



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"SINTESIS DE HALOESTERES AROMATICOS EN C-3 DEL  
ESQUELETO DE LA PREGNADIONA."

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**  
**P R E S E N T A :**  
**LUCIA YADIRA CUATEPOTZO MENDEZ**



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

MEXICO, D. F.

2003





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.

# PAGINACIÓN DISCONTINUA

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Prof. EUGENIO ATHANAS BRATOEFF TITEFF

Vocal: Prof. ROSA LUZ CORNEJO ROJAS

Secretario: Prof. BENJAMIN RUIZ LOYOLA

1er. Suplente: Prof. EDUARDO ARTURO VAZQUEZ LOPEZ

2do. Suplente: Prof. OSCAR SALVADOR YAÑEZ MUÑOZ

Sitio donde se desarrolló el tema:

Lab 125 Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.  
Lab 006 Depto de Sistemas Biológicos,  
UAM-Xochimilco.

Asesor: Dr. Eugenio Athanas Bratoeff Titeff

Eugenio A Bratoeff

Supervisor Técnico: Dra. Elena Guadalupe Ramírez López

[Signature]

Sustentante: Lucía Yadira Cuatepotzo Méndez

[Signature]

**LA PARTE QUÍMICA EXPERIMENTAL DEL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LAB 125, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM, BAJO LA SUPERVISIÓN DEL DR. EUGENE BRATOEFF.**

**LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA SE REALIZÓ EN EL LAB DE HORMONAS (G-006) DEL DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS DE LA UAM, CAMPUS XOCHIMILCO, BAJO LA SUPERVISIÓN DE LA DRA. MARISA CABEZA.**

**LA EVALUACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE LOS COMPUESTOS SE REALIZÓ EN LA USAI, EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**  
**ESPECTROSCOPIA DE IR Y UV:**  
**REALIZADO POR LA Q. MARISELA GUTIÉRREZ FRANCO**  
**ESPECTROSCOPIA DE RMN<sup>1</sup>H Y RMN<sup>13</sup>C :**  
**REALIZADO POR MC. OSCAR SALVADOR YÁÑEZ MUÑOZ**  
**QFB. ROSA I. DEL VILLAR MORALES**  
**ESPECTROMETRÍA DE MASAS:**  
**REALIZADO POR LA Q. GEORGINA DUARTE LISCI**  
**QFB. MARGARITA GUZMÁN VILLANUEVA.**

El presente trabajo fue revisado y aprobado por el Director General de Bibliotecas de la UNAM y difundido en formato electrónico e impreso al momento de mi trabajo profesional.  
FIRMADO: Cuatrecasas  
Méndez Lucía Yadira  
FECHA: 27 OCT 12003  
FIRMA: [Signature]

4

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mis padres, quienes han estado conmigo en todo momento, dándome palabras de aliento, por su confianza, cariño y consejos, por ser mis amigos y porque siempre están dispuestos a escucharme, gracias. Espero no defraudarlos.

A ti hermano Emilio, por compartir conmigo inolvidables momentos, y porque has sido un ejemplo importante en mi vida.

A ti hermana Miriam, por ser mi mejor amiga, por los momentos inolvidables que hemos compartido, tanto tristezas como alegrías, por tus consejos y calidad humana.

A ti hermano Josué, gracias por tus sabios consejos, por esas charlas tan interesantes y por apoyarme en todo momento, por ser un amigo que está dispuesto a escucharme.

A mis amigos, con los cuales conviví dentro de la facultad, en especial Caro y Arely.

A compañeros y amigos del Lab 125, con los cuales pasé momentos agradables.

Al Dr. Eugene Bratoeff por su amistad, confianza y conocimientos brindados en la realización de este trabajo.

A la Dra. Elena Ramírez por su amistad, confianza y orientación brindada.

A la Dra. Marisa Cabeza por su paciencia y conocimientos brindados.

A la USAI por la realización de la espectroscopia de UV, IR, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup> y EMIE.

A CONACYT, que gracias al programa de becas G33450-M, brindó el apoyo económico para la realización de este trabajo.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	5
<b>2. GENERALIDADES</b>	8
<b>2.1 Esteroides</b>	8
2.1.1 Clasificación de los esteroides	8
2.1.2 Efectos fisiológicos de los esteroides	9
Tabla 1. Ejemplos de los usos o actividades de algunos esteroides.	10
<b>2.2 Andrógenos</b>	12
2.2.1 La Testosterona	12
2.2.2 Mecanismo de Acción de la Testosterona	12
2.2.3 La enzima 5 $\alpha$ -reductasa	14
Tabla 2. Comparación de los isotipos 1 y 2 de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa.	14
2.2.4 Cáncer de Próstata e Hiperplasia Prostática Benigna.	14
Tabla 3. Clasificación de los tumores.	15
<b>2.3 Antiandrógenos</b>	15
2.3.1 Acción Biológica	15
2.3.1.1 Inhibidores de la síntesis de Andrógeno	15
2.3.1.2 Inhibidores de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa	17
2.3.1.3 Antagonistas de los receptores androgénicos.	17
2.3.2 Síntesis de Andrógenos.	18
2.3.3 Clasificación Química de los Antiandrógenos	18
<b>3. OBJETIVOS</b>	20
<b>4. EQUIPO UTILIZADO</b>	21
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS</b>	22
5.1 Síntesis de los compuestos	22
5.1.1 Ruta de síntesis	22
Esquema C. Ruta de Síntesis	23



3 $\beta$ -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (I)	
Tabla 4. Características físicas	24
Tabla 5. Datos espectroscópicos experimentales	24
3 $\beta$ -ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA. (II)	
Tabla 6. Características físicas	25
Tabla 7. Datos espectroscópicos experimentales	26
3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EPOXI-PREGNAN-20-ONA. (III)	
Tabla 8. Características físicas	27
Tabla 9. Datos espectroscópicos experimentales	28
3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ -HIDROXIPREGNAN-6,20-DIONA. (IV)	
Tabla 10. Características físicas	29
Tabla 11. Datos espectroscópicos experimentales	30
3 $\beta$ -ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (V)	
Tabla 12. Características físicas	31
Tabla 13. Datos espectroscópicos experimentales	32
3 $\beta$ -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VI)	
Tabla 14. Características físicas	33
Tabla 15. Datos espectroscópicos experimentales	34
3 $\beta$ -(p-BROMO-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VII)	
Tabla 16. Características físicas	35
Tabla 17. Datos espectroscópicos experimentales	36
3 $\beta$ -(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VIII)	
Tabla 18. Características físicas	38
Tabla 19. Datos espectroscópicos experimentales	38
5.2 Ensayos Biológicos de la Actividad Antiandrogénica	40

	3
5.2.1 Obtención de la fracción microsomal y citosólica de las vesículas seminales de hámster.	40
5.2.1.1 Inhibición de la actividad de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa presente en fracción microsomal de vesícula de hámster a pH= 7.0.	40
5.2.1.2 Determinación de la unión a receptores en citosol de vesículas seminales.	41
5.2.2 Resultados de los Ensayos Biológicos.	42
<b>6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	
6.1 Discusión de la síntesis de los compuestos	45
6.2 Discusión de los ensayos biológicos.	54
<b>7. CONCLUSIONES</b>	55
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	56
<b>9. APÉNDICE.</b>	60

### ESPECTROS

3 $\beta$ -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (I)	
Espectro 1. IR	60
Espectro 2. RMN <sup>1</sup> H	61
3 $\beta$ -ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA. (II)	
Espectro 3. IR	62
Espectro 4. RMN <sup>1</sup> H	63
Espectro 5. EMIE	64
3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EPOXI-PREGNAN-20-ONA. (III)	
Espectro 6. IR	65
Espectro 7. RMN <sup>1</sup> H	66
Espectro 8. EMIE	67

**3 $\beta$  -ACETOXI-5 $\alpha$ -HIDROXIPREGNAN-6,20-DIONA. (IV)**

Espectro 9. IR	68
Espectro 10. RMN <sup>1</sup> H	69
Espectro 11. EMIE	70

**3 $\beta$ - ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (V)**

Espectro 12. UV	71
Espectro 13. IR	72
Espectro 14. RMN <sup>1</sup> H	73
Espectro 15. EMIE	74

**3 $\beta$  -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VI)**

Espectro 16. UV	75
Espectro 17. IR	76
Espectro 18. RMN <sup>1</sup> H	77
Espectro 19. EMIE	78

**3 $\beta$ -(p-BROMO-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA. (VII)**

Espectro 20. UV	79
Espectro 21. IR	80
Espectro 22. RMN <sup>1</sup> H	81
Espectro 23. RMN <sup>13</sup> C	82
Espectro 24. RMN <sup>13</sup> C en versión DEPT	83
Espectro 25. EMIE	84

**3 $\beta$ -(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA. (VIII)**

Espectro 26. UV	85
Espectro 27. IR	86
Espectro 28. RMN <sup>1</sup> H	87
Espectro 29. RMN <sup>13</sup> C	88
Espectro 30. RMN <sup>13</sup> C en versión DEPT	89
Espectro 31. EMIE	90

## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna son enfermedades muy comunes en hombres con edad promedio de 55 años. <sup>(1)</sup> Es un tipo muy frecuente de cáncer en varones. Entre los factores que dan origen a este tipo de cáncer se encuentran: la edad, la raza, factores ambientales, sistema endocrino. <sup>(2)</sup>

El cáncer de próstata surge cuando las células del tejido empiezan a multiplicarse sin ningún control y de manera progresiva hasta llegar a la formación de un tumor, si este tumor no invade los tejidos vecinos y queda circunscrito, generalmente es un tumor benigno. Sin embargo, si el tumor invade tanto los tejidos vecinos como los que se encuentran a distancia (metástasis) entonces se trata de un tumor maligno. <sup>(3)</sup>

La Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) se caracteriza por la formación de voluminosos nódulos bien delimitados en la región periuretral de la próstata. Cuando alcanzan el tamaño suficiente, los nódulos comprimen y estrechan el conducto uretral y causan una obstrucción parcial, a veces prácticamente completa de la uretra. Las causas que la originan se desconocen, pero los datos disponibles sugieren que en su aparición participan los andrógenos y los estrógenos. <sup>(4,5)</sup>

Se ha observado que la testosterona (T) (Fig.4, pág.10) hormona sexual masculina, influye en el desarrollo del cáncer de próstata, por lo cual se trata de un cáncer hormona-dependiente. <sup>(6)</sup> 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. <sup>(7)</sup>

La testosterona es sintetizada en los testículos, los ovarios y la corteza suprarrenal. <sup>(8)</sup> Es convertida de manera irreversible a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT) (Esquema B, pág.13) por acción de una enzima localizada en la membrana celular y dependiente de NADPH llamada 5 $\alpha$ -reductasa. La DHT es la forma activa de la testosterona, ya que se une con mayor afinidad y de manera irreversible al receptor androgénico. Al disminuir la concentración de DHT se ayuda a controlar la evolución del cáncer de próstata y el desarrollo de la hiperplasia prostática benigna. <sup>(9)</sup>

En base a lo anterior se puede sugerir que al bloquear la acción de los andrógenos puede ser el arma terapéutica en algunas enfermedades provocadas por andrógenos: cáncer de próstata, hirsutismo, acné patológico, seborrea, alopecia androgénica, pubertad precoz e hiperplasia prostática benigna. (9,10,11,12,13)

El tratamiento que se sigue para la HPB así como para el cáncer de próstata incluye la cirugía y la radiación, empleados principalmente para erradicar el cáncer local. Actualmente la terapia hormonal empieza a utilizarse más ampliamente, principalmente en hombre con cáncer de próstata metastático. Sin embargo, los tratamientos empleados presentan efectos secundarios como incontinencia, lesión intestinal, impotencia sexual así como los propios de la radiación. (14)

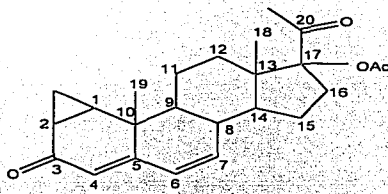
Otro tratamiento que será utilizado en los años próximos en contra de este cáncer será la terapia génica. (15)

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. 11, pág.17), fármaco con actividad antigonaodrónica 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. 10, pág. 17), fármaco que inhibe la actividad de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa isotipo 2, presente en la glándula prostática. (16)

El desarrollo de nuevas moléculas esteroidales con diferentes actividades y su aplicación farmacológica, han permitido la cura de algunas enfermedades. Bajo la dirección del Dr. Eugene Bratoeff se han sintetizado varios derivados de la progesterona (Fig.3, pág. 10) que tienen actividad antiandrogénica ya sea como inhibidores de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa isotipo 2 (17-20) o como antagonistas del receptor de andrógenos (18). Estos compuestos están encaminados a curar enfermedades andrógeno-dependientes como la HPB y el cáncer de la próstata que son enfermedades que afectan a una gran parte de la población masculina de edad en el mundo.

En el análisis de la relación estructura-actividad biológica (REA) de los antiandrógenos esteroidales sintetizados en nuestro laboratorio se ha concluido que la actividad se debe a la estructura casi plana de la molécula, conferida por la presencia del grupo  $1\alpha$ - $2\alpha$ -ciclometilo en C-1 y C-2 y las insaturaciones entre los carbonos C-4 y C-5, C-6 y C-7. También un grupo electronegativo en C-6, un grupo alquilo en C-16, la presencia de un ester en C-17; así como los grupos cetónicos en C-3 y C-20, aumentan la actividad antiandrogénica.

Un representante de este concepto es el acetato de ciproterona:



Acetato de ciproterona.

Los últimos estudios de estructura molecular-actividad farmacológica, efectuados en nuestro laboratorio han indicado también que un ester en C-3 y una doble ligadura en C-4 conjugada con un carbonilo en C-6 también proporcionan alta actividad de la molécula basada en la progesterona. Este concepto se implementó en la síntesis de algunos derivados de la progesterona descritos en esta tesis.

Tomando en consideración algunas de las características anteriores desprendidas del análisis de REA, se propuso desarrollar la síntesis de haloesteres aromáticos en C-3 del esqueleto de la pregnadiona como antiandrógeno. Para obtener los compuestos de interés se siguió una ruta con un total de 6 pasos, empleando como materia prima  $3\beta$ -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA (I), (pág. 24).

Los compuestos se evaluaron farmacológicamente como inhibidores de la enzima  $5\alpha$ -reductasa y como compuestos capaces de unirse a receptores androgénicos. Dichos compuestos se caracterizaron por sus propiedades físicas (p.f) y espectroscópicas (UV, IR, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C y EMIE).

## 2. GENERALIDADES

### 2.1 ESTEROIDES.

Los esteroides son compuestos que contienen en su estructura base el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno (Fig. 1)

Incluyen una gran variedad de compuestos de origen natural, entre los que se encuentran los esteroides, los ácidos biliares, las hormonas sexuales, las hormonas adrenocorticales, los glicósidos cardiotónicos, las sapogeninas, algunos alcaloides y otros grupos de menor importancia. Este núcleo generalmente se encuentra sustituido en las posiciones C-10 y C-13 por grupos metilo, en C-17 por una cadena hidrocarbonada o bien una función oxigenada, en C-3 es frecuente también un grupo hidroxilo o carbonilo. <sup>(21,22,23)</sup>

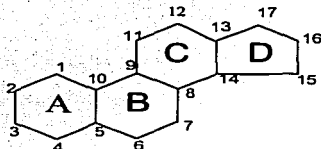


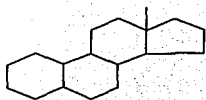
Figura 1. Núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno

Los esteroides son compuestos ampliamente estudiados debido a su importancia fisiológica y a la diversidad de aplicaciones en el campo de la medicina

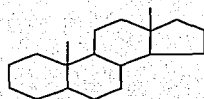
#### 2.1.1 Clasificación de los esteroides

Los esteroides se clasifican de acuerdo a su esqueleto básico. Los esqueletos se muestran en el siguiente esquema. Esquema A.

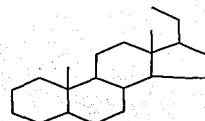
## ESQUEMA A. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTEROIDES



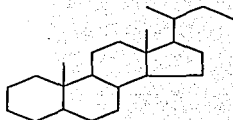
Estrano



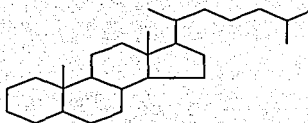
Androstano



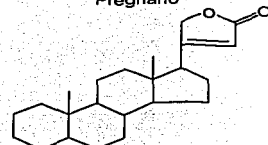
Pregnano



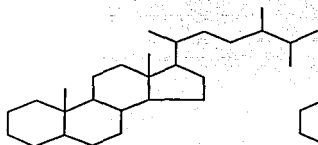
Colano



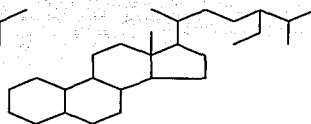
Colestano



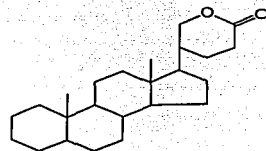
Cardanólido



Ergostano



Estigmastano



Bufenólido

### 2.1.2 Efectos fisiológicos de los esteroides

Los efectos fisiológicos de los esteroides varían considerablemente de unos compuestos a otros y van de la actividad de las vitaminas a la de las hormonas sexuales. En la Tabla 1 se dan las estructuras, los nombres y las propiedades fisiológicas de algunos de ellos: <sup>(24)</sup>



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

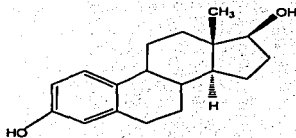


Fig. 2 Estradiol

Hormona estrogénica más importante de la mujer, es secretada por los ovarios.

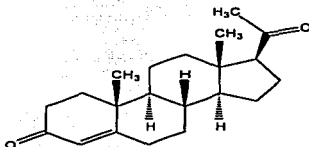


Fig. 3 Progesterona

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.

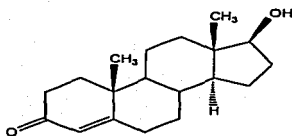


Fig. 4 Testosterona

Hormona sexual masculina, regula la diferenciación sexual, la expresión de las características sexuales secundarias y los modelos del comportamiento sexual.

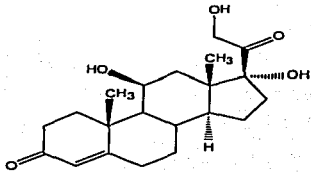


Fig. 5 Cortisol

El cortisol posee múltiples funciones metabólicas para el control del metabolismo de las proteínas, de los hidratos de carbono y de las grasas.

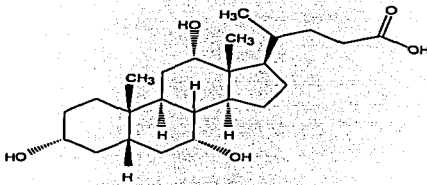


Fig. 6 Ácido Cólico

El ácido cólico es el principal ácido biliar sintetizado en el hígado, secretado en forma de conjugado de glicina o de taurina a la vesícula biliar.

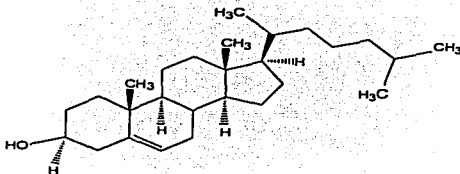


Fig. 7 Colesterol

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroidales 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.

## 2.2 Andr6genos.

Los testiculos secretan varias hormonas sexuales masculinas, que colectivamente reciben el nombre de andr6genos 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 m1s importante, y la mayor1a de ella es convertida a DHT, que es una hormona m1s activa en los tejidos blanco o tejidos diana. (7)

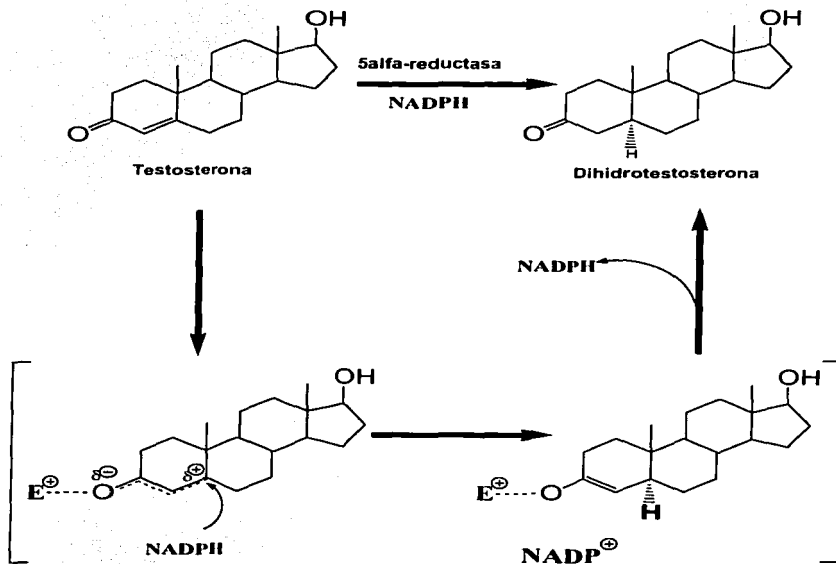
### 2.2.1. La Testosterona.

La T se forma en las c6lulas intersticiales o c6lulas de Leydig, que est1n situadas en los intersticios que quedan entre los t6bulos semin1feros y que constituyen aproximadamente el 20% de la masa de los tejidos adultos. (7)

### 2.2.2. Mecanismos de acci3n de la testosterona.

La T es convertida irreversiblemente a DHT a trav6s de la acci3n de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa, la cual est1 localizada en la membrana nuclear y es dependiente de NADPH. El mecanismo de acci3n consiste en la formaci3n del complejo 5 $\alpha$ -reductasa-NADPH, que posteriormente se une a la T para realizar una transferencia esteroespecifica de hidruro del NADPH a la posici3n 5 de la T. El enolato resultante en C-3 y C-4 se estabiliza por un residuo electrof1lico (E+) de la enzima. En el 6ltimo paso se regenera la cetona en C-3. (Esquema B, p1g. 13). (24)

## ESQUEMA B: MECANISMO DE CONVERSIÓN DE LA T EN DHT



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. (7)

### 2.2.3. La enzima 5 $\alpha$ -reductasa.

Existen dos tipos de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa: el isotipo 1 y el isotipo 2, las cuales difieren en sus propiedades bioquímicas, su localización en tejido y su función. (25) La enzima de isotipo 1 se encuentra predominantemente en piel no genital y en el hígado, mientras que el isotipo 2 se encuentra predominantemente en los tejidos blancos de andrógenos, incluyendo a la próstata y a los testículos. Este 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 $\alpha$ -reductasa. (15)

	Isotipo 1	Isotipo2
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
Km* para testosterona	4 $\mu$ M	1 $\mu$ M

Km\*=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 (pág. 15). (26)

Tabla 3. Clasificación de los 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 requieren 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. (15, 27)

#### 2.3.1 Acción biológica.

##### 2.3.1.1. Inhibidores de la síntesis de andrógenos. (15)

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 folículo (FSH).

Algunos agentes antifúngicos del tipo imidazol, como el ketoconazol (Fig. 8), tienen, como efectos secundarios, la propiedad de bloquear al citocromo P450, complejo enzimático involucrado en la biosíntesis de hormonas esteroideas. Éste fármaco inhibe las enzimas  $17\alpha$ -hidroxilasa y  $17,20$ -liasa, que convierten la pregnenolona y la progesterona en andrógenos.

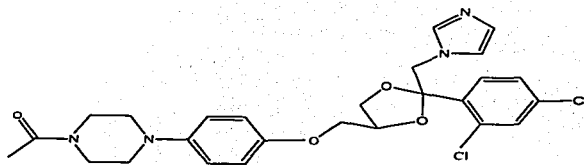


Fig. 8 Ketoconazol

La espironolactona (Fig. 9), antagonista de aldosterona, actúa como un inhibidor débil de la unión del andrógeno con su receptor.

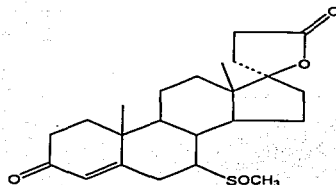


Figura 9. Espironolactona

### 2.3.1.2 Inhibidores de la enzima 5 $\alpha$ -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. 10).

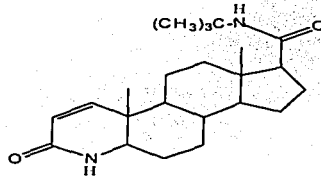


Figura 10. Finasterida

### 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. 11)

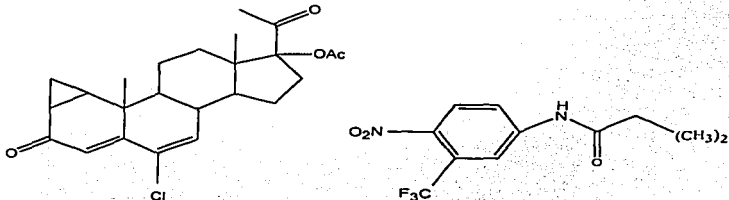


Fig. 11 Acetato de Ciproterona y Flutamida.



### 2.3.2. Síntesis de Antiandrógenos.

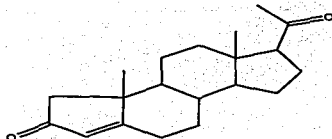
Básicamente existen 2 métodos para sintetizar un esteroide con características antiandrogénicas. Ambos métodos se describen a continuación. <sup>(28,29)</sup>

1. Se toma como esqueleto base a la molécula de T (Fig. 4, pág.10) 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 (Fig. 3, pág.10) pues ésta tiene cierto carácter antiandrogénico natural y se esperaría que sus análogos sintéticos presentarían la misma actividad biológica.

### 2.3.3. Clasificación química de los antiandrógenos.

Los antiandrógenos se clasifican en 2 grupos: esteroidales y no esteroidales. <sup>(30)</sup>

Los antiandrógenos de tipo esteroidal son compuestos que se derivan de la progesterona (Fig.3, pág. 10). 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. 11), la finasterida (Fig. 10) y la anorprogesterona (fig. 12).



Anorprogesterona

Fig. 12 Antiandrógenos 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. 13), anandron, hidroxiflutamida y dietilestilbestrol (Fig. 13).

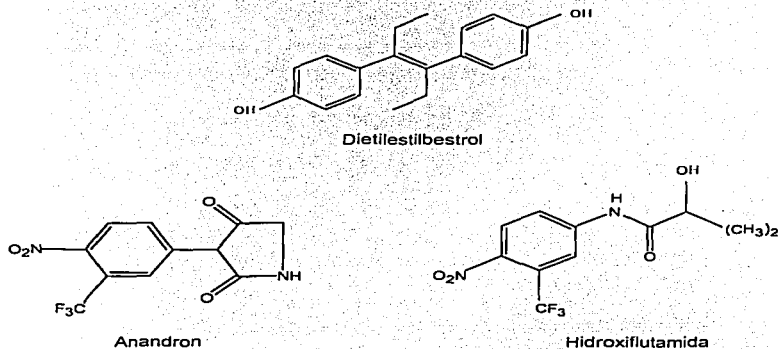


Fig. 13 Antiandrógenos no esteroideos.

Existen antiandrógenos esteroideos 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.9) y la espirixazona (Fig. 14).

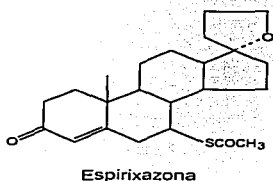


Fig. 14. Antiandrógeno que no deriva de la progesterona o testosterona.

### 3. OBJETIVOS

Considerando la relación existente entre la estructura química y la actividad biológica de los antiandrogénos de tipo esteroidal, se plantean los objetivos:

#### Generales:

- Determinar la influencia del haloéster aromático en C-3, sobre la actividad antiandrogénica de los compuestos  $3\beta$ -(p-bromo-benzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VII** y  $3\beta$ -(p-fluor-benzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VIII** (Esquema C, pág.23)

#### Específicos:

- Sintetizar los compuestos  $3\beta$ -(p-bromobenzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VII** y  $3\beta$ -(p-fluorbenzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VIII**, así como los productos intermedarios de la ruta sintética.
- Aislar, purificar y caracterizar mediante sus propiedades físicas (p.f) y espectroscópicas UV, IR, RMN<sup>1</sup>H, EMIE, los intermedarios de la ruta sintética; los compuestos finales además de lo anterior también se caracterizan por RMN<sup>13</sup>C.
- Determinar y compararar la actividad antiandrogénica de los compuestos **VII** y **VIII** mediante un ensayo in vitro por la inhibición de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa.
- Determinar y comparar la actividad antiandrogénica de los compuestos **VII** y **VIII** mediante un ensayo in vitro por capacidad de unión a receptores en hámsteres machos adultos, utilizando vesículas seminales.

#### 4. EQUIPOS UTILIZADOS

- Punto de fusión: Fisher-Johns.
- Espectrofotometría de Absorción Ultravioleta: espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer Hitachi 200s, utilizando metanol como disolvente.
- Espectrofotometría de Absorción de Infrarrojo: espectrofotómetro de IR Perkin Elmer 549B, utilizando la técnica de película en ventana de KBr.
- Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno y Carbono 13: Varian Unity Inova, utilizando  $\text{CDCl}_3$  como disolvente. Los desplazamientos están con respecto a las referencias internas:  $^1\text{H} = \text{TMS} = 0\text{ppm}$ ;  $^{13}\text{C} = \text{CDCl}_3 = 77\text{ppm}$ .
- Espectrometría de Masas: Jeol SX-102 A, inserción directa utilizando la técnica de impacto electrónico.
- Contador de Centelleo Packard tri-carb 2100 TR.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS.

### 5.1 Síntesis de los Compuestos.

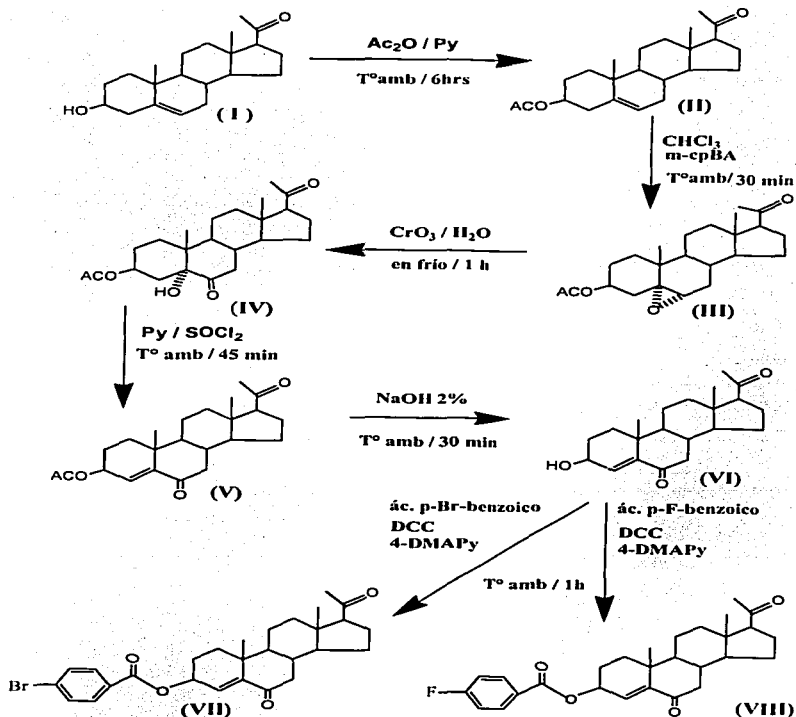
En este capítulo se describe el procedimiento experimental para la síntesis de cada uno de los intermediarios hasta el producto final, así como las técnicas utilizadas para su purificación. También se presentan las características físicas y espectroscópicas determinadas a cada uno de los compuestos.

#### 5.1.1 Ruta de Síntesis.

La ruta de síntesis planteada para la obtención del producto final se muestra en el Esquema C, pág. 23

- 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 elusión basado en una mezcla de hexano/acetato de etilo en proporción (8:2% v/v.)
- Los compuestos se detectaron con una disolución de  $\text{CoCl}_2$  al 1% en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2N) y/o luz ultravioleta a  $\lambda=254\text{nm}$ .

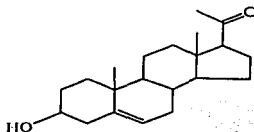
## ESQUEMA C: RUTA DE SÍNTESIS



DCC  
4-DMAPy  
m-cpBA

Diciclohexilcarbodiimida  
4-Dimetilaminopiridina  
Ácido-meta-cloro-perbenzico

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

3 $\beta$ -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (I)

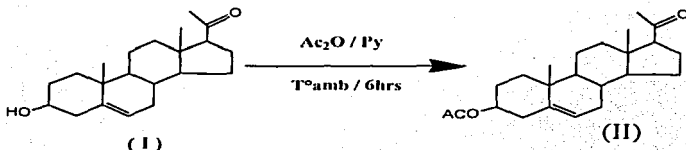
Esta es la materia prima I, para su uso en la ruta de síntesis, se procedió a caracterizarlo por medio de apariencia, punto de fusión y datos espectroscópicos. El compuesto I se purificó mediante una recrystalización simple con acetato de etilo, obteniéndose cristales blancos.

Tabla 4. Características físicas

Propiedad medida	Valor calculado
Punto de fusión (°C)	Experimental: 193-195 Teórico <sup>(21)</sup> : 193
Peso molecular (UMA)	316
Fórmula condensada	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>

Tabla 5. Datos espectroscópicos experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm <sup>-1</sup> )	
3437.96	OH- en C-3
2927.93	-CH <sub>2</sub> y -CH <sub>3</sub>
1681.40	C=O en C-20
1642.22	C=C en C-5
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0.633 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-18
1.012(s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-19
2.20 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-21
2.537(t,1H)	H en C-17
3.530(q,1H)	H en C-3
5.350(d,1H)	H vinílico en C-6

3 $\beta$ -ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA. (II)

En un matraz de bola de 100mL se adicionó 1g de materia prima I ( $3.16 \times 10^{-3}$ mol) y se disolvió en 5 mL de piridina anhidra (0.061mol) empleando ligero calentamiento para la disolución total de ésta, enseguida se adicionó 10mL de Anhídrido Acético (0.10mol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 6 horas. Terminado el tiempo de reacción, el contenido del matraz se vertió en una mezcla hielo-agua en la misma proporción, el producto II de reacción precipitó en forma de cristales blancos y se filtró haciendo tres lavados con agua destilada para eliminar los residuos de ácido acético originado como subproducto de la reacción. Finalmente el producto II se dejó secar al vacío, y posteriormente se purificó mediante recristalización simple con Acetato de Etilo, obteniéndose cristales de color blanco, con un rendimiento del 50%.

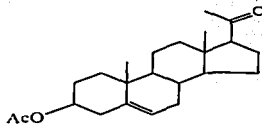


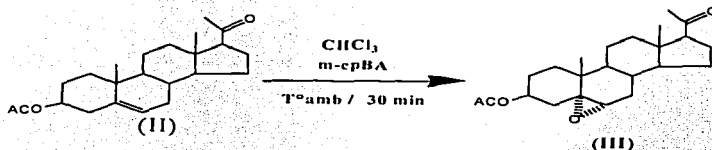
Tabla 6. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión ( $^{\circ}\text{C}$ )	149-151
Peso molecular (UMA)	358
Fórmula condensada	$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_3$



Tabla 7 . Datos espectroscópicos experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm <sup>-1</sup> )	
2939.94	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> -
1726.19	C=O del éster acetoxi en C-3
1704.89	C=O en C-20
1642	C=C en C-5 y C-6
1237.16	C-O del éster en C-3
1027.07	C-O del éster en C-3
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0.633 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-18
1.023 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-19
2.036 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-21
2.127 (s,3H)	CH <sub>3</sub> del éster en C-3
2.54 (t,1H)	H en C-17
4.607 (m,1H)	H en C-3
5.380 (d,1H)	C=CH en C 6
EMIE (m/z)	
358	M+
357	M-1
342	357 - (CH <sub>3</sub> )
298 (pico base)	M+ - (CH <sub>3</sub> COO H)
283	298- (CH <sub>3</sub> )
255	283- (C=O)

3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EPOXI-PREGNAN-20-ONA. (III)

En un matraz de bola de 250mL se disolvió 1g de producto II ( $2.79 \times 10^{-3}$  mol) en 100 mL de cloroformo, en seguida se agregaron 1.61g de ácido-meta-cloro-perbenzóico ( $7.1 \times 10^{-3}$  mol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Al término de la reacción se vertió el contenido del matraz en un vaso con 100mL de agua destilada formándose dos fases, posteriormente se agregó aproximadamente 0.6g de bisulfito de sodio, esto se llevó a cabo en agitación durante 30 minutos, al final de este tiempo se adicionó carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) hasta pH básico, manteniendo la agitación por 30 minutos más.

Por último se hizo la extracción del producto con cloroformo, la fase orgánica se lavó con agua destilada (3X100) hasta pH neutro. Finalmente se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se eliminó el exceso de disolvente a presión reducida en el rotaevaporador. El producto obtenido III se purificó por cromatografía en columna, utilizando como fase móvil Hexano /Acetato de etilo 8:2. obteniéndose cristales con apariencia de agujas color blanco. El rendimiento obtenido fue del 55.7%.

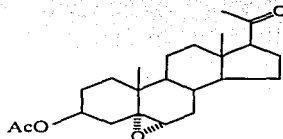
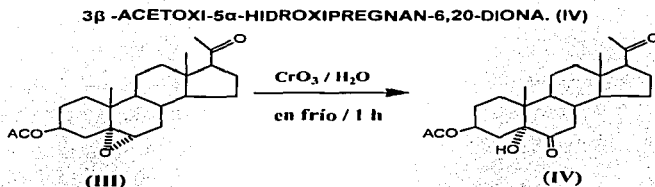


Tabla 8. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	125-127
Peso molecular (UMA)	374
Fórmula condensada	$\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_4$

Tabla 9. Datos espectroscópicos experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm <sup>-1</sup> )	
2942.01	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub>
1733.62	C=O del éster acetoxi en C-3
1703.32	C=O en C-20
1242.61	C-O del ester en C-3
1034.40	C-O del epóxido en C-5
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0.563 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-18
1.01 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-19
2.035 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-21
2.1(s,3H)	CH <sub>3</sub> de CH <sub>3</sub> -COO <sup>-</sup> en C-3
2.504 (t,1H)	H en C-17
2.900(d, 2H )	2H en C-4
3.09 (s,1H)	H en C-6
4.774 (m,1H)	H en C-3
EMIE (m/z)	
374	M <sup>+</sup>
356	M <sup>+</sup> - H <sub>2</sub> O
296	356- CH <sub>3</sub> COOH
314 ( <i>pico base</i> )	374- CH <sub>3</sub> COOH
281	296- CH <sub>3</sub>
253	281- CO



En un matraz de bola 100mL se disolvió 1g de producto III ( $2.67 \times 10^{-3}$ mol) en 50mL de acetona, en frío, para adicionar posteriormente gota a gota una mezcla de  $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}$  (2.1g/7mL), se adicionó solo la mitad de la mezcla crómica en frío, al término de la adición se retiró el baño de hielo y se agitó por 20 minutos, al término de este tiempo se adicionó la segunda carga de mezcla crómica en frío, y se retiró el enfriamiento al término de la adición.

La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 40 minutos. Al término de la reacción, el contenido del matraz se vertió en una mezcla hielo-agua en la misma proporción, para favorecer la precipitación del producto. Una vez formado, se filtró y se lavó con agua destilada hasta eliminar los residuos de  $\text{CrO}_3$  sin reaccionar. Se dejó secar el producto IV y se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil hexano/acetato de etilo 8:2 obteniéndose cristales de color blanco y un rendimiento de 65.5% .

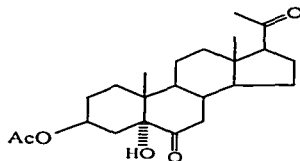


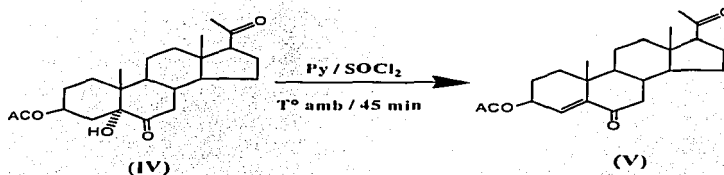
Tabla 10. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	224-226
Peso molecular (UMA)	390
Fórmula condensada	$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$

Tabla 11. Datos Espectroscópicos Experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm <sup>-1</sup> )	
3455.84	-OH en C-5
2947.73	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> -
1737.02	C=O de éster acetoxi en C-3
1715.44	C=O en C-20
1689.86	C=O en C-6
1232.08	C-O-C de CH <sub>3</sub> -COO en C-3
1041.96	C-O-C de CH <sub>3</sub> -COO en C-3
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0.601 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-18
0.815 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-19
2.011 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-21
2.175 (s,3H)	CH <sub>3</sub> del éster en C-3
2.559 (t,1H)	1H en C-17
2.798 (t,1H)	1H en C-4
5.044 (m,1H)	H en C-3
EMIE (m/z)	
391	M+1
390	M <sup>+</sup>
372	M <sup>+</sup> -H <sub>2</sub> O
330 (pico base)	390- (CH <sub>3</sub> COOH)
312	372-(CH <sub>3</sub> COOH) 330- (H <sub>2</sub> O)
287	330-(CH <sub>3</sub> -CO)+
269	287- (H <sub>2</sub> O)

3 $\beta$ - ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (V)



En un matraz de bola de 100 mL se disolvió 1g de producto IV ( $2.5 \times 10^{-3}$  mol) en 32 mL de piridina anhidra, esta mezcla se colocó en un baño de hielo y bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$  posteriormente se adicionó gota a gota 2mL de  $\text{SOCl}_2$  con agitación constante, se retiró el enfriamiento.

En seguida la mezcla de la reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 45 minutos, al término de este tiempo, el contenido del matraz se vertió en una mezcla hielo-agua en la misma proporción para favorecer la precipitación del producto. Una vez formado éste, se filtró y se lavó con agua destilada (2X50mL) y se secó.

El producto final V se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil hexano/acetato de etilo 8:2, obteniéndose cristales de color blanco y un rendimiento del 50.5%.

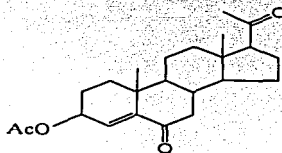
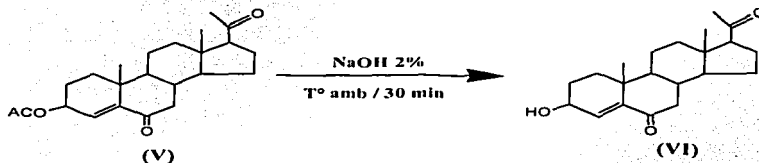


Tabla 12. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión ( $^\circ\text{C}$ )	139-142
Peso molecular (UMA)	372
Fórmula condensada	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$

Tabla 13. Datos Espectroscópicos Experimentales

Valor espectroscópico obtenido		Asignación
UV ( nm )		
$\lambda$ max	235,37	CO $\alpha, \beta$ insaturada en C-6
IR (cm <sup>-1</sup> )		
	2935,89	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> -
	1737,35	C=O del éster acetoxi en C-3
	1698,99	C= O en C-6 y C-20
	1642,54	C= C conjugado en C-4
	1243,01	C-O de ester en C-3
RMN <sup>1</sup> H (ppm)		
	0,662 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-18
	1,031 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-19
	2,070 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-21
	2,138 (s,3H)	CH <sub>3</sub> de ester en C-3
	2,553 (t,1H)	H en C-17
	2,602 (d, 1H)	H en C-7
	5,350 (q,1H)	H en C-3
	6,096 (d,1H)	H vinílico en C-4
EMIE (m/z)		
	372	M <sup>+</sup>
	330 (pico base)	372 - (CH <sub>2</sub> CO) <sup>+</sup>
	269	330 - CH <sub>3</sub> COOH
	315	330 - CH <sub>3</sub>
	255	269 - CH <sub>2</sub>
	227	255 - CO
	199	227 - CO

3 $\beta$ -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VI)

En un matraz de bola de 250 mL se adicionó 1g de producto IV ( $2.6 \times 10^{-3}$  mol), 132 mL de MeOH, 9.7 mL de NaOH ( $4.85 \times 10^{-3}$  mol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Al término de la reacción la mezcla se vertió en agua y se hizo la extracción del producto con cloroformo (3x100mL), la fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, y se evaporó el exceso de disolvente.

El producto final VI se purificó por cromatografía en columna, utilizando como fase móvil hexano/acetato de etilo 8:2, obteniéndose cristales de color blanco con un rendimiento del 53.3%.

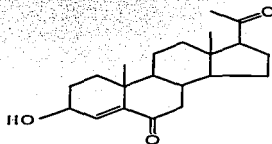


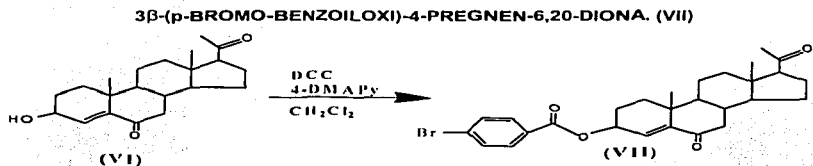
Tabla 14. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	173-175
Peso molecular (UMA)	330
Fórmula condensada	$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_3$



Tabla 15. Datos Espectroscópicos Experimentales

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV ( nm )	
$\lambda$ max            239,38	CO $\alpha,\beta$ insaturada en C-6
IR (cm <sup>-1</sup> )	
3406,23	-OH en C-3
2941,95	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> -
1686,95	C=O en C-6 y C-20
1631,12	C=C conjugado en C-4
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0,660 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-18
1,014 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-19
2,139 (s,3H)	-CH <sub>3</sub> ; C-21
4,256 (m,1H)	H en C-3
6,188 (d,1H)	C=CH en C-4
EMIE (m/z)	
330	M
315 ( <i>pico base</i> )	330- (CH <sub>3</sub> ) <sup>+</sup>
297	315- (H <sub>2</sub> O)
287	330-(CH <sub>3</sub> -CO) <sup>+</sup>
	315- (C=O)
245	287- (CH <sub>3</sub> -CO) <sup>+</sup>
227	287- (CH <sub>3</sub> COOH)



En un matraz de bola de 100mL se adicionó 1g de producto VI ( $3.03 \times 10^{-3}$  mol) y se disolvió con 100mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Enseguida se adicionaron : 1g de ácido p-bromo-benzoico ( $4.97 \times 10^{-3}$  mol), 1.03g de diclohexilcarbodiimida (DCC  $5 \times 10^{-3}$  mol), 600mg de 4-dimetilamino piridina (4-DMAPy  $4.9 \times 10^{-3}$  mol).

La mezcla de reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente durante 1h. Terminado el tiempo de reacción la mezcla contenida en el matraz se vertió a un vaso de precipitado con cloroformo, lavando constantemente la fase orgánica con agua hasta pH neutro. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose diclohexilcarboxiurea (DCU) + producto VII. Para eliminar la DCU se adicionó acetato de etilo y se filtró.

Al filtrado obtenido (compuesto VII disuelto en acetato de etilo) se le evaporó el disolvente a baño maría formándose un sólido, el cual se lavó con metanol frío, filtrándose y secándose al vacío.

El producto final VII se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil hexano/acetato de etilo 8:2, obteniéndose cristales blancos con un rendimiento del 60.7% .

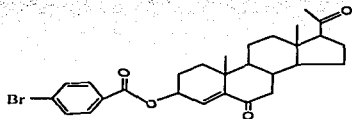


Tabla 16. Características físicas

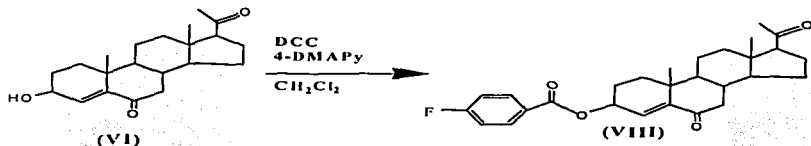
Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión ( $^{\circ}\text{C}$ )	201-203
Peso molecular (UMA)	512
Fórmula condensada	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Br}$

Tabla 17. Datos Espectroscópicos Experimentales.

Valor espectroscópico obtenido		Asignación
UV ( nm )		
$\lambda$ max	245.22	CO $\alpha,\beta$ insaturada en C-6
IR (cm <sup>-1</sup> )		
	2942.39	-CH <sub>2</sub> - y -CH <sub>3</sub>
	1717.84	C=O del ester en C-3
	1702.35	C=O de cetona en C-6 y C-20
	1639.64	C=C conjugado en C-4
	1271.51	C-O del ester en C-3
RMN <sup>1</sup> H (ppm)		
	0.674(s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-18
	1.074(s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-19
	2.144(s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-21
	2.586(m,2H)	H en C-7
	5.575 (m,1H)	H en C-3
	6.207(s,1H)	H vinílico en C-4
	7.597(dd,2H)	CH-meta al C=O del ester en C-3
	7.927(dd,2H)	CH-orto al C=O del ester en C-3
RMN <sup>13</sup> C		
	1°	C18: 13.297, C19: 19.618, C21: 31.445,
	2°	C1: 20.748, C11: 22.798, C2: 24.101, C12: 24.217, C15: 34.475, C16: 38.304, C7: 46.087
	3°	C8: 34.041, C9: 51.041, C14: 56.643, C17: 63.245, C3: 70.141, C4: 128.242 C4' : 131.683, C3' : 131.230
	4°	C13: 43.986, C2' : 128.714, C5' : 128.938, C5: 148.001, C1' : 165.440, C6: 201.834, C20: 208.970

EMIE (m/z)	
514	M <sup>+</sup> 2
512	M <sup>+</sup>
494	M <sup>+</sup> - H <sub>2</sub> O
433	M <sup>+</sup> - Br
405	433 - C=O
183 (pico base)	BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sup>+</sup>
155	183 - C=O

3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VIII)



En un matraz de bola de 100mL se adicionó 1g de producto VI ( $3.03 \times 10^{-3}$  mol) y se disolvió con 100mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Enseguida se adicionaron: 1g de ácido p-fluór-benzoico ( $7 \times 10^{-3}$  mol), 1.03g de dicitclohexilcarbodiimida (DCC  $5 \times 10^{-3}$  mol), 600mg de 4-dimetilamino piridina (4-DMAPy  $4.9 \times 10^{-3}$  mol).

La mezcla de reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente durante 1h. Terminado el tiempo de reacción la mezcla contenida en el matraz se vertió a un vaso de precipitado con cloroformo, lavando constantemente la fase orgánica con agua hasta pH neutro. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose dicitclohexilcarbodiurea (DCU) + producto VIII.

El producto final VIII se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil hexano/acetato de etilo 8:2, obteniéndose un rendimiento del 56.7%.

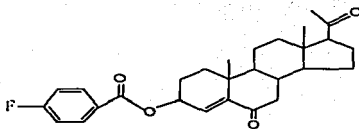


Tabla 18. Características físicas

Propiedad medida	Valor experimental calculado
Punto de fusión (°C)	172-173
Peso molecular (UMA)	452
Fórmula condensada	C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> F

Tabla 19. Datos Espectroscópicos Experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV ( nm )	
λ max 233.34	CO α,β insaturada en C-6
IR (cm <sup>-1</sup> )	
2945.08	-CH <sub>2</sub> - y -CH <sub>3</sub>
1716.88	C=O del ester en C-3
1702.34	C=O de cetona en C-6 y C-20
1627.52	C=C conjugado en C-4
1270.09	C-O del ester en C-3
RMN <sup>1</sup> H (ppm)	
0.676 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-18
1.076 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-19
2.145 (s,3H)	CH <sub>3</sub> ; C-21
2.587 (m,2H)	H en C-7
5.581 (m,2H)	H en C-3
6.214 (m,1H)	H vinílico en C-4
7.113 (m,2H)	CH-meta al C=O del ester en C-3
8.079 (m,2H)	CH-orto al C=O del ester en C-3

RMN <sup>13</sup> C	
1°	C18: 13.296, C19: 19.631, C21: 31.440
2°	C1: 20.746, C11: 22.794, C2: 24.099, C12: 24.238, C15: 34.487, C16: 38.299 C7: 46.085
3°	C8: 34.042, C9: 51.034, C14: 56.640, C17: 63.244, C3: 69.966, C4: 128.858, C3' : 132.204, C4' : 132.328
4°	C13: 43.985, C2' : 126.2491 C5' : 126.285, C5: 147.928 C1' : 167.523, C6: 201.849, C20: 208.920
EMIE (m/z)	
452	M*
434	M* - H <sub>2</sub> O
391	434 - CH <sub>3</sub> CO*
123 ( <i>pico base</i> )	FC <sub>8</sub> H <sub>4</sub> CO*
95	123 - C=O

## 5.2 Ensayos Biológicos de la Actividad Antiandrogénica

La evaluación de la actividad antiandrogénica se realizó a los compuestos VII y VIII. Estos compuestos fueron evaluados con dos pruebas *in vitro* diferentes.

Para el desarrollo de los experimentos se emplearon hámster machos de la cepa Syriam Golden con un peso promedio de 150-200 g y gonadectomizados 30 días antes del estudio. Los animales se mantuvieron en condiciones de bioterio, a una temperatura controlada de 22°C con periodos de luz y oscuridad de 12 h y comida y agua *ad libitum*. A continuación se describe cada uno de los experimentos realizados.

### 5.2.1 Obtención de la fracción microsomal y citosólica de las vesículas seminales de hámster.

#### 5.2.1.1 Experimentos *in vitro*: Inhibición de la actividad de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa presente en fracción microsomal de vesícula de hámster a pH= 7.0

Se sacrificaron 50 hámster machos con aproximadamente 72 horas de castración. Se separaron las próstatas y las vesículas seminales. Los tejidos se limpiaron perfectamente de grasa y se pesaron por separado. Los tejidos se homogeneizaron con una mezcla que contenía: 20 mM de HCl-tris, 1.5 mM EDTA, 20 mM molibdato de sodio y 10% glicerol, con relación al peso de tejido (v/p 3:1). Los homogenados se centrifugaron a 140000 g, durante una hora a 2°C. Posteriormente se separó el precipitado (fracción microsomal) del sobrenadante (fracción citosólica). El precipitado se resuspendió en 3 volúmenes de medio A (0.32 M de sacarosa, 0.1 mM ditioneitol y solución 20 mM amortiguadora de fosfatos a pH=6.5) en relación con el peso del tejido obtenido inicialmente y se determinó el contenido de proteínas tanto en la fracción microsomal como en la citosólica, por el método de Bradford <sup>(32)</sup>. Con la fracción microsomal de vesícula seminal previamente obtenida, se realizó un estudio metabólico *in vitro* para conocer el posible efecto inhibitorio del esteroide sobre la enzima 5 $\alpha$ -reductasa. Para realizar este bioensayo, los esteroides VII y VIII se evaluaron en los siguientes concentraciones: (0.1 X 10<sup>-9</sup> - 100 X 10<sup>-9</sup>) M y (0.1X10<sup>-6</sup>- 10 X10<sup>-6</sup>) M, se incubaron en

presencia de 250 µg de proteína de microsomas de vesícula seminal y una mezcla de incubación que contenía: 2 mM de testosterona tritiada T[H<sup>3</sup>], 2 mM de NADPH\*, 1 mM de ditiotreitól y una solución amortiguadora 40 mM de fosfatos a pH= 7.0. El bioensayo se incubó durante una hora a una temperatura de 37°C con agitación constante.

Además se preparó un control que contenía fracción microsomal y T[H<sup>3</sup>] en la mezcla de incubación, sin inhibidor, el cual corresponde al 100 % de conversión. La incubación terminó con la adición de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, para después realizar extracciones sucesivas a la mezcla de reacción con el mismo disolvente. La separación de los productos tritiados T[H<sup>3</sup>] y DHT[H<sup>3</sup>] se realizó por CCF, en un sistema de elución cloroformo/acetona (9:1).

La región de la placa correspondiente a dihidrotestosterona tritiada DHT[H<sup>3</sup>] (Rf 0.68) producto obtenido por la transformación de T[H<sup>3</sup>] a DHT[H<sup>3</sup>] en presencia de la enzima 5α-reductasa, se colocó en viales con líquido de centelleo Ultima Gold; finalmente se midió la radiactividad, utilizando un contador de centelleo (Packard tri-carb 2100TR).

Los resultados se presentan en la tabla 20, pág. 42.

#### 5.2.1.2. Determinación de la unión a receptores en citosol de vesículas seminales.

Este bioensayo se realiza con el fin de conocer si existe algún tipo de inhibición producida por los esteroides evaluados, hacia la unión a receptores androgénicos los cuales se encuentran presentes en el citosol de los tejidos dependientes de andrógenos como la vesícula seminal de hámster. Los compuestos VII y VIII se incubaron en concentraciones: (0.2X10<sup>-3</sup> – 1X10<sup>-3</sup>)M en presencia de 200 µl de citosol y 1 nM de dihidrotestosterona tritiada DHT[H<sup>3</sup>] durante 18 h a 4°C. Terminado el tiempo de incubación se agregó una suspensión de carbón activado-dextrán para eliminar la radiactividad libre o no unida al receptor, incubando nuevamente durante 45 min. en hielo. Finalmente se separó el sobrenadante por centrifugación a 4000 rpm, durante 10 min. a 14°C., midiéndose la radiactividad presente en el sobrenadante provocada por la DHT[H<sup>3</sup>] unida al receptor. El análisis por competencia al receptor se lleva a cabo en presencia del



sustrato natural, DHT ( no marcada ) o de los inhibidores. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 21, pág.43 , figuras 15 y 16, pág. 44.

Se determinó la constante de inhibición de unión a receptores utilizando la siguiente Fórmula: <sup>(33)</sup>

$$KI=IC_{50}+ C/Kd$$

KI= Constante de inhibición

C=Concentración de hormona marcada

Kd= Constante de disociación (1.365nM)

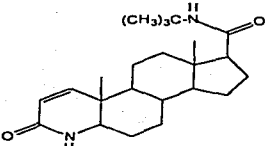
IC<sub>50</sub>= Concentración de compuesto no marcado radiactivamente, que inhibe por competencia el 50% de los sitios de unión al receptor.

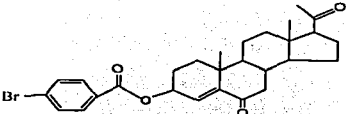
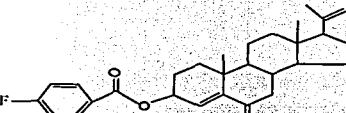
Los resultados se presentan en la tabla 21, pág. 43.

### 5.2.2 Resultados de los Ensayos Biológicos

#### Inhibición de la actividad de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa presente en fracción microsomal de vesícula de hámster:

Tabla 20. Inhibición de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa.

Compuesto	* IC <sub>50</sub>
 <p>The image shows the chemical structure of Finasteride, a 5<math>\alpha</math>-reductase inhibitor. It consists of a pyrazole ring fused to a decalin system. The pyrazole ring has a carbonyl group at position 2 and a methyl group at position 3. The decalin system has a methyl group at position 10 and a propionamide group at position 13. The propionamide group is shown as (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-CH<sub>3</sub>.</p> <p>**FINASTERIDA</p>	<p>10 nM</p>

 <p style="text-align: center;"><b>COMPUESTO VII</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>No presenta inhibición de la enzima 5<math>\alpha</math>-reductasa</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>COMPUESTO VIII</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>No presenta inhibición de la enzima 5<math>\alpha</math>-reductasa</b></p>

\* IC<sub>50</sub>: Cantidad de sustrato al cual se inhibe el 50% de la actividad de la enzima.

\*\*FINASTERIDA: Compuesto que se usa como referencia.

### Unión a receptores en citosol de vesículas seminales

Tabla 21. Valores de KI para la DHT y los compuestos sintetizados.

Compuesto	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	*KI ( $\mu$ M)
Dihidrotestosterona (DHT)	380	380.7
VII	190	190.7
VIII	450	450.7

Figura 15. Prueba de unión a receptores en vesículas seminales (V.S) para el compuesto VII y DHT

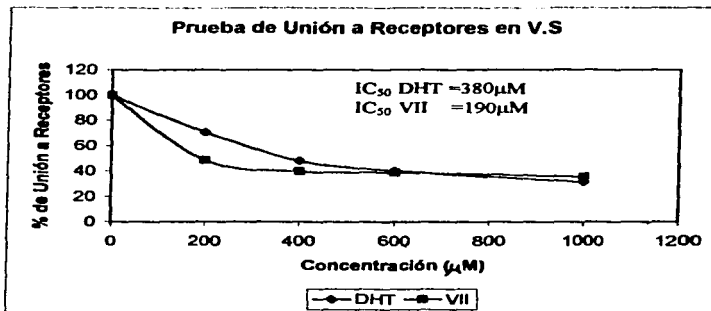
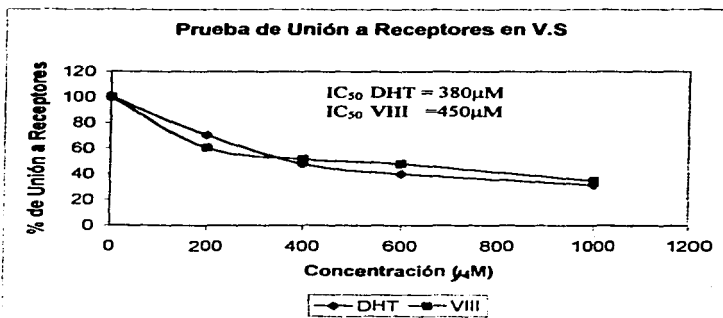


Figura 16. Prueba de unión a receptores en vesículas seminales (V.S) para el compuesto VIII y DHT



## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 Discusión de la síntesis de los compuestos.

#### 3 $\beta$ -HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA. (I)

Este esteroide fue utilizado como materia prima ya que presenta las funcionalidades químicas necesarias para ser transformado en el compuesto deseado. Este producto no se sintetizó en el laboratorio, fue adquirido en el mercado.

Se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, tal como se presenta en las tablas 4 y 5, pág. 24.

\*En el IR (Espectro 1, pág. 59) se encuentran una absorción en la zona de los carbonilos en  $1697.22\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a la cetona en C-20. También se encuentra la señal en  $1642.22\text{ cm}^{-1}$  que representa un doble enlace entre C-5 y C-6. Importante la señal de  $3437.96\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al grupo alcohol secundario en C-3. Por último las señales de metilos y metilenos de  $2927.93\text{ cm}^{-1}$ .

\*En RMN<sup>1</sup>H (Espectro 2, pág. 60) presenta las siguientes señales: 3 singuletes en 0.633, 1.012 y 2.20 ppm que integran para tres protones cada una, correspondientes a los protones de los metilos C-18, C-19 y C-21 respectivamente; la señal en 3.530 ppm que integra para un protón fue asignada al protón base del alcohol en C-3. La señal registrada como triplete que integra para un protón en 2.537 ppm fue asignada al protón en C-17 y finalmente la señal en 5.350 ppm que integró para un hidrógeno fue asignada al protón vinílico en C-6.

#### 3 $\beta$ -ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA. (II)

El primer paso de síntesis fue la acetilación en C-3 de la materia prima (I). El método empleado consistió en la acetilación convencional mediante una mezcla de anhídrido acético y piridina formando de esta manera el electrófilo acetilpiridinio considerado como la especie acetilante. El producto acetilado se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, tal como se presenta en las tablas 6 y 7, pág. 25, 26

\*En el IR (Espectro 3, pág. 61) se encuentran dos absorciones en la zona de los carbonilos en 1726.19 y 1704.89 $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a los carbonilos del ester en C-3 y de la cetona en C-20, respectivamente. También se observan señales correspondientes a metilos y metilenos en 2939.94. Las señales en 1237.16 y 1027.07 representan la vibración del C-O del éster en C-3. Se observa una señal en 164289 $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a C=C en C-5 y C-6. Finalmente desaparece la señal que corresponde al alcohol de la materia prima, confirmando así la aparición del grupo acetilo.

\*La RMN<sup>1</sup>H (Espectro 4, pág. 62) presenta las siguientes señales: dos singuletes 0.633 y 1.023ppm que integran para 3 protones cada una, correspondientes a los protones de los metilos C-18 y C-19 respectivamente; 2 señales simples en 2.036 y 2.127ppm que integran para 3 protones, cada una perteneciente al metilo en C-21 y al metilo del ester en C-3 respectivamente; una señal múltiple que integra para un protón en 4.607ppm correspondiente al protón base del ester en C-3. En la zona de protones vinílicos se observa un doblete en 5.380ppm que integra para un protón, el cual se debe al protón vinílico en C-6.

\*La EMIE (Espectro 5, pág. 63), muestra un ion molecular M<sup>+</sup> en 358m/z correspondiente al peso molecular del compuesto (II). Aparece también un pico en 357m/z correspondiente a M-1. El pico en 342m/z indica la pérdida de 15 unidades equivalente al fragmento (CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> a partir del pico 357m/z. El pico base se registró en 298m/z por pérdida de la entidad -(CH<sub>3</sub>COOH) a partir de M<sup>+</sup>. A su vez el pico 283m/z se forma por la pérdida del grupo (CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> a partir del pico base. El pico en 255 se debe a la pérdida de la entidad (C=O) del fragmento molecular 283.

### 3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EPOXI-PREGNAN-20-ONA. (III)

El tercer paso de la síntesis involucró la formación de un epóxido entre el C-5 y el C-6. Gracias a sus adecuadas propiedades de solubilidad la epoxidación se realizó con ácido-m-cloro-perbenzoico (MCPBA) en medio ácido, produciéndose una reacción electrofílica concertada de un paso, donde se da el epóxido y el ácido directamente sin intermediario, en esta reacción de epoxidación ocurre la transferencia de un átomo de oxígeno del MCPBA al doble enlace del esteroide.

El compuesto obtenido se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en las tablas 8 y 9 , pág. 27,28.

\* IR (Espectro 6, pág. 64). La absorción en  $1733.62\text{ cm}^{-1}$  observada en el espectro como una banda intensa corresponde a un ester acetoxi en C-3. Se observa una banda en  $1034.40\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración C-O del epóxido. También se siguen observando en  $1703.32$  la señal del carbonilo de cetona en C-20 y la señal de metilos y metilenos en  $2942.01\text{ cm}^{-1}$ . En  $1242.61\text{ cm}^{-1}$  se observa la vibración C-O del ester en C-3.

\*En la RMN<sup>1</sup>H (Espectro 7, pág. 65) se observa la desaparición de la señal de 5.380ppm que corresponde a un protón vinílico en C-6 de la reacción anterior (acetilación), se observa una señal nueva en 3.09 ppm que integra para 1 hidrógeno y fue asignada al protón del C-6. La señal registrada como doblete en 2.900 ppm y que integra para 2 hidrógenos fue asignada a los protones de C-4.la señal para un protón en C-3 se ubicó en 4.77ppm. Siguen las señales simples en 0.563, 1.02 y 2.035 ppm, que integran para 3 protones cada una, y corresponden a los metilos C-18, C-19 y C-21, respectivamente, finalmente se sigue manteniendo la señal en 2.1ppm correspondiente a los protones del metilo del ester en C-3; la cual integra para 3 hidrógenos. La señal en 2.504 ppm que integra para 1 hidrógeno corresponde al protón en C-17.

\*La EMIE (Espectro 8, pág. 66) muestra un ion molecular M<sup>+</sup>de 374m/z correspondiente al peso molecular del compuesto (III).También aparece un pico en 356m/z debido a la deshidratación que sufre en primer paso el ion molecular .La señal de 296 m/z se debe a la pérdida de -(CH3COOH) a partir del pico 356m/z. El pico base se registró en 314m/z por pérdida de la entidad -(CH3COOH) a partir de M<sup>+</sup>. Así también el pico 281 se debe a la pérdida de -CH3 del fragmento 296m/z, finalmente el pico en 253m/z corresponde a la pérdida de -CO a partir del pico 281m/z.

### 3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ -HIDROXIPREGNAN-6,20-DIONA. (IV)

El siguiente paso en la ruta de síntesis fue una reacción de oxidación en la cual el ácido crómico ( $H_2CrO_4$ ), formado a partir de trióxido de cromo y agua, actúa como una especie oxidante, de esta manera la molécula esteroideal es oxidada en la posición 6 para dar lugar a un grupo oxhidrilo y un carbonilo en C-5 y C-6 respectivamente, en tanto que el  $H_2CrO_4$  es reducido a  $H_2CrO_3$ .

El compuesto obtenido se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en las tablas 10 y 11 pág.29,30

\*En el IR (Espectro 9, pág. 67), se confirma la oxidación del grupo epóxido con la aparición del carbonilo en C-6 y la aparición de una señal intensa en  $3455.84\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde al grupo OH en C-5. Se encuentran 3 absorciones  $1737.02$ ,  $1715.44$  y  $1689.86\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los carbonilos del ester acetoxi en C-3 y de las cetonas en C-20 y C-6 respectivamente. Las señales en  $1232.08$  y  $1041.96\text{ cm}^{-1}$  representan la vibración C-O del éster en C-3. Se observa la señal correspondiente a metilos y metilenos en  $2947.73\text{ cm}^{-1}$ .

\*La RMN<sup>1</sup>H (Espectro 10, pág. 68) se observaron los siguientes desplazamientos: para el protón de C-17 en 2.559 ppm, un triplete en 2.798 ppm asignado al C-4 y el protón de la base del ester en C-3 en 5.044 ppm. También se pudo observar la desaparición de la señal en 3.09 ppm correspondiente al protón en C-6, lo cual no estaría confirmando la oxidación del esteroide. Las señales simples en 0.601, 0.815 y 2.011 que integran para 3 protones cada una corresponden a los metilos C-18, C-19 y C-21 respectivamente.

\*La EMIE (Espectro 11, pág. 69) muestra un ion molecular  $M^+$  en  $390\text{ m/z}$  correspondiente al peso molecular del compuesto IV. También aparece una señal en  $391\text{ m/z}$ , que corresponde a  $M+1$ . Se observa un pico en  $372\text{ m/z}$  el cual se forma por la deshidratación del ion molecular. El pico en  $330\text{ m/z}$  representa el pico base y se forma por la pérdida del fragmento  $-CH_3COOH$  a partir del ion molecular  $M^+$ . A su vez, el pico en  $312\text{ m/z}$  se debe a la deshidratación del fragmento molecular  $330\text{ m/z}$  o a la pérdida del fragmento  $(CH_3COOH)$  a partir del fragmento molecular  $372\text{ m/z}$ . El pico en  $287\text{ m/z}$  se

debe a la pérdida de 43 unidades del grupo (CH<sub>3</sub>-CO)<sup>+</sup> a partir del pico base 330m/z y el pico en 269m/z se debe a la deshidratación del fragmento molecular 287m/z.

### 3β -ACETOXI-4-PREGNEN-6 ,20-DIONA . (V)

El siguiente paso de la síntesis consistió en la eliminación del grupo OH en la posición C-5 para dar lugar a una doble ligadura entre los carbonos 4 y 5, para lo cual se utilizó piridina anhidra y cloruro de tionilo, este último debido a que se descompone fácilmente por la humedad del ambiente fue necesario destilarlo y secarlo perfectamente y para tomarlo y adicionarlo a la reacción se utilizó una atmósfera de nitrógeno llevándose a cabo la reacción en condiciones anhidras.

El compuesto obtenido se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en las tablas 12 y 13 pág. 31,32

\* UV (Espectro 12, pág. 70 ) En el compuesto V se observa la presencia de un grupo cromóforo CO α,β insaturado en C-6 con λ<sub>máx</sub> de 235.37 nm conjugado con la doble ligadura en C-4.

\*En el IR: (Espectro 13, pág. 71) se observa la señal del carbonilo del éster en C-3 en 1737.35 cm<sup>-1</sup>. Aparece la señal de 1642.54 cm<sup>-1</sup> la cual nos confirma la presencia del doble enlace conjugado en C-4 . Por el contrario aquí se pierde la señal intensa del alcohol (3455.84 cm<sup>-1</sup>) esto debido a que en la reacción de eliminación el OH da lugar a la doble ligadura en C-4. Finalmente se observan las señales del carbonilo de cetona en C-6 y C-20 de 1698.99 cm<sup>-1</sup> así como la señal de metilos y metilenos en 2958.58 cm<sup>-1</sup> .

\*En la RMN 1H (Espectro 14, pág. 72 ) observamos una señal en 6.096 ppm, doblete que integra para 1 hidrógeno, el cual corresponde a un protón vinílico en C-4. Se presenta la señal que integra para 1 H ahora en 5.350 ppm y que nos indica el protón en la posición C-3. Los protones en posición alfa con respecto a un grupo carbonilo absorben entre 2.0 y 2.5, en nuestro caso observamos un doblete en 2.602ppm lo cual nos indicaría que se trata de los protones de C-7 . También se observan las señales simples en 0.662,1.031 y 2.070 ppm, que integran para 3 protones cada una, y corresponden a los



metilos C-18, C-19 y C-21, respectivamente, finalmente el singulete en 2.138ppm que integra para 3 protones se asignó al metilo del ester en C-3.

\*La EMIE (Espectro 15, pág. 73) muestra un ion molecular  $M^+$  de 372 correspondiente al peso molecular del compuesto V. Por otro lado el ion molecular al perder 43 unidades del fragmento  $(CH_3CO)^+$  genera el pico base en 330m/z. El pico base al perder 15 unidades correspondientes a un  $-CH_3$  da como resultado el pico en 315m/z. La señal correspondiente a 255m/z se debe a la pérdida de un etilo con valor de 14 unidades del fragmento 269m/z, finalmente el pico con valor de 227m/z corresponde a la pérdida de un CO con valor de 28 unidades del fragmento 255m/z así como también se vuelve a perder otro CO del fragmento 227m/z para dar lugar al pico con valor de 199m/z.

### 3β -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VI)

El siguiente paso de síntesis consistió en la hidrólisis del grupo acetoxi para regenerar el alcohol esteroideal en C-3.

Esta reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, en medio básico y empleando como disolvente metanol. El compuesto hidrolizado obtenido se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas. Tablas 14 y 15 pág..33,34

\*UV (Espectro 16, pág. 74) En este compuesto se observa la presencia de un grupo cromóforo CO  $\alpha,\beta$  insaturado (4-en-6-ona) registrando un máximo de absorción en  $\lambda=239.38$  nm .

\*En el IR (Espectro 17, pág. 75 ) aparece una banda en  $3406.23\text{cm}^{-1}$  correspondiente al alcohol en C-3, con la desaparición de la señal del C-O del éster en C-3, confirmando así la hidrólisis. Se observa una señal en  $1686.95\text{cm}^{-1}$  en la zona de los carbonilos que se asignó a las cetonas correspondiente en C-6 y C-20. Aparece una banda en  $1631.12\text{cm}^{-1}$  que corresponde al vinilo en C-4, confirmando así el sistema conjugado del esteroide. Se observa la señal correspondiente a metilos y metilenos en  $2941.95\text{cm}^{-1}$ .

\*En la RMN<sup>1</sup>H (Espectro 18, pág. 76 ) se confirmó la formación de alcohol, ya que el protón base en C-3 se desplazó a campo alto en 4.256 ppm, por lo cual se llevó a cabo la hidrólisis. Se observan 3 singuletes 0.660, 1.014 y 2.139 ppm que integran para 3

protones cada una, correspondientes a los metilos C-18, C-19 y C-21 respectivamente. Existe un doblete que integra para un protón en 6.188 ppm el cual corresponde al protón vinílico en C-4.

\*La EMIE (Espectro 19, pág. 77) muestra un ion molecular  $M^+$  de 330m/z correspondiente al peso molecular del compuesto VI. También aparece una señal en 315m/z que representa el pico base y se debe a la pérdida del fragmento  $(CH_3)^+$  del ion molecular  $M^+$ . Se observa un pico en 297m/z el cual se forma por la deshidratación del fragmento molecular 315m/z (pico base). A su vez hay un pico en 287m/z debido a la pérdida del grupo  $(CH_3-CO)^+$  del fragmento molecular 330m/z o bien debido a la pérdida de  $(C=O)$  a partir del fragmento 315m/z. Hay un pico en 245m/z que se debe a la pérdida de  $(-CH_2-CO)$  a partir del fragmento molecular 287m/z. Finalmente la señal de 227m/z se debe a la pérdida de un grupo  $-(CH_3-COOH)$  del fragmento 287m/z.

### PRODUCTOS FINALES

Los compuestos VII y VIII se obtuvieron mediante una reacción de esterificación a partir del alcohol y el ácido correspondiente, utilizando dicitohexilcarbodiimida (DCC) y dimetilaminopiridina (DMAPy). Se propone primero una reacción ácido-base entre la dimetilaminopiridina y el ácido correspondiente para formar el nucleófilo  $RCOO^-$  el cual ataca al carbono sp de la DCC el cual a su vez forma un intermediario de tipo anhídrido que finalmente es atacado por el oxígeno del alcohol esteroideal.

#### 3 $\beta$ -(p-BROMOBENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VII)

El compuesto VII se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas. Tablas 16 y 17, pág. 35-37

\*En el UV (Espectro 20, pág. 78 ) se observa la presencia de un grupo cromóforo CO  $\alpha,\beta$  insaturado (4-en-6-ona) registrando un máximo de absorción en  $\lambda = 245.22$  nm.

\*En el IR (Espectro 21, pág. 79 ) aparece una banda en  $1717.84 \text{ cm}^{-1}$ , para el carbonilo del ester en C-3; desaparece la señal en  $3406.23 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente al OH del C-3 confirmando así la esterificación. La absorción registrada en  $1702.35 \text{ cm}^{-1}$  se asignó para la cetona  $\alpha,\beta$  insaturada en C-6 y el carbonilo en C-20. La señal en  $1639.64 \text{ cm}^{-1}$  corresponde al doble enlace conjugado confirmando así el sistema 4-en-6-ona en la molécula esteroideal. Se observa una señal en  $1271.51 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración C-O del ester en C-3.

\*En la RMN<sup>1</sup>H (Espectro 22, pág. 80 ) se presentan las siguientes señales: se confirmó la formación del ester, ya que aparecieron 2 señales, una en 7.597 ppm que integra para dos hidrógenos, la cual fue asignada al protón que se encuentra meta al C=O del ester en C-3, y otra señal en 7.927 ppm que integra para dos protones, la cual se asignó al protón que se encuentra orto al C=O del ester en C-3. Otras señales que se observaron fueron: 5.575 ppm correspondiente al protón base en C-3, 2.586 ppm, asignada a los protones del C-7, una señal en 6.207 ppm que fue asignada para el protón vinílico en C-4, además de que se observaron las tres señales que integran para tres hidrógenos cada una en 0.674, 1.074 y 2.144 ppm las cuales corresponden a los metilos C-18, C-19 y C-21 respectivamente.

\*En RMN<sup>13</sup>C, ( Espectro 23 y 24, pág. 81, 82) los carbonos primarios aparecen a campo alto como se puede apreciar en: 13.297, 19.618 y 31.445 ppm, asignados a C-18, C-19 y C-21. En la zona de los carbonilos apareció una señal en 165.440 ppm, asignada para el carbonilo del ester C1' y otras dos señales más en 201.834 y 208.97 ppm correspondientes al carbonilo de C-6 y C-20 respectivamente. Otras señales que se observaron fueron 128.242 y 148.001 ppm que corresponden a C-4 y C-5 respectivamente. Encontramos las señales: 131.683 y 131.230 ppm las cuales corresponden a los carbonos terciarios del benceno: C4' Y C3' respectivamente. Se observaron 2 señales en 128.714 y 128.938 ppm las cuales fueron asignadas a los carbonos cuaternarios del benceno : C2' y C5' respectivamente.

\*La EMIE (Espectro 25, pág. 83) muestra un ion molecular de 512 m/z correspondiente al peso molecular de VII. También aparece una señal en 514m/z, correspondiente a M+2, indicativo de la presencia de bromo en la molécula. Se observa un pico en 494 m/z dado por la deshidratación de M<sup>+</sup>. El pico 433 m/z se debe a la pérdida del halógeno Br a partir

del ion molecular  $M^+$ . A su vez el pico 405 m/z se debe a la pérdida del grupo  $C=O$  del fragmento 433 m/z. El pico base se localiza en 183 m/z y corresponde a  $BrC_6H_4CO^+$ , por último, el pico en 155 m/z se debe a la pérdida del grupo  $C=O$  a partir del pico base 183 m/z.

### 3 $\beta$ -(p-FLUORBENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA. (VIII)

El compuesto VIII se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas. Tablas 18 y 19 pág. 38-40.

\*En el UV (Espectro 26, pág. 84) se observa la presencia de un grupo cromóforo  $CO$   $\alpha,\beta$  insaturado (4-en-6-ona) registrando un máximo de absorción en  $\lambda = 233.34$  nm.

\*En el IR (Espectro 27, pág. 85) aparece una banda en  $1716.88$   $cm^{-1}$ , para el carbonilo del ester en C-3, desapareciendo la señal en  $3406.23$   $cm^{-1}$  correspondiente al OH del C-3 confirmando una vez más la esterificación. Las absorciones registradas en  $1702.34$   $cm^{-1}$  para la cetona  $\alpha,\beta$  insaturada en C-6 y en  $1627.52$   $cm^{-1}$  para el doble enlace conjugado confirmaron el sistema 4-en-6-ona en la molécula esteroidal. Se observa una señal en  $1270.09$   $cm^{-1}$  la cual corresponde a la vibración C-O del ester en C-3.

\*En la RMN<sup>1</sup>H (Espectro 28, pág. 86) se confirmó la formación del ester, ya que se observó la aparición de dos señales, una en 7.113 ppm que integra para dos hidrógenos, la cual fue asignada al protón que se encuentra meta al  $C=O$  del ester en C-3, y otra señal en 8.079 ppm que integra para dos protones, la cual fue asignada al protón que se encuentra orto al  $C=O$  del ester en C-3. Se observaron otras señales en: 5.581 ppm correspondiente al protón base en C-3, 2.586 ppm, asignada a los protones del C-7, una señal en 6.214 ppm que fue asignada para el protón vinílico en C-4, además de que se conservaron las tres señales que integran para tres hidrógenos cada una en 0.676, 1.076 y 2.145 ppm las cuales corresponden a los metilos en C-18, C-19 y C-21 respectivamente.

\*En RMN<sup>13</sup>C (Espectro 29 y 30, pág. 87,88) los carbonos primarios aparecen a campo alto como se puede apreciar en: 13.296, 19.631 y 31.440 ppm, asignados a C-18, C-19 y C-21. En la zona de los carbonilos apareció una señal en 167.523 ppm, asignada para el carbonilo del ester C1' y otras dos señales más en 201.849 y 208.920 ppm

correspondientes al carbonilo de C-6 y C-20 respectivamente. Otras señales que se observaron fueron 128.858 y 147.928 ppm que corresponden a C-4 y C-5 respectivamente. Encontramos las señales: 132.328 y 132.204 ppm las cuales corresponden a los carbonos terciarios del benceno: C4' Y C3' respectivamente. Se observaron 2 señales en 126.249 y 126.285 ppm las cuales fueron asignadas a los carbonos cuaternarios del benceno : C2' y C5' respectivamente

\*La EMIE (Espectro 31, pág. 89) muestra un ion molecular de 452 m/z correspondiente al peso molecular de VIII. Se observa un pico en 434 m/z dado por la deshidratación de M<sup>+</sup>. El pico 391 m/z se debe a la pérdida del grupo - CH<sub>3</sub>CO<sup>+</sup> a partir del fragmento 434 m/z. El pico base se localiza en 123 m/z y corresponde a FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sup>+</sup>. por último, el pico en 95 m/z de debe a la pérdida del grupo C=O a partir del pico base 123. m/z.

## 6.2 Discusión de los Ensayos Biológicos

Los resultados muestran que los compuestos VII y VIII no son inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa, mientras que estos compuestos sí se unen al receptor de andrógenos. Al comparar los valores de IC<sub>50</sub> (concentración de compuesto no marcado radiactivamente, que inhibe por competencia el 50% de los sitios de unión al receptor) obtenidos en la tabla 20, pág.42, se observa la siguiente tendencia: VII<DHT<VIII, lo cual nos indica que para saturar a los receptores se necesita una menor concentración del compuesto VII en comparación con la DHT y el compuesto VIII.

Reflejándose lo anterior con los valores de K<sub>i</sub> (constante de inhibición), los cuales muestran que la afinidad por los receptores es para VII<DHT<VIII.

Respecto al comportamiento de los compuestos VII y VIII, el compuesto VII presentó mayor afinidad que VIII por los receptores androgénicos, con lo cual confirmamos que los derivados de bromo presentan mayor actividad biológica con respecto a los derivados que contienen Flúor.

## 7 . CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron física y espectroscópicamente los compuestos 3 $\beta$ -(p-bromo-benzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VII** y 3 $\beta$ -(p-fluor-benzoiloxi)-4-pregnen-6,20-diona **VIII**.

Los compuestos **VII** y **VIII** no presentaron inhibición de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa (tipo 2), tomando como referencia la finasterida ( $IC_{50}$ =10nM). Sin embargo, presentaron afinidad por el receptor androgénico (**VII**,  $K_i$ =190  $\mu$ M y **VIII**,  $K_i$ =450.7 $\mu$ M) ambos comparados con la DHT ( $k_i$ =380.7  $\mu$ M).

Se ha demostrado que el requerimiento estructural para que se lleve a cabo la unión al receptor es la flexibilidad de los anillos A o B de las moléculas androgénicas<sup>(33)</sup>, es por ello que los compuestos sintetizados sí se unen al receptor de andrógenos, ya que el anillo A se encuentra modificado por un grupo  $\Delta^4$ -3-haloéster aromático, jugando un papel importante la electronegatividad del átomo de halógeno en la molécula esteroidal.

Con base en los resultados obtenidos, en un futuro se podría realizar un estudio de estructura-actividad biológica cuantitativa, en el cual se pueda predecir la actividad antiandrogénica del esteroide en relación con su estructura química y así facilitar el diseño de nuevas moléculas activas para el tratamiento de cáncer de próstata e hiperplasia prostática benigna, entre otros.

## 8. BIBLIOGRAFÍA:

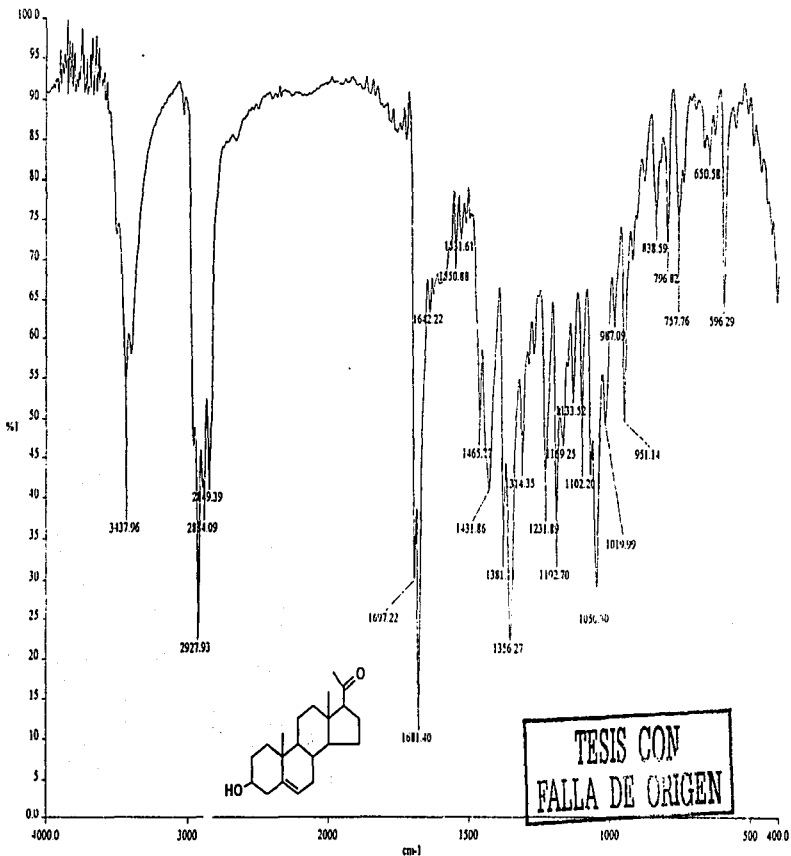
1. US TOO, International, Inc., Prostate Cancer Support Groups, <http://www.ustoo.com/cht>, 2001.
2. Catalona, W.J., and Scott, W.W: Carcinoma of the prostate en Walsh, P.C., et al. (eds): Campbell's Urology, fifth edition Philadelphia, W.B. Saunders Co., p. 1463, 1986.
3. V.T. DeVita, s.Hellman, Cáncer : Principios y práctica de oncología.2ª. edición, Ed. Salvat. Tomol. 1988, pp. 869-871.
4. Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar y Etanley L. Robbins: Patología Estructural y Funcional. 4ª. Edición, Edit. Interamericana McGraw-Hill. Madrid 1990. Vol II
5. Hoocker, C.W. Reproduction in the male. In Ruch, T.C and Patton, H.D. Physiology and Biophysics. 19<sup>th</sup> De. W.B. Saunders Co., Philadelphia. 1965 p. 1205.
6. Litter M. Farmacología Experimental y Clínica 6ª edición., Edit. "El Ateneo" Argentina 1980, pp.1218-1233.
7. Guyton, C.A.; Hall, E. J. TRATADO DE FISIOLÓGIA MÉDICA, McGraw-Hill Interamericana, 9a. Edición, México 1997 p.1009.
8. Brian W. Metealf, Mark A.Levy and Dennis A. Holt. Inhibitors of steroid 5 $\alpha$ -reductase in benign prostatic hyperplasia, male pattern baldness and acne. Science, (1997), 492-495.
9. Bratoeff E, Ramírez E, Murillo E, Flores G and Cabeza M. Steroidal Antiandrogens and 5 $\alpha$ -reductase Inhibitors Current. Medicinal Chemistry. (1999) 53:1007-1023.
10. Bratoeff E, Flores G, Ramírez E, y Valencia <n. The Pharmacology of the Antiandrogens. Chimica OGGI. Italia. 1997; 67-69.
11. Goodman y Gilman. Las Bases farmacológicas de la Terapéutica. 9ª. edición, Edit. McGraw-Hill Interamericana, México 1997, Vol II, pp. 1531-1546.

12. Bratoeff E, Flores G, Ramírez E, Flores C, Calderón D., et al. Síntesis de nuevos inhibidores de 5 $\alpha$ -reductasa. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* (1999), 28:13-19.
13. Ervin E, Jones. Androgenic Effects of Oral Contraceptives Implications for Patient Compliance. *The American Journal of Medicine* (1996). 98: 116-119.
14. Valencia, N., Síntesis de derivados del pregnano con un grupo fenilo en configuración  $\beta$  en C-16 como antiandrogénos potenciales para el tratamiento del cáncer de próstata. Tesis de Maestría de la Facultad de Química, UNAM. 1997
15. Goodman & Gilman's CD-ROM, THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, Mx-Graw-Hill, 9<sup>th</sup> edition, table 5-1; USA, 1996.
16. Fruszeztii, 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.
17. Cabeza M., Gutiérrez E., Miranda R., Heuze I., Bratoeff E., Flores G., Ramírez E. Androgenic and antiandrogenic effects of progesterone derivatives with different halogens as substituents at C-6 position. *Steroids* (1999), 64:413-421.
18. Cabeza M., Quiroz A., Bratoeff E., Murillo M.E. Síntesis and pharmacological evaluation of 4-halo progesterona derivatives as antiandrogen. *Chem Pharm Bull* (1999), 47:1232-1236.
19. Cabeza M., Heuze I., Bratoeff E., Ramírez E., Martínez R. Evaluation of new pregnane derivatives as 5 $\alpha$ -reductase inhibitor. *Chem Pharm Bull* (2001), 49:525-530.
20. Cabeza M., Heuze I., Bratoeff E., Murillo E., Ramírez E. and Lira A. New progesterona esters as 5 $\alpha$ -reductase inhibitors. *Chem Pharm Bull* (2001), 49:1081-1084.
21. Counsell, R.E., and Burger, A. *Medicinal Chemistry; parte II*. 3th edition, John Wiley & Sons, Inc, USA 1970, p. 923.

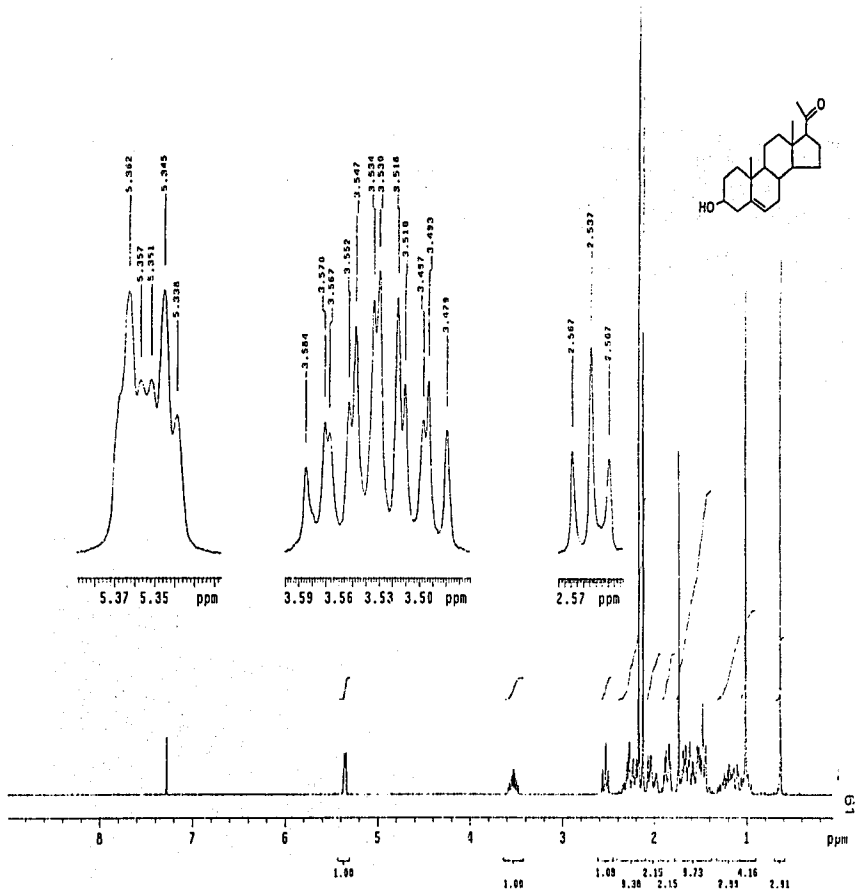


22. Briggs H:H, Brotherton J., *Steroid Biochemistry in Pharmacology*. Vol. Y Academic Press. Londres y Nueva York 1970, p.30 .
23. Kline W., *Química de los esteroides*. 1ª edición. Compañía editorial Argentina, S.A. Barcelona. 1970.
24. Orten, J.M y Neuhaus, O.W. *Bioquímica Humana*. 10ª. Edición, Edit. Médica Panamericana, Argentina 1984, pp.644-648.
25. Kochakian, D.D.; Arimasa, N., *The metabolism in Vitro of Anabolic-Androgenic Steroids by Mammalian Tissues*, *Hdb. Exp. Pharmacol.* (1997). 43: 287-359.
26. Hernández, L. F., *Curso teórico de toxicología*, Capítulo 11, Facultad de Química, UNAM, México, 2001.
27. 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.
28. Iwasaki Otake, D., *Síntesis de 17 $\alpha$ -benzoiloxi-16 $\beta$ -metilpregna-4,6-dien-3,20-diona como un antiandrógeno esterooidal*, tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, 2000.
29. Sánchez huerta, N., D., *Síntesis de 17 $\alpha$ -butiriloxi-16 $\beta$ -metilpregna-4,6-dien-3,20-diona como un antiandrógeno esterooidal*, tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México 2000.
30. Calderón, D. Et. al. *Antiandrógenos más usuales. Reflexiones sobre la síntesis orgánica*, *Revista Mexicana de las Ciencias Farmacéuticas* (1997), 28: 24-29.
31. Budavari S., O'Neil M. *The Merck Index*, 12<sup>th</sup> edition. Published by Merck Research Laboratories. 1990.

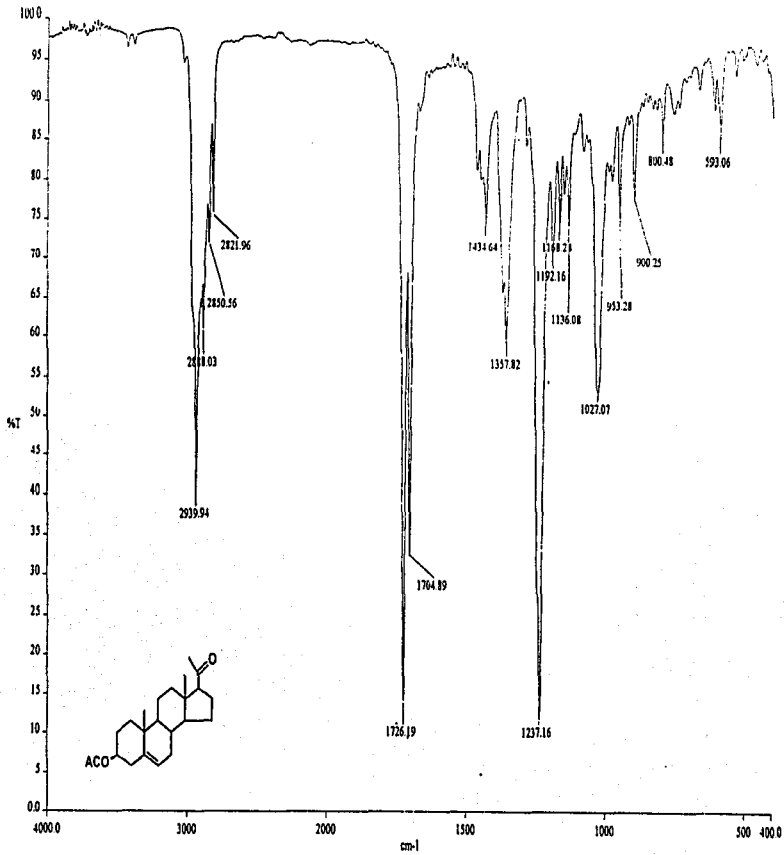
32. Bradford, M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microquantities of Protein, *Ann. Biochem* (1976), 72: 248.
33. Chang Y.C. and Prusoff W.H. Relationship between the inhibition constant ( $k_i$ ) and the concentration of inhibitor which causes 50 percent inhibition ( $IC_{50}$ ) of an enzymatic reaction, *Biochem. Pharmac.*(1973) 22:3099-3108.
34. Hansson V., Trygotad O. et al. *Nature* (1974), 250:387-390



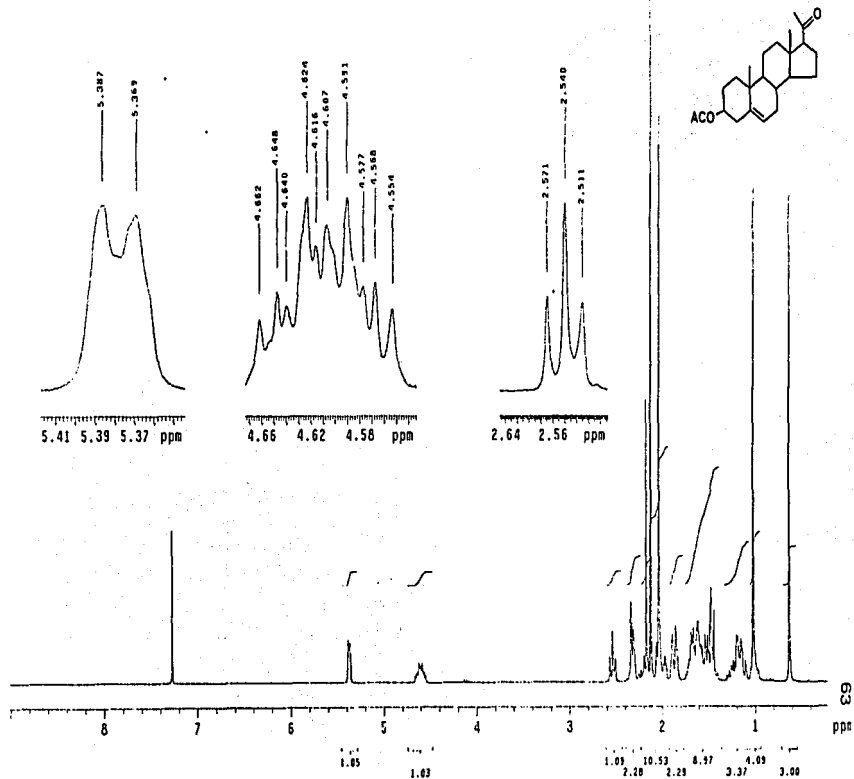
Espectro 1. IR de 3β-HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA



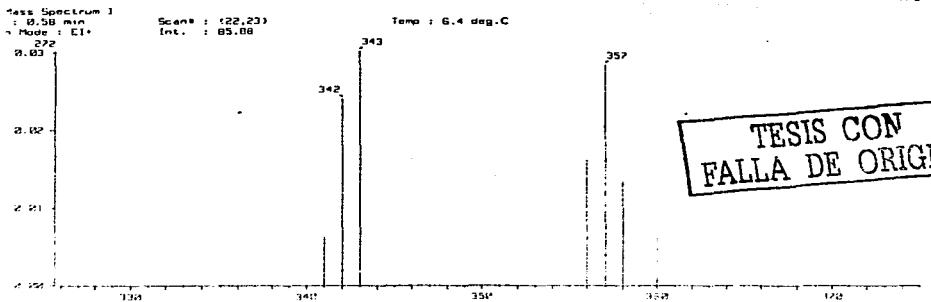
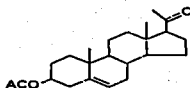
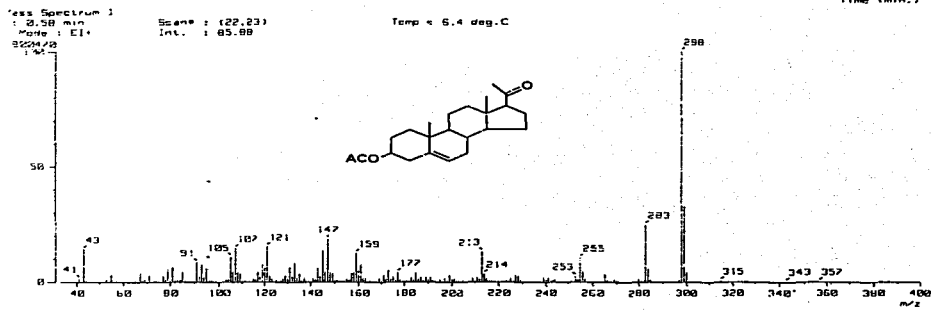
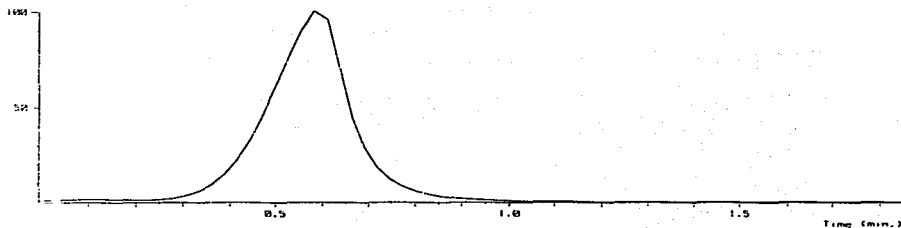
Espectro 2. RMN<sup>1</sup>H de 3β-HIDROXI-5-PREGNEN-20-ONA



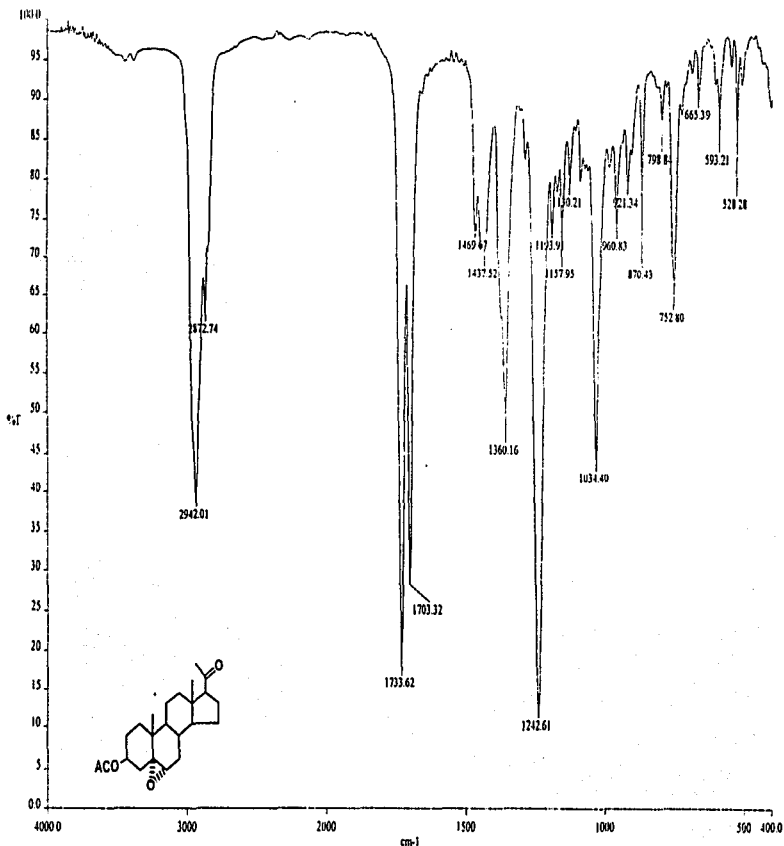
Espectro 3.IR de 3β-ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA



Espectro 4. RMN<sup>1</sup>H de 3β-ACETOXI-5-PREGNEN-20-ONA



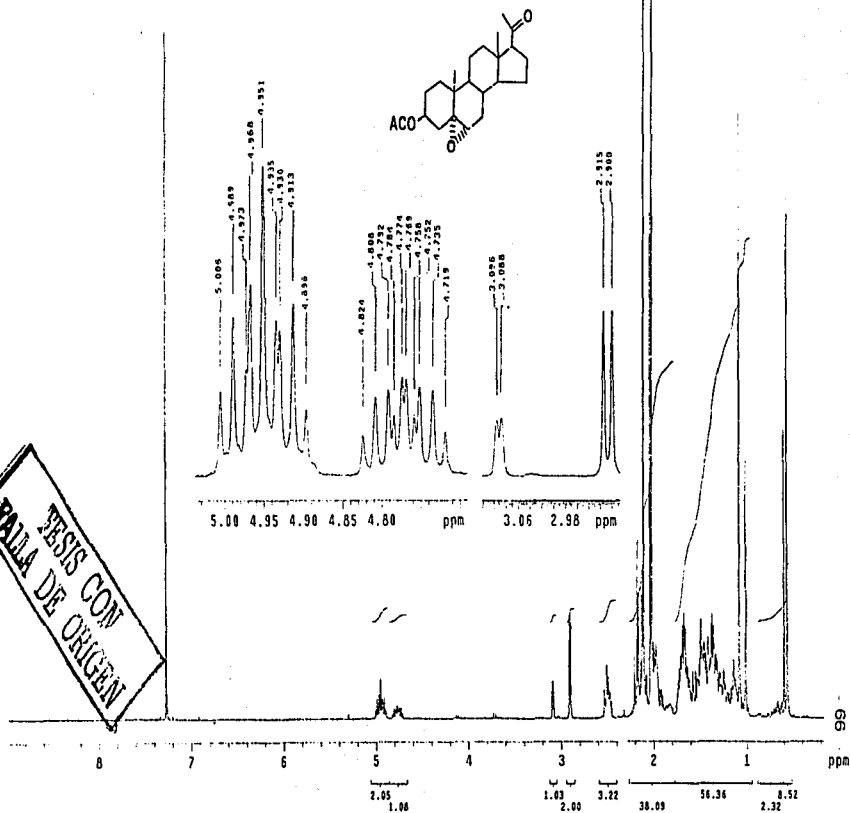
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



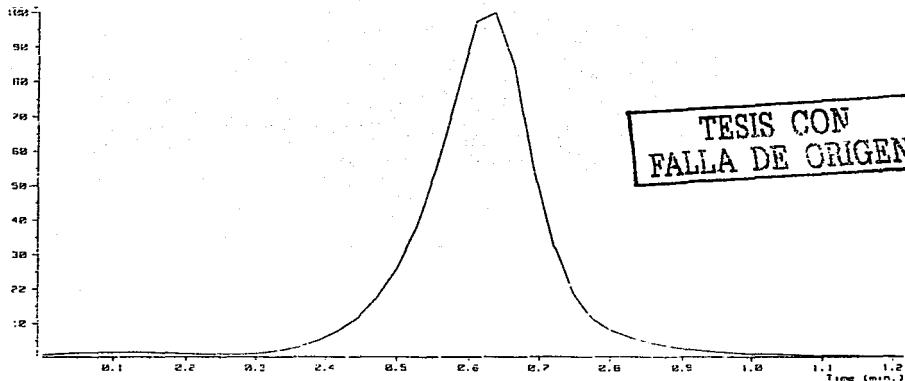
Spectro 6. IR de 3β -ACETOXI-5α,6α -EPOXI-PREGNAN-20-ONA



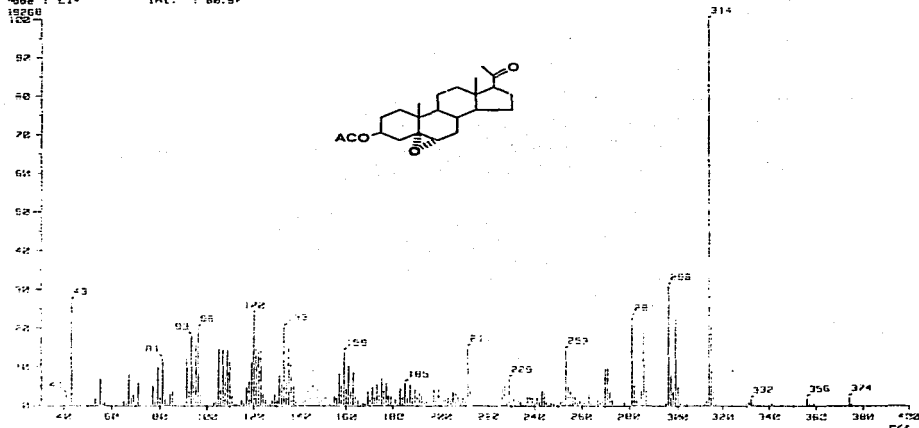
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

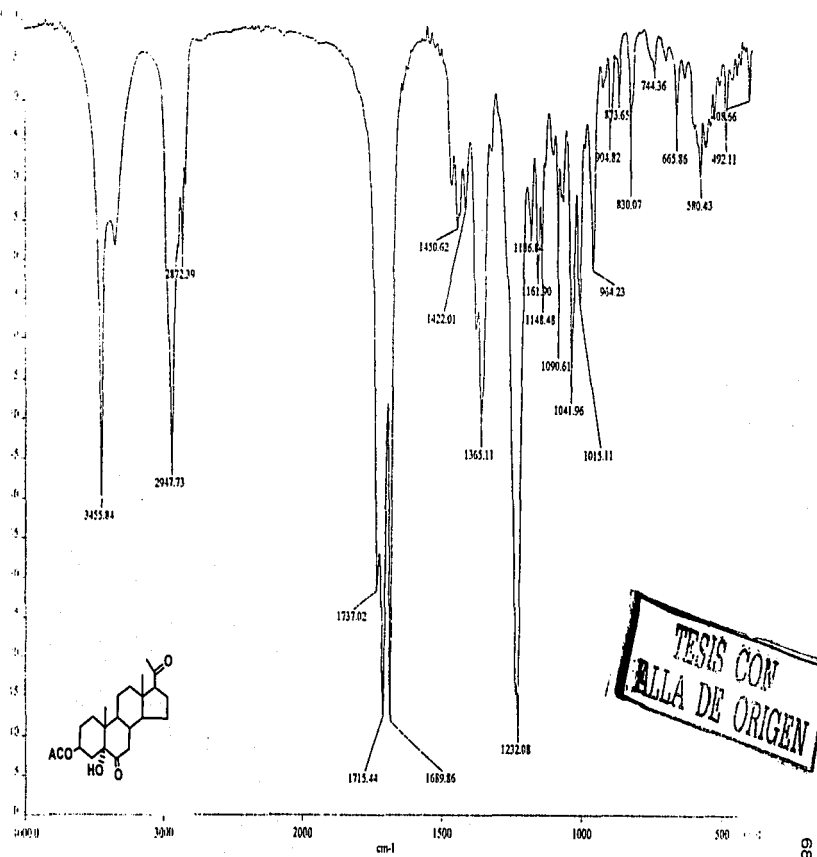


Espectro 7. RMN<sup>1</sup>H de 3β -ACETOXI-5α,6α -EPOXI-PREGNAN-20-ONA

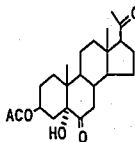
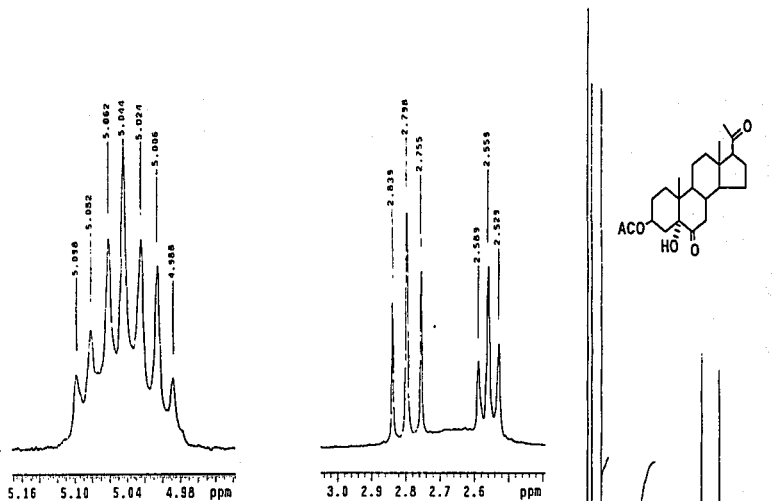


1% Spectrum 1  
2.61 min Scan: (23,24)-(16,12)-(32,32) Temp: 23.9 deg.C  
Mode: EI- Int.: 69.97

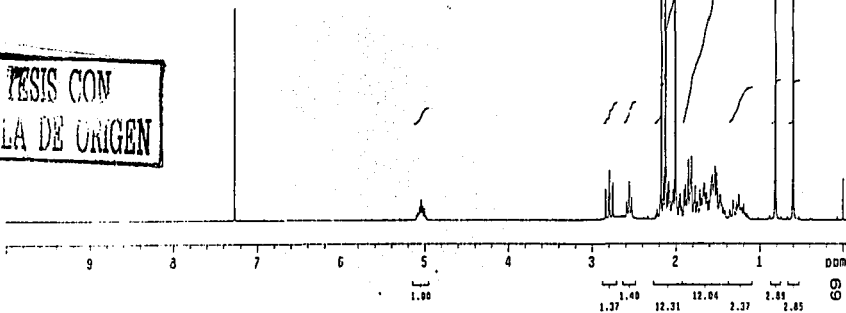




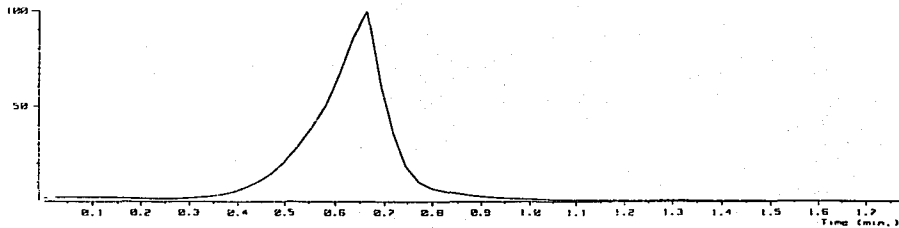
Espectro 9. IR de 3β -ACETOXI-5α-HIDROXIPREGNAN-6,20-DIONA



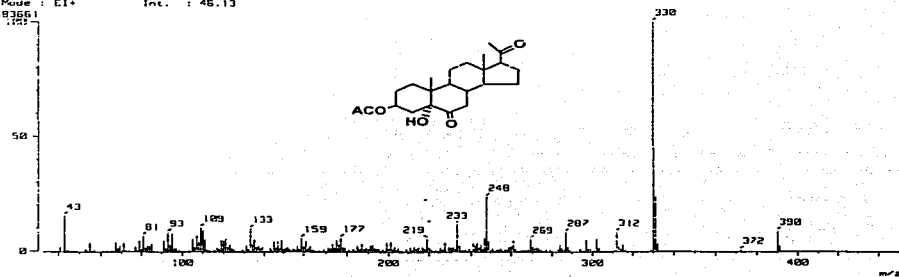
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



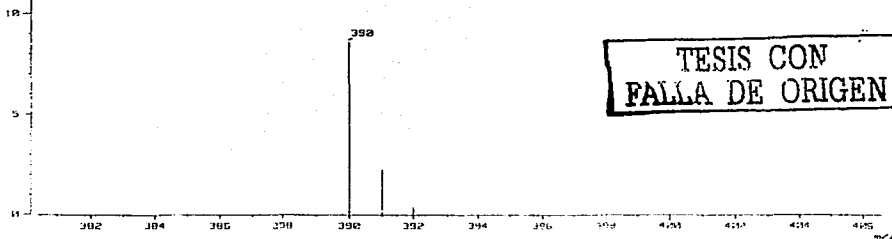
Espectro 10. RMN<sup>1</sup>H de 3 $\beta$ -ACETOXI-5 $\alpha$ -HIDROXIPREGNAN-6 $\alpha$ ,20-DIONA



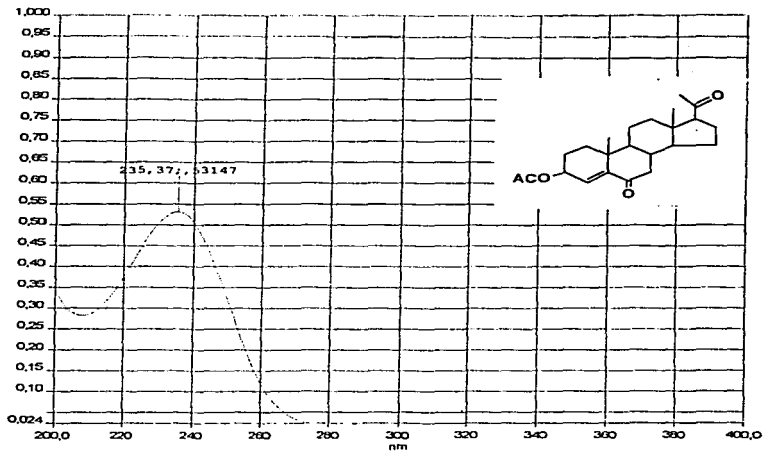
Mass Spectrum 1  
 Time : 0.64 min  
 Ion Mode : EI+  
 Scan : (24,25)  
 Int. : 46.13  
 Temp : 6.4 deg.C



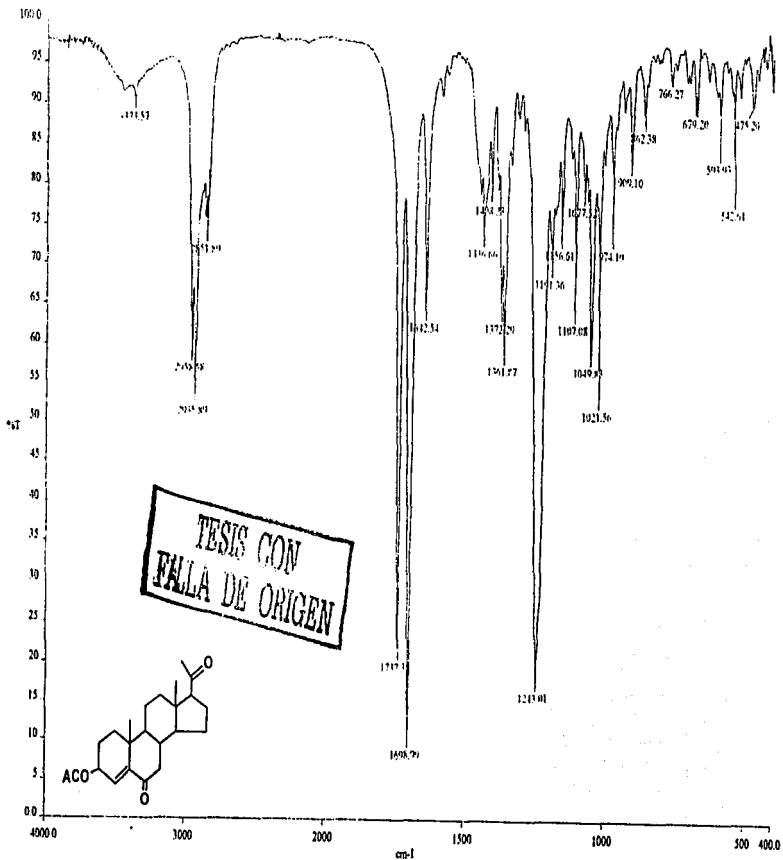
Mass Spectrum 1  
 Time : 0.64 min  
 Ion Mode : EI+  
 Scan : (24,25)-(45,55)  
 Int. : 46.13  
 Temp : 27.5 deg.C



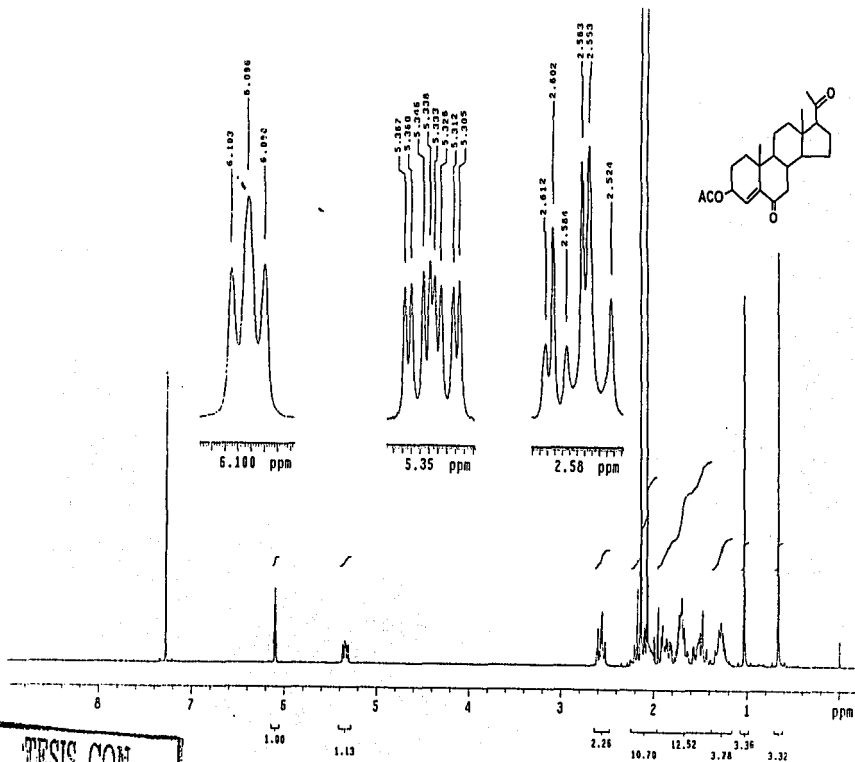
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



Espectro 12. UV de 3β- ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA



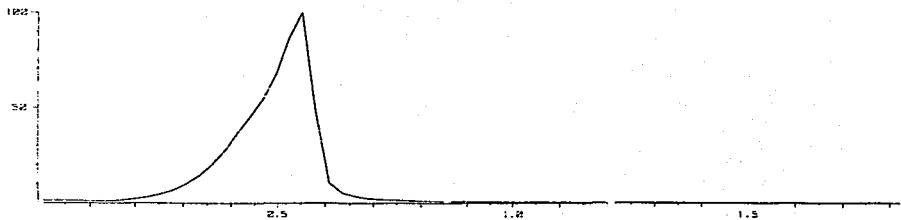
Spectro 13. IR de 3 $\beta$ -ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 14. RMN<sup>1</sup>H de 3β-ACETOXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA



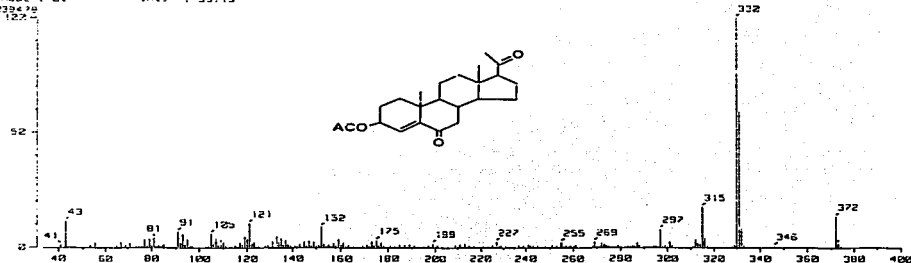


Mass Spectrum 1  
t: 0.53 min  
Ion Mode: EI+

Scan: (20,21)  
Int.: 99.13

Temp: 6.4 deg.C

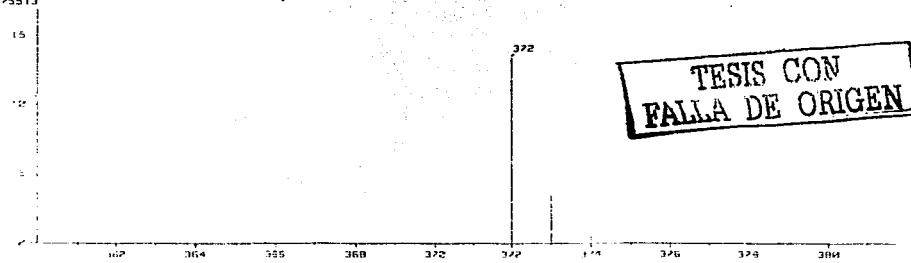
Time (min.)

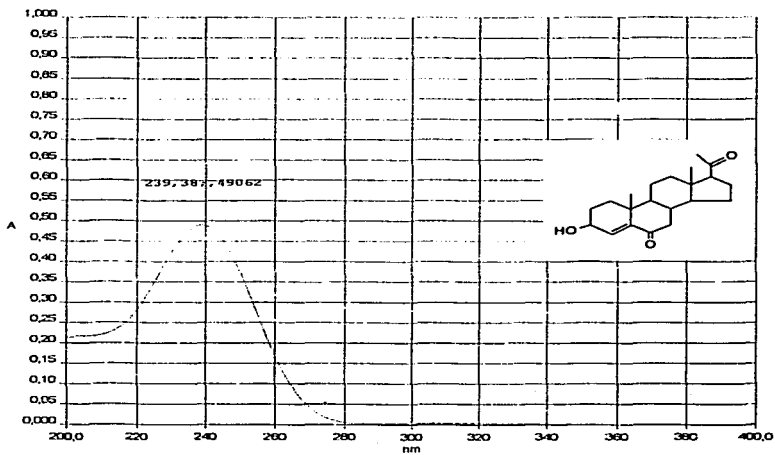


Mass Spectrum 1  
t: 0.53 min  
Ion Mode: EI+

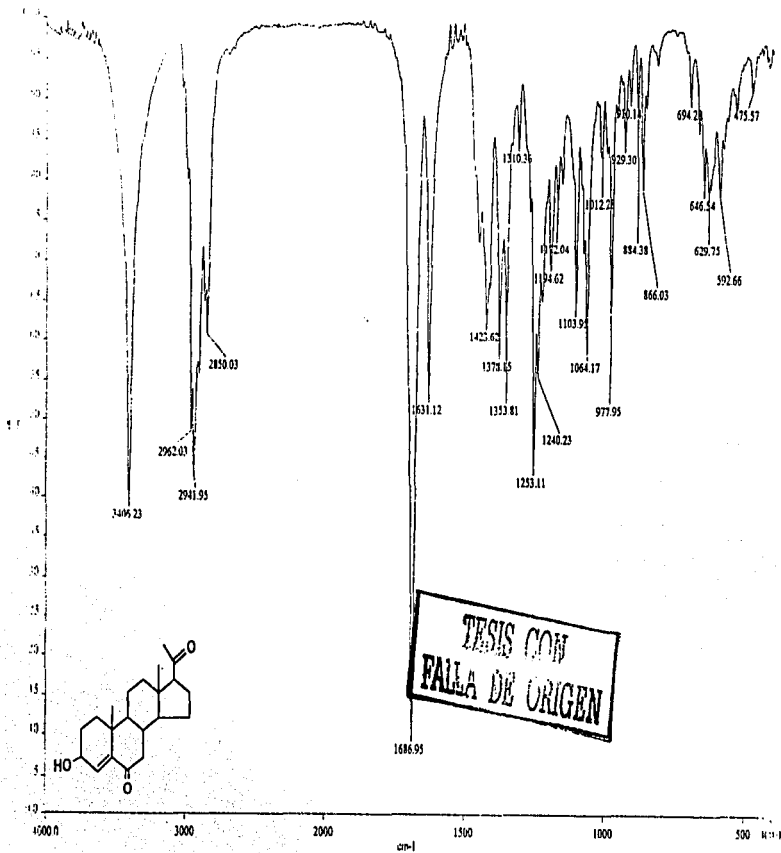
Scan: (20,21)  
Int.: 99.13

Temp: 6.4 deg.C

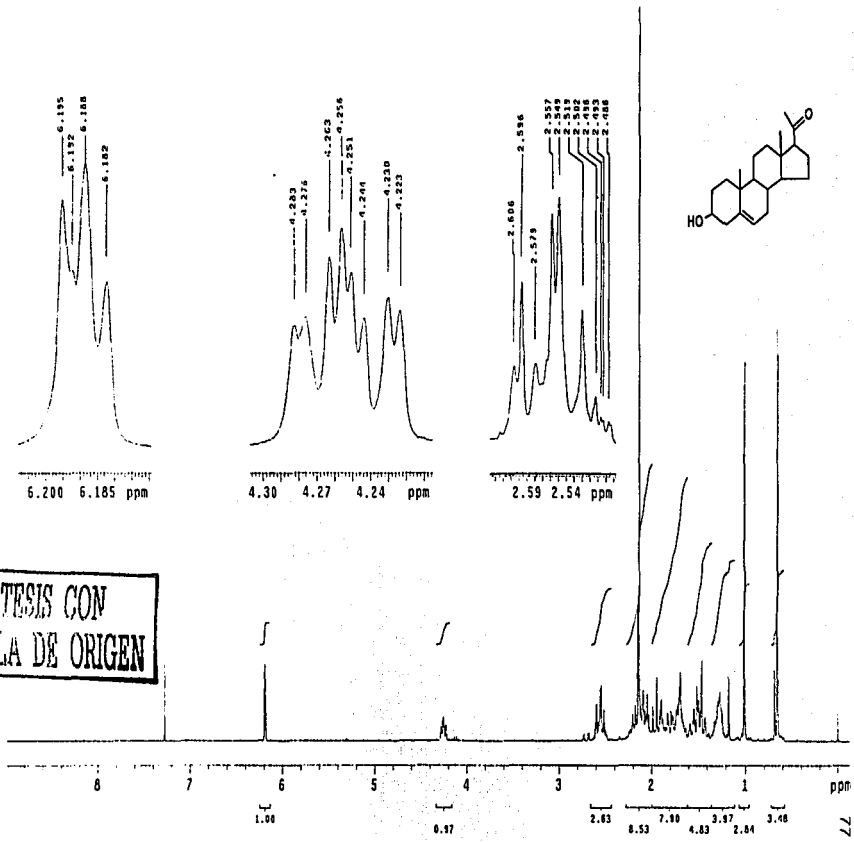




Espectro 16. UV de 3β -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA

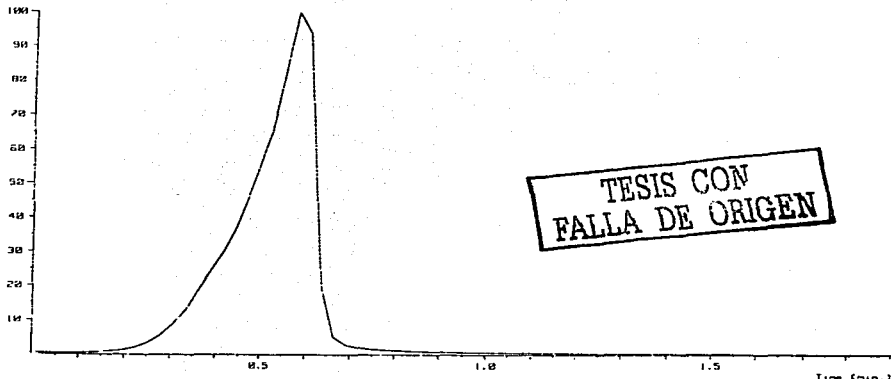


Espectro 17. IR de 3β -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 18. RMN<sup>1</sup>H de 3β -HIDROXI-4-PREGNEN-6,20-DIONA



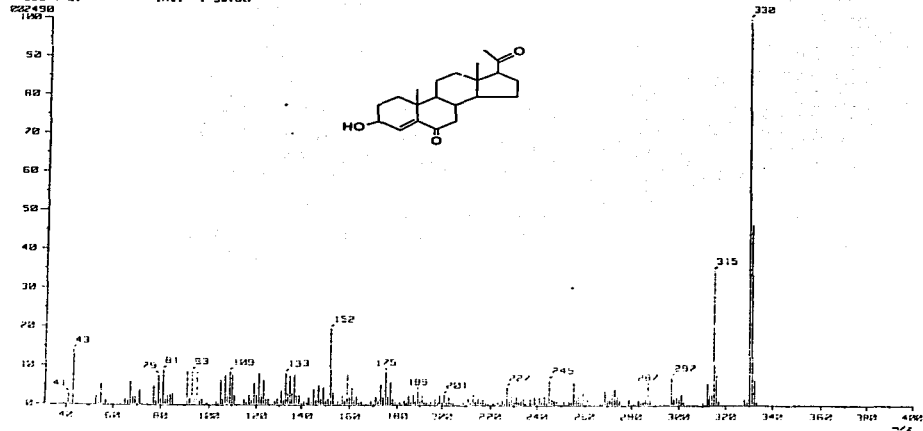
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

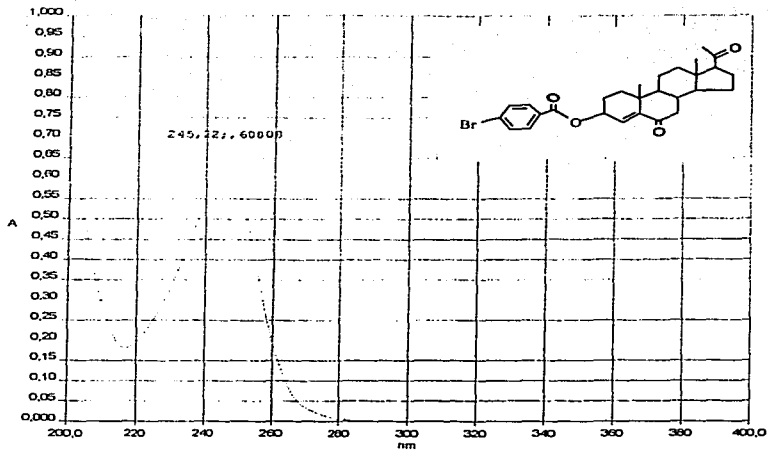
Mass Spectrum 1  
: 0.58 min  
Mode: EI\*

Scan: (21,23)  
Int.: 95.60

Temp: 5.4 deg.C

Time (min.)

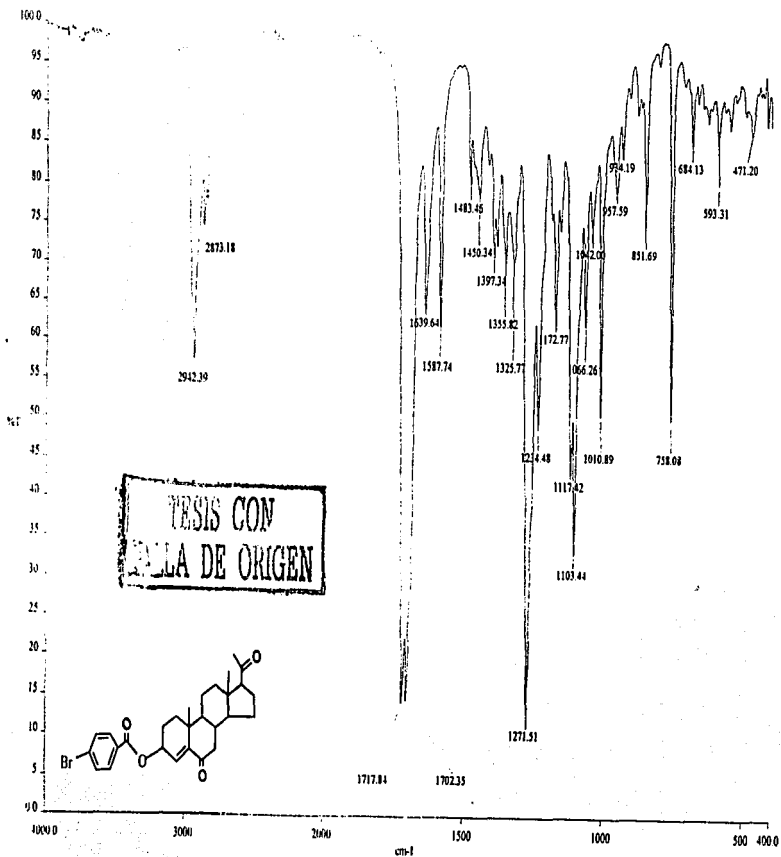




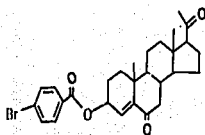
Espectro 20. UV de 3β-(p-BROMO-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

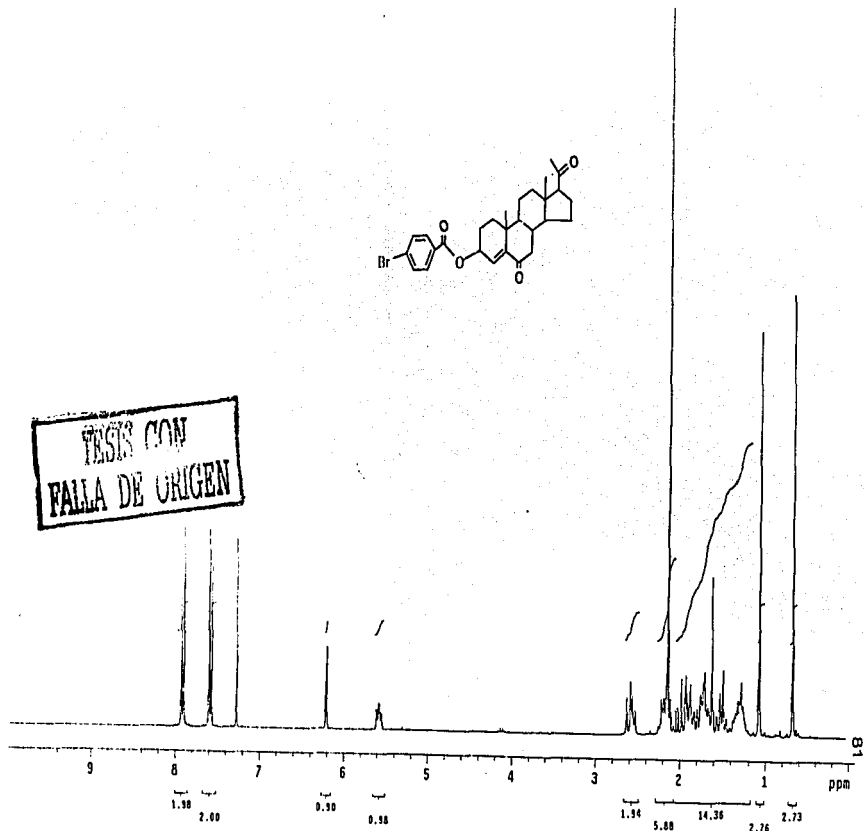
ESTA TESIS NO SE  
A REVISAR



Espectro 21. IR de 3β-(p-BROMO-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA

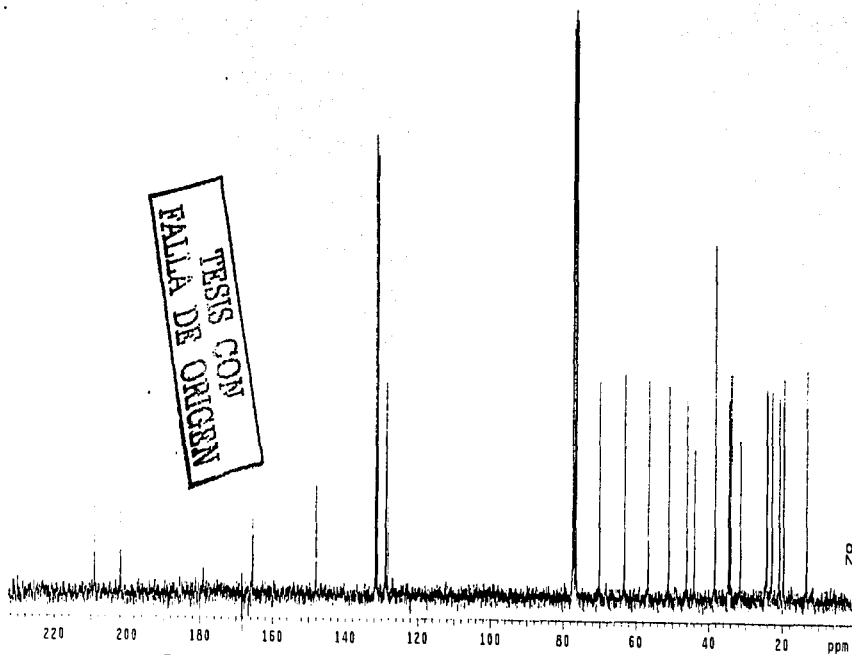
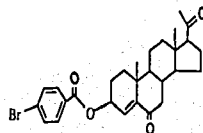


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



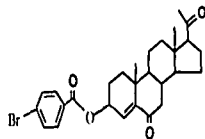
Espectro 22. RMN<sup>1</sup>H de 3β-(p-BROMO-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA





TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 23. RMN<sup>13</sup>C de 3β-(p-BROMO-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA



CH3 carbons



CH2 carbons



CH carbons



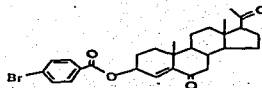
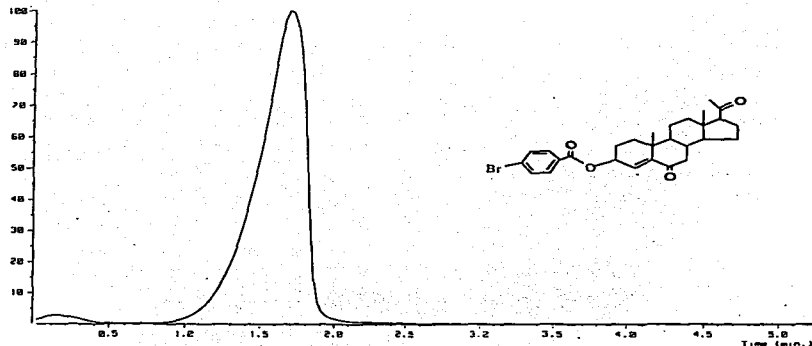
all protonated carbons



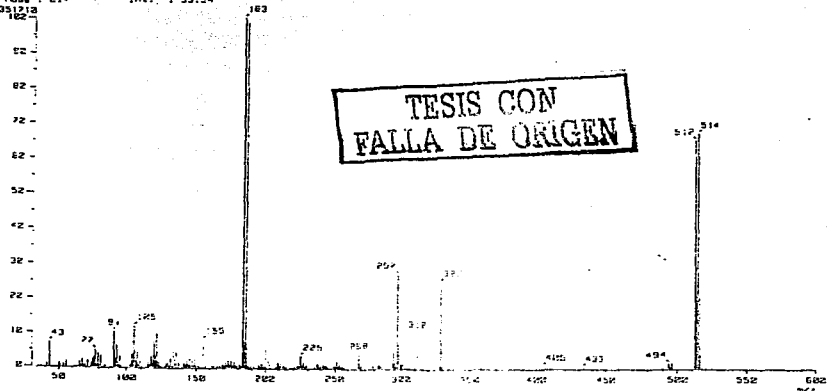
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

Espectro 24. RMN<sup>13</sup>C en versión DEPT de 3β-(p-BROMO-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA

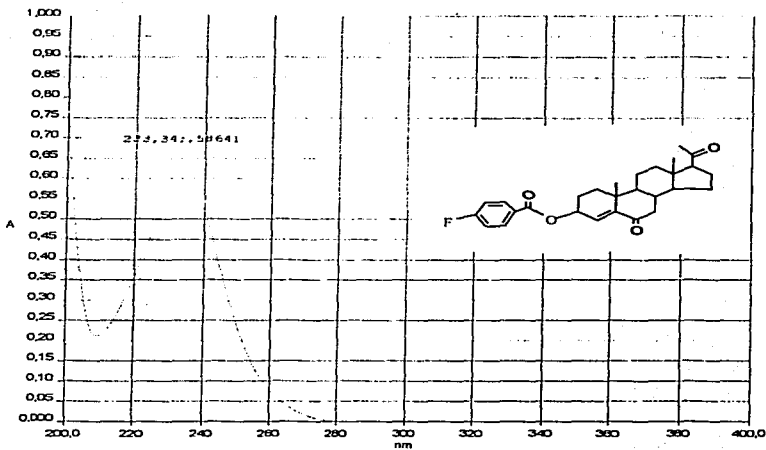
FARMACIA  
 TRUJILLO  
 FARMACIA LE CUIZEN



Mass Spectrum 1  
 T<sub>R</sub> : 1.58 min  
 Scan# : 162, 547-195, 1363-(4,25) Temp : 34.6 deg.C  
 Int. : 33.34



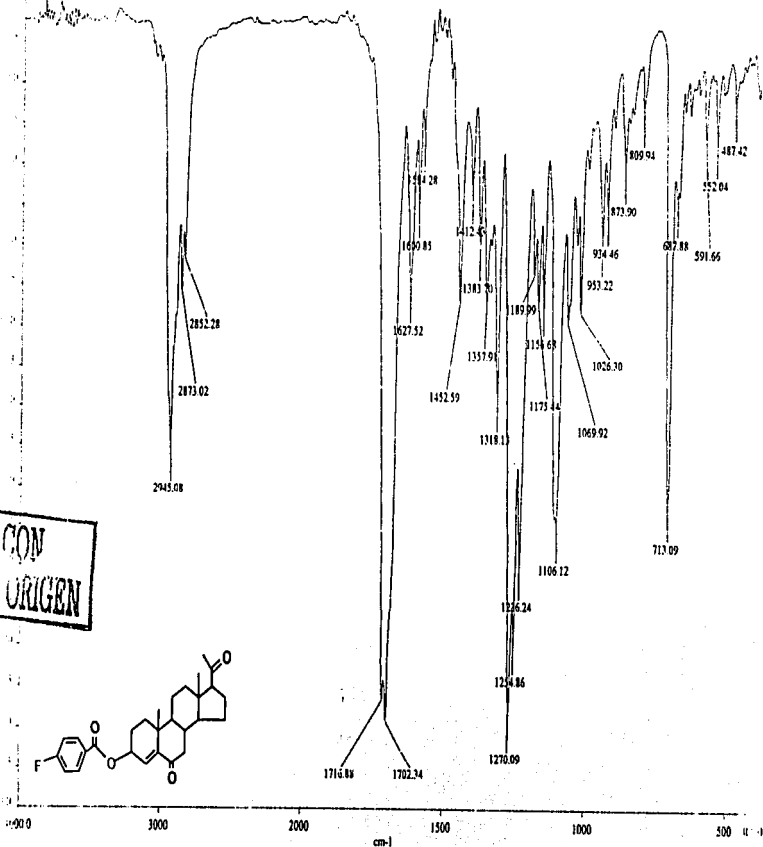
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



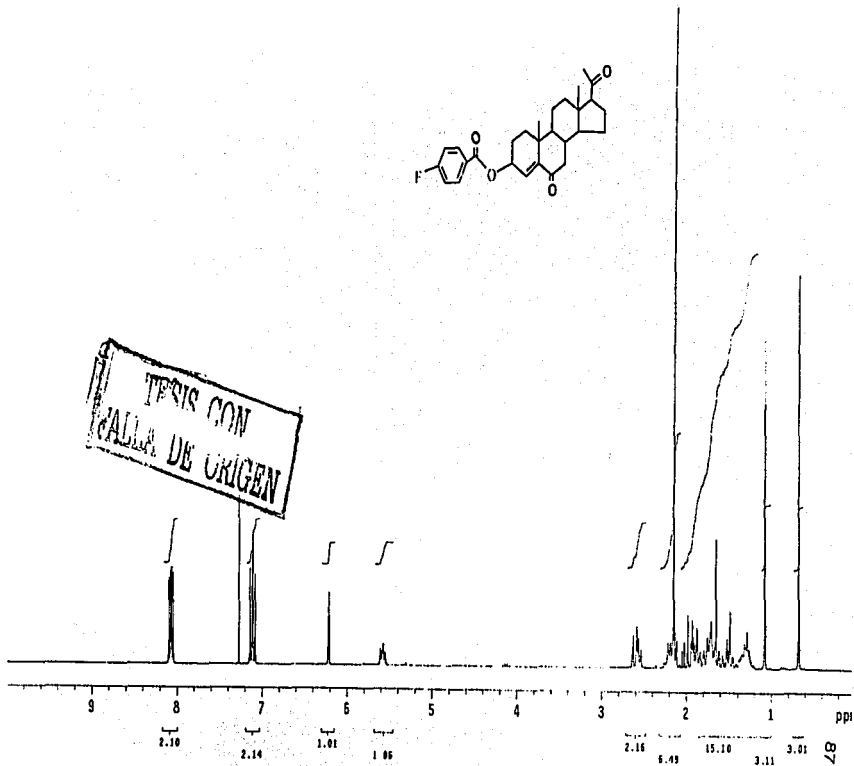
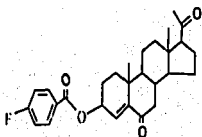
Espectro 26. UV de 3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

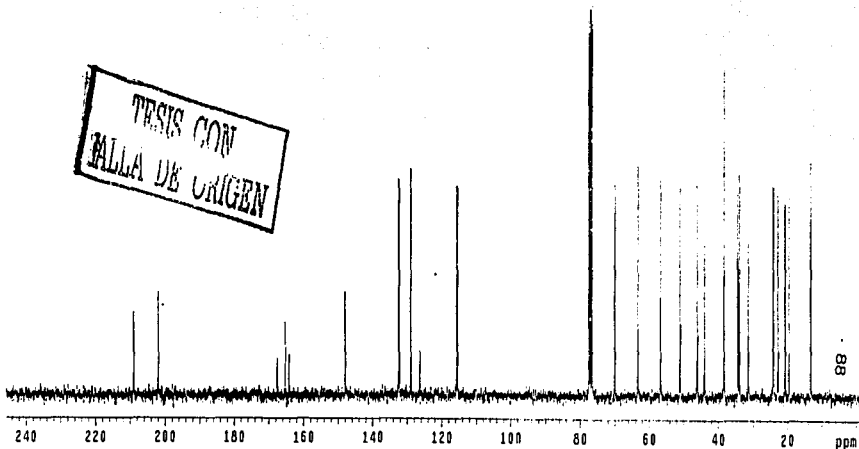
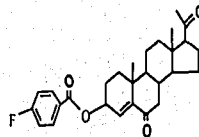
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



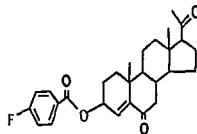
Espectro 27. IR de 3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA



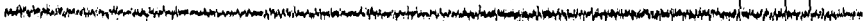
Espectro 28. RMN<sup>1</sup>H de 3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA



Espectro 29. RMN<sup>13</sup>C de 3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4-PREGNEN-6,20-DIONA



CH3 carbons



CH2 carbons



CH carbons



all protonated carbons



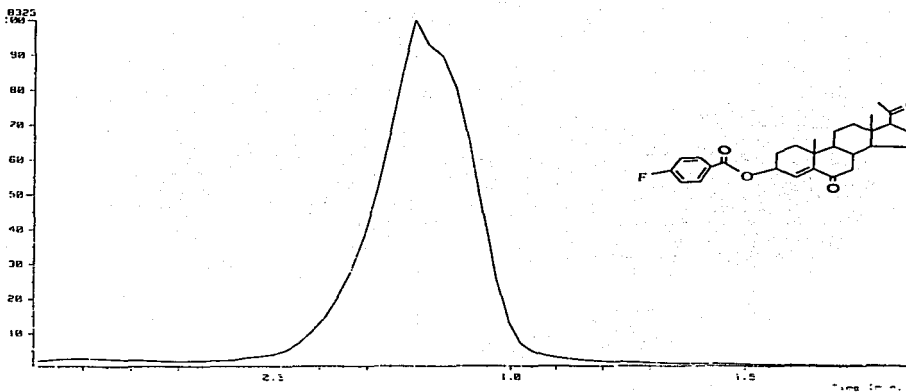
220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

CO

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 30. RMN<sup>13</sup>C en versión DEPT de 3β-(p-FLUOR-BENZOILOXI)-4- PREGNEN-6,20-DIONA





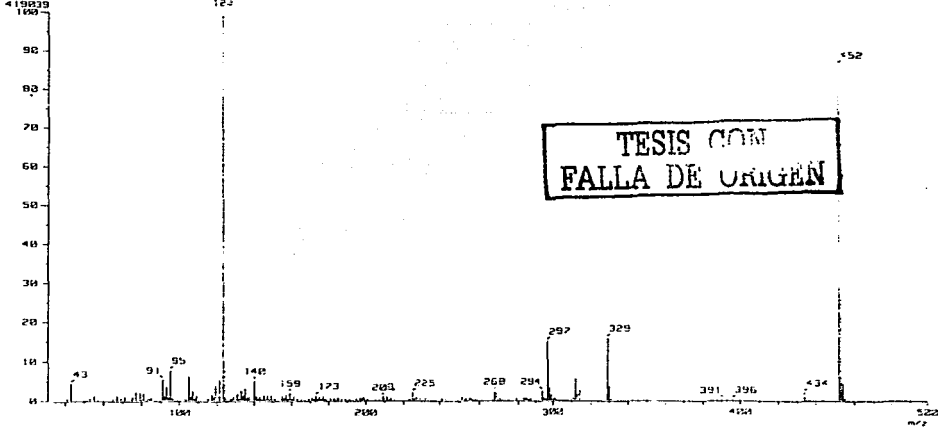
45% Spectrum 1

: 0.69 min  
Name: C1-

419930

Scan: 125,271-145,513  
Int.: 25,55

Temp: 25.8 deg.C



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN