



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS DE NUEVOS INHIBIDORES DE LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA
BASADOS EN EL ESQUELETO DEL PREGNANO CON UN ÉSTER ALIFÁTICO EN C-21”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

CRUZ NORIEGA ABIGAIL



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: María Alicia Hernández Campos

VOCAL: Profesor: Irene Sara Audelo Mendez

SECRETARIO: Profesor: Alejandra Chávez Riveros

1er. SUPLENTE: Profesor: Francisco Hernández Luis

2° SUPLENTE: Profesor: Eugene Bratoeff Titeff

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 125 DEL CONJUNTO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM

ASESOR DEL TEMA: ALEJANDRA CHÁVEZ RIVEROS

(nombre y firma)

SUPERVISOR TÉCNICO: EUGENE BRATOEFF TITEFF

(nombre y firma)

SUSTENTANTE: CRUZ NORIEGA ABIGAIL

(nombre y firma)

AGRADECIMIENTOS

A **CONACY** (número de becario 19214) por el apoyo económico otorgado dentro del proyecto CB-2011/165049, para la realización de la presente tesis.

A la **UNAM** y a la **Facultad de Química** por brindarme la mejor formación académica y la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.

A todo el personal de la **USAI** por la realización de la espectroscopia de IR, UV y RMN.

Al Dr. Eugene Bratoeff por brindarme la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación.

A la M. en C Alejandra Chávez Riveros por sus valiosas aportaciones a mi formación académica, paciencia demostrada y sobre todo amistad brindada.

A los miembros del jurado por las aportaciones y correcciones realizadas a la presente tesis.

A mi familia por todo el apoyo y comprensión, porque solo ellos saben lo que significa haber llegado hasta aquí.

A mis amigas de toda la vida, Vero, Ere, Gina, Haydi, Jess y Moni nunca me olvido de ustedes.

A los amigos y compañeros del lab 125; Ale, Tania, Aylin, Bere, Maru, Paco, Fonsy, Ivan, Sebastián, Eduardo por sus consejos y enseñanzas.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice de figuras y/o esquemas	III
Índice de tablas.....	IV
Índice de abreviaturas	V
Índice de espectros	VI
Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Antecedentes	3
2.1. Generalidades sobre la próstata	3
2.1.1. Andrógenos	3
2.1.2. Importancia de los andrógenos en el funcionamiento de la próstata	4
2.1.3. Testosterona	4
2.1.4. Dihidrotestosterona	5
2.2. Acción molecular de los andrógenos	5
2.2.1. Interacción con el receptor de andrógenos.....	6
2.3. Esteroides	7
2.4. Enfermedades andrógeno-dependientes relacionadas con la próstata	9
2.4.1. Hiperplasia prostática benigna.....	9
2.4.2. Cáncer de próstata.....	10
2.4.3. Antiandrógenos	10
2.4.4. Tratamientos	11
2.5. Enzima 5 α -reductasa	11
2.5.1. Mecanismo de acción de la enzima 5 α -reductasa.....	12
2.6. Inhibidores de la enzima 5 α -reductasa	13
2.6.1. Inhibidores esteroidales	14
2.7. Desarrollo de antiandrógenos esteroidales.....	15
2.7.1. Derivados del pregnano	15
2.7.2. Estudios previos	16
2.7.3. Importancia de la presencia de un carbonilo α,β -insaturado en derivados del pregnano	16
2.7.4. Importancia de los ésteres en la relación estructura-actividad biológica.....	18
Capítulo 3. Planteamiento del problema.....	19
Capítulo 4. Hipótesis	19
Capítulo 5. Objetivos.....	21
Capítulo 6. Desarrollo experimental.....	22
6.1. Síntesis química	24

6.1.1. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2).....	25
6.1.2. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3).....	26
6.1.3. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4)..	27
6.1.4. Reacciones de esterificación en C-21.....	28
6.1.4.1. Síntesis de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a).....	28
6.1.4.2. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-21-propionoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5b).....	29
6.1.5. Reacción de desprotección del alcohol en C-3 y el cetal de C-20.....	30
6.1.5.1. Síntesis de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a).....	30
6.1.5.2. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-5-pregnen-20-ona (6b).....	31
6.1.6. Reacción de eliminación del epóxido de C16 y C17.....	32
6.1.6.1. Síntesis de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a).....	32
6.1.6.2. Síntesis de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b).....	33
6.1.7. Reacción de epoxidación en el doble enlace de C5 y C6.....	34
6.1.7.1. Síntesis de 21-acetoxi-5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a).....	34
6.1.7.2. Síntesis de 5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-20-ona (8b).....	35
6.1.8. Reacción de oxidación del alcohol en C-5.....	36
6.1.8.1. Síntesis de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a).....	36
6.1.8.2. Síntesis de 5-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b).....	37
6.1.9. Reacción de eliminación del alcohol de C-5.....	38
6.1.9.1. Síntesis de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a).....	38
6.1.9.2. Síntesis de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b).....	39
Capítulo 7. Resultados y discusión de resultados	40
7.1. Síntesis química.....	40
7.1.1. Materia prima 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (1).....	41
7.1.2. Caracterización de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2).....	42
7.1.3. Caracterización de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3).....	43
7.1.4. Caracterización de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4).....	45
7.1.5. Caracterización de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a).....	46
7.1.6. Caracterización de los derivados 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a, 6b).....	46
7.1.7. Caracterización de derivados de 3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a, 7b).....	47
7.1.8. Caracterización de derivados de 5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a, 8b).....	49
7.1.9. Caracterización de derivados de 5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a, 9b).....	50
7.1.10. Caracterización de derivados de 4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a, 10b).....	51

Conclusiones	53
Perspectivas	54
Bibliografía	55
Anexos	59

ÍNDICE DE FIGURAS Y/O ESQUEMAS

Figura 2.1. Andrógenos involucrados en el funcionamiento de la próstata	3
Figura 2.2. Biosíntesis de andrógenos a partir de colesterol	4
Figura 2.3. Acción molecular de Testosterona (T) y dihidrotestosterona (DHT).....	6
Figura 2.4. Efectos de la DHT sobre la próstata.	7
Figura 2.5. Núcleo de ciclopenta[a]perhidrofenantreno	7
Figura 2.6. Estructura de algunos de los esqueletos de la serie α	8
Figura 2.7. Sitio de acción de los inhibidores de la enzima 5α -reductasa (5α -R)	12
Figura 2.8. Mecanismo de reducción de la T a DHT por acción de la enzima 5α -R.....	12
Figura 2.9. Estructura de los principales fármacos utilizados en el tratamiento de hiperplasia prostática benigna (HPB)	14
Figura 2.10. Estructura de derivados del acetato de 16-dehidropregnenolona reportados en la literatura	16
Figura 2.11. Derivados del acetato de 16-dehidropregnegnolona que presentan actividad inhibitoria de la enzima 5α -R	17
Esquema 6.1. Ruta sintética desarrollada.....	24
Figura 7.1. Estructura del acetato de 16-dehidropregnenolona.....	41
Figura 7.2. Estructura general de los intermediarios sintetizados 2-5	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Propiedades de las isoenzimas de la enzima 5 α -reductasa (5 α -R).....	12
Tabla 2.2. Ejemplos de inhibidores de enzima 5 α -R	13
Tabla 2.3. Valores de CI ₅₀ (nM) de algunos derivados del acetato de 16-dehidropregnenolona.....	17
Tabla 7. 1. Datos reportados de IR para el acetato de 16-dehidropregnenolona	41
Tabla 7.2. Señales de IR (cm ⁻¹) para los intermediarios 2-5	42
Tabla 7.3. Datos de RMN ¹³ C de los intermediarios 2-5	43
Tabla 7.4. Datos de RMN ¹ H de los intermediarios 2-5	44
Tabla 7.5. Señales de IR (cm ⁻¹) para los compuestos 6-10	47
Tabla 7.6. Datos de RMN ¹ H de los compuestos 6-8	48
Tabla 7.7. Datos de RMN ¹³ C de los compuestos 6-8	49
Tabla 7.8. Datos de RMN ¹ H de los compuestos 9-10	50
Tabla 7.9. Datos de RMN ¹³ C de los compuestos finales 9-10	51

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
Ácido m-CPB	Ácido m-cloroperoxibenzoico
AR	Receptor de andrógenos
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl₃	Cloroformo deuterado
CI₅₀	Concentración inhibitoria 50
DCC	<i>N,N</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCU	<i>N,N</i> -diciclohexilurea
DHT	5 α -dihidrotosterona
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
HCl	Ácido clorhídrico
HPB	Hiperplasia prostática benigna
HRE	Elementos de respuesta hormonal
HPS	Proteínas de choque térmico
17β-HSD3	17 β -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 3
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
MeOH	Metanol
mL	Mililitros
mmol	Milimol
mRNA	RNA mensajero
MHz	Mega Hertz
NADPH	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido
NaOH	Hidróxido de sodio
pCa	Cáncer de próstata
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
PSA	Niveles de antígeno prostático específico
5α-R	Enzima 5 α -reductasa
RMN ¹³C	Resonancia magnética de carbono 13
RMN ¹H	Resonancia magnética de protón
SAR	Relación estructura actividad
T	Testosterona
T.a	Temperatura ambiente
TBDMS	Cloruro de tertbutidimetilsililo
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
°C	Grado Celsius
d	Señal doble en RMN ¹ H
dd	Señal doble de doble en RMN ¹ H
m	Multiplete
s	Singulete
δ	Desplazamiento químico

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. IR de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2)	59
Espectro 2. RMN ^1H de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2)	59
Espectro 3. RMN ^{13}C de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2)	60
Espectro 4. IR de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3)	60
Espectro 5. RMN ^1H de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3)	61
Espectro 6. RMN ^{13}C de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3)	61
Espectro 7. IR de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4) ..	62
Espectro 8. RMN ^1H de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4)	62
Espectro 9. RMN ^{13}C de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4)	63
Espectro 10. IR de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a)	63
Espectro 11. RMN ^1H de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a)	64
Espectro 12. RMN ^{13}C de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a)	64
Espectro 13. IR de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a)	65
Espectro 14. RMN ^1H de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a)	65
Espectro 15. RMN ^{13}C de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a)	66
Espectro 16. IR de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-5-pregnen-20-ona (6b)	66
Espectro 17. RMN ^1H de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-5-pregnen-20-ona (6b)	67
Espectro 18. RMN ^{13}C de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-5-pregnen-20-ona (6b)	67
Espectro 19. IR de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a)	68
Espectro 20. RMN ^1H de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a)	68
Espectro 21. RMN ^{13}C de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a)	69
Espectro 22. UV de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a)	69
Espectro 23. IR de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b)	70
Espectro 24. RMN ^1H de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b)	70

Espectro 25. RMN ¹³ C de 3β-hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b)	71
Espectro 26. UV de 3β-hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b)	71
Espectro 27. IR de 21-acetoxi-5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a)	72
Espectro 28. RMN ¹ H de 21-acetoxi-5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a)	72
Espectro 29. RMN ¹³ C de 21-acetoxi-5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a)	73
Espectro 30. UV de 21-acetoxi-5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a)	73
Espectro 31. IR de 5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-20-ona (8b)	74
Espectro 32. RMN ¹ H de 5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-20-ona (8b)	74
Espectro 33. RMN ¹³ C de 5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-20-ona (8b)	75
Espectro 34. UV de 5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-20-ona (8b)	75
Espectro 35. IR de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a)	76
Espectro 36. RMN ¹ H de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a)	76
Espectro 37. RMN ¹³ C de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a)	77
Espectro 38. UV de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9a)	77
Espectro 39. IR de 5-hidroxi-21-acetoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b)	78
Espectro 40. RMN ¹ H de 5-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b)	78
Espectro 41. RMN ¹³ C de 5-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b)	79
Espectro 42. UV de 5-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b)	79
Espectro 43. IR de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a)	80
Espectro 44. RMN ¹ H de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a)	80
Espectro 45. RMN ¹³ C de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a)	81
Espectro 46. UV de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a)	81
Espectro 47. IR de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)	82
Espectro 48. RMN ¹ H de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)	82
Espectro 49. RMN ¹³ C de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)	83
Espectro 50. UV de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)	83

1. INTRODUCCIÓN

La enzima 5 α -reductasa (5 α -R) es la responsable de la conversión de testosterona (T) a su metabolito más activo, 5 α -dihidrotestosterona (DHT). Los niveles de concentración de estos esteroides en el organismo, principalmente del segundo, están implicados en enfermedades andrógeno-dependientes como son la hiperplasia prostática benigna (HPB) y el cáncer de próstata (pCa). Ambos padecimientos tienen una incidencia creciente y afectan a población masculina de edad avanzada.¹

Por tanto una diana farmacológica importante en la reducción de los niveles de DHT es la enzima 5 α -R, es por esta razón que se han desarrollado inhibidores de esta enzima, entre los que se encuentran la Finasterida y la Dutasterida, que ya se han utilizado en la práctica clínica. La Finasterida fue el primer inhibidor esteroide de la enzima 5 α -R aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) específico para la isoenzima tipo 2. En humanos disminuye los niveles de DHT prostática en un 70%-90%, reduciendo el tamaño de la próstata. La Dutasterida es un inhibidor competitivo de ambos tipos de isoenzimas, reduciendo los niveles de DHT en más de 90%.²

Estas propiedades farmacoterapéuticas, así como el hecho de que estos compuestos también pueden ser incluso beneficiosos en la prevención de HPB, y por otra parte debido a los efectos adversos que presentan, es que existe la necesidad de una búsqueda continua para el desarrollo de nuevos inhibidores de la enzima involucrada en la biogénesis de DHT.³

Para el desarrollo de nuevos inhibidores de la enzima 5 α -R, más efectivos y selectivos que los fármacos de referencia se ha recurrido al estudio del mecanismo de acción de la enzima, así como a estudios de relación estructura-actividad (SAR), que para el caso de estructuras esteroidales pueden ser derivados del androstano o del pregnano.⁴

En el presenten trabajo se muestra la síntesis de dos compuestos finales derivados del pregnano, (pregna-4,6-dien-3,6,20-triona) con un grupo éster

alifático de uno y dos carbonos en C-21. La presencia de estas tres conjugaciones en el núcleo esteroidal en C-3, C-6 y C-20 conferirán la capacidad de inhibir a la enzima 5 α -R y el grupo éster mejorará propiedades farmacocinéticas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades sobre la próstata

Las funciones fisiológicas y patológicas de la próstata al igual que todas las demás glándulas endócrinas, están reguladas por numerosas hormonas endógenas y factores de crecimiento.

La próstata es una glándula del sistema reproductor que se encuentra debajo de la vejiga y rodea la parte superior de la uretra, su función principal junto con las vesículas seminales y los testículos es la formación de semen. Es un órgano dependiente de andrógenos, debido a que estas hormonas son esenciales para su funcionamiento y crecimiento. En la próstata la enzima 5 α -R juega un papel muy importante, ya que transforma la T a DHT (figura 2.1), la cual envía una señal a este órgano para que crezca.

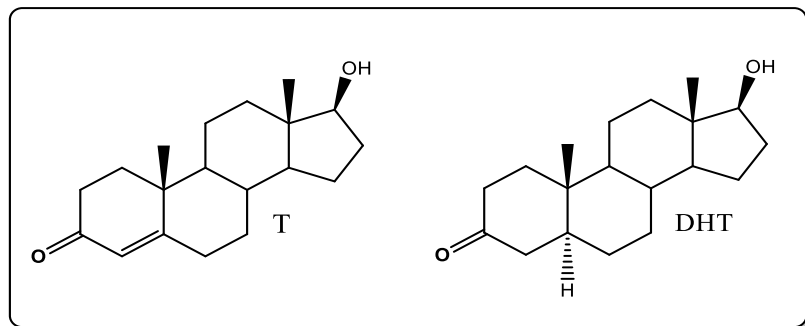


Figura 2.1. Andrógenos involucrados en el funcionamiento de la próstata.

Las dos patologías andrógeno-dependientes que se presentan en esta glándula son la HPB y el pCa.⁵

2.1.1. Andrógenos

Los andrógenos son compuestos derivados del esqueleto esteroide androstano, promueven el desarrollo de los caracteres sexuales primarios y secundarios en los varones. Cerca de 90% a 95% se producen en los testículos y el porcentaje restante se sintetiza en las glándulas suprarrenales.

Los principales andrógenos producidos son la T y la DHT, siendo el primero el principal andrógeno presente en el plasma de los hombres y el segundo su metabolito más activo. Éstas hormonas androgénicas en particular la T y la DHT ejercen sus efectos en la próstata a través de su unión al receptor de andrógenos (AR).⁶

2.1.2. Importancia de los andrógenos en el funcionamiento de la próstata

Se requieren ciertos niveles de andrógenos para el mantenimiento de la función estructural, crecimiento e integridad del tejido de la próstata. Sin embargo los andrógenos tienen un efecto directo sobre las células epiteliales de esta glándula, ya que aumentan la producción de muchos factores de crecimiento, a través de una compleja interacción que involucra a las células prostáticas epiteliales y del estroma. Los andrógenos testiculares constituyen el factor mitogénico más importante en la próstata.⁷

2.1.3. Testosterona

La T es una hormona esteroidea sintetizada a partir de colesterol (figura 2.2), esta síntesis se lleva a cabo principalmente en los testículos por las células de Leydig, pero también se libera de las glándulas suprarrenales. La T posteriormente es tomada de la circulación sistémica por las células glandulares y estromales prostáticas.⁸

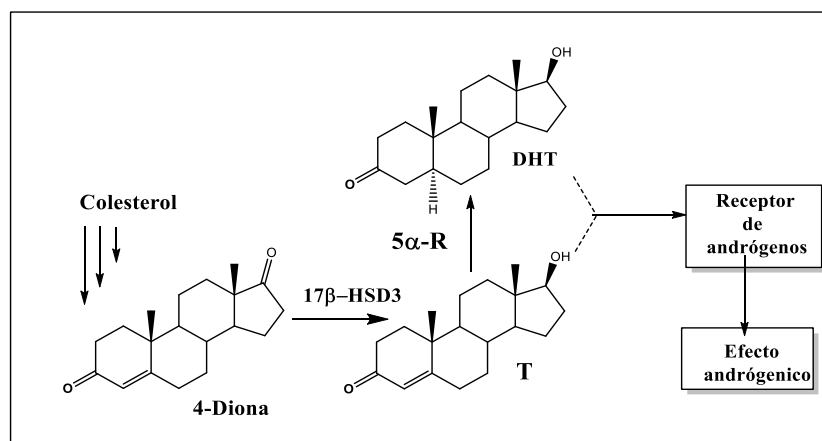


Figura 2.2. Biosíntesis de andrógenos a partir de colesterol.⁸

Una vez dentro de la próstata, la T por acción de la enzima 5 α -R, se convierte rápida e irreversiblemente en DHT. Esto conduce a una concentración de DHT intracelular cinco veces mayor en comparación con la T en las células de la próstata. Lo anterior, así como su mayor afinidad hacia el AR, apoyan la importancia de la enzima encargada de su biogénesis en la fisiología y patología de la próstata.⁹

2.1.4. Dihidrotestosterona

La DHT es un potente andrógeno producido en ciertos órganos blanco por la enzima 5 α -R a partir de la T. Es esencial en eventos fisiológicos tales como en la diferenciación sexual, así como en el desarrollo y crecimiento de la próstata.

La concentración intracelular de DHT excede a la de T; sin embargo la producción excesiva de ésta es la causa principal de muchos trastornos relacionados con andrógenos, tales como pCa, HPB, acné.¹⁰

2.2. Acción molecular de los andrógenos

Las cascadas de señalización de andrógenos implica como primer paso la síntesis de la T, seguido de su transportación. Este proceso ocurre generalmente por la salida de la T del testículo, hacia la circulación sistémica en donde se une a proteínas específicas lo que provoca que se reduzca su biodisponibilidad.

Sin embargo para que la T pueda ejercer su efecto debe estar en su forma libre, ya que esta forma es la única capaz de atravesar la membrana celular y alcanzar así a su receptor intracelular.¹⁰ Se estima que entre el 2-3% del total de la hormona existe en su forma libre y mediante un proceso de difusión pasiva ingresa al interior de la célula, provocando los efectos androgénicos por los siguientes mecanismos:^{10,11}

- Sin ser metabolizada, la T se une directamente al AR con la consiguiente modulación de genes en las células diana.

- Es reducida por la enzima 5 α -R, utilizando el cofactor NADPH (forma reducida del fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido) a DHT, la cual se une con una mayor afinidad al AR, amplificándose su efecto androgénico.

En cualquier caso los complejos T-receptor ó DHT-receptor son transferidos al núcleo de la célula para unirse así a secuencias del ADN altamente específicas que se conocen como elementos de respuesta hormonal (HRE). La fijación de dichos complejos hormonales puede por tanto estimular o suprimir la activación de genes adyacentes a los HRE (figura 2.3), aumentando la transcripción y en consecuencia la expresión de proteínas que modulan la función celular.¹⁰

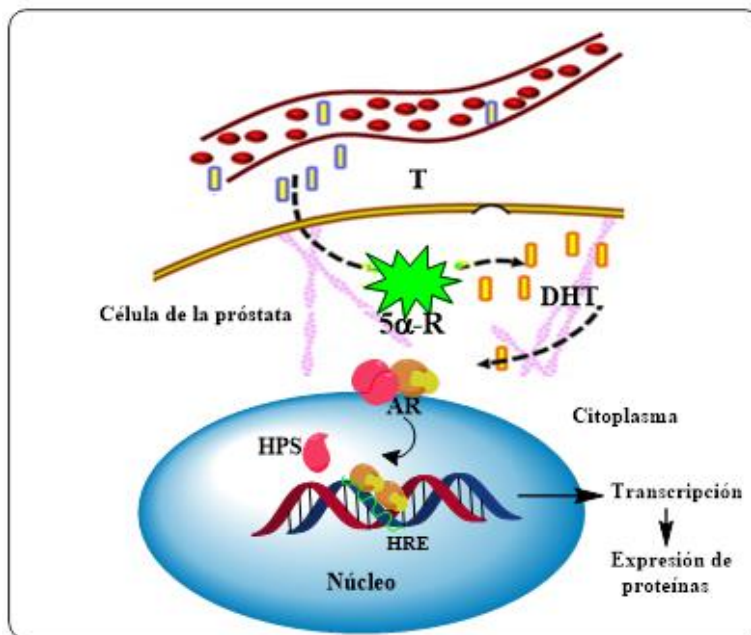


Figura 2.3. Acción molecular de T y DHT .¹²

2.2.1. Interacción con el receptor de andrógenos

Después de la conversión, la DHT se une al AR causando la disociación de proteínas de choque térmico (HPS), permitiendo entonces la translocación del AR en el núcleo. Tras la unión de los HRE en presencia de proteínas coactivadoras ocurre la activación transcripcional de los genes diana, que van a incurrir finalmente en la expresión de proteínas.¹²

Cabe mencionar que tanto la T como la DHT pueden unirse al AR, pero esta última se une con mayor afinidad, amplificando el mecanismo antes mencionado, con la consiguiente activación de genes implicados en el crecimiento celular y la supervivencia (figura 2.4).¹³

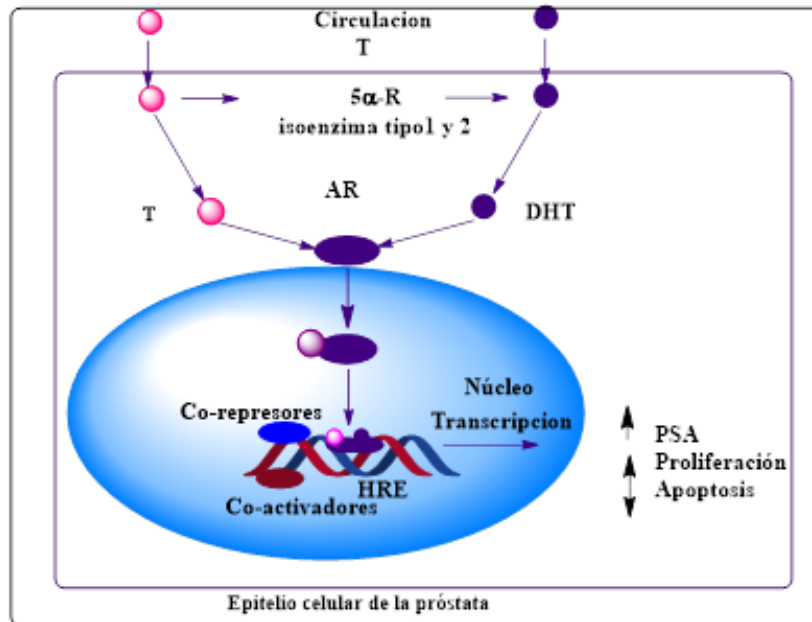


Figura 2.4. Efectos de la DHT sobre la próstata.¹³

2.3. Esteroides

Los esteroides son derivados del colesterol, de naturaleza lipídica, que se caracterizan por poseer en su estructura el núcleo de ciclopenta[a]perhidrofenantreno (figura 2.5).¹⁴

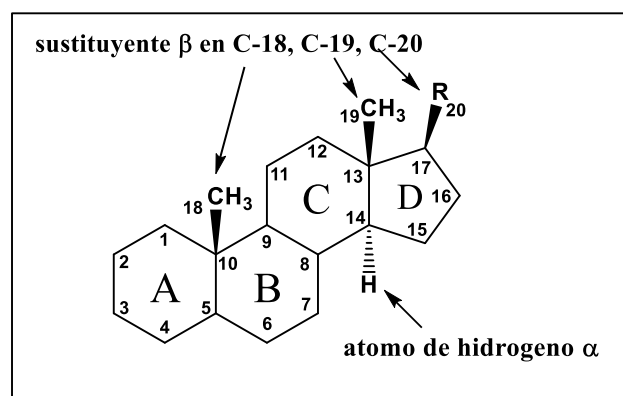


Figura 2.5. Núcleo de ciclopenta[a]perhidrofenantreno. (R= cadena lateral)

Los nombres de los esteroides se designan como derivados de algunos de los esqueletos mostrados en figura 2.6 y varían principalmente en los sustituyentes que presentan en la posición 21, así como de la estereoquímica α y β de los hidrógenos o metilos.¹⁵

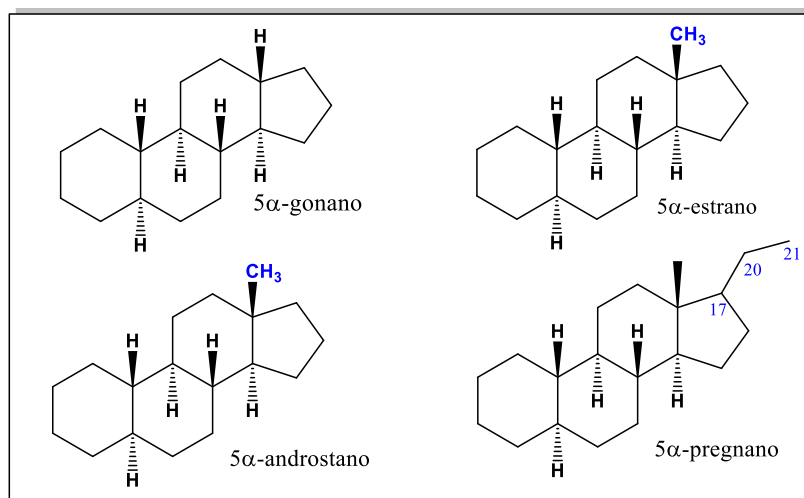


Figura 2.6. Estructura de algunos de los esqueletos de la serie α .¹⁵

Las características funcionales de las moléculas esteroidales están determinadas por la conformación de sus anillos (A, B, C, D) y la posición relativa de sus grupos funcionales en el espacio.

Dentro de los esteroides podemos encontrar a las hormonas esteroidales, cuyo papel en el organismo es de actuar como mensajeros químicos, ya que son sintetizadas en glándulas del organismo, para ser llevadas posteriormente al torrente sanguíneo hacia tejidos objetivo y estimular o inhibir algún proceso.

Se clasifican de acuerdo a su función biológica en:¹⁶

- Glucocorticoides (esenciales para la adaptación al estrés).
- Mineralocorticoides, que regulan el equilibrio normal de Na^+ y K^+ .
- Progestinas cuya función principal es para el mantenimiento y regulación del embarazo.
- Hormonas sexuales, estrógenos y andrógenos que definen las características sexuales masculinas y femeninas respectivamente.

2.4. Enfermedades andrógeno-dependientes relacionadas con la próstata

Los andrógenos desempeñan un papel esencial en el desarrollo, crecimiento y función de la próstata y por ende en la patogénesis de enfermedades de esta glándula, particularmente en HPB y pCa. Ambas condiciones son progresivas y son comunes en hombres de edad avanzada, con morbilidad y mortalidad significativas.

El manejo clínico de tales enfermedades implica varias estrategias, siendo una de ellas la inhibición de las enzimas clave implicadas en la biosíntesis de andrógenos tales como la enzima 5 α -R.¹⁷

2.4.1. Hiperplasia prostática benigna

La más común de estas enfermedades es la HPB cuya incidencia en hombres está relacionada íntimamente con la edad. Puede definirse como un crecimiento no canceroso de la próstata debido a que involucra el crecimiento anormal de las células del estroma y el epitelio prostático, que tienen como consecuencia la pérdida gradual de la función de la vejiga y el vaciado incompleto de ésta.

Con respecto a la progresión de la enfermedad, se puede mencionar un aumento del volumen de la próstata entre otros signos característicos, que tiene como consecuencia final la necesidad de una cirugía; es además la neoplasia benigna más común que se presenta en el hombre.¹⁸

La etiología exacta de HPB no se comprende aun completamente, sin embargo ésta patología se ha asociado con niveles plasmáticos elevados del andrógeno DHT. Por lo tanto una estrategia valiosa para su tratamiento es la reducción de los niveles de DHT, mediante la inhibición de su producción biosintética.

Una diana farmacológica importante en la reducción de los niveles de DHT es la enzima 5 α -R, es por esta razón que se han desarrollado inhibidores de esta enzima, entre los que se encuentran la Finasterida y la Dutasterida que ya se han utilizado en la práctica clínica. De hecho estudios clínicos han revelado que los

inhibidores de la enzima 5α -R conducen a una reducción del volumen prostático y una disminución de los niveles de antígeno prostático específico (PSA), así como una mejora en la tasa de flujo urinario.¹⁹

2.4.2. Cáncer de próstata

El pCa representa alrededor del 29% de casos de cáncer y es la segunda causa de muerte en hombres después del cáncer de pulmón.²⁰ A saber, la DHT es el principal andrógeno intracelular en la próstata y se han relacionado sus niveles como un papel clave en el desarrollo y progresión de pCa, a través de su interacción con el AR.

Para encontrar una cura más selectiva contra este cáncer andrógeno-dependiente, la búsqueda se ha centrado en algunas enzimas clave que catalizan la biosíntesis de andrógenos, las cuales están involucradas en los últimos pasos de formación de andrógenos.²¹ Los inhibidores de estas enzimas pueden ser utilizados por consiguiente como un enfoque terapéutico para el pCa.

2.4.3. Antiandrógenos

Entre los métodos disponibles para el tratamiento de diversos padecimientos andrógeno-dependientes se encuentran los antiandrógenos. Los antiandrógenos son moléculas que evitan que los andrógenos expresen su actividad en sus células blanco y presentan además menos efectos secundarios que los causados por otros tratamientos. Para lograr su acción terapéutica pueden seguir en general cualquiera de los siguientes mecanismos:

- Bloquear la síntesis de los andrógenos, a nivel de la biosíntesis del esteroide; por ejemplo evitando la conversión de la T a su metabolito más activo la DHT. Lo cual sucede por inactivación de la enzima 5α -R.
- Competir con el receptor androgénico al formarse un complejo antiandrógeno-receptor en lugar de formar el complejo andrógeno-receptor. Sin embargo para que un antiandrógeno pueda competir con el receptor

androgénico, su afinidad de unión al mismo debe ser similar o mayor al que presenta la T.²²

2.4.4. Tratamientos

Las opciones de tratamientos para la HPB implican terapias de combinación con hormonas, y métodos quirúrgicos. Su uso va a depender del grado de progresión de la enfermedad, así como de cada paciente. La estrategia terapéutica más frecuente incluye la utilización de antiandrógenos, como son los antagonistas de receptores α 1-adrenérgicos (alfuzosin, tamsulosin) e inhibidores de la enzima 5 α -R.²³

Entre los inhibidores de la enzima 5 α -R, se encuentran la Dutasterida y la Finasterida, siendo el segundo el fármaco de elección. La Finasterida es un azaesteroide inhibidor competitivo y específico de la enzima; bloquea por tanto la transformación de T a DHT y disminuye los síntomas de la HPB. Sin embargo su uso es prolongado y presenta efectos adversos relacionados con la sexualidad, tales como disminución de la libido e impotencia.²⁴

Con respecto a las opciones de tratamiento para el pCa se encuentran: cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia con medicamentos hormonales tales como antiandrógenos. Los antiandrógenos comerciales utilizados en la actualidad ocasionan diversos efectos adversos, entre los que se encuentran principalmente, alteraciones sexuales, fallas cardíacas, retención de líquidos, daños hepatotóxicos, disminución del deseo sexual, vómito y diarrea entre otros síntomas, además de que los tratamientos suelen ser de costos elevados debido a su uso prolongado.²⁵

2.5. Enzima 5 α -reductasa

La enzima 5 α -R (deshidrogenasa), es una proteína hidrofóbica formada por 259 aminoácidos con un peso molecular de 29,462 Dalton y se localiza en la fracción microsomal de las células blanco para andrógenos. Esta enzima aún no ha sido purificada debido a su naturaleza inestable, por tanto su estructura

tridimensional aún no se conoce. Sin embargo se han encontrado dos isoenzimas denominadas tipo I y tipo II cada una codificada por un gen diferente; las cuales difieren en sus propiedades bioquímicas, tejido de localización y función.²⁶

Tabla 2.1. Propiedades de las isoenzimas de la enzima 5 α -reductasa.²⁷

Propiedades	5 α -R tipo I	5 α -R tipo II
Número de aminoácidos	259	254
Tamaño molecular (kDa)	29.5	28.4
pH óptimo	6-8.5	5-5.5
Distribución en tejidos	Piel, hígado, próstata, testículos	Epitelio prostático, epidídimo, vesículas seminales
Expresión en próstata	Normal (baja), alta en HPB y cáncer	Normal (baja) y alta en HPB Baja en cáncer

La isoenzima tipo II juega un papel muy importante en el pCa e HPB ya que se expresa predominantemente en este tejido. La isoenzima tipo I también se encuentra en el hígado y la piel, actúa en un medio neutro o básico, mientras que la tipo II es activa a un pH ácido.²⁷

2.5.1. Mecanismo de acción de enzima 5 α -reductasa

La enzima 5 α -R cataliza la reducción esteroselectiva e irreversible de un 3-oxoesteroide-4-en (T) al 5 α -3-oxoesteroide (DHT), en presencia del cofactor esencial NADPH (Figura 2.7). La transformación de T a DHT consiste en la adición del hidruro del NADPH a la posición 5 de la T.²⁸

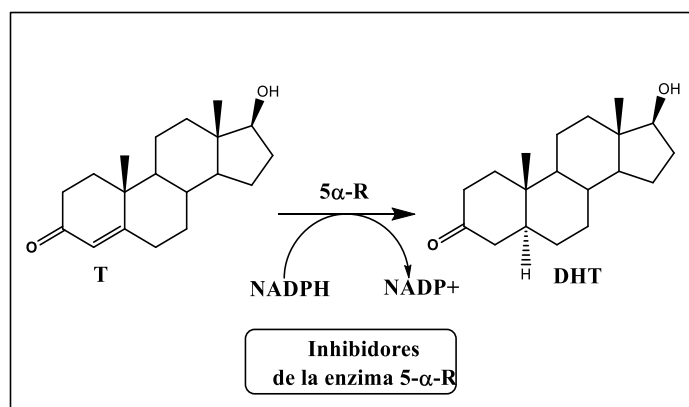


Figura 2.7. Sitio de acción de los inhibidores de la enzima 5 α -R.²⁹

El mecanismo de acción propuesto (figura 2.8) involucra como primer paso la activación de la enona, por un residuo electrofílico de la enzima 5 α -R, permitiendo la polarización del doble enlace conjugado y la formación del enolato que es estabilizado por el residuo electrofílico. A continuación ocurre la transferencia estereoespecífica del hidruro, cedido por NADPH a la posición 5 de la T, reduciendo el doble enlace de C3, C4 y liberando NADP⁺. Finalmente mediante un equilibrio tautomérico cetona-enólica ocurre la formación de la DHT.²⁹

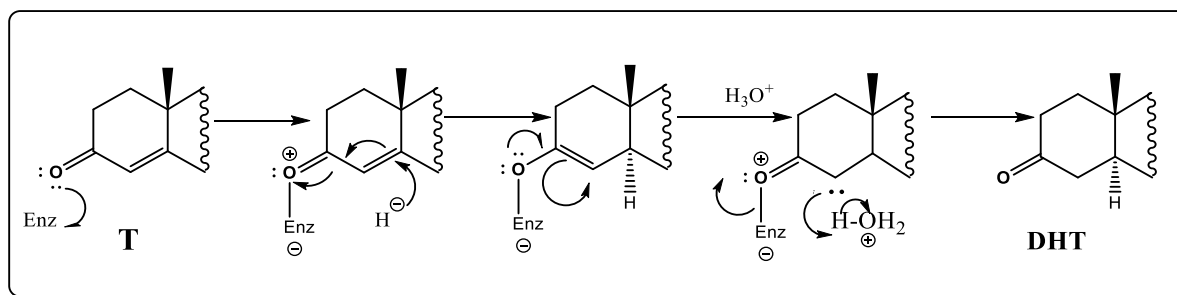


Figura 2.8. Mecanismo de reducción de la T a DHT por acción de la enzima 5 α -R.³⁰

La enzima 5 α -R determina por tanto la disponibilidad de DHT en las células epiteliales prostáticas y en consecuencia dicta su crecimiento.

2.6. Inhibidores de la enzima 5 α -reductasa

A pesar de no contar con una estructura tridimensional de la enzima 5 α -R, diversos estudios de mutagénesis puntual dirigida han revelado dominios funcionales, encontrando mutaciones que afectan la habilidad de la enzima para unirse a la T; con base a estos estudios y con el mecanismo de reducción propuesto, se han diseñado dos clases de inhibidores, unos de tipo esteroidal y otro de tipo no esteroidal.³¹ La mayoría de los inhibidores no esteroidales son análogos azasteroidales, preparados removiendo uno o dos anillos de la estructura esteroidal. Los ejemplos representativos se muestran en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Ejemplos de inhibidores de enzima 5 α -R.²⁴

Inhibidores de enzima 5 α -R	
No esteroidales	Esteroidales
Flutamida	Finasterida
ácido ganoderico	Dutasterida

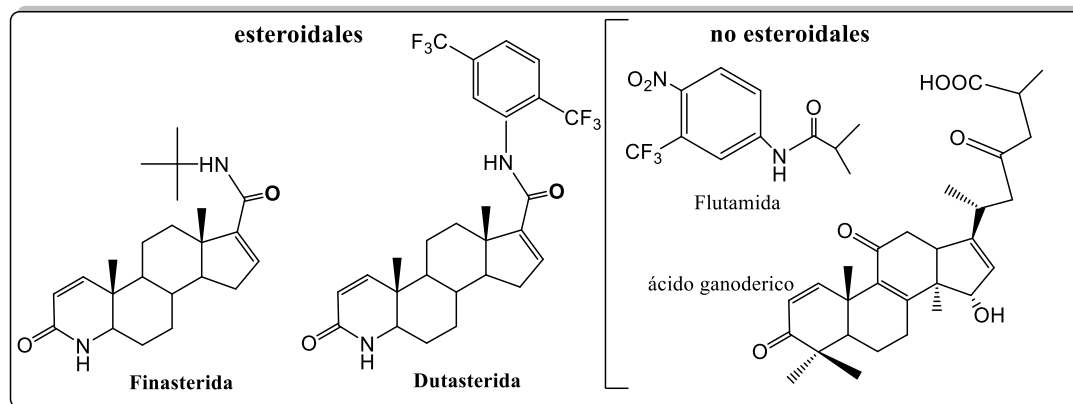


Figura 2.9. Estructura de los principales fármacos utilizados en el tratamiento de HPB.

De acuerdo a su estructura los inhibidores esteroidales de la enzima 5α -R pueden ser clasificados principalmente en tres tipos: azasteroides, derivados de pregnano y derivados de androstano. De los cuales los más importantes y usados en la práctica clínica son los azasteroides, dentro de este grupo se encuentran los 4-azasteroides: Finasterida y Dutasterida.²⁴

En la actualidad el uso terapéutico principal de los inhibidores de la enzima 5α -R es para el tratamiento de la alopecia (inhibidores de la isoenzima tipo I), y de la HPB (inhibidores de la isoenzima tipo II), así también como agentes quimiopreventivos.³²

2.6.1. Inhibidores esteroidales

Los antiandrógenos esteroidales son los de mayor interés terapéutico, en especial los derivados de la progesterona, debido a que son homólogos de los esteroides de origen natural. Pero también se encuentran los derivados del androstano.³³

El antiandrógeno esteroideal más conocido es la Finasterida (Proscar, Figura 9), se trata de un 4-azaesteroide, el cuál es el prototipo de los fármacos que actúan inhibiendo específicamente a la enzima 5α -R tipo II, reduciendo los niveles de DHT drásticamente.

A pesar de su estructura, no presenta afinidad por otros receptores esteroidales, lo que permite la inhibición selectiva de la enzima. La Dutasterida por otro lado, es un inhibidor de ambas isoenzimas, dando énfasis en que la isoenzima predominante dentro de la próstata es la tipo 2.^{6, 34}

2.7. Desarrollo de antiandrógenos esteroidales

Debido a los efectos colaterales que presentan los antiandrógenos actuales en el mercado es que existe la necesidad de una búsqueda continua por desarrollar nuevos agentes esteroidales con mayor actividad antiandrogénica y menores efectos secundarios. Como se había mencionado anteriormente, la DHT es el andrógeno responsable de varias de las enfermedades andrógeno-dependientes, por eso se considera un excelente blanco farmacológico la inhibición de la enzima 5 α -R, ya que de esta forma sólo se bloquea la formación de la DHT sin afectar las funciones biológicas de la T.

A través de estudios de SAR, se han encontrado ciertos requerimientos estructurales para la inhibición selectiva de la enzima 5 α -R tipo II, que para el caso de estructuras esteroidales pueden ser derivados del androstano o del pregnano.^{35, 36, 37}

2.7.1. Derivados del pregnano

Este tipo de inhibidores han sido diseñados modificando la estructura de la progesterona; esta molécula es una progestina producida directamente de la pregnenolona (molécula precursora de todas las hormonas esteroidales), lo cual es una ventaja, ya que los compuestos obtenidos a partir de ella presentan una mayor actividad antiandrogénica, debido a que la progesterona es un antiandrógeno que naturalmente compite con la T por la unión a la enzima 5 α -R. En nuestro grupo de investigación se ha buscado obtener compuestos esteroidales con actividad antiandrogénica que presenten una baja actividad hormonal, baja toxicidad y que no disminuyan el líbido.³⁷⁻⁴⁸

2.7.2. Estudios previos

En vista de lo anterior, en nuestro grupo de investigación, se ha propuesto la síntesis de diferentes derivados basados en la estructura del pregnano, (algunos ejemplos se muestran en las figuras 2.10) a los cuales se les evaluó la actividad inhibitoria *in vitro* e *in vivo* con la finalidad de determinar su actividad antiandrogénica e inhibición de enzima 5 α -R. Entre estos compuestos se encuentran varios derivados de acetato de 16-dehidropregnenolona con diferentes funcionalidades en C-3, C-4, C-5 y en C-6.^{26, 39, 47}

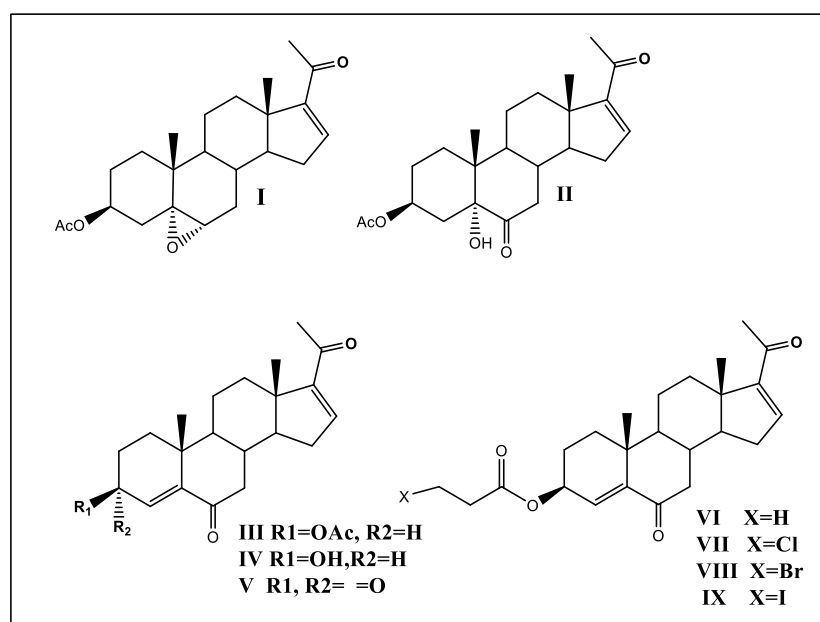


Figura 2.10. Estructuras de derivados de acetato de 16-dehidropregnenolona reportados en la literatura.^{1, 22a, 47}

En respuesta a los resultados de evaluación biológica se reportó que los esteroides I, III, y V (figura 2.11) fueron muy eficientes en la inhibición de la enzima (tabla 2.3).⁴⁷

2.7.3. Importancia de la presencia de un carbonilo α,β -insaturado en derivados del pregnano

Los compuestos I y III (figura 2.11) mencionados anteriormente, mostraron una actividad biológica *in vitro* mayor que el fármaco de referencia (Finasterida).

Sin embargo la evaluación de su toxicidad sistémica aún se encuentra en evaluación.

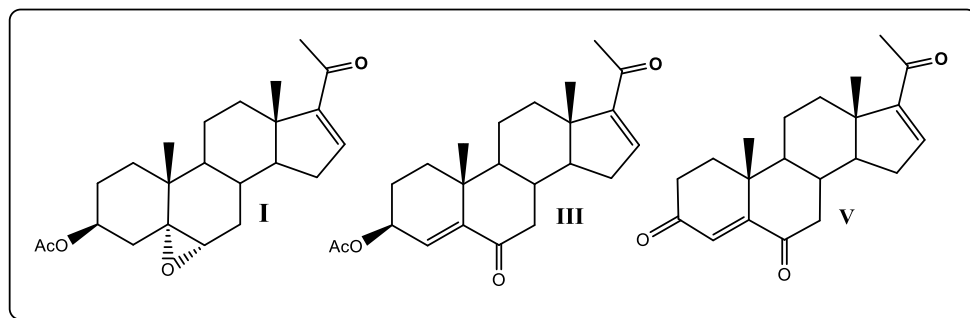


Figura 2.11. Derivados del acetato de 16-dehidropregnenolona que presentan actividad inhibitoria de la enzima 5 α -R. ⁴⁷

Con respecto a los compuestos III y V, se puede dar énfasis en que presentan en común un carbonilo α,β -insaturado en su estructura. Ya se ha mencionado en trabajos previos de nuestro grupo de investigación, que el carbono β presente en el núcleo esteroidal juega un papel crucial, ya que actúa como aceptor tipo Michael, uniéndose a residuos nucleofílicos de la enzima 5 α -R (grupo amino) formando aductos irreversibles, provocando así la inhibición de la enzima. Lo cual puede contemplarse en los resultados de las pruebas biológicas *in vitro* (0.065 nM, y 0.085 nM, tabla 2.3), sin embargo los resultados *in vivo* han sido desalentadores. ^{15, 22, 47,}

Tabla 2.3. Valores de Cl_{50} (nM) de algunos derivados de acetato de 16-dehidropregnenolona. ^{29, 47}

Compuesto	Cl_{50} (nM)
Finasterida	0.85
I	0.063
II	200.00
III	0.065
IV	n.a
V	0.85
VI	40.00
VII	14
VIII	1.8
IX	10

* n.a= sin actividad

Lo mencionado anteriormente inspiró esta investigación, ya que los compuestos sintetizados en este trabajo presentan la estructura base del compuesto V (fármacoforo), justificado en base a los resultados ya reportados. Con el objetivo de mejorar los resultados de pruebas biológicas *in vivo* se incorporó un grupo éster en C-21 para mejorar sus propiedades farmacocinéticas.

7.4. Importancia de los ésteres en la relación estructura-actividad biológica.

La ventaja o desventaja de tener grupos éster en la molécula de interés es que sufre hidrólisis *in vivo* por parte de las esterasas y por ende el tiempo de vida media del fármaco puede verse afectado, siempre y cuando sea este un grupo de crucial importancia para la unión del ligando con su sitio activo. La ventaja radica que en muchas ocasiones son empleados para dar estabilidad metabólica a la molécula, gracias a sus factores electrónicos que estabilizan el grupo éster o bien factores estéricos que lo protegen.⁴⁸

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la importancia que juegan los antiandrógenos esteroidales en particular los inhibidores de la enzima 5α -R para el tratamiento de padecimientos andrógeno-dependientes, tales como pCa e HPB, es que surge la necesidad de desarrollar nuevos prototipos que presenten menores efectos adversos, sean más efectivos y selectivos que los fármacos de referencia.

En base a estudios SAR se han sintetizado diferentes derivados de pregnano ya reportados en la literatura. Entre ellos se encuentran los derivados de 4,16-pregnadien-6,20-diona, sintetizados a partir de acetato de 16-dehidropregnenolona, que poseen en su estructura grupos ésteres en C-3 y que han presentado actividad como inhibidores de la enzima 5α -R. Sin embargo, a pesar de que en su estructura poseen diferentes grupos funcionales tienen en común un grupo y dos grupos carbonilos α,β -insaturados en C-20, C-6 y/o en C-3.^{37, 46, 47}

Con referencia a estos trabajos previos, en este proyecto se plantea la síntesis de nuevos inhibidores de la enzima 5α -R que en su estructura presenten ahora tres carbonilos α,β -insaturados en C-3, C-6,y C-20, así como un éster alifático en C-21 del núcleo esteroidal, que le van a conferir la posible actividad biológica como inhibidores de la enzima 5α -R. Esperando también que al incorporar el grupo éster se mejoren las propiedades metabólicas de las moléculas sintetizadas, teniendo como consecuencia la obtención de mejores resultados *in vivo* que los presentados por los derivados del pregnano ya reportados.

4.-HIPÓTESIS

Dado que los derivados del pregnano reportados en la literatura han presentado una actividad biológica significativa cuando poseen en su estructura uno o dos carbonilos α,β -insaturados, los compuestos sintetizados en este trabajo

de investigación van a poseer una alta actividad inhibitoria de la enzima 5 α -R, debido principalmente a la existencia de las tres conjugaciones particulares en C-3, C-6 y C-20 del núcleo esteroidal. Así como también la incorporación del grupo éster en C-21 generará la estabilidad metabólica necesaria para lograr que los compuestos sean más activos en las pruebas biológicas *in vivo* de inhibición de la enzima 5 α -R.

5.-OBJETIVOS

Objetivo general

Sintetizar a partir de 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona dos nuevos compuestos finales basados en el esqueleto del pregnano, que en su estructura posean tres carbonilos α,β -insaturados en C-3, C-6 y C-20, así como un éster alifático en C-21 del núcleo esteroidal

Objetivos particulares

- I. Sintetizar los intermediarios necesarios para la obtención de las modificaciones estructurales al núcleo base (compuestos **2-5**, esquema 6.1).
- II. Sintetizar los siguientes intermediarios derivados de pregnano que en C-21 posean un éster alifático de uno y dos carbonos respectivamente:
 - 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (**6a, 6b**).
 - 3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (**7a, 7b**).
 - 5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-16-pregnen-20-ona (**8a, 8b**).
 - 5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (**9a, 9b**).
- III. Caracterizar los compuestos finales así como los intermediarios sintetizados mediante sus propiedades físicas (punto de fusión) y espectroscópicas (IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C).

6.-DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental del presente trabajo comprende la síntesis química de dos nuevos compuestos finales, que en su estructura posean un grupo éster alifáticos en C-21 así como tres carbonilos α,β -insaturados.

La síntesis de los compuestos propuestos se realizó a partir de la materia prima acetato de 16-dehidropregnenolona, siguiendo la secuencia de reacciones mostradas en el esquema 6.1. Posterior caracterización de los compuestos finales y de los intermediarios mediante métodos físicos y espectroscópicos.

A los compuestos finales e intermediarios se les determinaron sus puntos de fusión en un aparato Fisher-Johnes y no están corregidos. La pureza de los productos y el progreso de las reacciones se monitorearon por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando cromatoplasas Merck de gel de sílice 60 F₂₅₄, eluyéndolas en un sistema de elución de hexano-acetato de etilo (6:4 y 7:3). Como reveladores se emplearon luz UV ($\lambda=254$ nm) y una solución de CoCl₂ al 2% en H₂SO₄ 2N.

Para la caracterización de los compuestos finales y de cada uno de los intermediarios se obtuvieron los espectros de:

a) UV mediante la técnica de absorción al ultravioleta (UV), en donde se empleó un espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer modelo Lambda 2 utilizando como disolvente metanol.

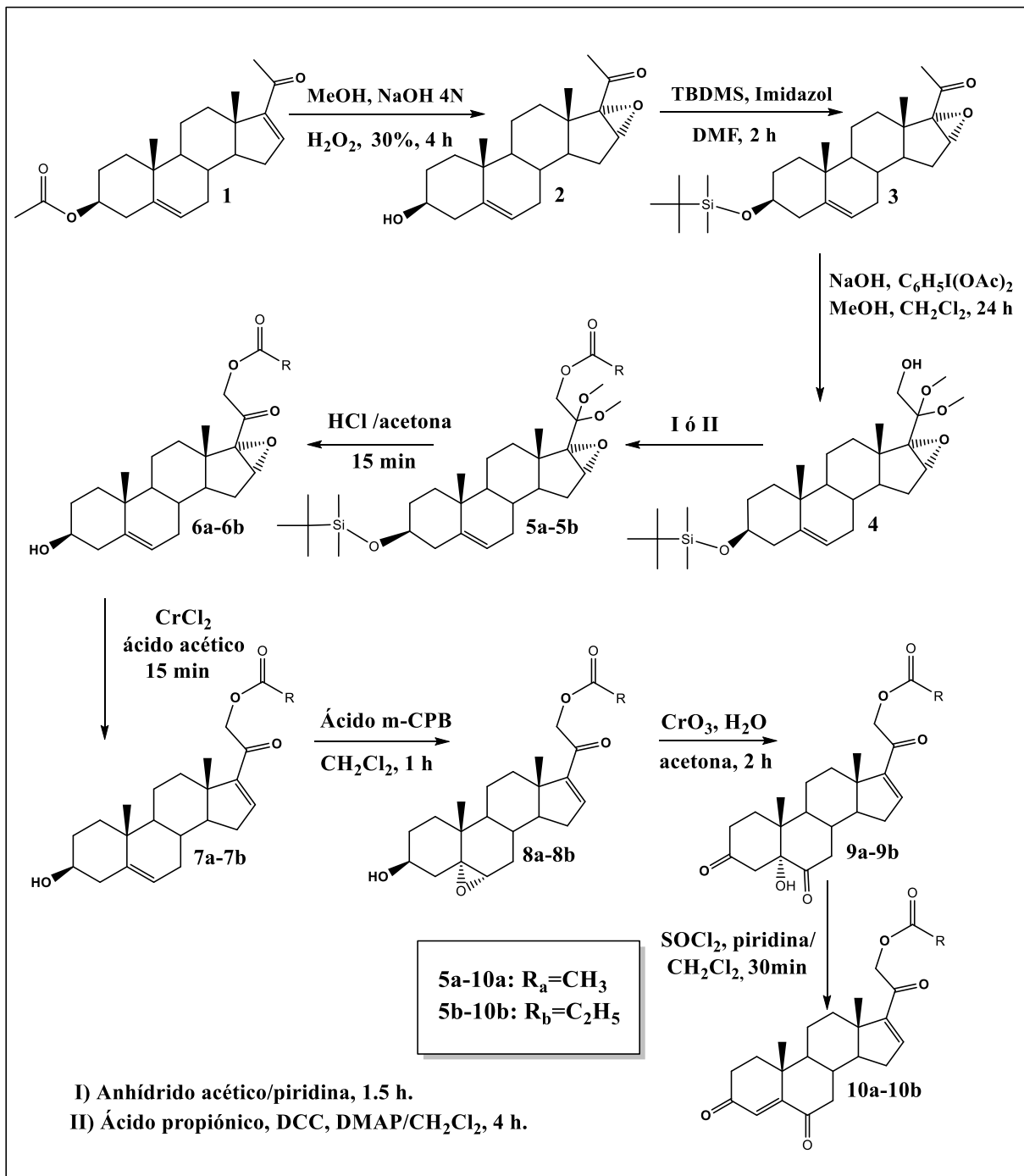
b) IR en donde se recurrió a espectrofotometría de absorción al infrarrojo (IR) empleando un equipo Perkin Elmer modelo Spectrum 400, FT-IR/FT-FIR, utilizando la técnica de reflectancia por ATR.

c) Resonancia magnética de protón (RMN ¹H) y carbono (RMN ¹³C), los cuales se obtuvieron en un aparato Varian VxR-300S (400 MHz) y Varian 300S (100 MHz) respectivamente. Se usó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl₃). Los desplazamientos químicos (δ) se encuentran referidos al

tetrametilsilano (TMS), en unidades de partes por millón (ppm) para RMN ^1H y para RMN ^{13}C ; las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hz.

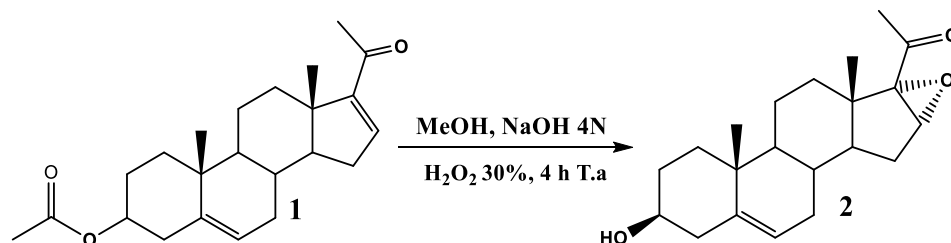
6.1.-SÍNTESIS QUÍMICA

El siguiente esquema muestra la secuencia sintética llevada a cabo en el presente trabajo.



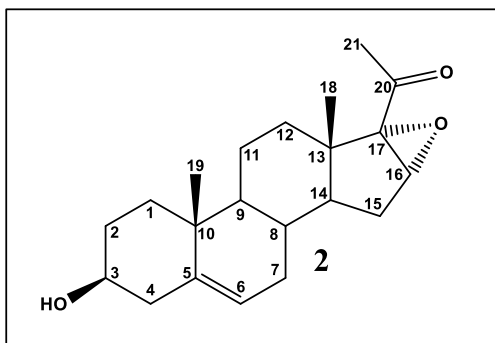
Esquema 6.1. Ruta sintética desarrollada.

6.1.1. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (2)



En un matraz bola de 100 mL, provisto de agitación magnética, se disolvió 1g (2.69 mmol) de acetato de 16-dehidropregnenolona (1), en metanol (66 mL); luego se agregó hidróxido de sodio (NaOH) 4N (2 mL, 8 mmol) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) al 30% (4 mL, 0.135 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4h; finalizado el tiempo de reacción se eliminó el disolvente del medio de reacción con destilación a presión reducida.

Posteriormente, el producto se lavó con agua destilada con la finalidad de eliminar el exceso de NaOH, el precipitado obtenido se filtró y finalmente se dejó secar al vacío. El producto obtenido se recristalizó de metanol, obteniéndose 0.95 g del producto 2.



Aspecto: sólido blanco cristalino

Rendimiento: 95%

Fórmula molecular: C₂₁H₃₀O₃

Peso molecular: 330

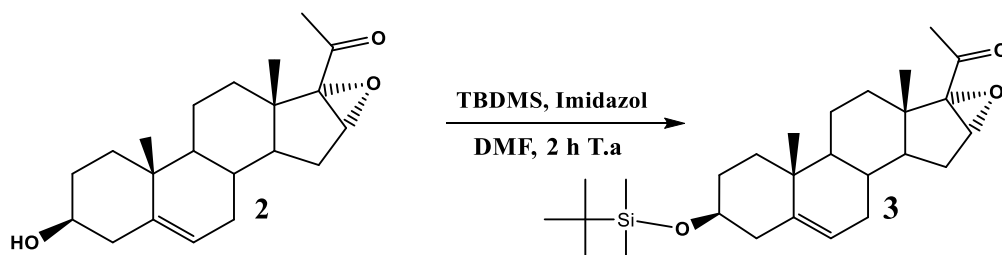
p.f: 182-183⁰C

Espectro 1, pág. 59. IR (cm⁻¹): 3343 (-OH en C-3); 2936 (C-H de CH₃ y CH₂); 1634 (C=C en C-5); 1690 (C=O cetona); 1045 (C-O epóxido).

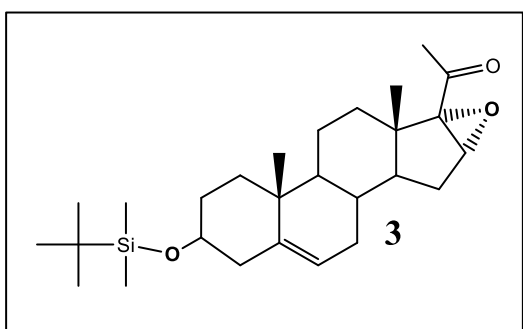
Espectro 2, pág. 59. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 1.05 (s, 3H) H-18; 1.02 (s, 3H) H-19; 2.13 (s, 1H) H-16; 2.21 (s, 3H) H-21; 3.53 (m, 1H) H-3; 3.91 (s, 1H) -OH en C-3; 5.33 (d, 1H, *J*=5.1Hz) H-6.

Espectro 3, pág. 60. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 15.16 (C-18), 19.30 (C-19), 27.51 (C-21), 60.49 (C-16), 71.59 (C-17), 77.32 (C-3), 120.95 (C-6), 141.12 (C-5), 204.92 (C-20).

6.1.2. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3)



En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética, se disolvió 1g (3 mmol) del compuesto **2** en 15 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF), 450 mg (5 mmol) de imidazol y 760 mg (6.8 mmol) de cloruro de tertbutildimetilsililo (TBDMS). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h siguiendo su avance por CCF; al término de la reacción, se eliminó el disolvente del medio de reacción al vacío. Posteriormente el producto se lavó con agua destilada, se filtró y finalmente se dejó secar al vacío obteniéndose 0.98 g del producto **3**.



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 98%

Fórmula molecular: $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Si}$

Peso molecular: 444

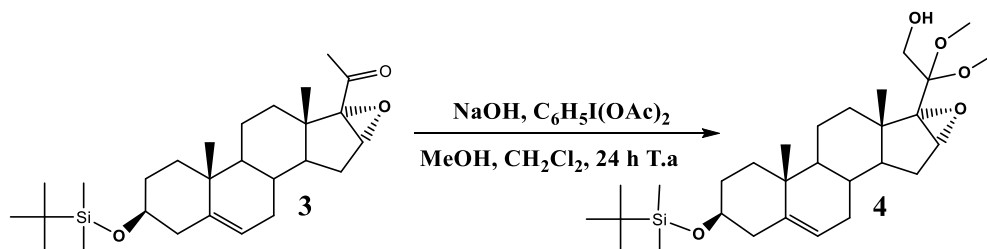
p.f: 126-127 $^{\circ}\text{C}$.

Espectro 4, pág. 60. IR (cm^{-1}): 2929 (C-H de CH_3 y CH_2); 1659 (C=C en C-5); 1698 (C=O cetona); 1083 (C-O-C epóxido).

Espectro 5, pág. 61. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.58 (m, 6H) H de $(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$; 0.83 (m, 9H) H de $(\text{CH}_3)_3\text{C-Si}$; 0.99 (s, 3H) H-18; 1.09 (s, 3H) H-19; 2.10 (s, 1H) H-16; 2.26 (s, 3H) H-21; 3.62 (m, 1H) H-3; 5.24 (d, 1H, $J=4.9\text{Hz}$) H-6.

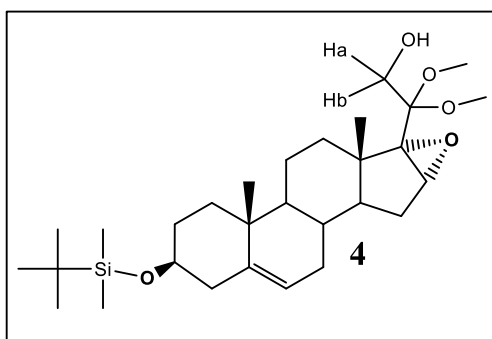
Espectro 6, pág. 61. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 19.76 (C-18), 22.83 (C-19), 30.55 (C-Si), 23.94 ($(\text{CH}_3)_3\text{C-Si}$), 25.02 (C-21), 65.10 (C-16), 75.64 (C-17), 77.06 (C-3), 125.04 (C-6), 146.49 (C-5), 209.46 (C-20).

6.1.3. Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (4)



En un matraz bola de 50 mL, provisto de agitación magnética, se disolvió 1g (2.2 mmol) del esteroide **3** en metanol (21 mL), luego se adicionó 1g de NaOH, 1200 mg (3.7 mmol) de diacetoxiyodobencenceno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{I}(\text{OAc})_2$) y 10.4 mL de diclorometano (CH_2Cl_2).

La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 24 h siguiendo su avance por CCF; al término de la reacción, se eliminó el disolvente del medio de reacción por destilación a presión reducida. Posteriormente el producto (1.5 mmol) se lavó con agua destilada con la finalidad de eliminar el exceso de NaOH y se filtró para después dejarlo secar al vacío. El sólido obtenido se purificó por columna con sistema de fase móvil hexano-acetato de etilo (85:15) en gel de sílice como fase estacionaria obteniéndose 0.65 g del producto **4**.



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 65%

Fórmula molecular: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Si}$

Peso molecular: 506

p.f: 205-207 $^{\circ}\text{C}$

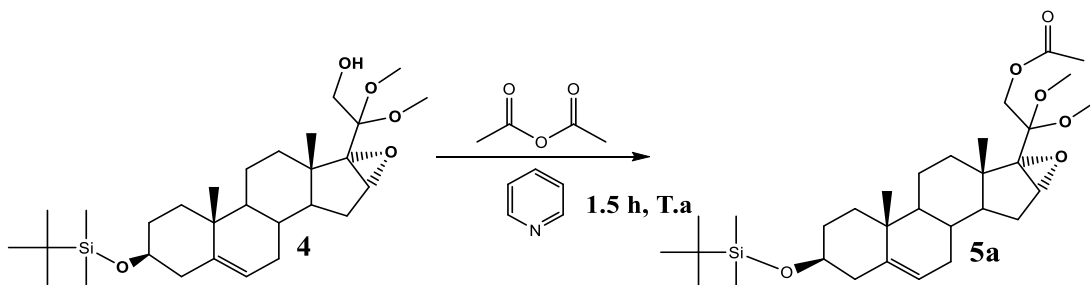
Espectro 7, pág. 62. IR (cm^{-1}): 3596 (-OH en C-21); 2931 (C-H de CH_3 y CH_2); 1666 (C=C en C-5); 1070 (C-O-C epóxido).

Espectro 8, pág. 62. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.67 (m, 6H) H de $(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$; 0.84 (m, 9H) H de $(\text{CH}_3)_3\text{C-Si}$; 0.97 (s,3H) H-18; 1.20 (s, 3H) H-19; 2.18 (s, 1H) H-16; 3.58 (s,1H) OH en C-21; 3.47 (d, 1H, $J=17.5$ Hz) H-21_b; 3.24 (m, 3H) H de $\text{CH}_3\text{O-}$ del cetal en C-20; 3.27 (m, 1H) H-3; 3.5 (s, 1H) $-\text{OH}$ de C-21; 5.25 (d, 1H, $J=4.9\text{Hz}$) H-6.

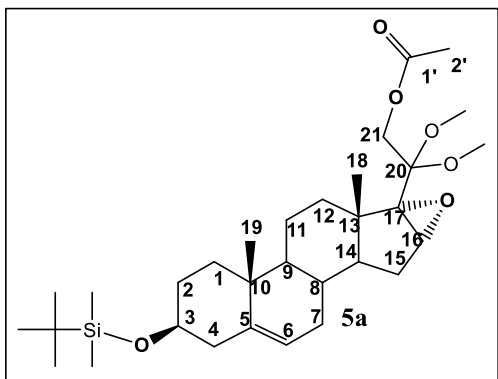
Espectro 9, pág. 63. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 16.03 (C-18), 19.67 (C-19), 30.51 (C-Si); 23.91 ($(\text{CH}_3)_2$ C-Si), 54.90 (C-21), 63.04 (C-16), 74.22 (C-17), 77.08 (C-3), 125.27 (C-6), 146.38 (C-5), 125.07 (C-20).

6.1.4. Reacciones de esterificación en C-21

6.1.4.1. Síntesis de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a)



En un matraz bola de 10 mL se adicionó 1g (1.4 mmol) del esteroide **4** en piridina (2mL) y anhídrido acético (2mL). La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1.5 h siguiendo su avance por CCF, hasta que la reacción se completó. Posteriormente se adicionó sobre una mezcla de 100 mL de hielo- H_2O -NaCl, formándose un precipitado de color blanco que se lavó con agua destilada. El compuesto se filtró y se dejó secar al vacío. El sólido obtenido se purificó por recristalización de metanol, obteniéndose 0.85 g del producto **5a**.



Aspecto: Sólido blanco

Rendimiento: 85%

Formula molecular: C₃₁H₅₂O₆Si

Peso molecular: 548

p.f: 109-111 °C

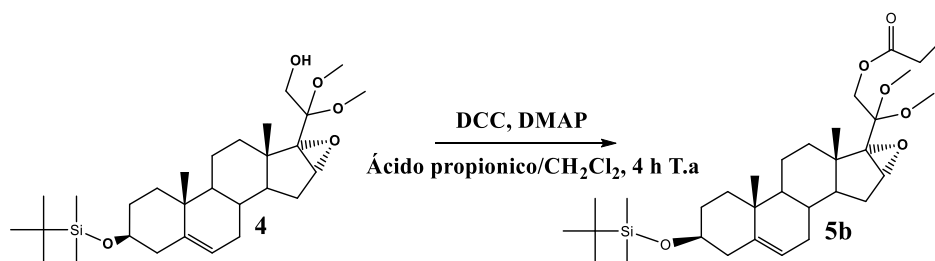
Espectro 10, pág. 63. IR (cm⁻¹); 2931 (C-H

de CH₃ y CH₂); 1667 (C=C en C-5); 1072 (C-O-C epóxido); 1748 (C=O de éster).

Espectro 11, pág. 64. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δppm): 0.73 (m, 6H) H de (CH₃)₂-Si; 0.89 (m, 9H) H de (CH₃)₃C-Si; 0.97 (s, 3H) H-18; 1.01 (s, 3H) H-19; 2.10 (s, 1H) H-16; 2.06 (m, 3H) 4.24 (d, 1H, J=16 Hz) H-21_a, 4.16 (d, 1H, J=16 Hz, 21_b) H-21_b; 3.23 (m, 3H) H de CH₃O- del cetal; 3.48 (m, 1H) H-3; 5.30 (d, 1H, J=5.0Hz) H-6.

Espectro 12, pág. 64. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm): 19.70 (C-18), 20.08 (C-19), 23.92 (C-2'), 25.21 ((CH₃)₂ C-Si), 30.52 (C-Si), 66.55 (C-21), 63.24 (C-16), 73.37 (C-17), 77.09 (C-3), 125.35 (C-6), 146.32 (C-5), 125.35 (C-20), 174.89 (C-1'),

6.1.4.2. Síntesis 16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-21-propionoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5b)

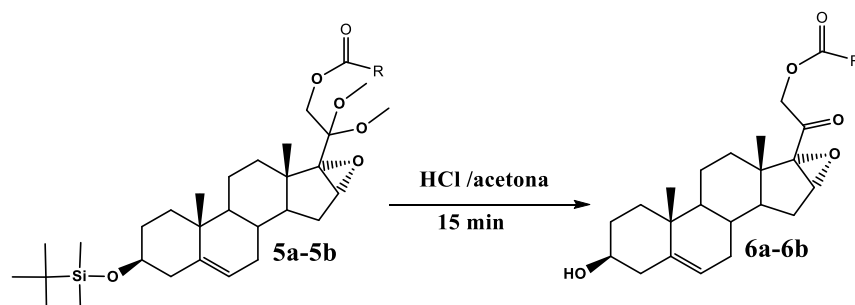


En un matraz bola de 50 ml se mezclaron 500 mg (1.7 mmol) del esteroide **4** en 30 mL de CH₂Cl₂, una vez disuelta la mezcla se agregaron 415 mg (3.3 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP), 763 mg de *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 3.7 mmol) y 7 mL de ácido propiónico. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4h siguiendo su

avance por CCF, hasta que la reacción se completó. Posteriormente se adicionó 20 ml de acetato de etilo sobre la mezcla de reacción y se dejó reposar, formándose un precipitado blanco, (exceso de *N,N*-diclohexilurea (DCU)), el cual se filtró por gravedad. La fase orgánica finalmente se concentró con un rotaevaporador.

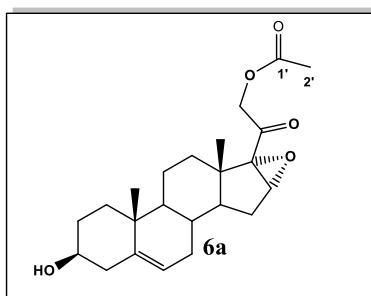
Nota: El compuesto no se aisló porque las condiciones ácidas de los lavados, para eliminar el exceso de DCU desprotegen el compuesto, lo cual ocurre en la siguiente reacción y de esta forma se optimiza la ruta al eliminar pasos de purificación.

6.1.5. Reacción de desprotección del alcohol en C-3 y el cetal de C-20



En un matraz bola de 50 mL se adicionaron 0.9 mmol del esteroide **5a-5b** en 30 ml de acetona y 1 mL de HCl concentrado. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, siguiendo su avance por CCF; al término de la reacción se eliminó el disolvente del medio de reacción con destilación a presión reducida. El compuesto se lavó con agua destilada, se filtró y se dejó secar al vacío, para posteriormente recristalizarlo de metanol.

6.1.5.1. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 87%

Fórmula molecular: C₂₃H₃₂O₅

Peso molecular: 388

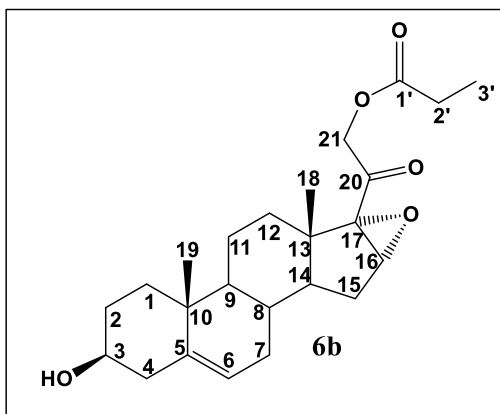
p.f: 174-176 °C

Espectro 13, pág. 65. IR (cm^{-1}): 3566 (OH en C-3); 3030 (C=CH en C-5); 2943 (C-H de CH_3 y CH_2); 1380 (C=C en C-5); 1058 (C-O-C); 1754 (C=O de éster); 1435 (C=O).

Espectro 14, pág. 65. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.87 (s, 3H) H-18; 1.11 (s, 3H) H-19; 1.70 (m, 2H) H-4; 2.21 (s, 3H) H-2'; 2.30 (s, 1H) H-16; 3.48 (m, 1H) H-3; 3.79 (s, 1H) -OH en C-3; 4.68 (d, 1H, $J=16$ Hz) H-21_a, 4.80 (d, 1H, $J=16$ Hz) H-21_b; 5.32 (d, 1H, $J=14$ Hz) H-6.

Espectro 15, pág. 66. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 15.13 (C-18), 19.32 (C-19), 20.38 (C-2'), 42.14 (C-4), 65.92 (C-21), 61.56 (C-16), 81.80 (C-17), 77.05 (C-3), 120.88 (C-6), 141.10 (C-5), 205.94 (C-20), 170.40 (C-1'), 20.42 (C-2').

6.5.1.2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-21-propionoxi-5-pregnen-20-ona (6b)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 80%

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_5$

Peso molecular: 402

p.f: 186-187 °C

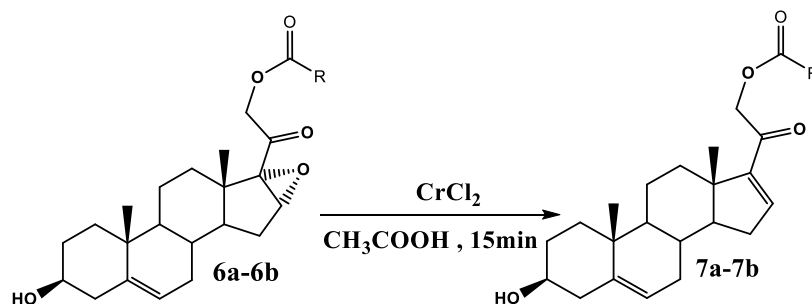
Espectro 16, pág. 66. IR (cm^{-1}): 3326 (OH en C-3); 2930 (C-H de CH_3 y CH_2); 1379

(C=C en C-5); 1057 (C-O-C); 1744 (C=O de éster); 1452 (C=O).

Espectro 17, pág. 67. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.80 (s, 3H) H-18; 1.01 (s, 3H) H-19; 1.35 (s, 3H) H-3'; 1.70 (m, 2H) H-4; 2.24 (s, 2H) H-2'; 2.43 (s, 1H) H-16; 3.53 (m, 1H) H-3; 3.78 (s, 1H) -OH en C-3; 4.66 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.53 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 5.31 (d, 1H, $J=14$ Hz) H-6.

Espectro 18, pág. 67. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 17.80 (C-18), 18.01 (C-19), 42.12 (C-4), 68.58 (C-21), 63.18 (C-16), 77.05 (C-17), 74.42 (C-3), 118.32 (C-6), 138.53 (C-5), 196.61 (C-20), 171.25 (C-1'), 24.52 (C-2'), 12.55 (C-3').

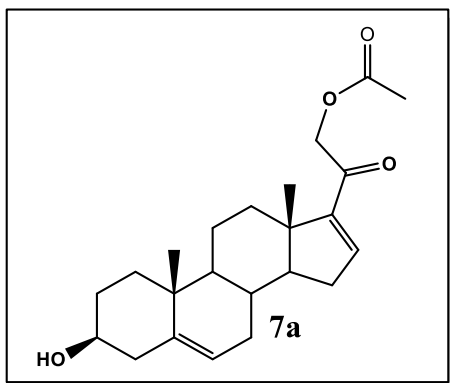
6.1.6. Reacción de eliminación del epóxido de C16 y C17



En un matraz bola de 50 ml, se adicionaron 1.3 mmol del esteroide **6** en 10 ml de ácido acético y 60 mg (1.5 mmol) de cloruro de cromo (II). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, siguiendo su avance por CCF; al concluir la reacción se procedió a precipitar el producto en una mezcla de 100 mL de agua-hielo.

El compuesto obtenido se filtró y se dejó secar al vacío obteniéndose un sólido con coloración verde claro. El sólido obtenido se purificó por columna con sistema de fase móvil de hexano-acetato de etilo (90:10) en gel de sílice como fase estacionaria.

6.1.6.1. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-acetoxi-3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (**7a**)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 65%

Formula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$

Peso molecular: 372

p.f: 156-157 $^{\circ}\text{C}$.

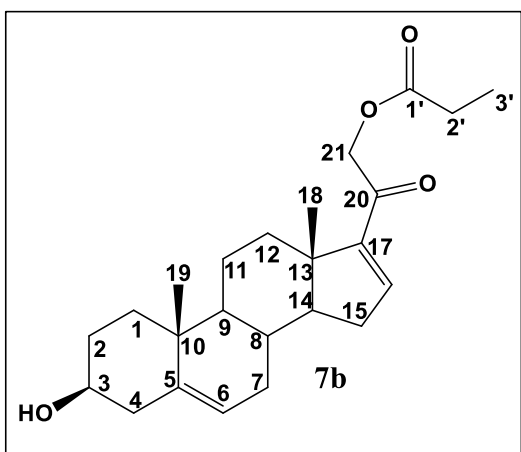
Espectro 22, pág. 69. UV (nm): 239,202.

Espectro 19, pág. 68. IR (cm^{-1}): 3464 (OH en C-3); 3052 (C=CH en C-5); 2935 (C-H de CH_3 y CH_2); 1373 (C=C en C-5); 1677 (C=O de C-20); 1729 (C=O de éster); 1584 (C=C conjugado en C-16).

Espectro 20, pág. 68. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.64 (s, 3H) H-18; 1.03 (s, 3H) H-19; 1.60 (m, 2H) H-4; 2.26 (s, 3H) H-2'; 3.51 (m, 1H) H-3; 3.76 (s, 1H) – OH en C-3; 4.79 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.49 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 5.54 (d, 1H, $J=14$ Hz) H-6; 6.74 (s, 1H) H-16.

Espectro 21, pág. 69. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 15.93 (C-18), 19.28 (C-19), 20.62 (C-2'), 42.21 (C-4), 65.62 (C-21), 77.01 (C-3), 120.80 (C-6), 143.36 (C-16), 151.96 (C-17), 141.36 (C-5), 190.54 (C-20), 170.43 (C-1').

6.1.6.2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (7b)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 60%

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$

Peso molecular: 386

Punto de fusión: 183-185 $^{\circ}\text{C}$

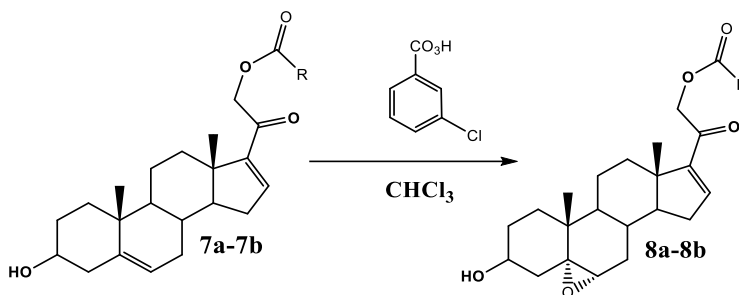
Espectro 26, pág. 71. UV (nm): 239, 203.

Espectro 23, pág. 70. IR (cm^{-1}): 3436 (OH en C-3); 3040 (C=CH en C-5); 2929 (C-H de CH_3 y CH_2); 1380 (C=C en C-5); 1625 (C=O de C-20); 1732 (C=O de éster); 1580 (C=C conjugado en C-16).

Espectro 24, pág. 70. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.89 (s, 3H) H-18; 1.03 (s, 3H) H-19; 1.35 (s, 3H) H-3'; 1.77 (m, 2H) H-4; 2.50 (s, 2H) H-2'; 3.29 (m, 1H) H-3; 3.80 (s, 1H) –OH en C-3; 4.93 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.90 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 5.34 (d, 1H, $J=14$ Hz,) H-6; 6.75 (s, 1H) H-16.

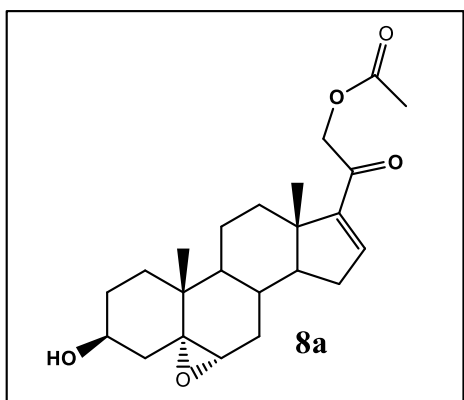
Espectro 25, pág. 71. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 15.84 (C-18), 19.28 (C-19), 20.57 (C-2'), 24.92 (C-3') 42.25 (C-4), 65.48 (C-21), 143.91 (C-16), 152.02 (C-17), 76.99 (C-3), 120.91 (C-6), 141.37 (C-5), 190.69 (C-20), 173.85 (C-1').

6.1.7. Reacción de epoxidación del doble enlace de C5 y C6



En un matraz bola de 100 mL se colocaron 2.7 mmol del esteroide **7** y 9.6 mmol de ácido m-cloroperoxibenzoico (ácido m-CPB) en cloroformo (80 mL), la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Una vez concluida la epoxidación se adicionó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (85 mL) que contenía bisulfito de sodio (1 g). El producto se extrajo con cloroformo (3 X 50 mL), la fase orgánica se lavó con agua destilada (3 X 50 mL), y se secó posteriormente con sulfato de sodio anhidro, el disolvente se eliminó con destilación a presión reducida en un rotaevaporador. El producto se recristalizó de metanol.

6.7.1.1. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-acetoxi-5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-16-pregnen-20-ona (**8a**)



Aspecto: sólido blanco cristalino

Rendimiento: 78%

Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$

Peso molecular: 388

p.f: 191-193 $^{\circ}\text{C}$

Espectro 30, pág. 73. UV (nm): 239, 203.

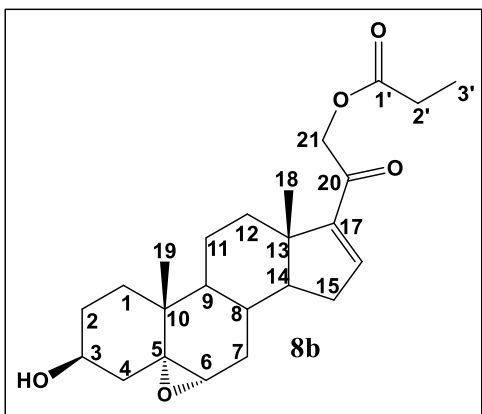
Espectro 27, pág. 72. IR (cm^{-1}): 3446 (OH)

en C-3); 2936 (C-H de CH₃ y CH₂); 1382 (C=C en C-5); 1677 (C=O cetona); 1749 (C=O de éster).

Espectro 28, pág. 72. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0.86 (s, 3H) H-18; 1.08 (s, 3H) H-19; 1.32 (m, 2H) H-4; 2.46 (s, 3H) H-2'; 2.89 (s, 1H) H-6; 3.45 (m, 1H) H-3; 3.87 (s, 1H) OH en C-3; 4.83 (d, 1H, J=17 Hz) H-21_a, 4.79 (d, 1H, J=17 Hz) H-21_b; 6.69 (1H, J=2Hz) H-16.

Espectro 29, pág. 73. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm): 15.87 (C-18), 18.00 (C-19), 20.30 (C-2'), 42.13 (C-4), 65.57 (C-21), 65.60 (C-6), 67.17 (C-5), 76.97 (C-3), 151.77 (C-17), 143.70 (C-16), 151.77 (C-17), 170.37 (C-1'), 190.46 (C-20).

6.7.1.2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 5α,6α-epoxi-3β-hidroxi-21-propionoxi-5,16-pregnadien-20-ona (8b)



Aspecto: sólido blanco cristalino

Rendimiento: 70%

Fórmula molecular: C₂₄H₃₄O₅

Peso molecular: 402

p.f: 219-221⁰C

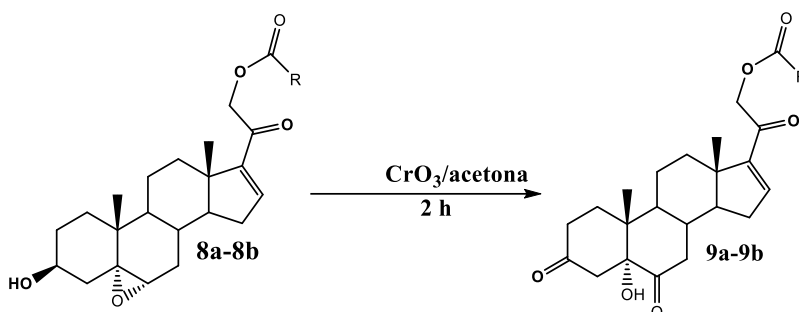
Espectro 34, pág. 75. UV (nm): 239, 203.

Espectro 31, pág. 74. IR (cm⁻¹): 3493 (OH en C-3); 2929 (C-H de CH₃ y CH₂); 1380 (C=C en C-5); 1679 (C=O cetona); 1729 (C=O de éster).

Espectro 32, pág. 74. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0.86 (s, 3H) H-18; 1.08 (s, 3H) H-19; 1.37 (m, 2H) H-4; 2.13 (s, 2H) H-2'; 2.21 (s, 3H) H-3'; 2.91 (s, 1H) H-6; 3.43 (m, 1H) H-3; 3.87 (s, 1H) OH en C-3; 4.86 (d, 1H, J=17 Hz) H-21_a, 4.82 (d, 1H, J=17 Hz) H-21_b; 6.72 (1H, J=2Hz) H-16.

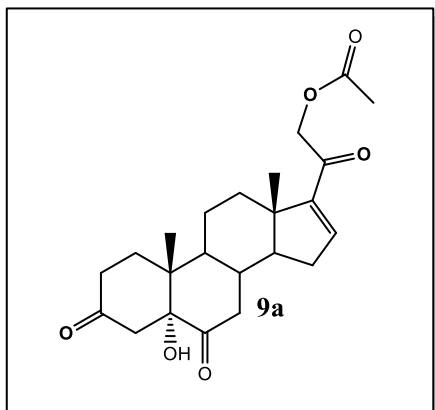
Espectro 33, pág. 75. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm): 15.90 (C-18), 16.98 (C-19), 15.84 (C-3'), 20.32 (C-2'), 42.16 (C-4), 65.46 (C-21), 65.86 (C-6), 68.30 (C-5), 77.00 (C-3), 143.63 (C-16), 151.83 (C-17), 173.84 (C-1'), 190.65 (C-20).

6.1.8. Reacción de oxidación del alcohol en C-3



En un matraz bola de 50 mL se disolvió 2.68 mmol del esteroide **8** en 25 mL de acetona, y posteriormente se adicionó una solución de óxido de cromo (VI) (2.3 g de óxido de cromo (VI) en 12 mL de agua) en tres tiempos divididos en 30 min cada uno. Se siguió su avance por CCF; al término de la reacción se eliminó el disolvente del medio de reacción con destilación a presión reducida. Una vez realizado lo anterior, se adicionaron 150 ml de hielo para precipitar el producto, el cual se filtró y lavó con agua destilada, hasta obtener un polvo color amarillo obscuro. El sólido obtenido se purificó por columna con sistema de fase móvil de hexano-acetato de etilo (85:15) en gel de sílice como fase estacionaria.

6.8.1.1. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-acetoxi-5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (**9a**)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 82%

Fórmula molecular: C₂₃H₃₀O₆

Peso molecular: 402

p.f.: 218-220^oC

Espectro 38, pág. 77. UV (nm): 238, 204.

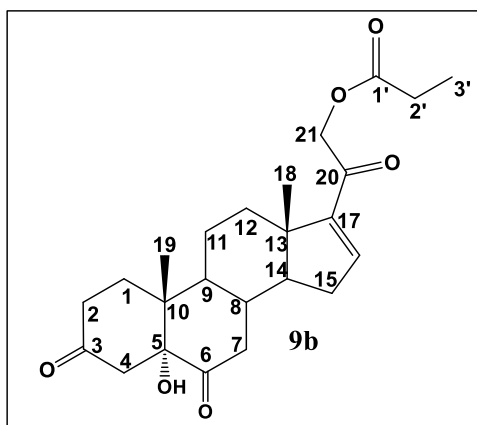
Espectro 35, pág. 76. IR (cm⁻¹): 3346 (OH- en

C-3); 2943 (C-H de CH₃ y CH₂); 1582 (C=C conjugado); 1681 (C=O cetona); 1748 (C=O de éster).

Espectro 36, pág. 76. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.89 (s, 3H) H-18; 0.90 (s, 3H) H-19; 2.87 (m, 2H) H-4; 2.34 (s, 3H) H-2'; 3.78 (s, 1H) OH en C-5; 4.97 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.64 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 6.71 (1H, $J=2$ Hz) H-16.

Espectro 37, pág. 77. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 13.75 (C-18), 19.00 (C-19), 20.48 (C-2'), 76.98 (C-21), 47.23 (C-4), 82.68 (C-5), 143.43 (C-17), 151.57 (C-16), 170.43 (C-1'), 190.43 (C-20), 210.27 (C-6), 211.12 (C-3).

6.8.1.2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 5-hidroxi-21-propionoxi-16-pregnen-3,6,20-triona (9b)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 76%

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6$

Peso molecular: 416

p.f.: 188-190 $^{\circ}\text{C}$

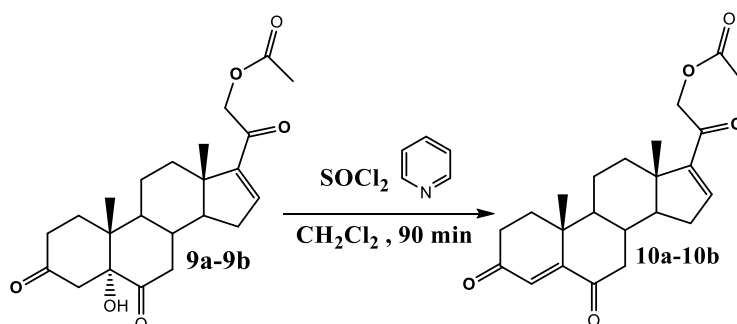
Espectro 42, pág. 79. UV (nm): 231, 205.

Espectro 39, pág. 78. IR (cm^{-1}): 3327 (OH en C-5); 2943 (C-H de CH_3 y CH_2); 1572 (C=C conjugado); 1678 (C=O cetona); 1750 (C=O de éster).

Espectro 40, pág. 78. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.86 (s, 3H) H-18; 0.97 (s, 3H) H-19; 1.64 (m, 3H) H-3'; 2.14 (s, 2H) H-2'; 3.06 (m, 2H) H-4; 3.86 (s, 1H) OH en C-5; 4.98 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.94 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 6.67 (1H, $J=2$ Hz) H-16.

Espectro 41, pág. 79. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 15.45 (C-18), 19.70 (C-19), 12.80 (C-3'); 22.73 (C-2'), 75.99 (C-21), 48.37 (C-4), 81.78 (C-5), 142.30 (C-17), 150.63 (C-16), 172.88 (C-1'), 189.58 (C-20), 209.05 (C-3), 210.05 (C-6).

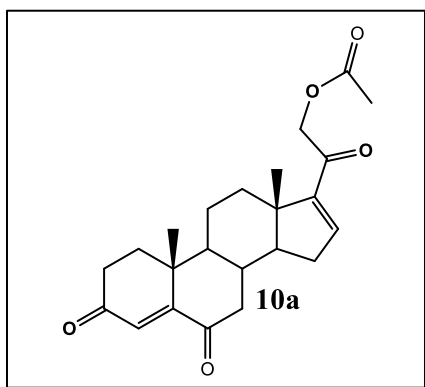
6.1.9. Reacción de eliminación del alcohol de C5



En un matraz bola de 50 mL se disolvieron 2.57 mmol de esteroide **9** en 8 mL de CH₂Cl₂ seco y bajo atmosfera inerte (N₂), una vez adicionado el nitrógeno se agregaron 0.8 mL de piridina destilada. A la mezcla se fría se adicionaron 0.2 ml de cloruro de tionilo, y se dejó en agitación a temperatura durante 1.5 h.

Finalizada la reacción se agregaron 60 mL de cloroformo y 10 mL de una solución acuosa de HCl al 10%; después se dejó en agitación por 30 min. La fase orgánica se separó, se lavó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio (3 X 100 mL), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en un rotaevaporador.

6.1.9.1. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (**10a**)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 87%

Fórmula molecular: C₂₃H₂₈O₅

Peso molecular: 384

p.f: 215-217 °C.

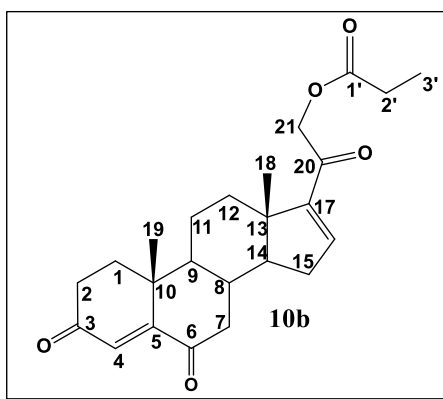
Espectro 46, pág. 81. UV (nm, ε=10500): 246

Espectro 43, pág. 80. IR (cm⁻¹): 2942 (C-H de CH₃ y CH₂); 1585 (C=C conjugado); 1677 (C=O cetona); 1745 (C=O de éster).

Espectro 44, pág. 80. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.98 (s, 3H) H-18; 1.20 (s, 3H) H-19; 2.18 (s, 3H) H-2'; 4.68 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.55 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 6.20 (1H, $J=2$ Hz) H-4; 6.76 (1H, $J=2$ Hz) H-16.

Espectro 45, pág. 81. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 17.85 (C-18), 18.00 (C-19), 20.59 (C-2'), 77.31 (C-21), 125.81 (C-4), 143.16 (C-16), 151.36 (C-17), 160.40 (C-5), 170.43 (C-1'), 196.35 (C-20), 190.34 (C-3), 201.26 (C-6).

6.1.9.2. Propiedades físicas y espectroscópicas de 21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)



Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 83%

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5$

Peso molecular: 398

p.f.: 212-215 $^{\circ}\text{C}$.

Espectro 50, pág. 83. UV (nm): 242

Espectro 47, pág. 82. IR (cm $^{-1}$): 2940 (C-H de CH_3 y CH_2); 1376 (C=C en C-5); 1056 (C-O en C-3); 1692 (C=O cetona); 1675, (C=O de éster).

Espectro 48, pág. 82. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0.99 (s, 3H) H-18; 1.20 (s, 3H) H-19; 1.65 (m, 3H) H-3'; 2.18 (s, 2H) H-2'; 4.68 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_a, 4.55 (d, 1H, $J=17$ Hz) H-21_b; 6.51 (1H, $J=2$ Hz) H-4; 6.72 (1H, $J=2$ Hz) H-16.

Espectro 49, pág. 83. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 17.87 (C-18), 18.30 (C-19), 20.60 (C-2'), 14.90 (C-3'), 78.19 (C-21), 127.13 (C-4), 147.80 (C-16), 151.38 (C-17), 157.87 (C-5), 170.47 (C-1'), 193.84 (C-20), 200.62 (C-3), 201.12 (C-6).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Síntesis química

La materia prima utilizada para iniciar la ruta de síntesis fue la 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (acetato de 16-dehidropregnenolona), la cual se hidrolizó y epoxidó en medio básico para obtener el compuesto **2**. La materia prima posee en su estructura dos dobles enlaces; sin embargo solo se requería epoxidar al inicio el doble enlace en C-16, el cual pertenece a un carbonilo α,β -insaturado y por lo tanto posee un carácter electrofílico. Por esta razón se utilizó H₂O₂ al 30% en medio básico a fin de generar el ion hidroperóxido que actuó como nucleófilo y reaccionó con el doble enlace mediante un mecanismo de adición 1,4 tipo Michael. Debido a que la cara β del esteroide se encuentra impedida estéricamente por el metilo angular en posición 19, la adición del ion hidroperóxido se llevó a cabo preferentemente por la cara α , produciendo el isómero α como producto principal. La formación de este epóxido en el enlace C16 y C17 tuvo como finalidad intensificar el carácter ácido de los protones α al carbonilo presentes en el C-20.²⁶

El siguiente paso de la ruta de síntesis consistió en la protección del grupo –OH de C-3 con cloruro de tertbutildimetilsililo (TBDMS) e imidazol. Esta reacción tuvo el objetivo de evitar la esterificación de esta posición en el siguiente paso de reacción, eludiendo así la formación de un producto secundario al momento de realizar esta reacción. Dado que el sistema que se quiere obtener en las estructuras de los dos productos finales es el de un éster en C-21 y no en C-3.

Para obtener el –OH en C-21 y poder incorporar así un éster en esta posición, se procedió a realizar una reacción de oxidación con diacetoxiyodobenceno en medio básico, obteniéndose el sistema α -hidroxi dimetil cetal.⁵⁰

El alcohol formado en C-21 se esterificó con anhídrido acético en piridina para obtener el derivado acetilado, y por otro lado para obtener el derivado del ácido propiónico se recurrió a una reacción de esterificación de Steglich.⁴⁹

La siguiente reacción fue la desprotección del alcohol en C-3, y se llevó a cabo en medio ácido, por lo que al mismo tiempo se desprotegió el cetal. El carbonilo α,β -

insaturado en C-20 se regeneró mediante una reacción de eliminación del epóxido empleando CrCl_2 ; cabe destacar que esta reacción es muy eficaz ya que de otro modo se tendrían que realizar dos pasos de reacción. El primero de ellos implicaría el uso de hidruro para abrir el epóxido y formar el alcohol, y el segundo la eliminación de éste para formar la conjugación.

Las modificaciones posteriores se realizaron en los anillos A y B del esteroide. Primero se epoxidó la doble ligadura en C-5 utilizando ácido m-cloroperoxibenzoico, debido a que ésta doble ligadura es nucleofílica, y en seguida se oxidó éste grupo con trióxido de cromo (VI), formándose así una α -hidroxicetona.

Los compuestos deseados con los tres carbonilos α,β -insaturados en el núcleo esteroideal se obtuvieron finalmente mediante una reacción de eliminación del alcohol terciario presente en la estructura del compuesto **9** usando cloruro de tionilo y piridina.

7.1.1. Materia prima 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (**1**)

La materia prima acetato de 16-dehidropregnenolona, es un compuesto comercialmente disponible y se recristaliza de metanol obteniéndose cristales blancos. Este esteroide es muy versátil debido a que representa el punto de partida para la mayoría de los esteroides derivados de pregnano, al presentar la estructura necesaria para incorporar grupos funcionales y transformarse en una gran variedad de productos (figura 7.1). Los datos espectroscópicos fueron tomados de la literatura (Tablas 7.1).¹⁵

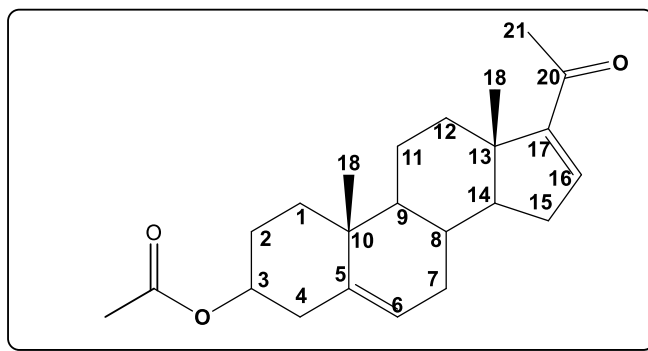


Figura 7.1. Estructura del acetato de 16-dehidropregnenolona.

Tabla 7. 1. Datos reportados de IR para el acetato de 16-dehidropregnenolona.

Asignación	Valor (cm ⁻¹)
C-H de CH ₃ y CH ₂	2941.04
C-H de CH ₃ y CH ₂	2865.06
C=O de éster en C-3	1728.30
C=O α, β-insaturada en C-20	1662.87
C=C conjugado en C-16	1583.66
CH ₃ -CO en C-20	1433.87
C-O-C de CH ₃ COO en C-3	1236.34

7.1.2. Caracterización de 16α,17α-epoxi-3β-hidroxi-5-pregnen-20-ona (2)

La inserción de un grupo oxirano en la molécula implicó la epoxidación de la doble ligadura de C-16, la cual se vio favorecida por la presencia de la conjugación con la cetona en C-20. Por ende los principales cambios en la estructura de la materia prima implicaron la hidrólisis del grupo acetoxi en C-3 y la inserción del epóxido.

Tabla 7.2. Señales de IR (cm⁻¹) para los intermediarios sintetizados 2-5.

	Compuesto			
	IR (cm ⁻¹)			
	2	3	4	5
OH en C-3	3343	-	-	-
C=C en C-5	1634	1659	1666	1667
C-O-C de epoxi	1045	1083	1070	1072
C=O en C-20	1690	1698	-	-
-OH en C-21	-	-	3596	-
Éster	-	-	-	1748

En el espectro IR se observó la presencia de una banda de intensidad media en 1045 cm⁻¹ asignada al epóxido presente en el enlace C16 y C17, así como la presencia de la banda en 3343 cm⁻¹ (tabla 7.2) correspondiente al alcohol.

Con respecto espectroscopia de RMN ¹H los principales cambios pudieron manifestarse por la presencia de una señal en 3.91 ppm perteneciente al protón del alcohol que no estaba presente en la materia prima. Así como el

desplazamiento a campo alto de la señal del protón vinílico en C-16, debido a la transformación de la doble ligadura de C-16 en un grupo oxirano, con una señal en 2.13 ppm (tabla 7.4) que integró para un protón.

Tabla 7.3. Datos de RMN ^{13}C de los intermediarios 2-5.

	Compuesto			
	RMN ^{13}C (ppm)			
	2	3	4	5
C-3	77.06	71.59	77.08	77.09
C-Si	-	30.55	30.51	30.52
(CH ₃) ₃ C-Si	-	23.94	23.91	25.21
C-5	141.12	146.49	146.38	146.32
C-6	120.95	125.04	125.27	125.35
C-16	60.49	65.10	63.04	63.24
C-17	71.59	75.64	74.22	73.37
C-20	204.92	209.46	125.07	125.35
C-21	27.51	25.02	54.90	66.55
C-1'	-	-	-	174.89
C-2'	-	-	-	23.92

En espectroscopia de RMN ^{13}C las señales características de un carbono vinílico (sp^2) de C-16 y C-17 de la doble ligadura en la materia prima desaparecieron y en su lugar se observaron las señales de 60.49 ppm, 71.59 ppm (tabla 7.3) correspondientes a los carbonos del grupo oxirano C-16, C-17.

7.1.3. Caracterización de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -tertbutildimetilsililoxi-5-pregnen-20-ona (3)

La reacción para la obtención del compuesto **3** implicó la protección del grupo $-\text{OH}$ con TBDMS en el C-3, mediante un mecanismo de sustitución nucleofílica ($\text{S}_{\text{N}}2$). Por otra parte el éter formado es estable en disoluciones básicas, propiedad útil ya que las reacciones subsecuentes se realizaron en medio básico.

El principal cambio que se observó en espectroscopia de IR fue la ausencia de la banda característica del $-\text{OH}$ secundario de C-3 (espectro 4, pág. 60).

Con respecto a espectroscopia de RMN ^1H el cambio principal se observó por la falta de la señal del protón del alcohol en C-3. También por la presencia de las señales pertenecientes a los protones del grupo protector como son los protones del grupo tert-butilo que integraron para nueve protones, produciendo un desplazamiento de 0.58 ppm. Así también como un desplazamiento de 0.83 ppm (tabla 7.4) perteneciente a los metilos unidos al C-Si; los cuales fueron químicamente equivalentes.

Tabla 7.4. Datos de RMN ^1H de los intermediarios 2-5.

	Compuesto			
	RMN ^1H (ppm)*			
	2	3	4	5
H-3	3.53(m,1H)	3.62(m,1H)	3.27 (m,1H)	3.48 (m,1H)
H de $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$	-	0.58(m,6H)	0.67 (m,6H)	0.73 (m,6H)
H de $(\text{CH}_3)_3\text{C-Si}$	-	0.83(m,9H)	0.84 (m,9H)	0.89 (m,9H)
H-6	5.33 (d,1H,J=5.1Hz)	5.24 (d,1H,J=4.9Hz)	5.25 (d,1H,J=4.9Hz)	5.30 (d,1H,J=5.0Hz)
H-16	2.13(s,1H)	2.10(s,1H)	2.18 (s,1H)	2.10 (s,1H)
H de cetal	-	-	3.24 (m,3H)	3.23 (m,3H)
H-21	2.21(m,3H)	2.26(m,3H)	3.47 (1H,d,J=17.5Hz,21 _a) 3.24 (1H,d,J=17.5Hz,21 _b)	4.24 (1H,d,J=16Hz,21 _a) 4.16 (1H,d,J=16Hz,21 _b)
-OH en 3	3.91(s,1H)	-	-	-
-OH en 21	-	-	3.58(s,1H)	-
H-2'	-	-	-	2.06(m,3H)

*Desplazamiento químico (δ ppm), constante de acoplamiento (Hz) y número de protones.

Por otro lado se mantuvieron algunas de las señales del compuesto **2** entre ellas se encuentran las siguientes: la presencia de las señales características de los protones de los metilos angulares de C-18 y C-19 (0.99 ppm y 1.09 ppm, espectro 5, pág. 61) que integraron para tres protones cada una; la señal del protón H-16 en 2.10 ppm que integró para un protón; otra señal en la zona de los protones vinílicos en donde se observa un doblete en 5.24 ppm correspondiente al acoplamiento vecinal de C-6 (tabla 7.4).

En espectroscopia de RMN ^{13}C se observaron las señales de los metilos del grupo protector (23.94 ppm, tabla 7.3), así como una señal correspondiente a C-Si de este mismo grupo en 30.55 ppm. La señal de C-3 se desplazó ligeramente a campo alto (77.06 ppm).

7.1.4. Caracterización de 16 α ,17 α -epoxi-21-hidroxi-20-dimetoxi-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen (4)

La siguiente reacción implicó la oxidación de la posición C-21 en condiciones básicas, en donde se obtuvo un alcohol primario en la posición C-21 e inherente al mecanismo de reacción se formó un cetal en la posición C-20. Por lo tanto las principales diferencias encontradas entre los compuesto **3** y **4** se pueden apreciar en el IR, por la presencia de una banda característica de un alcohol en 3496 cm^{-1} (tabla 7.2) y la falta de la señal de C=O pertenecientes a la cetona de C-20 (1698 cm^{-1}).

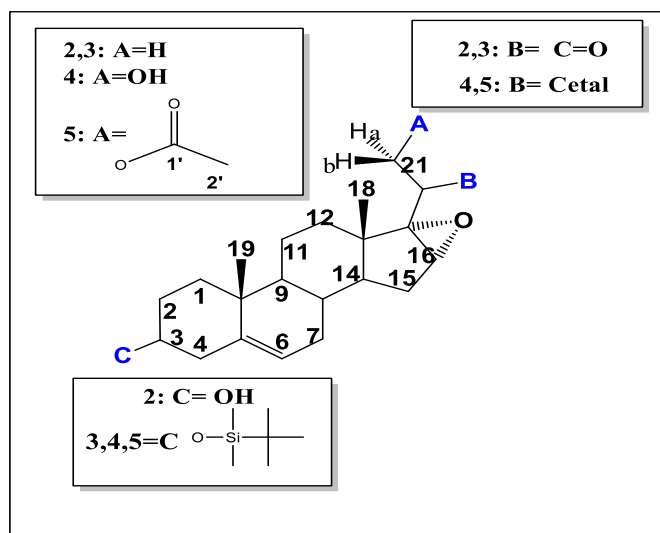


Figura 7.2. Estructura general de los intermediarios sintetizados **2-5**.

Los cambios principales que se pudieron apreciar con respecto a espectroscopia de RMN ^1H fueron la presencia de una señal perteneciente al $-\text{OH}$ en C-21 con un desplazamiento en 3.58 ppm (tabla 7.4) que integró para un protón. Así como las señales correspondientes a los dos protones de C-21 que no son químicamente equivalentes (H_a y H_b en la figura 7.2), por lo que presentaron desplazamientos químicos distintos, asignados en 3.47 ppm y 3.24 ppm respectivamente.

Con respecto a espectroscopia de RMN ^{13}C , las señales que muestran los cambios principales corresponden principalmente al desplazamiento de la señal de C-20 a campo alto, (125.07 ppm tabla 7.3) al ya no pertenecer a un desplazamiento de carbono de carbonilo, sino a un carbono sp^3 , al formarse el cetal en esta posición. Así como el desplazamiento a campo bajo de la señal de C-21 en 54.90 ppm debido a la presencia del alcohol.

7.1.5. Caracterización de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutildimetilsililoxi-5-pregnen (5a)

El compuesto **4** fue esterificado en la posición C-21 después de la obtención del $-\text{OH}$ en esta posición. Por lo tanto la señal de IR del $-\text{OH}$ fue remplazada por la banda característica de un éster (1748 cm^{-1} , tabla 7.2).

Con respecto a espectroscopia de RMN ^1H la señal de $-\text{OH}$ presente en el intermediario **4** ya no se puede apreciar en el espectro del compuestos **5a**, además aparece una nueva señal a campo alto en un desplazamiento de 2.06 ppm (tabla 7.4) asignada al metilo del éster en C-21 que integró para tres protones.

Las señales presentes en el espectro de RMN ^{13}C correspondientes a la inserción del éster se observaron a campo bajo para el carbonilo del éster con un desplazamiento en 174.89 ppm y otra señal a campo alto en 23.92 ppm (tabla 7.3), asignada al metilo del éster.

7.1.6. Caracterización de los derivados de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona (6a y 6b)

Para la obtención de los compuestos **6a y 6b** se desprotegieron las posiciones de C-3 y C-20 utilizando ácido clorhídrico para regenerar el hidroxilo en C-3 y la cetona en C-20. Por ende, en el espectro de IR se presentó nuevamente la banda característica de un alcohol (3566 cm^{-1} y 3326 cm^{-1} para **6a y 6b** respectivamente). En la zona de los carbonilos se observan las bandas del carbonilo en C-20 (1454 cm^{-1} , 1452 cm^{-1}) y carbonilo del éster (1754 cm^{-1} , 1744

cm^{-1} , tabla 7.5) así como una banda de C-O-C del epóxido en 1089 cm^{-1} y en 1057 cm^{-1} .

Tabla 7.5. Señales de IR (cm^{-1}) para los compuestos **6-10**.

IR (cm^{-1})	Compuesto									
	6		7		8		9		10	
	a	b	a	b	A	b	A	b	A	b
-OH en C-3	3566	3326	3464	3486	3446	3492	-	-	-	-
C=O de éster de C-21	1754	1744	1729	1732	1749	1729	1748	1750	1745	1745
C=CH de C5 y C6	3030	3026	3031	3040	-	-	-	-	-	-
C-O-C epóxido C16- C17	1089	1057	-	-	-	-	-	-	-	-
C=O en C-20	1435	1452	1677	1676	1677	1679	1681	1678	1677	1677
-OH en C-5	-	-	-	-	-	-	3346	3327	-	-
C-O-C de epóxido en C5- C6	-	-	-	-	1076	1074	-	-	-	-
C=O en C-3 y C-6	-	-	-	-	-	-	-	-	1667	1667
CH=C de C4-C5	-	-	1584	1580	1581	1582	1582	1572	3051	3051
C=C conjugado en C-16	-	-	-	-	-	-	-	-	1585	1585

Con respecto a espectroscopia de RMN ^1H se observó una señal en 3.79 ppm (tabla 7.6) perteneciente al protón del alcohol ausente en espectro del compuesto **5**.

La señal principal en espectroscopia de RMN ^{13}C evidencia de la eliminación del cetal en C.20, fue el remplazo del carbono sp^3 por un carbono de carbonilo, manifestándose el cambio por desplazamiento de la señal a campo bajo debido a la presencia del grupo carbonilo (205.94 ppm, tabla 7.7).

7.1.7. Caracterización de los derivados de **3 β -hidroxi-5,16-pregnadien-20-ona (7a y 7b)**.

Para la obtención de los compuestos **7a y 7b** se eliminó el epóxido del enlace C16 y C17, con cloruro de cromo (II), regenerando el carbonilo α - β -insaturado. Lo cual se manifestó en el espectro de IR, en la zona de los carbonilos, por la presencia de una banda en 1677 cm^{-1} , 1676 cm^{-1} (tabla 7.5) respectivamente, así como de una banda de intensidad media en 1584 cm^{-1} , 1580 cm^{-1} que indicó la presencia de un doble enlace conjugado.

En el espectro de UV se observaron los máximos de absorción correspondientes al carbonilo α,β -insaturado en C-20, con los valores de 239 nm, 202 nm y 239 nm, 203 nm respectivamente (espectro 22, pág. 69 y espectro 26, pág. 71).

Tabla 7.6. Datos de RMN ^1H de los compuestos **6-8**.

Compuesto						
RMN ^1H (ppm) *	6		7		8	
	A	b	A	b	A	b
H-3	3.48(m,1H)	3.53(m,1H)	3.51(m,1H)	3.29(m,1H)	3.45(m,1H)	3.43(m,1H)
H-4	1.70(m,2H)	1.71(m,2H)	1.60(m,2H)	1.77(m,2H)	1.32(m,2H)	1.37(m,2H)
H-6	5.32 (d,1H, $J_f=14.5\text{Hz}$,)	5.31 (d,1H, $J_f=14.5\text{Hz}$,)	5.54 (d,1H, $J_f=14.5\text{Hz}$,)	5.34 (d,1H, $J_f=14.5\text{Hz}$,)	2.89(s,1H)	2.91(s,1H)
H-16	2.30(s,1H)	2.43(s,1H)	6.71(s,1H)	6.75(s,1H)	6.69(s,1H)	6.72(s,1H)
H-21	4.69 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_a$)	4.66 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_b$)	4.79 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_a$)	4.93 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_a$)	4.83 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_a$)	4.86 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_b$)
	4.80 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_b$)	4.53 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_b$)	4.49 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_b$)	4.90 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_b$)	4.79 (1H,d, $J=17\text{Hz},21_b$)	4.82 (1H,d, $J=16\text{Hz},21_b$)
H-2'	2.21(s,3H)	2.24(s,2H)	2.26(s,2H)	2.50(s,2H)	2.46(s,2H)	2.13(s,2H)
H-3'	-	1.30(s,3H)	-	1.35(s,3H)	-	2.21(s,3H)
-OH en 3	3.79(s,1H)	3.78(s,1H)	3.76(s,1H)	3.80(s,1H)	3.87(s,1H)	3.87(s,1H)

* Desplazamiento químico (δ ppm), constante de acoplamiento (Hz) y número de protones.

En espectroscopia de RMN ^1H se observó un desplazamiento de la señal del protón de C-16 hacia campo bajo, presentándose una señal en zona de los protones vinílicos de 6.69 ppm, 6.72 ppm (tabla 7.6) respectivamente para cada uno de los espectros de los compuestos.

Con respecto a espectroscopia de RMN ^{13}C , los cambios principales pueden apreciarse en las señales pertenecientes a los C-16 y C17, debido a la transformación del grupo oxirano en un doble enlace conjugado. Ocurrió entonces un desplazamiento de las señales de estos carbonos hacia campo alto (151.77 ppm y 152.82 ppm respectivamente, tabla 7.7).

7.1.8. Caracterización de los derivados de 5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-16-pregnen-20-ona (8a, 8b).

En el siguiente paso de síntesis se epoxidó la doble ligadura de C-5 con ácido *m*-cloroperoxibenzoico (ácido *m*-CPB), este peroxiácido posee un átomo de oxígeno en el grupo-OH de carácter electrofílico, por lo que reacciona con el doble enlace del anillo B del núcleo esteroideal. Por lo tanto en el espectro de IR se observó una banda en 1076, 1074 cm⁻¹ respectivamente (tabla 7.5) perteneciente a C-O-C del epóxido formado.

Tabla 7.7. Datos de RMN ¹³C para compuestos 6-8.

RMN ¹³ C (ppm)	Compuesto					
	6		7		8	
	A	b	A	b	a	b
C-3	77.05	74.42	77.01	76.99	76.97	77.00
C-4	42.14	42.12	42.21	42.25	42.13	42.16
C-5	141.10	138.53	141.36	141.37	62.17	68.62
C-6	120.88	118.32	120.80	120.91	65.60	65.86
C-16	61.56	63.18	143.36	143.36	143.70	143.63
C-17	81.80	77.05	151.77	151.77	151.77	151.83
C-20	205.94	196.61	190.54	190.62	190.46	190.65
C-21	65.46	68.58	65.62	65.62	65.60	65.46
C-1'	170.40	171.25	170.43	170.43	170.40	173.84
C-2'	20.42	24.52	20.57	20.62	20.55	20.32
C-3'	-	12.55	-	15.84	-	15.84

En espectroscopia de UV-visible se observaron máximos de absorción en 239 nm, 203 pertenecientes a la conjugación en C-20.

En espectroscopia de RMN ¹H se observó la ausencia de la señal correspondiente al protón vinílico en C-6, dado su desplazamiento a campo alto apreciándose una señal que integró para un protón en C-6 del epóxido (2.89 ppm, 2.91 ppm, tabla 7.6).

En cuanto a espectroscopia de RMN ¹³C los desplazamientos de las señales pertenecientes a los C-5 y C-6 sufrieron un cambio perceptible al desplazarse hacia campo alto. Esta señales se observaron en 62.17 ppm y 68.82 ppm (tabla

7.7) respectivamente en los espectros de los compuestos **8a** y **8b** para C-5; 65.57 ppm, 65.86 ppm para C-6.

7.1.9. Caracterización de los derivados de 5-hidroxi-16-pregnen-3,6,20-triona (**9a**, **9b**)

La oxidación de los anillos A y B dio como resultado la formación de un sistema α -hidroxicetona pudiéndose observar en el espectro de IR una banda característica de un grupo hidroxilo en 3346, 3327 cm^{-1} respectivamente para cada compuesto. Así como las bandas características de un grupo carbonilo de cetona en 1681, 1678 cm^{-1} (tabla 7.5) respectivamente.

En el espectro de UV se muestran máximos de absorción correspondientes al sistema α,β -insaturado en C-20, con valores de 238 y 231 nm respectivamente (espectro 38, pág. 77 y espectro 42, pág. 79).

Tabla 7.8. Datos de RMN ^1H , para los compuestos finales **9-10**.

RMN ^1H (ppm)	Compuesto			
	9		10	
	a	B	a	B
H-4	2.81(m,2H)	3.13(m,2H)	6.20(s,1H)	6.51(s,1H)
H-16	6.76(s,1H)	6.67(s,1H)	6.76(s,1H)	6.72(s,1H)
H-21	4.99 (1H,d,J=17Hz,21 _a) 4.85 (1H,d,J=16Hz,21 _b)	4.99 (1H,d,J=17Hz,21 _a) 4.85 (1H,d,J=16Hz,21 _b)	4.90 (1H,d,J=17Hz,21 _a) 4.68 (1H,d,J=17Hz,21 _b)	4.90 (1H,d,J=17Hz,21 _a) 4.68 (1H,d,J=17Hz,21 _b)
H-2'	2.16 (m,2H)	2.16 (m,2H)	2.12(m,2H)	2.53(m,2H)
H-3'	-	1.64(m,3H)	-	1.20(m,3H)
-OH en 5	6.69(s,1H)	6.69(s,1H)	-	-

La señal más representativa en RMN ^1H fue la perteneciente al protón del grupo hidroxilo en C-5, ausente en el espectro del compuesto **8**.

En espectroscopia de RMN ^{13}C se observó la señal correspondiente a C-3 con un desplazamiento hacia campo bajo (210.05, 209.05 ppm respectivamente para los compuestos **9a**, **9b**, tabla 7.9) debido al remplazo del carbono unido a un alcohol

por un carbono de grupo carbonilo. Además de dos desplazamientos hacia campo bajo debido a la oxidación del grupo oxirano de C5-C6; en la señal perteneciente a C-5 ocurrió un desplazamiento ligero por la inserción de un alcohol en esta posición (82.68, 81.78 ppm, tabla 7.9) y en la señal correspondiente a C-6 se observó un desplazamiento más apreciable (210.27, 210.05 ppm, tabla 7.9).

7.1.10. Caracterización de los derivados de 4,6-pregnadien-3,6,20-triona

Con la eliminación del alcohol terciario en C-5 se sumaron tres carbonilos α,β -insaturados en la molécula final. Por lo tanto en el espectro de IR se puede apreciar la presencia de las bandas características de esta conjugación particular con bandas en 1677 cm^{-1} , 1585 cm^{-1} (tabla 7.5).

En el espectro de UV se muestran máximos de absorción correspondientes al sistema α,β -insaturada en C-20, con valores de 242 nm (espectros 46, pág.81 y espectro 50, pág. 83).

Tabla 7.9. Datos de RMN ^{13}C para los compuestos finales 9-10.

RMN ^{13}C (ppm)	Compuesto			
	9		10	
	a	b	A	b
C-3	210.27	209.05	190.34	200.62
C-4	47.2	48.27	125.81	127.13
C-5	82.68	81.78	160.40	157.87
C-6	210.27	210.05	201.26	201.12
C-16	151.57	150.63	143.16	147.80
C-17	143.43	142.30	151.36	142.80
C-20	190.43	189.58	196.35	193.84
C-21	77.30	76.31	77.31	78.19
C-1'	170.43	172.88	170.3	170.47
C-2'	20.48	20.22	20.59	20.60
C-3'	15.88	14.92	15.84	14.90

En espectroscopia de RMN ^1H se observó un desplazamiento de la señal perteneciente al protón del de C-4 y que integró para un protón, hacia campo bajo debido a la formación del enlace doble (6.20, 6.51 ppm, tabla 7.8).

En espectroscopia de RMN ^{13}C se observaron las señales correspondientes a los C-4 y C-5 con un desplazamiento hacia campo bajo debido al remplazo de los carbonos sp^3 por los carbonos sp^2 (125.81, 160.40 ppm; 127.13, 157.87 respectivamente, tabla 7.9).

CONCLUSIONES

- Se sintetizaron doce intermediarios, de los cuales diez no han sido reportados anteriormente en la literatura, los rendimientos obtenidos se encuentran entre 60 y 98% considerándose buenos rendimientos.
- Se sintetizaron dos compuestos finales con tres carbonilos α,β -insaturados en el núcleo esteroidal, los cuales fueron **21-acetoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10a)** y **21-propionoxi-4,16-pregnadien-3,6,20-triona (10b)**, con rendimientos de 87 y 83%.
- Todos los compuestos sintetizados se caracterizaron física y espectroscópicamente, logrando de esta manera cumplir con los objetivos del presente trabajo.

PERSPECTIVAS

Con la finalidad de observar si los compuestos sintetizados en este proyecto poseen o no actividad sobre la enzima 5 α -R, se pretende realizar en un futuro la evaluación de su actividad biológica. Lo cual implica la obtención de resultados con las cuales se evaluará la actividad antiandrogénica o inhibición de la enzima 5 α -R de los compuestos finales y/o de los intermediarios mediante los ensayos siguientes: como primera etapa de evaluación biológica se obtendrán resultados de evaluación de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer de próstata humano (PC-3), cáncer de mama (MCF-7), y cáncer de pulmón (SKLU-1).

Para posteriormente someter los compuestos sintetizados a evaluación de inhibición *in vitro* de la enzima 5 α -reductasa de próstata de cadáver humano, afinidad por el receptor androgénico, e inhibición *in vivo* del crecimiento de la próstata en hámster castrados. Y poder entonces relacionar los resultados de actividad biológica obtenidos en el último ensayo, con la incorporación del grupo éster y los carbonilos α,β -insaturados en el núcleo esteroidal.

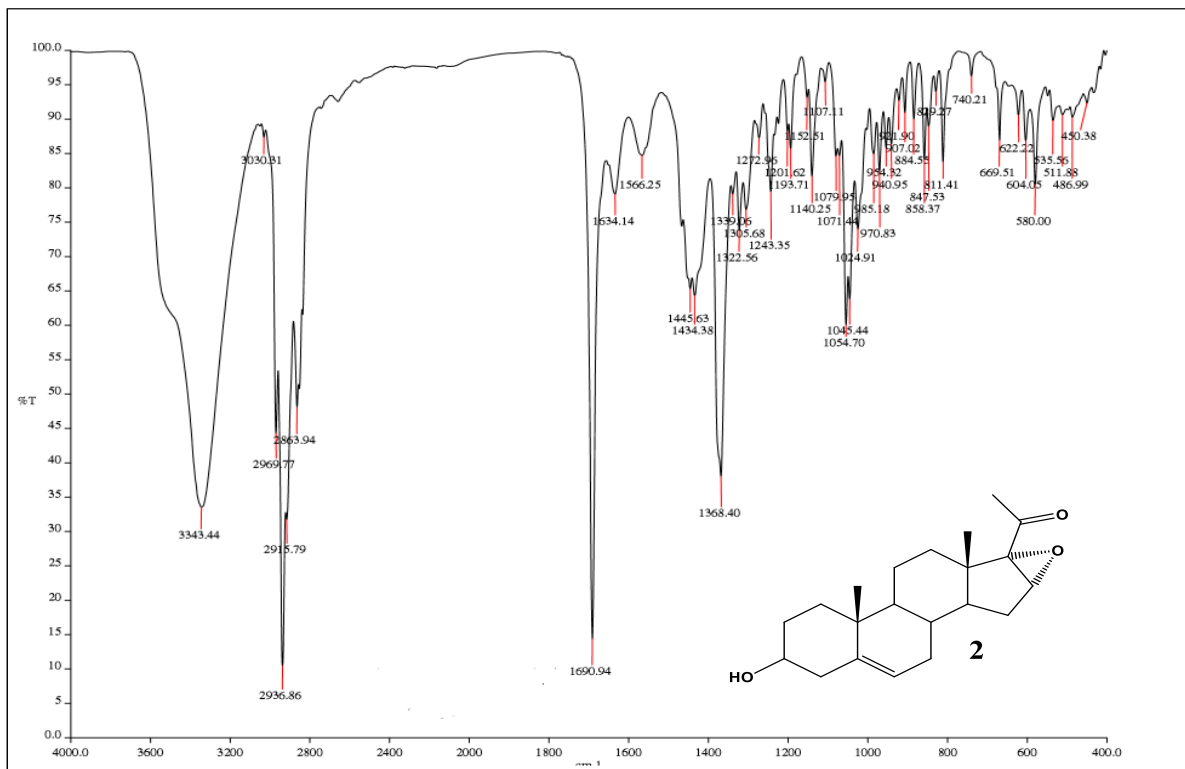
BIBLIOGRAFÍA

1. Salvador A.R., Rui M.A., Silvestre M. *Steroidal 5 α -reductase and 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17) inhibitors useful in the treatment of prostatic diseases.* J. Steroids Biochem & M. B. **2013**, 137, pp 199-222.
2. Gormley GJ, Stoner E. *The effect of finasteride in men with benign prostatic hyperplasia.* N Engl J Med. **1992**, 327, pp 1185- 1191.
3. Nelson WG. *Prostate cancer prevention.* Current Opinion in Urology. **2007**, 17, pp 157-167.
4. Rasmusson, G.H. *Azasteroids: Structure activity relationships for inhibition of 5 α -reductase and androgen receptor binding.* J. Med. Chem. **1986**, 29, pp 2298-2315.
5. Campell Wein J.A. *Urology.* 9^a edición, editorial medicapanamericana, **2007**, pp-2864.
6. J Hudak, Hernandez J and M. Thompson. *Role of 5 α -reductasa inhibitors in the management of prostate cancer.* Clinin Terv Aging. **2006**, 1(4), pp 425-431.
7. Debes, J.D. Tindall, D.J. *The role of androgens and the androgen receptor in prostate cancer.* C. Letters. **2002**, 187, pp 1-7.
8. Roy J, Fournier M.A., Maltais R. *In vitro and in vivo evaluation of a 3 β -androsterone derivative as inhibitor of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3.* J of Steroid Biochem & M. B. **2014**, 141, pp 44-51.
9. Mirone V. I. *Androgens and Benign Prostatic Hyperplasia.* European Urol. Suppl. **2006**, 5, pp 410- 417.
10. Hipalla, R.A., Liao, S. *Molecular mechanism of androgen action.* T. Endo. and metabolism. **2001**, 86, pp 3467-3477.
11. Guyton, A.C., Hall, J.E. *Tratado de Fisiología Medica.* Décima edición, McGraw-Hill Interamericana, México, **2001**. Capítulos 74, 80.
12. Bennet Nigel C., Gardiner R.A., Hopper D. *Molecular cell biology of androgen receptor signalling.* The international J. of Biochem. **2010**, 42, pp 813-817.
13. Roger S. Rittmaster. *5 α -reductase inhibitors in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer risk reduction.* C. Endo. & Metabolism. **2008**, 22(2), pp 389-402.
14. Moss G.P. *Nomenclature of steroids.* Pure & App. Chern, **1989**, 61(10), pp 1783-1822.
15. Chávez Riveros. *Síntesis y evaluación biológica de nuevos inhibidores de la enzima 5 α -reductasa basados en el esqueleto del pregnano con un éster en C-3.* Tesis de Maestría, UNAM, México **2012**.

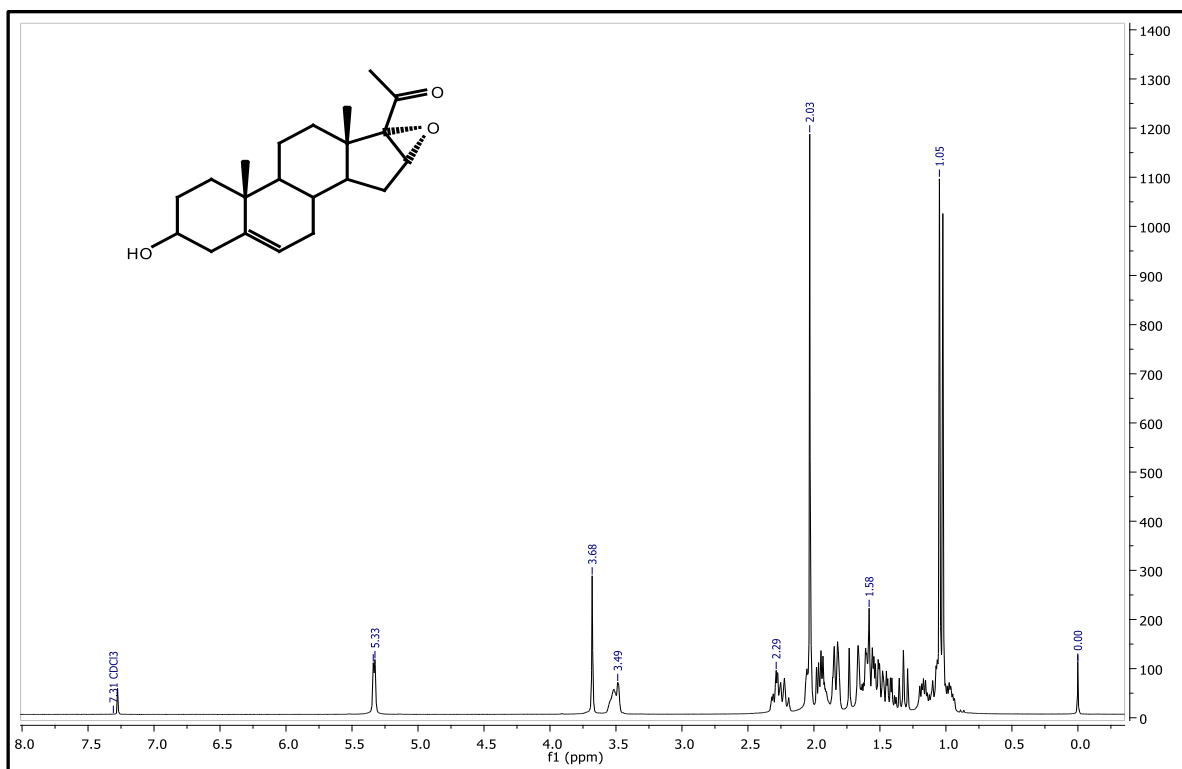
16. Cortés Benítez. *Síntesis y evaluación biológica de derivados de dehidroepiandrosterona con un grupo azol en C-17 como antiandrógenos*. Tesis de Maestría, UNAM, México **2013**.
17. Pienta and Bradley D. *Mechanisms Underlying the Development of Androgen-Independent Prostate Cancer*. J.Clin Cancer. **2006**, 12(6), pp 1665-1670.
18. Nieder J. *Abeloff's clinical oncology*. Fifth edition. Elsevier, 2014 .Chapter 84: 1463-1493.
19. Dreicer R., Bajorin D.F., McLeod D.G., Petrilak D.P., Moul J.W .*New data, new paradigms for treating prostate cancer patients-VI: novel hormonal therapy approaches*. Urology, **2011**, 78, pp 494-498.
20. a) Siegel R., Naishadham D., Jamal A. *Cancer Statistics 2012*. CA. Cancer J. Clin., **2012**, 62, pp 10-29.
21. Poirier D. *New cancer drugs targeting the biosynthesis of estrogens and androgens*. Drug. Dev. Res. **2008**, 69, pp 304-318.
22. a) Bratoeff E., Cabeza M., Pérez Ornelas, Recillas S, Heuze. *In vivo and in vitro effects of novel 4,16-pregnadiene-6,20-dione derivatives , as 5 α -reductase inhibitors*. J. of steroid& Biochem M.B. **2008**, 111, pp 275-281. b) García Guzmán. *Síntesis de derivados de la progesterona con un grupo éster en C-17 como antiandrógenos*. Tesis de licenciatura, UNAM, México **2009**.
23. Cohen S.A., Parsons J.K. *Combination pharmacological therapies for the management of benign prostatic hiperplasia*. Drugs and Aging. **2012**, 29, pp 495-512.
24. Koivisto P., Kolmer M., Visakorpy T., Kallioniemi O.P. *Androgen receptor gene and hormonal therapy failure and prostate cancer*. American J. Pathol. **1998**, 152, pp 1-9.
25. Yen, S., Jaffe, R., *Endocrinología de la reproducción: fisiología, fisiopatología y manejo clínico*, Tercera edición, Panamericana, España, **1993**, pp 123-135.
26. Ramírez López. *Síntesis de 17 α -aciloiloxi derivados del pregnano con un sustituyente en C-16-Beta como antiandrógenos*. Tesis de doctorado, UNAM, México **2002**.
27. Li.X, Chen, Singh S.M, Labrie F. *The enzyme and inhibitors of 4-ene-3-oxoesteroid 5 alpha-oxidoreductase*. Steroids. **1995**, 60(6), pp 430-41.
28. Sun J., Xiang H., Yang L.L., Chen J.B. *A review on steroidal 5 α -reductase inhibitors for treatment on benign prostatic hyperplasia*. C. M. Chem. **2011**, 18, pp 3576-3589.
29. Aggarwal S., Tharejaa S., Verma A., Bhardwaj T.R, Kumar M. *An overview on 5 α -reductase inhibitors*. Steroids. **2010**, 75(2), pp 109-153.

30. Silva Ortiz. *Síntesis y evaluación biológica de derivados de dehidroepiandrosterona con un carbazol y un triazol en C-17 como posibles antiandrógenos*. Tesis de Maestría, UNAM, México **2013**.
31. Moreira, V.M. Salvador J.A.R., Vasaitis T.S., Njar V.C., *CYP17 inhibitors for prostate cancer treatment an update*. C.M. Chem. **2008**, 15, pp 868-869.
32. Cappetta M. E. y Stengel F. M. *Inhibidores de 5 α -reductasa*. Arch. Argent. Dermatol. **2013**, 63, pp 45-49.
33. Zambrano Huerta. *Síntesis de nuevos 17 α -aciloiloxi-4,6-pregnadien-3,20-dionas con y sin un átomo de cloro en C-6*. Tesis de Maestría, UNAM, México **2008**.
34. Platz E.A., Giovannucci E. *The epidemiology of sex steroid hormones and their signaling and metabolic pathways in the etiology of prostate cancer*. J. Steroid Biochem and Mol. Biol. **2004**, 92, pp 237-257.
35. Guardana, A. *19 Nor-10 Azasteroids: a novel class of inhibitors of human steroid 5 - reductase 1 and 2*. J. Med. Chem. **1997**, 40, pp1112-1119.
36. Kurup A. *Comparative QSAR analysis of 5 α -reductase inhibitors*. Chem. Rev. **2000**, 100, pp 909-924.
37. Frye, S.V. *6-Azasteroids: Structure-activity relationships for the inhibition of type 1 and 2 human 5 α -reductase and human adrenal 3 β -hidroxi- Δ 5-steroid dehydrogenase / 3-keto- Δ 5-steroid isomerase*. J. Med. Chem. **1994**, 37, pp 2352-2360.
38. Valencia, I.N. *Síntesis de derivados del pregnano con un grupo fenilo en configuración β en C-16 como antiandrógenos potenciales para el tratamiento de cáncer de próstata*. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, **1997**.
39. Ramírez E. *Synthesis and pharmacological evaluation of new 16-methyl pregnane derivatives*. Chem. Pharm Bull. **2002**, 50, pp 15-20.
40. Cabeza M., et al. *New Progesterone derivatives as inhibitors of 5 α -reductase enzyme and prostate cancer cell growth*. J. of Enzyme inhibition and Med. Chem. **2006**, 2(4), pp 371-378.
41. Murillo C., *Síntesis de derivados del pregnano con actividad antiandrogénica potencial, 17 α -Benzoiloxi-4-halo-pregnen-3,20-diona*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **1999**.
42. Cabeza M., Miranda G., Bratoeff E., Flores G., Ramírez E. *Androgenic and anti-androgenic effects of progesterone derivatives with different halogens as substituents at the C-6 position*. Steroids, **1999**, 64, pp 413-421.

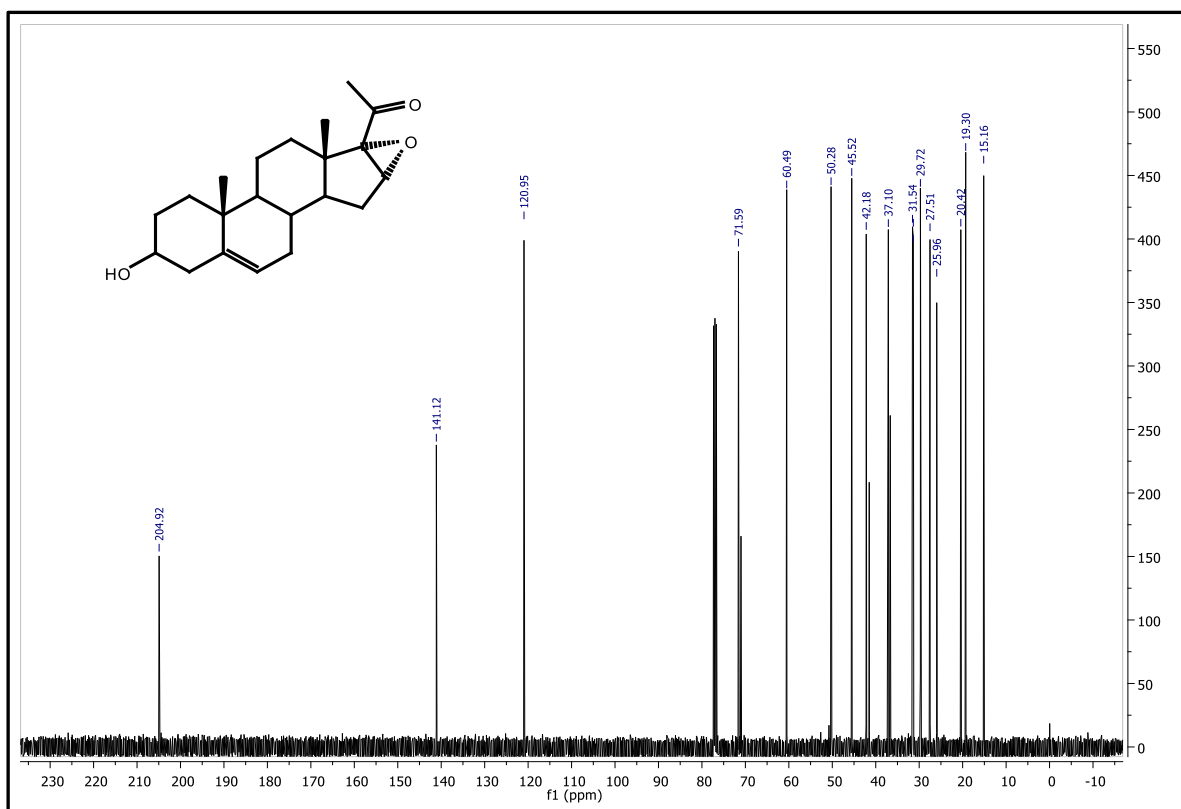
43. Bratoeff E., Flores G., Ramirez E., Valencia N. *The pharmacology of the antiandrogens*. *Chimica OGGI*, **1997**, 8, pp 67-69.
44. Bratoeff E., Trejo A., Hernández J., Sánchez, P. *Síntesis de derivados del pregnano con un grupo metilo en posición C-16*. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, **1992**, 22(14), pp 93.
45. Calderón D., Bratoeff E. Ramirez E. *Antiandrógenos más usuales, reflexiones sobre la síntesis orgánica*. *Rev. Mex. Cienc. Farm*, **1997**, 28(1), pp 24-29.
46. Cabeza M., Miranda G., Bratoeff E., Flores G., Ramírez E., Androgenic and antiandrogenic effects of progesterone derivatives with different halogens as substituents at the C-6 position, *Steroids*, **1999**, 64, pp 413-421.
47. Pérez-Ornelas, Cabeza M., Bratoeff E., Heuze I., Sánchez M., Ramírez E. *New 5 α -reductase inhibitors: in vitro and in vivo effects* *Steroids*. **2005**, 70 (3), pp. 217–224.
48. Mendoza Jasso. *Obtención de nuevos 16-haloderivados de la pregnenolona con potencial actividad biológica*. Tesis de licenciatura, UNAM, México **2012**.
49. Neises B., Steglich W. *Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids*. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1978**, 17, pp 522-524.
50. Moriarty R. M., and Prakash O.M. *Hypervalent Iodine in Organic Synthesis*. *Acc. Chem. Res.* **1986**,19, pp 244-250.



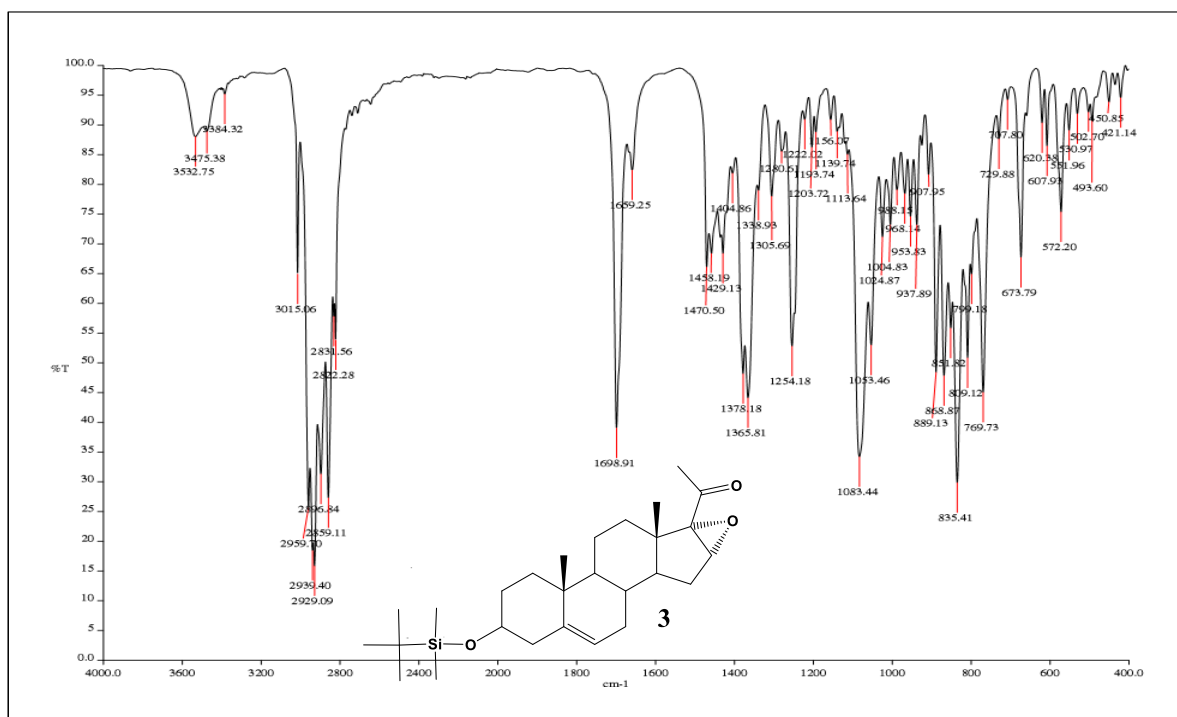
Espectro 1. IR de 3β -hidroxi- $16\alpha,17\alpha$ -epoxipregna-5-en-20-ona (**2**).



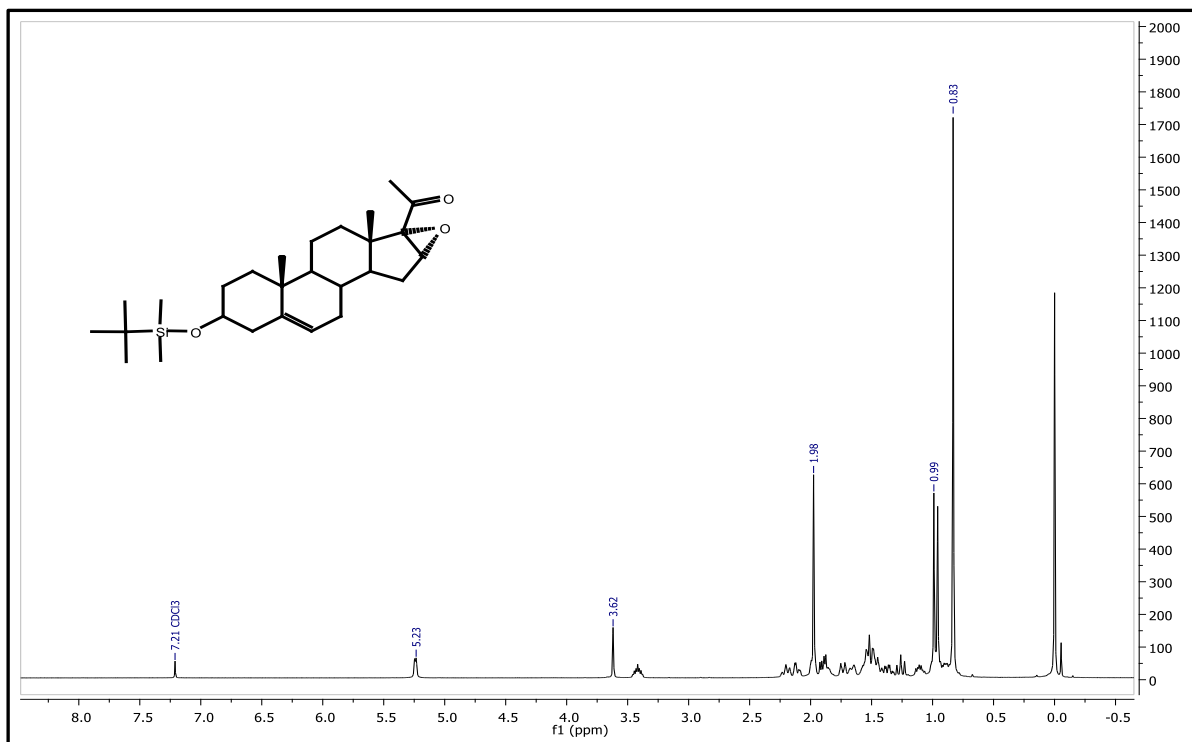
Espectro 2. RMN ^1H de 3β -hidroxi- $16\alpha,17\alpha$ -epoxipregna-5-en-20-ona (**2**).



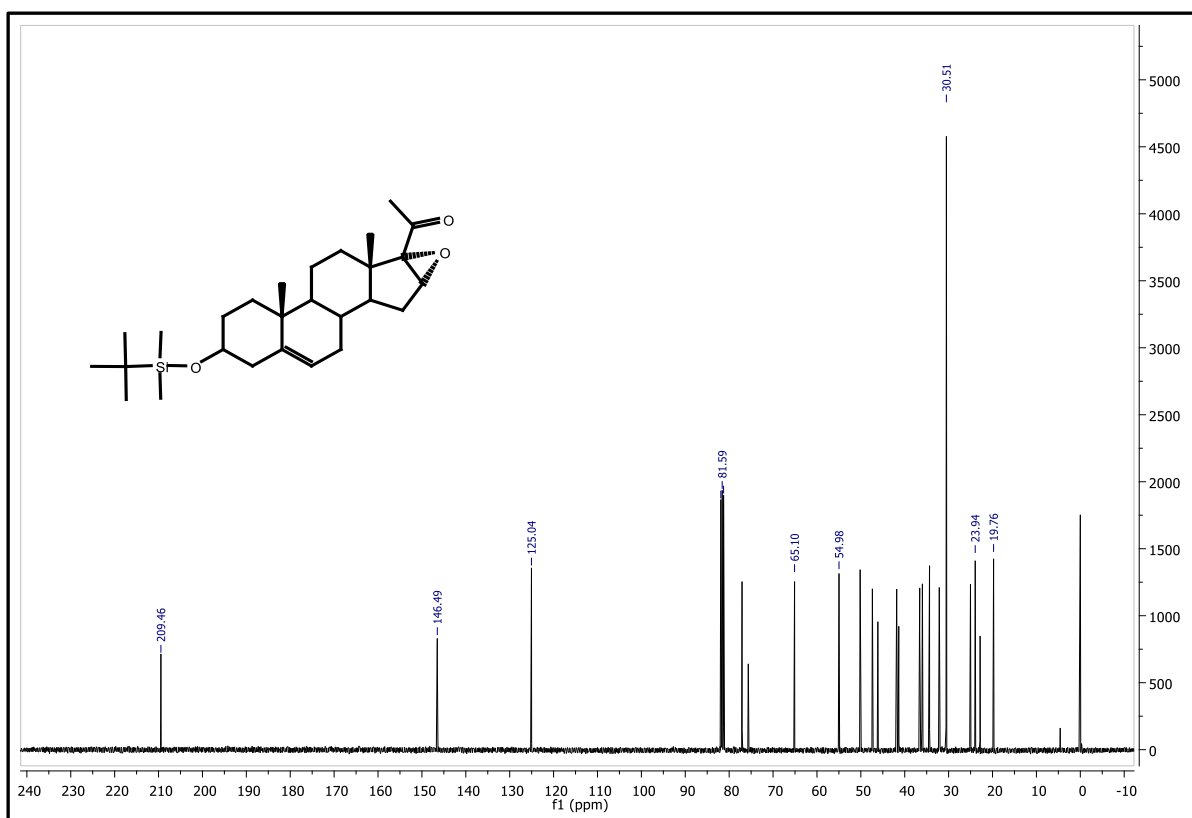
Espectro 3. RMN ¹³C de 3β-hidroxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (2).



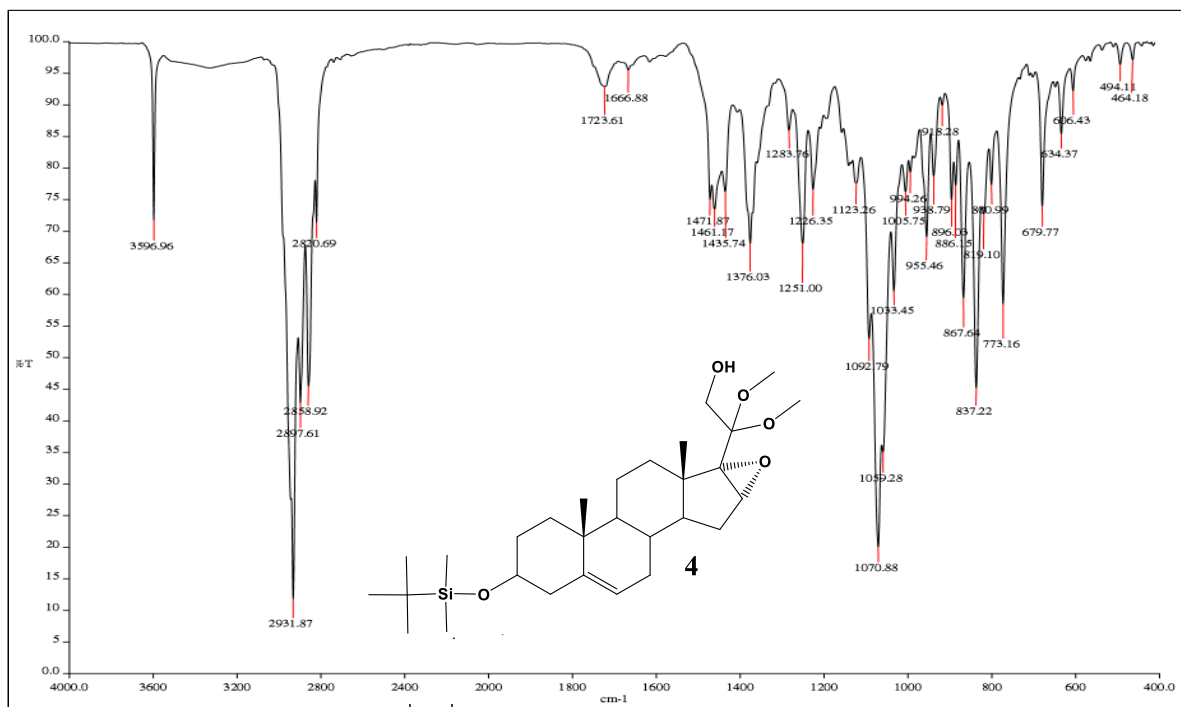
Espectro 4. IR de 3β-tertbutildimetilsiloxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (3).



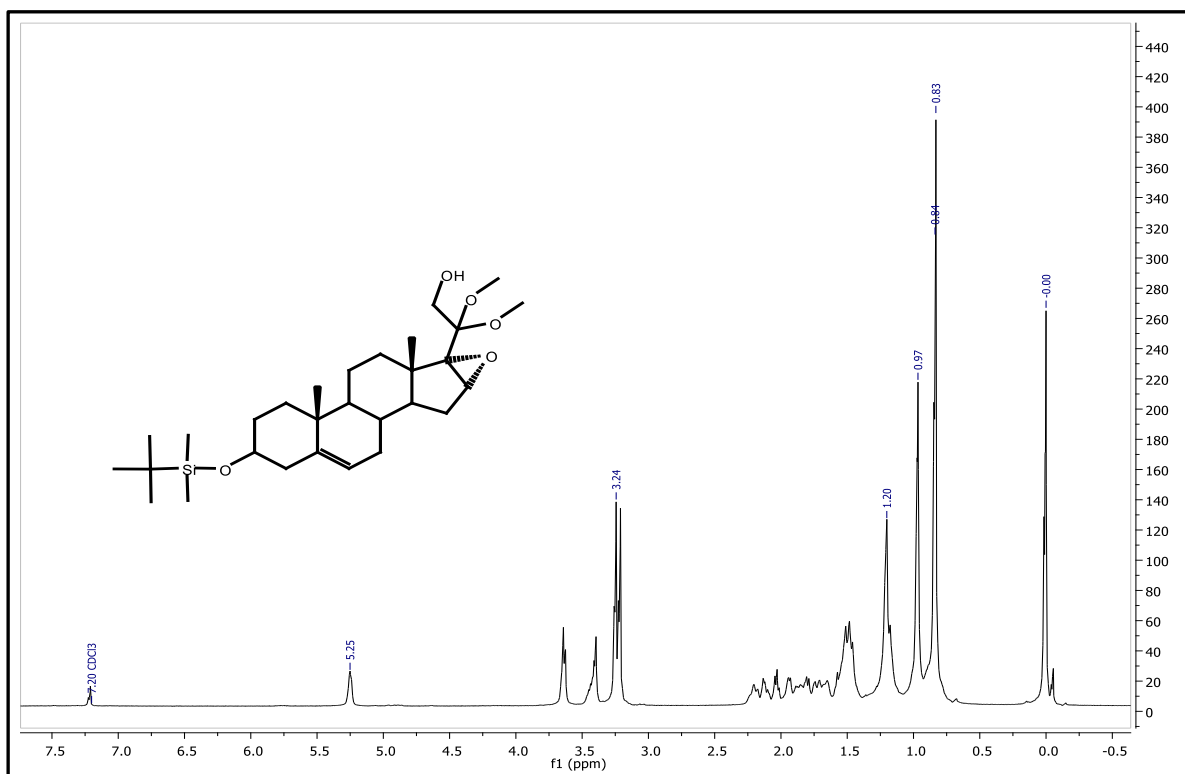
Espectro 5. RMN ¹H de 3β-terbutildimetilsililoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (3).



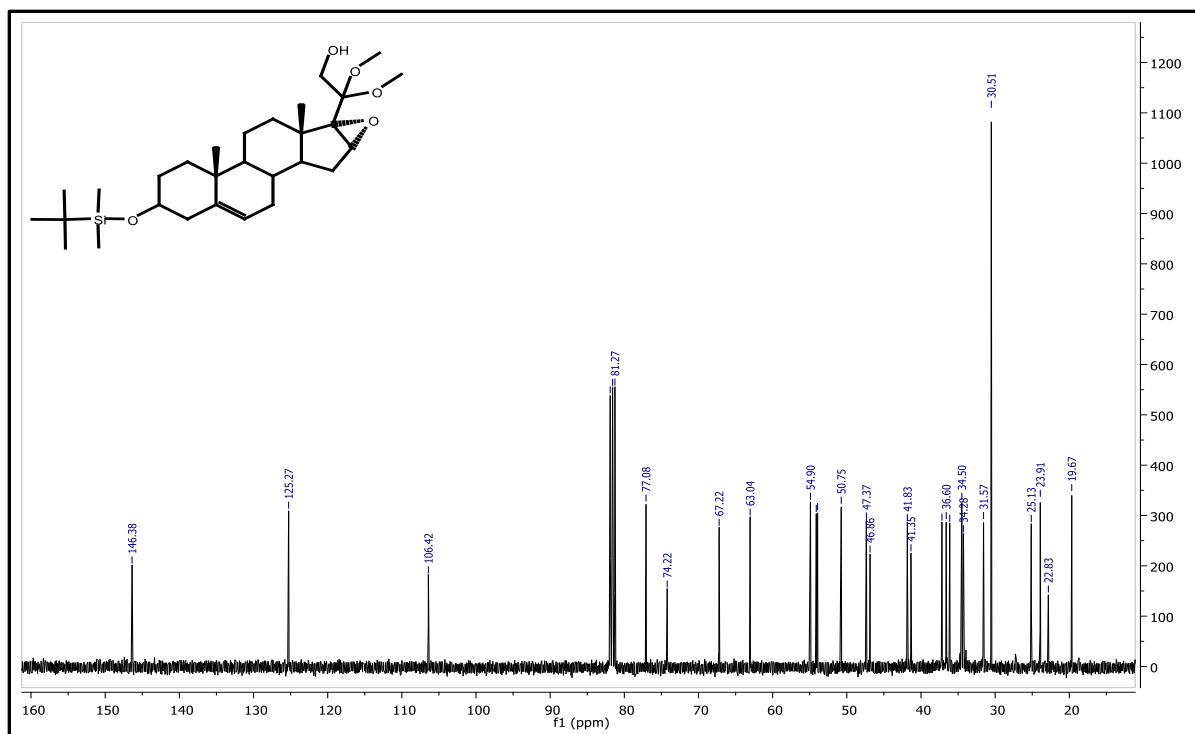
Espectro 6. RMN ¹³C de 3β-terbutildimetilsililoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (3).



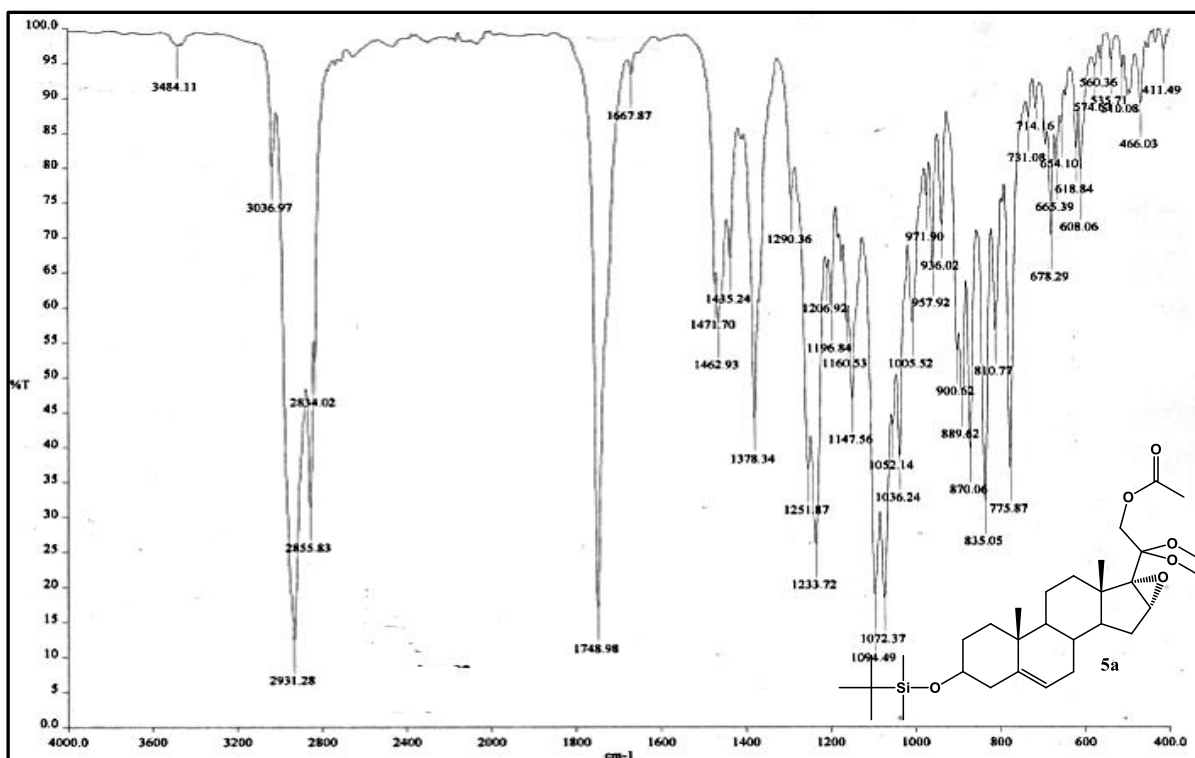
Espectro 7. IR de 21-hidroxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutildimetilsililoxipregna-5-en (4).



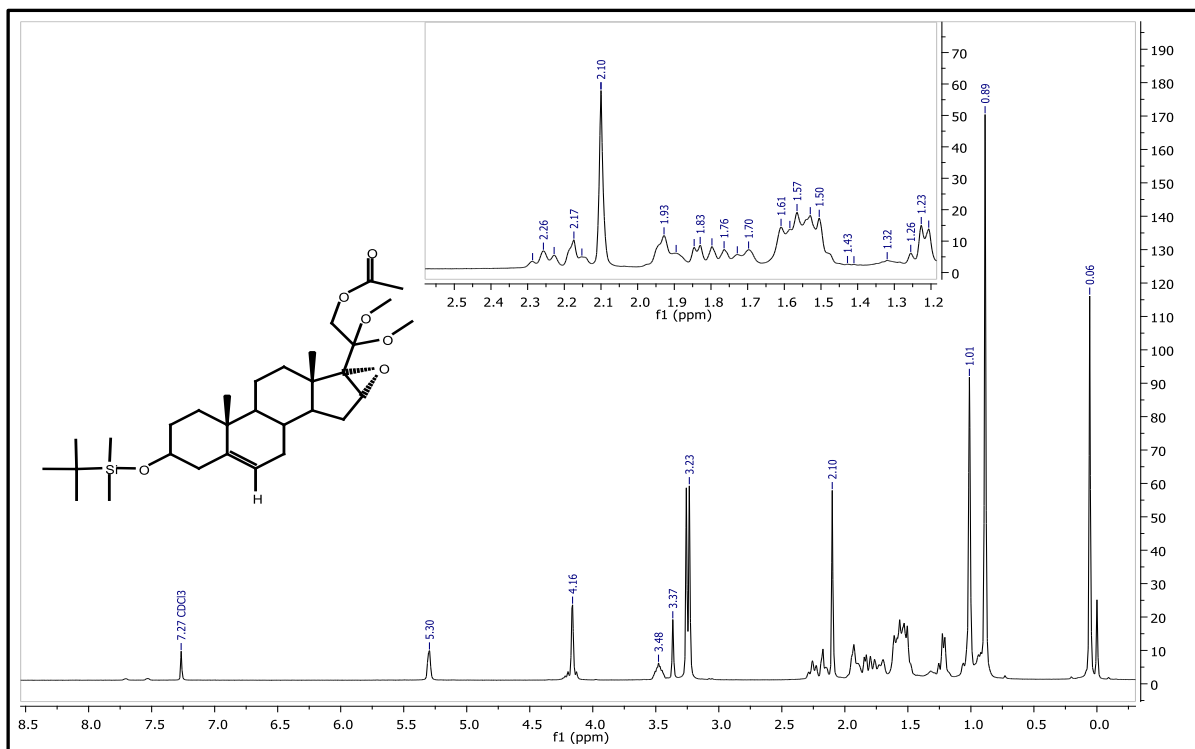
Espectro 8. RMN ¹H de (4).



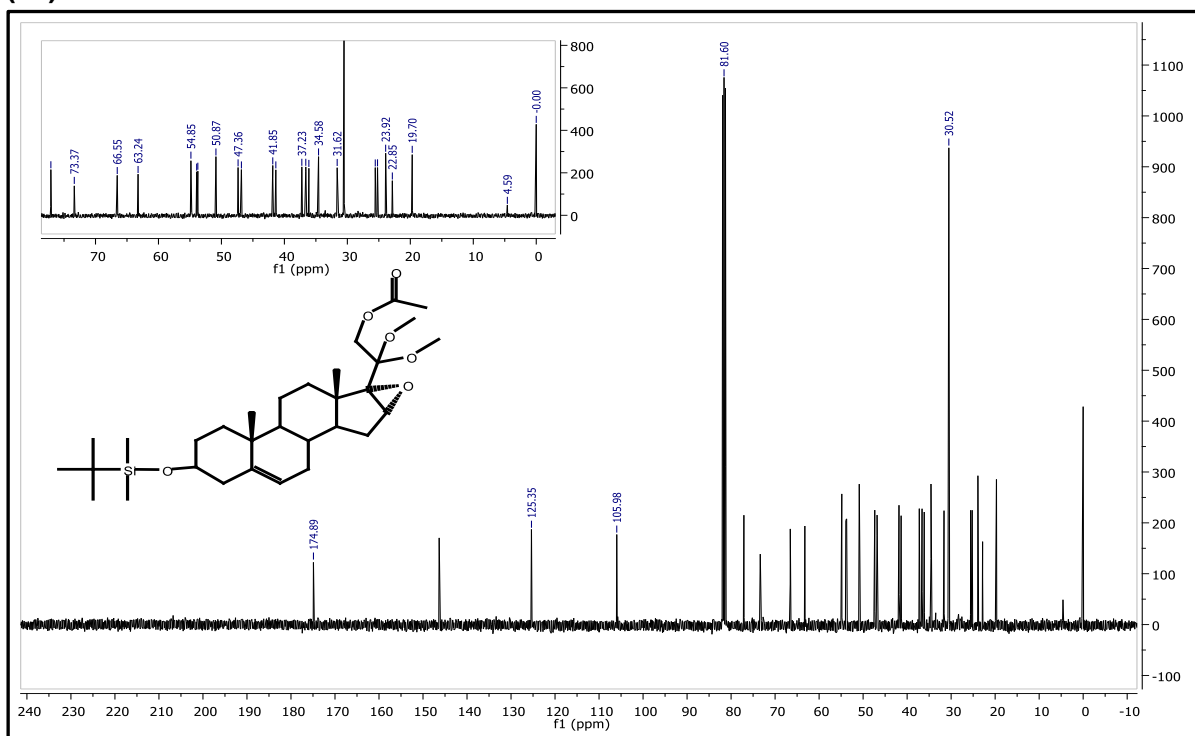
Espectro 9. RMN ^{13}C de 21-hidroxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutildimetilsililoxipregna-5-en (**4**).



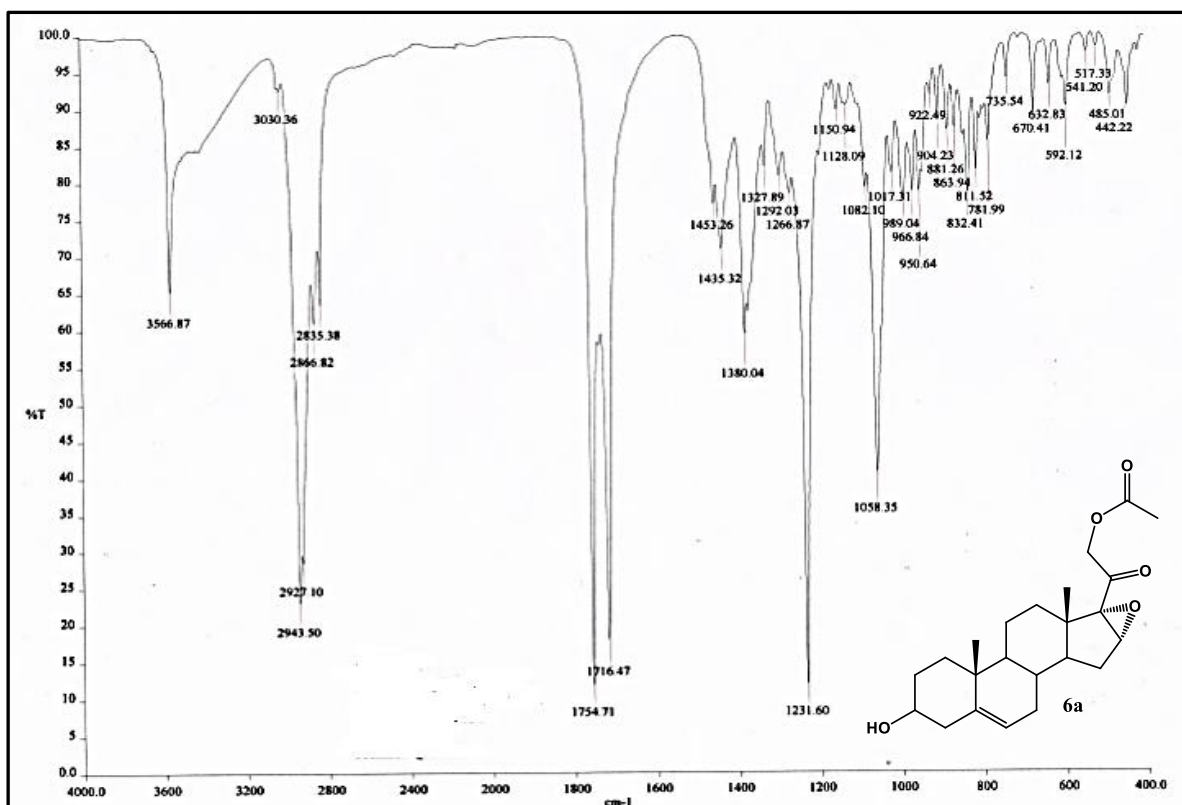
Espectro 10. IR de 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutilsililoxipregna-5-en (**5a**).



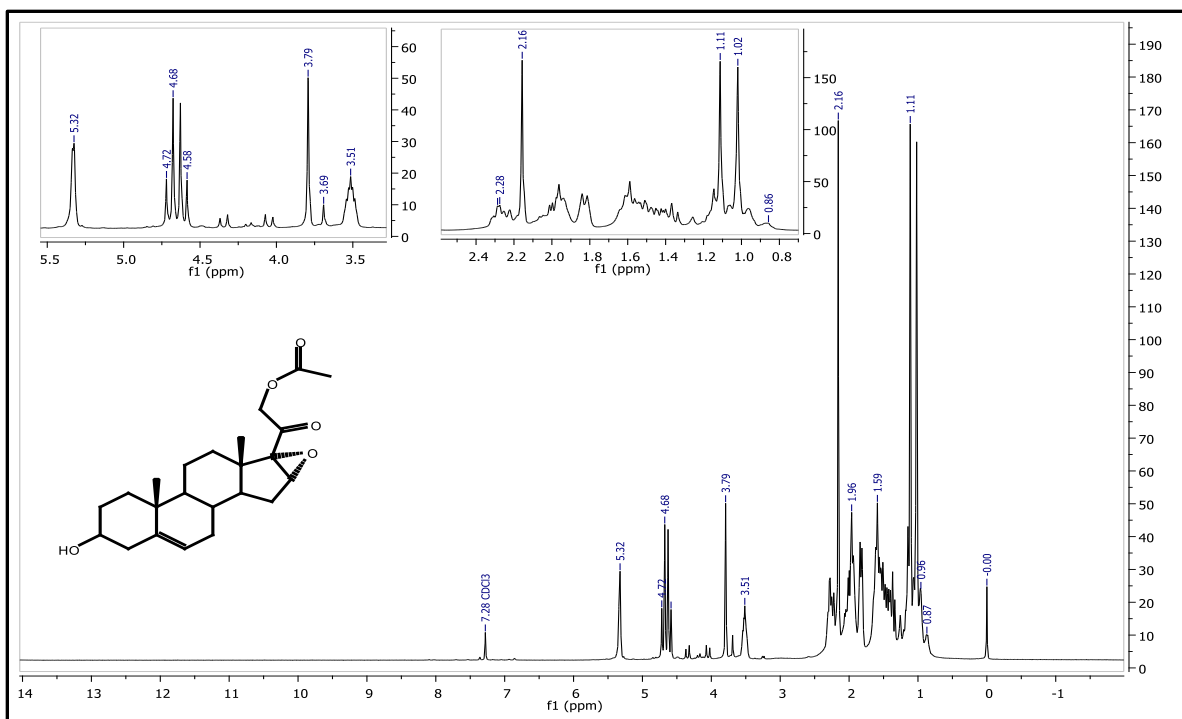
Espectro 11. RMN ^1H 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutilsililoxipregna-5-en (5a).



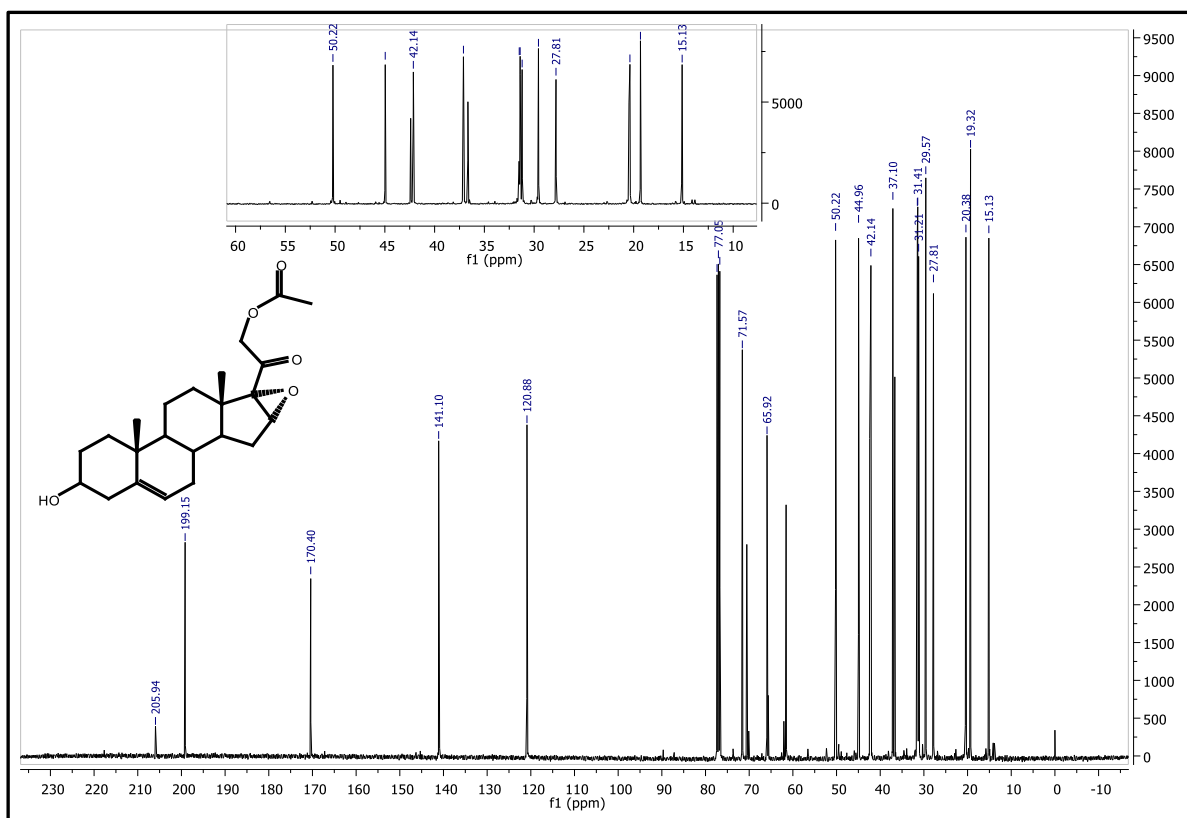
Espectro 12. RMN ^{13}C 21-acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-dimetoxi-3 β -terbutilsililoxipregna-5-en (5a).



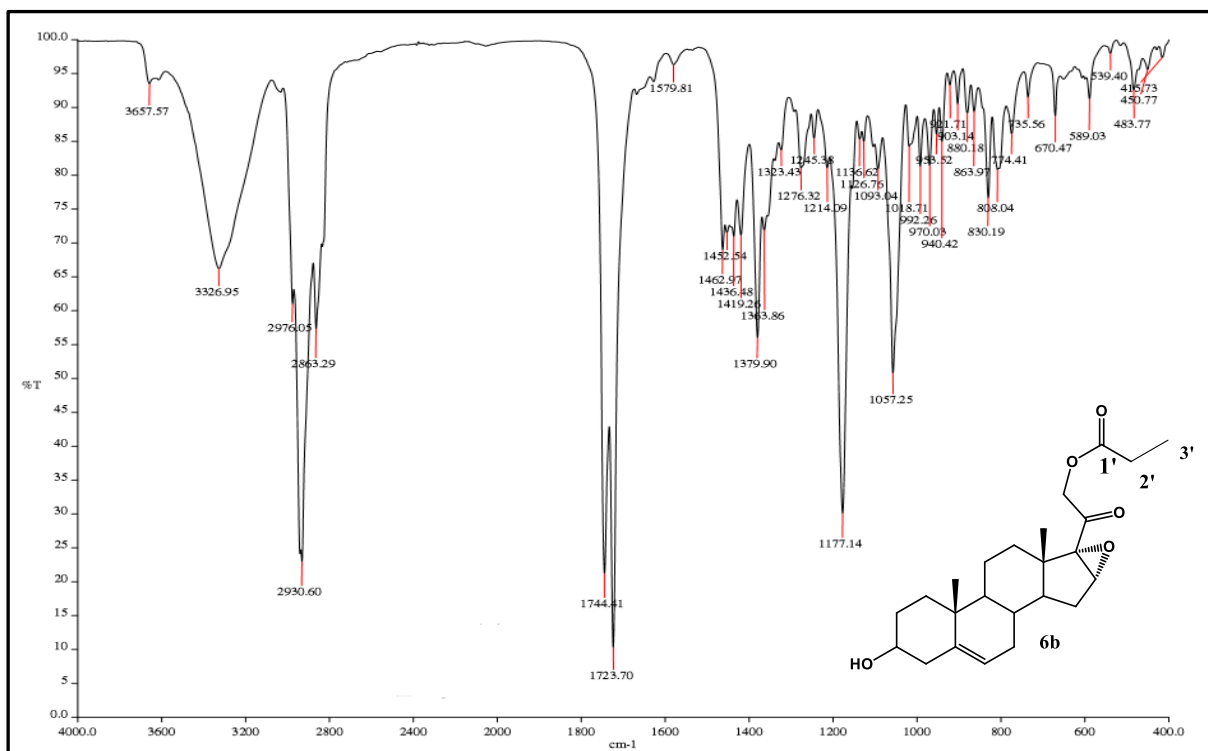
Espectro 13. IR de 3β-hidroxi-21-acetoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (6a).



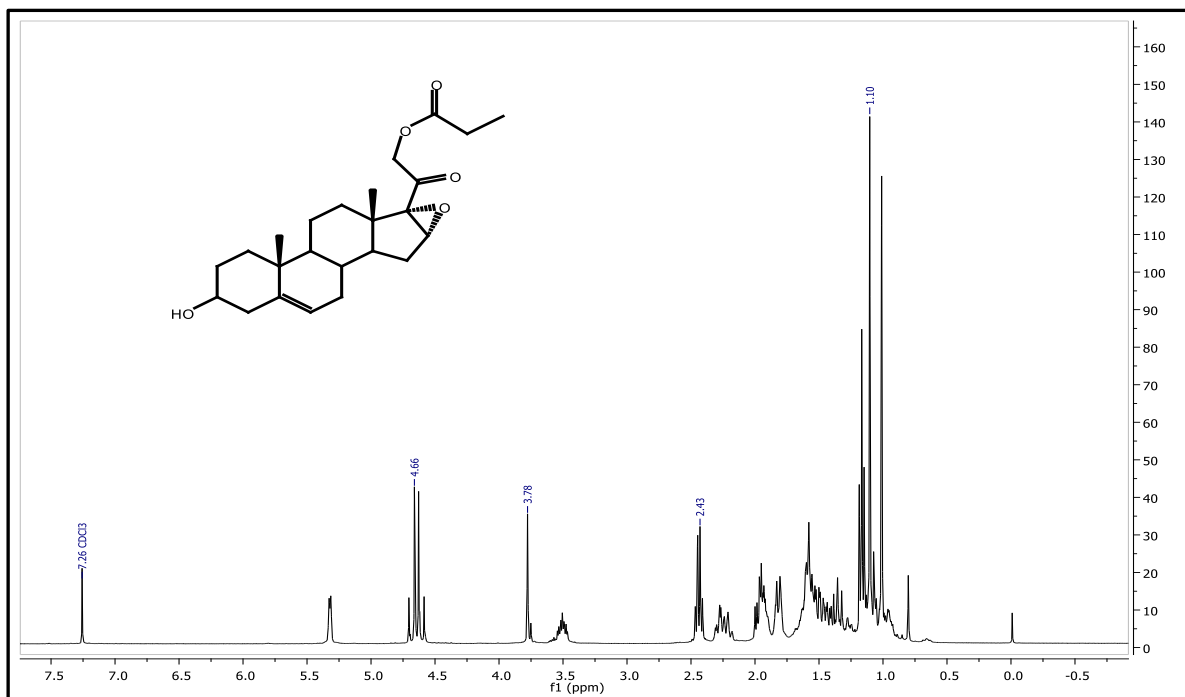
Espectro 14. RMN ¹H de 3β-hidroxi-21-acetoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (6a).



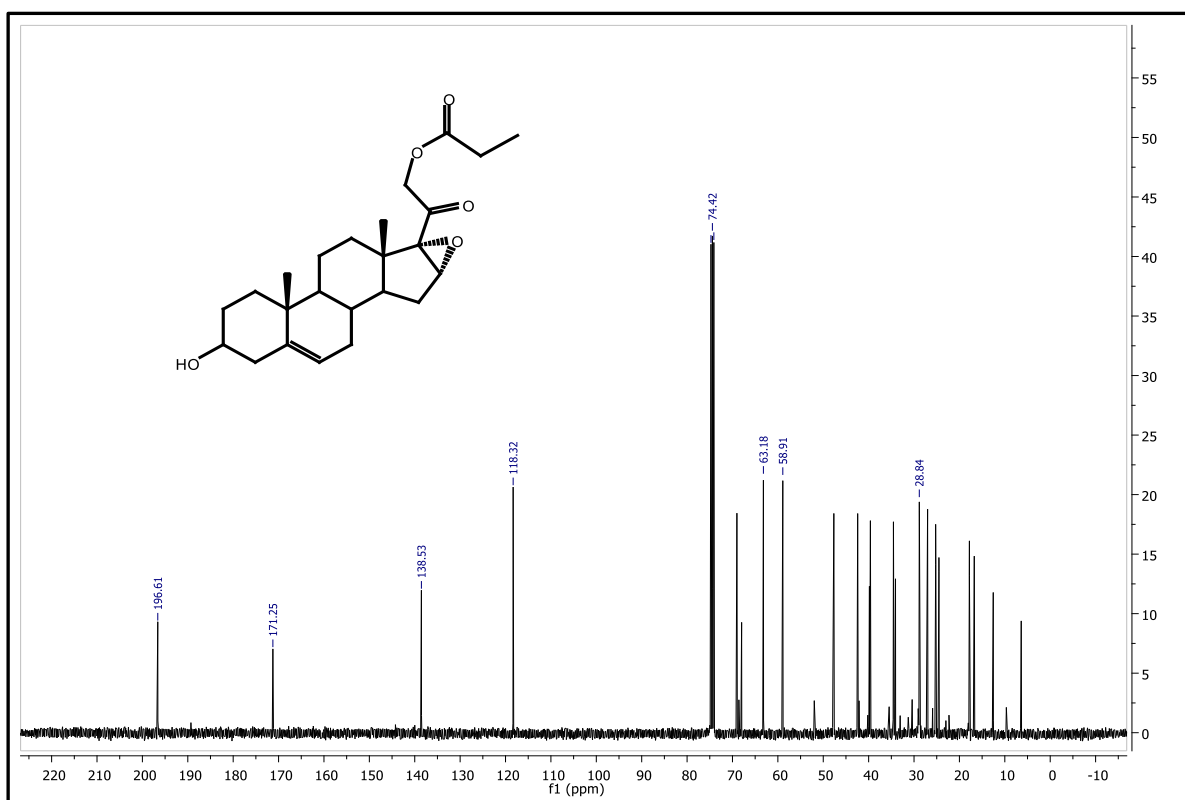
Espectro 15. RMN ¹³C de 3β-hidroxi-21-acetoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (**6a**).



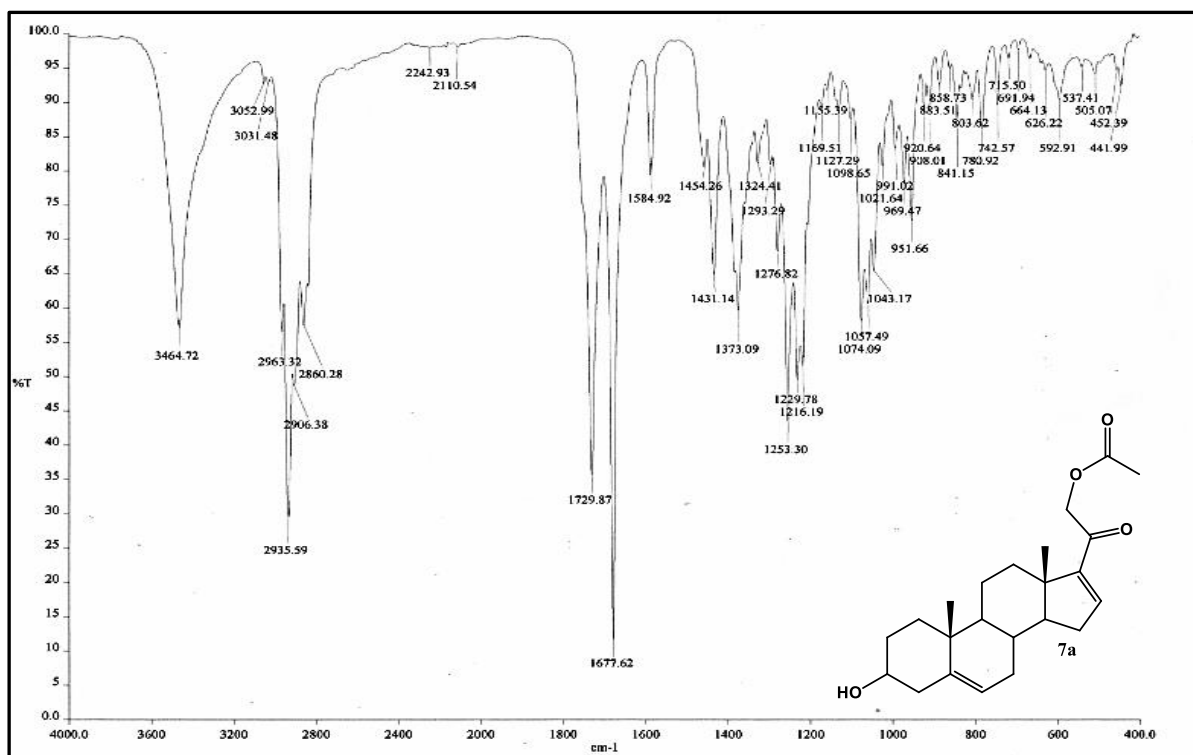
Espectro 16. IR de 3β-hidroxi-21-propionoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (**6b**).



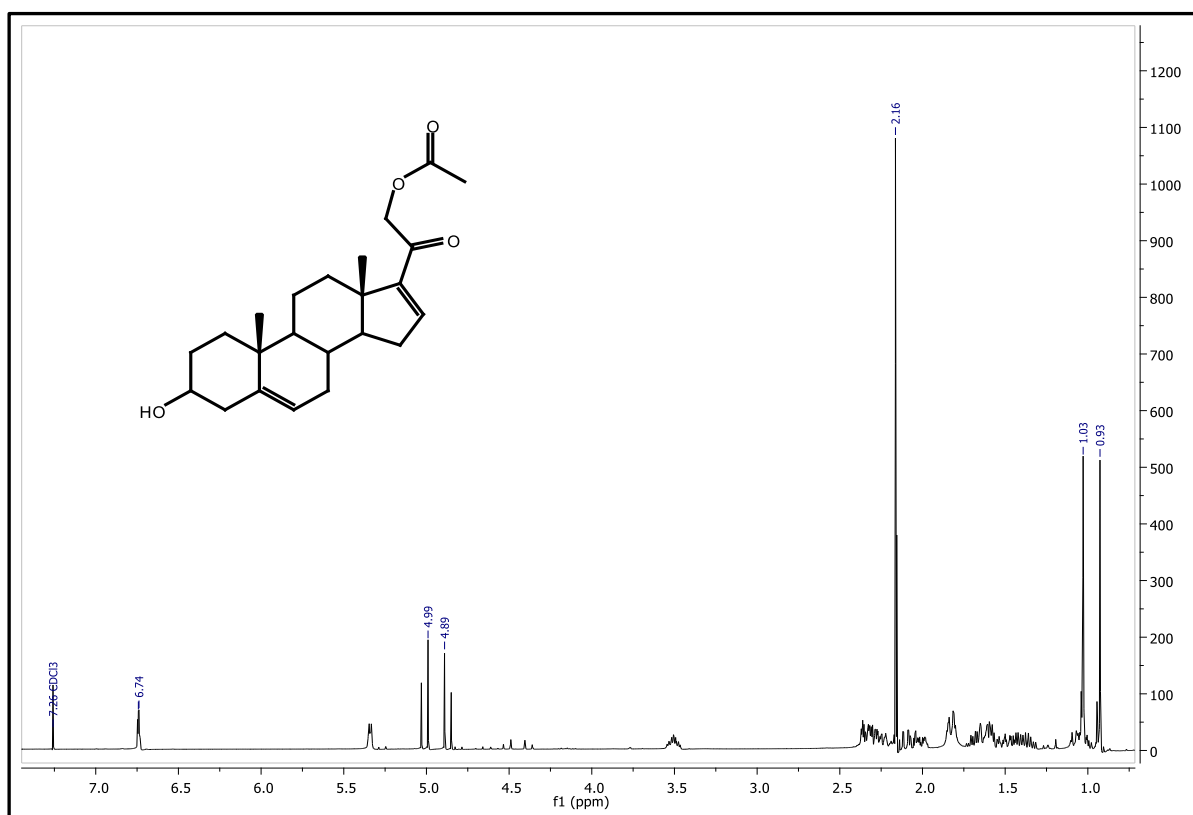
Espectro 17. RMN ¹H de 3β-hidroxi-21-propionoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (6b).



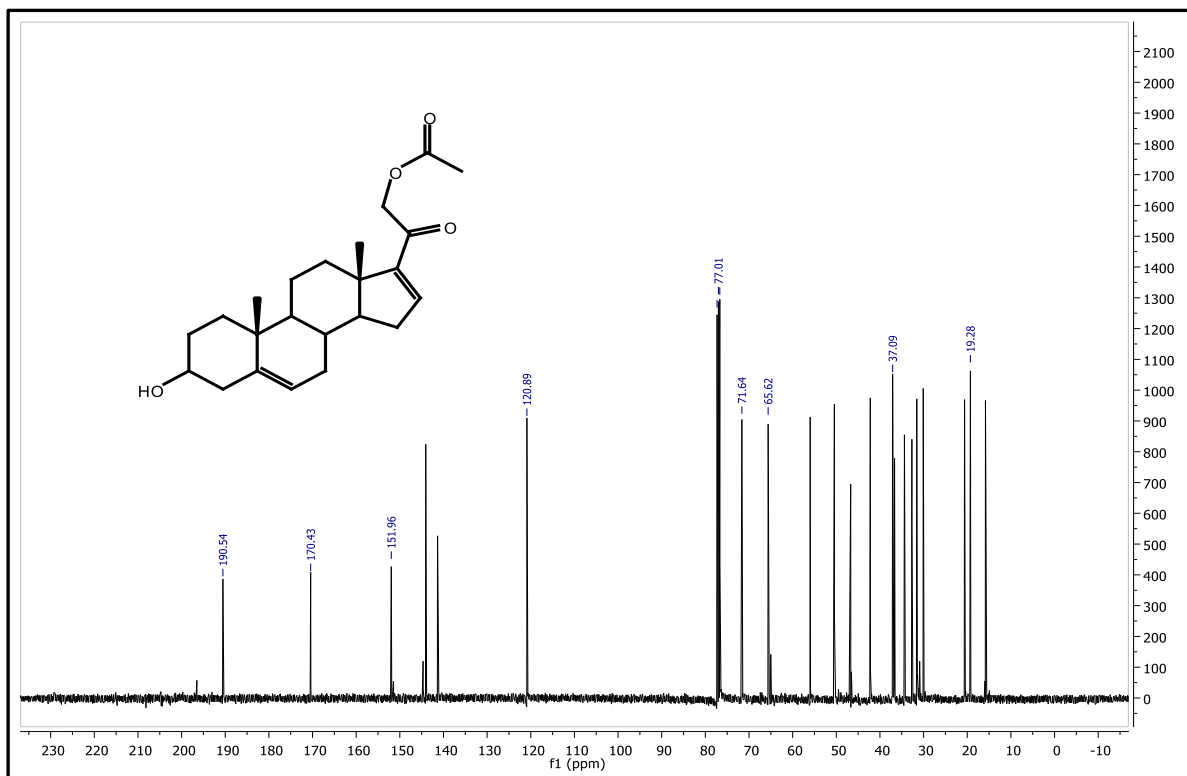
Espectro 18. RMN ¹³C de 3β-hidroxi-21-propionoxi-16α,17α-epoxipregna-5-en-20-ona (6b).



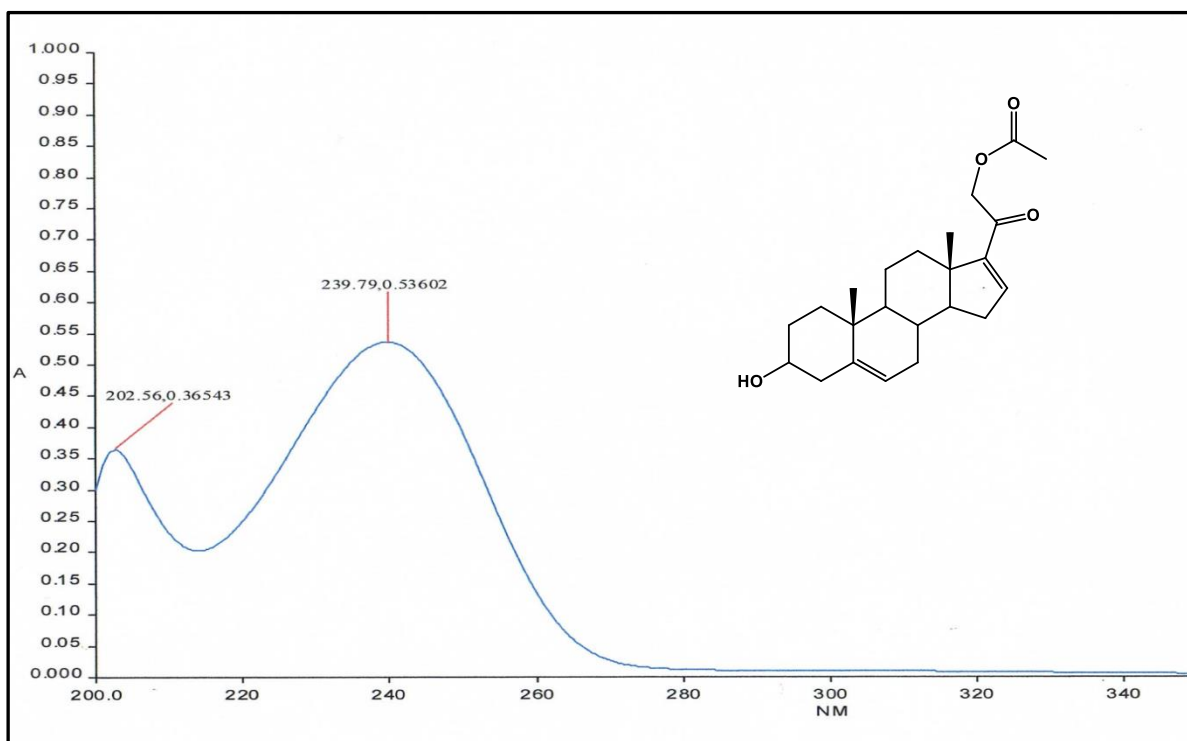
Espectro 19. IR de 3β-hidroxi-21-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (7a).



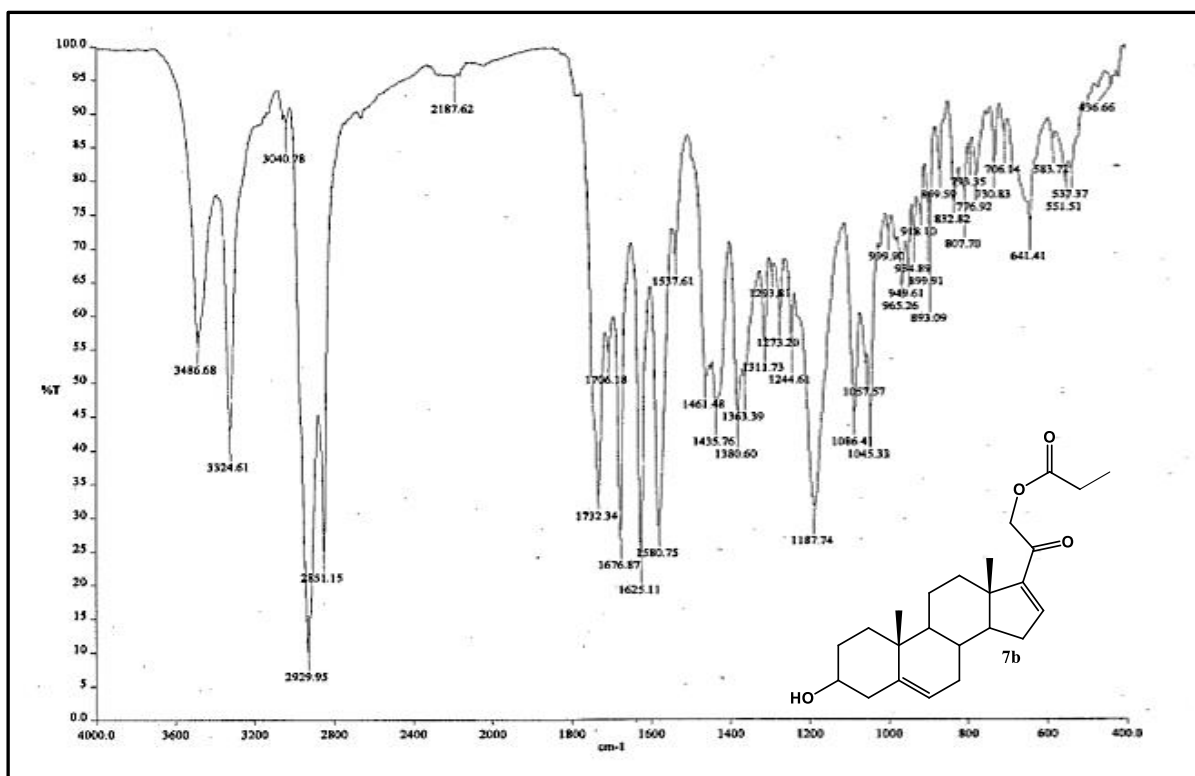
Espectro 20. RMN ¹H de 3β-hidroxi-21-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (7a).



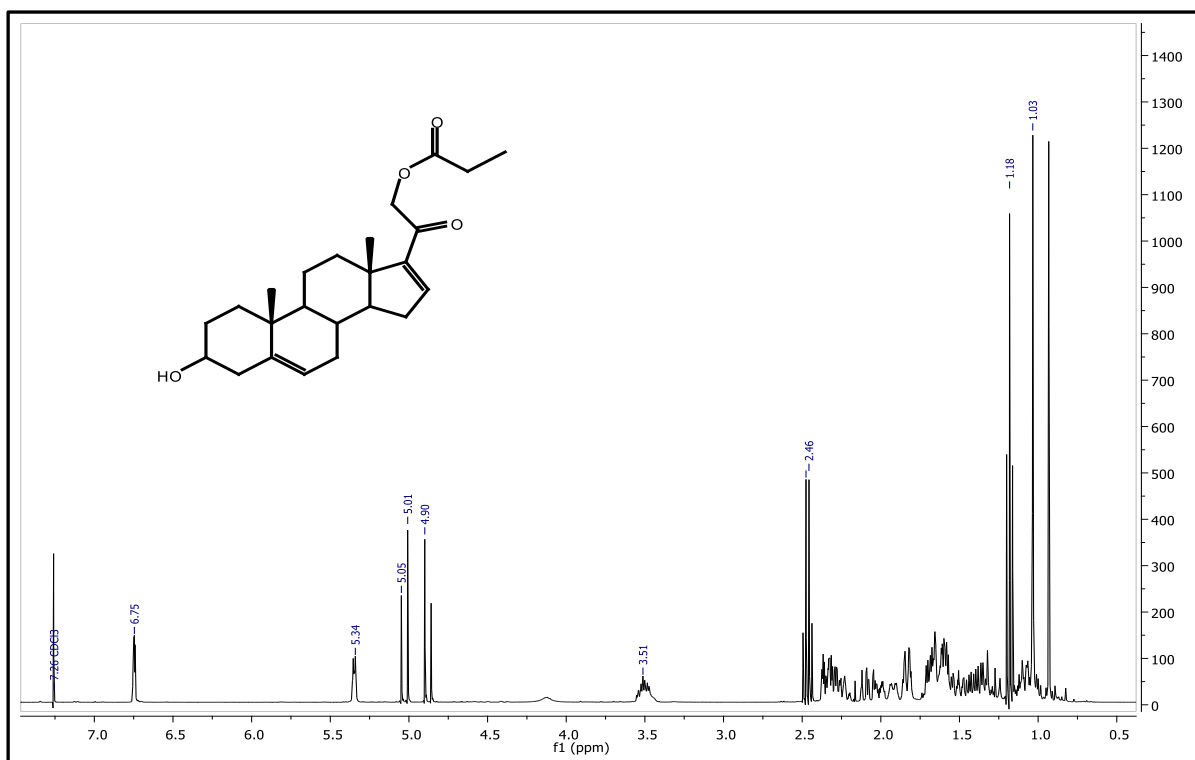
Espectro 21. RMN ¹³C de 3β-hidroxi-21-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (**7a**).



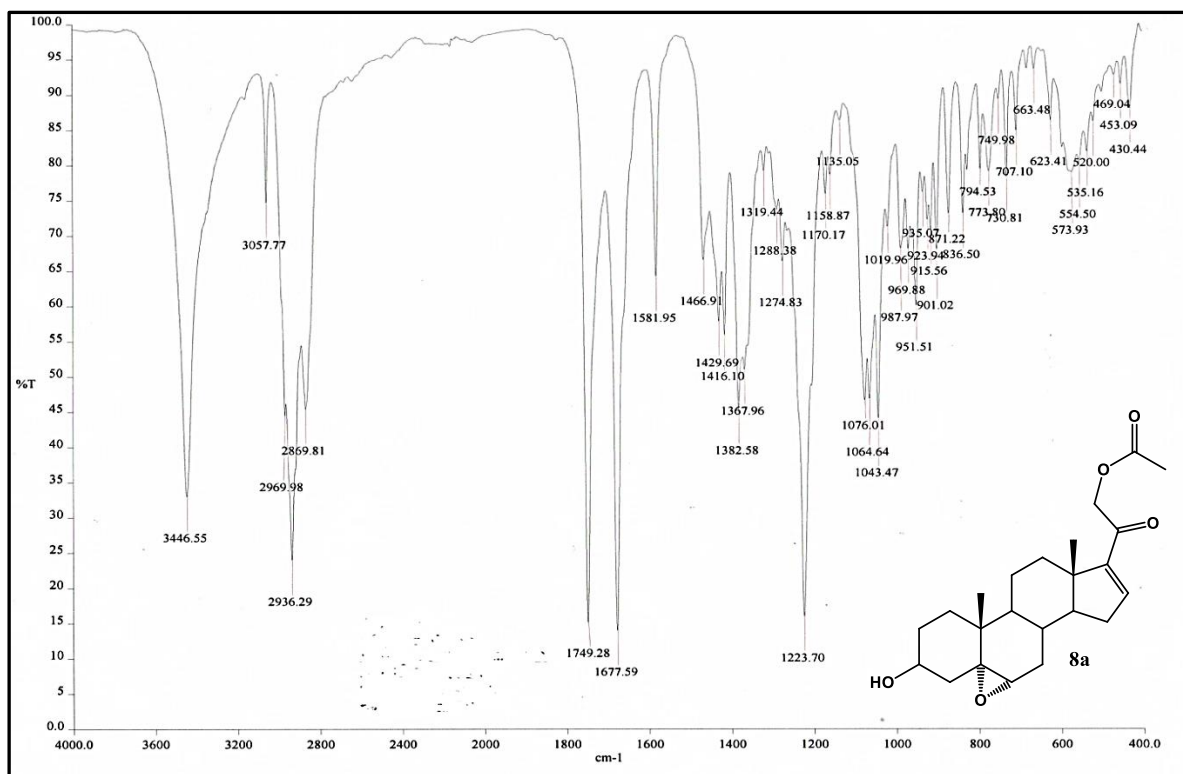
Espectro 22. UV de 3β-hidroxi-21-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (**7a**).



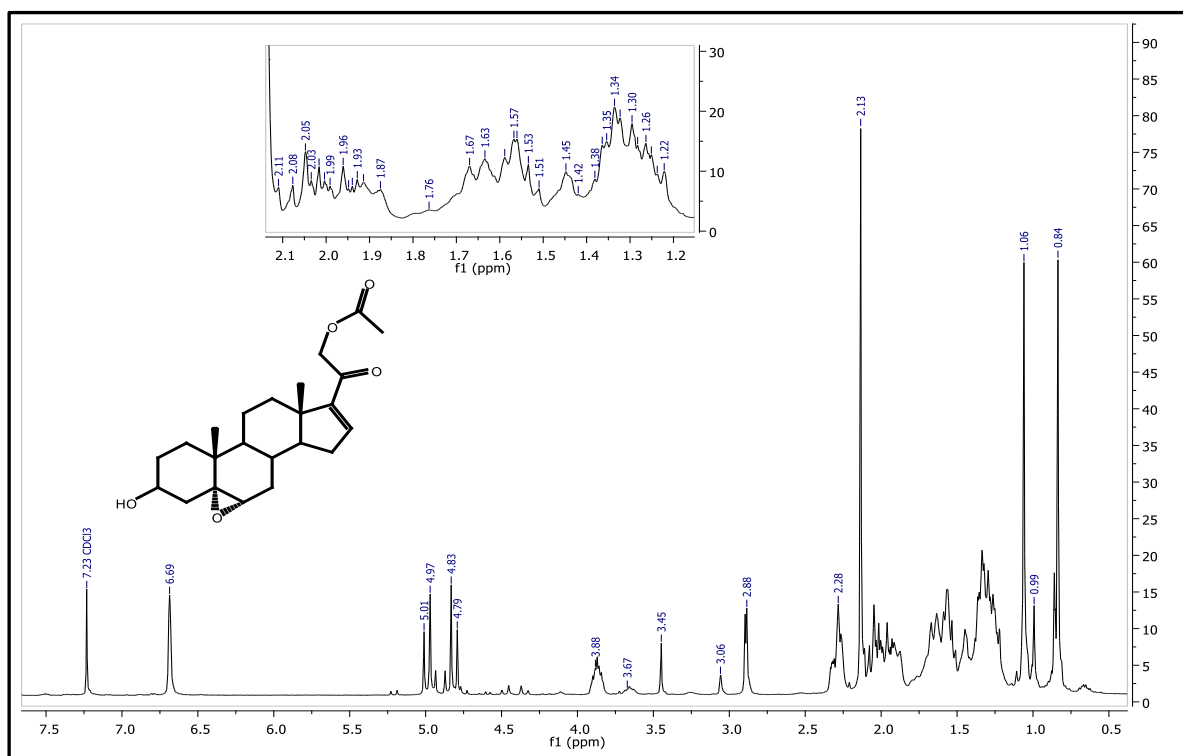
Espectro 23. IR de 3 β -hidroxi-21-propionoxipregna-5,16-dien-20-ona (**7b**).



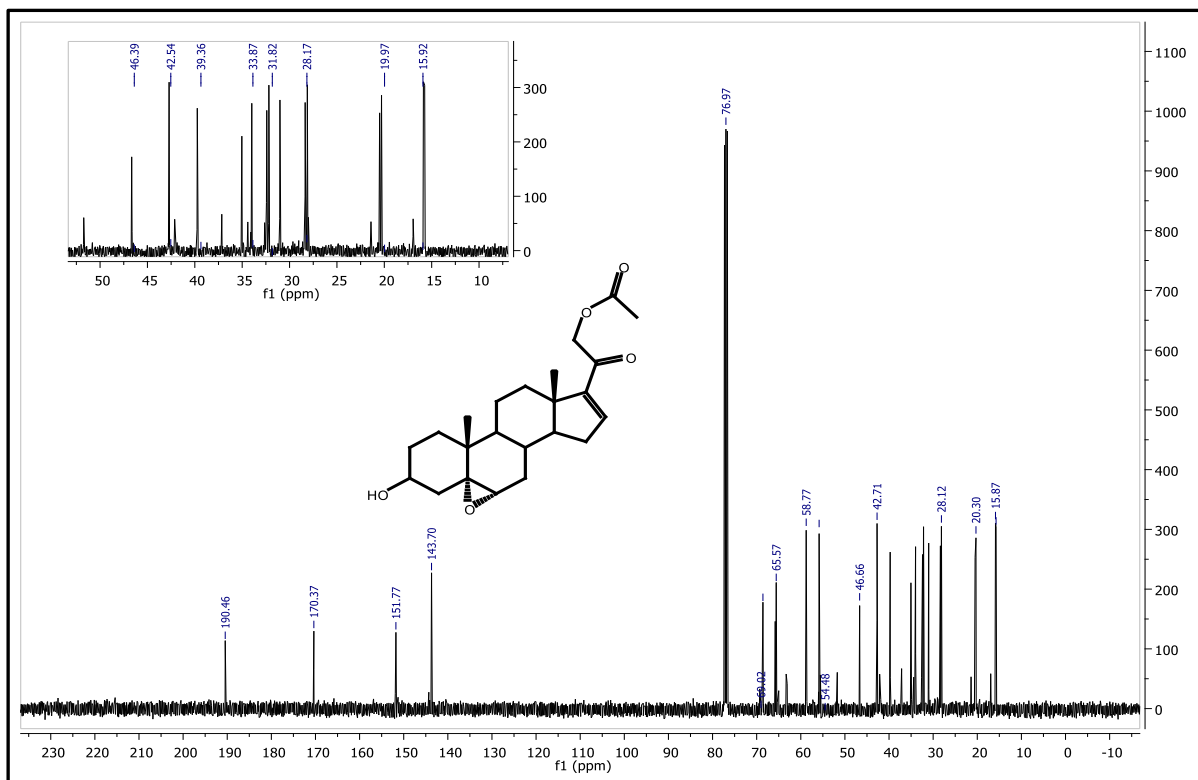
Espectro 24. RMN ^1H de 3 β -hidroxi-21-propionoxipregna-5,16-dien-20-ona (**7b**).



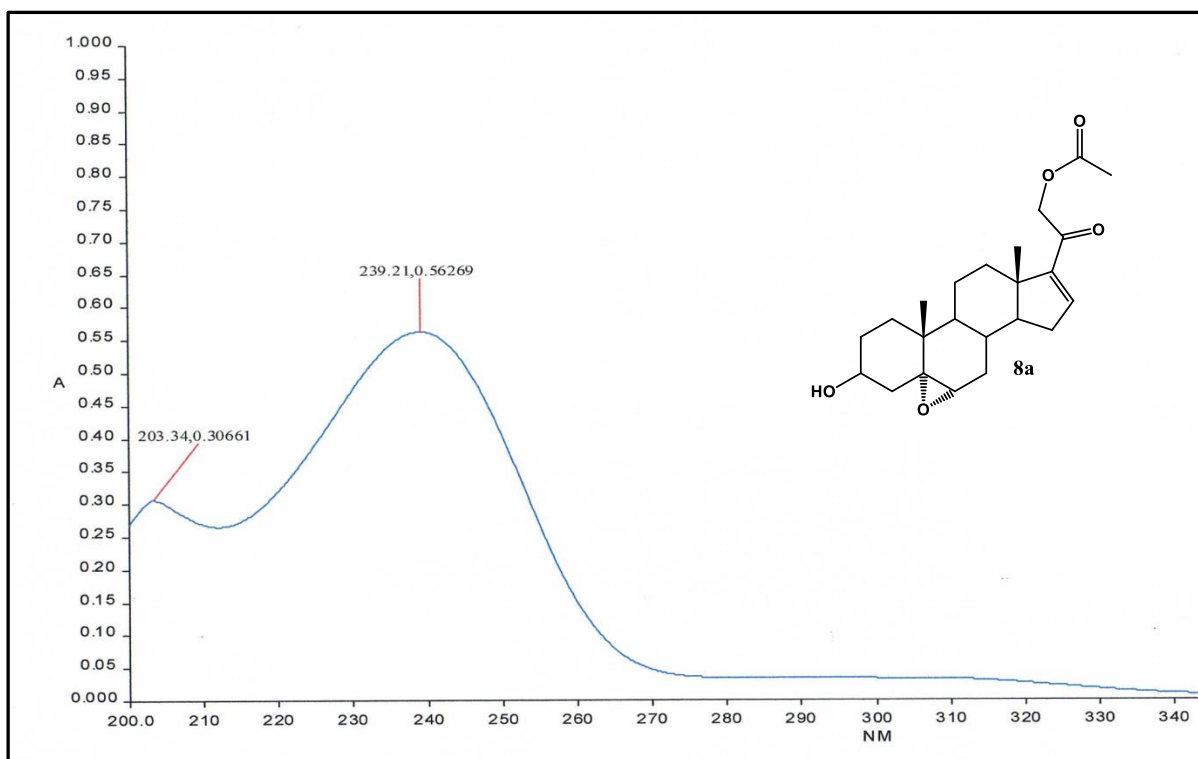
Espectro 27. IR de 3β-hidroxi-21-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8a**).



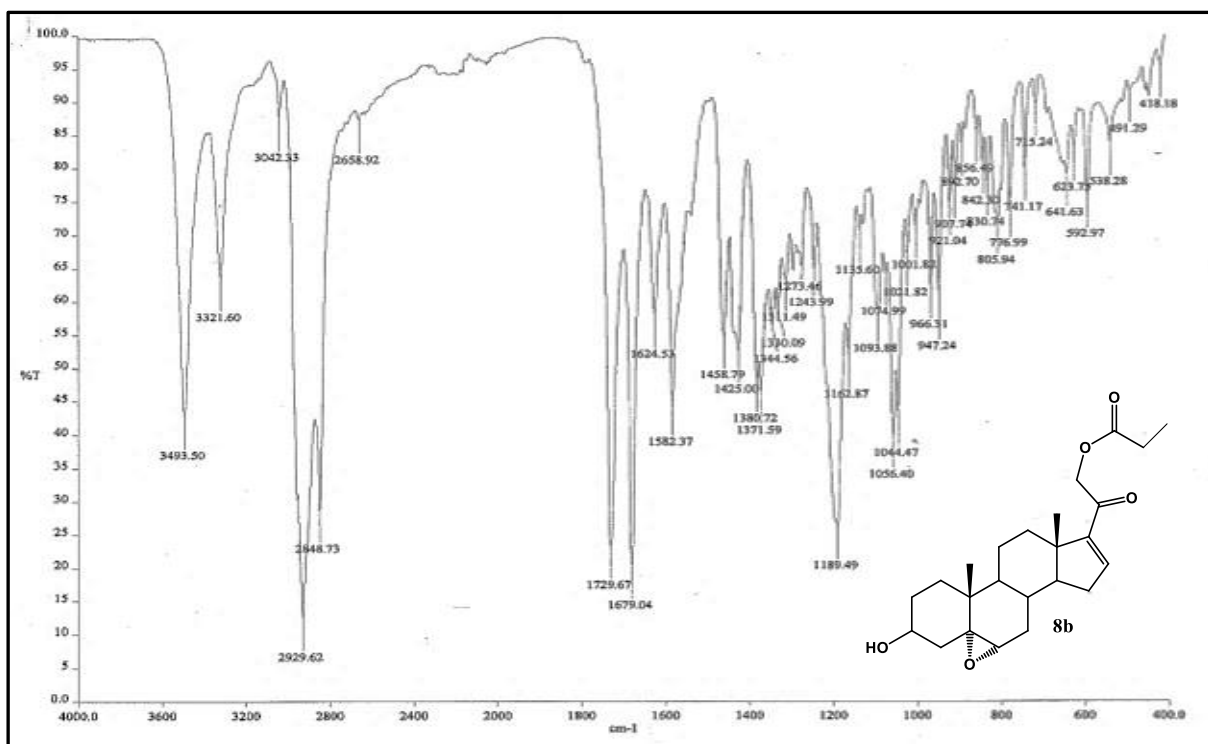
Espectro 28. RMN ¹H de 3β-hidroxi-21-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8a**).



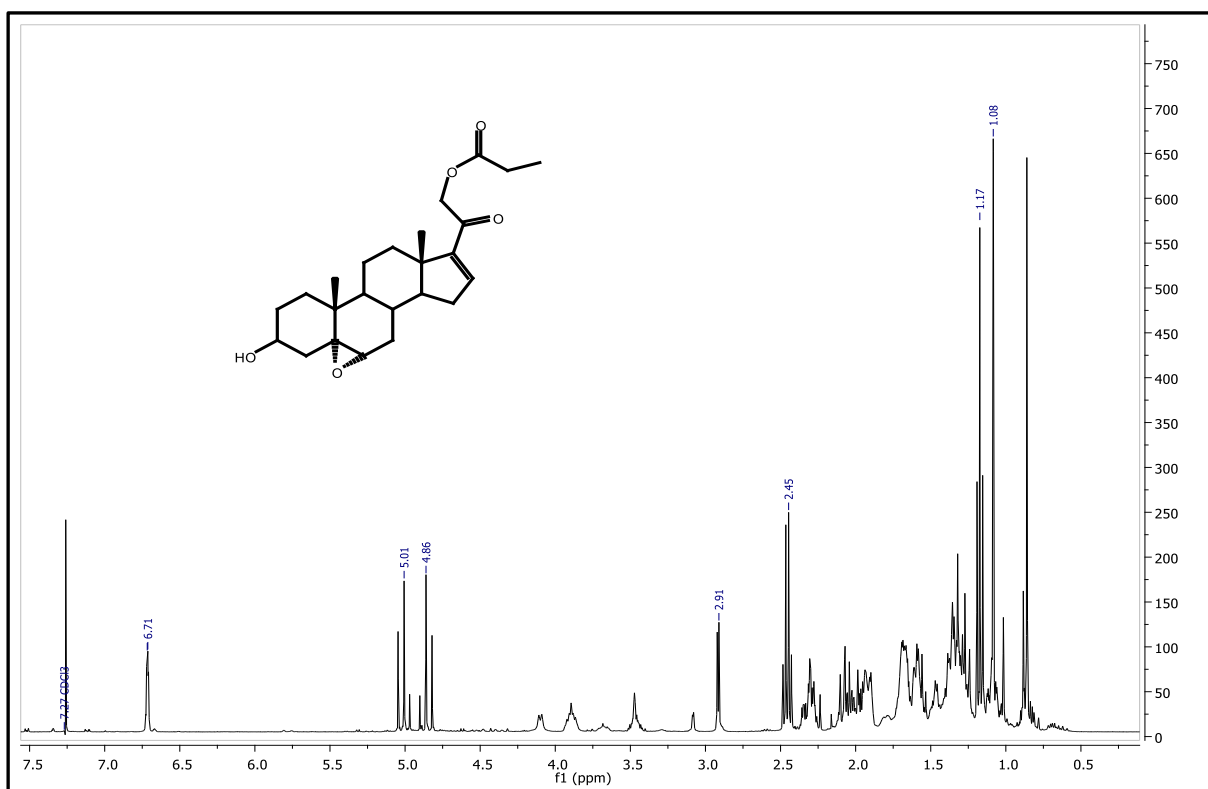
Espectro 29. RMN ¹³C de 3β-hidroxi-21-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (8a).



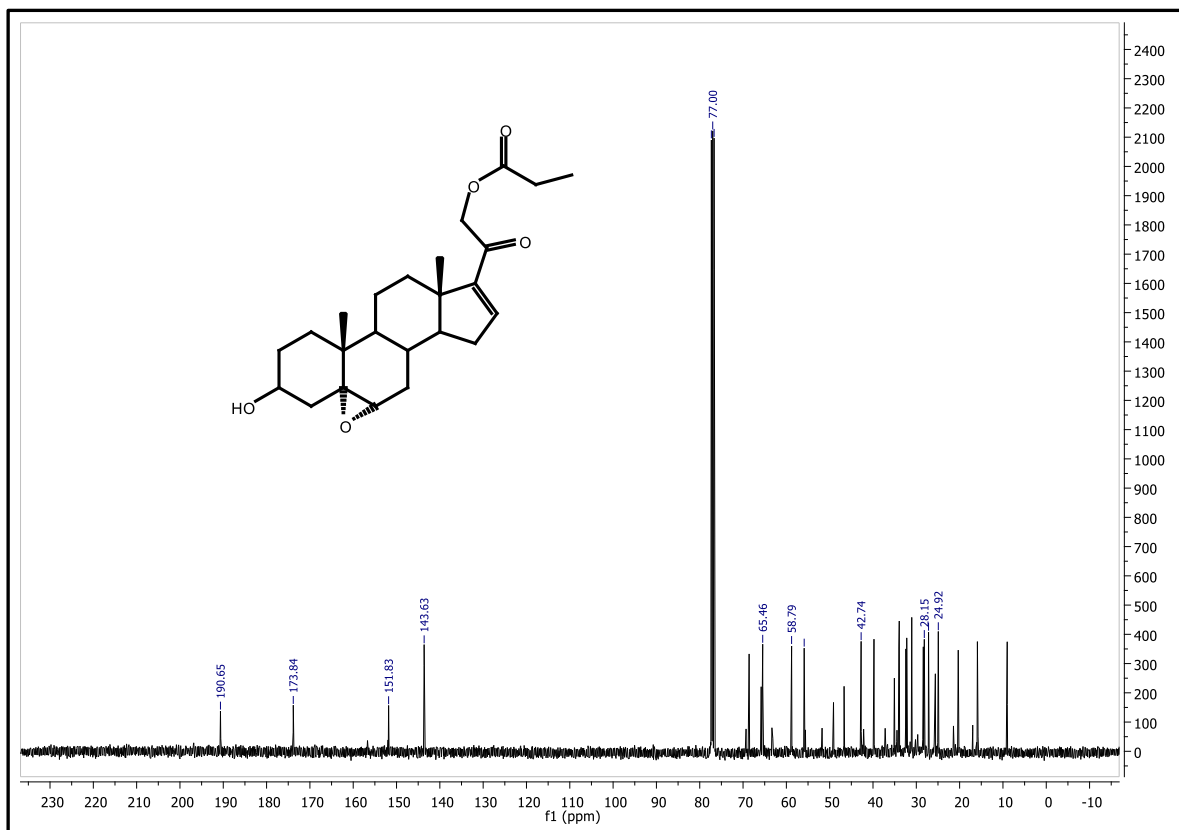
Espectro 30. UV de 3β-hidroxi-21-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (8a).



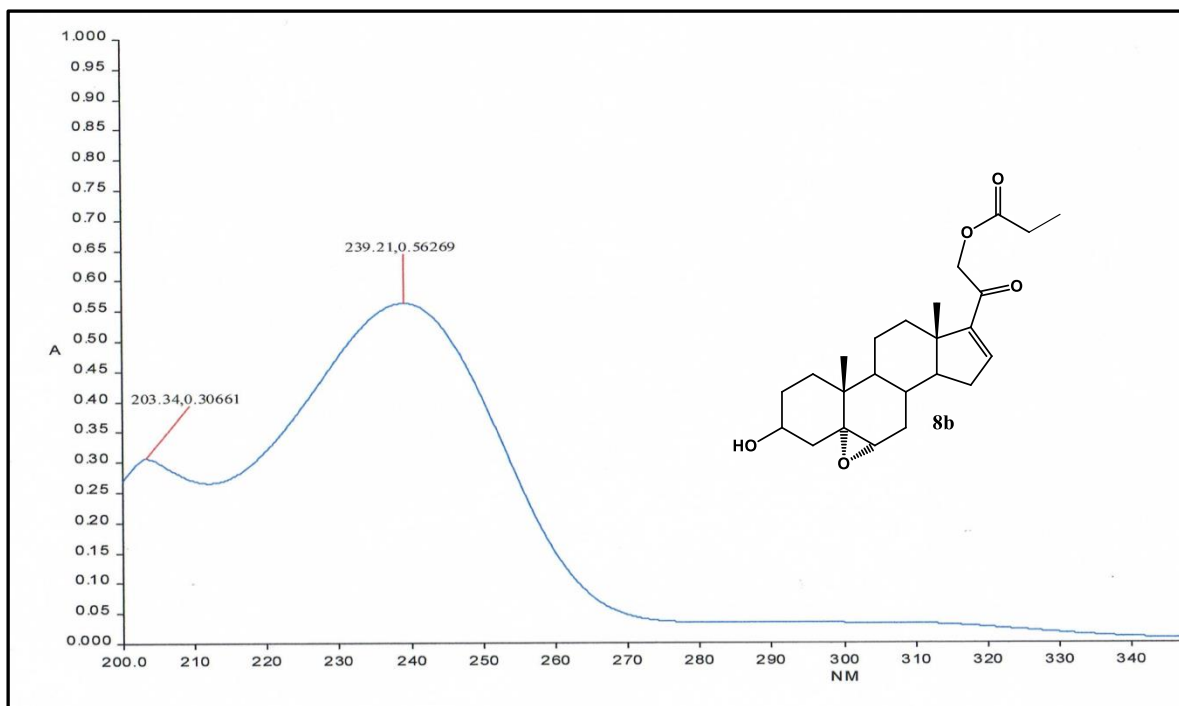
Espectro 31. IR de 3β-hidroxi-21-propionoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8b**).



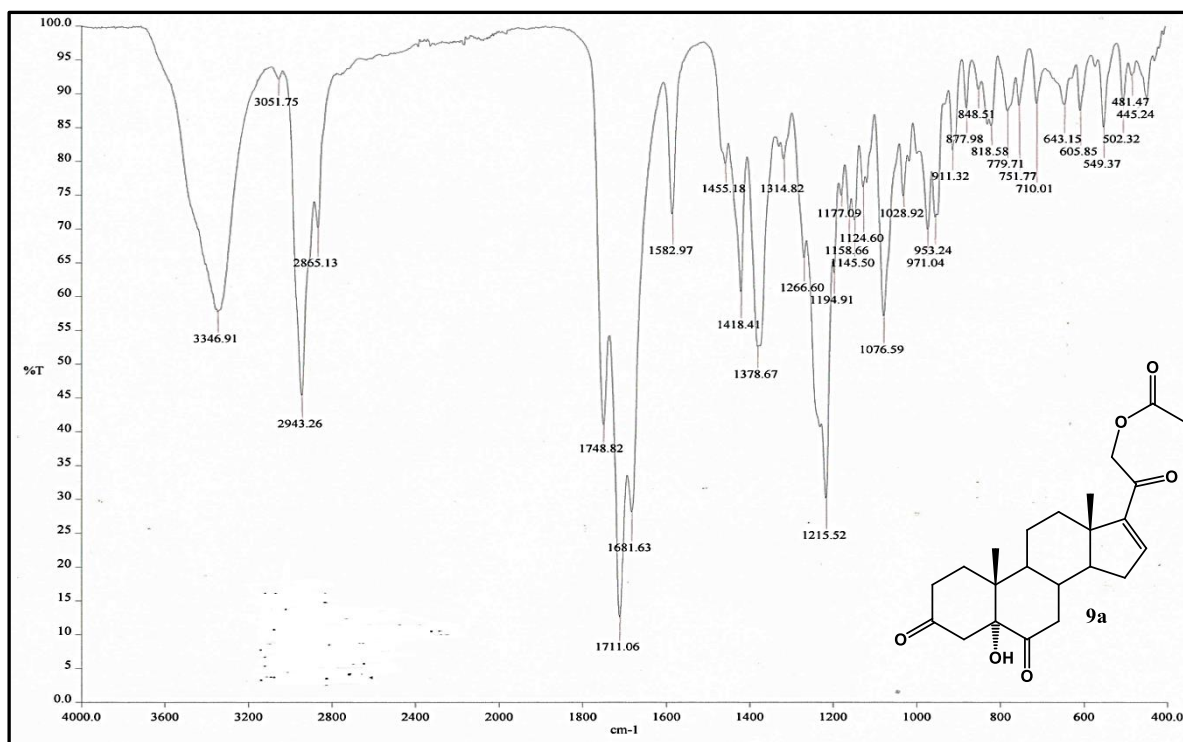
Espectro 32. RMN ¹H de 3β-hidroxi-21-propionoxi-5α,6α-epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8b**).



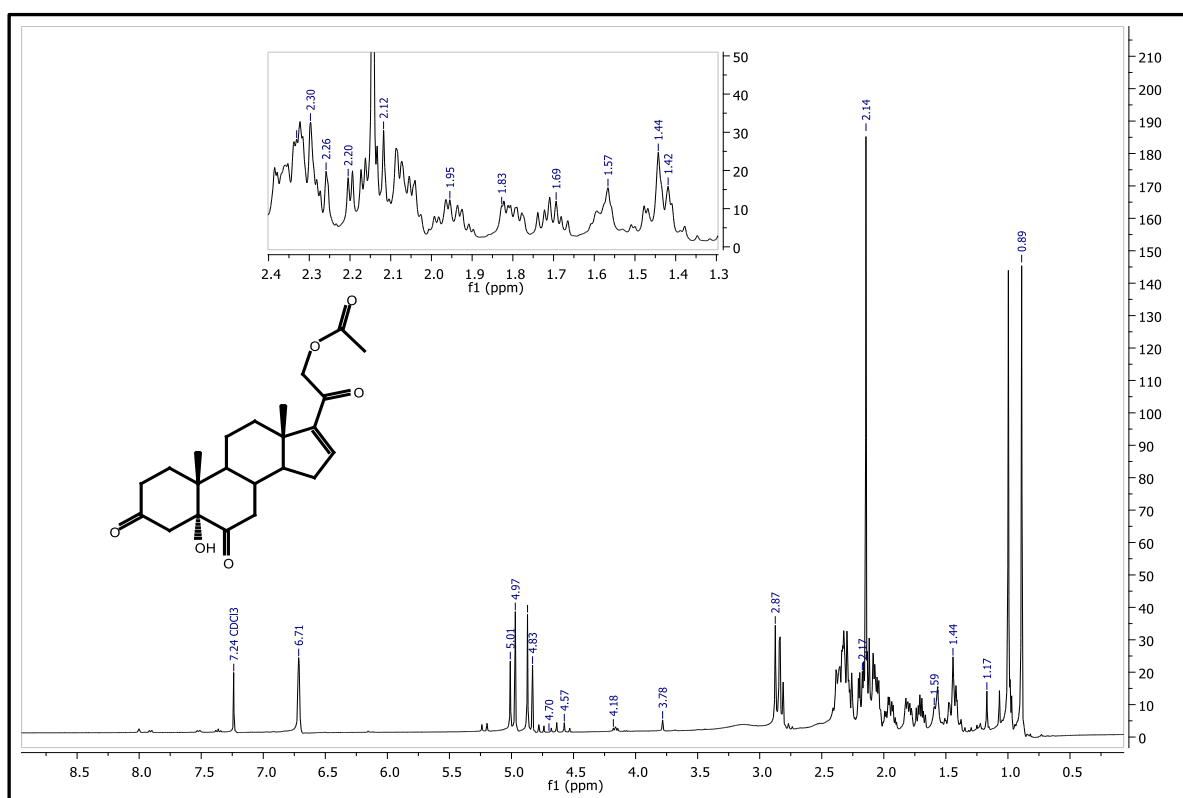
Espectro 33. RMN ^{13}C de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8b**).



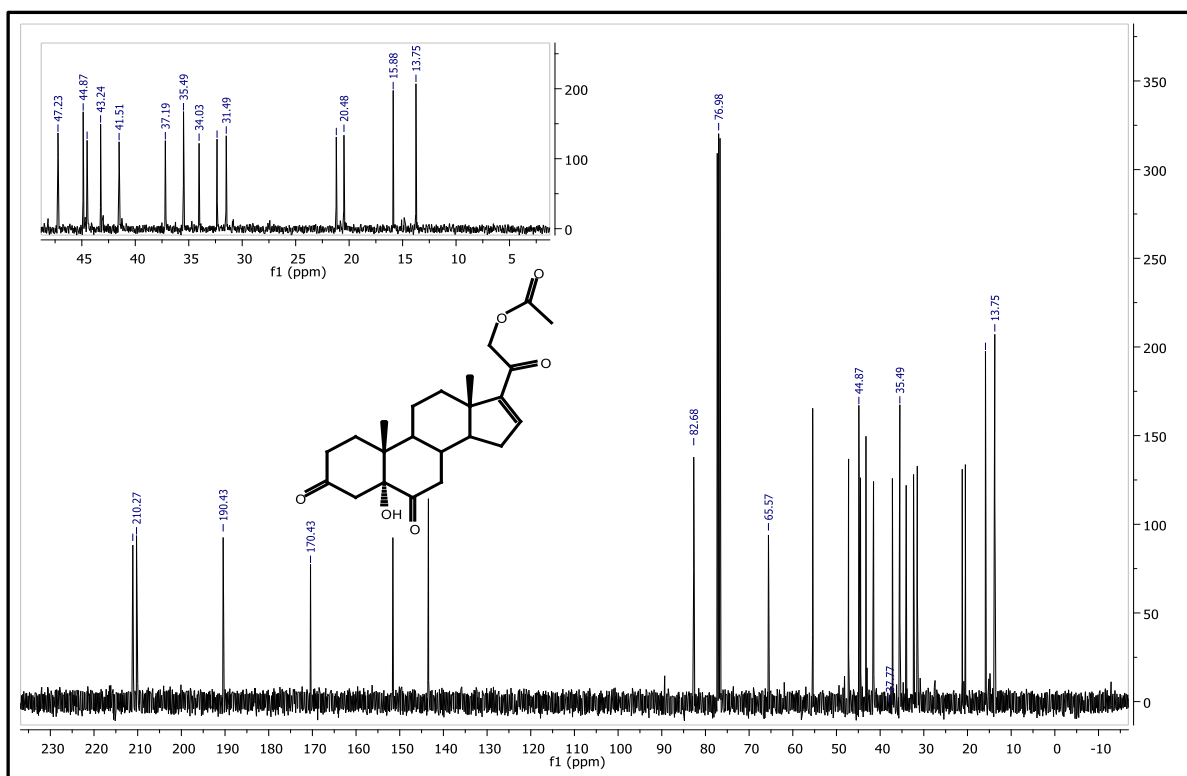
Espectro 34. UV de 3 β -hidroxi-21-propionoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-5,16-dien-20-ona (**8b**).



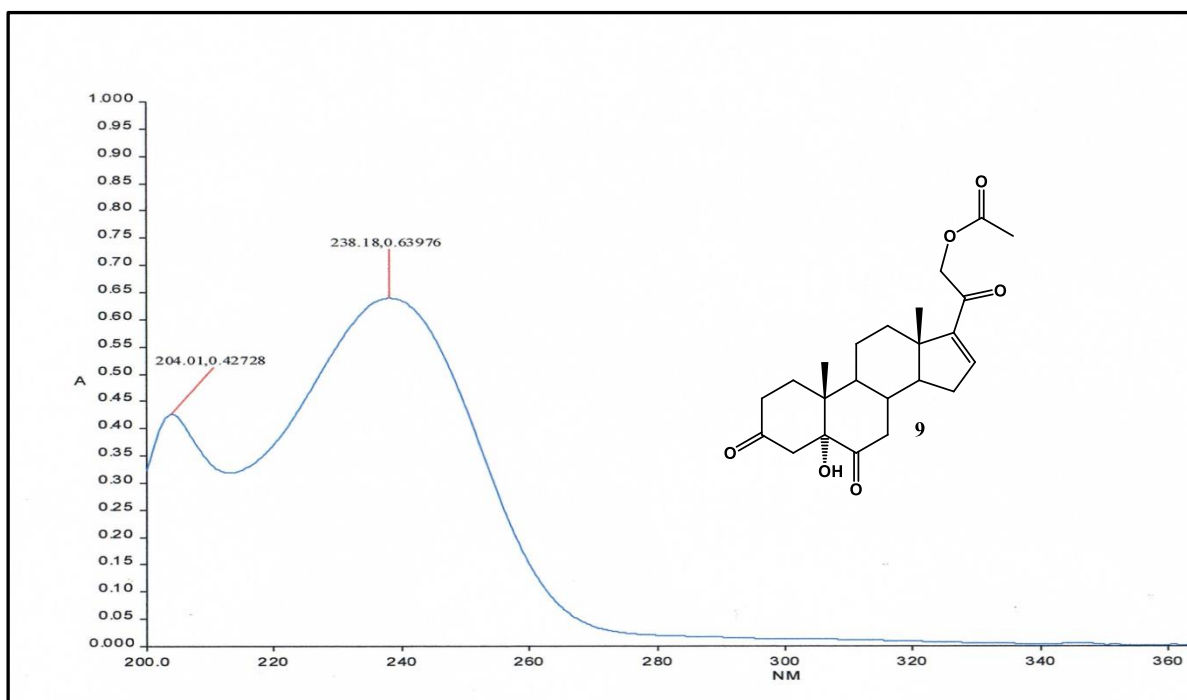
Espectro 35. IR de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9a**).



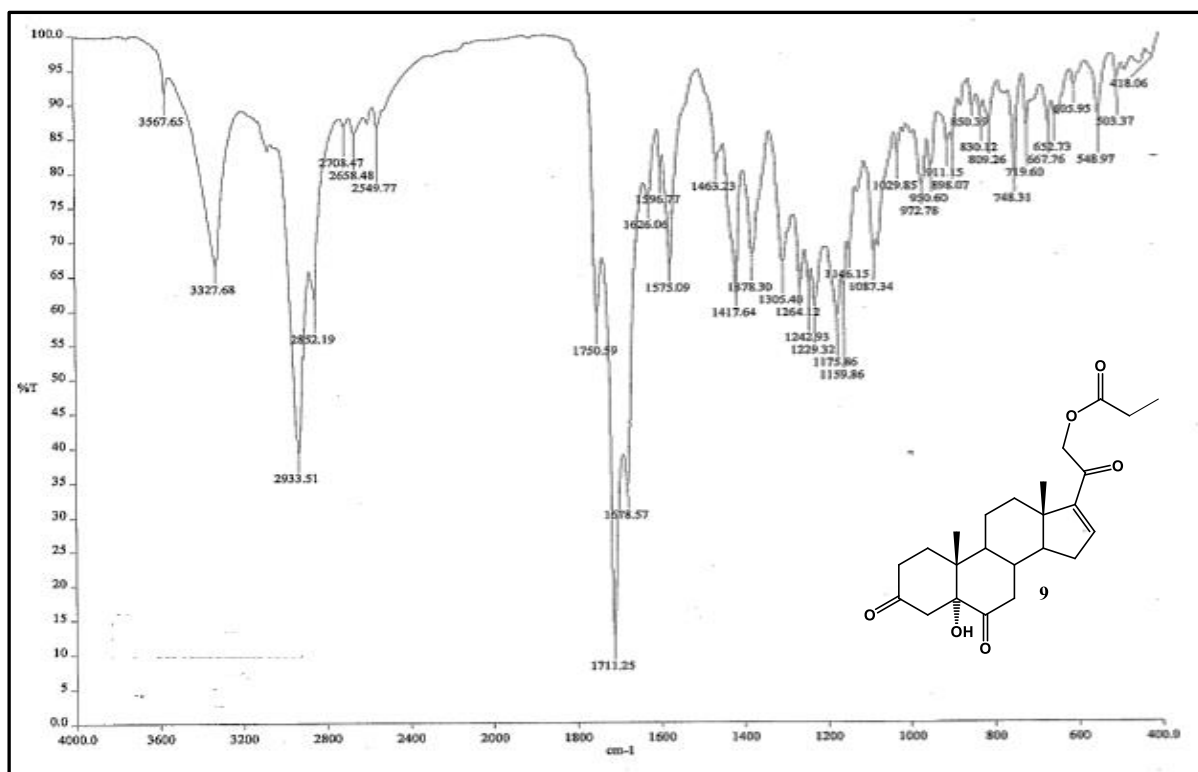
Espectro 36. RMN ¹H de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9a**).



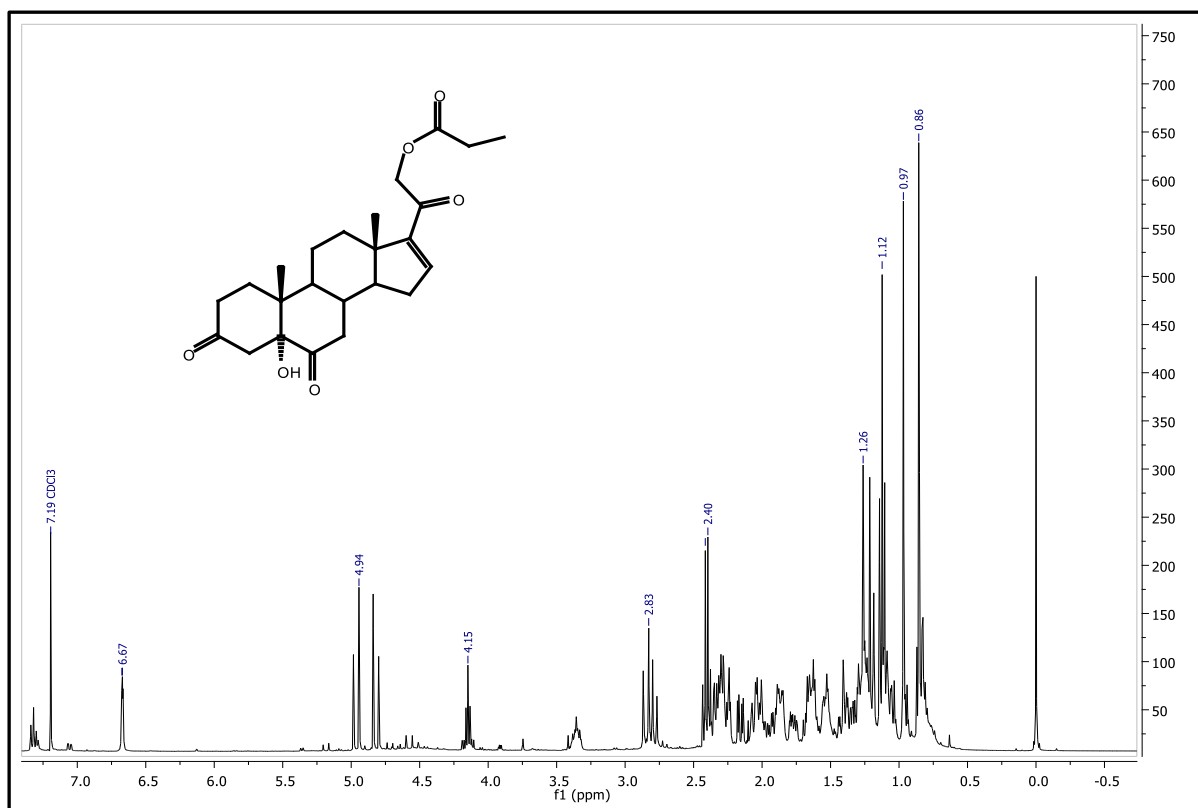
Espectro 37. RMN ^{13}C de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9a**).



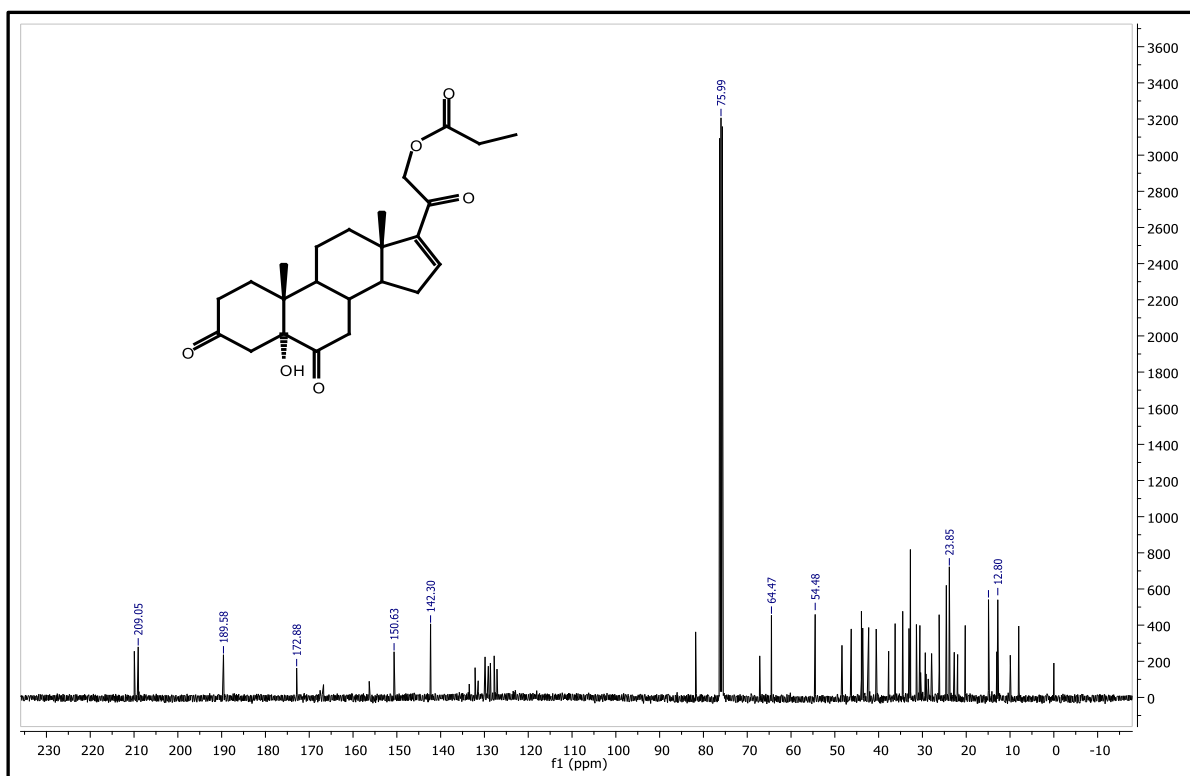
Espectro 38. UV de de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9a**).



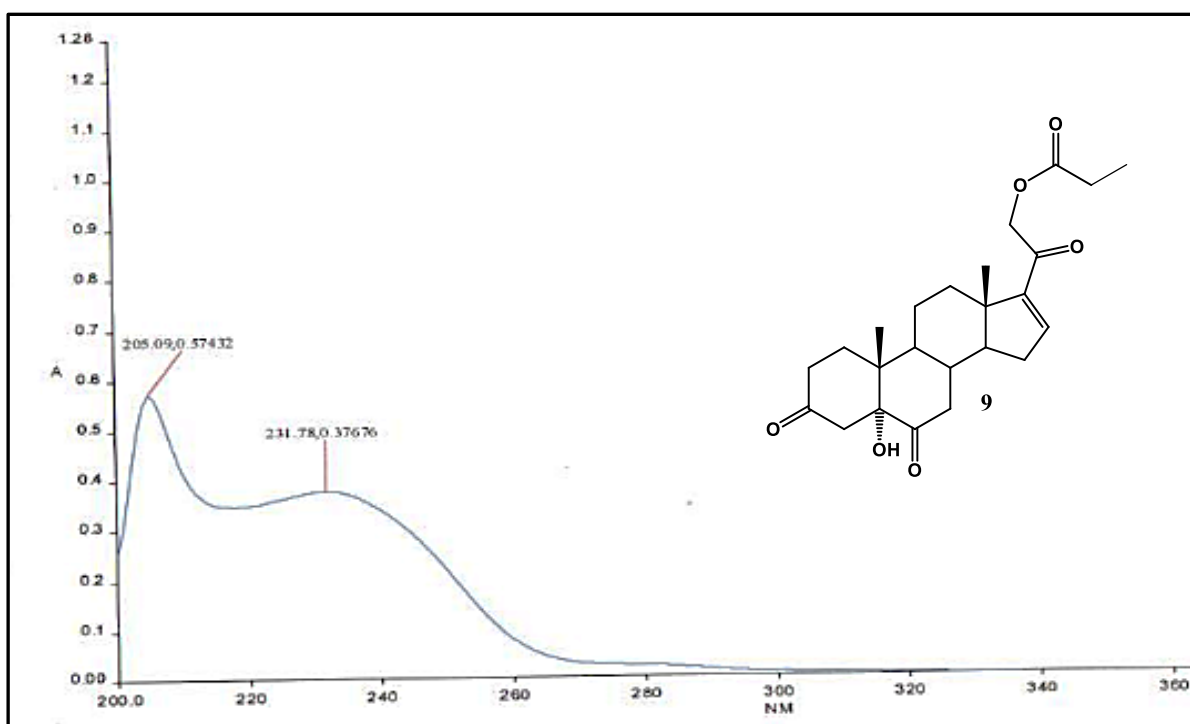
Espectro 39. IR de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9b**).



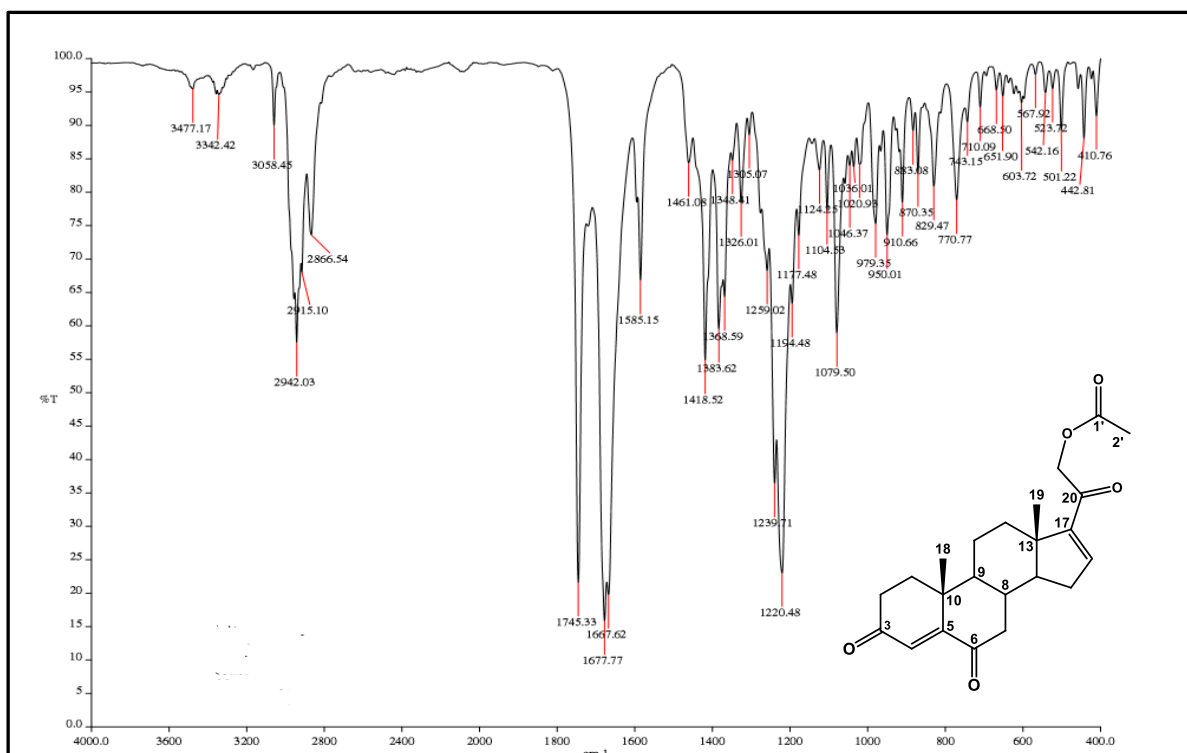
Espectro 40. RMN ¹H de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9b**).



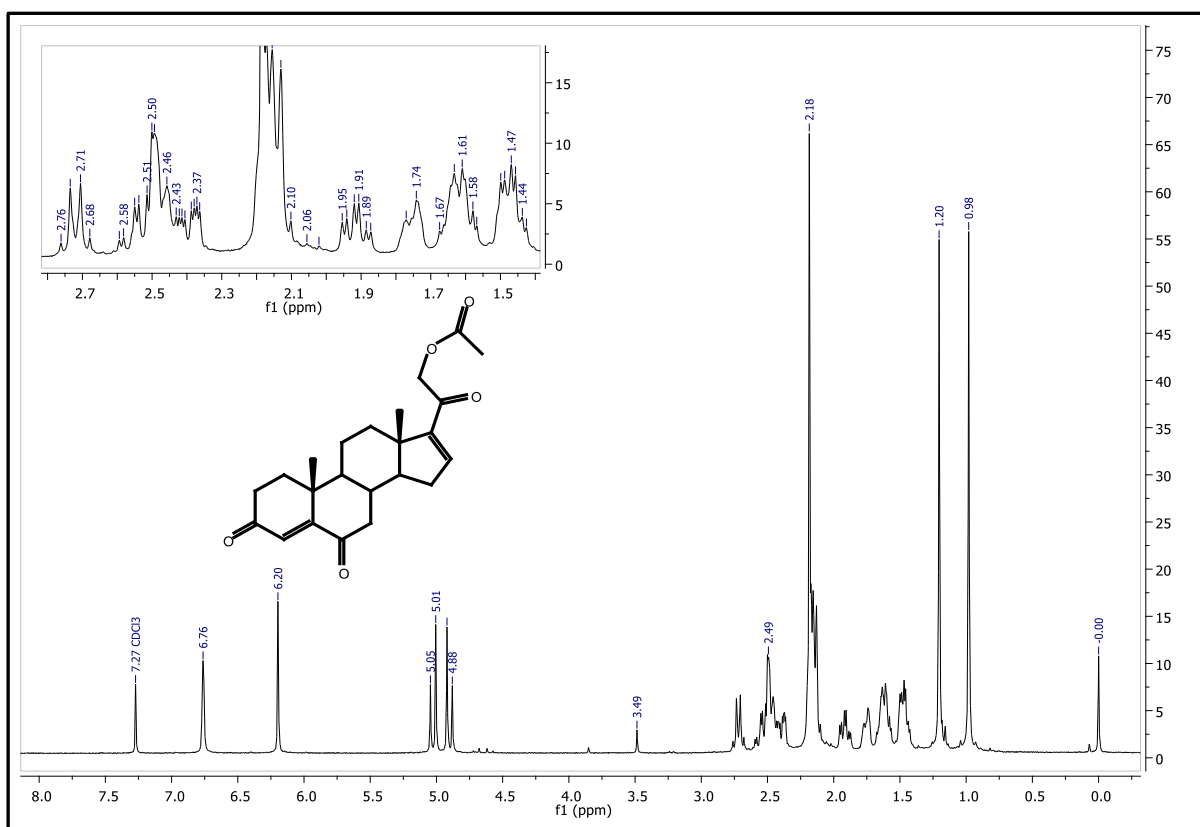
Espectro 41. RMN ^{13}C de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9b**).



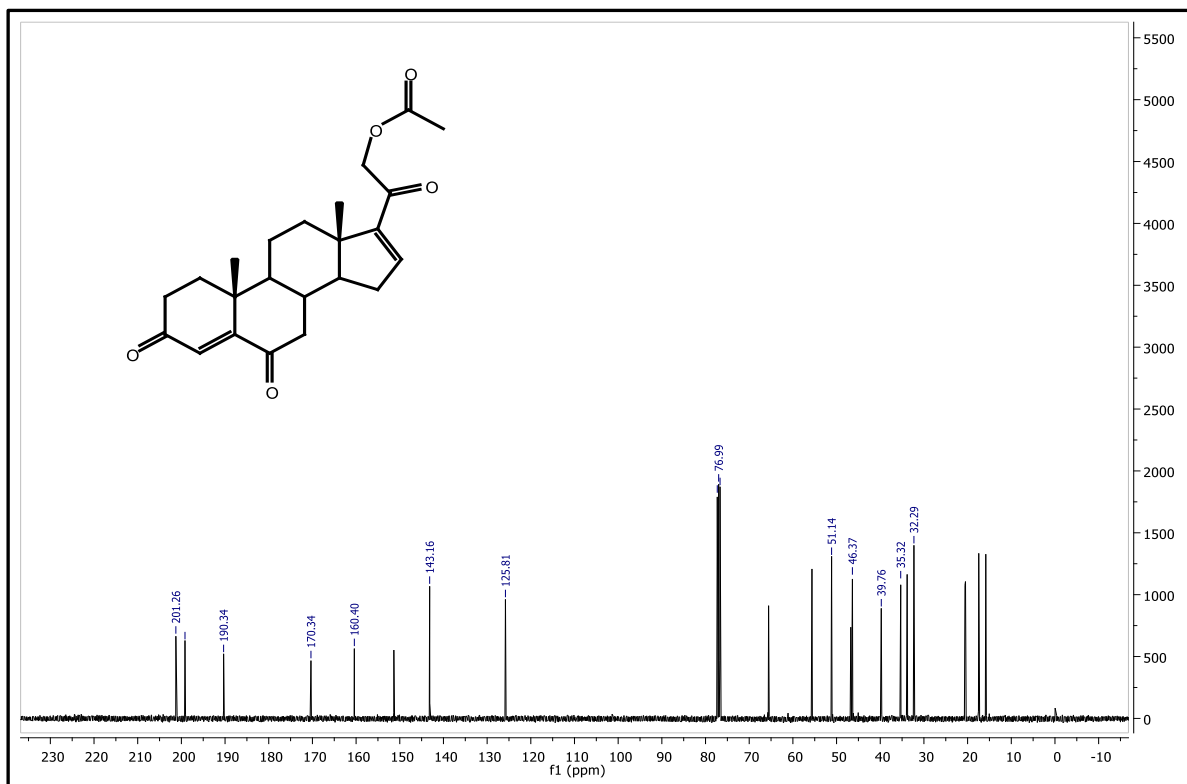
Espectro 42. UV de 5-hidroxi-21-acetoxipregna-16-en-3,6,20-triona (**9b**).



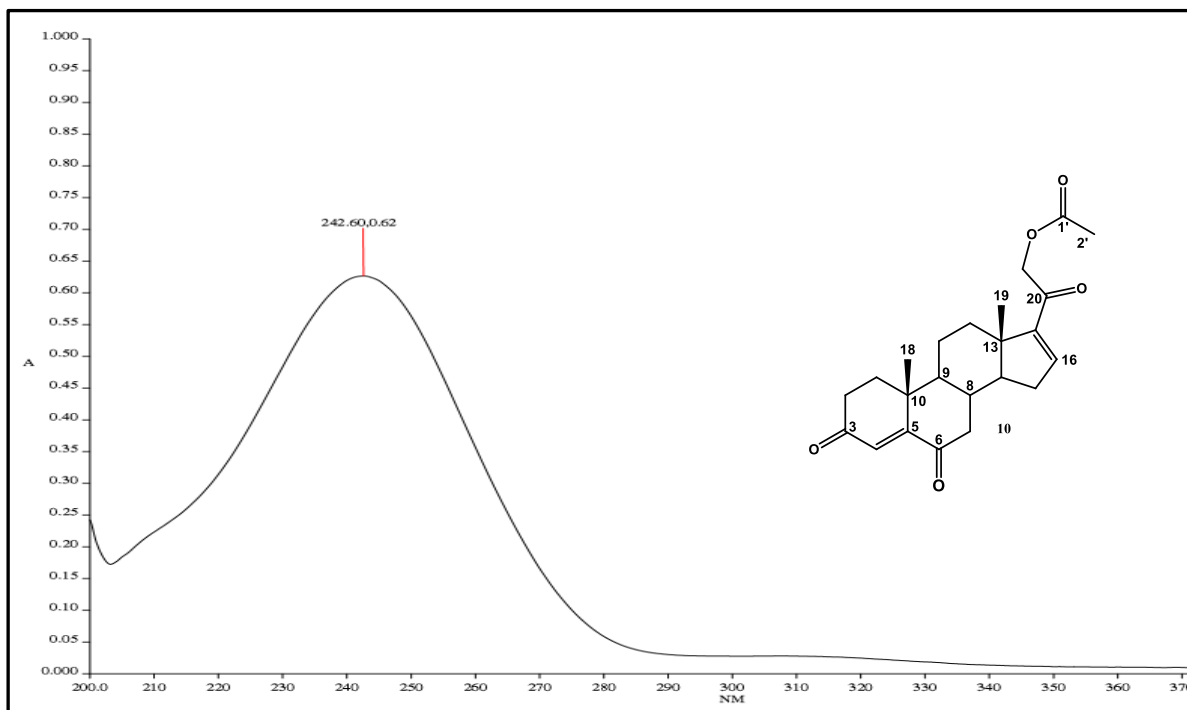
Espectro 43. IR de 21-acetoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10a**).



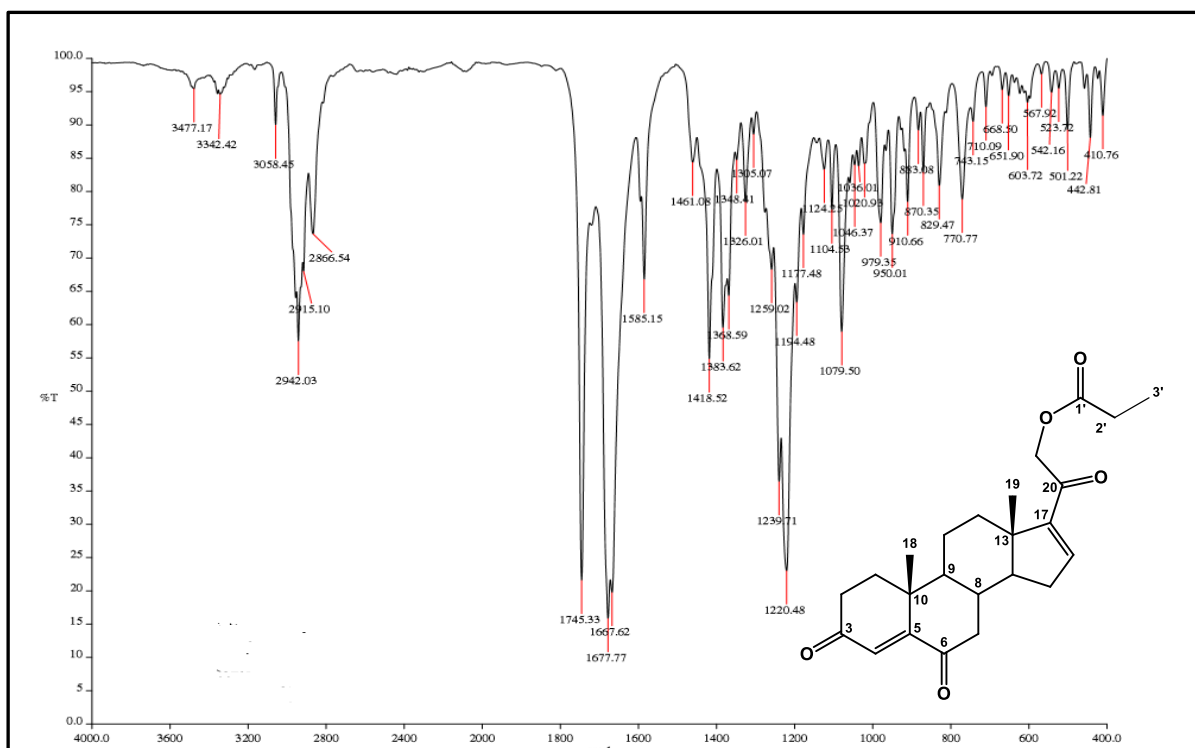
Espectro 44. RMN ^1H de 21-acetoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10a**).



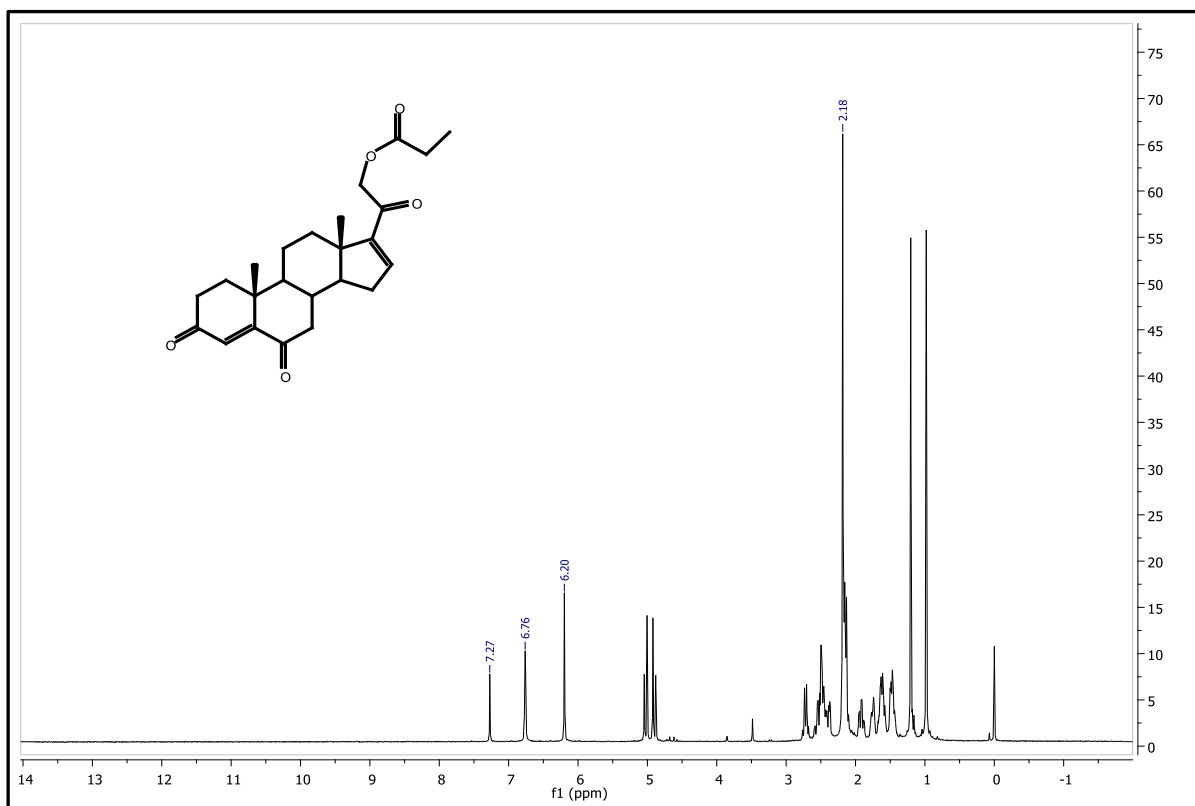
Espectro 45. RMN ^{13}C de 21-acetoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (10a).



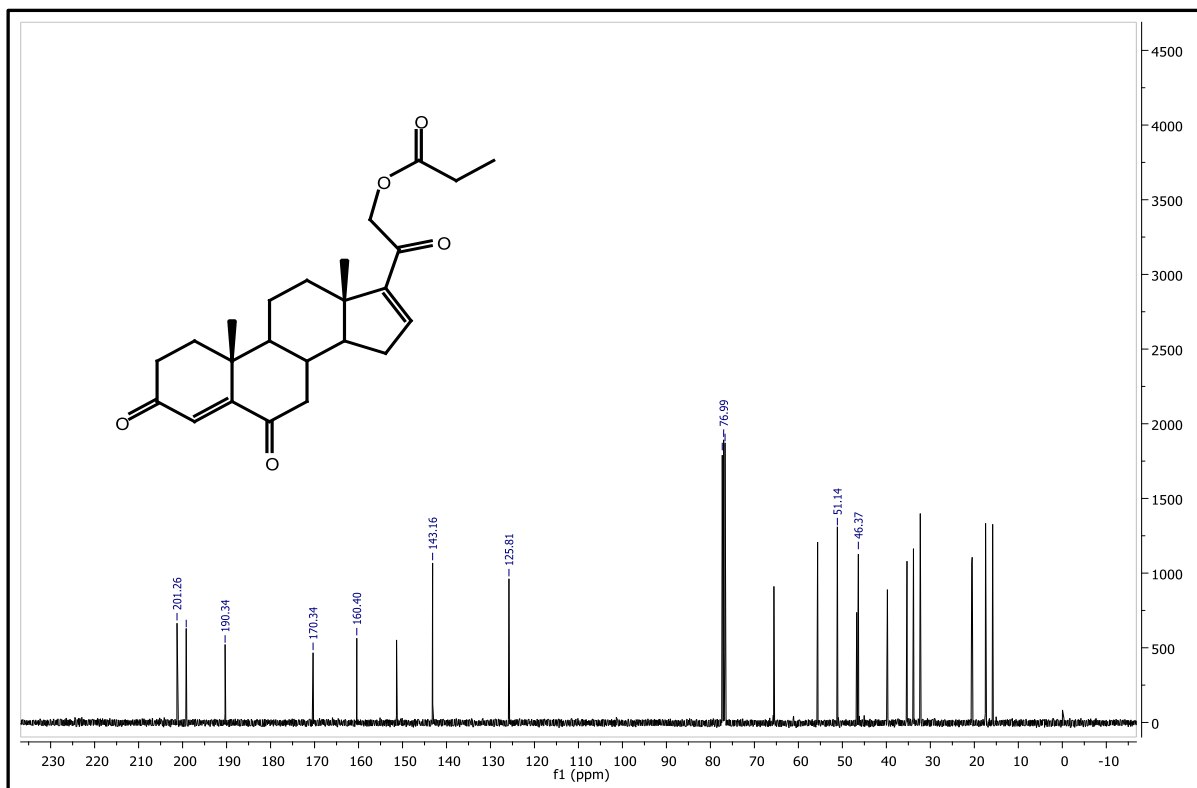
Espectro 46. UV de 21-acetoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (10a).



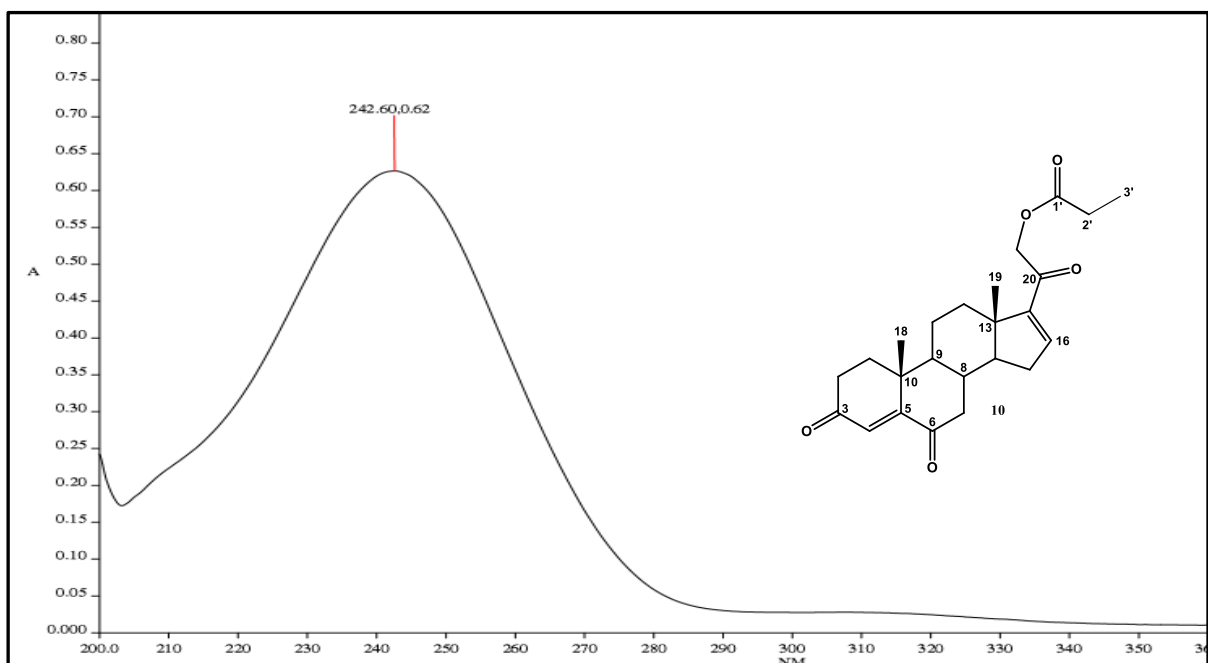
Espectro 47. IR de 21-propionoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10b**).



Espectro 48. RMN ¹H de 21-propionoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10b**).



Espectro 49. RMN ^{13}C de 21-propionoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10b**).



Espectro 50. UV de 21-propionoxipregna-4,6-dien-3,6,20-triona (**10b**).