3 β -ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA. (J11)

Esta es la materia prima de la cual se partió para la síntesis del compuesto deseado. Fue recristalizada de metanol. Se obtuvo un polvo blanco opaco.

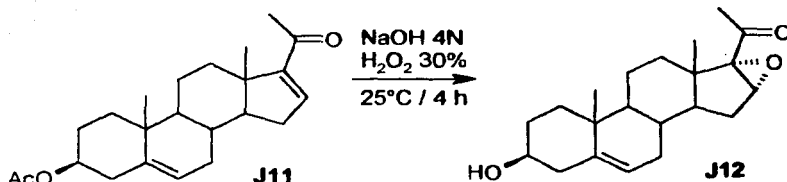
Tabla 4. Características físicas.

Propiedad determinada	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	169-171
Peso molecular (UMA)	356.51
Fórmula condensada	C ₂₃ H ₃₂ O ₃

Tabla 5. Datos espectroscópicos experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
$\lambda_{m\acute{a}x}$ 238	CO α, β insaturada en C-20
IR (cm⁻¹)	
2945	CH ₃ y CH ₂
1729	C=O de éster en C-3
1661	C=O α, β insaturado en C-20
1583	C=C conjugado con C-16
1372	CH ₃ y CH ₂
1247	C-O-C de CH ₃ -COO- en C-3
1037	C-O-C de CH ₃ -COO- en C-3
RMN ¹H (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 ₃ de CH ₃ -COO- en C-3
4.60 (m,1H)	H en C-3
5.40 (d,1H)	C=CH en C-6
6.71 (d,1H)	C=CH en C-16

16 α -17 α -EPOXI-3 β -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (J12)



En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disolvió 1 g (2.8 mmol) de **J11** en 40 mL de metanol caliente. Después se adicionaron 2 mL (8 mmol) de una disolución de NaOH 4N y 4 mL (35.3 mmol) de H₂O₂ al 30%. La mezcla de reacción se mantuvo a 25°C durante 4 h, con agitación magnética constante. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla contenida en el matraz se extrajo con CHCl₃ (3 × 150 mL), lavándose subsecuentemente la fase orgánica con agua hasta pH neutro. Esta fase se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en un rota-evaporador. El sólido resultante se recrystalizó de metanol, obteniéndose 881.7 mg (2.67 mmol) de cristales blancos. El rendimiento fue del 95%.

Tabla 6. Características físicas.

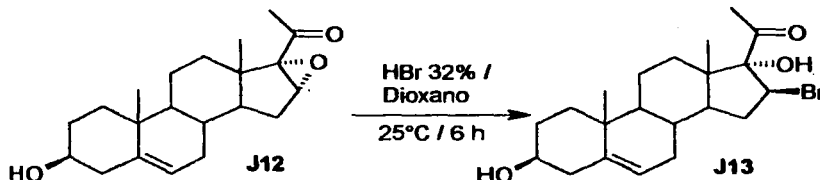
Propiedad determinada	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	191-194
Peso molecular (UMA)	330.47
Fórmula condensada	C ₂₇ H ₄₀ O ₃
Rendimiento	95%

Tabla 7. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm ⁻¹)	
3362	HO- en C-3
2969	CH ₃
2937	CH ₂
2862	CH ₃ y CH ₂
1692	C=O en C-20
1434	CH ₂

1376	CH ₃
1632	C=C entre C-5 y C-6
1055	Unión C-O en C-3
857	Epóxido C-16 C17
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
3.21 (s,1H)	H en C-16
3.50 (m,1H)	H en C-3
3.68 (s,1H)	-OH en C-3
5.33 (d,1H)	C=CH en C-6

16β-BROMO-3β-17α-DIHIROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disolvió 1 g (3.03 mmol) de **J12** en 18 mL (71.3 mmol) de una disolución de HBr al 32% en dioxano. La mezcla de reacción se mantuvo a 25°C durante 6 h, con agitación magnética constante. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla contenida en el matraz se vertió a un vaso de precipitados de 250 mL, se le adicionó agua y se agitó 15 min. El sólido formado se filtró y se lavó hasta neutralidad, secándose posteriormente al vacío. Finalmente se recrystalizó de una mezcla de hexano / acetato de etilo (8:2 % v/v) obteniéndose 728.8 mg (1.77 mmol) de **J13** en forma de cristales blancos, con un rendimiento del 58%.

Tabla 8. Características físicas.

Propiedad determinada	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	196-198
Peso molecular (UMA)	411.38
Fórmula condensada	C ₂₁ H ₃₁ BrO ₃
Rendimiento	58 %

Tabla 9. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm.⁻¹)	
3375.2	HO en C-3 y C-17
2963.2	CH ₃
2932.8	CH ₂
2862.1	CH ₃
2822.1	CH ₂
1700.4	C=O en C-20
1047.9	C-OH
RMN ¹H (ppm)	
1.0 (s,3H)	CH ₃ en C-18
1.2 (s,3H)	CH ₃ en C-19
2.4 (s, 3H)	CH ₃ en C-21
3.5 (m,1H)	H en C-3
4.0 (dd,1H)	H en C-16
5.3 (d,1H)	C=CH en C-6
RMN ¹³C (ppm)	
1°	C18: 16.2, C19: 19.3, C21: 28.2
2°	C1: 19.9, C11: 31.0, C12: 31.5, C7: 31.7, C15: 37.1, C2: 38.6, C4: 42.1
3°	C8: 31.1, C14: 49.5, C9: 50.2, C16β: 51.7, C3: 71.6, C6: 120.9
4°	C13: 36.5, C10: 47.7, C17: 89.7, C5: 140.8, C20: 206.4
EM(IE) (m/z)	
410	M ⁺
412	M ⁺²
392	M ⁺ - H ₂ O
367	M ⁺ - (CH ₃ CO) ⁺
349	367 - H ₂ O
331	M ⁺ - Br (pico base)
313	331 - H ₂ O
288	349 - Br
213	288 - anillo D y H ₂ O
150	Anillos A y B, H ₂ O
105	Anillo A, C-7 y C-9
43	CH ₃ CO

16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, se disolvió 1 g (2.43 mmol) de **J13** en 86.3 mL de dioxano seco, agregando en frío cada 24 h, una porción de 1 g (13.22 mmol) de DDQ (2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona) hasta completar 3 porciones. La mezcla de reacción se mantuvo a ebullición por 3 días en condiciones anhidras y con agitación magnética constante. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla se extrajo con CHCl_3 (7 \times 300 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en rota- evaporador. El sólido se recristalizó de una mezcla de hexano / acetato de etilo (8:2 % v/v) obteniéndose 402.4 mg (0.99 mmol) de **J14**, en forma de cristales blancos, con un rendimiento del 41%.

Tabla 10. Características físicas.

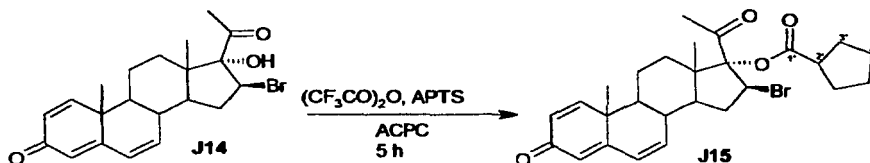
Propiedad determinada	Valor experimental calculado
Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)	195-196
Peso molecular (UMA)	405.34
Fórmula condensada	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{BrO}_3$
Rendimiento	41 %

Tabla 11. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
$\lambda_{\text{máx}}$ 219	CO, α, β insaturado en C-3
$\lambda_{\text{máx}}$ 255	CO, α, β insaturado en C-3, conjugado con C-4
$\lambda_{\text{máx}}$ 298	CO, α, β insaturado en C-3, conjugado con C-4 y C-6
IR (cm^{-1})	
3370	HO en C-17

2944.0	CH ₃
2871.1	CH ₂
1715.3	C=O en C-20
1646.1	C=O α-β insaturado en C-3
1595.3	C=C
1143.9	C-OH en C-17
RMN ¹H (ppm)	
1.2 (s,3H)	CH ₃ en C-18
1.4 (s,3H)	CH ₃ en C-19
2.4 (s,3H)	CH ₃ en C-21
3.6 (s,1H)	HO en C-17
4.1 (dd,1H)	H en C-16
5.9 (dd,1H)	H en C-6
5.9 (dd,1H)	H en C-7
6.2 (dd,1H)	H en C-2
6.2 (dd,1H)	H en C-1
7.0 (d,1H)	H en C-4
RMN ¹³C (ppm)	
1°	C18: 15.8, C19: 20.7, C21: 28.6
2°	C11: 20.7, C12: 31.0, C15: 37.6
3°	C14: 37.1, C8: 47.1, C9: 47.9, C16: 50.8, C4: 123.9, C6: 128.0, C2: 128.1, C7: 137.2, C1: 153.0
4°	C13: 41.446, C10: 47.166, C17: 89.079, C5: 162.434, C3: 186.411, C20: 205.398
EM(IE) (m/z)	
404	M ⁺
406	M ⁺²
361	M ⁺ - (CH ₃ CO) ⁺
343	361 - H ₂ O
325	M ⁺ - Br
281	325 - (CH ₃ CO) ⁺
264	343 - Br, 281 - OH (pico base)
171	Anillos A y B, C-11 y C-12
43	CH ₃ CO

16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBOILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15)



En un matraz de fondo redondo de 25 mL se agregó 0.8 mL (4.99 mmol) de ácido ciclopentilcarboxílico (ACPC), 2 mL (9.53 mmol) de anhídrido trifluoroacético y 200 mg (1.16 mmol) de ácido p-toluensulfónico. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente en condiciones anhidras durante 2 h, con agitación magnética constante. Después se adicionó 1 g (2.47 mmol) de J14, manteniéndose en las mismas condiciones por 3 h. más. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla contenida en el matraz se vertió a un vaso de precipitado con CHCl_3 , lavando constantemente la fase orgánica con agua, hasta pH neutro. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rota-evaporador y el residuo se purificó por CC, utilizando como soporte alúmina y un sistema de elusión hexano / acetato de etilo (8:2 % V/V); obteniéndose 369.4 mg (0.74 mmol) de cristales blancos con un rendimiento del 30%.

Tabla 12. Características físicas.

Propiedad Determinada	Valor experimental calculado
Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)	134 – 136
Peso molecular (UMA)	501.47
Fórmula condensada	$\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{BrO}_4$
Rendimiento	30 %

Tabla 13. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
$\lambda_{\text{máx}}$ 202	CO, α, β insaturado en C-3
$\lambda_{\text{máx}}$ 217	CO, α, β insaturado en C-3 conjugado con C-4
$\lambda_{\text{máx}}$ 291	CO, α, β insaturado en C-3

		conjugado con C-4 y C-6
IR (cm⁻¹)		
3434.1		Sobretono de C=O
2955.3		CH ₃
2871.0		CH ₂
1731.6		C=O de éster en C-17
1656.2		C=O en C-20
1651.5		C=O en C-3
1603.8		C=C Sistema dieno conjugado de C4-C5, C6-C7
1453.5		CH ₂
1373.5		CH ₃
1229.4		C-O de éster en C-17'
1146.5		C-O de éster en C-17'
RMN ¹H (ppm)		
1.2 (s,3H)		CH ₃ en C-18
1.3 (s,3H)		CH ₃ en C-19
1.4 (m,2H)		CH ₂ en C17 ^{3'}
2.1 (s,3H)		CH ₃ en C-21
4.1 (dd,1H)		H en C-16
5.9 (dd,1H)		H en C-6
6.0 (dd,1H)		H en C-7
6.2 (dd,1H)		H en C-2
6.2 (dd,1H)		H en C-1
7.0 (d,1H)		H en C-4
RMN ¹³C (ppm)		
1°		C18: 15.5, C19: 20.7, C21: 28.1
2°		C11: 20.9, C17-4': 25.5, C17-3': 29.7, C12: 33.3, C15: 47.9
3°		C14: 31.1, C17-2': 38.2, C8: 43.7, C9: 48.8, C16: 48.9, C4: 125.2, C6: 128.2, C2: 128.4, C7: 136.5, C1: 152.6,
4°		C13: 41.0, C10: 47.4, C17: 93.3, C5: 161.8, C17-1': 175.4 C3: 186.1, C20: 199.5
EM(IE) (m/z)		
		500 M ⁺
		502 M ⁺²
		482 M ⁺ - H ₂ O
		457 M ⁺ - (CH ₃ CO) ⁺
		420 M ⁺ - Br (pico base)
		387 M ⁺ - (CPC)
		378 457 - Br, 420 - (CH ₃ CO) ⁺
		307 387 - Br
		265 M ⁺ - CPC - CH ₃ CO - Br

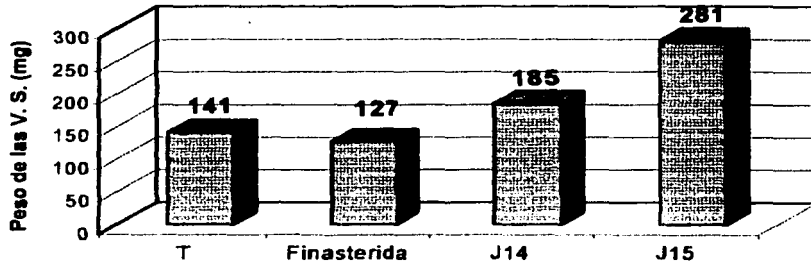
171 Anillos A y B, C-11 y C-12
 69 C-1, C-2, C-3, C-4 y O
 43 CH₃CO

5.2 Ensayos biológicos de la actividad antiandrogénica.

5.2.1 Ensayos en Vesículas Seminales (VS)

Se realizó la evaluación biológica de los compuestos como inhibidores de la enzima 5 α -reductasa, utilizando como estándar a la finasterida. La actividad farmacológica se determinó en vesículas seminales (V.S.) de Hámster machos adultos, de la cepa Syriam Golden, con un peso promedio de 150-200 g gonadectomizados 15 días antes del estudio. Se utilizaron diversos grupos de cuatro animales para cada experimento. A cada animal de los diversos grupos se le administró por vía subcutánea 200 μ g de testosterona y 200 μ g de cada uno de los esteroides a evaluar, disueltos en 0.5 ml de aceite de castor como vehículo, en períodos de 24 h durante 3 días. Como control se utilizó un grupo de animales a los cuales se le administró Finasterida más T y otro al que se le administró únicamente T disuelta en el vehículo. Posteriormente al tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante el uso de anestesia con éter y se realizó la disección de las vesículas seminales para ser pesadas.^{17,18} Los resultados se muestran en la gráfica 1.

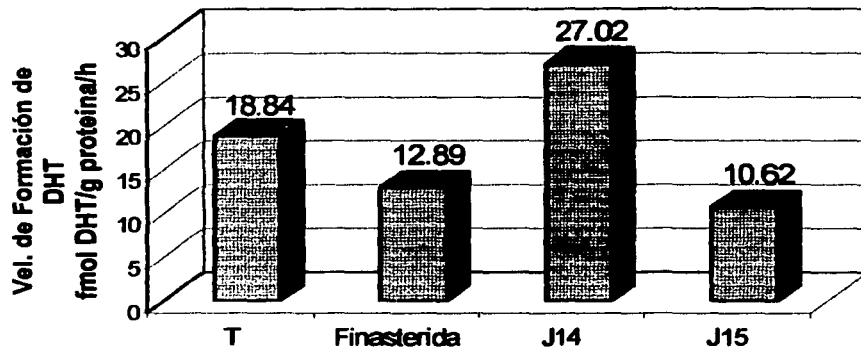
Gráfica 1. Efecto del esteroide en el peso de las vesículas seminales (isoenzima II).



5.2.2 Análisis de la velocidad de formación de DHT en VS

Se realizó un estudio metabólico *in vitro* con las VS para conocer el efecto del esteroide en la velocidad de formación de DHT.^{6,19,20} En este bioensayo los esteroides a analizar se incubaron con homogenizados de VS (pH = 6, disolución amortiguadora de fosfatos) en testosterona tritiada ^3HJT y NADPH^+ a 37°C por 1 h. El control fue la incubación sin tejido. La incubación terminó con la adición de CH_2Cl_2 y el esteroide tritiado se extrajo con el mismo disolvente. El contenido se determinó por el método de Bradford.²¹ La purificación de los productos tritiados se realizó por CCF, midiéndose la radioactividad, expresándose en fmol de DHT/g de proteína/h. Los resultados los podemos observar en la gráfica 2.

Gráfica 2. Efecto del esteroide en la conversión de T a DHT.



6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La discusión de resultados será: primero la relacionada con la síntesis de los compuestos J12 a J15 y después la correspondiente al ensayo de la actividad biológica de J14 y J15 en vesículas seminales.

6.1 Discusión de la Síntesis de los Compuestos.

3 β -ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA. (J11)

Es también llamado acetato de 16-dehidropregnenolona (16-DPA), el cual fue utilizado como materia prima. Este esteroide presenta las funcionalidades químicas necesarias para ser transformado en el compuesto deseado. Se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, tal como se presenta en las **tablas 4 y 5** (pág. 21).

En el UV (Espectro 1, pág. 44) se observa que J11 absorbe en el UV, debido a la existencia de un cromóforo con $\lambda_{\text{máx}}$ de 238 nm, que corresponde al enlace α,β -insaturado en C-16 conjugado con el carbonilo en C-20.

En cuanto al IR (Espectro 2, pág. 45) se encuentran dos absorciones en la zona de los carbonilos en 1729 y 1661 cm^{-1} correspondientes a los carbonilos del grupo acetoxi en C-3 y de la cetona α,β -insaturada en C-20, respectivamente. También se observan señales correspondientes a metilos y metilenos en 2945 y 1372 cm^{-1} ; la absorbancia en 1583 cm^{-1} indica la presencia de un doble enlace conjugado. Las señales en 1247 y 1037 cm^{-1} representan la vibración C-O del éster en C-3.

La RMN ^1H (Espectro 3, pág. 46) presenta las siguientes señales: dos singuletes en 0.92 y 1.05 ppm que integran para 3 protones cada una, correspondientes a los protones de los metilos angulares en C-18 y C-19 respectivamente; 2 señales simples en 2.03 y 2.26 ppm que integran para 3 protones, cada una perteneciente al metilo en C-21 y al metilo del grupo acetato en C-3, respectivamente; una señal múltiple que integra para un protón en 4.60 ppm correspondiente al protón base del acetoxi en C-3. En la zona de protones vinílicos se observan dos dobletes, uno en 5.40 ppm y el otro en 6.71 ppm, integrando cada uno para un protón, los cuales se deben al protón vinílico en C-6 y C-16 respectivamente.

16 α -17 α -EPOXI-3 β -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (J12)

El primer paso de la síntesis, involucró la formación de un epóxido entre C-16 y C-17. La epoxidación se realizó con peróxido de hidrógeno en medio básico, produciéndose una adición nucleofílica del anión hidroperóxido sobre la doble ligadura en C-16 mediante un mecanismo tipo Michael. Debido a que la reacción se lleva a cabo en medio básico, se hidrolizó el acetato en C-3. El compuesto obtenido se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en las **tablas 6 y 7** (pág. 22).

En el IR (Espectro 4, pág. 47) se observa una banda muy intensa en 1692 cm^{-1} que corresponde a la frecuencia de absorción del grupo carbonilo en C-20. Se confirma la hidrólisis del grupo acetoxi con la ausencia de la señal del carbonilo del éster en 1729 cm^{-1} y la aparición de una señal intensa en 3362 cm^{-1} , la cual corresponde al oxhidrilo en C-3. También se puede observar la presencia de señales en 2969, 2937, 2862, 1434 y 1376 cm^{-1} , correspondientes a grupos metilos y metilenos. La señal en 1632 cm^{-1} se asignó a la instauración entre C-5 y C-6 y la que aparece en 1055 cm^{-1} corresponde al enlace C-O del oxhidrilo C-3.

En la RMN ^1H (Espectro 5, pág. 48) se observa la desaparición de la señal en 6.71 ppm correspondiente al protón vinílico de C-16, apareciendo una señal simple en 3.21 ppm que integra para un protón base del epóxido en ese mismo carbono. La señal múltiple de 3.50 ppm que integra para un protón, se asignó al protón en C-3; las señales simples en 1.02, 1.05 y 2.03 ppm, que integran para 3 protones cada una, corresponden a los metilos angulares en C-18 C-19 y al metilo en C-21, respectivamente; la señal doble en 5.33 ppm que integra para un protón se asignó al protón vinílico en C-6. Finalmente la señal que aparece en 3.68 ppm y que integra para un protón, se asignó al protón del oxhidrilo en C-3.

16 β -BROMO-3 β -17 α -DIHIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13)

En este paso de la secuencia de síntesis se realizó la apertura del anillo de oxirano de J12 mediante un mecanismo de adición nucleofílica, empleando ácido

bromhídrico al 32% en dioxano, con la finalidad de introducir un bromo en β del C-16, y la generación simultánea del oxhidrilo en C-17. Al nuevo compuesto obtenido y no descrito en la literatura, se le determinaron sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en las **tablas 8 y 9** (págs. 23 y 24).

En el IR (Espectro 6, pág. 49) de este compuesto, se observa una banda intensa en 3375.2 cm^{-1} , asignada a los oxhidrilos en C-17 y C-3. La señal en 1047 cm^{-1} indica la vibración correspondiente al C-O. Las señales en 2963 , 2932 , 2862 y 2822 cm^{-1} corresponden a grupos metilos y metilenos. La señal en 1700 cm^{-1} indica la presencia del carbonilo en C-20.

En la RMN ^1H (Espectro 7, pág. 50) se observa que la señal del protón de C-16 se desplaza a campo más bajo, apareciendo como doble de dobles en 4.09 ppm , esto es debido a la presencia del átomo de bromo a este carbono. La señal en 1.03 , 1.29 y 2.43 ppm corresponden a los metilos angulares en C-18 y C-19 y al metilo en C-21, respectivamente. La señal del protón vinílico de C-6 sigue apareciendo como un coblete en 5.35 ppm ; también la señal del protón de C-3 se sigue observando como multiplete en 3.52 ppm .

En la RMN ^{13}C (Espectros 8 y 9, págs. 51 y 52) se observa una señal en 206.44 ppm , la cual corresponde al carbonilo de C-20. Los otros carbonos con hibridación sp^2 , aparecen en 140.82 ppm , para C-5 y 120.99 ppm para C-6 (carbonos vinílicos sin protón y con un protón, respectivamente). Los demás carbonos cuaternarios con hibridación sp^3 aparecen con los desplazamientos químicos en 89.75 , 47.75 y 36.51 ppm , correspondiendo a C-17, C-10 y C-13 respectivamente. De los demás carbonos que presentan hibridación sp^3 , sus desplazamientos químicos están en 71.62 , 51.72 , 50.29 , 49.52 y 31.18 ppm , siendo C-3, C-16, C-9, C-14 y C-8, respectivamente.

Las señales de los metilenos C-4, C-2, C-15, C-7, C-12, C-11 y C-1 aparecen en 42.18 , 38.68 , 37.17 , 31.71 , 31.55 , 31.03 y 19.90 ppm respectivamente.

Finalmente, el orden en el desplazamiento químico de los metilos es de 16.22 , 19.38 y 28.27 ppm , correspondientes a C-18, C-21 y C-19, respectivamente.

La EM(IE) (Espectro 10, pág. 53) muestra un ion molecular de 410 m/z correspondiente al peso molecular de **J13**. También aparece una señal en 412 m/z , correspondiente a **M+2**, indicativo de la presencia de bromo en la molécula. Se observa

un pico en 392 m/z dado por la deshidratación del alcohol en C-17, repitiéndose la señal en 394 m/z, indicativo de la presencia de bromo en la molécula. Los picos 367 y 369 m/z se deben a la pérdida de 43 unidades o un grupo $(\text{CH}_2\text{C}=\text{O})^+$ del ion molecular. Los picos en 349 y 351 m/z se produjeron por la deshidratación del fragmento 367 y 369 m/z, respectivamente. El pico en 331 m/z se debe a la pérdida del átomo de bromo del ion molecular, señal indicativa del 100% de abundancia relativa a la cual se le llama pico base del espectro. A su vez, el pico en 313 m/z se forma por la deshidratación del fragmento 331 m/z y el pico en 288 m/z se debe a la pérdida del átomo de bromo del fragmento molecular 349 m/z.

16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14)

El siguiente paso en la ruta de síntesis fue la oxidación del oxhidrilo de C-3 con la introducción de dobles ligaduras entre C-1-C-2, C-4-C-5 y C-6-C-7, mediante la deshidrogenación con DDQ. El método empleado permitió acortar en un paso la ruta sintética, ya que no fue necesario oxidar primero el oxidrilo en C-3, a través de una oxidación de Oppenauer. Se obtuvo un compuesto nuevo no descrito en la literatura, sus propiedades físicas y espectroscópicas se muestran en las **tablas 10 y 11** (pág. 25).

En el UV (Espectro 11, pág. 54) de este compuesto, se observa la presencia de un grupo cromóforo 1,4,6-trien-3-ona, en un máximo de absorbancia a 219, 255 y 298 nm (227, 257 y 305 nm son datos teóricos referidos a la ligadura aislada, dieno y trieno conjugado respectivamente).

En el IR (Espectro 12, pág. 55) aparece una banda en 3370 cm^{-1} , correspondiente al oxhidrilo en C-17. Se comprueba la oxidación del oxhidrilo en C-3 por la aparición de una señal en 1646 cm^{-1} , correspondiente al carbonilo α,β -insaturado. La señal en 1715 cm^{-1} es debida al carbonilo de C-20. Aparece una nueva señal intensa en 1595 cm^{-1} debido a las insaturaciones presentes en el anillo A y B del esteroide. Se observa también la señal de vibración C-O en 1143 cm^{-1} , que corresponde al alcohol terciario de C-17 y en 2944 y 2871 cm^{-1} aparecen los metilos y metilenos presentes en el esteroide.

En la RMN ¹H (Espectro 13, pág. 56) nuevamente se confirma la generación de la entidad 1,4,6-trien-3-ona al apreciarse que la señal múltiple en 3.52 ppm que integraba para el protón de C-3 desapareció, observándose en la zona de los protones vinílicos cinco señales: una doble que integra para un protón en 7.07 ppm la cual corresponde al protón vinílico C-4, alfa al carbonilo en C-3, la señal doble de doble en 6.25 ppm que integra para un protón correspondiente al protón vinílico de C-1 beta al carbonilo en C-3; las otras 3 señales cuya multiplicidad es doble de dobles, cuya integración es para un protón son las que aparecen en 5.95, 5.99 y 6.24 ppm corresponden a los protones situados en C-6, C-7 y C-2, respectivamente. Las señales simples que integran para tres protones y aparecen en 1.21, 1.40 y 2.41 ppm son asignadas a los metilos angulares C-18 y C-19 y al metilo en C-21, respectivamente. También se observa una señal simple que integra para un protón en 3.61 ppm, para el protón del oxhidrilo en C-17. El protón de C-16 aparece en 4.15 ppm como una señal múltiple.

En la RMN ¹³C (Espectro 14 y 15, págs. 57 y 58) se confirma la presencia del sistema 1,4,6-trien-3-ona en la zona de los carbonilos con la presencia de 2 señales y en la zona de los carbonos con hibridación sp² se pueden observar 6 señales, correspondientes a los carbonos vinílicos.

La señal en 205.39 ppm se asignó al carbonilo en C-20 y la señal en 186.41 ppm fue asignada al carbonilo en C-3. En 162.43, 47.16 y 41.44 ppm se encuentran los carbonos cuaternarios correspondientes a C-5, C-10 y C-13, respectivamente. El carbono cuaternario C-17 aparece en 89.07 ppm, que no muestra cambio de desplazamiento con respecto al mismo carbono en **J13**.

A los carbonos terciarios vinílicos, formando parte de los anillos A y B del esteroide, los encontramos en 123.90, 128.05, 128.14, 137.21 y 153.05 ppm, correspondientes a C-4, C-6, C-2, C-7 y C-1, respectivamente. Los otros carbonos terciarios con hibridación sp³ son C-8, C-9 y C-14, cuyos desplazamientos los encontramos en 47.16, 47.92 y 37.10 ppm respectivamente. El C-16, que sostiene al átomo de bromo, aparece en 50.84 ppm y no muestra cambio en el desplazamiento químico con respecto al mismo carbono en **J13**.

Los carbonos secundarios C-11, C-12 y C-15 se encuentran formando parte de los anillos B y C del esteroide, aparecen con desplazamientos químicos de 20.71, 31.03 y 37.63 ppm, respectivamente.

Finalmente, los carbonos primarios aparecen a campo alto, como se puede apreciar en: 15.81, 20.71 y 28.61 ppm, asignados a C-18, C-19 y C-21, respectivamente.

La EM(IE) (Espectro 16, pág. 59) muestra un ion molecular en 404 m/z correspondiente al peso molecular de J14. Aparece también un pico en 406, correspondiente a M+2, el cual es indicativo de la presencia de bromo en la molécula. Los picos en 361 y 363 m/z indican la pérdida de 43 unidades, equivalente al fragmento $(\text{CH}_3\text{CO})^+$. Los picos en 343 y 345 m/z provienen de la deshidratación de los fragmentos moleculares 361 y 363 m/z. En 325 m/z se observa otro pico que corresponde a la pérdida de bromo de la molécula. La pérdida del grupo $(\text{CH}_3\text{CO})^+$ de éste último fragmento molecular nos da un pico de 281 m/z. La deshidratación del fragmento 281 m/z origina un pico en 264 m/z, el cual corresponde al pico con 100% de abundancia relativa (pico base del espectro). Éste fragmento molecular de m/z 264 también se origina de la pérdida del átomo de bromo del fragmento molecular m/z 343.

16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15)

La esterificación del grupo oxhidrilo en C-17 del compuesto J14 se llevó a cabo con ácido ciclopentilcarboxílico, dando origen a un nuevo compuesto no descrito en la literatura, su estructura se elucidó por sus propiedades físicas y espectroscópicas presentadas en las tablas 12 y 13 (pág. 27).

El UV (Espectro 17, pág. 60) de este nuevo compuesto presenta un grupo cromóforo 1,4,6-trien-3-ona, determinado por la presencia de un máximo de absorbancia a 202.02, 217.85 y 291.78 nm (227, 257 y 305 nm, son datos teóricos referidos a la ligadura aislada, dieno y trieno conjugado respectivamente).

El IR (Espectro 18, pág. 61) comprueba la esterificación del oxhidrilo de C-17, con la desaparición de la banda en 3370 cm^{-1} y la presencia de 3 señales en la zona de carbonilos, la primera en 1731 cm^{-1} corresponde al carbonilo del éster en C-17 y las de

1656 y 1651 cm^{-1} corresponden a los carbonilos de C-20 y C-3, respectivamente. Otra prueba indicativa de la esterificación es la señal de sobretono en 3434 cm^{-1} ocasionado por el carbonilo del éster. En 1603 cm^{-1} se observa la señal producida por el sistema del dieno conjugado y los estiramientos de los enlaces del éster aparecen en 1229 y 1146 cm^{-1} . Finalmente, se observan las señales de los metilos y metilenos en 2955, 2871, 1453 y 1373 cm^{-1} .

El espectro de RMN ^1H (Espectro 19, pág. 62) reafirma la formación del éster por la desaparición de la señal en 3.61 ppm, correspondiente al oxidrilo del compuesto anterior. Se repite el patrón de aparición de señales para el sistema 1,4,6-trien-3-ona, observándose señal doble que integra para un protón en 7.07 ppm, que corresponde a C-4, cuatro señales con multiplicidad doble de dobles que integran para un protón cada una apareciendo en 5.96, 6.01, 6.28 y 6.29 ppm, correspondiendo a C-6, C-7, C-2 y C-1 respectivamente. Se observan 3 señales simples que integran para 3 protones cada una en 1.21, 1.31 y 2.14 ppm, que corresponden a los metilos angulares C-18 y C-19 y al metilo en C-21, respectivamente. El protón de C-16 aparece en 4.19 ppm como un doble de dobles.

La RMN ^{13}C (Espectro 20 y 21, págs. 63 y 64) reafirma la formación del éster al aparecer 3 señales en la región de carbonilos, 2 pares de señales similares en la región de metilenos y una señal extra de carbono terciario con referencia al espectro de J14.

La señal en 199.58 ppm se asignó al carbonilo en C-20, la señal en 186.13 ppm, a C-3 y la señal en 175.49 al carbonilo del éster. En 161.81, 47.41 y 41.03 ppm se encuentran los carbonos cuaternarios correspondientes a C-5, C-10 y C-13 respectivamente. El C-5 es un carbono vinílico y los otros dos son de hibridación sp^3 . El carbono cuaternario C-17 aparece en 93.38 ppm, que no muestra un cambio significativo en el desplazamiento con respecto al mismo carbono en J14.

Los carbonos terciarios vinílicos que forman parte de los anillos A y B del esteroide los encontramos en 125.24, 128.25, 128.48, 136.55 y 152.62 ppm, correspondientes a C-4, C-6, C-2, C-7 y C-1 respectivamente, sin que se observen cambios significativos en los desplazamientos químicos con respecto a los correspondientes en J14. Los otros carbonos terciarios con hibridación sp^3 son C-14, C-8, carbono 2 del éster y C-9, cuyas señales las encontramos en 31.18, 43.75, 38.26,

y 48.84 ppm respectivamente. La señal de C-16 aparece en 48.96 ppm y es el carbono que sostiene al átomo de bromo, tampoco muestra un cambio significativo en el desplazamiento químico con respecto al mismo átomo de carbono en J14.

Los carbonos secundarios C-11, C-12 y C-15 se encuentran formando parte de los anillos C y D del esteroide, apareciendo en los desplazamientos químicos en 20.98, 33.30 y 47.93 ppm respectivamente. Las señales simétricas que están en 25.54 y 29.77 ppm, corresponden a los metilenos en posición 4 y 3 del anillo del éster ciclopentilcarboxílico.

Finalmente, los carbonos primarios aparecen a campo alto, como podemos apreciarlos en 15.59, 20.70 y 28.17 ppm, siendo asignados a C-18, C-19 y C-21 respectivamente.

La EM(IE) (Espectro 22, pág. 65) muestra un ion molecular de 500 m/z, correspondiente al peso molecular de J15. Aparece un pico en 502 m/z, correspondiente a M+2, el cual es indicativo de la presencia de bromo en la molécula. Los picos en 482 y 484 m/z se generan por la deshidratación del ion molecular. Por otro lado, el ion molecular al perder 43 unidades del fragmento $(\text{CH}_3\text{CO})^+$, genera los picos que aparecen en 457 y 459 m/z, que comprueban la presencia del bromo en este fragmento. Estos fragmentos moleculares, al perder el átomo de bromo, generan un pico en 378 y 380 m/z. Cuando el ion molecular pierde el átomo de bromo de su molécula, se observa una señal en 420 m/z (pico base del espectro). Éste fragmento molecular al perder el grupo $(\text{CH}_3\text{CO})^+$ origina otro fragmento con m/z 378. Al darse la pérdida del ciclopentilcarboxílico del ion molecular, se genera un pico en 387 m/z y, cuando este fragmento pierde al átomo de bromo, el pico se observa en 307 m/z.

6.2 Discusión de los Ensayos Biológicos.

6.2.1 Ensayo en Vesículas Seminales.

El efecto de inhibición de la isoenzima tipo II se manifestó por la reducción del peso de las vesículas seminales. Los resultados obtenidos mostraron que el estándar disminuye el peso de las VS hasta 127 mg, en comparación con la T (141 mg). Los derivados J14 y J15 dieron por resultado pesos de 185 mg y 281 mg respectivamente, tal como podemos observar en la gráfica 1 (pág. 29). Podemos decir que estos compuestos no son antiandrógenos, ya que no forman complejo con el receptor, al obtenerse pesos de VS mayores al del estándar.

6.2.2 Análisis de la velocidad de formación de DHT en VS.

De la gráfica 2 (pág. 30) se puede observar que el compuesto J15 decrece la velocidad de formación de DHT. Esto implica que es un inhibidor de la enzima 5α -reductasa más potente que el estándar, no así para el compuesto J14, cuya velocidad de formación de DHT es mayor en más del 100% con respecto a la finasterida.

7. CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó la síntesis y evaluación farmacológica de 2 nuevos compuestos derivados de la progesterona con un átomo de bromo en la posición 16: 16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14) y 16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15). La síntesis de estos compuestos no han sido descrita anteriormente en la literatura y su caracterización se hizo mediante sus propiedades físicas (p.f.) y sus datos espectroscópicos (UV, IR, RMN¹H, RMN¹³C y EM(IE)).

Se efectuó la evaluación biológica *in vivo* e *in vitro* de los compuestos J14 y J15, de acuerdo a los resultados obtenidos se establece lo siguiente:

La presencia de un átomo de bromo en orientación β en el C-16 y el sistema conjugado 1,4,6-trien-3-ona en las estructuras de J14 y J15, no ejercen una mejor actividad antiandrogénica que la Finasterida, fármaco de uso actual.

- El aumento del volumen estérico en el anillo D mediante la formación del éster ciclopentilcarboxílico en orientación α en el C-17 en J15, muestra una actividad inhibitoria frente a la enzima 5 α -reductasa isotipo I, mostrando una mayor actividad que la Finasterida.

Estudios posteriores en la actividad de J15, deberán concentrarse a la inhibición de la isoenzima tipo I.

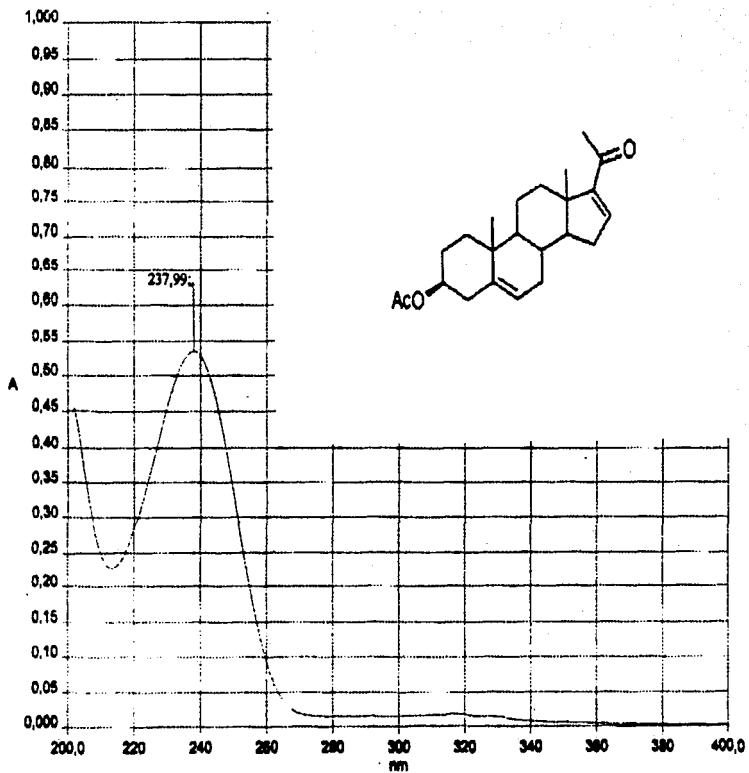
8. GLOSARIO

ACPC	Ácido Ciclopentilcarboxílico.
ADN	Ácido Desoxirribonucleico.
APTS	Ácido p-Toluensulfónico.
ARN	Ácido Ribonucleico.
CCF	Cromatografía en Capa Fina.
DDQ	2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona.
DHT	Dihidrotestosterona.
EM(IE)	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico.
fmol	femtomol (1×10^{-15})
FSH	Hormona estimulante del folículo.
GnRF	Factor liberador de la gonadotropina.
HPB	Hipertrofia Prostática Benigna.
IR	Infrarrojo.
Km	Constante de Michaelis-Menten
LH	Hormona luteinizante.
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato.
p.f.	Punto de fusión.
REA	Relación Estructura-Actividad, en inglés SAR.
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica.
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.
T	Testosterona.
UV	Ultravioleta.
VS	Vesículas seminales.

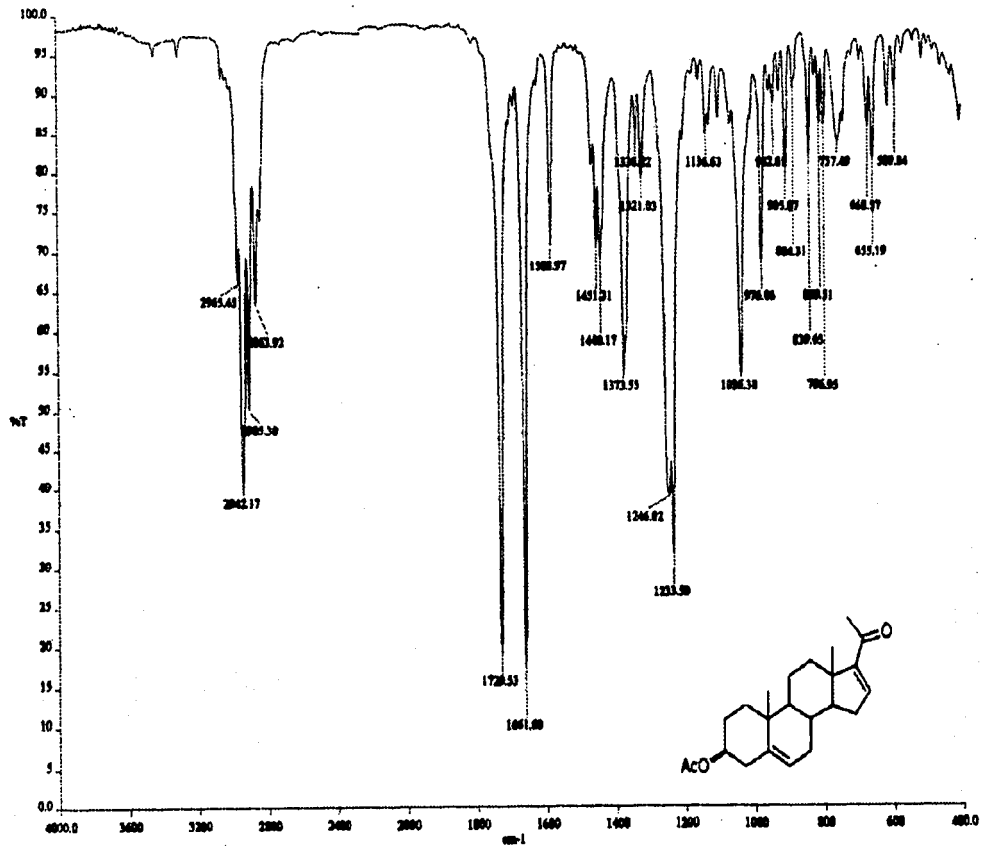
9. BIBLIOGRAFÍA

1. Guyton, C. A.; Hall, E. J., **TRATADO DE FISIOLOGÍA MÉDICA**, McGraw-Hill Interamericana, 9ª edición, p. 1009, México, 1997.
2. Voet, D.; Voet G. J., **BIOQUÍMICA**, Ediciones Omega, 1ª edición, p. 1243, Barcelona, 1992.
3. Battmann, T.; et al., Pharmacological Profile of RU 58642, a Potent Systemic Antiandrogen for the Treatment of Androgen-dependent Disorders, *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* (1998), **64**, 103-111.
4. **US TOO!** International, Inc., Prostate Cancer Support Groups, <http://www.ustoo.com/cht.html>, 2001.
5. Hernández, L. F., **CURSO TEÓRICO DE TOXICOLOGÍA**, Capítulo 11, Facultad de Química, UNAM, México, 2001.
6. Ramzi, D. F., **PATOLOGÍA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL**, McGraw-Hill Interamericana, vol. II, pp. 1173-1176, Madrid, 1990.
7. Fruzziettii, F.; Bersi, Ch.; Parrini, D.; Ricci, C.; Genazzani, A. R., Treatment of hirsutism: comparisons between different antiandrogens with central and peripheral effects, *Fertility and Sterility* (1999), **71**, 445-451.
8. Cabeza, M.; et al., Androgenic and anti-androgenic effects of progesterone derivatives with different halogens as substituents at the C-6 position, *Steroids* (1999), **64**, 413-421.
9. Sánchez Huerta, N., **SÍNTESIS DE 17 α -BUTIRILOXI-16 β METILPREGNA-4,6-DIEN-3,20-DIONA COMO UN ANTIANDRÓGENO ESTEROIDAL**, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, 2000.
10. Goodman & Gilman's CD-ROM, **THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS**, Mc_Graw-Hill, 9th edition, Table 5-1, USA, 1996.
11. Iwasaki Otake, D., **SÍNTESIS DE 17 α -BENZOILOXI-16 β -METILPREGNA-4,6-DIEN-3,20-DIONA COMO UN ANTIANDRÓGENO ESTEROIDAL**, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, 2000.
12. Orten, J. M.; Neuhaus, O. W., **BIOQUÍMICA HUMANA**, Panamericana, pp. 644-648, Argentina, 1984.
13. Wilson, J. D., Recent studies on the mechanism of active of testosterone, *New England, J. Med.* (1972), **287**, 1284.

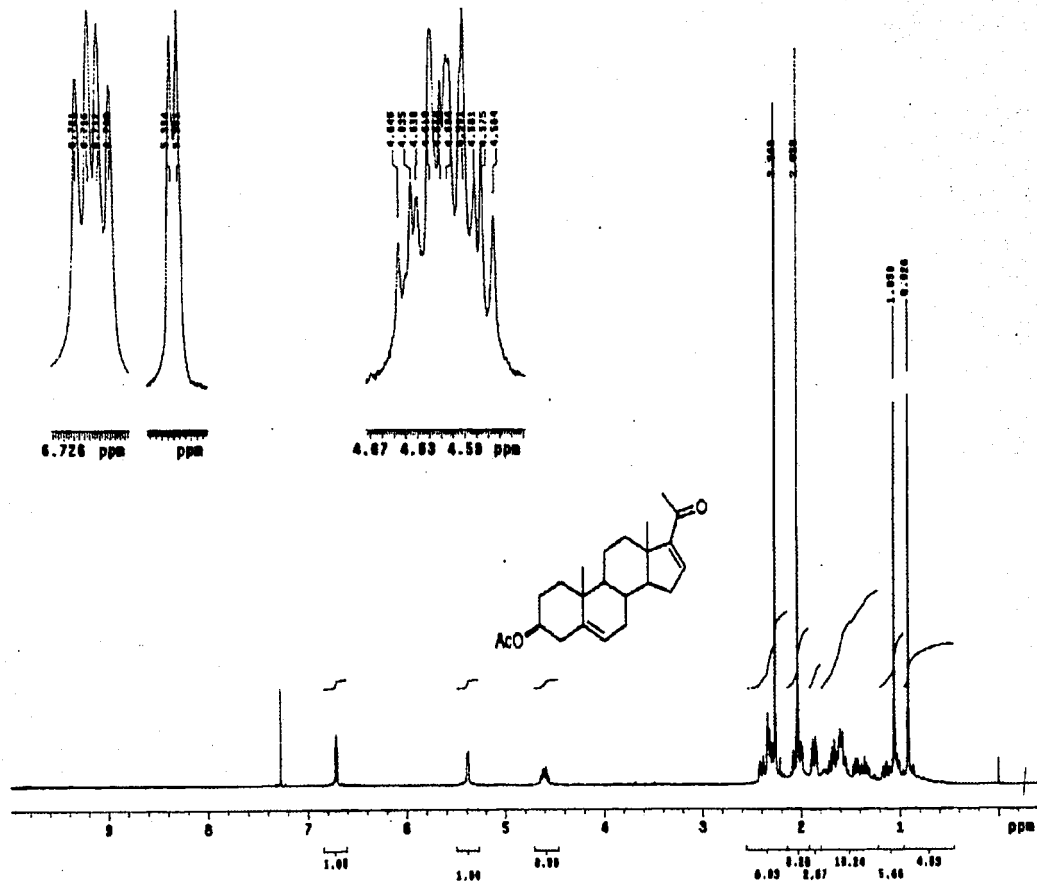
14. Kochakian, C. D.; Arimasa, N., The metabolism in Vitro of Anabolic-Androgenic Steroids by Mammalian Tissues, *Hadb. Exp. Phamakol.* (1997), **43**, 287-359.
15. Calderón, D.; et. al., Estudio in vitro de los 3 antiandrógenos más empleados en el tratamiento de enfermedades que dependen de los andrógenos, *Revista de Perinatología y Reproducción Humana* (1998), **12**, 105-110.
16. Calderón, D.; et. al., Antiandrógenos más usuales. Reflexiones sobre la síntesis orgánica, *Revista Mexicana de las Ciencias Farmacéuticas* (1997), **28**, 24-29.
17. Cabeza, M.; et. al., Antiandrogenic Effect of New Synthetic Steroids, *Proc. West. Pharmacological Soc.* (2000), **43**, 1-2.
18. Cabeza, M.; Heuze, I.; Bratoeff, E.; Ramírez, E.; Martínez, R., Evaluation of New Pregnane Derivatives as 5α -reductase Inhibitors, *Chem. Phar. Bullc.* (2001), **493**, 525.
19. Bratoeff, E.; Ramírez, E.; Murillo, E.; Flores, G.; Cabeza, M., Steroidal Antiandrogens and 5α -reductase Inhibitors, *Current Medicinal Chemistry* (1999), **53**, 1007-1023.
20. Cabeza, M.; et. al., Synthesis and Pharmacological Effect of 6-halo-16 β -methyl pregnane derivatives, *Proc. West. Pharmacological Soc.* (1998), **41**, 87-88.
21. Bradford, M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Micro quantities of Protein, *Ann. Biochem* (1976), **72**, 248.



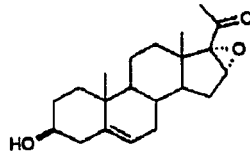
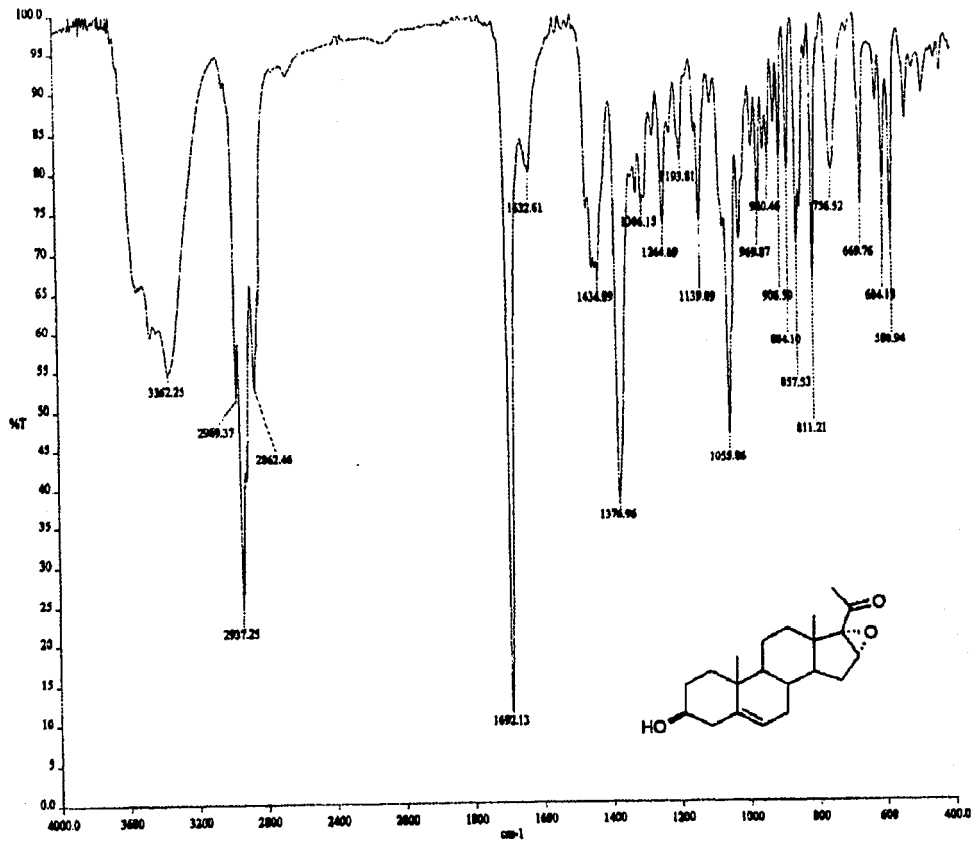
Espectro 1. UV de 3β-ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA. (J11)



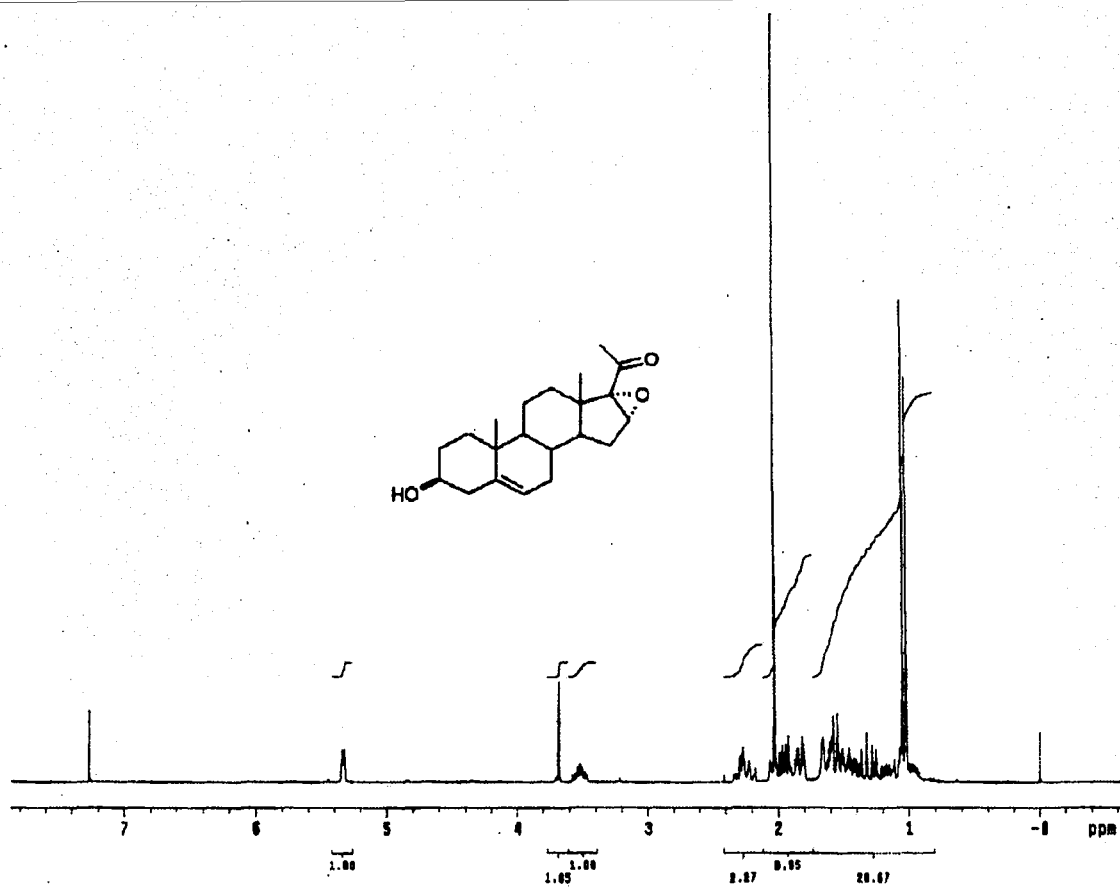
Espectro 2. IR de 3β-ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA (J11).



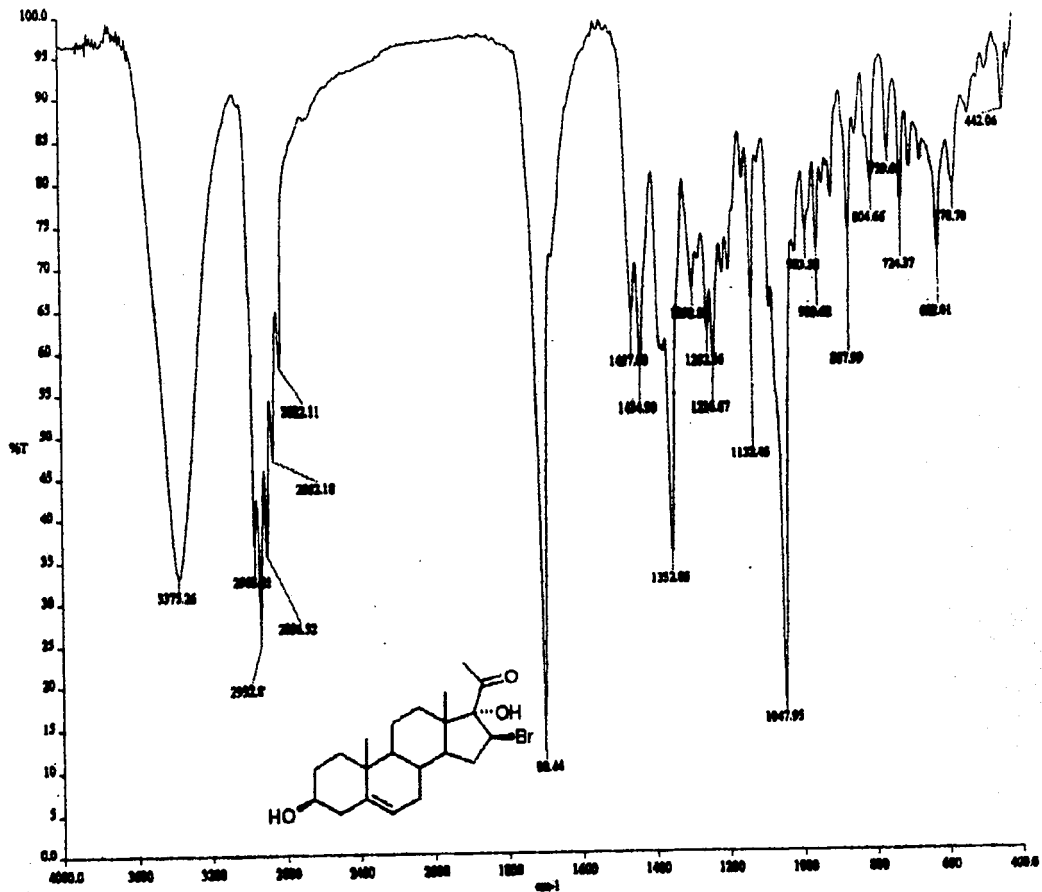
Espectro 3. RMN ¹H de 3-ACETOXI-5,16-PREGNADIEN-20-ONA (J11).



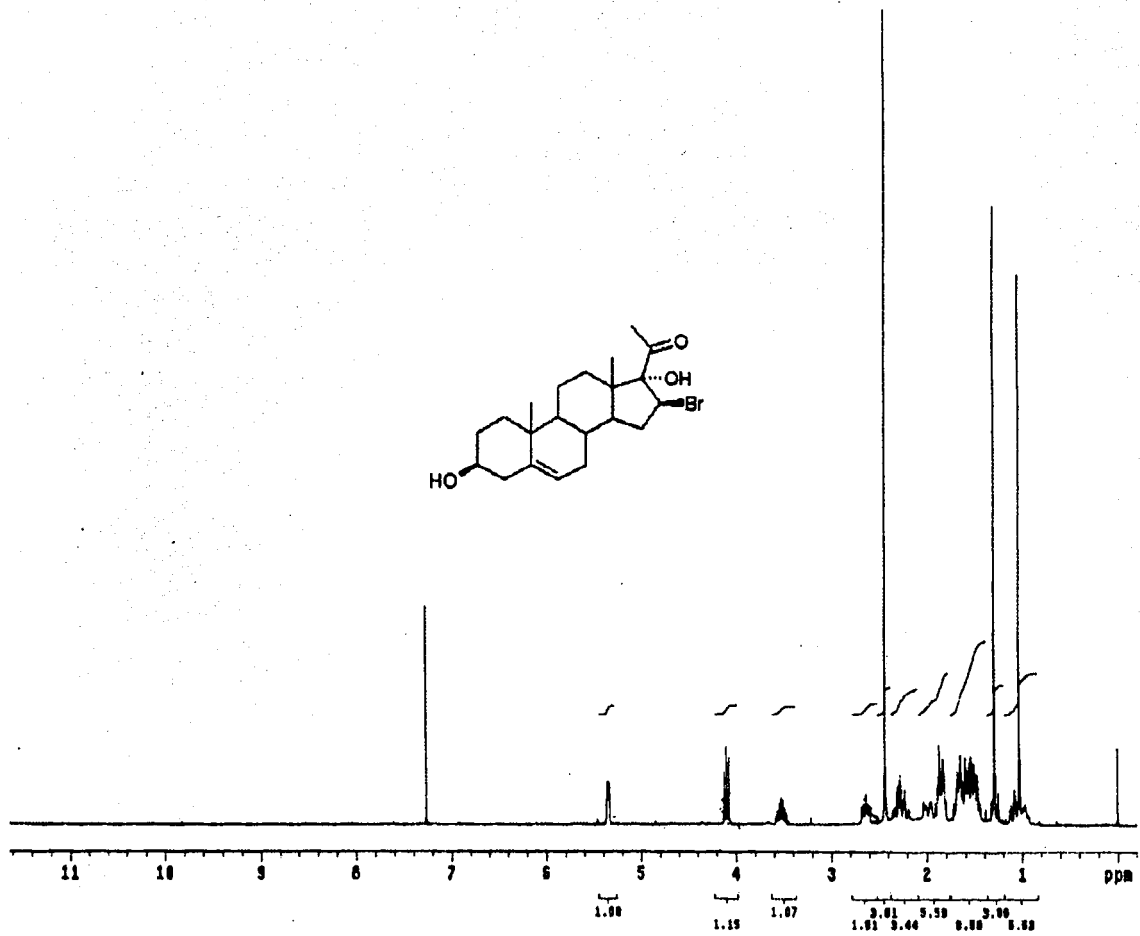
Spectro 4. IR de 16 α -17 α -EPOXI-3 β -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J12).



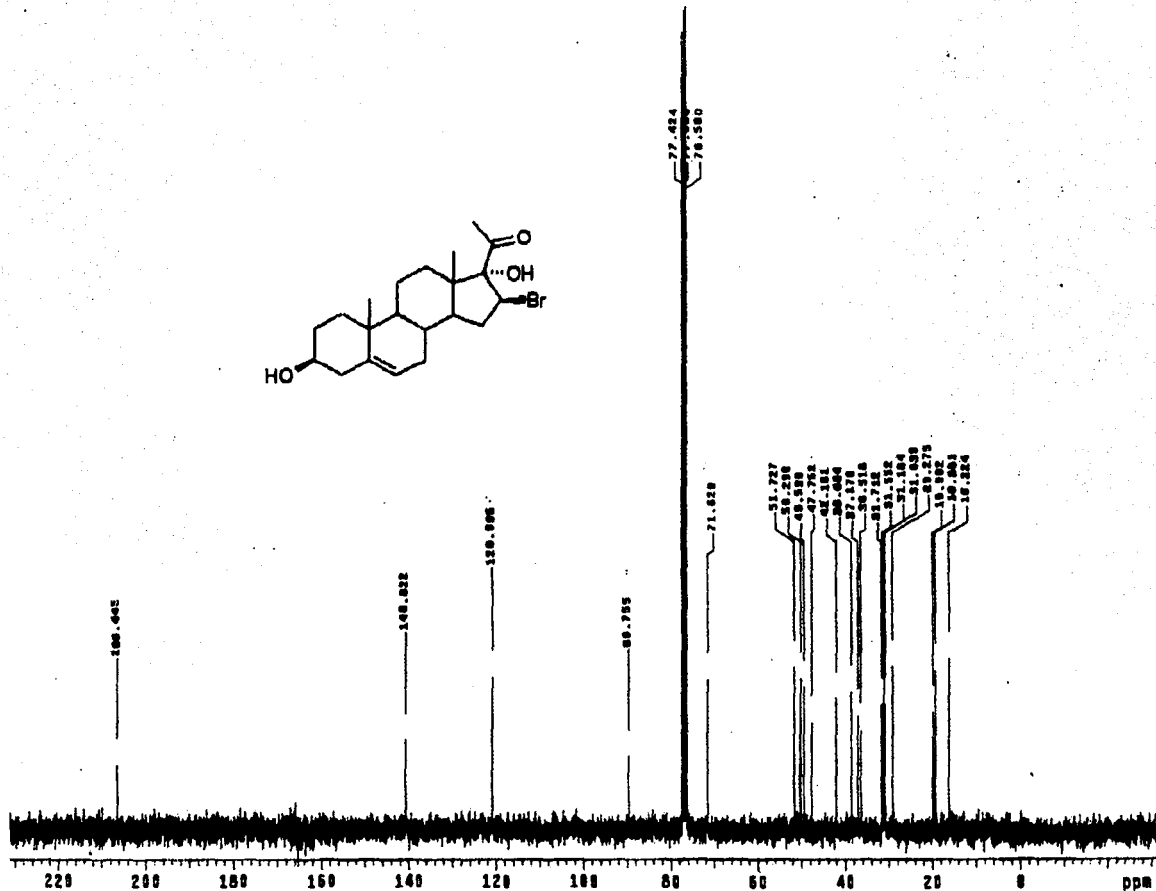
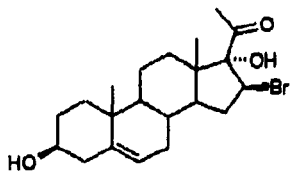
Espectro 5. RMN ^1H de 16 α -17 α -EPOXI-3 β -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J12).



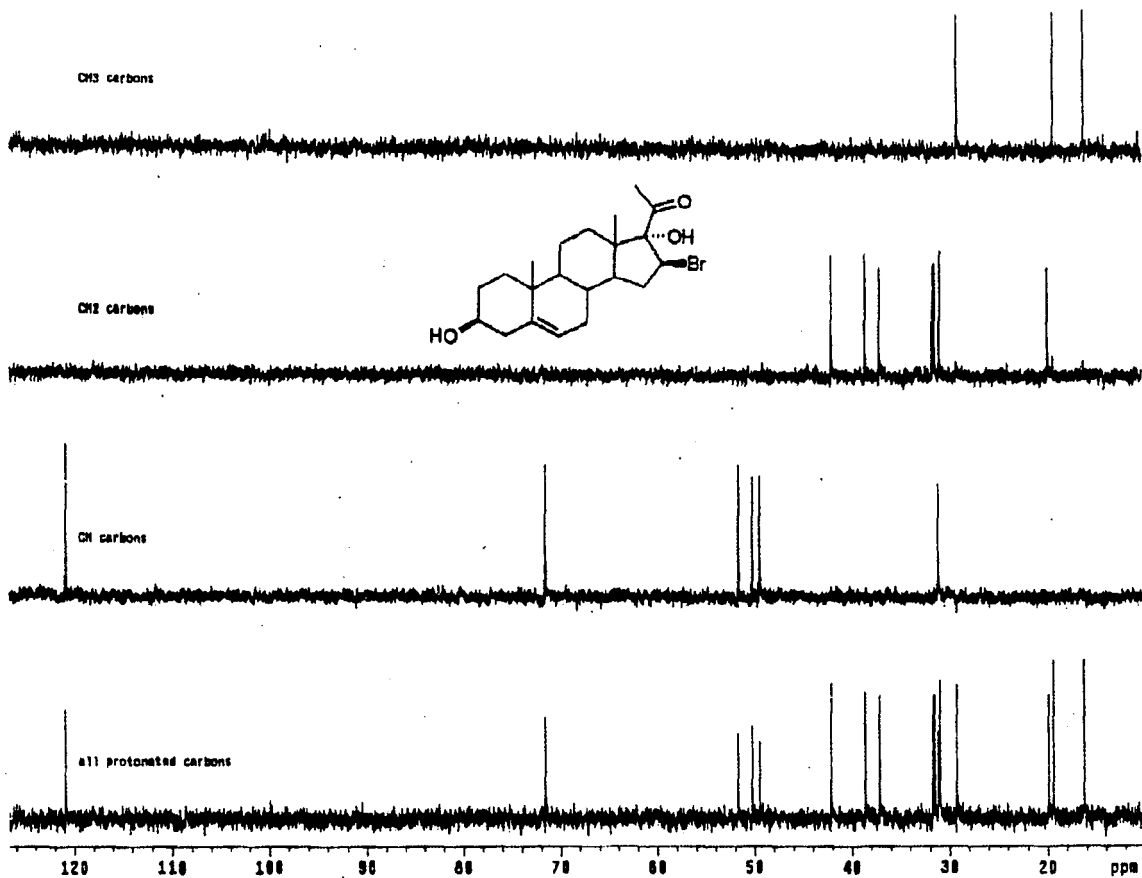
Espectro 6. IR de 16β-BROMO-3β-17α-DIHIROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



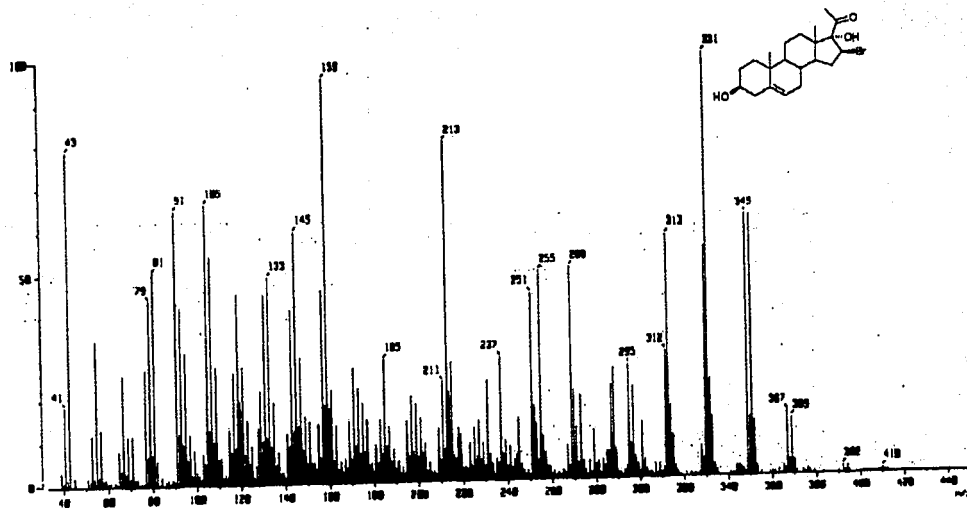
Espectro 7. RMN ¹H de 16β-BROMO-3β-17α-DIHYDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



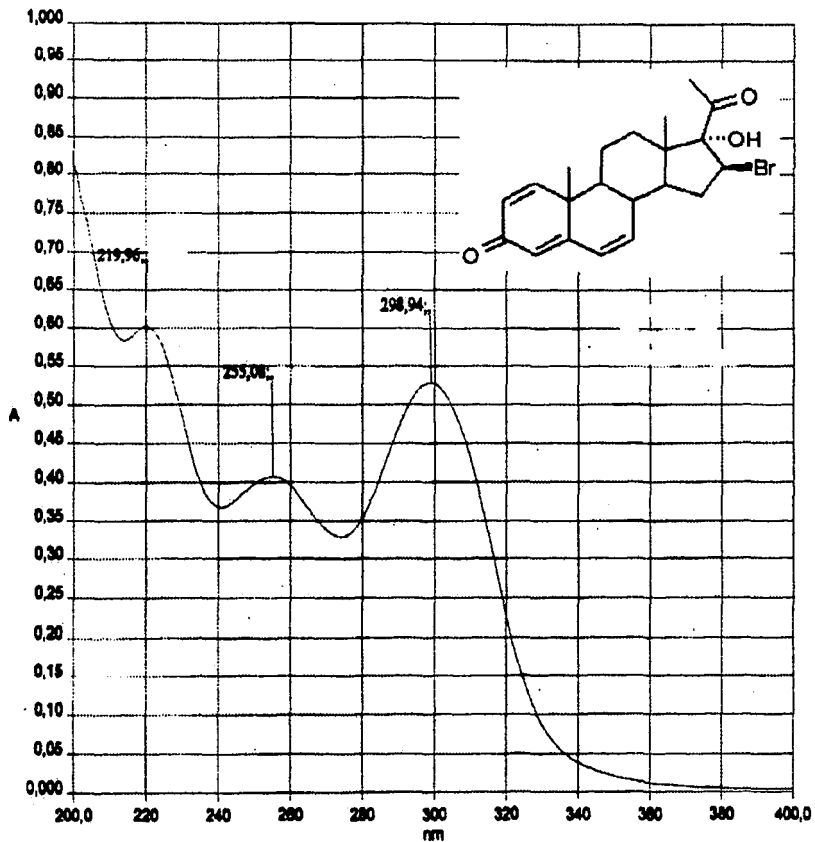
Espectro 8. RMN ^{13}C de 16 β -BROMO-3 β -17 α -DIHIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



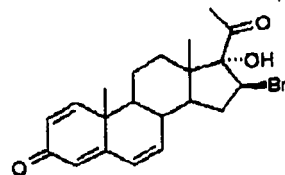
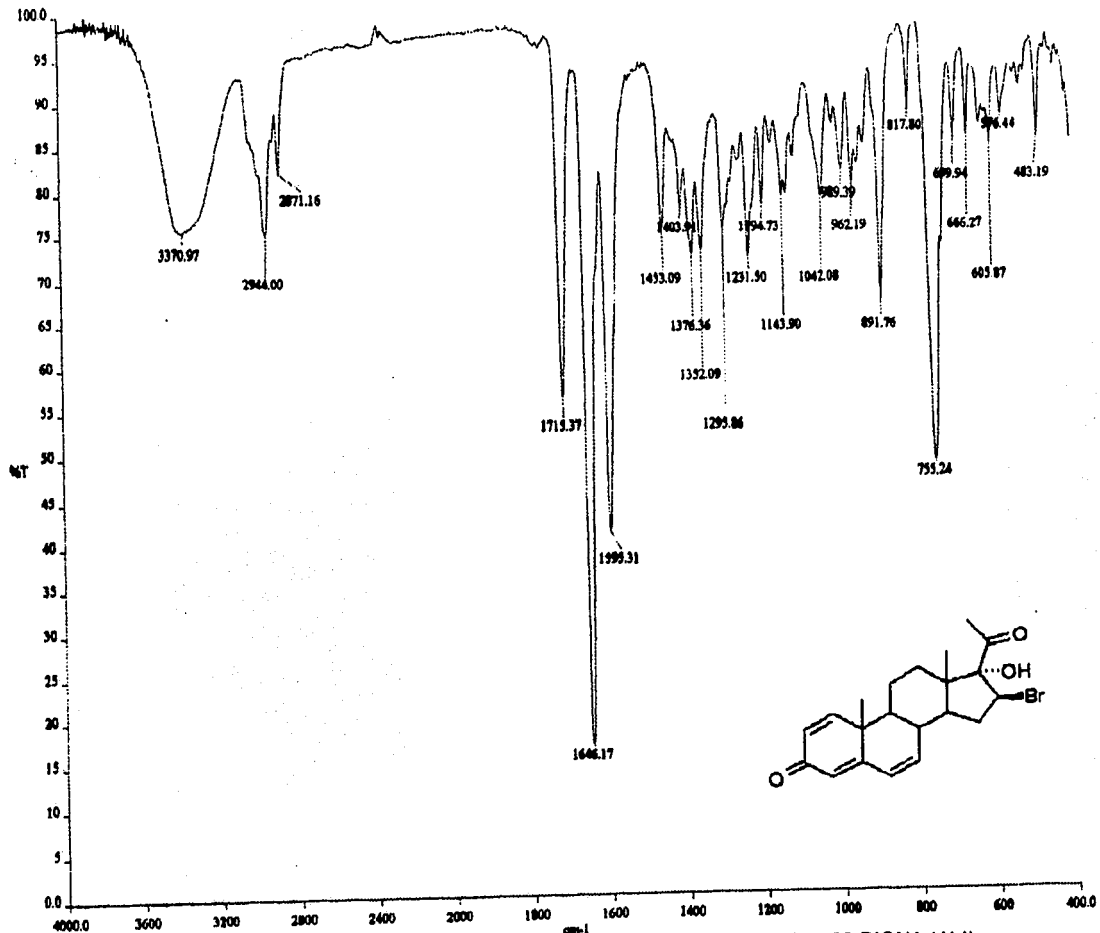
Espectro 9. RMN ^{13}C en versión DEPT de 16 β -BROMO-3 β -17 α -DIHIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



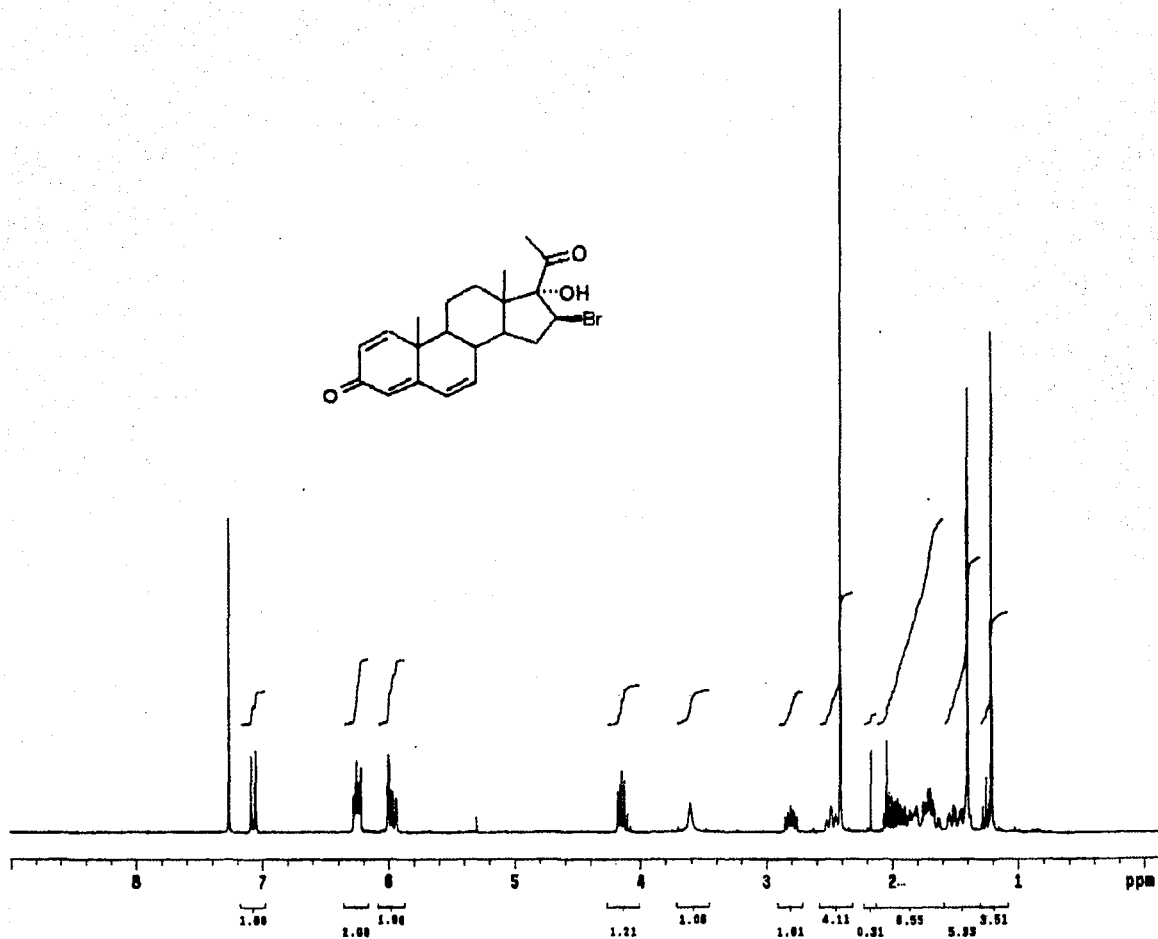
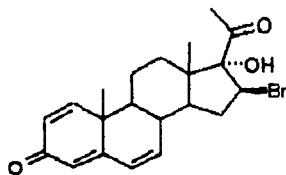
Espectro 10. EM(IE) de 16β-BROMO-3β-17α-DIHIROXI-5-PREGNEN-20-ONA (J13).



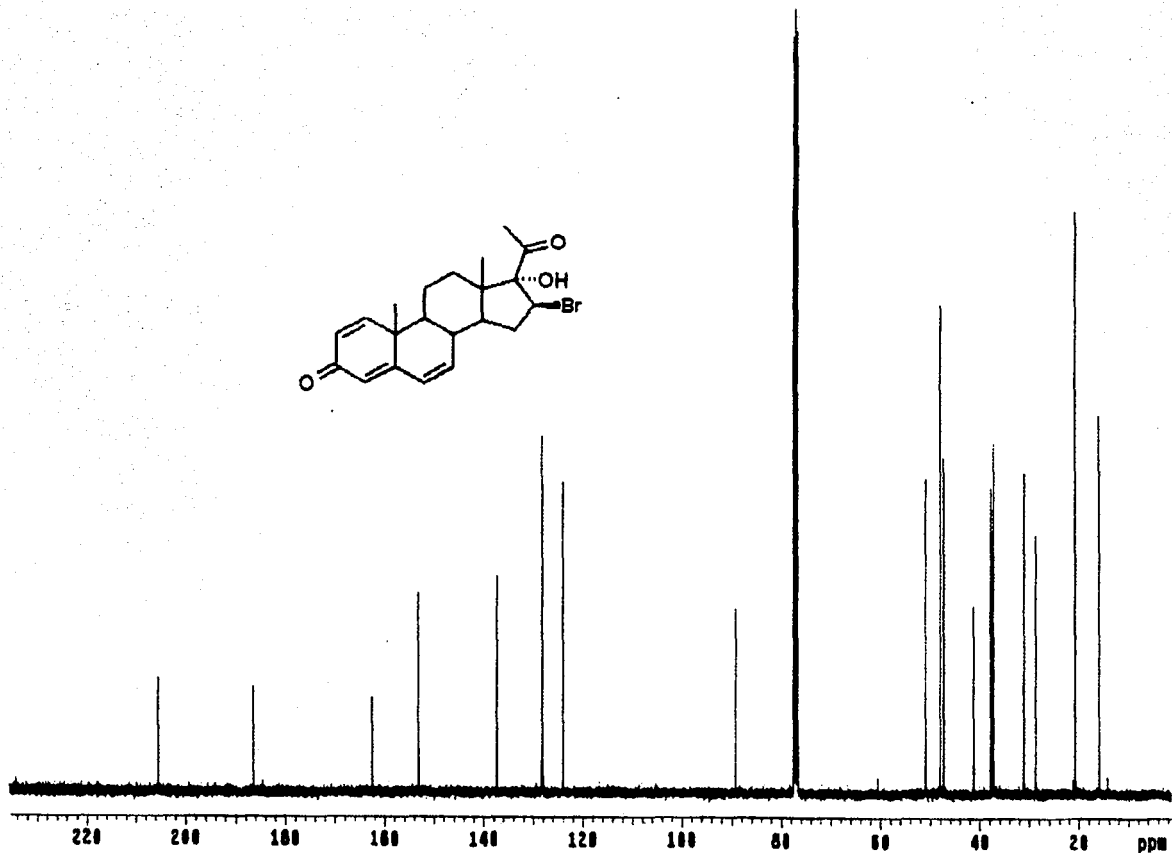
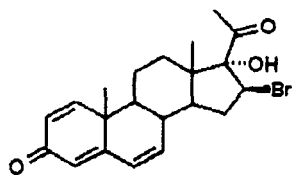
Espectro 11. UV de 16β-BROMO-17α-HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).



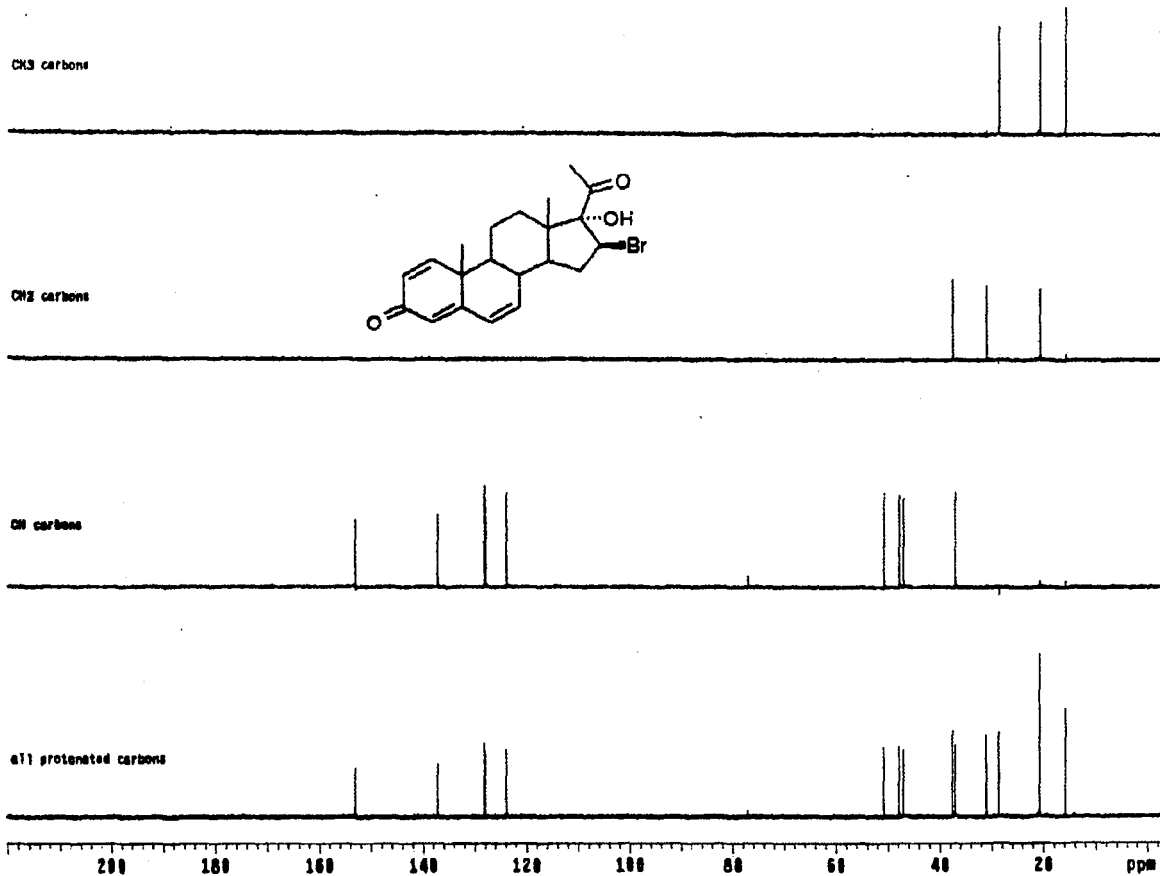
Espectro 12. IR de 16β-BROMO-17α-HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).



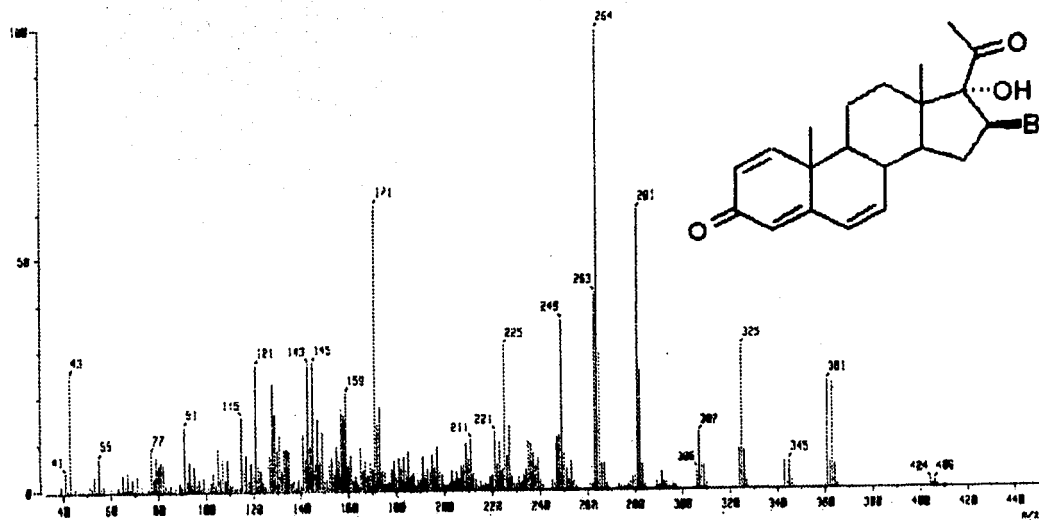
Espectro 13. RMN ^1H de 16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).



Espectro 14. RMN ^{13}C de 16β-BROMO-17α-HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).

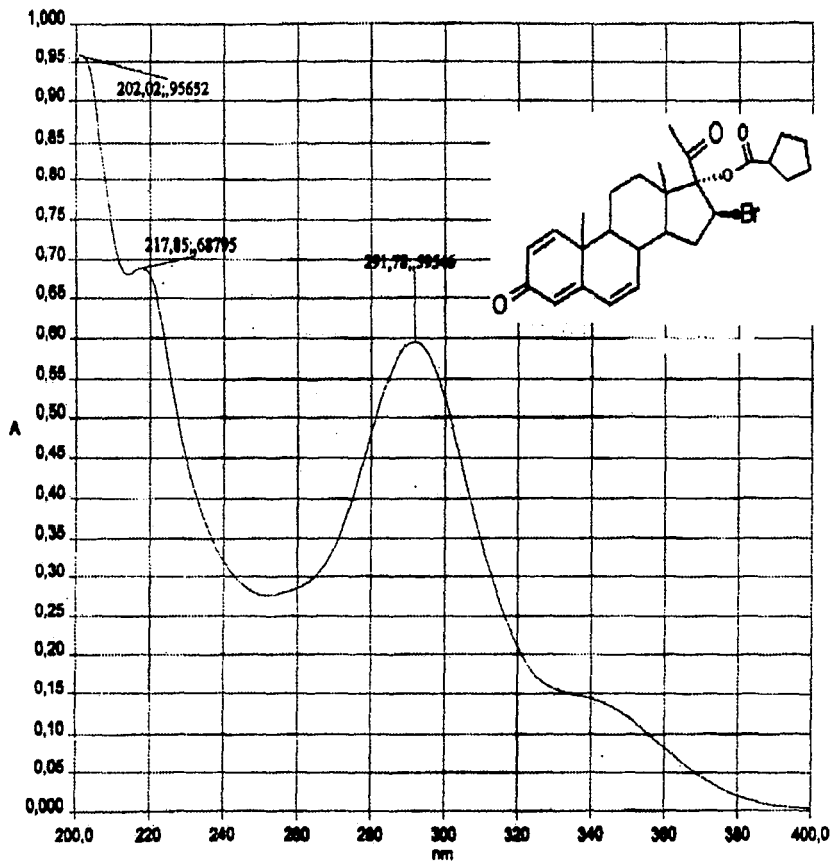


Espectro 15. RMN ^{13}C en versión DEPT de 16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).

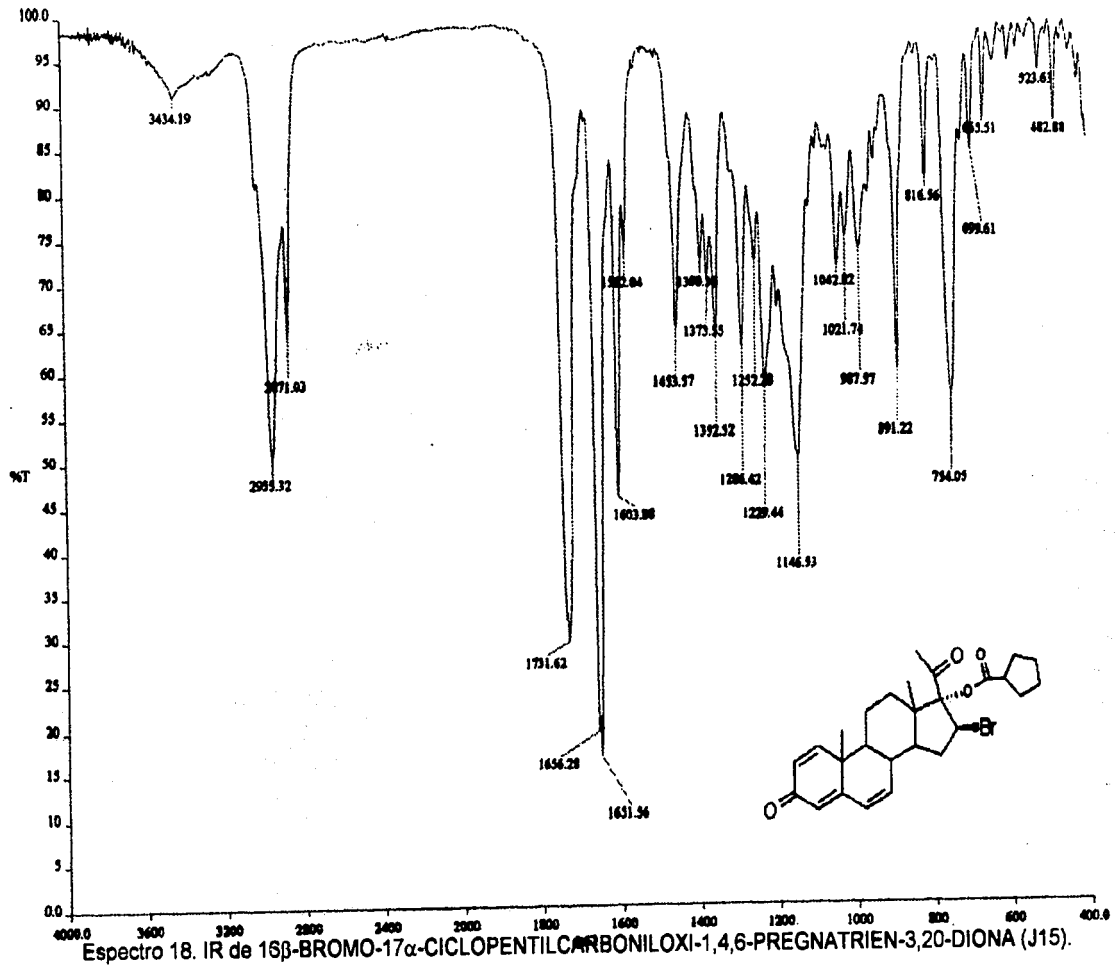


Espectro 16. EM(IE) de 16 β -BROMO-17 α -HIDROXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J14).

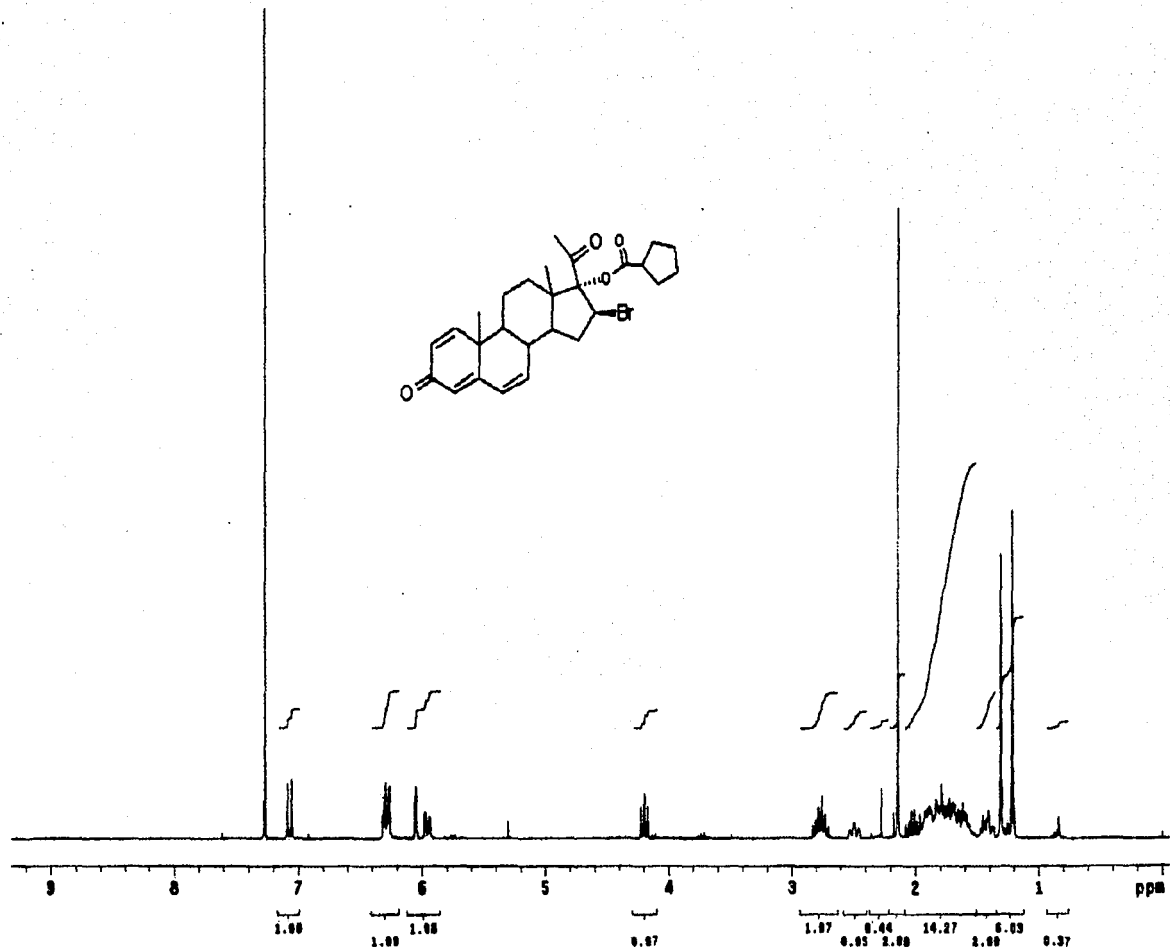
INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 ESTADÍSTICA Y QUÍMICA



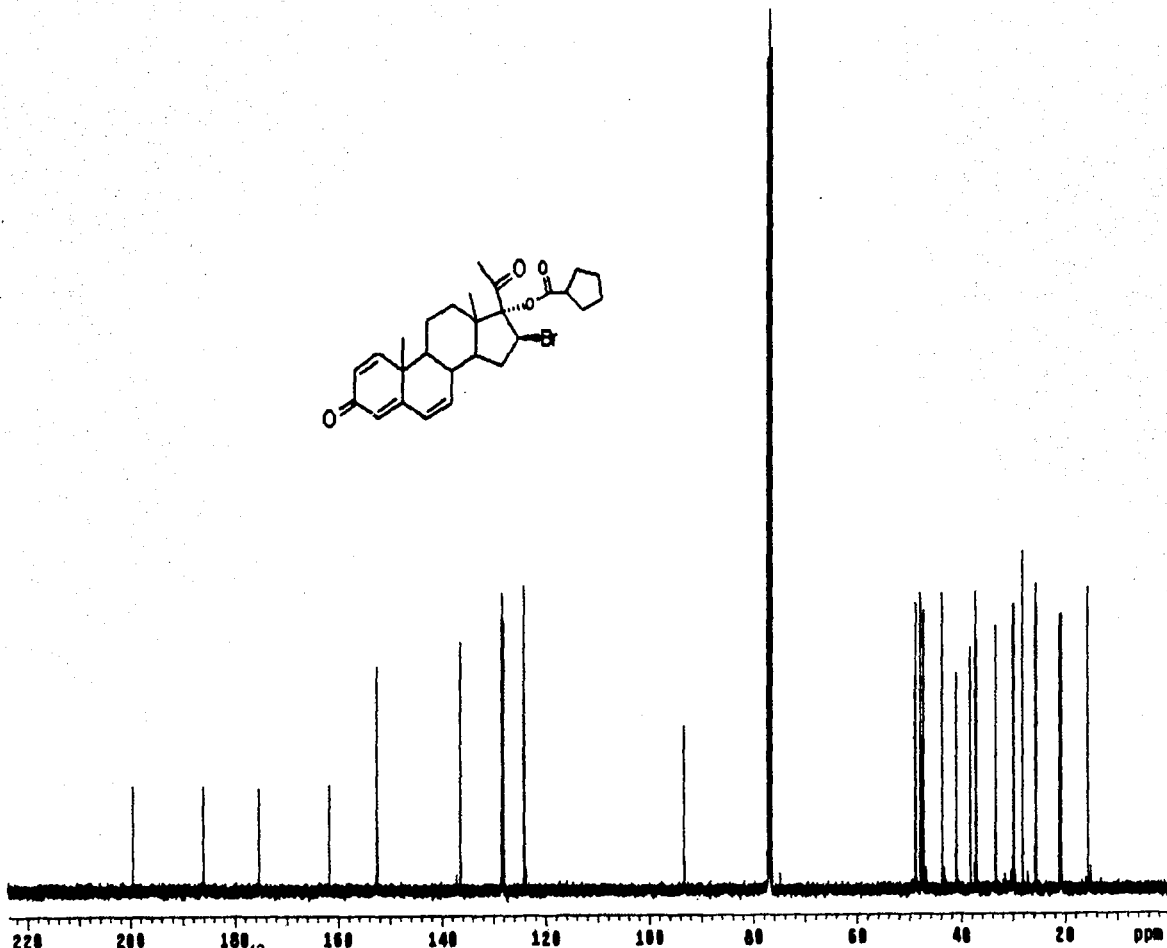
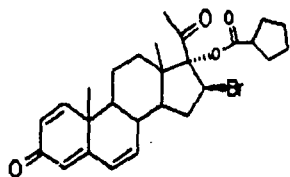
Espectro 17. UV de 16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).



Spectro 18. IR de 16β-BROMO-17α-CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).



Espectro 19. RMN ¹H de 16β-BROMO-17α-CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).



Espectro 20. RMN ^{13}C de 16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).

CH3 carbons



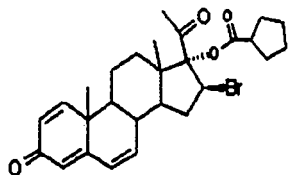
CH2 carbons



CH carbons

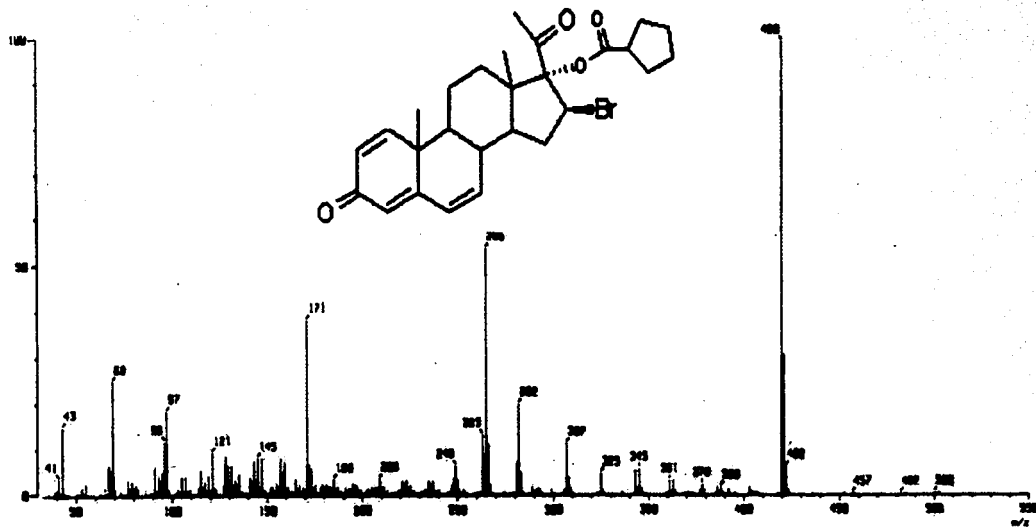


all protonated carbons



200 100 100 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Espectro 21. RMN ^{13}C en versión DEPT de 16 β -BROMO-17 α -CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).



Espectro 22. EM(IE) de 16β-BROMO-17α-CICLOPENTILCARBONILOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA (J15).