



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

**Síntesis y evaluación biológica de nuevos inhibidores de la enzima
5 α -reductasa basados en el esqueleto del pregnano con
un grupo éster en C-3**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

I.Q.I ALEJANDRA CHÁVEZ RIVEROS



TUTOR: EUGENE A. BRATOEFF T. AÑO: 2012



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: Dr. Luis Ángel Maldonado Graniel

VOCAL: Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas

VOCAL: Dra. María Isabel Aguilar Laurents

VOCAL: Dr. Jesús Sandoval Ramírez

SECRETARIO: Dr. José Fausto Rivero Cruz

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

- Laboratorio 125, Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM, bajo la dirección del Dr. Eugene Bratoeff.
- Laboratorio G-006, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, bajo la dirección de la Dra. Marisa Cabeza Salinas.
- Unidad de pruebas biológicas, Edificio B, Instituto de Química, UNAM, bajo la dirección de la M. en C. María Teresa Obdulia Ramírez Apan.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de abrir sus puertas y brindarme el invaluable tesoro del conocimiento.

A mi director de tesis, el Dr. Eugene Bratoeff, por su generosidad al brindarme la oportunidad de ser parte de su grupo de trabajo, recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza que me permitió culminar este trabajo por lo cual estaré eternamente agradecida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo financiero para la realización de este proyecto (número de becario 223403).

A la Dra. Yazmín Arellano, la Dra. Isabel Aguilar y a la Dra. Elena Ramirez, por ser una guía más en el camino del conocimiento, por haberme compartido sus consejos, paciencia y opiniones, mil gracias.

A la Dra. Marisa Cabeza y a la M. en C. Ma. Teresa O. Apan por su apoyo en la elaboración de las pruebas biológicas, al personal de la USAI por la realización de la espectroscopía presentada en este trabajo.

A los miembros del jurado por sus observaciones y correcciones que permitieron enriquecer el presente trabajo.

Para mi familia y Ulises.

ÍNDICE

	Tema	Pág.
Índice de Figuras		v
Índice de Tablas		xi
Resumen		1
Introducción		3
Capítulo 1	Antecedentes	5
1.1	Generalidades sobre el cáncer	5
1.2	Generalidades sobre la próstata	5
1.3	Hiperplasia prostática benigna	6
1.4	Cáncer de próstata	9
1.4.1	Factores de riesgo	9
1.4.2	Pruebas para la detección del cáncer de próstata	10
1.4.3	Aspectos generales de las opciones de tratamiento	10
1.5	Esteroides	12
1.6	Hormonas sexuales masculinas	14
1.6.1	Testosterona	14
1.6.2	Enzima 5 α -reductasa	15
1.6.3	Antiandrógenos esteroidales	16
	Hipótesis	18
	Objetivos	18

Capítulo 2	Desarrollo Experimental	19
2.1	Parte química	19
2.1.1	Ruta sintética	21
2.1.2	Purificación y caracterización de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	22
2.1.3	Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	24
2.1.4	Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	26
2.1.5	Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	28
2.1.6	Síntesis y caracterización de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	30
2.1.7	Metodología general para la síntesis y caracterización de compuestos esteroidales con una función éster en C-3	32
2.1.7.1	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	32
2.1.7.2	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	34
2.1.7.3	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	36
2.1.7.4	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	38
2.1.7.5	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	40
2.1.7.6	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	42
2.1.7.7	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	44
2.1.7.8	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	45
2.1.7.9	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)	47
2.1.7.10	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)	49
2.1.7.11	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)	51
2.1.7.12	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)	52
2.1.7.13	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)	54

2.1.7.14	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)	56
2.1.7.15	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	58
2.1.7.16	Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	60
2.2	Parte Biológica	62
2.2.1	Material biológico	62
2.2.2	Sustancias y equipos	62
2.2.3	Ensayo <i>in vivo</i> (peso de la próstata)	63
2.2.4	Ensayo <i>in vitro</i> (inhibición de la enzima 5 α -reductasa)	67
2.2.4.1	Extracción de la enzima 5 α -reductasa	67
2.2.4.2	Determinación de la concentración inhibitoria 50% (IC ₅₀) de la enzima 5 α -reductasa en glándulas prostáticas humanas	68
2.2.4.3	Determinación de la concentración inhibitoria 50% (IC ₅₀) de la enzima 5 α -reductasa en vesículas de hámster	69
2.2.4.4	Ensayo <i>in vitro</i> , citotoxicidad en líneas celulares cancerosas humanas	70
Capítulo 3	Análisis de Resultados	72
3.1	Resultados sintéticos	72
3.2	Análisis de resultados biológicos	74
	Conclusiones	77
	Referencias	78
Anexo	Espectroscopía	80
A.1	Espectros de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	80
A.2	Espectros de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	82
A.3	Espectros de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	85
A.4	Espectros de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	87
A.5	Espectros de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	90
A.6	Espectros de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	92
A.7	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(7)	95

A.8	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	97
A.9	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	100
A.10	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	102
A.11	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	105
A.12	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	109
A.13	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	110
A.14	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)	112
A.15	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)	115
A.16	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)	117
A.17	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)	120
A.18	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)	122
A.19	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)	125
A.20	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	127
A.21	Espectros de la 3 β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	130

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Nombre	Pág.
R.1	Finasterida	2
I.1	Porcentaje de defunciones por tumores malignos para cada sexo	4
1.1	Esquema del sistema reproductor masculino	6
1.2	Estructura de los bloqueadores $\alpha 1$	8
1.3	Sustituyentes α y β en un esteroide.	13
1.4	Metabolismo de la testosterona	15
1.5	Transformación de la testosterona en DHT por acción de la enzima 5α -reductasa	15
1.6	Mecanismo de reducción de la testosterona en DHT por acción de la enzima 5α -reductasa	16
2.1	Ruta de síntesis	21
2.2	Estructura de la 3β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	22
2.3	Estructura de la 3β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	32
2.4	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	34
2.5	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	36
2.6	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	38
2.7	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	40
2.8	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	42
2.9	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	44
2.10	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	45
2.11	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)	47
2.12	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)	49
2.13	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)	51
2.14	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)	52
2.15	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)	54
2.16	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)	56
2.17	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	58
2.18	Estructura de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	60
2.19	Gráfica de los resultados de las pruebas <i>in vivo</i> (tamaño de próstata) para los compuestos 2-6	64
2.20	Gráfica de los resultados de las pruebas <i>in vivo</i> (tamaño de próstata) para los compuestos 7-21	65
2.21	Gráfica de los resultados de las pruebas <i>in vivo</i> (diámetro de los nódulos pigmentados) para los compuestos 7-21	66

2.22	Gráfica de los resultados de las pruebas <i>in vivo</i> (peso de las vesículas seminales) para los compuestos 7-21	67
3.1	Fragmentos más comunes en espectrometría de masas para los esteroides con una función éster en C-3	74
A.1	Espectro UV de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	80
A.2	Espectro IR de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	80
A.3	Espectro de RMN- ¹³ C de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	81
A.4	Espectro de RMN- ¹ H de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	81
A.5	Espectro de Masas de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)	82
A.6	Espectro UV de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	82
A.7	Espectro IR de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	83
A.8	Espectro de RMN- ¹³ C de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	83
A.9	Espectro de RMN- ¹ H de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	84
A.10	Espectro de Masas de la 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)	84
A.11	Espectro UV de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	85
A.12	Espectro IR de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	85
A.13	Espectro de RMN- ¹³ C de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	86
A.14	Espectro de RMN- ¹ H de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	86
A.15	Espectro de masas de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)	87
A.16	Espectro UV de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	87
A.17	Espectro IR de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	88
A.18	Espectro de RMN- ¹³ C de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	88
A.19	Espectro de RMN- ¹ H de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	89
A.20	Espectro de masas de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)	89
A.21	Espectro UV de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	90
A.22	Espectro IR de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	90
A.23	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	91
A.24	Espectro de RMN ¹ H de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	91
A.25	Espectro de masas de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)	92
A.26	Espectro UV de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	92
A.27	Espectro IR del 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	93
A.28	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	93
A.29	Espectro de RMN ¹ H de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	94
A.30	Espectro de masas de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)	94
A.31	Espectro UV de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	95
A.32	Espectro IR de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	95

A.33	Espectro de RMN ^{13}C de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	96
A.34	Espectro de RMN ^1H de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	96
A.35	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)	97
A.36	Espectro UV de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	97
A.37	Espectro IR de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	98
A.38	Espectro de RMN ^{13}C de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	98
A.39	Espectro de RMN ^1H de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	99
A.40	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)	99
A.41	Espectro UV de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9).	100
A.42	Espectro IR de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9).	100
A.43	Espectro de RMN ^{13}C de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	101
A.44	Espectro de RMN ^1H de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	101
A.45	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)	102
A.46	Espectro UV de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	102
A.47	Espectro IR de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	103
A.48	Espectro de RMN ^{13}C de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	103
A.49	Espectro de RMN ^1H de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	104
A.50	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)	104
A.51	Espectro de UV de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	105
A.52	Espectro de IR de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	105
A.53	Espectro de RMN ^{13}C de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	106
A.54	Espectro de RMN ^1H de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-	106

	diona (11)	
A.55	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)	107
A.56	Espectro de UV de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	107
A.57	Espectro de IR de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	108
A.58	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	108
A.59	Espectro de RMN ¹ H de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	109
A.60	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)	109
A.61	Espectro de UV de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	110
A.62	Espectro de IR de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	110
A.63	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	111
A.64	Espectro de RMN ¹ H de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	111
A.65	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)	112
A.66	Espectro de UV de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(14)	112
A.67	Espectro de IR de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(14)	113
A.68	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(14)	113
A.69	Espectro de RMN ¹ H de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(14)	114
A.70	Espectro de masas de la 3 β -(<i>p</i> -cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(14)	114
A.71	Espectro de UV de la 3 β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(15)	115
A.72	Espectro de IR de la 3 β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(15)	115
A.73	Espectro de RMN ¹³ C de la 3 β -(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-	116

	diona(15)	
A.74	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(15)	116
A.75	Espectro de masas de la 3β-(<i>p</i> -bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(15)	117
A.76	Espectro de UV de la 3β-(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(16)	117
A.77	Espectro de IR de la 3β-(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(16)	118
A.78	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(16)	118
A.79	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(16)	119
A.80	Espectro de masas de la 3β-(<i>p</i> -yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(16)	119
A.81	Espectro de UV de la 3β-(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(17)	120
A.82	Espectro de IR de la 3β-(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(17)	120
A.83	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(17)	121
A.84	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(17)	121
A.85	Espectro de masas de la 3β-(<i>p</i> -metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(17)	122
A.86	Espectro de UV de la 3β-(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(18)	122
A.87	Espectro de IR de la 3β-(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(18)	123
A.88	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(18)	123
A.89	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(18)	124
A.90	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-(<i>p</i> -etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(18)	124
A.91	Espectro de UV de la 3β-(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(19)	125
A.92	Espectro de IR de la 3β-(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona(19)	125
A.93	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-	126

	6,20-diona (19)	
A.94	Espectro de RMN ^1H de la 3β -(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)	126
A.95	Espectro de masas de la 3β -(<i>p</i> -metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)	127
A.96	Espectro de UV de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	127
A.97	Espectro de IR de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	128
A.98	Espectro de RMN ^{13}C de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	128
A.99	Espectro de RMN ^1H de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	129
A.100	Espectro de masas de la 3β -(<i>p</i> -etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)	129
A.101	Espectro de UV de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	130
A.102	Espectro de UV de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	130
A.103	Espectro de RMN ^{13}C de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	131
A.104	Espectro de RMN ^1H de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	131
A.105	Espectro de masas de la 3β -(<i>p</i> -trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)	132

ÍNDICE DE TABLAS

No.	Nombre	Pag.
1.1	Ejemplos de antiandrógenos comerciales	12
1.2	Carbociclos fundamentales	13
1.3	Comparación de las isoformas 1 y 2 de la enzima 5 α -reductasa	16
2.1	Sustituyentes en <i>para</i> al anillo aromático	21
2.2	Propiedades físicas de la materia prima	22
2.3	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de la materia prima	22
2.4	Propiedades físicas del compuesto 2	24
2.5	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 2	24
2.6	Propiedades físicas del compuesto 3	26
2.7	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 3	26
2.8	Propiedades físicas del compuesto 4	28
2.9	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 4	28
2.10	Propiedades físicas del compuesto 5	30
2.11	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 5	30
2.12	Propiedades físicas del compuesto 6	33
2.13	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 6	33
2.14	Propiedades físicas del compuesto 7	34
2.15	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 7	34
2.16	Propiedades físicas del compuesto 8	36
2.17	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 8	36
2.18	Propiedades físicas del compuesto 9	38
2.19	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 9	38
2.20	Propiedades físicas del compuesto 10	40
2.21	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 10	40
2.22	Propiedades físicas del compuesto 11	42
2.23	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 11	42
2.24	Propiedades físicas del compuesto 12	44
2.25	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 12	44
2.26	Propiedades físicas del compuesto 13	46
2.27	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 13	46
2.28	Propiedades físicas del compuesto 14	47
2.29	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 14	47
2.30	Propiedades físicas del compuesto 15	49
2.31	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 15	49
2.32	Propiedades físicas del compuesto 16	51

2.33	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 16	51
2.34	Propiedades físicas del compuesto 17	53
2.35	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 17	53
2.36	Propiedades físicas del compuesto 18	54
2.37	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 18	55
2.38	Propiedades físicas del compuesto 19	56
2.39	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 19	57
2.40	Propiedades físicas del compuesto 20	59
2.41	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 20	59
2.42	Propiedades físicas del compuesto 21	61
2.43	Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 21	61
2.44	Resultados del ensayo in vivo (peso de la próstata) para los compuestos 2-6	64
2.45	Resultados del ensayo in vivo (peso de la próstata) para los compuestos 7-21	64
2.46	Resultados del ensayo in vivo (diámetro de los nódulos pigmentados) para los compuestos 7-21	65
2.47	Resultados del ensayo in vivo (peso de las vesículas seminales) para los compuestos 7-21	66
2.48	Resultados IC_{50} de los compuestos 2-6 sobre la enzima prostática humana	69
2.49	Resultados IC_{50} de los compuestos 2-6 sobre la enzima prostática de hámster	70
2.50	Análisis primario de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas humana	71
3.1	Valores de Log P calculados para los compuestos sintetizados en este trabajo	76

RESUMEN

Actualmente el cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna son dos padecimientos con una incidencia creciente que afectan a la población masculina de edad avanzada (mayores a 45 años). Ambos padecimientos son andrógeno-dependientes, es decir, que su desarrollo y patología es dependiente de las concentraciones de andrógenos en el organismo, principalmente de la dihidrotestosterona, que es el andrógeno más potente.

Es por ello que se han creado diversos tratamientos para disminuir las concentraciones de ésta en el organismo, siendo de vital interés los inhibidores de la enzima 5α -reductasa, debido a que esta enzima es la encargada de la reducción de testosterona a dihidrotestosterona. Desde el punto de vista farmacológico este tratamiento resulta muy atractivo ya que únicamente se detienen las acciones andrógenicas causadas por la dihidrotestosterona sin afectar las funciones fisiológicas de la testosterona, en consecuencia los efectos secundarios son menores.

En este trabajo de investigación se sintetizaron compuestos derivados de la progesterona con dos carbonilos α,β insaturados, uno en C-20 y el otro en C-6, así como una función éster en C-3 (compuestos nuevos) y sus respectivos intermediarios sintéticos (compuestos conocidos): 3β -acetoxi- $5\alpha,6\alpha$ -epoxipregna-16-en-20-ona (**2**), 3β -acetoxi- 5α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (**3**), 3β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**4**), 3β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**5**), 3β -(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**6**), 3β -(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**7**), 3β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**8**), 3β -(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**9**), 3β -(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**10**), 3β -(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**11**), 3β -(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**12**), 3β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**13**), 3β -(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**14**), 3β -(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**15**), 3β -(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**16**), 3β -(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**17**), 3β -(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**18**), 3β -(*p*-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**19**), 3β -(*p*-etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**20**), 3β -(*p*-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**21**). Asimismo se realizó la evaluación biológica de estos compuestos, como de sus intermediarios, mediante ensayos *in vitro* de inhibición de la enzima 5α -reductasa de próstata de cadáver humano y de hámster, de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas y de inhibición *in vivo* del crecimiento de la próstata en hámsteres castrados.

El compuesto **2** es el que presenta mayor actividad *in vitro* para la inhibición de la enzima 5α -reductasa con una potencia 166 veces mayor a la Finasterida (Proscar[®]) que es el fármaco de mercado. Hasta ahora, el compuesto **2** ha sido el único que ha presentado una actividad *in vivo* comparable a la Finasterida. Cabe destacar que por cuestiones de tiempo aún falta determinar la actividad de los compuestos **7-21** los cuales se espera que muestren actividades biológicas parecidas o mejores que la de los compuestos hasta ahora estudiados.

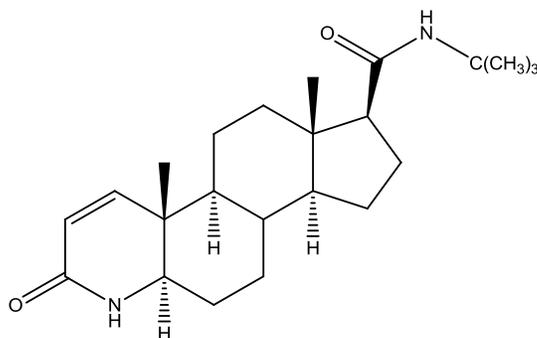


Figura R.1 Finasterida

En la prueba *in vitro* de citotoxicidad en líneas de cáncer, se observa que todos los compuestos presentan un porcentaje elevado de inhibición del crecimiento en líneas celulares correspondientes al cáncer de mama. En lo referente a la línea celular de cáncer de próstata, solo el compuesto **14** presentó un valor alto de inhibición, al igual que contra células cancerígenas de colon y de mama.

Gracias a este estudio se tienen nuevas herramientas sobre los requerimientos necesarios para un efecto antiandrogénico de derivados de la progesterona.

INTRODUCCIÓN

Mundialmente, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad. Este flagelo es resultado de la interacción de factores genéticos y externos (físicos, químicos y biológicos) que produce la degeneración de las células, con lo que se originan lesiones precancerosas y finalmente tumores malignos. Dichos tumores suelen estar localizados, pero eventualmente pueden diseminarse a otros órganos (metástasis). La incidencia del cáncer se relaciona directamente con la edad, ya que las personas están más tiempo expuestas a factores causales relacionados con esta enfermedad.

Según datos del INEGI (febrero 2011) los tumores malignos son los causantes de aproximadamente 13% de las defunciones mundiales, 7.9 millones de muertes por año, de las cuales más del 72% se registran en países de ingresos bajos y medios. La Organización Mundial de la Salud (OMS) prevé que entre 2007 y 2030, aumentará 45% la mortalidad por cáncer a nivel mundial, pues estima que pasara de 7.9 a 11.5 millones de defunciones por año, resultado del crecimiento demográfico y el envejecimiento de la población; además, estima que durante el mismo periodo, el número de casos nuevos de cáncer aumentará de 11.3 a 15.5 millones.

En nuestro país, la tasa de defunción por tumores tiende a aumentar. De 1998 a 2008 la tasa de mortalidad por cáncer se incrementó, pasando de 57.7 a 66.6 por cada 100 mil habitantes. Entre las mujeres, el crecimiento fue de 59.6 a 66.7 por cada 100 mil habitantes, mientras que entre los hombres, de 55.6 a 66.5 cada 100 mil habitantes.

En 2008, según la tasa de mortalidad observada de tumores malignos para la población de 60 años y más, los tumores en tráquea, bronquios y pulmón presentan la tasa más alta (60.19 por cada 100 mil habitantes), seguidos por los tumores de hígado y de las vías biliares intrahepáticas, y los de estómago (44.11 y 42.30 por cada 100 mil habitantes, respectivamente). Resulta preocupante que la población masculina presente la tasa de defunciones por tumores más alta, por la elevada mortalidad por tumor de próstata (121.57 por cada 100 mil hombres).

Finalmente, de acuerdo con las defunciones por tumores malignos en 2008, entre los hombres el mayor porcentaje de lesiones malignas fue en la próstata (8.1%), seguido por los tumores de tráquea, bronquios y pulmón (7.0%), enfermedad asociada al consumo de tabaco; y entre las mujeres, el cáncer de mama (7.6%), seguido por los tumores malignos de ovarios (6.4%).¹

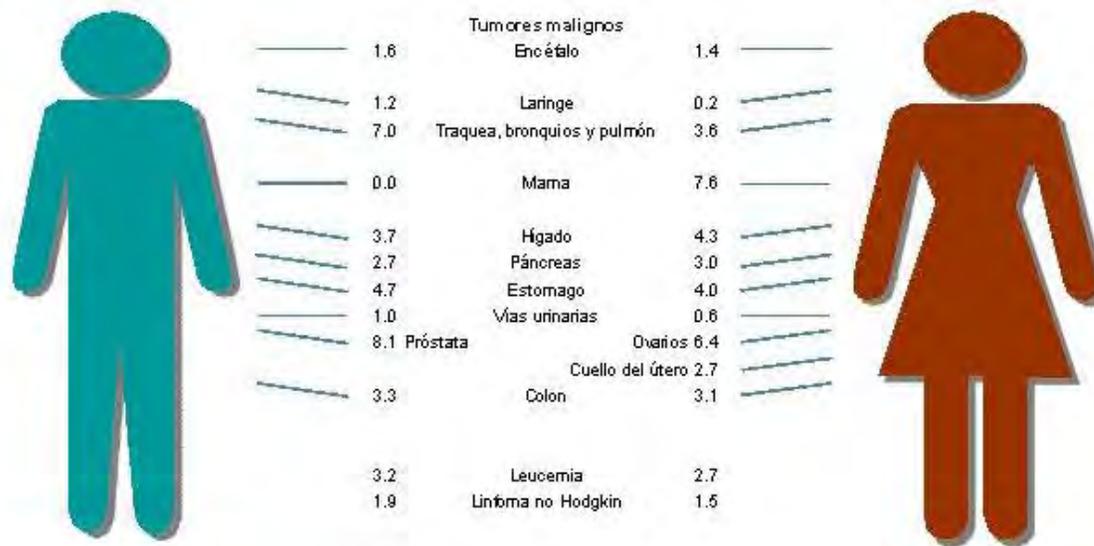


Figura.I.1 Porcentaje de defunciones por tumores malignos para cada sexo

Por esta razón, numerosos grupos de investigación han dedicado sus esfuerzos para atacar este mal. En nuestro grupo de trabajo nos hemos enfocado en sintetizar compuestos antiandrogénicos para contrarrestar el cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna, que como se mencionó , es uno de los principales padecimientos en la población masculina en el mundo.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1 Generalidades sobre el cáncer

El cáncer es un proceso en el cual las células de un órgano crecen fuera de control. Hay muchos tipos de cáncer, pero todos ellos se caracterizan por un crecimiento anormal de las células las cuales pueden invadir otros tejidos, algo que las células normales no pueden hacer. De este modo, las células cancerosas forman un tumor. Sin embargo, algunos cánceres, como la leucemia rara vez se forman.

Las células cancerosas entran al torrente sanguíneo o a los vasos linfáticos y pueden viajar a otras partes del cuerpo, para formar nuevos tumores que reemplazan a los tejidos normales. Este proceso se llama metástasis. Otro mecanismo de propagación del cáncer es por invasión, que es la migración y la penetración directa por las células de cáncer en los tejidos vecinos.

No importa a dónde se propague el cáncer, siempre recibe el nombre de su lugar de origen. Por ejemplo, el cáncer de mama que se ha propagado al hígado sigue siendo cáncer de seno, no cáncer de hígado. Asimismo, el cáncer de próstata que se ha extendido a los huesos se llama metástasis del cáncer de próstata y no cáncer de huesos.

Los diferentes tipos de cáncer pueden comportarse de manera muy diferente. Por ejemplo, el cáncer de pulmón y el de seno son enfermedades muy distintas que crecen a ritmos desiguales y responden a diferentes tratamientos. Es por eso que las personas con cáncer necesitan un tratamiento dirigido a su propio tipo de cáncer.

Algunos tumores no son cancerosos y se consideran benignos, ya que crecen en un solo lugar, no pueden diseminarse ni invadir otras partes del cuerpo. Aún así pueden ser peligrosos si presionan órganos vitales, tales como el cerebro. Con frecuencia, el tratamiento incluye la cirugía. Los tumores benignos no suelen crecer nuevamente.²

1.2 Generalidades sobre la próstata

La próstata, una glándula exclusivamente masculina, está ubicada delante del recto y debajo de la vejiga, como se muestra en la siguiente imagen. El tamaño de la próstata varía con la edad. En los hombres más jóvenes, la próstata es del tamaño de una nuez. Pero, puede ser mucho más grande en hombres de más edad.

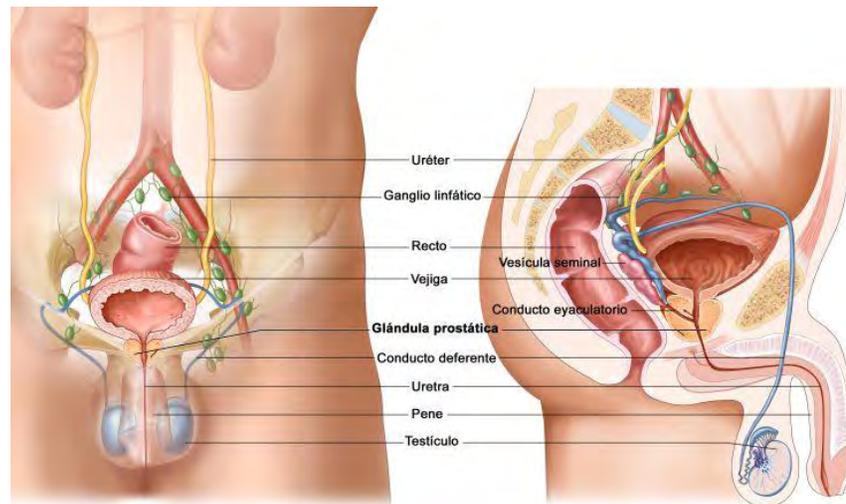


Figura 1.1 Esquema del sistema reproductor masculino

La función de la próstata consiste en producir cierta cantidad del líquido que protege y nutre a los espermatozoides presentes en el semen. Lo que causa que sea más líquido. Inmediatamente detrás de la próstata se encuentran las vesículas seminales, que producen el mayor volumen de líquido para el semen. La uretra, que es el conducto que transporta la orina y el semen fuera del cuerpo a través del pene, pasa por el centro de la próstata.³

La próstata comienza a desarrollarse antes del nacimiento y continúa su crecimiento hasta que el hombre alcanza la adultez. Este crecimiento es promovido por hormonas masculinas (llamadas andrógenos). El andrógeno principal, la testosterona, se produce en los testículos. La enzima 5α -reductasa transforma la testosterona en dihidrotestosterona (DHT), la cual le envía una señal a la próstata para que crezca. Mientras las hormonas masculinas estén presentes, la próstata permanece del tamaño normal para un adulto. En los hombres mayores a 45 años, la parte interior de la próstata (alrededor de la uretra) a menudo sigue creciendo causando una condición común llamada hiperplasia prostática benigna (HPB). Cuando se presenta esta afección, el tejido de la próstata puede presionar la uretra, lo que causa problemas al pasar la orina. La HPB puede ser un problema de salud grave, pero no es cáncer.⁴

1.3 Hiperplasia prostática benigna

La hiperplasia prostática benigna también es conocida como hipertrofia prostática benigna, crecimiento prostático benigno u obstrucción prostática benigna.

La HPB es definida de acuerdo a criterios clínicos como la presencia de una obstrucción del flujo de salida de la vejiga y el crecimiento prostático benigno. Esto es conocido también como prostatismo.

El crecimiento de la próstata es prácticamente universal en los hombres debido a la edad, cuando el tamaño de esta glándula es muy grande puede llegar a comprimir la uretra lo que lleva a una obstrucción significativa parcial o casi total de los canales de la uretra lo cual impide el paso del flujo de la orina y una retención urinaria aguda en algunos hombres.

La HPB provoca síntomas como dificultad para orinar, necesidad frecuente de orinar, disuria (dolor al orinar), aumento en el riesgo de infecciones del tracto urinario y retención urinaria. No se ha encontrado una relación directa entre la severidad de los síntomas y el tamaño de la próstata. Algunos hombres presentan síntomas severos de obstrucción urinaria con un crecimiento prostático mínimo, mientras que otros presentan síntomas mínimos con próstatas grandes.⁵

La patogénesis de la hiperplasia prostática benigna no es bien conocida hasta el momento, sin embargo algunas causas posibles son:

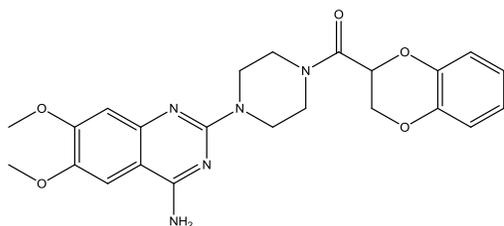
- Conversión de la testosterona plasmática (de los testículos) por la 5α -reductasa en dihidrotestosterona, la cual promueve el crecimiento prostático.⁶
- Un aumento de los niveles de estradiol (la enzima aromatasa convierte la testosterona a estradiol) como resultado de la edad. Los estrógenos actúan sinérgicamente con la dihidrotestosterona para inducir receptores androgénicos y crecimiento prostático.
- Activación de los adrenoreceptores $\alpha 1$, lo que incrementa el tono del músculo liso del cuello de la vejiga y la próstata.

La hiperplasia prostática benigna, se presenta en general, en los hombres mayores de 45 años y su prevalencia aumenta con la edad. La evidencia de los estudios de autopsias sugiere que más del 90% de los hombres mayores de 70 años presentan HPB. La edad a la cual se presentan los síntomas es cercana a los 65 años, y aunque para los hombres con ascendencia negra es de 60 años. A los 60 años la prevalencia de la HPB es $\geq 50\%$ y para la edad de 85 años hasta un 90% de los hombres presenta los síntomas. Sin embargo, a pesar de una alta prevalencia, la mortalidad asociada con la HPB es baja y la presencia de complicaciones serias no es frecuente.

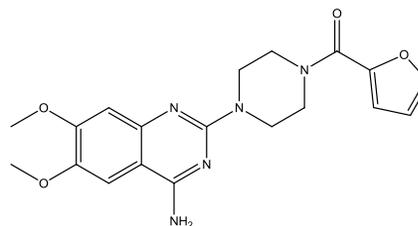
La elección del tratamiento apropiado se basa en la severidad de los síntomas, en el grado en que afectan el estilo de vida del individuo y en la presencia de cualquier otra condición médica. Las opciones de tratamiento incluyen: una espera con vigilancia cuidadosa, diversas terapias con medicamentos y diversos métodos quirúrgicos.⁷

Medicamentos:

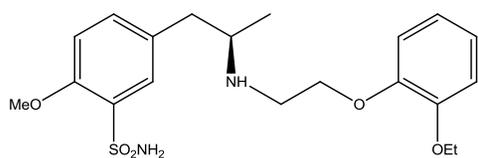
Bloqueadores α_1 : La terapia médica actual puede incluir el uso de bloqueadores α_1 (doxazosina, prazosina, tamsulosina y terazosina), también utilizados frecuentemente en el tratamiento de la hipertensión arterial. Estos medicamentos se usan en el tratamiento de la HPB puesto que relajan los músculos del cuello vesical y facilitan la micción. Dos tercios de las personas tratadas con bloqueadores α_1 manifiestan mejoría de los síntomas.



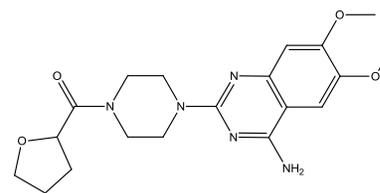
Doxazosina



Prazosina



Tamsulosina



Terazosina

Figura 1.2 Estructura de los bloqueadores α_1

Inhibidores de la 5α -reductasa: La Finasterida (Figura R.1, pág. 2) es un 4-azaesteroide inhibidor competitivo reversible y específico de la 5α -reductasa. Bloquea la transformación de testosterona en DHT a nivel de la próstata, reduciendo así su tamaño. Se ha demostrado que este fármaco aumenta el flujo de orina y disminuye los síntomas de la HPB. Sin embargo, para que se produzca una mejoría significativa de los síntomas, pueden ser necesarios hasta 6 meses de tratamiento. Entre los efectos secundarios potenciales relacionados con su uso están la disminución del impulso sexual (3.3%) y la impotencia (2.5 a 3.7%).⁸

Cirugía: La cirugía se aconseja generalmente en los casos con síntomas de incontinencia, hematuria recurrente, retención urinaria e infecciones urinarias recurrentes. La elección del tipo de procedimiento quirúrgico generalmente se basa en la severidad de los síntomas y el tamaño y forma de la próstata.

1.4 Cáncer de próstata

Varios tipos de células se encuentran en la próstata, pero casi todos los casos de cáncer de próstata se desarrollan a partir de las células de la glándula; células que producen el líquido de la próstata que se agrega al semen. Algunos cánceres de próstata pueden crecer y propagarse rápidamente, pero la mayoría de éstos crecen lentamente.²

1.4.1 Factores de riesgo

Un factor de riesgo es todo aquello que afecta la probabilidad de padecer una enfermedad. Sin embargo, los factores de riesgo no lo indican todo. Muchas personas con uno o más factores de riesgo nunca padecen cáncer, mientras que otras que ya tienen la enfermedad puede que no hayan tenido factores de riesgo conocidos.

Todavía no se entienden completamente las causas del cáncer de próstata, pero los investigadores han encontrado varios factores que pueden cambiar el riesgo de padecer esta enfermedad. Para algunos de estos factores, la asociación con el riesgo de cáncer de próstata aún no está clara.²

Edad. La edad es el principal factor de riesgo para el cáncer de próstata. El cáncer de próstata ocurre en muy pocas ocasiones antes de la edad de 40 años, pero la probabilidad de tener cáncer de próstata aumenta rápidamente después de los 50 años. Casi dos de tres casos de cáncer de próstata se detectan en hombres mayores de 65 años.

Raza o grupo étnico. El cáncer de próstata ocurre con más frecuencia en los hombres de ascendencia de raza negra que en los hombres de otras razas. Además, los hombres de raza negra tienen una mayor probabilidad de ser diagnosticados en una etapa avanzada, y tienen más del doble de probabilidad de morir de cáncer de próstata en comparación con los hombres blancos. El cáncer de próstata ocurre con menos frecuencia en los hombres asiático-americanos e hispano1-latinos que en los hombres blancos. No están claras las razones de estas diferencias raciales y étnicas.

Antecedentes familiares. Parece ser que el cáncer de próstata afecta más a algunas familias, lo cual sugiere que en algunos casos puede haber un factor hereditario o genético. Si el padre o el hermano de un hombre padecen cáncer de próstata, se duplica el riesgo de que este hombre padezca la enfermedad (el riesgo es mayor para un hombre con un hermano afectado que para un hombre cuyo padre ha tenido este tipo de cáncer).

Inflamación de la próstata. Algunos estudios han sugerido que la prostatitis (inflamación de la glándula prostática) puede estar asociada con un riesgo aumentado de cáncer de próstata, aunque otros estudios no han encontrado tal asociación. A menudo, la inflamación se observa en las muestras del tejido de la próstata que también contiene cáncer. La asociación entre los dos no está clara, pero ésta es un área activa de investigación.

1.4.2 Pruebas para la detección del cáncer de próstata

La detección del cáncer de próstata implica buscar la presencia de cáncer antes de que produzca síntomas. Esto resulta útil para descubrir el cáncer en una fase temprana, cuando puede ser más fácil de tratar.⁹

Las pruebas que se realizan habitualmente para detectar el cáncer de próstata¹⁰ son:

Tacto rectal (DRE, por sus siglas en inglés): Un doctor o un enfermero insertará un dedo enguantado y lubricado en el recto para palpar la próstata, con el fin de determinar su tamaño y sentir si hay bultos u otras anomalías.

Prueba del antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés): La prueba del PSA es un examen de sangre que mide los niveles de PSA en la sangre. El PSA es una proteína que produce la próstata. Los niveles del PSA en la sangre pueden ser más elevados en los hombres que tienen cáncer de próstata. Otras afecciones que afectan la próstata también pueden causar una elevación en los niveles del PSA.

1.4.3 Aspectos generales de las opciones de tratamiento

Existen diferentes tipos de tratamientos para todos los pacientes con cáncer de próstata. Algunos tratamientos son estándar (el que se usa en la actualidad) y otros están en investigación en estudios clínicos. La elección del tratamiento más adecuado para el cáncer es una decisión que idealmente involucra al paciente, su familia y al equipo de atención médica².

- **Vigilancia expectante.**
- **Cirugía.**
- **Radioterapia.**
- **Criocirugía.**
- **Quimioterapia.**

- **Terapia biológica.**
- **Hormonoterapia:** La hormonoterapia es el uso de hormonas con el fin de detener el crecimiento de las células cancerosas. Las hormonas masculinas (en especial la testosterona) pueden estimular el crecimiento del cáncer de próstata. Con el fin de detener este crecimiento se pueden administrar hormonas femeninas o medicamentos que reducen la producción de las hormonas masculinas.

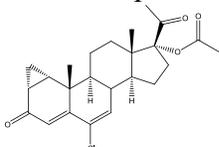
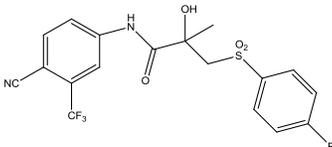
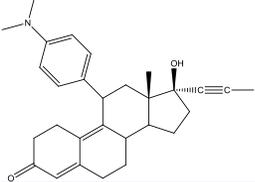
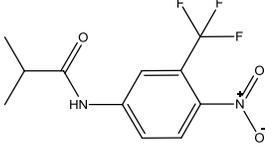
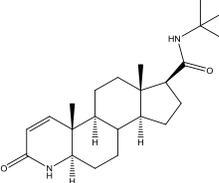
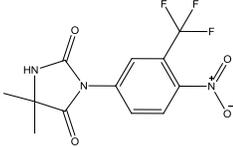
La hormonoterapia utilizada en el tratamiento del cáncer de próstata puede incluir lo siguiente:

- Los estrógenos (hormonas que producen las características sexuales femeninas) pueden impedir que los testículos produzcan testosterona. Sin embargo, los estrógenos rara vez se utilizan en el tratamiento del cáncer de próstata debido al riesgo de efectos secundarios peligrosos.
- Los agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante también pueden impedir que los testículos produzcan testosterona. Algunos ejemplos son el leuprolide, el goserelín y el busarelín.
- Los fármacos que pueden impedir que las glándulas suprarrenales produzcan andrógenos incluyen al ketoconazol y la aminoglutetimida.
- La orquidectomía es la cirugía que se hace para extirpar los testículos, la principal fuente de hormonas masculinas, con el fin de reducir la producción de estas hormonas.

Los hombres tratados con hormonoterapia pueden quejarse de oleadas de calor, deterioro de la función sexual y pérdida del apetito sexual.

- Los antiandrógenos. Su función consiste en suprimir la acción biológica de los andrógenos (hormonas que producen las características sexuales masculinas) ya sea bloqueando los receptores androgénicos o impidiendo la función de ciertas enzimas conocidas como isoformas, que actúan en diferentes tejidos. Por lo que se refiere a los antiandrógenos, pueden estar constituidos por moléculas con una estructura esteroidal, como los que han sido desarrollados por nuestro grupo de investigación, o ser de tipo no esteroidal.

Tabla 1.1 Ejemplos de antiandrógenos comerciales

Esteroidales	No esteroidales
Acetato de Ciproterona 	Bicalutamida 
Mefepristona 	Flutamida 
Finasterida 	Nilutamida 

Los antiandrógenos comerciales ocasionan alteraciones hormonales, fallas cardiacas, retención de líquidos, efectos nocivos en las células del hígado (hepatotóxicos), disminución del deseo sexual, vómito y diarrea, entre otros síntomas; además, un tratamiento varía entre 600 y 1200 pesos al mes.

Por lo tanto investigaciones en este campo están enfocadas en anular lo más posible estas reacciones adversas en los antiandrógenos que se han sintetizado, y además, diseñar un proceso de síntesis rentable, con altos rendimientos y bajos costos.

1.5 Esteroides

En los humanos, la mayor parte de los esteroides funcionan como hormonas, mensajeros químicos que son secretados por las glándulas endócrinas y que se llevan a través de la corriente sanguínea a los tejidos que son su destino.

Hay dos clases principales de hormonas esteroidales: las hormonas sexuales, que se encargan del proceso de maduración, el crecimiento de los tejidos y la reproducción; la segunda clase de las hormonas esteroides son las adrenocorticales, estas regulan diversos procesos metabólicos.¹¹

Los esteroides son moléculas que están basadas en el sistema de anillo tetracíclico ciclopentanoperhidrofenantreno, ver figura 1.2.

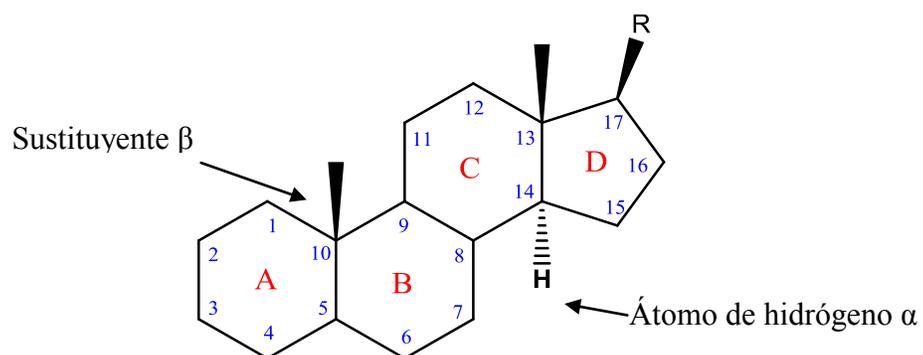
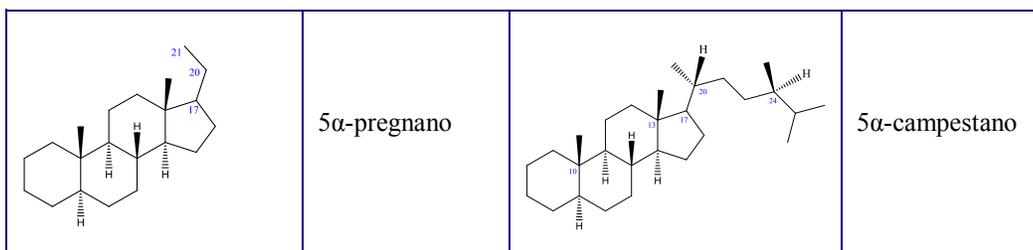


Figura 1.3 Sustituyentes α y β en un esteroide. (R = cadena lateral)

Los nombres de los esteroides se designan como derivados de los esqueletos, mostrados en la tabla 1.2 y varían principalmente en los sustituyentes que presentan en la posición 17 así como de la estereoquímica α o β de los hidrógenos o los metilos¹³.

Tabla 1.2 Carbociclos fundamentales

FÓRMULA	SERIE 5α	FÓRMULA	SERIE 5α
	5 α -gonano		5 α -colano
	5 α -estrano		5 α -colestano
	5 α -androstando		5 α -ergostano



1.6 Hormonas sexuales masculinas

Los andrógenos son hormonas sexuales masculinas por ejemplo la testosterona, la androsterona y la androstendiona. Su función principal es estimular el desarrollo de los caracteres sexuales masculinos. Son segregados por los testículos, pero también por los ovarios en la mujer (androstenediona) y por la corteza suprarrenal (principalmente la dihidroepiandrosterona).¹⁴ En el hombre solo el 10% de los andrógenos tiene origen suprarrenal. La testosterona, es en realidad una prohormona ya que para ejercer su acción fisiológica o farmacológica debe reducirse en posición 5 a la dihidrotestosterona, que es la hormona activa. Los testículos también producen estradiol que ejerce algunas acciones metabólicas y androgénicas. La androsterona, metabolito de la dihidrotestosterona y la etiocolanolona, metabolito de la testosterona, son los principales productos de acción androgénica de excreción urinaria, ambos fisiológicamente inactivos¹⁵.

1.6.1 Testosterona

En los hombres, la testosterona es la hormona más importante, ayuda al cuerpo en el desarrollo de los tejidos reproductivos como los testículos y la próstata así como también la promoción de las características sexuales secundarias tales como el incremento de la masa muscular, ósea y el crecimiento del vello corporal.

Debido a su carácter lipofílico la testosterona se difunde a través de la membrana celular, penetra en el líquido intersticial y de ahí a la sangre, donde se puede encontrar libre o unida a proteínas plasmáticas, como la albúmina plasmática o la globulina ligadora de hormonas sexuales. De esta forma puede permanecer en circulación por varias horas hasta llegar a su órgano diana. Es así que existe una fuerte regulación en la producción, liberación y disponibilidad de los andrógenos en el organismo.¹⁶

Aproximadamente el 7% de la testosterona es reducida a 5α-dihidrotestosterona (DHT) por la enzima citocromo P₄₅₀ 5α-reductasa y un 0.3% es convertida a estradiol por la aromataasa, una enzima expresada en el cerebro, hígado, y tejido adiposo.⁴ La DHT es más potente que la testosterona mientras que el estradiol tiene actividades completamente distintas (feminización) comparado a la testosterona (masculinización). Finalmente, la testosterona y la

DHT pueden ser desactivadas o eliminadas por enzimas que las hidroxilan en las posiciones 6, 7, 15, o 16.

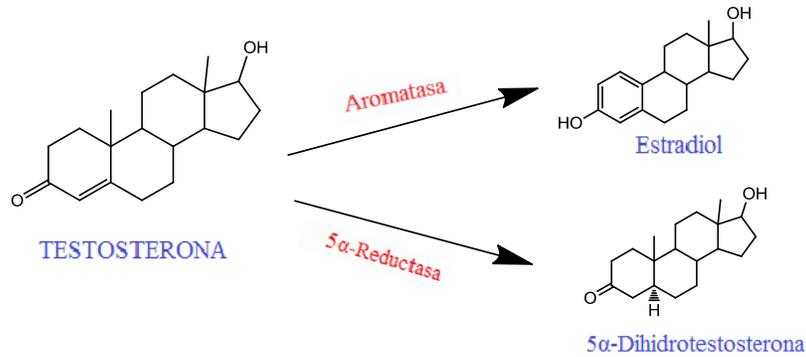


Figura 1.4 Metabolismo de la testosterona

1.6.2 Enzima 5α-reductasa

La enzima 5α-reductasa cataliza la reducción estereoselectiva de la testosterona a dihidrotestosterona DHT utilizando como cofactor NADPH en su forma reducida. Existen dos isoformas de esta enzima denominadas tipo 1 y tipo 2, las cuales difieren en sus propiedades bioquímicas, tejido de localización y su función¹⁷.

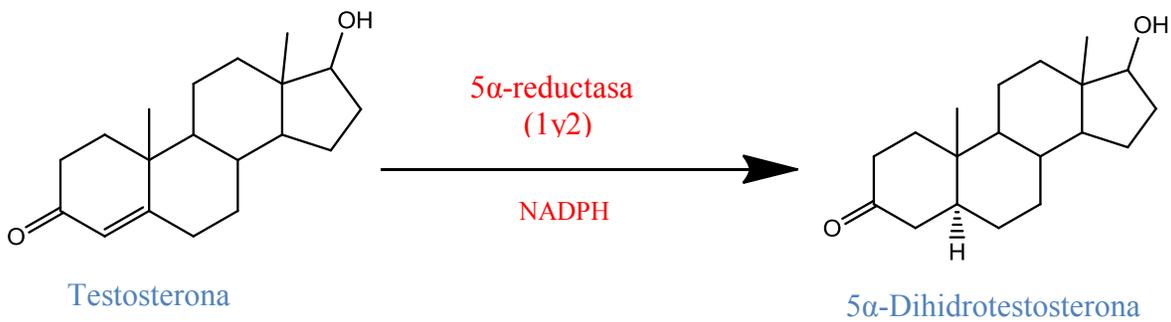


Figura 1.5 Transformación de la testosterona en DHT por acción de la enzima 5α-reductasa

La isoenzima tipo 1 se encuentra predominantemente en el hígado, glándulas sebáceas, cuero cabelludo, cerebro y en bajas cantidades en la próstata; por otro lado, la isoforma tipo 2 se encuentra predominantemente en la próstata, piel genital y vesículas seminales. La homología entre ambas es alrededor del 50% y algunas de sus características se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1.3 Comparación de las isoformas 1 y 2 de la enzima 5α-reductasa

Características	Isoenzima 1	Isoenzima 2
No. de aminoácidos	259	254
pH óptimo	6-9	5.5
Km (saturación)	3 μ M	5 μ M
Gen que la codifica	Cromosoma 5	Cromosoma 2

El mecanismo propuesto para la reducción irreversible de la testosterona a DHT mediante la enzima 5 α -reductasa involucra la formación de un complejo binario entre la enzima y el cofactor NADPH, seguido por la formación de un complejo terciario con la testosterona. Ocurre entonces una activación del sistema enónico mediante una interacción fuerte con un residuo electrofílico presente en el sitio activo de la enzima generando un carbocatión con carga deslocalizada, el cuál es reducido selectivamente en el carbono C-5 por la cara α por la transferencia de un hidruro proveniente del NADPH. Posteriormente el enol así formado, mediante un tautomerismo ceto-enol propicia la salida de la dihidrotestosterona regenerando el complejo binario inicial entre el NADP⁺-enzima, que con la posterior liberación del NADP⁺, deja a la enzima libre para entrar a un nuevo ciclo catalítico.

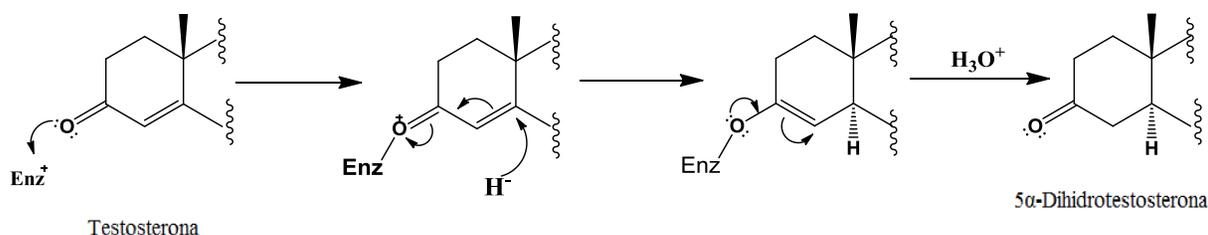


Figura 1.6 Mecanismo de reducción de la testosterona a 5 α -dihidrotestosterona por acción de la enzima 5 α -reductasa

1.6.3 Antiandrógenos esteroidales

Debido a los efectos colaterales que presentan los antiandrógenos actuales del mercado hay una búsqueda continua por desarrollar nuevos agentes esteroidales con mayor actividad antiandrógena y menores efectos secundarios.²⁰ Como ya se ha mencionado, la DHT es el andrógeno responsable de varias de las enfermedades andrógeno-dependientes y por eso se considera un excelente blanco farmacológico la inhibición de la enzima 5 α -reductasa ya que de esta forma sólo se bloquea la formación de la DHT sin afectar las funciones biológicas de la testosterona.

Básicamente existen dos métodos para sintetizar un esteroide con características antiandrogénicas los cuales se describen a continuación.

Derivados del androstano. Este tipo de inhibidores han sido diseñados modificando la estructura de la testosterona y se efectúan en ella diversas modificaciones estructurales, de manera que se tenga un efecto antagónico. Así, el nuevo compuesto sintetizado tendrá la capacidad de unirse al receptor sin producir efecto androgénico, bloqueando la formación del complejo andrógeno-receptor.²¹

Derivados del pregnano. Este tipo de inhibidores han sido diseñados modificando la estructura de la progesterona, 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 natural por la competencia que existe con la testosterona por la unión a la enzima 5α -reductasa. Se han obtenido una serie de compuestos esteroidales con actividad antiandrogénica que presentan una baja actividad hormonal, baja toxicidad y no disminuyen el líbido.²²⁻²⁶

HIPÓTESIS

Debido a la actividad biológica tan importante que juegan los antiandrógenos esteroidales y en especial los derivados del pregnano contra el cáncer de próstata e HPB, se espera que las moléculas sintetizadas en este trabajo (diseñadas de acuerdo a trabajos previos) tengan una actividad inhibitoria alta, debido a la conjugación particular dentro de su estructura y a la presencia de los diferentes ésteres aromáticos en C-3 que a su vez se espera que presenten un efecto lipofílico.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Sintetizar compuestos esteroidales derivados de la pregnenolona con una función éster en el C-3 y evaluar su posible actividad biológica en líneas de cáncer y su actividad antiandrogénica.

Objetivos específicos:

- Sintetizar cantidades suficientes de los compuestos intermediarios: 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (**2**), 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (**3**), 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**4**) y 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**5**).
- Sintetizar los catorce compuestos esteroidales (con una función éster en el carbono 3), purificarlos y caracterizarlos por técnicas espectroscópicas y espectrométricas para su plena identificación (compuestos **16-21**).
- Determinar y comparar la actividad biológica mediante:
 1. Ensayo *in vitro* de inhibición de la enzima 5 α -reductasa de próstata de cadáver humano.
 2. Ensayo *in vitro* de afinidad por el receptor androgénico.
 3. Ensayo *in vitro* de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas.
 4. Ensayo *in vivo* de inhibición del crecimiento de la próstata en hámsteres castrados.

CAPÍTULO 2

DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental del presente trabajo se dividió en dos partes. La primera fue la parte química donde se realizó la síntesis química, la caracterización física y espectroscópica de los intermediarios y de los compuestos finales.

En la segunda parte, la parte biológica, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antiandrogénica de los intermediarios y compuestos finales mediante ensayos *in vitro* de inhibición de la enzima 5 α -reductasa de próstata de cadáver humano y de afinidad por el receptor androgénico, las pruebas *in vivo* de inhibición del crecimiento de la próstata en hámsters castrados y finalmente la citotoxicidad en líneas celulares cancerosas únicamente de los compuestos finales.

2.1 Parte química

A continuación se presentan los equipos y materiales empleados para la purificación y el análisis físico y espectroscópico de los compuestos.

Los puntos de fusión de los compuestos se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. La pureza de los productos y el avance de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasmas de gel de sílice (60GF254, Merck) y un sistema de elución hexano-acetato de etilo 6:4. Para visualizar las placas se empleó una solución de CoCl₂ al 2% en H₂SO₄ 2N y lámpara de luz UV ($\lambda = 254$ nm).

Los equipos utilizados para la caracterización de los intermediarios y de los compuestos finales fueron los siguientes:

Para la técnica de espectrofotometría de absorción en el ultravioleta (UV) se empleó el espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer modelo Lambda 2, utilizando como disolvente metanol; para la espectrofotometría de absorción en el infrarrojo (IR) se utilizó un espectrofotómetro FT-IR Perkin Elmer modelo 1605 utilizando la técnica de pastilla de bromuro de potasio (KBr).

Para la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ¹H) y de carbono (RMN ¹³C) se utilizaron los equipos Inova Varian, de 400 y 300 MHz respectivamente, utilizando cloroformo deuterado (CDCl₃) como disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) para RMN ¹H y CDCl₃ para RMN ¹³C; las constantes de acoplamiento (*J*) están dadas en Hz.

Por último para la espectrometría de masas se empleó un espectrómetro de masas Termo-Electron, modelo DFS (Double Focus Sector) con un analizador másico de doble sector (magnético y eléctrico, geometría inversa), mediante la técnica FAB con bombardeo de iones de cesio a una temperatura de cámara menor a 50°C mediante detección de iones positivos.

2.1.1 Ruta sintética

La síntesis de los nuevos derivados fue realizada de acuerdo a la siguiente ruta.²⁷

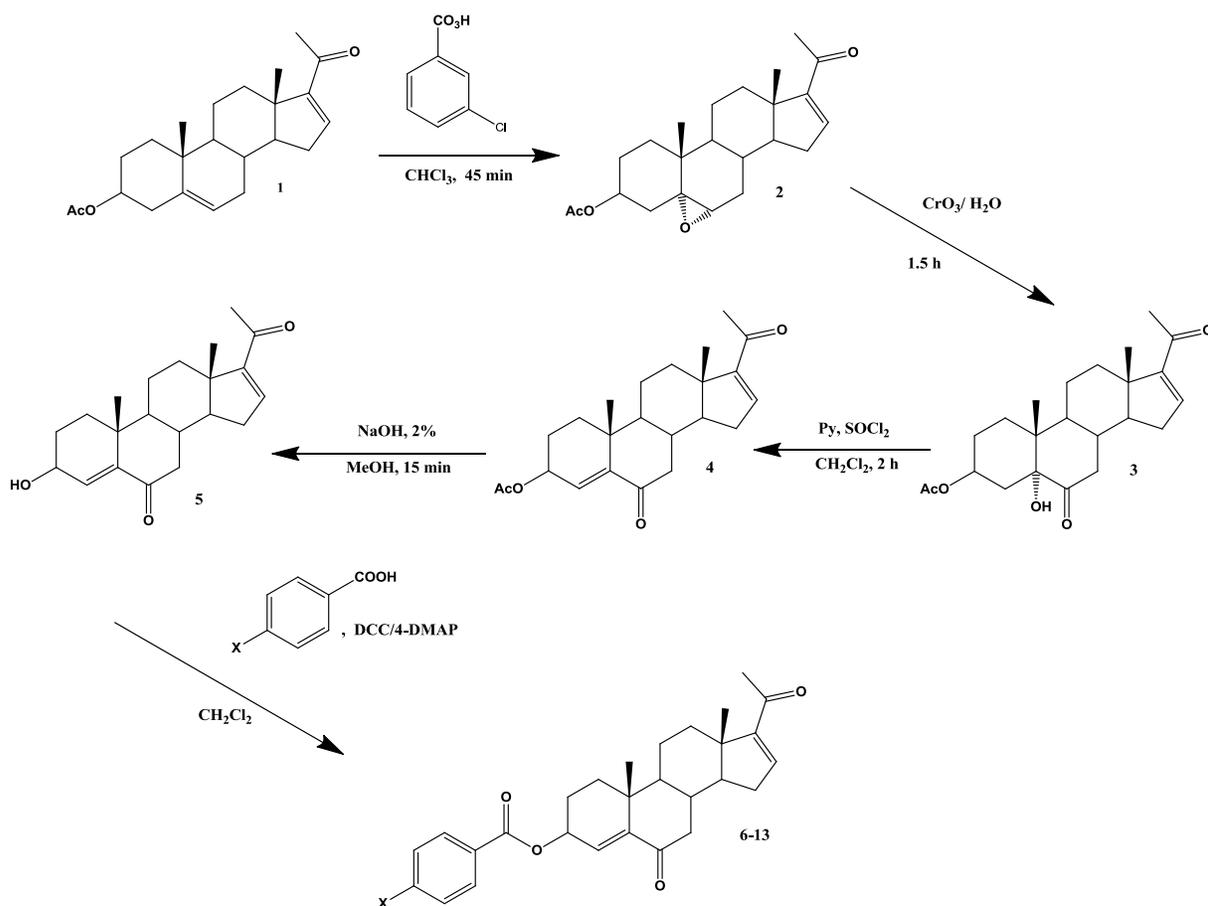


Figura 2.1 Ruta de síntesis

Tabla 2.1 Sustituyentes en *para* al anillo aromático

X	No.	X	No.
H	6	Cl	14
CH_3	7	Br	15
C_3H_5	8	I	16
C_5H_{11}	9	MeO	17
AcO	10	EtO	18
NO_2	11	MeS	19
CN	12	EtS	20
F	13	CF_3	21

2.1.2 Purificación y caracterización de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

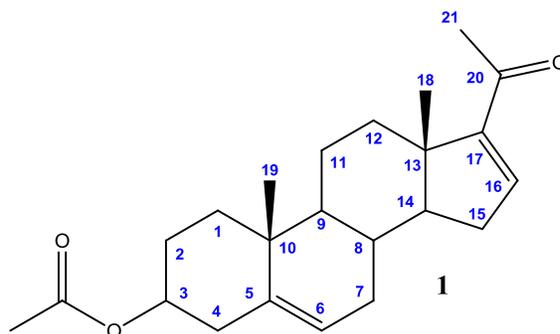


Figura 2.2 Estructura del 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

Para la caracterización de la materia prima fue necesario llevar a cabo una recrystalización en metanol. El polvo obtenido después de la purificación presentó las siguientes características.

Tabla 2.2 Propiedades Físicas de la materia prima (1)

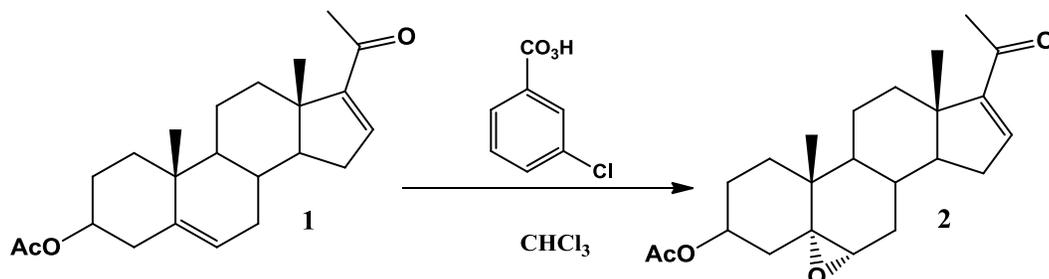
PROPIEDAD FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₃₂ O ₃
Peso molecular (uma)	356.24 g/mol
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	170-172

Tabla 2.3 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de la materia prima (1)

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.1	
237.96	C=O, α - β insaturado en C-20
206.07	Función éster en C-3
IR (cm⁻¹), figura A.2	
2942.70	C-H de CH ₂ y CH ₃
2865.06	C-H de CH ₂ y CH ₃
1728.30	C=O de éster en C-3
1660.22	C=O α , β insaturado en C-20
1583.66	C=C conjugado en 16
1364.87	CH ₃ y CH ₂
1232.47	C-O-C en C-3
1035.44	C-O-C en C-3
RMN ¹³C (ppm), figura A.3	
15.72	C-18
19.23	C-19

20.64	C-11
21.42	CH ₃ del éster
27.73	C-21
30.16	C-8
31.54	C-7
34.61	C-12
36.87	C-10
38.15	C-1
46.08	C-13
50.39	C-9
56.36	C-14
73.86	C-3
121.98	C-6
140.27	C-5
144.37	C-16
155.35	C-17
170.52	C=O del éster
196.8	C-20
RMN ¹H (ppm), figura A.4	
0.92 (s, 3H)	H-18
1.06 (s, 3H)	H-19
2.03 (s, 3H)	H en CH ₃ del éster
2.26 (s, 3H)	H-21
4.6 (m, 1H)	H-3
5.38 (d, 1H, <i>J</i> =4.5 Hz)	H-6
6.71 (d, 1H, <i>J</i> =1.2 Hz)	H-16
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.5	
357	[MH] ⁺ pico base
297	[MH] ⁺ - 60 pérdida de [CH ₃ COOH]

2.1.3 Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxi-5 α , 6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)



En un matraz bola de 100 ml se colocó un gramo del esteroide **1** (2.82 mmol) y ácido m-cloroperoxibenzoico (1.62 g) en cloroformo (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos.

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 (3×50 mL), la fase orgánica se lavó con agua destilada (3×50 mL) y se secó con sulfato de sodio para posteriormente remover el disolvente por destilación a presión reducida en un rotaevaporador. El producto crudo se recristalizó en metanol obteniéndose cristales blancos con un rendimiento del 76% y un punto de fusión de 170-172 °C. No se separaron los isómeros α y β del epóxido, estando en mayor proporción el isómero α . A continuación se muestran las señales características del compuesto **2**.

Tabla 2.4 Propiedades físicas del compuesto **2**

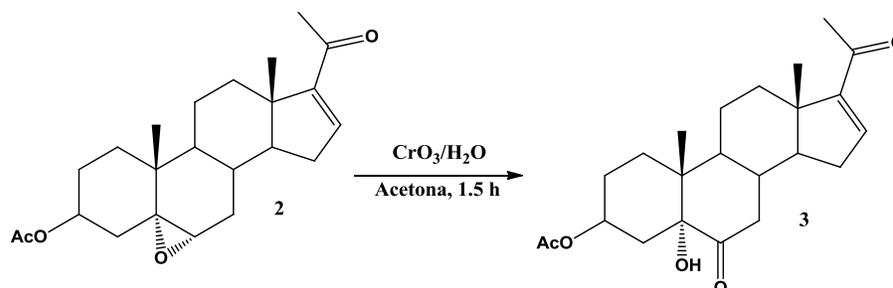
PROPIEDAD FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₃₂ O ₄
Peso molecular (uma)	372.23
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	173-175

Tabla 2.5 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto **2**

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.6	
237.69	C=O, α - β insaturado en C-20
IR (cm⁻¹), figura A.7	
2937.05	C-H de CH ₂ y CH ₃
2859.01	C-H de CH ₂ y CH ₃
1733.15	C=O de éster en C-3
1659.33	C=O α , β insaturado en C-20
1588.88	C=C conjugado en C-16

1371.50	CH ₃ y CH ₂
1240.55	C-O-C epóxido
RMN ¹³C (ppm), figura A.8	
15.83	C-18
16.97	C-19
21.3	CH ₃ del éster
27.11	C-21
60.42	C-6
65.3	C-5
71.25	C-3
144.08	C-16 vinílico
155.11	C-17 vinílico
170.53	C=O del éster
196.71	C-20 C=O
RMN ¹H (ppm), figura A.9	
0.85 (s, 3H)	H-18
1.11 (s, 3H)	H-19
2.25 (s, 3H)	H en CH ₃ del éster
2.02 (s, 3H)	H-21
4.77(m, 1H)	H-3
2.91(d, 1H, <i>J</i> =4.5 Hz)	H-6
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.10	
373	[MH] ⁺
329	M ⁺ -43 pérdida de [CH ₃ CO]
312	M ⁺ -60 pérdida de [CH ₃ COOH]
357	M ⁺ -15 pérdida de [CH ₃]

2.1.4 Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)



En un matraz bola se adicionó un gramo del esteroide **3** (2.68 mmol) y 25 mL de acetona y se dejó en agitación hasta que se disolvió por completo. Se adicionó una solución de óxido de cromo (VI) en agua (2.3 g de óxido de cromo (VI) en 12 mL de agua) en tres tiempos divididos en 30 min. Al término de la reacción se adicionó 150 mL de hielo y se dejó precipitar el producto, se filtró y se lavó con agua hasta que el compuesto quedó completamente blanco. El producto se recristalizó en metanol obteniéndose cristales blancos con un rendimiento del 78.5 % y un punto de fusión de 244-245 °C.

Tabla 2.6 Propiedades físicas del compuesto **3**

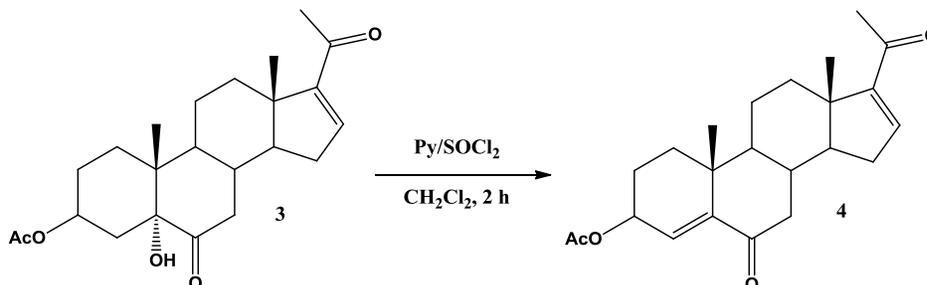
PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₃₂ O ₅
Peso molecular (uma)	388.22
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	244-245

Tabla 2.7 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto **3**

VALOR ESPECTROSCÓPICO	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.11	
205.61	Función éster en C-3
238.55	C=O, α - β insaturado en C-20
IR (cm⁻¹), figura A.12	
3364.52	OH en C-5
2945.59	C-H de CH ₂ y CH ₃
2878.75	C-H de CH ₂ y CH ₃
1700.03	C=O en C-6
1733.30	C=O del éster
1663.20	C=O α , β insaturado en C-20
1585.01	C=C conjugado en C-16

RMN ¹³C (ppm), figura A.13	
13.89	C-18
15.79	C-19
27.11	CH ₃ del éster
21.35	C-21
32.42	C-4
70.44	C-3
80.4	C-5
143.93	C-16 vinílico
155.05	C-17 vinílico
170.95	C=O del éster
196.67	C-20 C=O
211.62	C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.14	
0.85 (s, 3H)	H-18
1.01(s, 3H)	H-19
2.02 (s, 3H)	H en CH ₃ del éster
2.27 (s, 3H)	H-21
3.68(s,1H)	OH
4.13(m, 1H)	H-3
6.69(s, 1H)	H-16
EM-FAB (m/z), figura A.15	
388	M ⁺
389	[MH] ⁺
373	M ⁺ -15, pérdida de [CH ₃]
345	M ⁺ -43, pérdida de [CH ₃ CO]
329	[MH] ⁺ -60, pérdida de [CH ₃ COOH]
311	329-18, pérdida de H ₂ O

2.1.5 Síntesis y caracterización de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)



En un matraz bola de 50 mL se disolvió un gramo de esteroide **3** (2.57 mmol) en 8 mL de CH₂Cl₂ seco, y bajo atmósfera inerte (N₂), una vez adicionado el nitrógeno se agregaron 0.8 mL de piridina destilada. Se enfrió en un baño de hielo, y se adicionó 0.2 mL de cloruro de tionilo, y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante dos horas.

Terminada la reacción se agregó 10 mL de una solución acuosa de HCl (50:50) y se dejó en agitación por 30 minutos. Se separó la fase orgánica, se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (3×50 mL), y después con agua destilada (3×50 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró en un rotaevaporador.

El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano-acetato de etilo (85:15) y como fase estacionaria florisil. Se obtuvieron cristales blancos con un rendimiento de 81.5 % y un punto de fusión de 193-195°C. A continuación se presentan las señales más importantes del compuesto **4**.

Tabla 2.8 Propiedades físicas del compuesto **4**

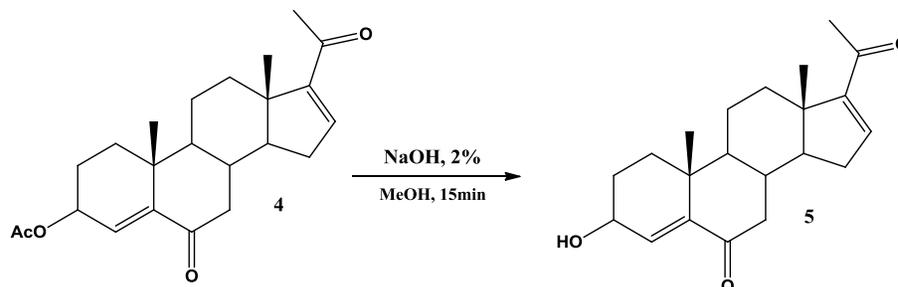
PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₃₀ O ₄
Peso molecular (uma)	170.21
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	193-195

Tabla 2.9 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto **4**

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.16	
236.96	C=O, α - β insaturado en C-20 y C-6
IR (cm⁻¹), figura A.17	
2941.32	C-H de CH ₂ y CH ₃
2871.29	C-H de CH ₂ y CH ₃
1733.90	C=O del éster

1680.64	C=O α,β insaturado en C-6
1657.47	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ^{13}C (ppm), figura A.18	
15.78	C-18
19.59	C-19
21.19	CH ₃ del éster
27.12	C-21
69.22	C-3
129.04	C-4 vinílico
143.82	C-16 vinílico
147.90	C-5 vinílico
154.88	C-17 vinílico
170.72	C=O del éster
196.60	C=O del C-20
201.80	C=O de C-6
RMN ^1H (ppm), figura A.19	
0.93 (s, 3H)	H-18
1.06(s, 3H)	H-19
2.07 (s, 3H)	H en CH ₃ del éster
2.27(s, 3H)	H-21
5.33(m, 1H)	H-3
6.1 (s, 1H)	H-4
6.7(m, 1H)	H-16
EM-FAB (m/z), figura A.20	
370	M ⁺
371	[MH] ⁺
351	M ⁺ -15, pérdida de [CH ₃] [·]
311	[MH] ⁺ -60, pérdida de [CH ₃ COOH] [·]
328	[MH] ⁺ -43, pérdida de [CH ₃ CO] [·]

2.1.6 Síntesis y caracterización de la 3β-hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)



En un matraz bola de 200 mL se adicionó un gramo del esteroide **4** (2.7 mmol) junto con 150 mL de metanol, se dejó en agitación hasta disolución completa y se adicionaron 10 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 2%. La hidrólisis fue completada en 15 minutos.

La mezcla obtenida después de la reacción se seca con corrientes de aire, aproximadamente por ocho horas, una vez seco, el sólido se lava con agua destilada para eliminar los residuos de sosa (3×50 mL).

El producto obtenido en el procedimiento antes mencionado se purificó por columna cromatográfica usando como fase móvil hexano-acetato de etilo (8:2) y como fase estacionaria gel de sílice, obteniéndose un polvo blanco con un rendimiento del 86% y con un punto de fusión de 168-170 °C. A continuación se muestra un resumen de las señales espectroscópicas del compuesto **5**.

Tabla 2.10 Propiedades físicas del compuesto **5**

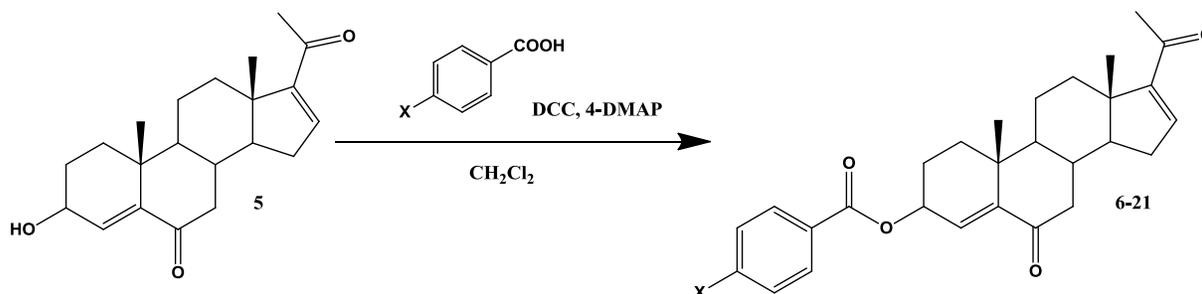
PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₁ H ₂₈ O ₃
Peso molecular (uma)	328.20
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	168-170

Tabla 2.11 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto **5**

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.21	
237.59	C=O, α-βinsaturado en C-20 y C-6
IR (cm⁻¹), figura A.22	
3383.72	C-OH en C-3
2939.35	C-H de CH ₂ y CH ₃

2830.68	C-H de CH ₂ y CH ₃
1685.75	C=O α,β insaturado en C-6
1654.29	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.23	
15.80	C-18
19.83	C-19
27.18	C-21
67.18	C-3 base de oxígeno
133.23	C-4 vinílico
143.8	C-16 vinílico
154.94	C-17 vinílico
196.63	C=O del C-20
202.00	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.24	
0.93 (s, 3H)	H-18
1.07(s, 3H)	H-19
2.27(s, 3H)	H-21
3.22 (s,1H)	-OH
4.25(m, 1H)	H-3
6.18(m, 1H)	H-4
6.7(m, 1H)	H-16
EM-FAB (m/z), figura A.25	
328	M ⁺
329	[MH] ⁺
311	[MH] ⁺ -18
313	M ⁺ -15, pérdida de [CH ₃]
285	M ⁺ -43, pérdida de [CH ₃ CO]

2.1.7 Metodología general para la síntesis y caracterización de compuestos esteroidales con una función éster en C-3



En un matraz bola de 100 mL se disolvió un gramo del esteroide **5** (3.05 mmol) en 33 mL de diclorometano, se agregó 3.2 g de DCC, 1.2 g de DMAP y 2 equivalentes del ácido carboxílico correspondiente y se dejó en agitación durante 1.5 horas que fue el tiempo que tardó en terminar la reacción.

Se adicionaron 135 mL de acetato de etilo, se dejó precipitar la DCU y se filtró. El filtrado se lavó con una solución acuosa de HCl al 10% (3×50 mL), después con una solución saturada de bicarbonato de sodio (3×50 mL) y finalmente con agua destilada (3×50 mL), la fase orgánica se seco con sulfato de sodio y se concentró en un rotaevaporador.

El producto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna usando como fase móvil hexano-acetato de etilo (8:2), obteniéndose un polvo blanco. El análisis espectroscópico de los diferentes compuestos esterificados se presenta a continuación.

2.1.7.1 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**6**)

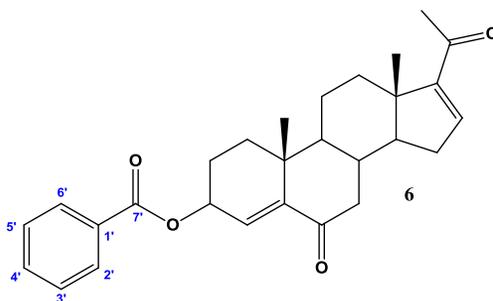


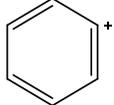
Figura 2.3 Estructura del 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**6**)

Tabla 2.12 Propiedades físicas del compuesto 6

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₈ H ₃₂ O ₄
Peso molecular (uma)	432.23
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	168-170
Rendimiento (%)	77

Tabla 2.13 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 6

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.26	
232.66	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.27	
3072.38	ArC-H
2944.21	C-H de CH ₂ y CH ₃
2860.77	C-H de CH ₂ y CH ₃
1718.04	C=O del éster
1686.96	C=O α,β insaturado en C-6
1662.86	C=O α,β insaturado en C-20
1232.93	Estiramiento del CH ₃ -COO-
RMN ¹³C (ppm), figura A.28	
15.77	C-18
19.63	C-19
27.09	C-21
69.83	C-3 base de oxígeno
128.30	C-3' y 5' aromático
129.12	C-4 vinílico
129.70	C-2' y 6' aromático
130.02	C-1' aromático
133.04	C-4' aromático
143.74	C-16 vinílico
147.08	C-5 vinílico
154.88	C-17 vinílico
166.14	C-1' carbonilo de éster
196.54	C-20 C=O α,β -insaturado
201.52	C-6 C=O α,β -insaturado
RMN ¹H (ppm), figura A.29	
0.95 (s, 3H)	H-18
1.11(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.58(m, 1H)	H-3
6.23 (s, 1H)	H-4

6.71(m, 1H)	H-16
7.44(m, 2H)	H-3' y 5'
7.56(m, 1H)	H-4'
8.05(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.30	
432	M ⁺
433	[MH] ⁺
311	M ⁺ -121, pérdida de [C ₆ H ₅ COO] ⁻
91	Ión tropilio 
77	

2.1.7.2 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

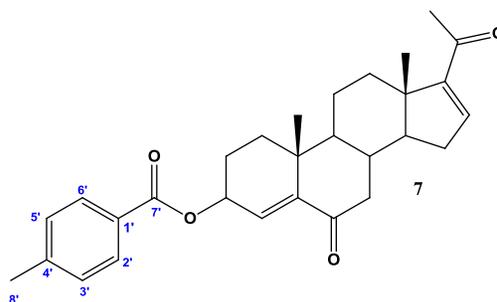


Figura 2.4 Estructura de la 3β-(p-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

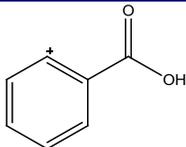
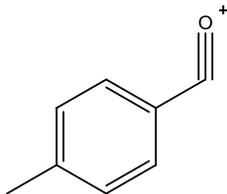
Tabla 2.14 Propiedades físicas del compuesto 7

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₃₄ O ₄
Peso molecular (uma)	446.25
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	211-213
Rendimiento (%)	81

Tabla 2.15 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 7

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.31	
204.39	Función éster en C-3
239.43	C=O α,β insaturado

IR (cm⁻¹), figura A.32	
3019.54	ArC-H
2940.22	C-H de CH ₂ y CH ₃
2865.82	C-H de CH ₂ y CH ₃
1722.79	C=O del éster
1685.03	C=O α,β insaturado en C-6
1661.55	C=O α,β insaturado en C-20
1232.56	Estiramiento del CH ₃ -COO-
RMN ¹³C (ppm), figura A.33	
15.78	C-18
19.65	C-19
21.65	C-8' posición para al carbonilo
27.18	C-21
69.61	C-3 base de oxígeno
127.31	C-1' aromático
129.03	C-2' y 6' aromático
129.74	C-3' y 5' aromático
130.20	C-4 vinílico
143.75	C-4' aromático
143.78	C-16 vinílico
147.93	C-5 vinílico
154.91	C-17 vinílico
166.23	C=O del éster
196.50	C=O del C-20
201.88	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.34	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
2.41(s,3H)	H-8'
5.57(m, 1H)	H-3
6.23 (s, 1H)	H-4
6.71(s, 1H)	H-16
7.33 (m, 2H)	H-3' y 5'
7.99(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.35	
446	M ⁺
447	[MH] ⁺
311	M ⁺ -135, pérdida de [CH ₃ C ₆ H ₄ COO]

121	
119	Pico base 

2.1.7.3 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(*p*-n-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

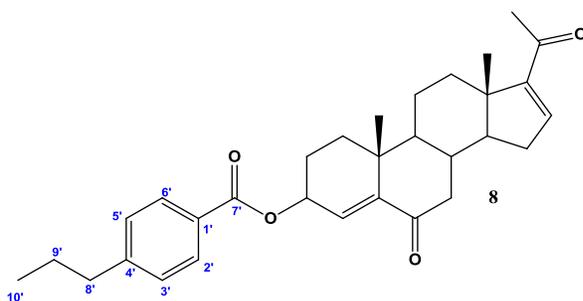


Figura 2.5 Estructura de la 3β-(*p*-n-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

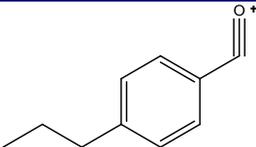
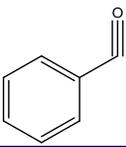
Tabla 2.16 Propiedades físicas del compuesto 8

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₃₁ H ₃₈ O ₄
Peso molecular (uma)	474.28
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	162-164
Rendimiento (%)	79

Tabla 2.17 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 8

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.36	
203.04	Función éster en C-3
239.55	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.37	
3048.70	ArC-H
2919.48	C-H de CH ₂ y CH ₃

2850.70	C-H de CH ₂ y CH ₃
1704.44	C=O del éster
1692.99	C=O α,β insaturado en C-6
1661.42	C=O α,β insaturado en C-20
1233.60	Estiramiento del CH ₃ -COO-
RMN ¹³C (ppm), figura A.38	
13.71	C-8'
15.78	C-18
19.65	C-19
24.32	C-9'
27.10	C-21
38.03	C-8'
69.60	C-3 base de oxígeno
127.53	C-1' aromático
128.44	C-3' y 5' aromático
129.75	C-2' y 6' aromático
129.35	C-4 vinílico
143.76	C-16 vinílico
147.93	C-4' aromático
148.43	C-5 vinílico
154.91	C-17 vinílico
166.23	C=O del éster
196.55	C=O del C-20
201.84	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.39	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
1.65(m,2H)	H-9'
2.28(s, 3H)	H-21
0.92(m,3H)	H-10'
2.64(m,2H)	H-8'
5.57(m, 1H)	H-3
6.23 (s, 1H)	C=CH en C-4
6.71(m, 1H)	C=CH en C-16
7.2 (m, 2H)	H-3' y 5'
7.96(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.40	
474	M ⁺
475	[MH] ⁺
311	M ⁺ -163, pérdida de [CH ₃ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄ COO]
147	Pico base

	
105	
91	Ión tropilio

2.1.7.4 Datos físicos y espectroscópicos 3β-(p-n-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)

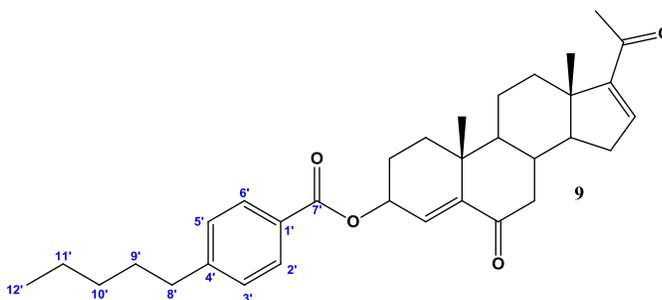


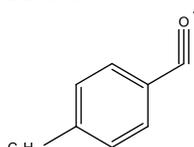
Figura 2.6 Estructura de la 3β-(p-n-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)

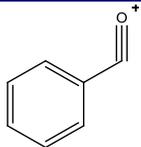
Tabla 2.18 Propiedades físicas del compuesto 9

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₃₃ H ₄₂ O ₄
Peso molecular (uma)	502.31
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	123-125
Rendimiento (%)	76

Tabla 2.19 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 9

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.41	
204.38	Función éster en C-3
241.34	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.42	
3025.67	ArC-H
2919.48	C-H de CH ₂ y CH ₃
2850.70	C-H de CH ₂ y CH ₃
1704.44	C=O del éster
1661.42	C=O α,β insaturado en C-20

1233.60	Estiramiento del CH ₃ -COO-
RMN ¹³C (ppm), figura A.43	
13.97	C-12'
15.78	C-18
19.65	C-19
22.46	C-11'
27.10	C-21
35.97	C-8'
69.59	C-3 base de oxígeno
127.48	C-1' aromático
128.39	C-3' y 5' aromático
129.77	C-2' y 6' aromático
129.36	C-4 vinílico
143.75	C-16 vinílico
147.92	C-5 vinílico
154.91	C-17 vinílico
166.24	C=O del éster
196.55	C=O del C-20
201.56	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.44	
0.89(s,3H)	H-12'
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
1.33(m,2H)	H-10'
2.28(s, 3H)	H-21
1.63(m,2H)	H-9'
2.65(m,2H)	H-8'
5.57(m, 1H)	H-3
6.23 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
7.23 (m, 2H)	H-3' y 5'
7.95(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.45	
502	M ⁺
503	[MH] ⁺
311	M ⁺ -191 pérdida de [CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄ COO] ⁺
175	Pico base 

105	
91	Ión tropilio

2.1.7.5 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

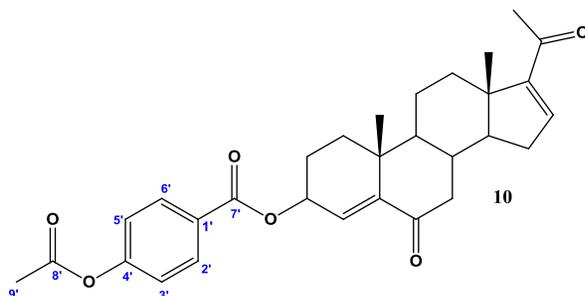


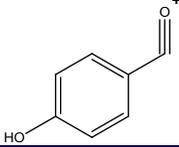
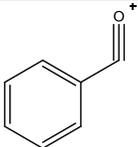
Figura 2.7 Estructura de la 3β-(p-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

Tabla 2.20 Propiedades físicas del compuesto 10

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₃₀ H ₃₄ O ₆
Peso molecular (uma)	490.24
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	180-183
Rendimiento (%)	75

Tabla 2.21 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 10

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.46	
206.08	Función éster en C-3
236.93	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.47	
3053.78	ArC-H
2931.38	C-H de CH ₂ y CH ₃
2852.62	C-H de CH ₂ y CH ₃
1735.32	C=O del éster
1697.15	C=O α,β insaturado en C-6
1658.54	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.48	
15.76	C-18
19.59	C-19

27.09	C-21
69.16	C-3 base de oxígeno
128.28	C-1' aromático
121.56	C-3' y 5' aromático
131.3	C-2' y 6' aromático
129.19	C-4 vinílico
143.84	C-16 vinílico
147.87	C-5 vinílico
154.86	C-17 vinílico
170.68	C=O del éster
196.63	C=O del C-20
201.81	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.49	
0.93 (s, 3H)	H-18
1.07(s, 3H)	H-19
2.27(s, 3H)	H-21
2.32(s,3H)	H-9'
5.35(m, 1H)	H-3
6.22 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
7.27 (m, 1H)	H-3' y 5'
8.08(m, 1H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.50	
490	M ⁺
491	[MH] ⁺
311	M ⁺ -179 pérdida de [CH ₃ COOC ₆ H ₄ COO] ⁺
121	
105	
91	Ión tropilio

2.1.7.6 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

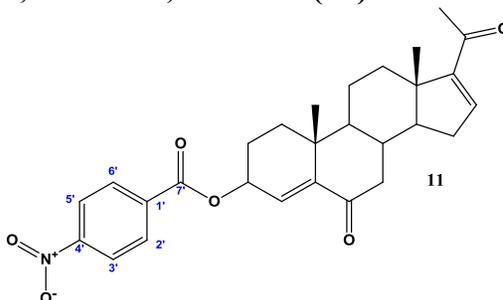


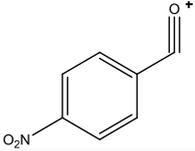
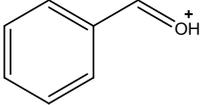
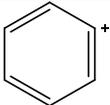
Figura 2.8 Estructura de la 3β-(p-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

Tabla 2.22 Propiedades físicas del compuesto 11

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₈ H ₃₁ NO ₆
Peso molecular (uma)	477.22
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	222-224
Rendimiento (%)	78

Tabla 2.23 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 11

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.51	
204.98	Función éster en C-3
246.26	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.52	
3079.45	ArC-H
2938.69	C-H de CH ₂ y CH ₃
2858.37	C-H de CH ₂ y CH ₃
1721.00	C=O del éster
1695.45	C=O α,β insaturado en C-6
1654.45	C=O α,β insaturado en C-20
1528.26	C-NO ₂
1347.01	C-NO ₂
1339.43	C-NO ₂
RMN ¹³C (ppm), figura A.53	
15.8	C-18
19.57	C-19
27.17	C-21
70.94	C-3 base de oxígeno
123.53	C-3' y 5' aromático
128.23	C-4 vinílico

135.44	C-1' aromático
130.86	C-2' y 6' aromático
143.74	C-16 vinílico
148.41	C-5 vinílico
154.90	C-17 vinílico
164.28	C=O del éster
196.56	C=O del C-20
201.76	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.54	
0.95 (s, 3H)	H-18
1.09(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.62(m, 1H)	H-3
6.21 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
8.23(m, 2H)	H-2' y 6'
8.28 (m, 2H,)	H-3' y 5'
EM-FAB (m/z), figura A.55	
477	M ⁺
478	[MH] ⁺
311	M ⁺ -166 pérdida de [NO ₂ C ₆ H ₄ COO] [·]
154	Pico base 
107	
91	Ión tropilio
77	

2.1.7.7 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

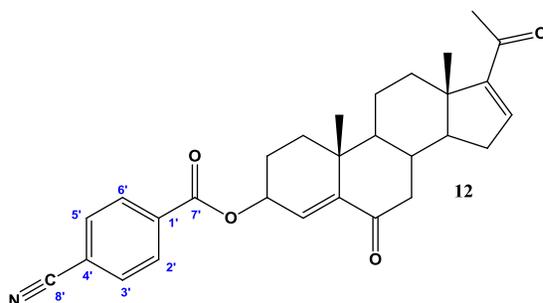


Figura 2.9 Estructura de la 3β-(p-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

Tabla 2.24 Propiedades físicas del compuesto 12

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₃₁ NO ₄
Peso molecular (uma)	457.23
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	254-256
Rendimiento (%)	83

Tabla 2.25 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 12

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.56	
202.63	Función éster en C-3
239.79	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.57	
3052.44	Aromático en C-7'
2945.49	C-H de CH ₂ y CH ₃
2856.40	C-H de CH ₂ y CH ₃
1721.41	C=O de C-7'
1677.80	C=O α,β insaturado
1653.11	C=O α,β insaturado en C-20
2229.08	CN en C-6'
RMN ¹³C (ppm), figura A.58	
15.80	C-18
19.57	C-19
27.12	C-21
70.84	C-3 base de oxígeno
116.55	C-4' aromático
117.94	C-8' del nitrilo
128.19	C-4 vinílico

130.24	C-2' y 6' aromático
132.20	C-3' y 5' aromático
133.90	C-1' aromático
143.74	C-16 vinílico
148.56	C-5 vinílico
154.89	C-17 vinílico
164.55	C=O del éster
196.56	C=O del C-20
201.48	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.59	
0.95 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.60(m, 1H)	H-3
6.20 (s, 1H)	H-4
6.70(m, 1H)	H-16
7.76(d, 2H, <i>J</i> =7.8Hz)	H-3' y 5'
8.14 (m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.60	
457	M ⁺
458	[MH] ⁺
311	M ⁺ -146, pérdida de [NCC ₆ H ₄ COO] [·]
327	[MH] ⁺ -131 pérdida de [NCC ₆ H ₄ CO] [·]

2.1.7.8 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

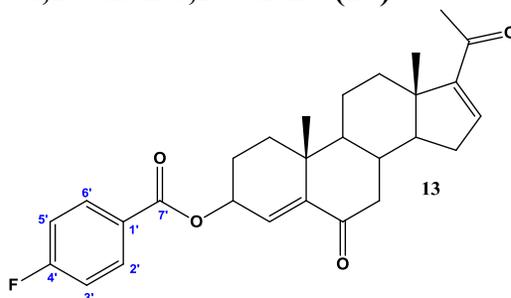


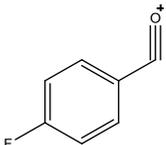
Figura 2.10 Estructura de la 3β-(p-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

Tabla 2.26 Propiedades físicas del compuesto 13

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₈ H ₃₁ FO ₄
Peso molecular (uma)	450.22
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	129-131
Rendimiento (%)	77

Tabla 2.27 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 13

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.61	
204.05	Función éster en C-3
234.28	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.62	
3086.78	Aromático en C-7'
2944.04	C-H de CH ₂ y CH ₃
2868.48	C-H de CH ₂ y CH ₃
1720.04	C=O en C-7'
1691.06	C=O α,β insaturado C-6
RMN ¹³C (ppm), figura A.63	
15.81	C-18
19.64	C-19
27.13	C-21
70.02	C-3 base de oxígeno
115.40	C-3' y 5' aromático
126.30	C-1' aromático
128.94	C-4 vinílico
132.25	C-2' y 6' aromático
143.77	C-16 vinílico
148.18	C-5 vinílico
154.92	C-17 vinílico
165.21	C=O del éster
167.12	C-4' aromático
196.57	C=O del C-20
201.84	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.64	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.57(m, 1H)	H-3
6.21 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16

7.11(t, 1H, $J=8.6\text{Hz}$, $J=8.6\text{Hz}$)	H-3' y 5'
8.07 (m, 1H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.65	
450	M^+
451	$[MH]^+$
327	$M^+ - 123$, pérdida de $[FC_6H_4CO]$
311	$M^+ - 139$, pérdida de $[FC_6H_4COO]$
123	Pico base 

2.1.7.9 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(p-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

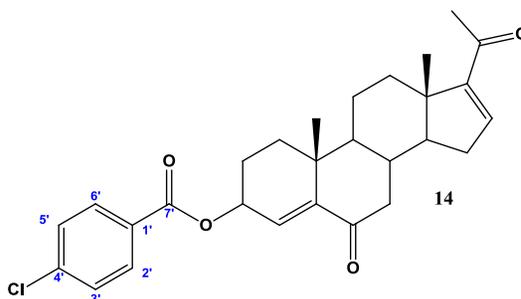


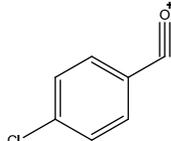
Figura 2.11 Estructura de la 3 β -(p-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

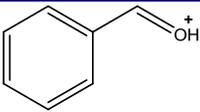
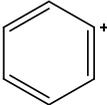
Tabla 2.28 Propiedades físicas del compuesto 14

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	$C_{28}H_{31}ClO_4$
Peso molecular (uma)	466.19
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión ($^{\circ}C$)	238-240
Rendimiento (%)	76

Tabla 2.29 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 14

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.66	
205.09	Función éster en C-3
240.07	C=O α,β insaturado
IR (cm^{-1}), figura A.67	

3077.25	Aromático en C-7'
2940.39	C-H de CH ₂ y CH ₃
2870.15	C-H de CH ₂ y CH ₃
1719.35	C=O en C-7'
1692.40	C=O α,β insaturado C-6
1660.74	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.68	
15.81	C-18
19.66	C-19
27.18	C-21
70.57	C-3 base de oxígeno
128.51	C-1' aromático
128.7	C-3' y 5' aromático
128.93	C-4 vinílico
131.13	C-2' y 6' aromático
139.57	C-4' aromático
143.75	C-16 vinílico
148.01	C-5 vinílico
154.91	C-17 vinílico
165.28	C=O del éster
196.56	C=O del C-20
201.82	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.69	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.55(m, 1H)	H-3
6.20 (s, 1H)	H-4
6.70(m, 1H)	H-16
7.40(d, 1H, <i>J</i> =8.6Hz)	H-3' y 5'
7.99 (m, 1H)	H-2' y 4'
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.70	
466	M ⁺
467	[MH] ⁺
468	M ⁺ +2
311	M ⁺ -155 pérdida de [ClC ₆ H ₄ COO]
139	Pico base: 

107	
91	Íon tropilio
77	

2.1.7.10 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

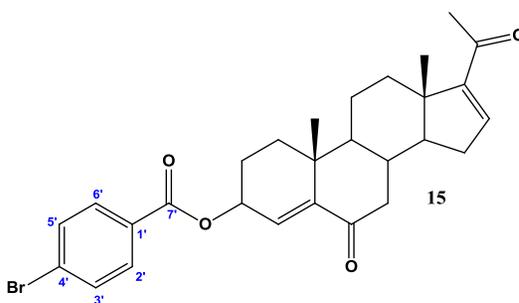


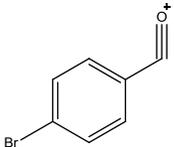
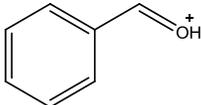
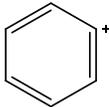
Figura 2.12 Estructura de la 3β-(p-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

Tabla 2.30 Propiedades físicas del compuesto 15

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₈ H ₃₁ BrO ₄
Peso molecular (uma)	510.14
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	235-237
Rendimiento (%)	79

Tabla 2.31 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 15

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.71	
205.63	Función éster en C-3
243.31	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.72	
3074.27	Aromático en C-7'
2940.17	C-H de CH ₂ y CH ₃
2869.57	C-H de CH ₂ y CH ₃
1719.08	C=O en C-7'
1691.40	C=O α,β insaturado C-6

1660.80	C=O α,β -insaturado en C-20
RMN ^{13}C (ppm), figura A.73	
15.81	C-18
19.65	C-19
27.12	C-21
70.13	C-3 base de oxígeno
128.25	C-4' aromático
128.9	C-1' aromático
128.97	C-4 vinílico
131.26	C-3' y 5' aromático
131.70	C-2' y 6' aromático
143.76	C-16 vinílico
148.24	C-5 vinílico
154.90	C-17 vinílico
165.45	C=O del éster
196.57	C=O del C-20
201.55	C=O de C-6
RMN ^1H (ppm), figura A.74	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.55(m, 1H)	H-3
6.20 (s, 1H)	H-4
6.70(m, 1H)	H-16
7.59(d, 1H, $J=7.4\text{Hz}$)	H-2' y 6'
7.91 (m, 1H)	H-3' y 5'
EM-FAB (m/z), figura A.75	
510	M^+
511	$[\text{MH}]^+$
512	$\text{M}^+ + 2$
311	$[\text{MH}]^+ - 200$ pérdida de $[\text{BrC}_6\text{H}_4\text{COO}]$
183	Pico base: 
107	
91	Ión tropilio
77	

2.1.7.11 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

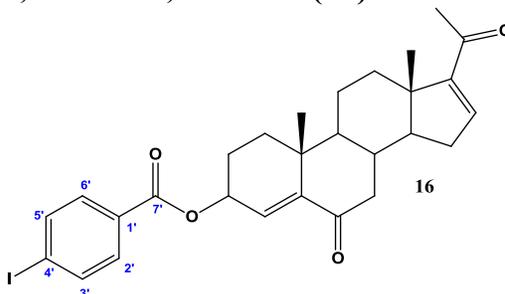


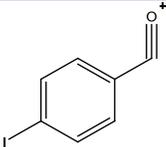
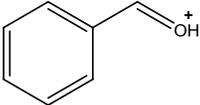
Figura 2.13 Estructura de la 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

Tabla 2.32 Propiedades físicas del compuesto 16

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₈ H ₃₁ IO ₄
Peso molecular (uma)	558.13
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	229-231
Rendimiento (%)	76

Tabla 2.33 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 16

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.76	
210.18	Función éster en C-3
253.40	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.77	
3097.03	Aromático en C-7'
2946.11	C-H de CH ₂ y CH ₃
2864.83	C-H de CH ₂ y CH ₃
1709.80	C=O en C-7'
1687.17	C=O α,β insaturado C-6
1657.73	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.78	
15.77	C-18
19.62	C-19
27.14	C-21
70.09	C-3 base de oxígeno
100.92	C-4' aromático
128.75	C-1' aromático
129.5	C-4 vinílico
131.13	C-2' y 6' aromático
137.68	C-3' y 5' aromático
143.71	C-16 vinílico

147.98	C-5 vinílico
154.88	C-17 vinílico
165.63	C=O del éster
196.52	C=O del C-20
201.51	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.79	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
5.59(m, 1H)	H-3
6.20 (s, 1H)	H-4
6.71(s, 1H)	H-16
7.76(s, 2H)	H-2' y 6'
7.79(m, 2H)	H-3' y 5'
EM-FAB (m/z), figura A.80	
558	M ⁺
559	[MH] ⁺
311	M ⁺ -247 pérdida de [IC ₆ H ₄ COO] ⁻
231	
107	
91	Ión tropilio

2.1.7.12 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

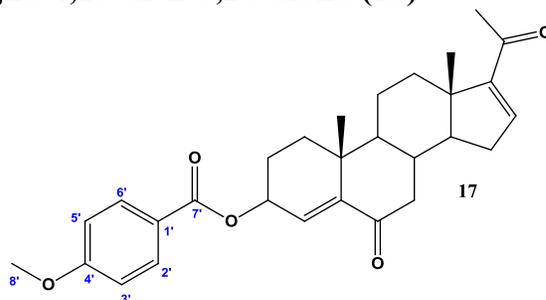


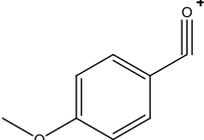
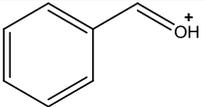
Figura 2.14 Estructura de la 3β-(p-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

Tabla 2.34 Propiedades físicas del compuesto 17

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₃₄ O ₅
Peso molecular (uma)	462.24
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	217-220
Rendimiento (%)	75

Tabla 2.35 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 17

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm) figura A.81	
208.40	Función éster en C-3
253.63	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.82	
3050.61	Aromático en C-7'
2942.20	C-H de CH ₂ y CH ₃
2849.96	C-H de CH ₂ y CH ₃
1713.08	C=O en C-7'
1687.64	C=O α,β insaturado en C-6
1665.95	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.83	
15.81	C-18
19.71	C-19
27.18	C-21
55.44	C-6'
69.51	C-3 base de oxígeno
113.58	C-3' y 5' aromático
122.48	C-1' aromático
129.48	C-4 vinílico
131.78	C-2' y 6' aromático
143.78	C-16 vinílico
147.91	C-5 vinílico
154.94	C-17 vinílico
163.48	C-4' aromático
165.91	C=O del éster
196.58	C=O del C-20
201.92	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.84	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21
3.83(s,3H)	H-8'

5.59(m, 1H)	H-3
6.23 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
6.92(d, 1H, $J=7.8$ Hz)	H-2' y 6'
8.0(m, 1H)	H-3' y 5'
EM-FAB (m/z), figura A.85	
462	M^+
463	$[MH]^+$
311	$M^+ - 151$, pérdida de $[CH_3OC_6H_4COO]^-$
135	
107	
91	Ión tropilio

2.1.7.13 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3 β -(p-etoxibenzoiloxi)pregna-4,16-dien-6,20-diona (18)

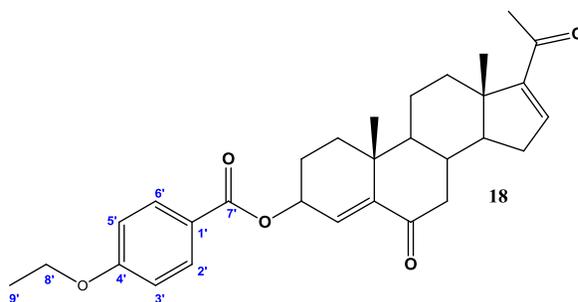


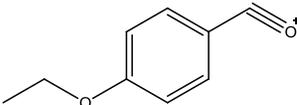
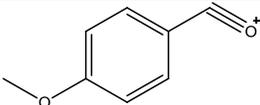
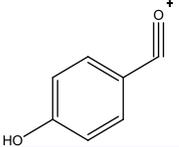
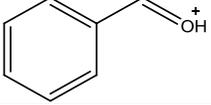
Figura 2.15 Estructura de la 3 β -(p-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)

Tabla 2.36 Propiedades físicas del compuesto 18

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	$C_{30}H_{36}O_5$
Peso molecular (uma)	476.26
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión ($^{\circ}C$)	215-217
Rendimiento (%)	75

Tabla 2.37 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 18

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.86	
209.97	Función éster en C-3
255.93	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.87	
3052.94	Aromático en C-7'
2941.02	C-H de CH ₂ y CH ₃
2859.35	C-H de CH ₂ y CH ₃
1713.08	C=O en C-7'
1693.51	C=O α,β insaturado en C-6
1657.59	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.88	
14.62	C-9'
15.74	C-18
19.65	C-19
27.11	C-21
63.64	C-8'
69.39	C-3 base de oxígeno
113.96	C-3' y 5' aromático
122.17	C-1' aromático
129.59	C-4 vinílico
131.71	C-2' y 6' aromático
143.73	C-16 vinílico
147.60	C-5 vinílico
154.86	C-17 vinílico
162.83	C-4' aromático
165.85	C=O del éster
196.52	C=O del C-20
201.84	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.89	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
1.44(t,3H, <i>J</i> =6.3Hz, <i>J</i> =6.3 Hz)	H-9'
2.28(s, 3H)	H-21
4.09(m,2H)	H-8'
5.55(m, 1H)	H-3
6.22 (s, 1H)	H-4
6.71(s, 1H,)	H-16
6.91(d, 2H, <i>J</i> =7.8Hz)	H-2' y 6'
8.0(d, 2H, <i>J</i> =7.9Hz)	H-3' y 5'
EM-FAB (m/z), figura A.90	

476	M ⁺
477	[MH] ⁺
311	M ⁺ -165 pérdida de [CH ₃ CH ₂ OC ₆ H ₄ COO] ⁻
149	Pico base: 
135	
121	
107	
91	Ión tropilio

2.1.7.14 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)

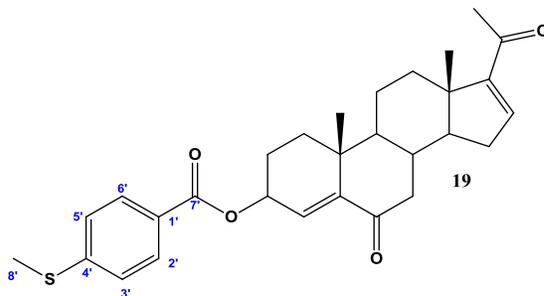
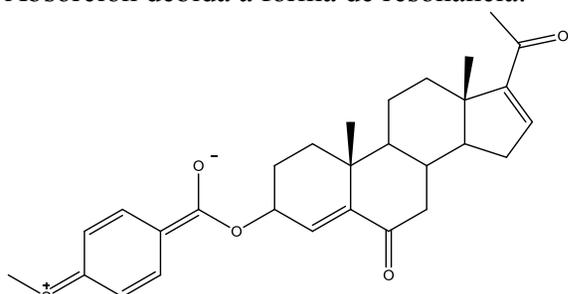


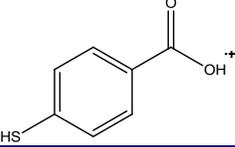
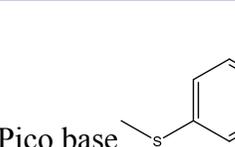
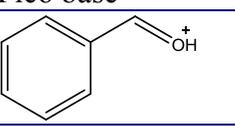
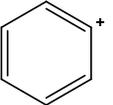
Figura 2.16 Estructura de la 3β-(p-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)

Tabla 2.38 Propiedades físicas del compuesto 19

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₃₄ O ₄ S
Peso molecular (uma)	478.22
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	114-116
Rendimiento (%)	76

Tabla 2.39 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 19

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.91	
204.53	Función éster en C-3
232.23	C=O α,β insaturado
292.87	Absorción debida a forma de resonancia.
	
IR (cm⁻¹), figura A.92	
3049.35	C-H de anillo aromático
2948.32	C-H de CH ₂ y CH ₃
2857.11	C-H de CH ₂ y CH ₃
1705.18	C=O C-7'
1688.80	C=O α,β insaturado en C-6
1660.92	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.93	
14.82	C-8'
15.80	C-18
19.66	C-19
27.12	C-21
69.77	C-3 base de oxígeno
126.14	C-3' y 5' aromático
124.88	C-1' aromático
129.24	C-4 vinílico
130.02	C-2' y 6' aromático
143.86	C-4' aromático
145.70	C-16 vinílico
147.80	C-5 vinílico
154.91	C-17 vinílico
165.94	C=O del éster C-7'
196.65	C=O del C-20
201.68	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.94	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08 (s, 3H)	H-19
2.28 (s, 3H)	H-21

2.52(s,3H)	H-6'
5.58(m, 1H)	H-3
6.22 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
7.24(m, 2H)	H-3' y 5'
7.94(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (<i>m/z</i>), figura A.95	
478	M ⁺
479	[MH] ⁺
311	M ⁺ -167 pérdida de, [CH ₃ SC ₆ H ₄ COO]
154	
151	 Pico base
107	
91	Ión tropilio
77	

2.1.7.15 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-etiltiobenzoiloxi)pregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

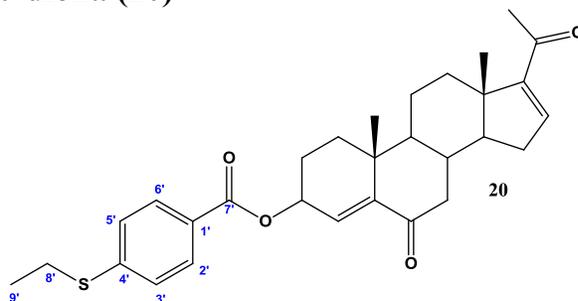
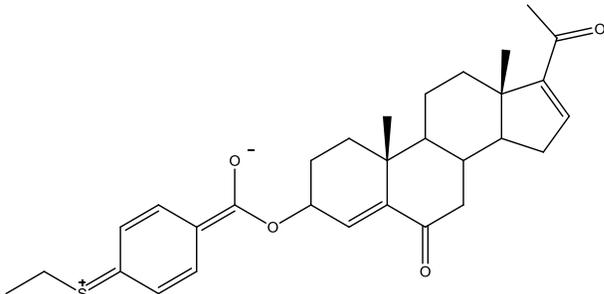


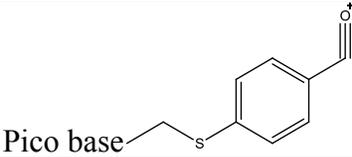
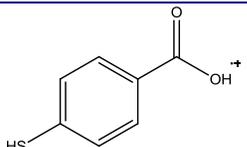
Figura 2.17 Estructura de la 3β-(p-etilti)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

Tabla 2.40 Propiedades físicas del compuesto 20

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₃₀ H ₃₆ O ₄ S
Peso molecular (uma)	492.23
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	140-147
Rendimiento (%)	77

Tabla 2.41 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 20

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.96	
204.83	Función éster en C-3
232.43	C=O α,β insaturado
294.58	Absorción debida a forma de resonancia.
	
IR (cm⁻¹), figura A.97	
3050.27	C-H de anillo aromático
3030.53	C-H de anillo aromático
2941.74	C-H de CH ₂ y CH ₃
2852.34	C-H de CH ₂ y CH ₃
1713.47	C=O C-7'
1692.32	C=O α,β insaturado en C-6
1656.23	C=O α,β insaturado en C-20
RMN ¹³C (ppm), figura A.98	
13.92	C-9'
15.80	C-18
19.67	C-19
27.12	C-21
30.93	C-8'
69.71	C-3 base de oxígeno
126.28	C-1' aromático
129.35	C-4 vinílico
126.50	C-3' y 5' aromático
130.07	C-2' y 6' aromático
143.78	C-4' aromático

144.42	C-16 vinílico
147.81	C-5 vinílico
154.92	C-17 vinílico
165.90	C=O del éster C-7'
196.58	C=O del C-20
201.60	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.99	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.08(s, 3H)	H-19
1.37(m, 3H)	H-9'
2.28(s, 3H)	H-21
3.03(m,3H)	H-8'
5.56(m, 1H)	H-3
6.22 (s, 1H)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
7.31(m, 2H)	H-3' y 5'
7.96(m, 2H)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.100	
492	M ⁺
493	[MH] ⁺
311	M ⁺ -181, pérdida de [CH ₃ CH ₂ C ₆ H ₄ COO] ⁻
165	 Pico base
154	

2.1.7.16 Datos físicos y espectroscópicos del compuesto 3β-(p-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)

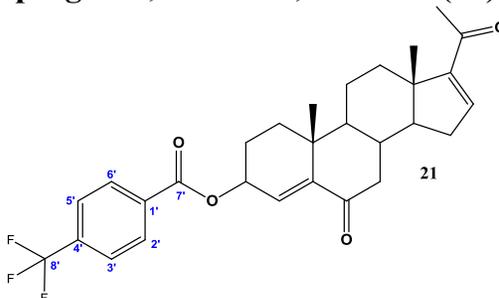


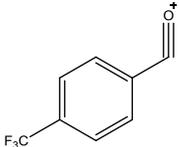
Figura 2.18 Estructura de la 3β-(p-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)

Tabla 2.42 Propiedades físicas del compuesto 21

PROPIEDADES FÍSICAS	VALOR
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₃₁ F ₃ O ₄
Peso molecular (uma)	500.02
Aspecto físico	Cristales blancos
Punto de fusión (°C)	214-216
Rendimiento (%)	79

Tabla 2.43 Propiedades espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 21

VALOR	ASIGNACIÓN
UV (nm), figura A.101	
228.45	C=O α,β insaturado
IR (cm⁻¹), figura A.102	
3030.32	C-H de anillo aromático
2943.20	C-H de CH ₂ y CH ₃
2863.51	C-H de CH ₂ y CH ₃
1705.35	C=O C-7'
1689.17	C=O α,β insaturado en C-6
1662.81	C=O α,β insaturado en C-20
1585.25	Ar-C-C
1322.63	C-F en C-8'
RMN ¹³C (ppm), figura A.103	
15.81	C-18
19.62	C-19
27.12	C-21
70.56	C-3 base de oxígeno
122.26	C-8'
125.42	C-3' y 5' aromático
128.5	C-4 vinílico
130.15	C-2' y 6' aromático
133.3	C-1' aromático
134.42	C-4' aromático
143.74	C-16 vinílico
148.43	C-5 vinílico
154.92	C-17 vinílico
164.98	C=O del éster C-7'
196.56	C=O del C-20
201.79	C=O de C-6
RMN ¹H (ppm), figura A.104	
0.94 (s, 3H)	H-18
1.12(s, 3H)	H-19
2.28(s, 3H)	H-21

5.61(m, 1H)	H-3
6.22 (d, 1H, $J=1.6$)	H-4
6.71(m, 1H)	H-16
7.71(d, 2H, $J=8.2$)	H-3' y 5'
8.17(d, 2H, $J=7.8$)	H-2' y 6'
EM-FAB (m/z), figura A.105	
500	M^+
501	$[MH]^+$
311	$M^+ - 189$, pérdida de $[F_3CC_6H_4COO]^-$
173	Pico base 

2.2 Parte Biológica

2.2.1 Material biológico

- 24 Hámsteres machos de la cepa Syrian Golden con peso promedio entre 200-250 g.
- Tejido de próstata humana de cadáver conservado a -70°C proporcionado por el Dr. Avissai Alcántara del Departamento de Patología del Hospital General de México.

2.2.2 Sustancias y equipos

- Testosterona [^3H] (T [^3H]) actividad específica 85-105 Ci/mmol suministrado por NEN Life Science Products, Inc. (Boston, MA).
- Mibolerona [^3H] actividad específica 70-87 Ci/mmol suministrado por NEN Perkin Elmer Life Sciences, Inc. (Boston, MA).
- Ultracentrífuga marca Beckman modelo Optima L-70K.
- Centrífuga marca Beckman modelo Allegra 6R.
- Analizador de Centelleo Packard modelo Tri-Carb 2100 TR.
- Placas Cromatográficas de Sílica gel 60 GF254 en soporte de aluminio (20×20 cm, Merck).

2.2.3 Ensayo in vivo (peso de la próstata)

El efecto antiandrogénico de los esteroides sobre el peso de la próstata de hámsteres machos (150-200g) castrados de la cepa Syrian Golden, se determinó en 8 grupos de 3 animales por experimento. Los animales se seleccionaron al azar y gonadectomizados 30 días antes del experimento, manteniéndolos a una temperatura controlada de 22°C y en periodos de luz-oscuridad de 12 h, la comida y agua fue suministrada *ad libitum*. Diariamente por 6 días se les administró subcutáneamente:

- Grupo control 1: 200 µL de aceite de sésamo (vehículo).
- Grupo control 2: 200 µg de testosterona en 200 µL de aceite de sésamo.
- Grupo control 3: 200 µg de testosterona más 200 µg de Finasterida en 200 µL de aceite de sésamo.
- Grupos experimentales (4-8) 200 µg de testosterona en 200 µL de aceite de sésamo más 400 µg de los compuestos **2-6**.

Después del tratamiento, los hámsteres se sacrificaron con CO₂ y posteriormente se realizó la disección de las próstatas para ser pesadas.

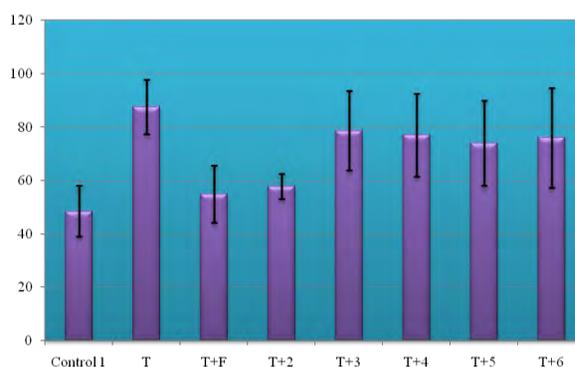
Los **órganos flanco** son dos nódulos pigmentados localizados en la superficie de la piel dorsal del hámster. En los machos miden alrededor de 8 mm mientras que en las hembras mide solamente 2 mm. En los machos estos nódulos disminuyen después de la castración, sin embargo, las inyecciones diarias o aplicaciones tópicas de testosterona o dihidrotestosterona lo regresan a su tamaño original. Los órganos flanco son capaces de metabolizar la testosterona a dihidrotestosterona en los hámsters castrados como en los no castrados.

Las **vesículas seminales** son glándulas anexas al aparato reproductor masculino, en los hámsters castrados, su tamaño disminuye y al igual que los órganos flanco son andrógeno-dependientes. Las vesículas seminales son capaces de reducir la testosterona a dihidrotestosterona, tanto en hámsters castrados como en los no castrados.

Estas pruebas se hicieron en dos experimentos por separado, en el primer experimento se analizaron los compuesto **2-6** y a continuación se muestran los resultados del peso de la próstata y en el segundo experimento se analizaron los compuestos **7-21** (excepto los compuestos **13** y **20** por falta de hámsters) de los cuales se muestra los resultados del peso de la próstata, el resultado del diámetro de los órganos flanco y el peso de las vesículas seminales.

Tabla 2.44 Resultados del ensayo *in vivo* (peso de la próstata) para los compuestos 2-6

Tratamiento	Peso de la próstata (mg)
Control 1	48.5±9.59
T	87.6±10.2
T+F	55.0±10.7
T+2	57.8±4.8
T+3	78.7±14.8
T+4	77.1±15.6
T+5	74.1±15.9
T+6	76.0±18.6

**Figura 2.19** Gráfica de los resultados de las pruebas *in vivo* (tamaño de próstata) para los compuestos 2-6**Tabla 2.45** Resultados del ensayo *in vivo* (peso de la próstata) para los compuestos 7-21

Tratamiento	Peso de la próstata (mg)
Control 1	42.4±11
T	113.1±14.2
T+F	77.6±9.8
T+7	97.8±11.8
T+8	94.2±11.2
T+9	102.5±20.6
T+10	76.7±13.6
T+11	110.6±21.6
T+12	95.7±26.3
T+14	89.8±27.2
T+15	98.1±27.1
T+16	79.9±15
T+17	83.42±35.7
T+18	100.5±80.3
T+19	83.4±35.7
T+21	99.6±19.8

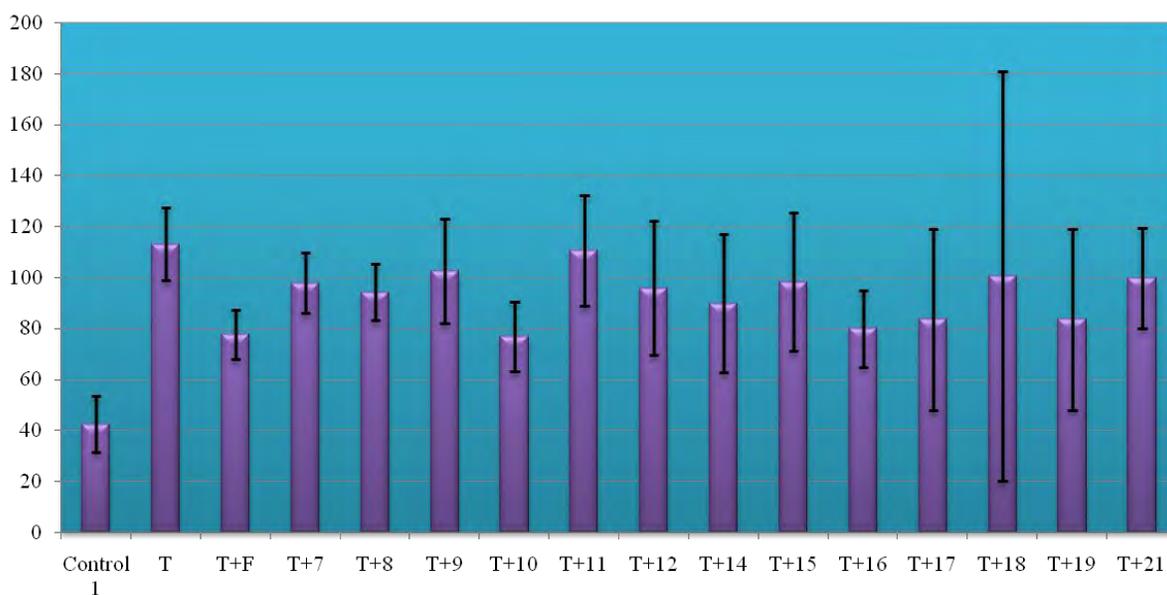


Figura 2.20 Gráfica de los resultados de las pruebas *in vivo* (tamaño de próstata) para los compuestos 7-21

Tabla 2.46 Resultados del ensayo *in vivo* (diámetro de los nódulos pigmentados) para los compuestos 7-21

Tratamiento	Diámetro de los nódulos pigmentados (mm)
Control 1	1.0±1.04
T	5.0±0.24
T+F	2.9±1.2
T+7	3.7±1.6
T+8	4.6±1.5
T+9	4.7±0.4
T+10	3.64±0.99
T+11	3.5±1.1
T+12	4.6±1.2
T+14	3.9±0.54
T+15	3.24±0.64
T+16	3.95±0.77
T+17	3.5±1.1
T+18	3.8±1.0
T+19	4.2±1.8
T+21	3.5±0.75

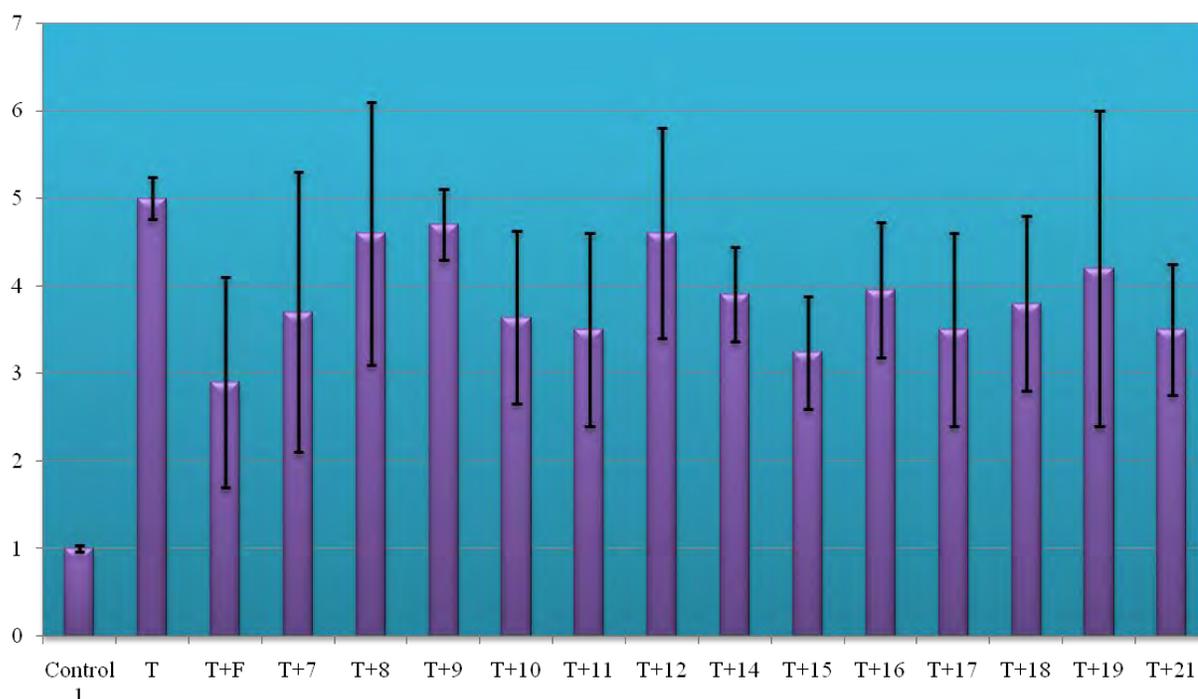


Figura 2.21 Gráfica de los resultados de las pruebas *in vivo* (diámetro de los nódulos pigmentados) para los compuestos 7-21

Tabla 2.47 Resultados del ensayo *in vivo* (peso de las vesículas seminales) para los compuestos 7-21

Tratamiento	Peso de las vesículas seminales
Control 1	139±14.1
T	248.7±68.1
T+F	195.5±32.9
T+7	248.5±44.4
T+8	347.6±93.7
T+9	311.7±105.8
T+10	246.6±86.6
T+11	298.0±67.5
T+12	245.1±35.8
T+14	296.9±18.4
T+15	269.4±19.2
T+16	168.2±13.5
T+17	255.4±9.7
T+18	260.9±15.9
T+19	226.6±53.9
T+21	274.7±46.8

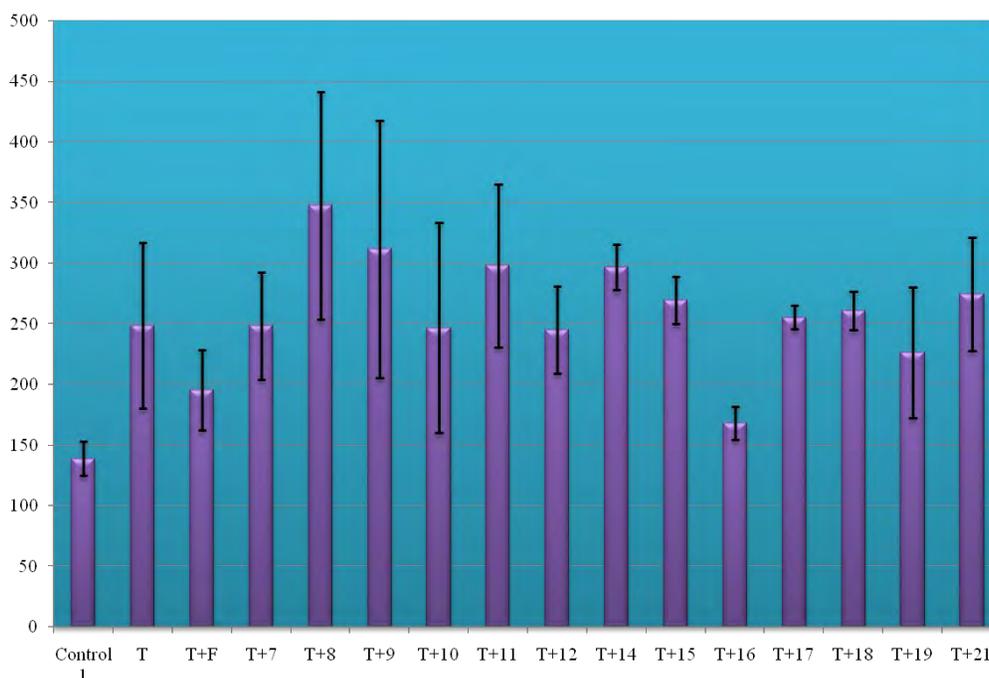


Figura 2.22 Gráfica de los resultados de las pruebas *in vivo* (peso de las vesículas seminales) para los compuestos 7-21

2.2.4. Ensayo *in vitro*: (inhibición de la enzima 5 α -reductasa)

Esta prueba consta de dos partes experimentales, en la primera se hizo la extracción de la enzima 5 α -reductasa y en la segunda prueba se hicieron las pruebas para determinar la concentración inhibitoria 50% (IC₅₀) de los compuestos 2-6.

2.2.4.1 Extracción de la enzima 5 α -reductasa

La próstata de cadáver humano se cortó y homogenizó utilizando el medio A (20 mM fosfato de sodio, 0.32 M sucrosa, 0.1 mM ditiotreitól, pH= 6.5). El homogenizado se centrifugó a 1500 rpm durante 20 min. El pellet formado se separó y lavó con 3 volúmenes del medio A, una vez más se centrifugó a 4400 rpm durante 10 min. Finalmente el pellet se resuspendió en el medio A y se almacenó a -70°C . Se determinó el contenido de proteínas del pellet utilizando el método de Bradford²⁸ y albúmina sérica bovina como referencia.

Para hacer el análisis sobre la próstata de hámsters se sacrificaron 50 machos con aproximadamente 72 horas de castración. Se separaron la próstata y las vesículas seminales. Los tejidos se limpiaron perfectamente de grasa y se pesaron por separado. Los tejidos se homogeneizaron con una mezcla que contenía: 20nM de HCl-tris, 1.5 mM EDTA, 20mM de molibdato de sodio y 10% glicerol, con relación al peso del tejido (v/p 3:1). Los homogenados

se centrifugaron a 14000g, durante una hora a 2 °C. Posteriormente se separó el precipitado, se suspendió en tres volúmenes del medio A en relación con el peso del tejido obtenido inicialmente y se determinó el contenido de proteínas tanto en la fracción microsomal como en la citosólica, por el método de Bradford.

2.2.4.2 Determinación de la concentración inhibitoria 50% (IC₅₀) de la enzima 5 α -reductasa en glándulas prostáticas humanas

Para cada uno de los compuestos 2-6 se preparó una serie de tubos en los cuales se utilizaron 6 series de tubos de ensaye conteniendo concentraciones crecientes (10^{-10} – 10^{-4} M) disueltos en metanol y conteniendo T [³H] a una concentración final de 2 nM; así mismo se incluyeron tubos controles a los que sólo se adicionó T [³H] a una concentración final de 2 nM. Los tubos se colocaron en baño de agua y en atmósfera de nitrógeno hasta evaporar totalmente el disolvente; enseguida se añadió 720 μ L de buffer de fosfatos (40mM), pH= 6.5, 80 μ L de fracción microsomal de próstata de cadáver humano, que contenía 360 μ g/mL de proteína. Posteriormente se adicionaron 100 μ L de DTT (1mM) y 100 μ L de NADPH (2mM) con los que se dió inicio la reacción.

Los tubos se agitaron en un vortex y se incubaron a 37°C por una hora; finalizado el tiempo de incubación se agregó 1 mL de diclorometano para detener la reacción y se agitó nuevamente. Se extrajo la fase orgánica en la que se encontraba la DHT [³H] realizando tres extracciones más y una vez reunidos los extractos, el disolvente se evaporó en un baño de agua. El sólido formado se resuspendió con 0.5 mL de metanol y se aplicó gota a gota en una placa cromatográfica para separar la DHT [³H] formada; el procedimiento se repitió 5 veces; adicionalmente, se aplicaron los estándares de testosterona y DHT en cada extremo de la placa. Se eluyó 3 veces en un sistema de elución cloroformo-acetona 9:1.

Para la visualización de los estándares, las placas se observaron bajo luz UV ($\lambda = 254$ nm) y posteriormente se revelaron con una solución de ácido fosfomolibdico en metanol al 8%. Se marcó y cortó la zona correspondiente a la DHT [³H] (Rf. 0.64), después, los pedazos de sílice se colocaron en viales en donde se les adicionó 5 mL de líquido de centelleo Ultima Gold (Packard) y finalmente se leyó la radiactividad producida por la DHT [³H] en el analizador de centelleo. La actividad de la enzima se calculó en base a los controles que se incubaron en presencia únicamente de T [³H]. Cada experimento se realizó por duplicado. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2.48 Resultados IC_{50} de los compuestos **2-6** sobre la enzima prostática humana

Tratamiento	IC_{50} (M) para la enzima prostática humana
T+ Finasterida	8.5×10^{-9}
T+2	6.3×10^{-11}
T+3	2.0×10^{-4}
T+4	6.5×10^{-11}
T+6	7.0×10^{-11}

2.2.4.3 Determinación de la concentración inhibitoria 50% (IC_{50}) de la enzima 5α -reductasa en vesículas de hámster

Con la fracción microsomal de vesícula seminal de los hámsters previamente obtenida, se realizó un estudio metabólico *in vitro* para conocer el posible efecto inhibitor del esteroide sobre la enzima 5α -reductasa.

Se utilizaron diferentes concentraciones de los compuestos **2,3,4, 6** y de Finasterida para obtener la concentración inhibitoria 50%, los compuestos se incubaron en presencia de 250 μ g de proteína de microsomas de vesícula seminal y una mezcla de incubación que contenía: 2mM de T [3 H], 2mM de NADPH $^+$, 1mM de ditiotreitól y una solución amortiguadora 40mM de fosfatos a pH=7.0. El bioensayo se incubó durante una hora a una temperatura de 37°C con agitación constante.

Además se preparó un control que contenía fracción microsomal y T [3 H] en la mezcla de incubación, sin inhibidor, el cual corresponde al 100% de conversión. La incubación terminó con la adición de CH $_2$ Cl $_2$, para después realizar extracciones sucesivas a la mezcla de reacción con el mismo disolvente. La separación de los productos tritiados T [3 H] y DHT [3 H] se realizó por CCF, en un sistema de elución cloroformo-acetona (9:1).

La región de la placa correspondiente a DHT [3 H] (Rf=0.68) producto obtenido por la transformación de T [3 H] a DHT [3 H] en presencia de la enzima 5α -reductasa, se colocó en viales con líquido de centelleo Ultima Gold; finalmente se midió la radioactividad, utilizando un contador de centelleo (Packard tri-carb 2100TR). A continuación se muestran los resultados obtenidos en este ensayo.

Tabla 2.49 Resultados IC₅₀ de los compuestos 2-6 sobre la enzima prostática de hámster

Tratamiento	IC ₅₀ (M) para la enzima prostática de hámster
T+ Finasterida	1.0x10 ⁻⁸
T+2	6.5x10 ⁻¹¹
T+3	1.0x10 ⁻⁴
T+4	6.0x10 ⁻¹¹
T+6	6.0x10 ⁻¹¹

2.2.4.4 Ensayo *in vitro*, citotoxicidad en líneas celulares cancerosas humanas

Para analizar los compuestos **11, 12, 14, 15, 16** y **21**, Se utilizaron 6 líneas celulares cancerosas humanas (Glía del sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, mama y pulmón) que fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos (NCI). Dichas células se cultivaron en el medio RPMI-1640, enriquecido con 10% de suero fetal bovino, 2 mM L-glutamina, 100 UI/mL Penicilina G, 100 µg/mL sulfato de estreptomina, 0.25 µg/mL de anfotericina B y 1% de aminoácidos no esenciales; se incubaron a 37 °C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂.

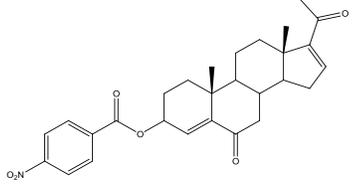
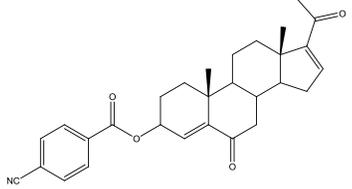
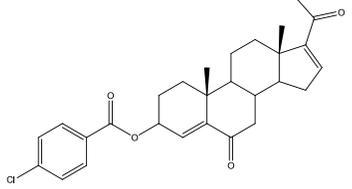
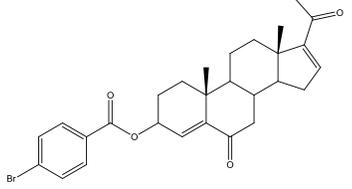
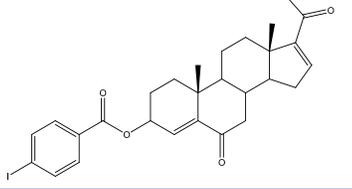
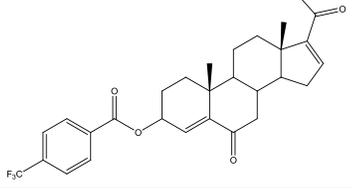
Posteriormente se tomó 100 µL de la línea celular correspondiente, el contenido de células por pozo varía entre 5000 a 10 000 dependiendo de la línea celular; se incubó por 24 h. Se preparó una solución stock en dimetilsulfóxido (DMSO) de cada compuesto a evaluar, dicha solución se adicionó a cada pozo de las líneas celulares en 100 µL de medio de cultivo, siendo la concentración final de cada compuesto de 50 µM y se incubó por 48 horas (plato experimental). Adicionalmente se preparó otro pozo al cuál se adicionó únicamente medio de cultivo, éste último se incubó por 1 hora (plato basal); ambas incubaciones se llevaron a cabo a 37°C en atmósfera con 5% CO₂ y 100% de humedad relativa.

Finalizado el tiempo correspondiente se realizó la fijación de los cultivos celulares *in situ* por la adición de 50 µL de ácido tricloroacético (TCA) 50% (p/v) frío, se incubó por 60 minutos a 4 °C, se desechó el sobrenadante y se hicieron 5 lavados con agua desionizada y se dejó secar por 24 h. Posteriormente se realizó el teñido adicionando 100 µL de sulforodamina B (SRB) (0.4 % p/v en 1% ácido acético) a cada pozo, se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se hicieron lavados con una solución de ácido acético al 1% y se dejó secar por 24 h. Las células fijadas se resuspendieron utilizando 10 mM de buffer Tris, pH=10 en agitación por 5 min.

Finalmente, se determinó la densidad óptica a 515 nm utilizando un lector de ELISA. Los resultados del análisis primario se muestran en la siguiente tabla, en donde U251= glía del

sistema nervioso central, PC-3=próstata, K562=leucemia, HCT-15=colon, MCF-7=mama, SKLU=pulmón, SA=sin actividad.

Tabla 2.50 Análisis primario de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas humanas

No.	Compuesto (50µM en DMSO)	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
11		24.4±9.1	21.4±11.5	8.1±3.0	21.8±1.2	25.6	12.8±3.5
12		2.4±0.03	31.5±25	SA	20.9±6.6	11.9	12.96±1.9
14		11.2±3.2	87.3±11.2	57.9±23	88.2±6.9	100	65.0±54
15		20.0±11.4	51.9±29.3	54.0±9.6	55.9±31.4	86.2±13.7	38.6±9.9
16		49.7±13.9	64.1±28	56.5±6.4	67.3±4.8	100	70.4±23.5
21		40.2	34.2±8.3	12.6±5.8	35.5±2.6	64.6	28.2±11.8

CAPÍTULO 3

ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Análisis de resultados sintéticos

En la ruta de síntesis planteada en este trabajo, se empleó como materia prima la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (**1**), debido a que es un compuesto comercialmente disponible, con un costo accesible y es considerado como punto de partida en la síntesis de diversos fármacos esteroideos. Como paso previo a la síntesis se caracterizó la materia prima por sus propiedades físicas y espectroscópicas, correlacionando con los datos de la literatura. El valor de 237.96 nm en espectroscopia UV nos confirmó la presencia del grupo carbonilo α,β -insaturado en la posición 20 este valor es muy cercano al valor teórico calculado con las reglas de Woodward-Fieser²⁹. La presencia de este grupo funcional (carbonilo α,β -insaturado) también se confirmó en IR con la señal que aparece a 1660 cm⁻¹; en IR también se presentaron las bandas de alargamiento C-H de metilos y metilenos alrededor de 2943 cm⁻¹ y la correspondiente a carbonilo de éster en 1728 cm⁻¹. En RMN de ¹³C se detectaron las señales de los carbonos de la doble ligadura, en 140.27ppm (C-5) y en 121.98 ppm (C-6), así como las señales de los carbonilos de la cetona α,β -insaturada en 196.8 ppm y del éster en 170.52 ppm. En RMN de ¹H se detectaron señales simples a 0.92 ppm, 1.06 ppm y 2.26 ppm correspondientes a los metilos de los H-18, H-19 y H-21 respectivamente, así como un doblete ($J=4.5$ Hz) en 5.38 ppm correspondiente al acoplamiento vecinal del protón en C-6. En espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con el pico de 358 m/z [MH]⁺ y con la pérdida de 60 unidades de masa del ión molecular se prueba nuevamente la presencia del éster acético.

Como primer paso de síntesis se realizó una epoxidación para formar el 3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (**2**), en el cual la presencia del epóxido se comprueba por las siguientes señales: en IR aparece la señal de 1240 cm⁻¹ referente al estiramiento C-O-C; en RMN de ¹³C las señales de los carbonos C-5 y C-6 aparecen a 65.3 ppm y 60.42 ppm respectivamente y en RMN de ¹H la señal del H-6 aparece a 2.91 ppm dando un doble de dobles con una $J=4.5$ Hz (x2).

Mediante la oxidación del compuesto **2** se logró formar una cetona con un grupo alcohol en posición α al carbonilo pertenecientes al compuesto 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona (**3**). La señal que aparece en 3364 cm⁻¹ en el espectro de IR nos demuestra la presencia de un grupo -OH en la molécula, y la de 1700 cm⁻¹ para el carbonilo. En ¹³C se observa la señal del C-5 en 80.4 ppm y la del C-6 se observa en 211.62 ppm típica del grupo carbonilo. En RMN de ¹H ya no se observa la señal del H-6 (2.91 ppm) debido a la formación

del grupo carbonilo. En espectrometría de masas se confirman estos cambios con la señal m/z 389 $[\text{MH}]^+$ y se observa también la pérdida de agua (M^+-18) característica de la presencia de un grupo alcohol.

El siguiente paso de la síntesis implica la eliminación del $-\text{OH}$ del compuesto **3** para formar la estructura del 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**4**). La banda del espectro de UV a 236.96 nm corresponde ahora a las dos cetonas α - β insaturadas, la del C-20 y la del C-6. En IR ya no se encuentra la señal del $-\text{OH}$ y aparece una señal en 1680 cm^{-1} de la cetona. En RMN ^{13}C se observan los cambios en el C-4 y C-5 los cuales pasan de campo alto (32.44 ppm y 80.4 ppm respectivamente) a campo bajo (129.04 ppm y 147.90 ppm respectivamente) debido a la presencia de la doble ligadura formada en la. La señal de m/z 371 $[\text{MH}]^+$ en espectrometría de masas es indicativo de los cambios hechos por la reacción.

Mediante la hidrólisis del compuesto **4** se obtuvo el compuesto 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**5**). La señal en 3383 cm^{-1} en el espectro de IR corresponde al oxhidrilo del C-3. En RMN de ^{13}C ya no se encuentra la señal de 170.72 ppm del grupo carbonilo del acetato y el C-3 se desplaza a 67.18 ppm. Otro cambio muy significativo se ve en RMN de ^1H donde aparece el protón del $-\text{OH}$ en 3.49 ppm. En el espectro de masas se encuentra la señal de m/z 329 $[\text{MH}]^+$ y la de M^+-18 debida a la pérdida de agua por la presencia del grupo alcohol.

En el último paso de síntesis se realiza una esterificación, con diferentes ácidos benzoicos *p*-sustituídos, obteniéndose 16 compuestos (del compuesto **6** al compuesto **21**) todos derivados del ácido benzoico, con diferentes sustituyentes en posición *para* en el anillo aromático. Todos los benzoatos presentan señales parecidas en el C-3. En IR aparecen uno o dos picos de baja intensidad entre 3080 cm^{-1} y 3025 cm^{-1} característico del estiramiento ArC-H y en RMN de ^{13}C la señal del C-3 se desplaza ahora a campo bajo entre 69 ppm y 71 ppm. En RMN de ^1H el H-3 también se encuentra desplazado a campo bajo y ahora aparece como un multiplete entre 5.5 ppm y 5.6 ppm. En espectrometría de masas se encuentra el pico de m/z 311 correspondiente al rompimiento del enlace del éster benzoico con el esteroide y también se encuentra los fragmentos correspondientes al anillo aromático en m/z 91 y m/z 77.

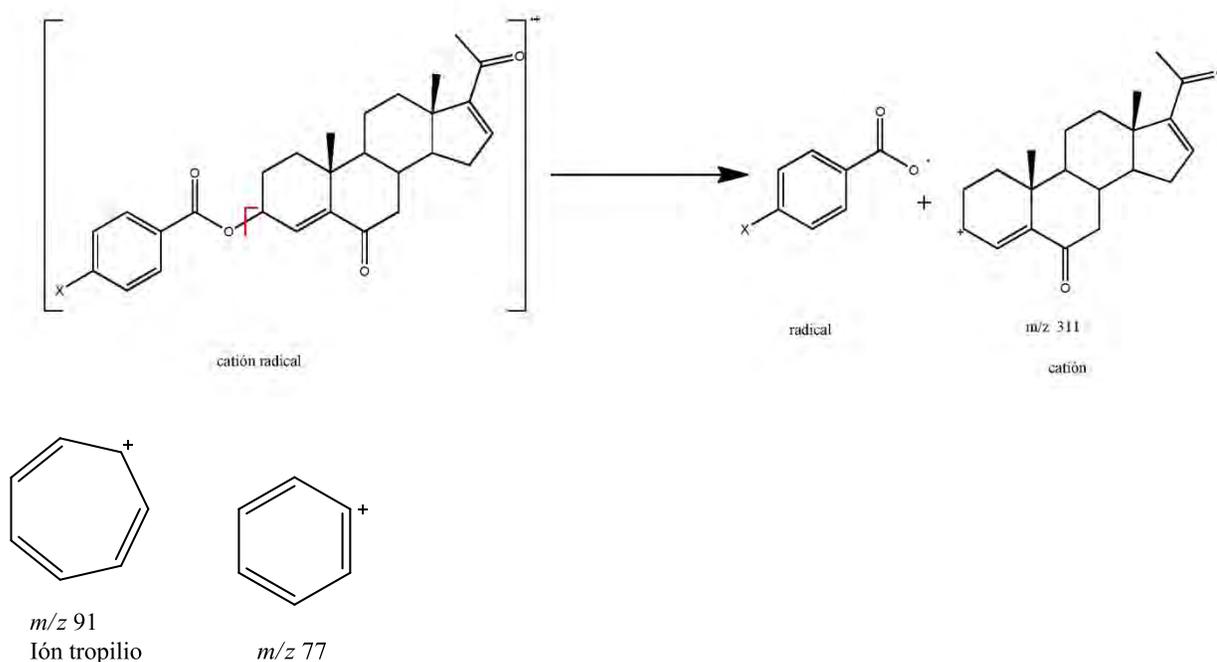


Figura 3.1 Fragmentos más comunes en espectrometría de masas para los esteroides con un éster en C-3

3.2 Análisis de resultados biológicos

En las tablas 2.48 y 2.49 se muestran los ensayos *in vitro* para la inhibición de la enzima 5α -reductasa de próstata de humano y próstata de hámster respectivamente. Estos ensayos fueron realizados solo con los compuestos **2**, **3**, **4** y **6**; los demás compuestos aún no han sido analizados debido a que se sintetizaron posteriormente y actualmente se encuentran en esta etapa. A continuación se presentan los resultados para **2-4** y **6** y como se espera que afecte a los compuestos restantes.

Se puede observar que existe una alta actividad inhibitoria sobre la enzima para **2**, **4** y **6** comparada con el fármaco del mercado (Finasterida de Proscar®), ya que presentan un IC_{50} de 6.5×10^{-11} M, 6×10^{-11} M y 6×10^{-11} M respectivamente contra 1.0×10^{-8} M de la Finasterida, esto indica que los nuevos compuestos sintetizados tienen una potencia de inhibición 166 veces mayor que el fármaco de mercado.

Con este estudio también se comprobó la similitud entre las enzimas 5α -reductasa de humano y hámster ya que su IC_{50} es muy similar.

Aunque los derivados esteroidales activos **2,4** y **6** tienen diferentes grupos funcionales, todos muestran una característica en común: el carbonilo α,β -insaturado en el carbono 20, en el cual el carbono β es electrofílicamente accesible, lo que provoca que reaccione muy rápidamente con nucleófilos para formar aductos de Michael. Se ha propuesto previamente

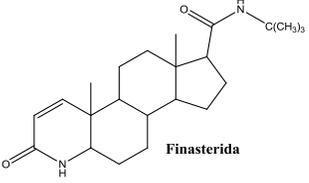
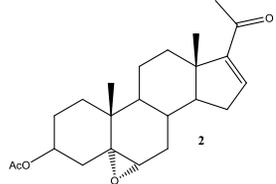
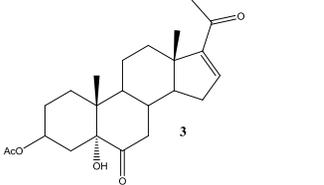
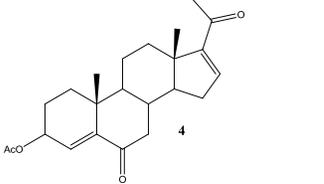
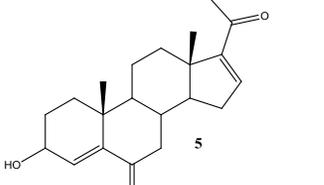
que la inhibición de la enzima 5 α -reductasa se lleva a cabo debido a una reacción de adición tipo Michael en la enona o dienona esteroideal^{30,31} y el resultado de nuestro estudio lo confirma. Aparentemente el primer paso en la inhibición de la enzima 5 α -reductasa consiste en la formación de un complejo activado enzima-esteroide como un aducto irreversible, ya que la parte nucleofílica de la enzima (grupo amino) ataca a la doble ligadura conjugada del esteroide en una reacción de adición tipo Michael para formar irreversiblemente un aducto. Este concepto explica muy bien la actividad inhibitoria de los derivados esteroideos **2**, **4** y **6** sobre la enzima 5 α -reductasa ya que son aceptores de Michael. En el compuesto **2** (compuesto epoxidado) la enzima nucleofílica también puede atacar el centro electrofílico que se encuentra en C-6. Para el compuesto **5** aparentemente el grupo hidroxilo reduce su solubilidad disminuyendo el efecto de la adición tipo Michael.³²

El parámetro que describe la lipofilia de un compuesto está dado por el Log P y se puede notar que todos los ésteres preparados en esta investigación tienen un Log P mayor al que tiene el fármaco del mercado (ver tabla 3.43). Por lo tanto se espera que todos ellos presenten una mayor actividad que él. Como un avance de que esto debe ser así el compuesto **6** presentó un grado de inhibición muy superior a la finasterida por lo que se espera que los ésteres con sustituyente en *para* en el anillo aromático presenten también una alta actividad inhibitoria.

Los experimentos de actividad *in vivo* muestran que sólo el compuesto **2** (peso de la próstata de 57.8 mg) tiene una actividad comparable con el fármaco del mercado (peso de la próstata de 55 mg). Los demás compuestos muestran una actividad débil comparados contra los animales tratados con testosterona, lo cual quiere decir que el sustituyente en posición *para* al anillo aromático no mejora la actividad biológica.

En la Tabla 2.5 se muestran los resultados obtenidos del ensayo *in vitro* para la inhibición del crecimiento de líneas celulares cancerosas para los compuestos **11**, **12**, **14**, **15**, **16** y **21**. Todos ellos tienen un elevado porcentaje de inhibición del crecimiento en la línea celular correspondiente al cáncer de mama, y esto se debe muy probablemente a que todos ellos son derivados de la progesterona, una hormona sexual femenina, aunque también pudo haber influido su valor de Log P y en consecuencia a la naturaleza lipofílica de estos compuestos. En lo referente a la línea celular de cáncer de próstata sólo el compuesto **14** presentó un alto valor de inhibición.

Tablas 3.1 Valores de Log P calculados para los compuestos sintetizados en este trabajo

Compuesto	Log P	No. de Compuesto	Sustituyente en para	Log P
 Finasterida	3.15	6	-H	4.09
		7	-CH ₃	4.58
 2	2.3	8	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	5.41
		9	-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₃	6.25
		10	-COOCH ₃	3.68
 3	1.5	11	-NO ₂	4.11
		12	-CN	4.12
		13	-F	4.25
 4	2.19	14	-Cl	4.65
		15	-Br	4.92
		16	-I	5.45
 5	1.96	17	-OMe	3.96
		18	-OEt	4.3
		19	-SMe	4.53
		20	-SEt	4.87
		21	-CF ₃	5.01

CONCLUSIONES

El presente trabajo de investigación llevó a las siguientes conclusiones:

- Se sintetizaron los compuestos planeados para esta investigación y se optimizó la ruta sintética ya que los rendimientos en todos los pasos presentan una eficiencia mayor a 75%.
- Se comprueba la hipótesis de trabajo ya que la presencia de conjugaciones dentro de la molécula sí incrementa la actividad biológica y esto se manifiesta en la actividad presentada por los compuestos **2**, **4** y **6** en los cuales el único grupo en común es el carbonilo α,β -insaturado en C-20. La lipofilia por parte del grupo éster en C-3 resulta en la alta actividad que presentan los compuestos en el ensayo *in vitro* en líneas de cáncer.
- El compuesto **3 β -acetoxi-5 α ,6 α -epoxipregna-16-en-20-ona (2)**, es un candidato ideal como antiandrógeno ya que muestra una actividad inhibitoria de la enzima 5 α -reductasa 166 veces mayor que el fármaco del mercado (Finasterida) y en la actividad *in vivo* presentó una inhibición comparable con el mismo fármaco.
- Este estudio también probó la similitud de las enzimas 5 α -reductasa de humano y hámster con el estudio *in vivo* de crecimiento de próstata.
- Todos los compuestos analizados en líneas de cáncer presentan alta inhibición en línea de cáncer de mama por lo que también se espera que en pruebas *in vivo* sobre este tipo de cáncer se obtengan buenos resultados.
- La presencia de un sustituyente en posición *para* al anillo aromático no mejora la actividad biológica.
- La realización de este trabajo de investigación aporta información importante sobre la estructura de derivados de la progesterona para el diseño de nuevas moléculas anticancerosas.

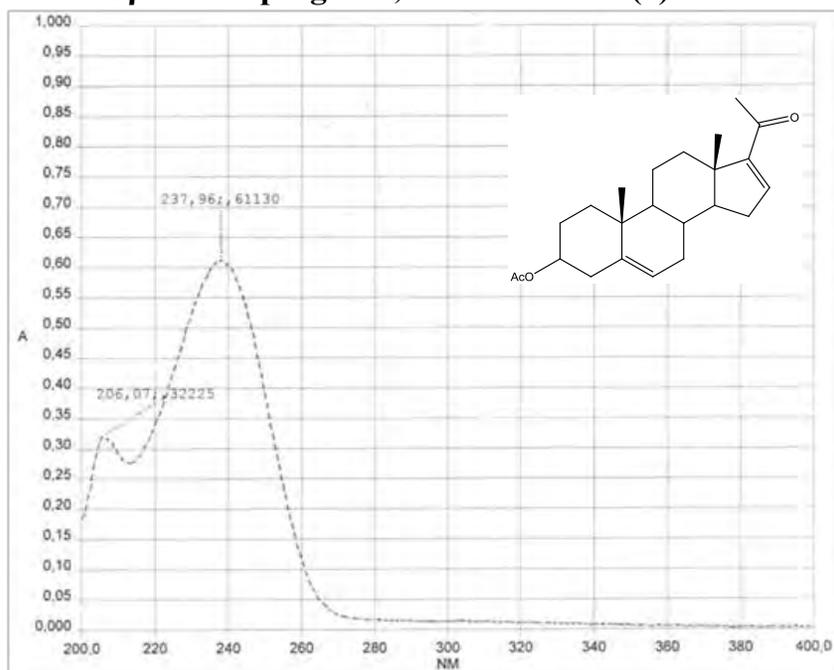
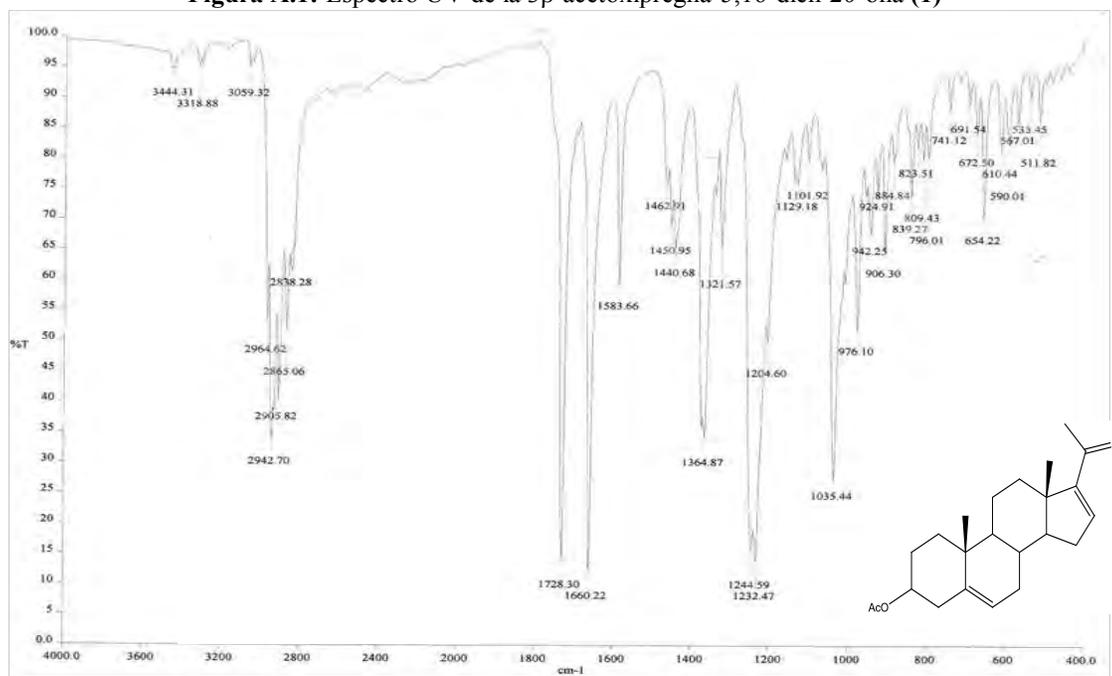
REFERENCIAS

- [1] <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/estadisticas/cancer>, página consultada el 07 de julio de 2011, 11:30 am. Fuente principal: Organización mundial de la salud (OMS) y Unión Internacional Contra el Cáncer, versión revisada 2005, <http://www.who.int/cancer/media/AccionMundialCancerfull.pdf>
- [2] <http://www.cancer.gov/cancertopics/what-is-cancer>, página consultada el 13 de julio de 2011, 2:00pm.
- [3] Agur MR, Dalley F, Grant. Atlas de Anatomía. 11^a ed., Madrid, Editorial Médica Panamericana, **2007**.
- [4] Randall VA, Role of 5 alpha-reductase in health and disease, *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, **8**, **1994**, p. 405–431.
- [5] Zalles M, Carvajal E, Hipertrofia prostática, *Rev Paceyña Med Fam*, **3(4)**, **2006**, p. 74-77.
- [6] Sitteri PK, Wilson JD, Mayfield JA, Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy I. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic prostate of man, *J Clin Inv*, **49**, **1970**, p. 1737-1745.
- [7] MacNaughton M, Barry MJ, *et al.*, Diagnosis and Treatment of Benign Prostatic, *J Gen Intern Med*, **12**, **1997**, p. 224-229.
- [8] Mc Connel J, Wilson JD, *et al.*, Finasteride an inhibitor of 5-alpha reductase, suppresses prostatic dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia, *J Clin Endocrinol Metab*, **74**, **1992**, p. 505-509.
- [9] Swallow T, Kirby, R.S. Cancer of the prostate gland, *Surgery Renal and Urology*, **26(5)**, **2008**, p. 213-217.
- [10] Programa de Acción: Cáncer de próstata, Secretaría de Salud, **2001**.
- [11] McMurry JE, Química Orgánica, 7^a ed., editorial Thomson, p. 1045-1052.
- [12] Bruice PY, Organic Chemistry, 4^a ed., editorial Pearson, p. 023-029.
- [13] Joint commission on biochemical nomenclature, Nomenclature of steroids, *Pure & Appl Chem*, **61(10)**, **1989**, p. 1783-1822.
- [14] Guyton AC, Hall JE, Tratado de Fisiología Médica. 10^a edición, McGraw-Hill Interamericana, México, **2001**. capítulos 74, 80.
- [15] Brueggemeier RW, Male sex hormones, analogs and antagonists in Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5^a ed., USA, **1996**, capítulo 2.

- [16] Yen S, Jaffe R, Endocrinología de la reproducción: fisiología, fisiopatología y manejo clínico, 3ª ed., Panamericana, España, **1993**.
- [17] Russell WD, Wilson JD. Steroid 5- α reductase: two genes/two enzymes, *Annu Rev Biochem*, **63**, **1994**, p. 25-61.
- [18] Debes JD, Tindall DJ, The role of androgens and the androgen receptor in prostate cancer, *Cancer Letters*, **187**, **2002**, p. 1-7.
- [19] Dalton TJ, Bohl EC, Gao W, Chemistry and structural biology of androgen Receptor, *Chem Rev*, **105**, **2005**, p. 3352-3370.
- [20] Gormley GJ, Stoner E, Bruskewis RC, *et al.* The effect of Finasteride in men with benign prostatic hyperplasia, *N Engl J Med*, **372**, **1992**, p. 1185-1191.
- [21] Li X, *et al.* Synthesis and in vitro evaluation substituted N-(1,1-dimethyl)-3-oxo-4-androstene-17 β -carboxamides as reductase inhibitors and antiandrogens, *J Med Chem*, **38**, **1995**, p. 1456-1461.
- [22] Rojas A, Síntesis de ésteres halogenados de pregnadieno con un grupo metilo en C-16, Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM, **2006**.
- [23] Ramírez E, Síntesis de 17 α -Aciloloxi derivados del pregnano con un sustituyente en C-16 β como antiandrógenos, Tesis de doctorado. Facultad de Química, UNAM **2002**.
- [24] Cabeza M, *et al.* Androgenic and antiandrogenic effects of progesterone derivatives with different halogen as substituent of the C-6 position, *Steroids*, **64**, **1999**, p. 413-421.
- [25] Shapiro E, *et al.* 16-Alkylated progesterones, *J Med Chem*, **5**, p. 975-988.
- [26] Ramírez E, *et al.* Synthesis and pharmacological evaluation of new 16-methyl pregnane derivatives, *Chem Pharm Bull*, **50**, **2002**, p. 15-20.
- [27] Pérez V, *et al.*, New 5 α -reductasa inhibitors: In vitro and in vivo effects, *Steroids*, **70**, **2005**, p. 217-224.
- [28] Bradford M, A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities utilizing the principle of protein dye binding, *Annal. Biochem.*, **72**, **1976**, p. 248.
- [29] Wade LG, Química Orgánica, 5ª ed., editorial Pearson, p.1211-1214.
- [30] Flores E, Bratoeff E, *et al.*, 5 α -reductasa inhibitors, *Mini Rev Chem*, **3**, **2003**, p.225-237.
- [31] Bratoeff E, Rubio M, *et al.*, Pharmacological and theoretical evaluation of new antiandrogens, *Chem Today*, **16**, **1998**, p. 33-35.
- [32] Verbitski S, *et al.*, Punaglandins, chlorinated prostaglandins, function as potent Michael receptors to inhibit ubiquitin isopeptidase activity, *J Med Chem*, **47**, **2004**, p.2062-2070.

ANEXO

ESPECTROSCOPIA

A.1 Espectros de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)Figura A.1: Espectro UV de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)Figura A.2: Espectro IR de la 3 β -acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

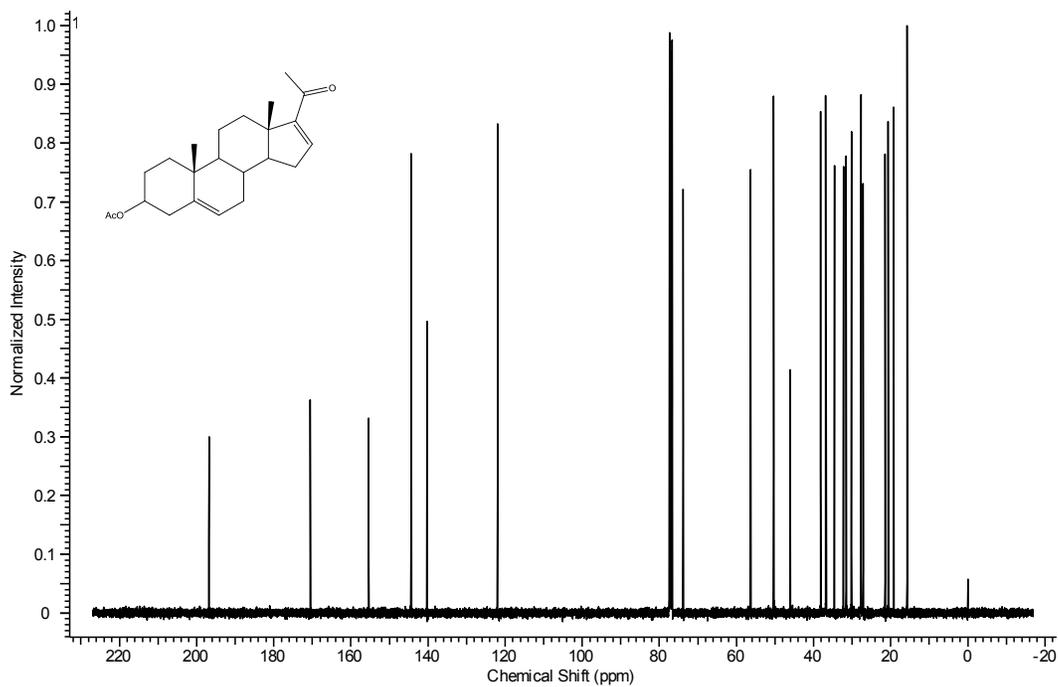


Figura A.3: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

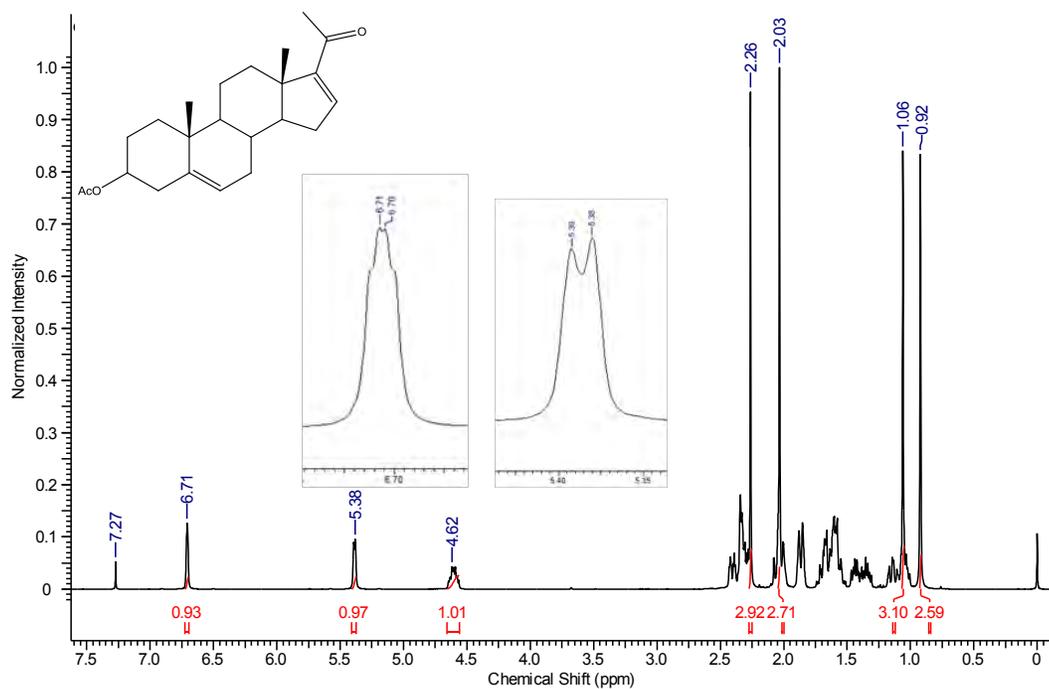


Figura A.4: Espectro de RMN-¹H de la 3β-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

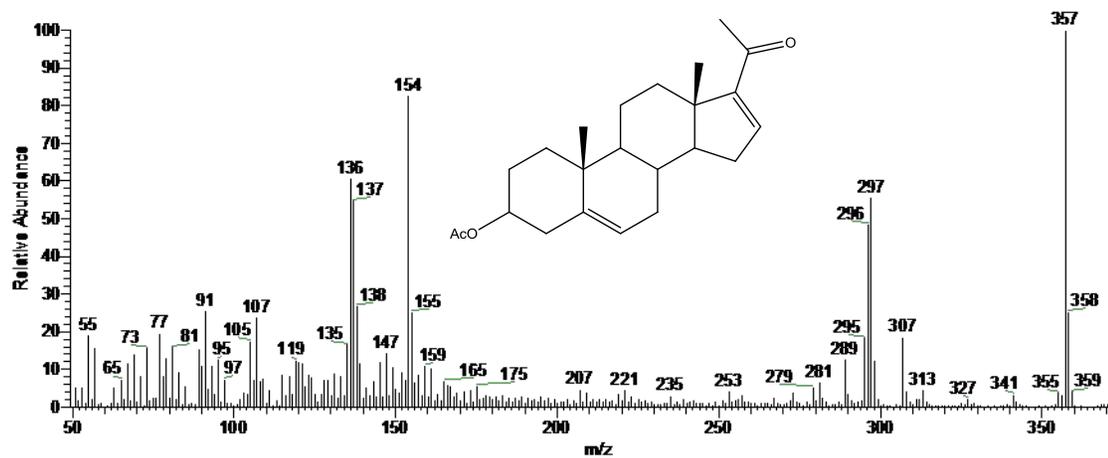


Figura A.5: Espectro de masas de la 3β-acetoxipregna-5,16-dien-20-ona (1)

A.2 Espectros de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

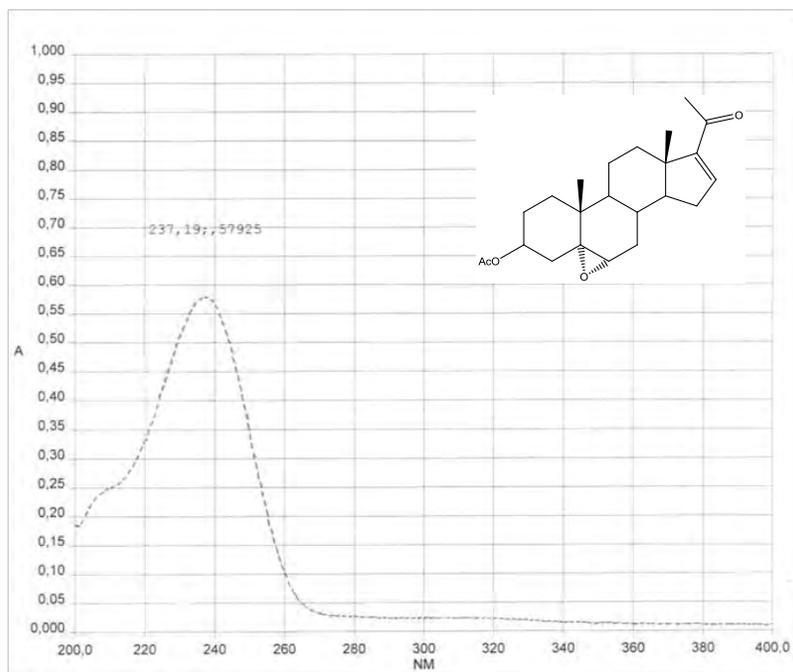


Figura A.6: Espectro UV de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

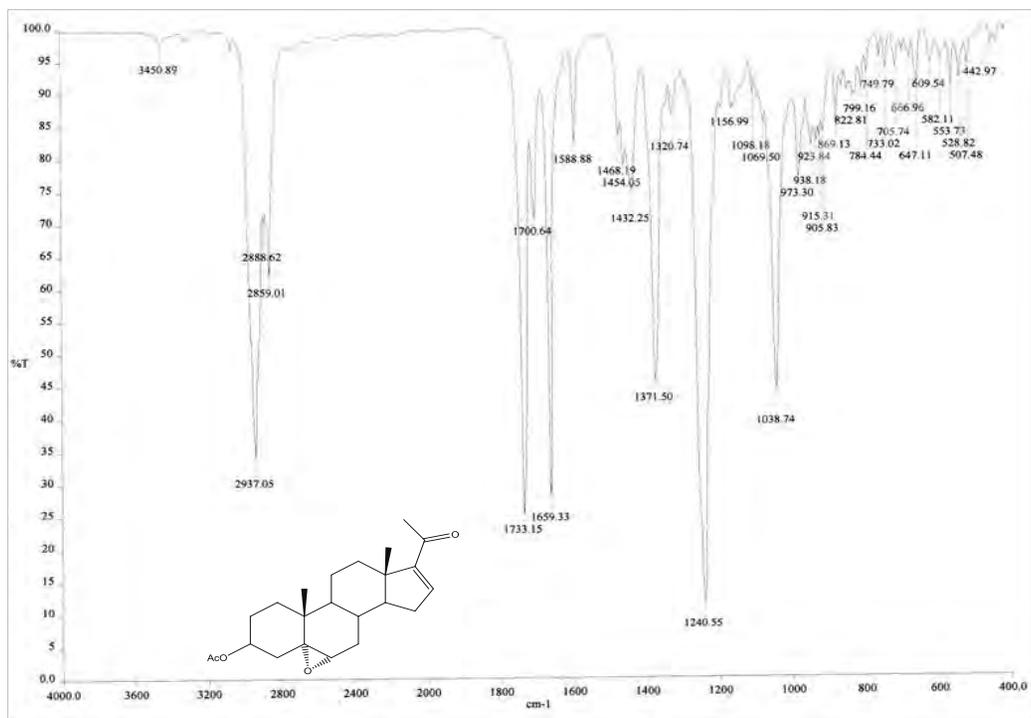


Figura A.7: Espectro IR de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

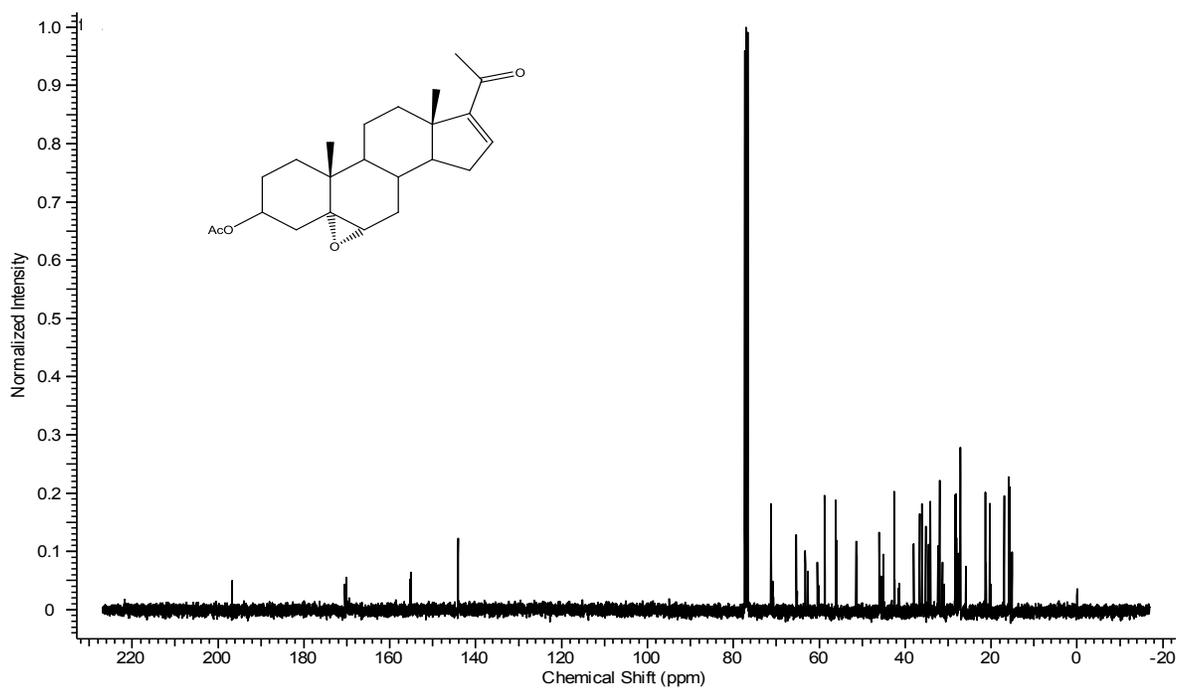


Figura A.8: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

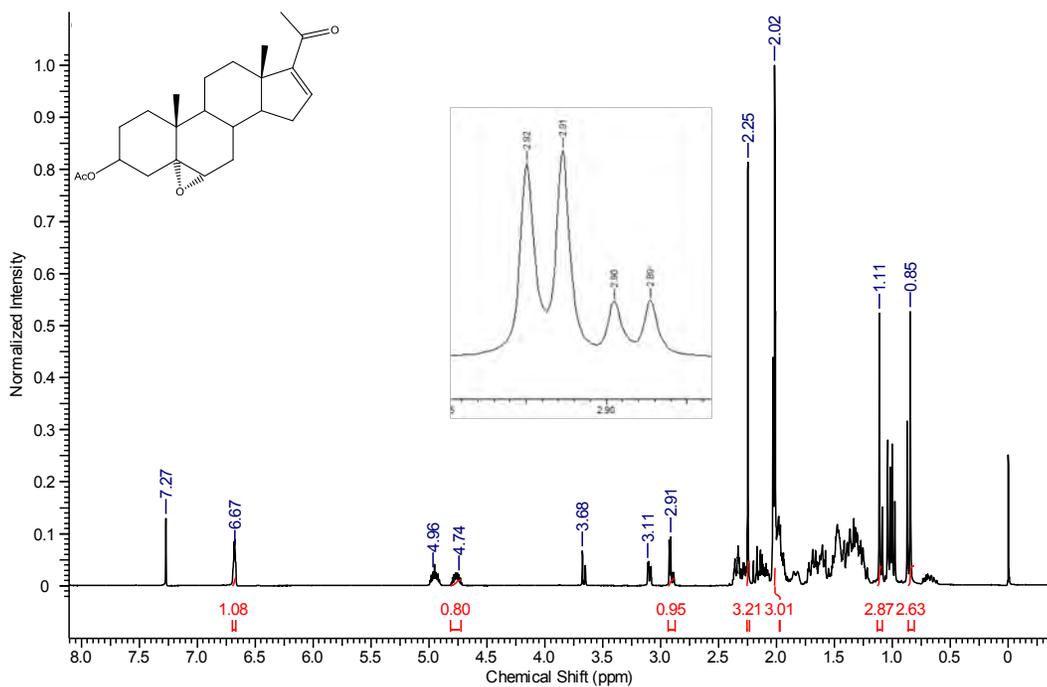


Figura A.9: Espectro de RMN-¹H de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

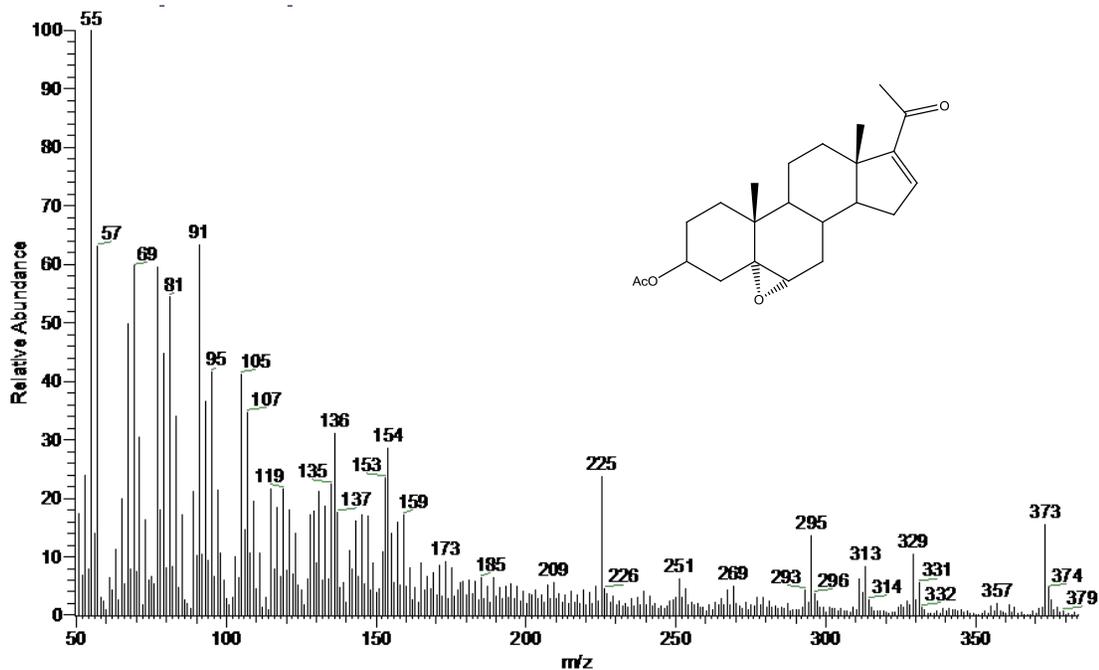


Figura A.10: Espectro de masas de la 3β-acetoxi-5α,6α-epoxipregna-16-en-20-ona (2)

A.3 Espectros de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona(3)

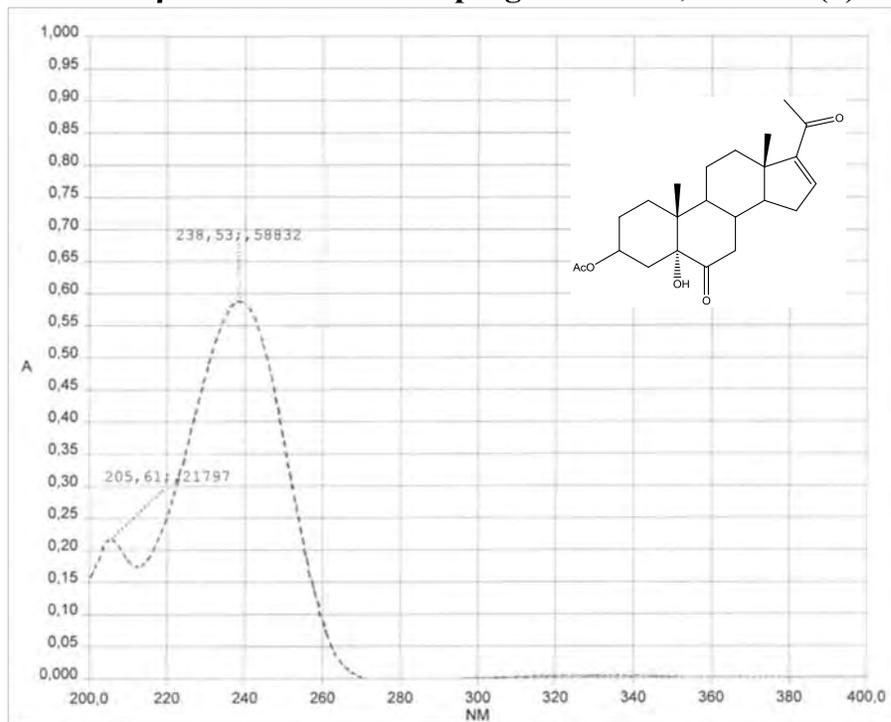


Figura A.11: Espectro UV de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona(3)

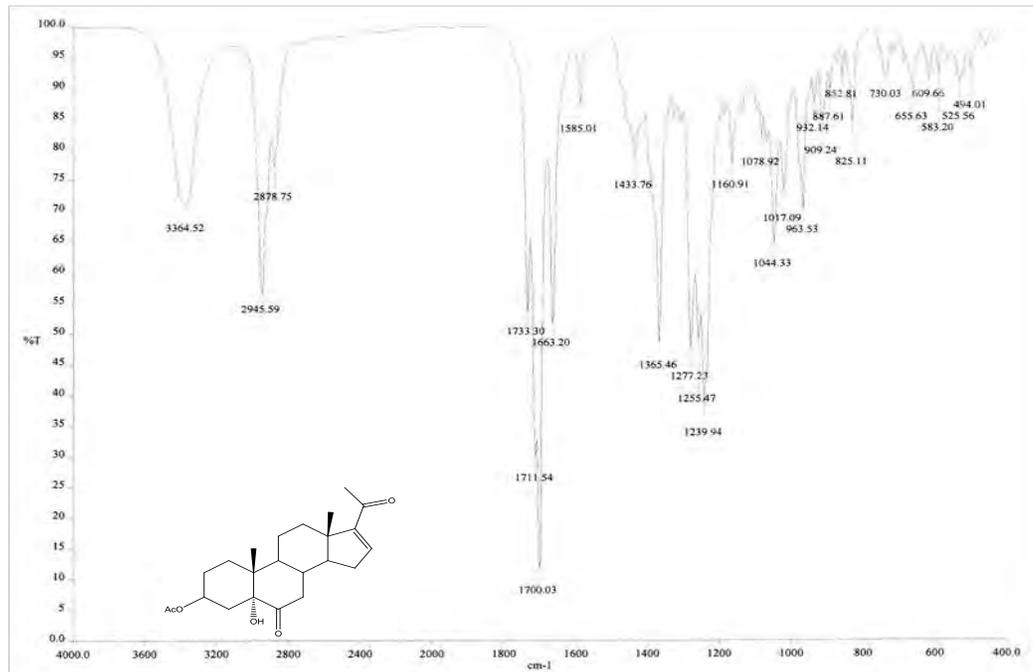


Figura A.12: Espectro IR de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona(3)

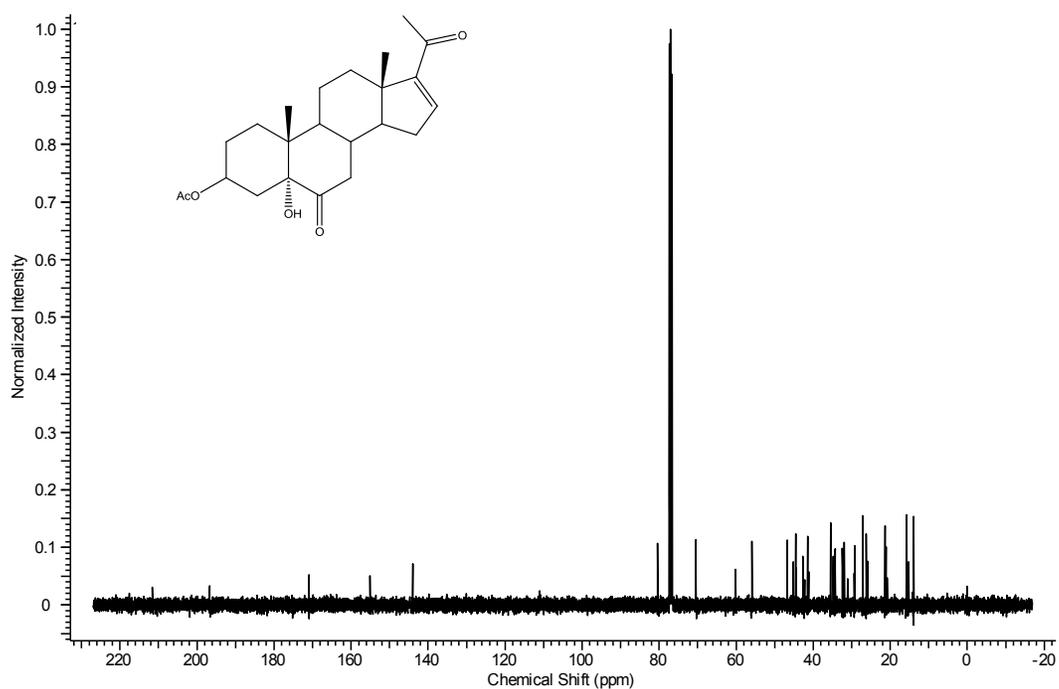


Figura A.13: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona(3)

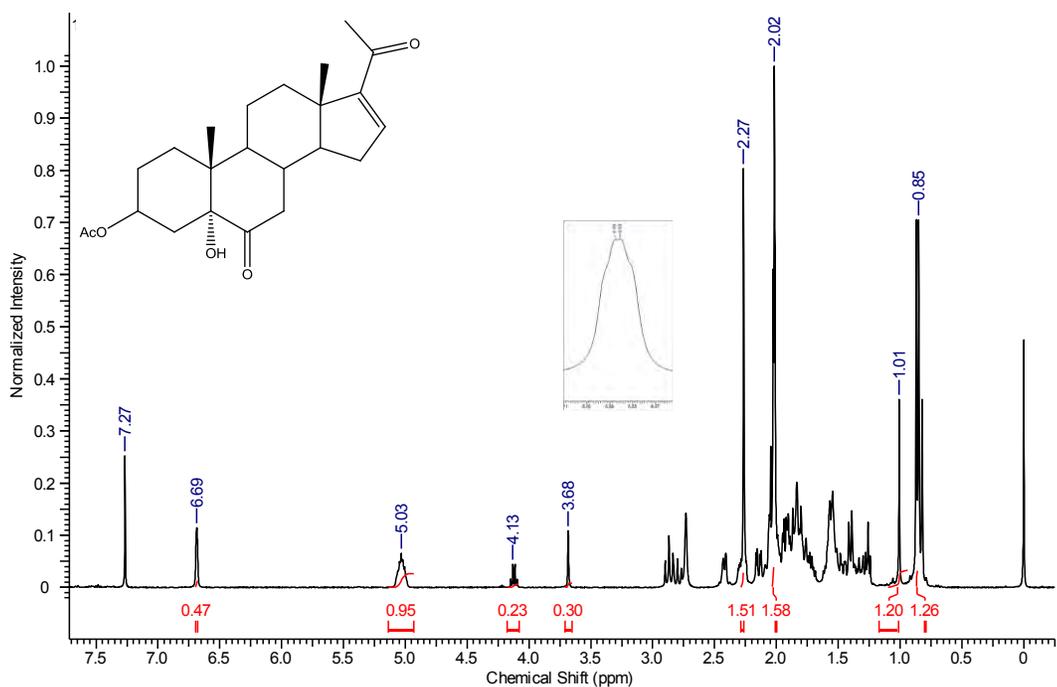


Figura A.14: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -acetoxi-5 α -hidroxipregna-16-en-6,20-diona(3)

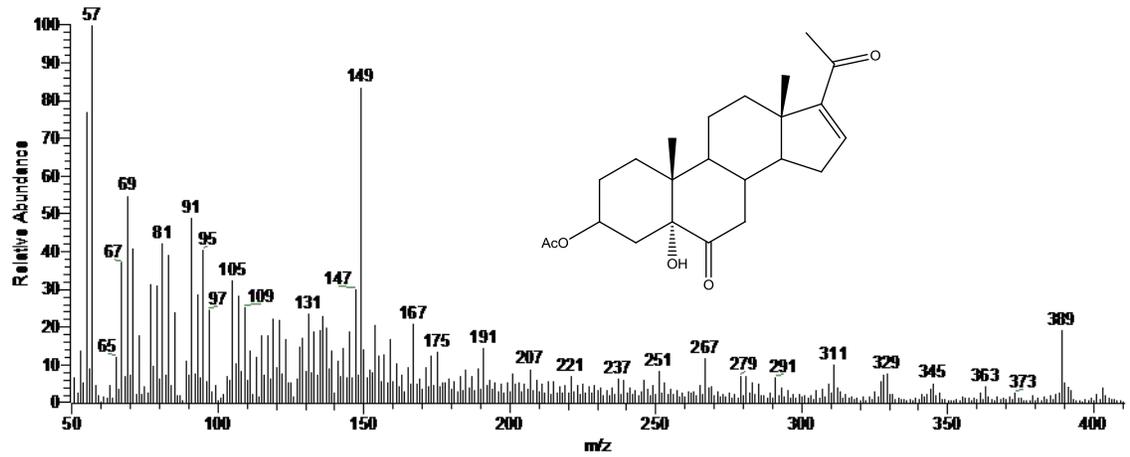


Figura A.15: Espectro de masas de la 3β-acetoxi-5α-hidroxipregna-16-en-6,20-diona (3)

A.4 Espectros de la 3β-acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

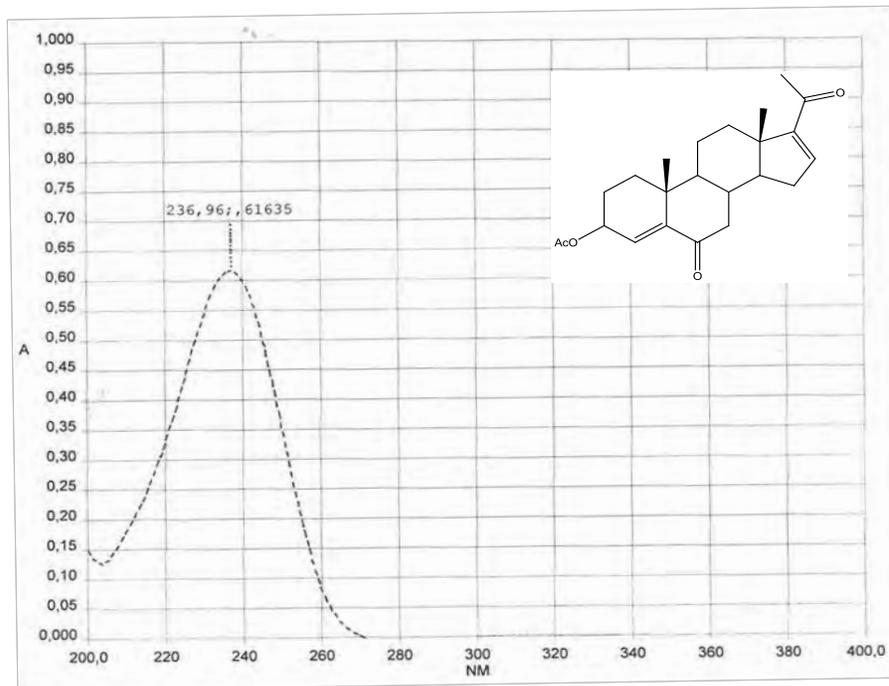


Figura A.16: Espectro UV de la 3β-acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

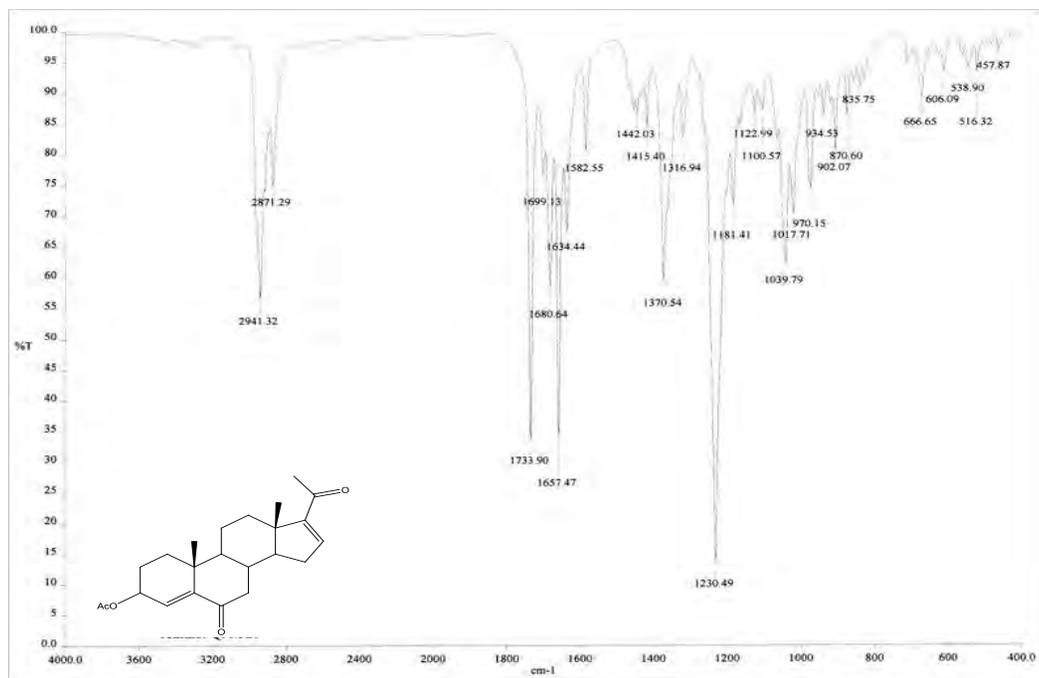


Figura A.17: Espectro IR de la 3β-acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

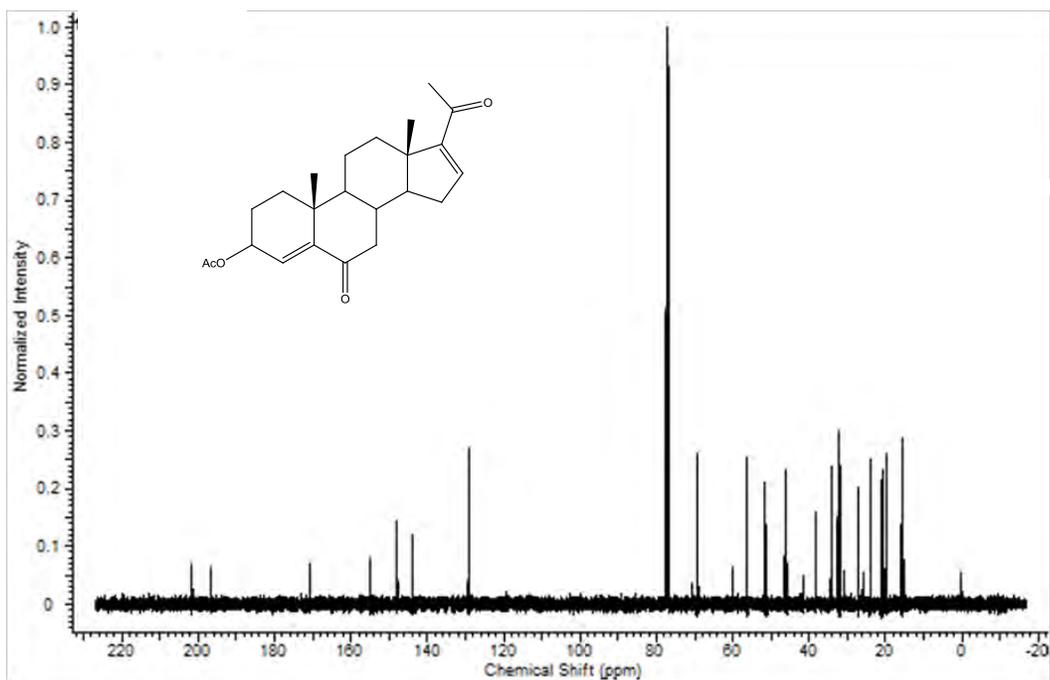


Figura A.18: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

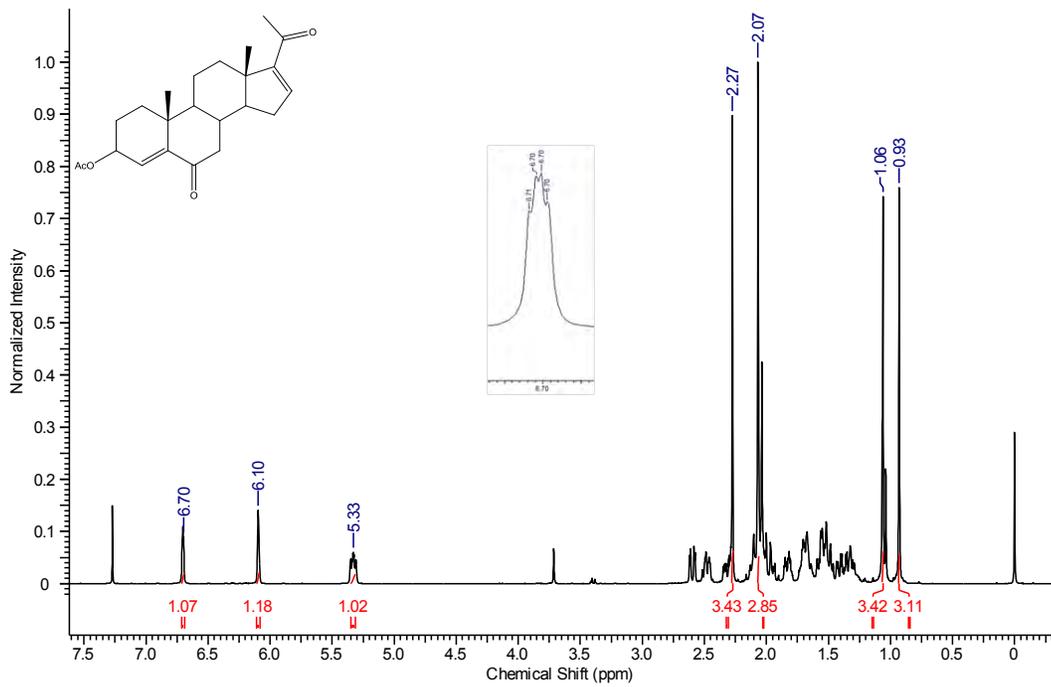


Figura A.19: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

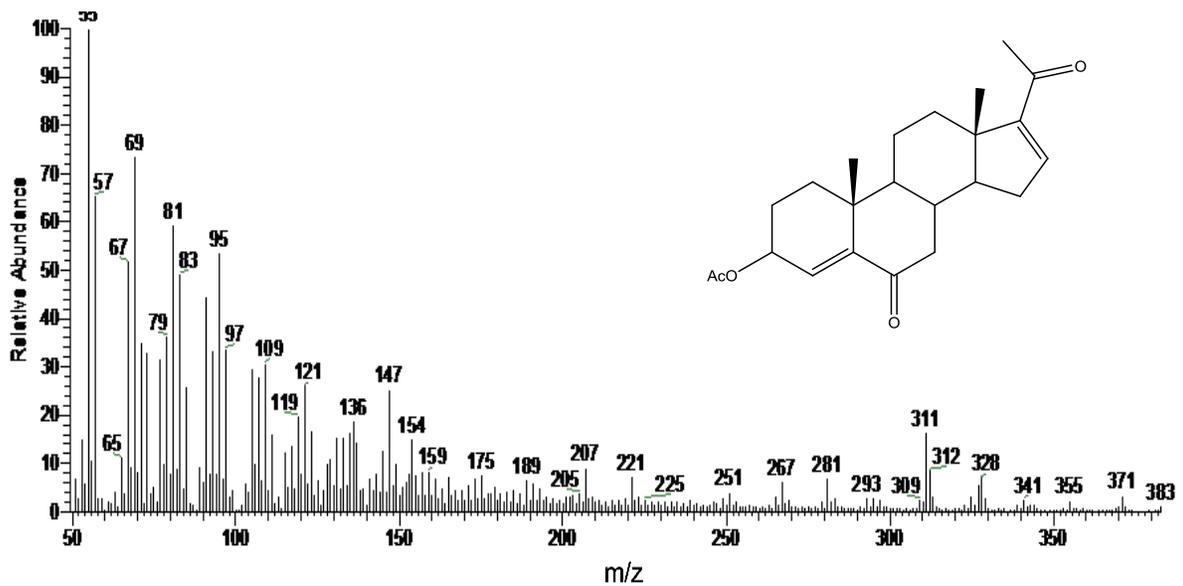


Figura A.20: Espectro de masas de la 3 β -acetoxipregna-4,16-dien-6,20-diona (4)

A.5 Espectros de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

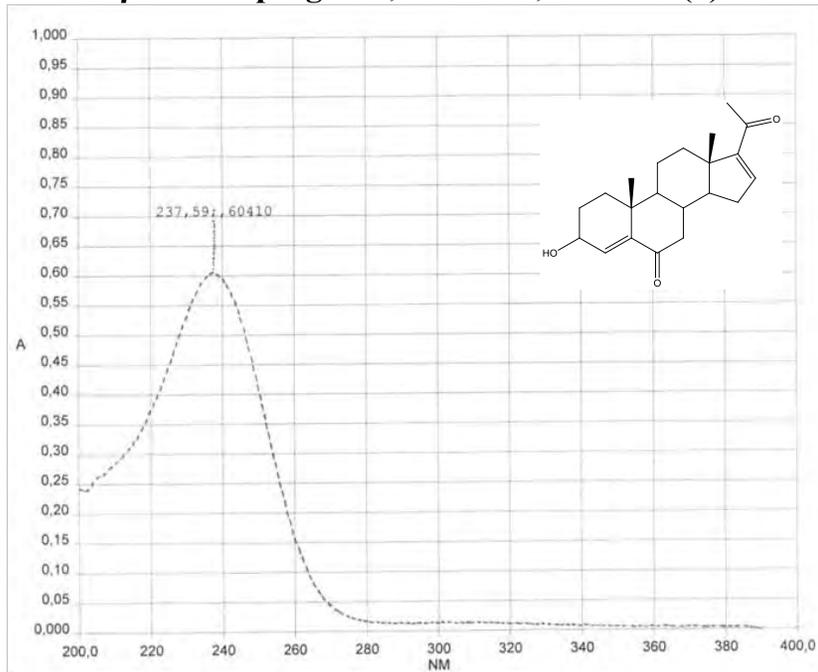


Figura A.21: Espectro UV de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

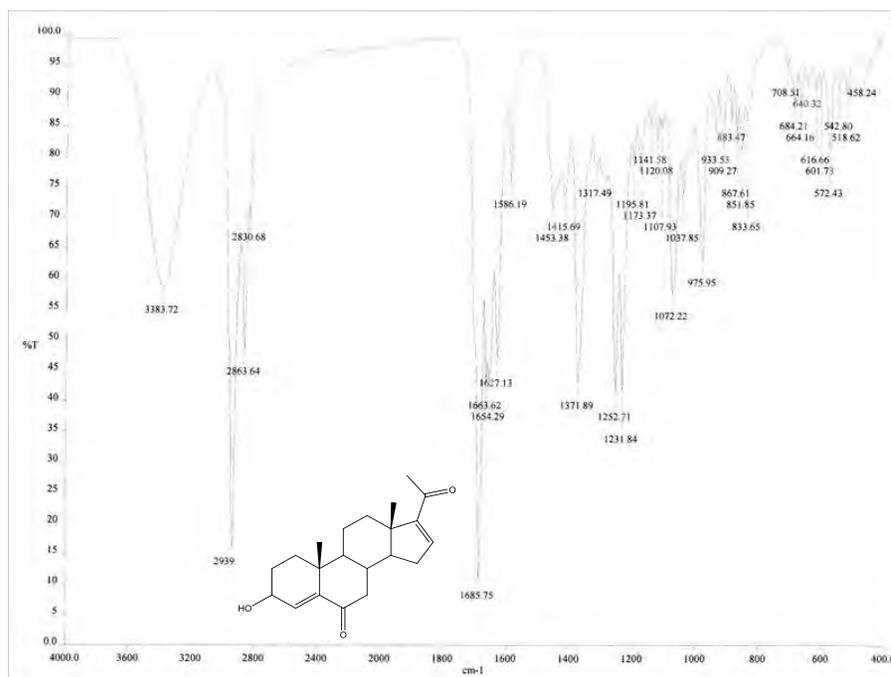


Figura A.22: Espectro IR de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

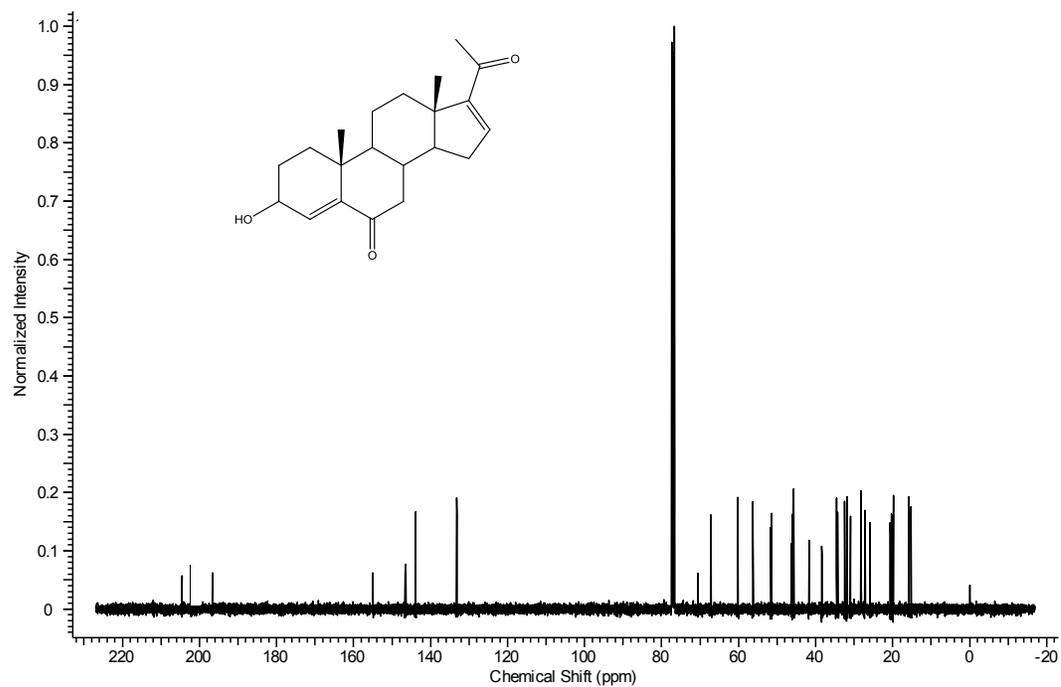


Figura A.23: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

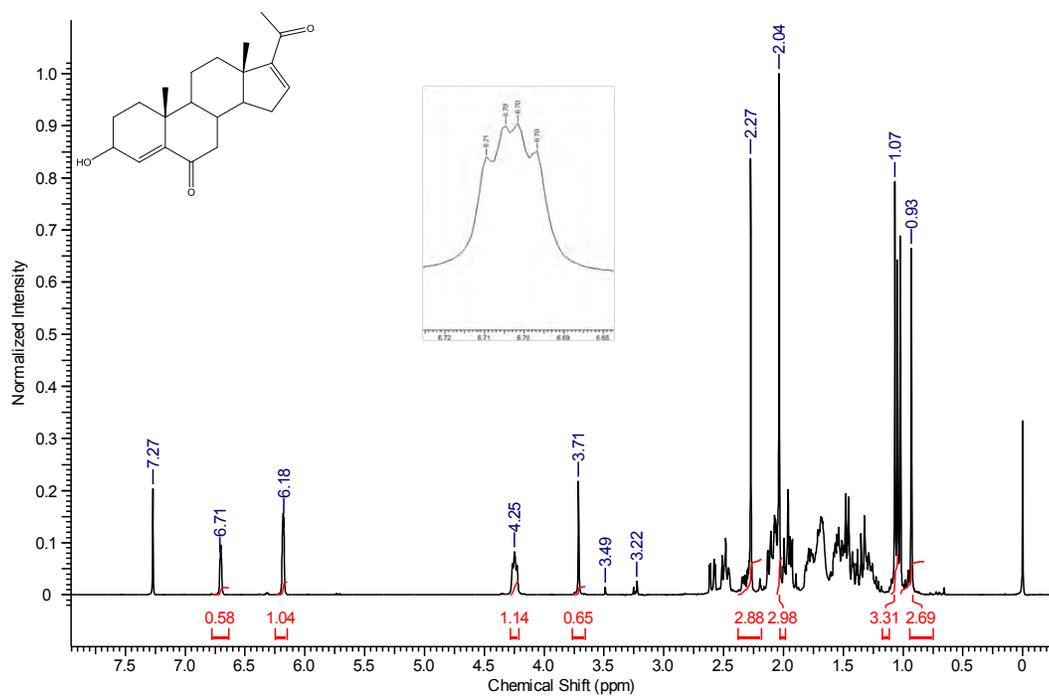


Figura A.24: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -hidroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

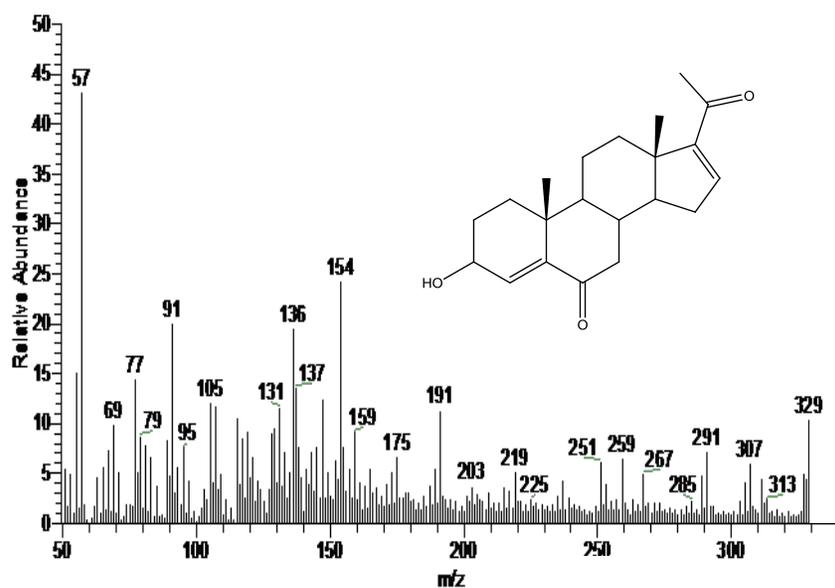


Figura A.25: Espectro de masas de la 3β-hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (5)

A.6 Espectros de la 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)

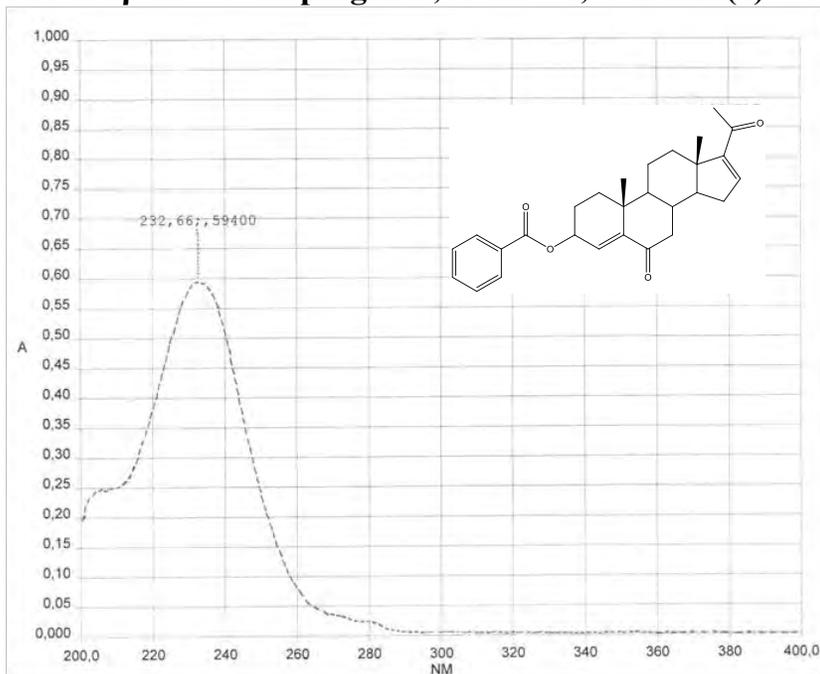


Figura A.26: Espectro UV de la 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)

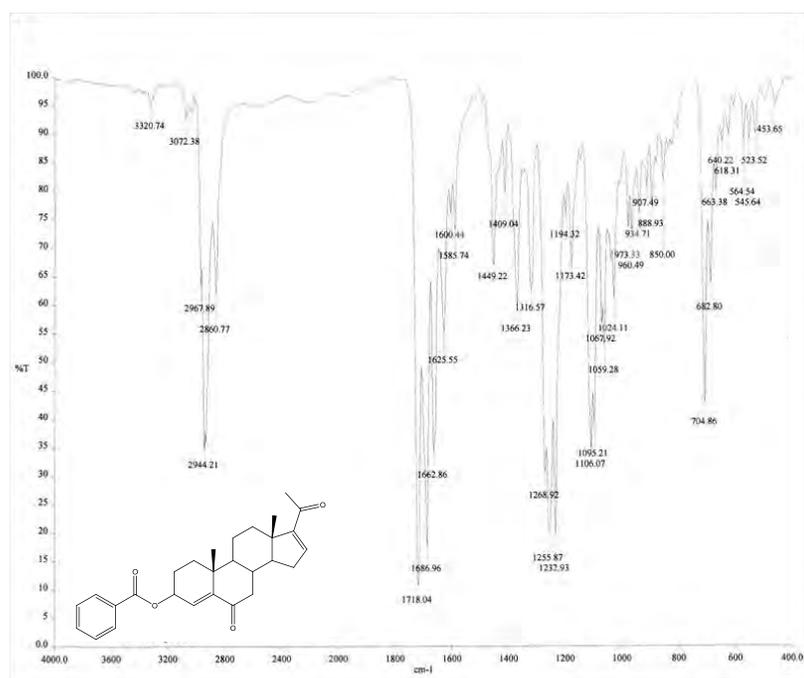


Figura A.27: Espectro IR de la 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)

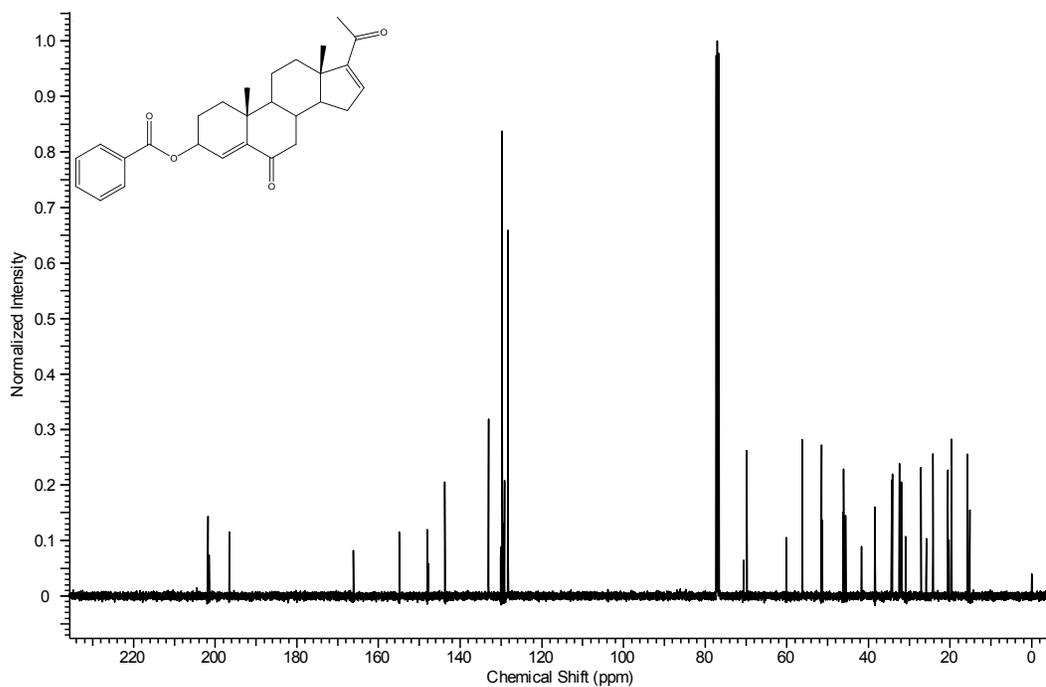
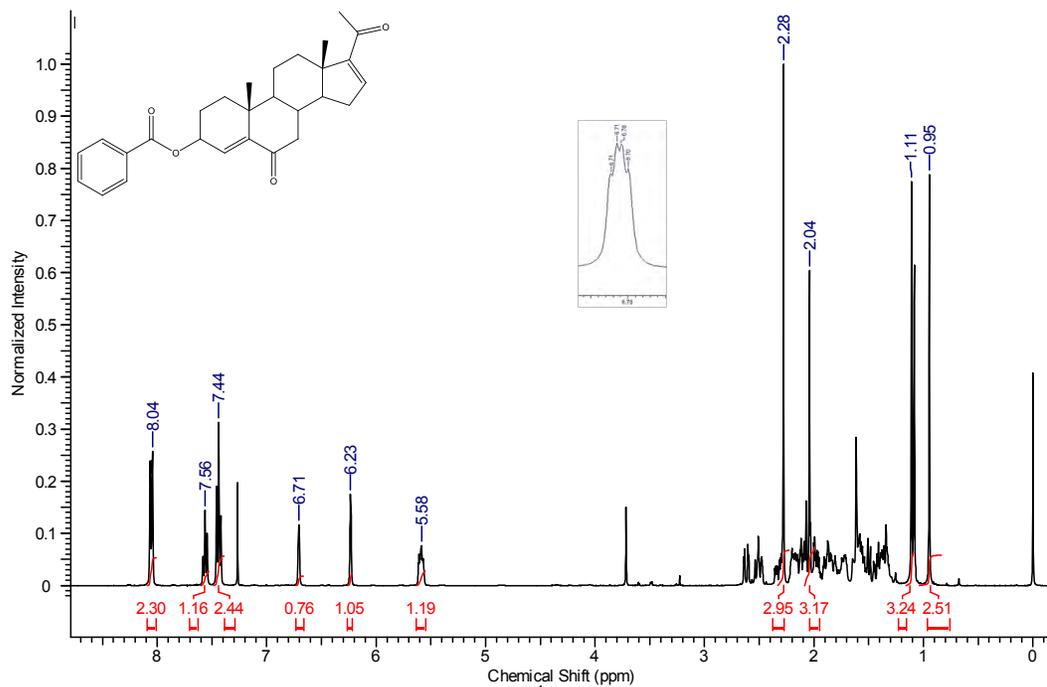
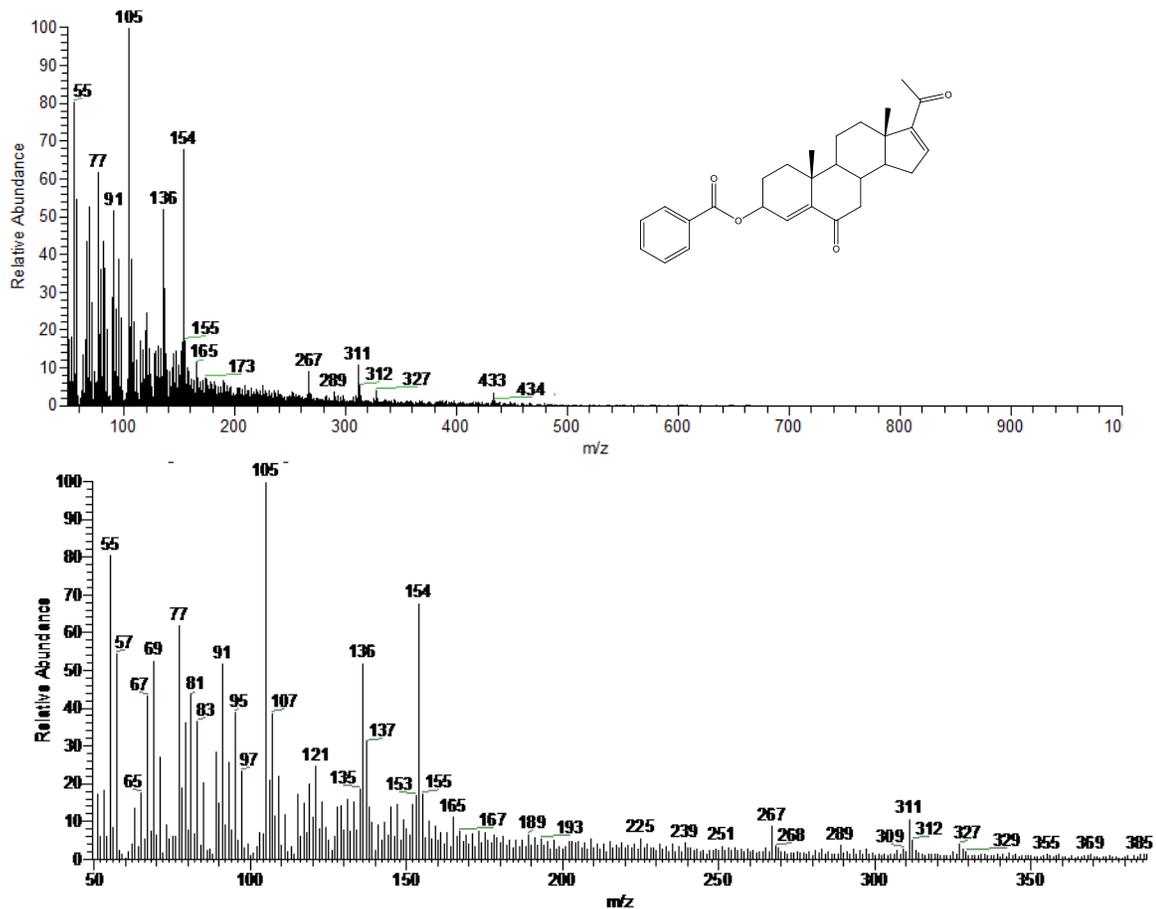
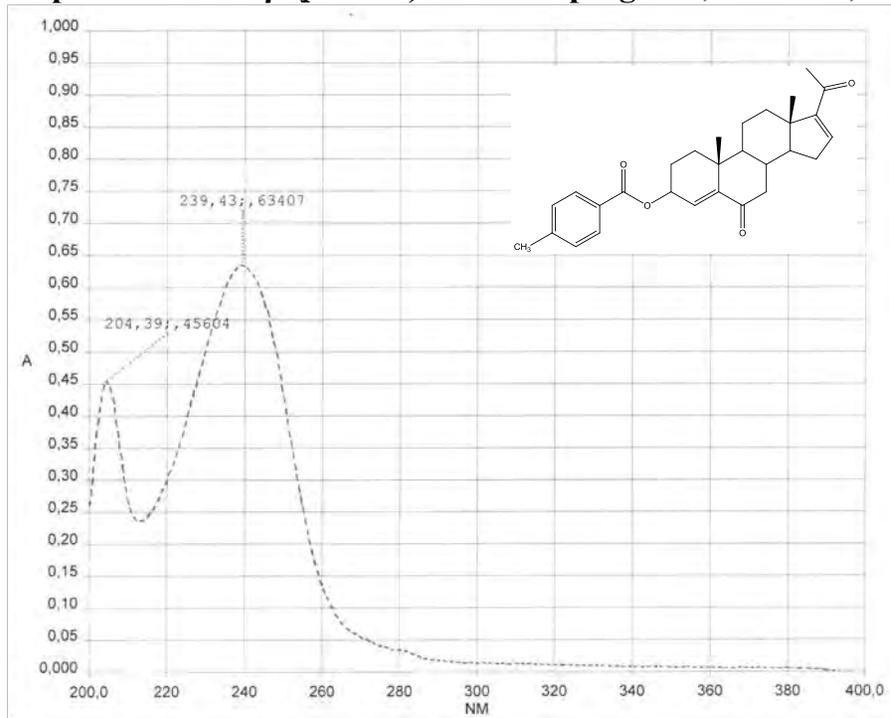
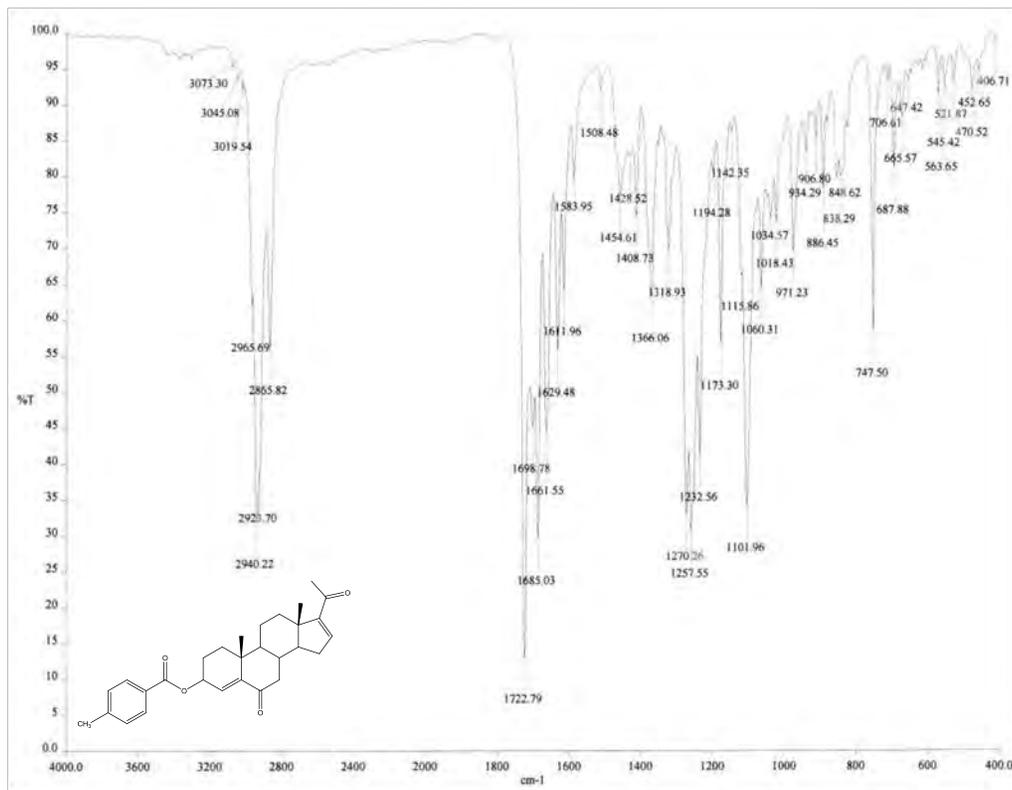


Figura A.28: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)

Figura A.29: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)Figura A.30: Espectro de masas de la 3 β -benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (6)

A.7 Espectros de la 3 β -(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)**Figura A.31:** Espectro UV de la 3 β -(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)**Figura A.32:** Espectro IR de la 3 β -(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

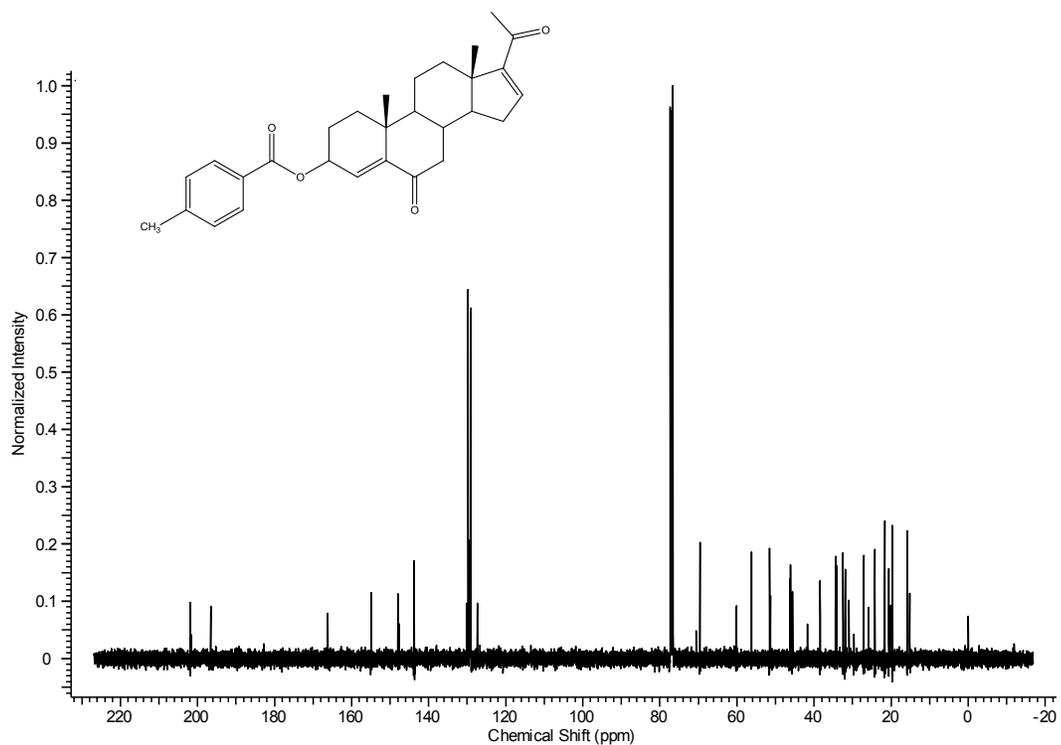


Figura A.33: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

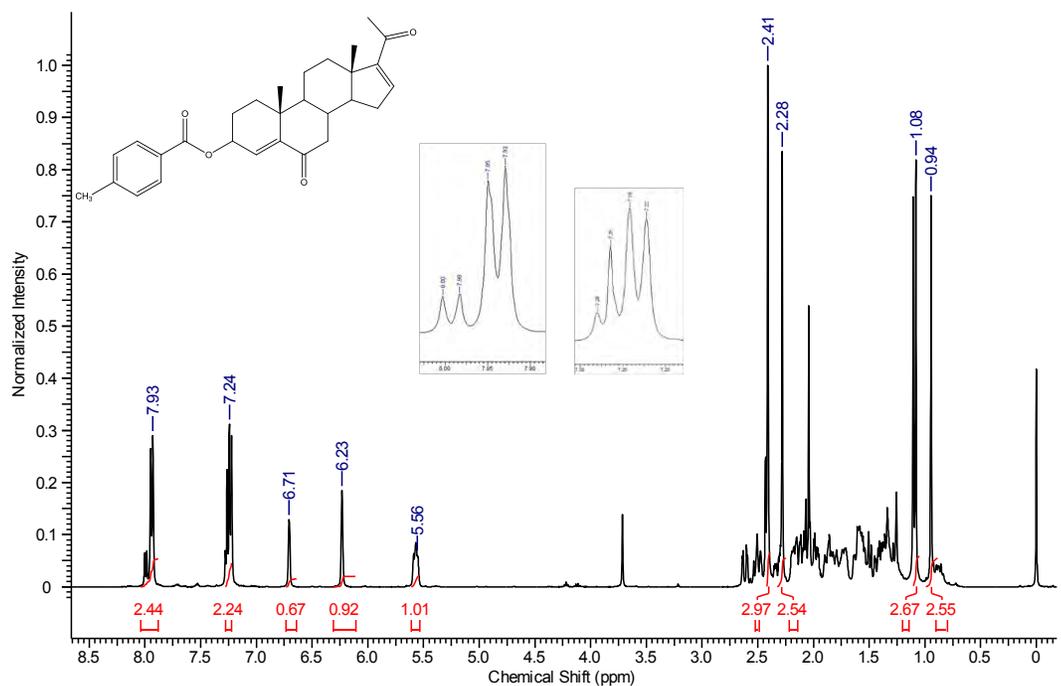


Figura A.34: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

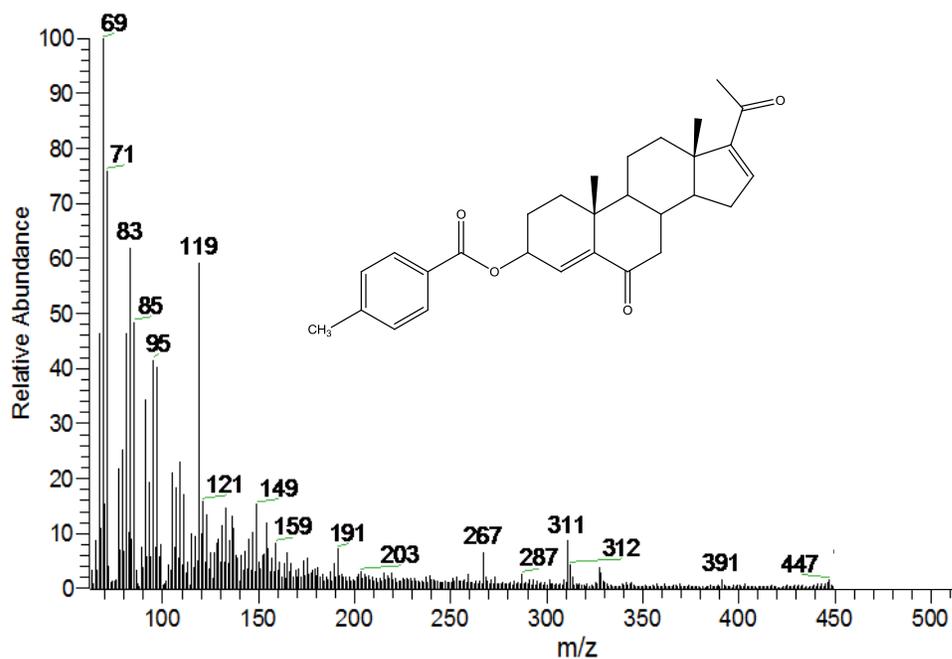


Figura A.35: Espectro de masas de la 3β-(*p*-metil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (7)

A.8 Espectros de la 3β-(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

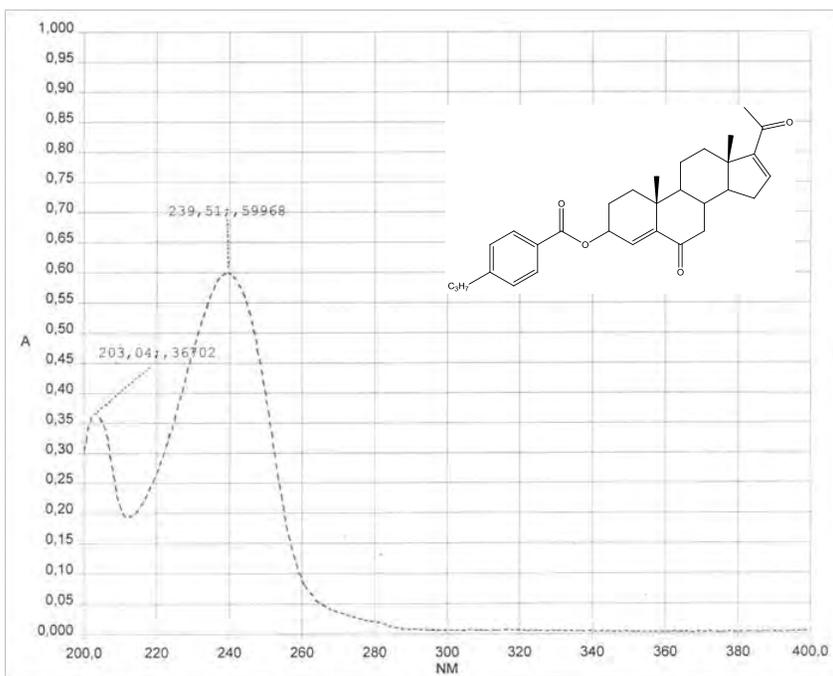


Figura A.36: Espectro UV de la 3β-(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

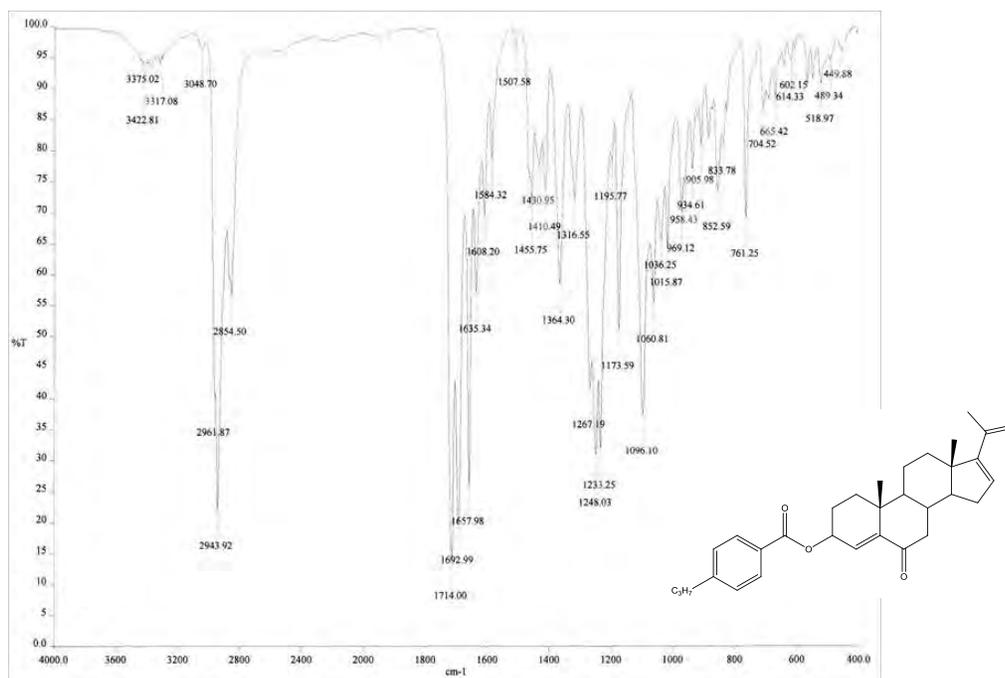


Figura A.37: Espectro IR de la 3β-(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

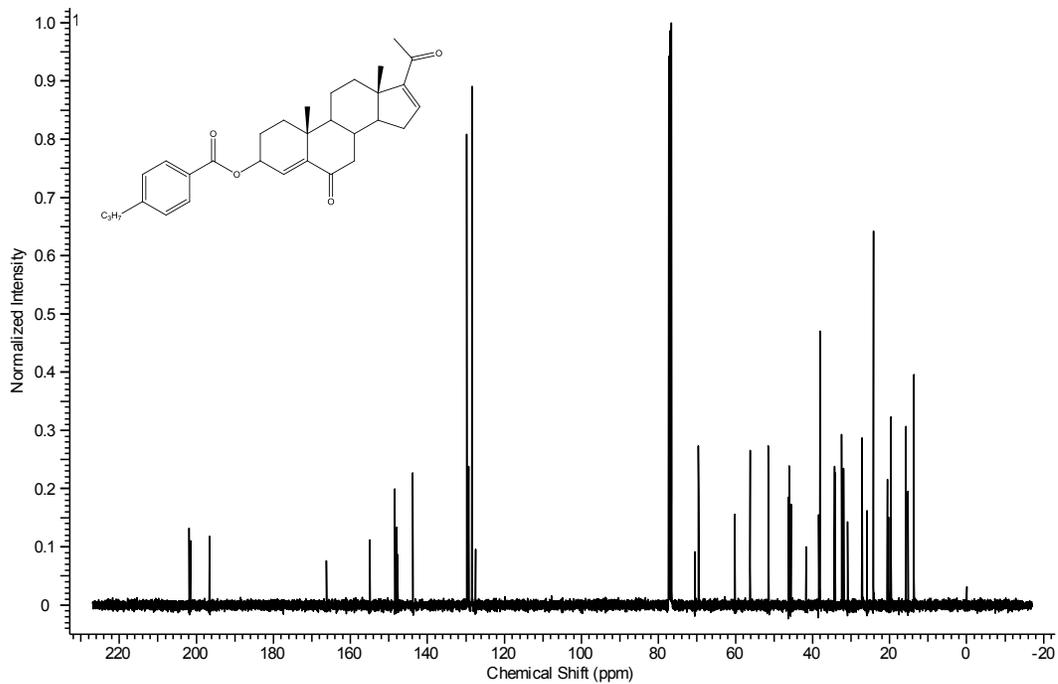


Figura A.38: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (8)

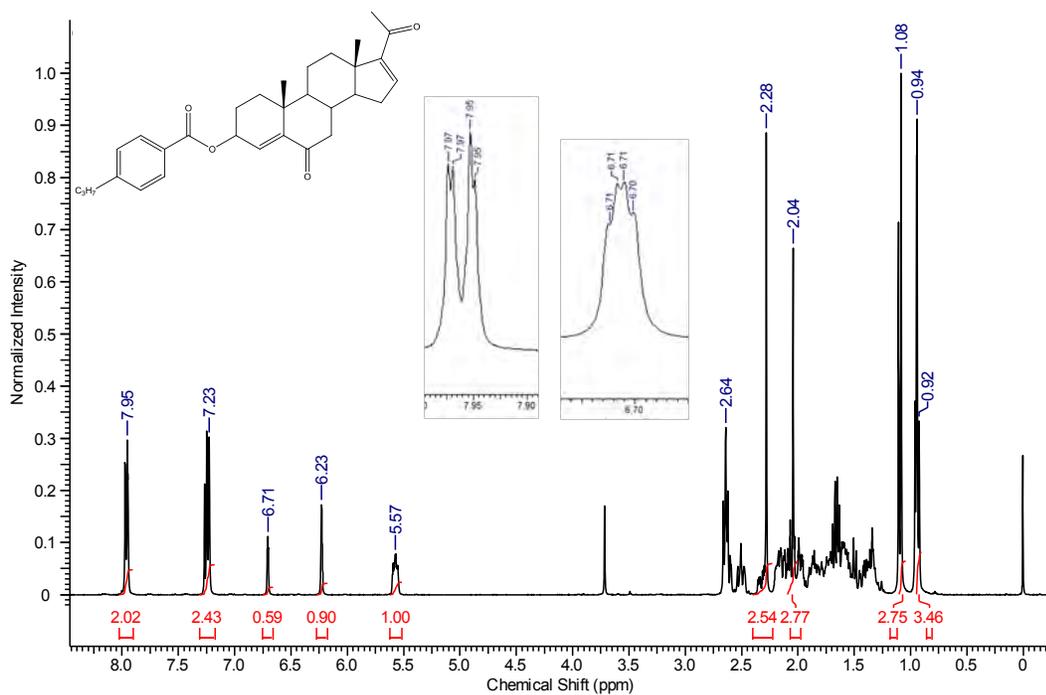


Figura A.39: Espectro de RMN- ^1H de la 3β -(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**8**)

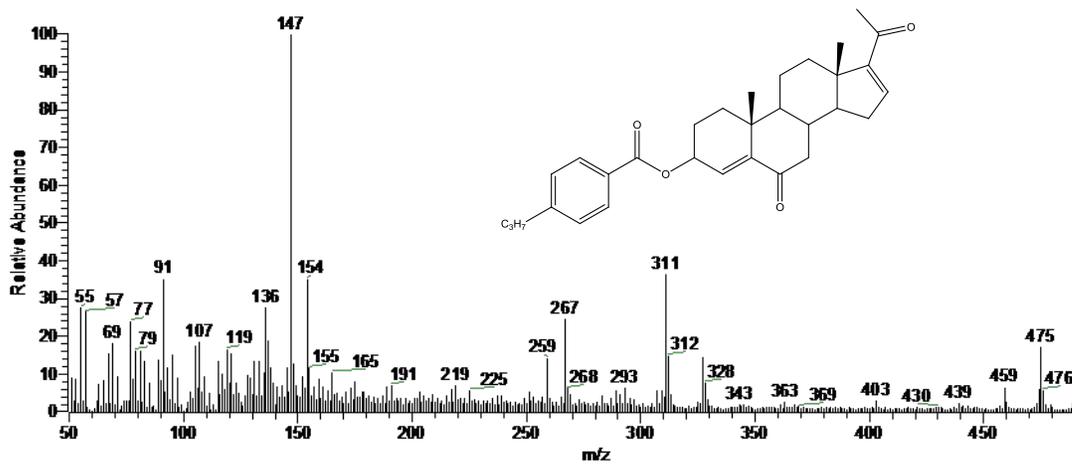
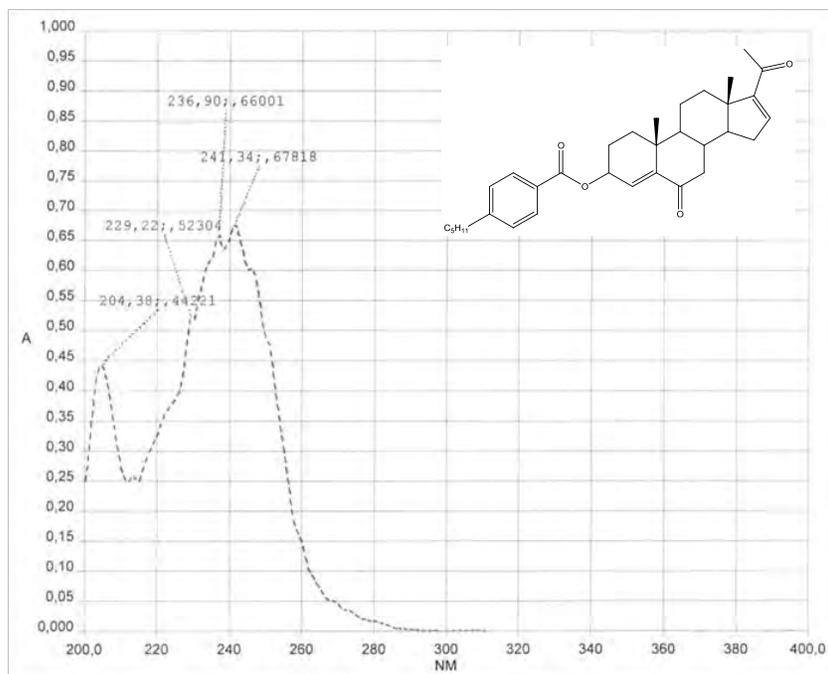
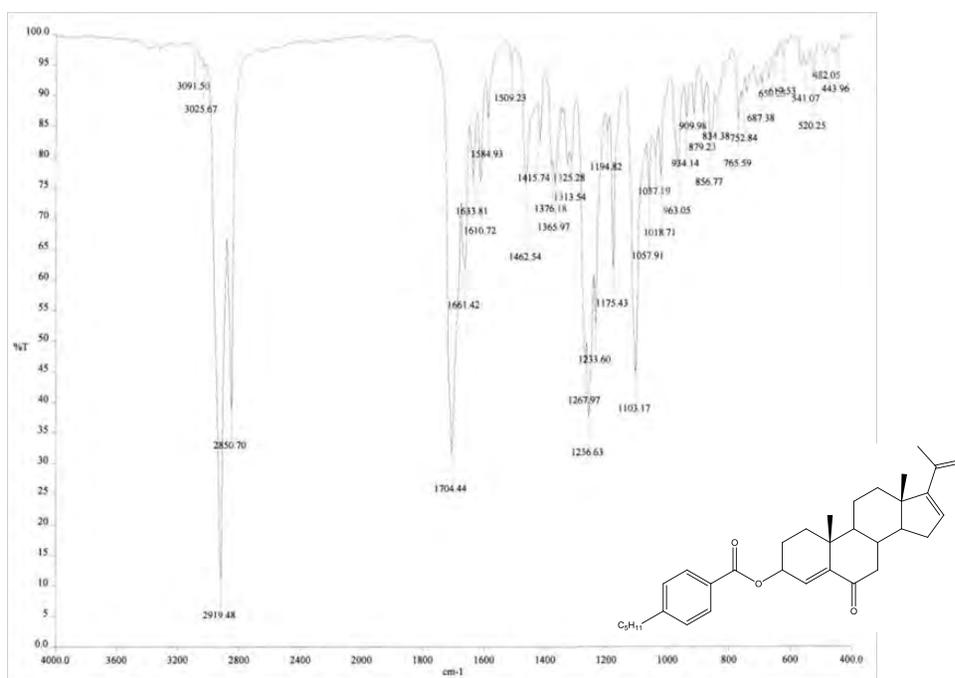


Figura A.40: Espectro de masas de la 3β -(*p*-propil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**8**)

A.9 Espectros de la 3 β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)**Figura A.41:** Espectro UV de la 3 β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)**Figura A.42:** Espectro IR de la 3 β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)

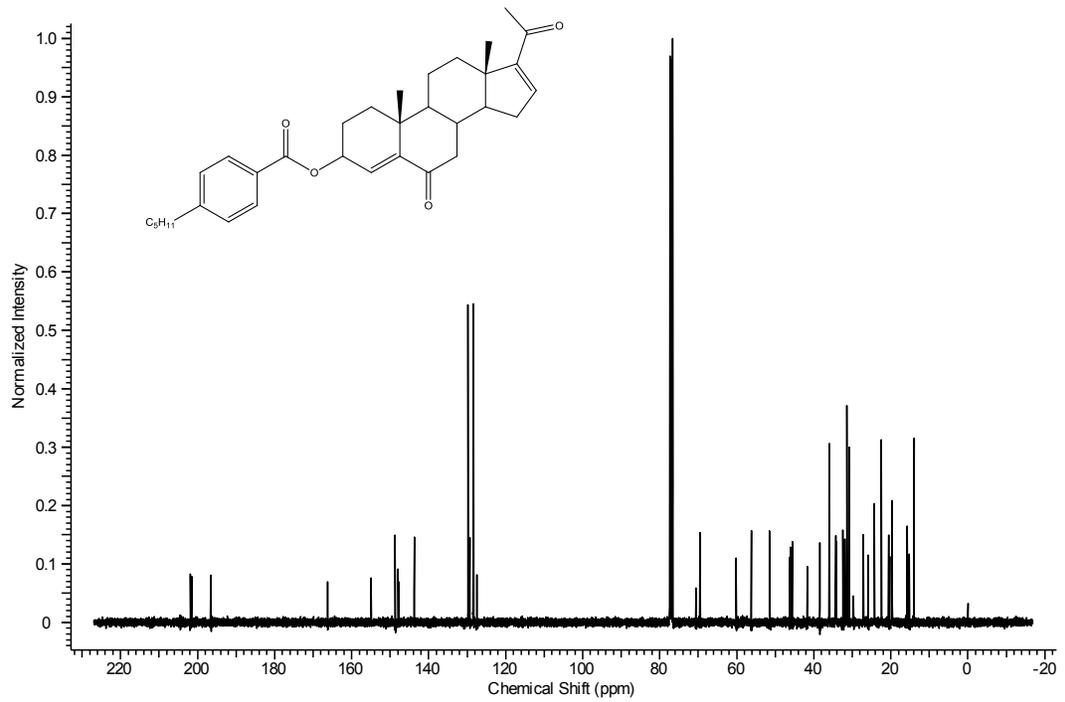


Figura A.43: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**9**)

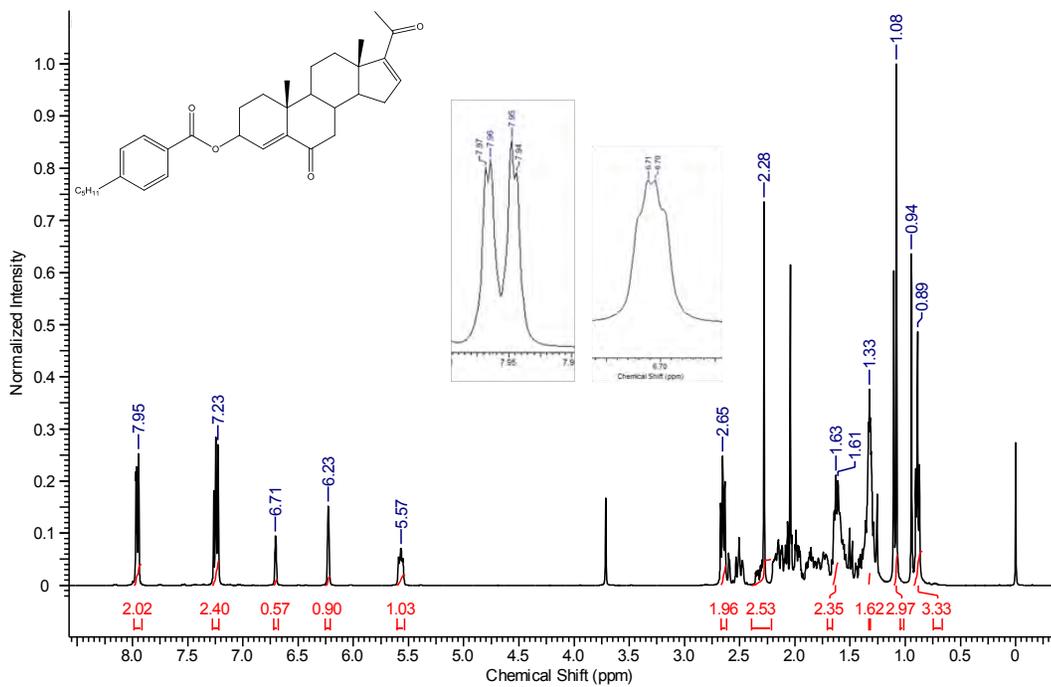


Figura A.44: Espectro de RMN- ^1H de la 3β -(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**9**)

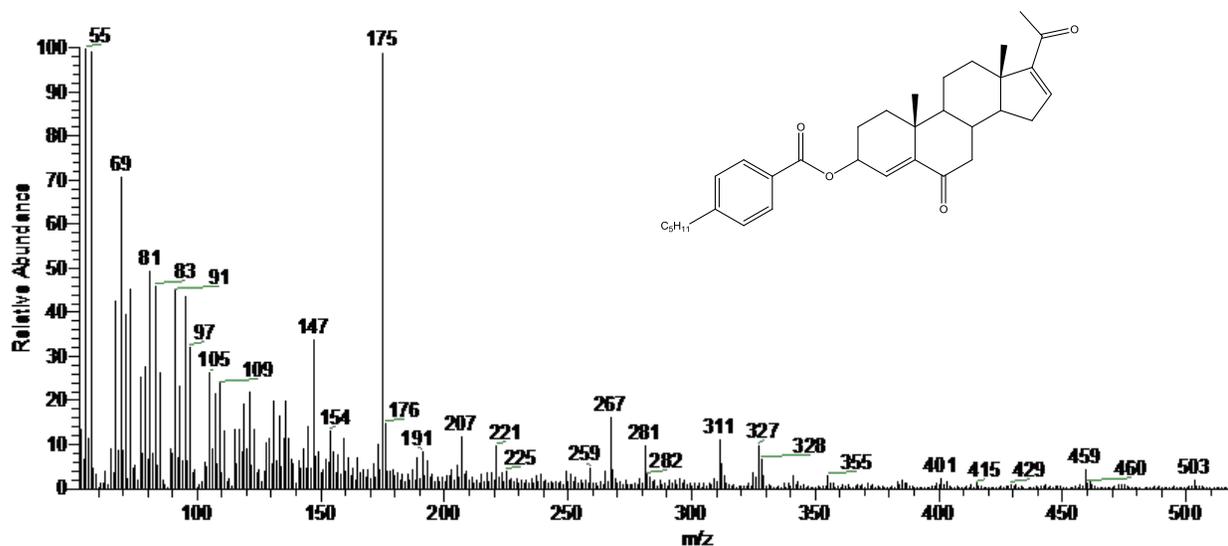


Figura A.45: Espectro de masas de la 3β-(*p*-pentil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (9)

A.10 Espectros de la 3β-(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

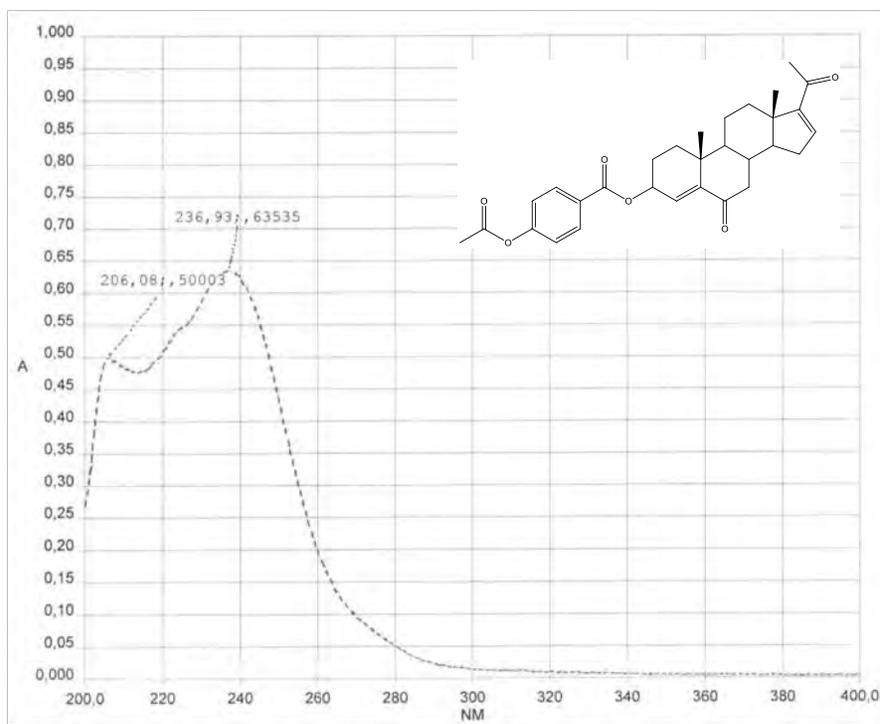


Figura A.46: Espectro UV de la 3β-(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

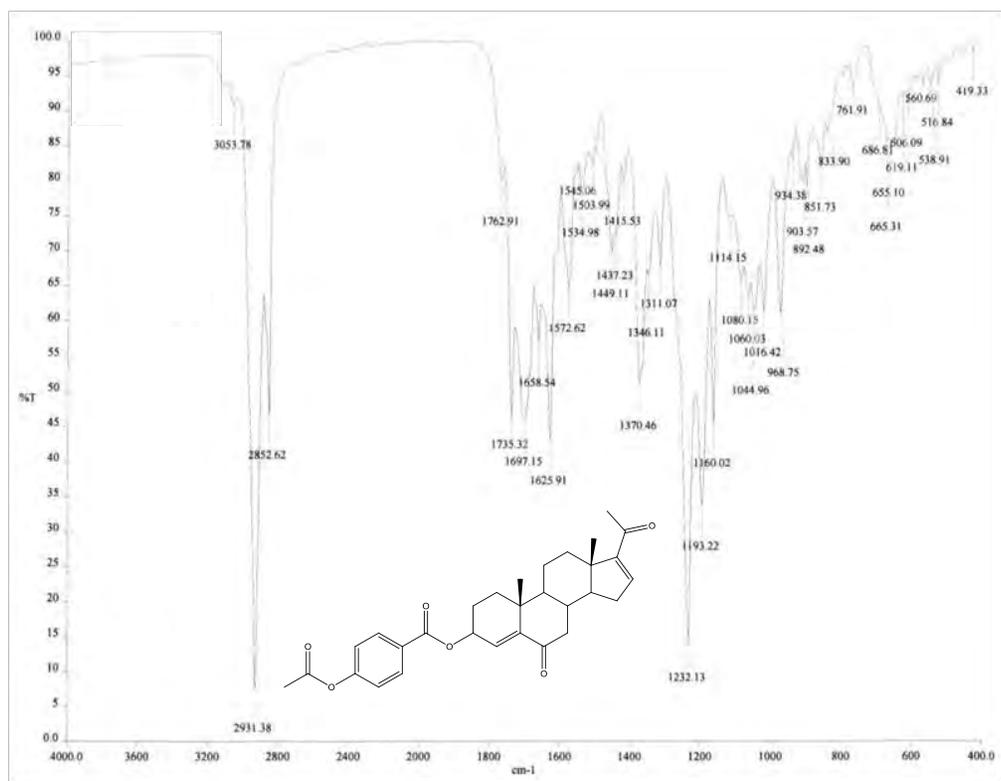


Figura A.47: Espectro IR de la 3β-(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

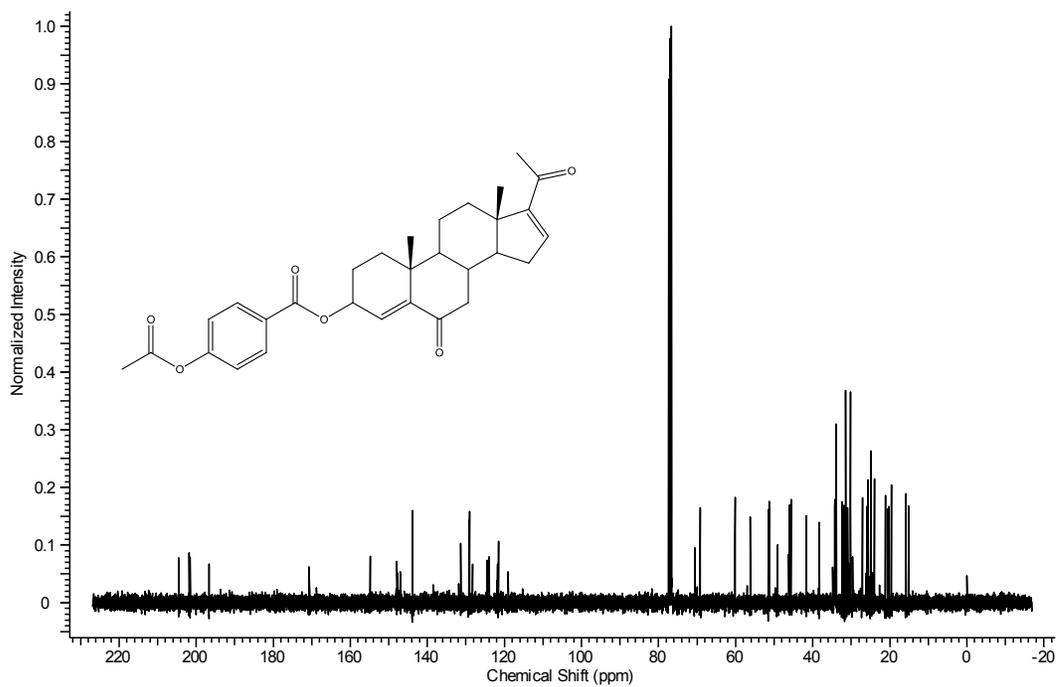


Figura A.48: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

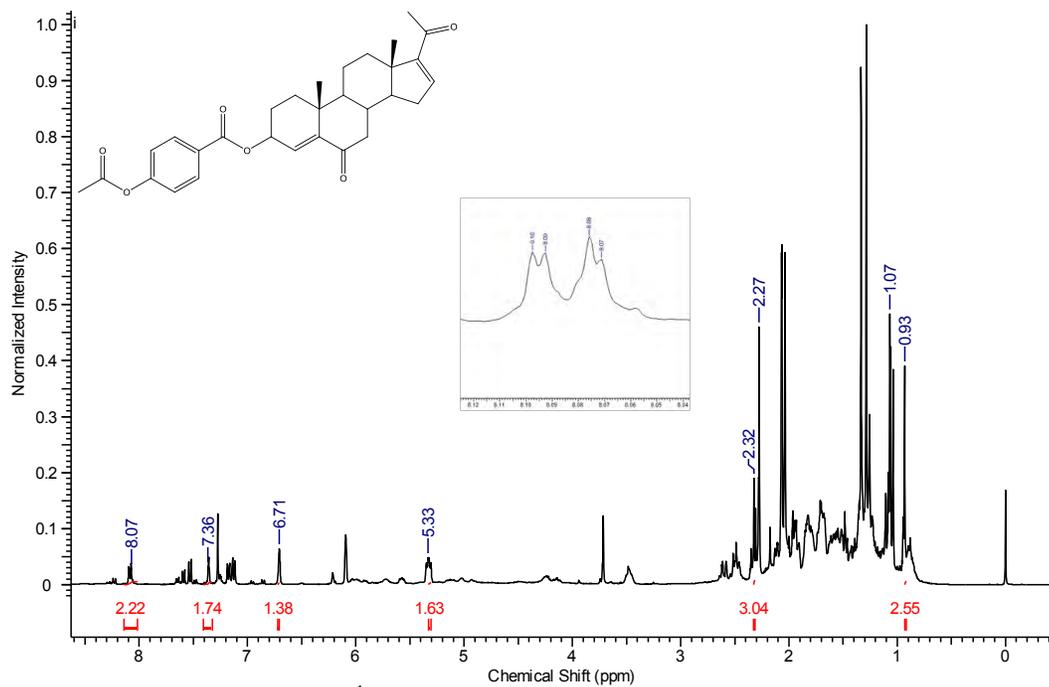
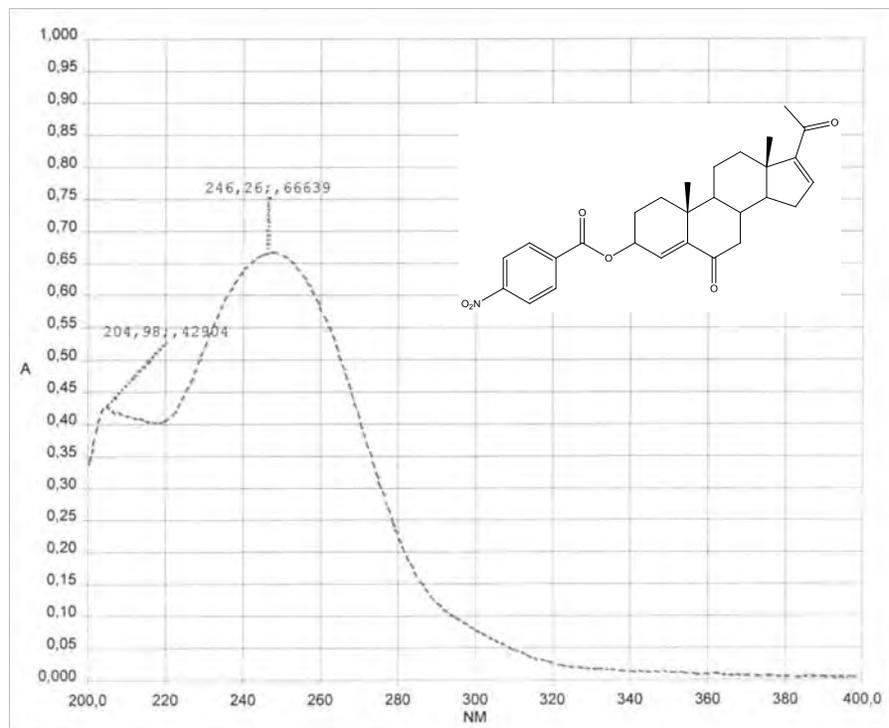
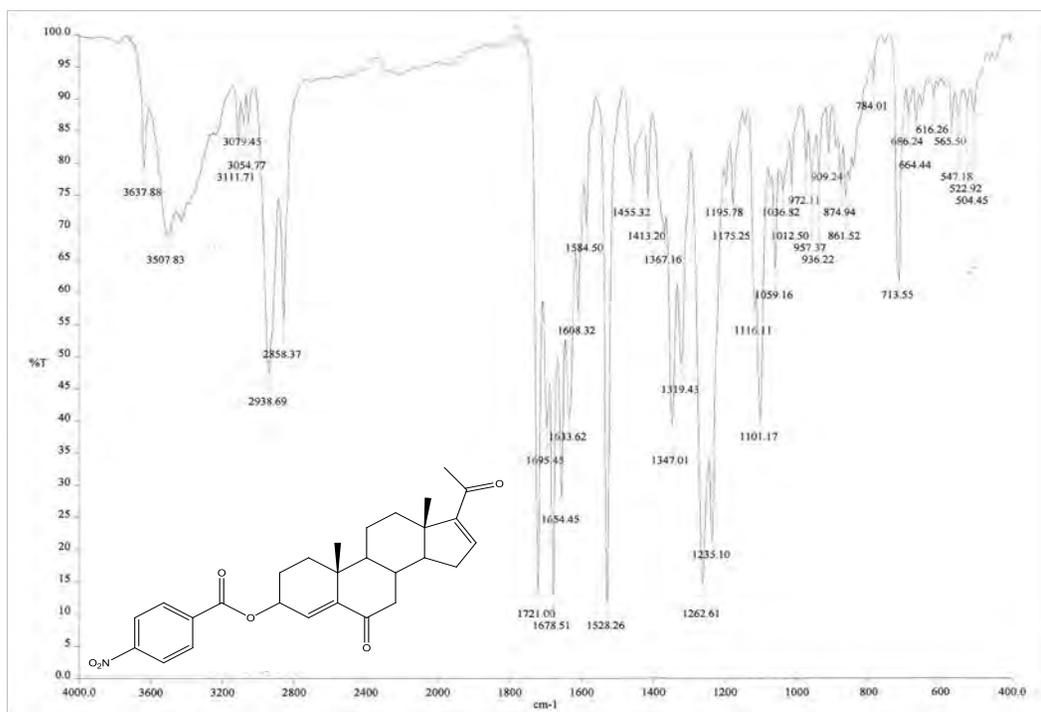


Figura A.49: Espectro de RMN- ^1H de la 3β -(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)



Figura A.50: Espectro de masas de la 3β -(*p*-acetoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (10)

A.11 Espectros de la 3 β -(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)**Figura A.51:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)**Figura A.52:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

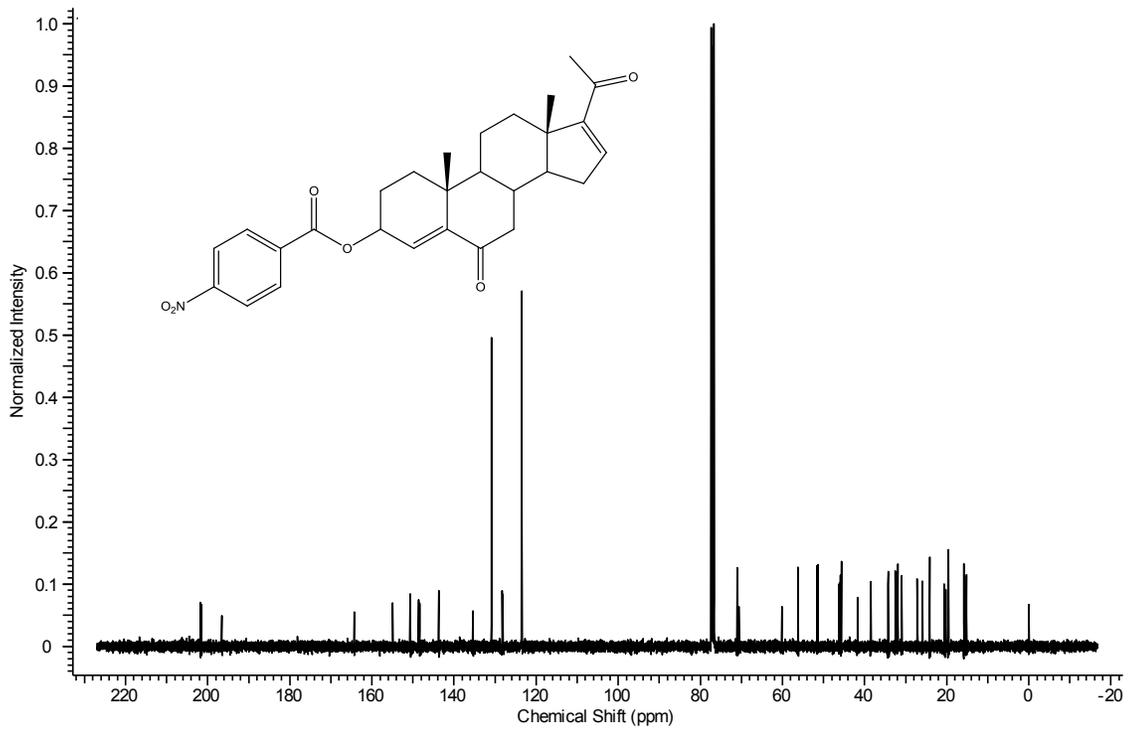


Figura A.53: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

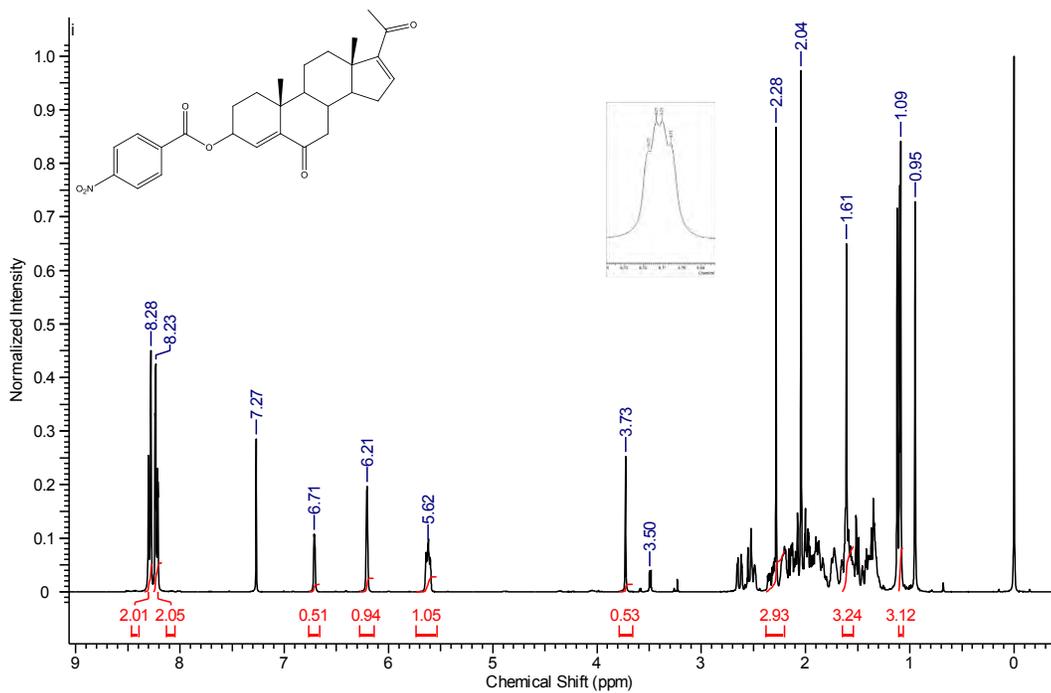


Figura A.54: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

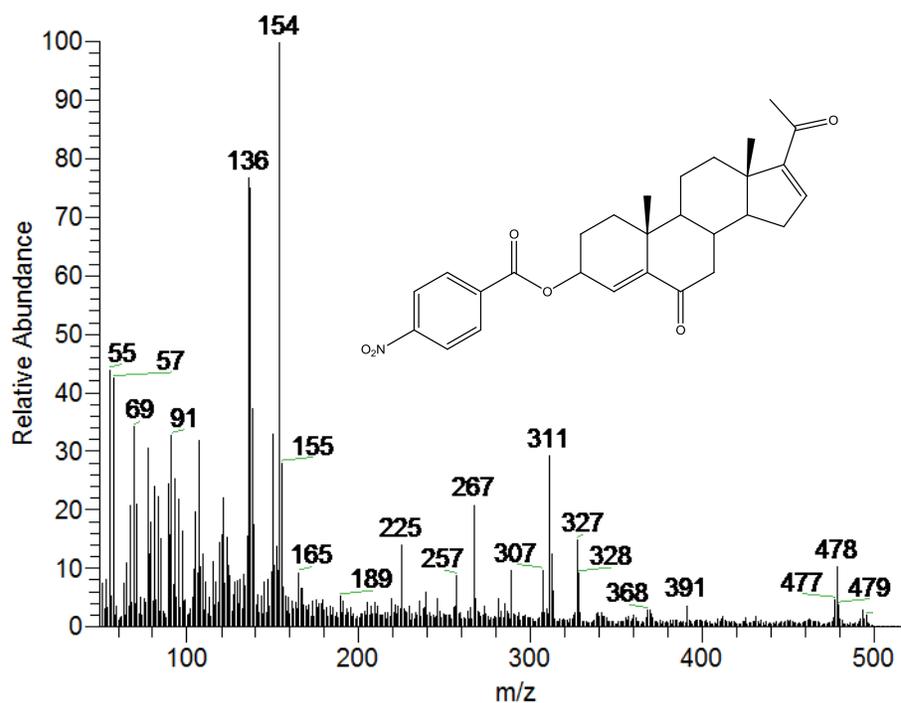


Figura A.55: Espectro de masas de la 3β-(*p*-nitro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (11)

A.12 Espectros de la 3β-(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

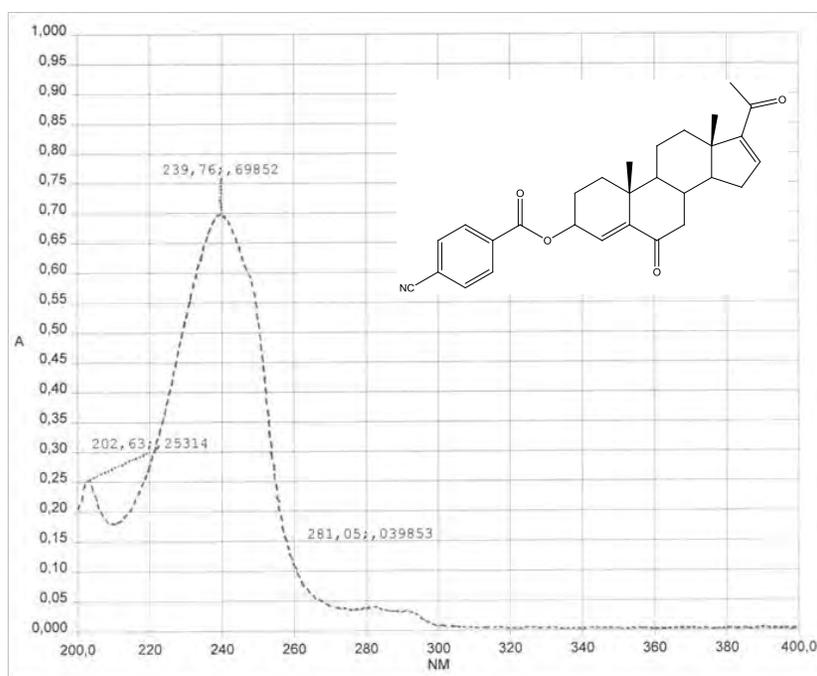


Figura A.56: Espectro de UV de la 3β-(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

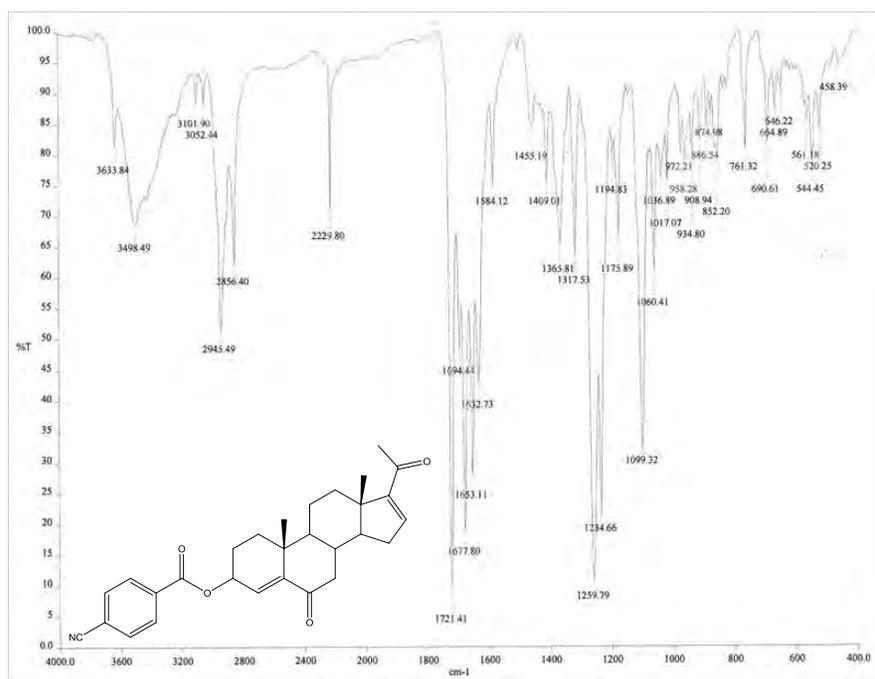


Figura A.57: Espectro de IR de la 3β-(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

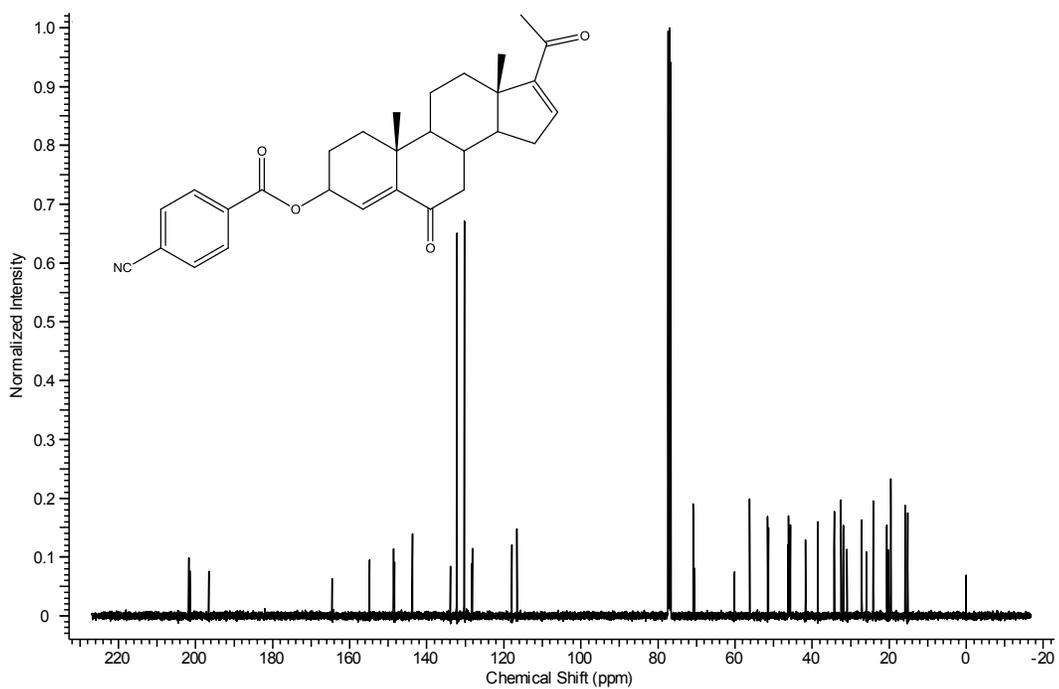


Figura A.58: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

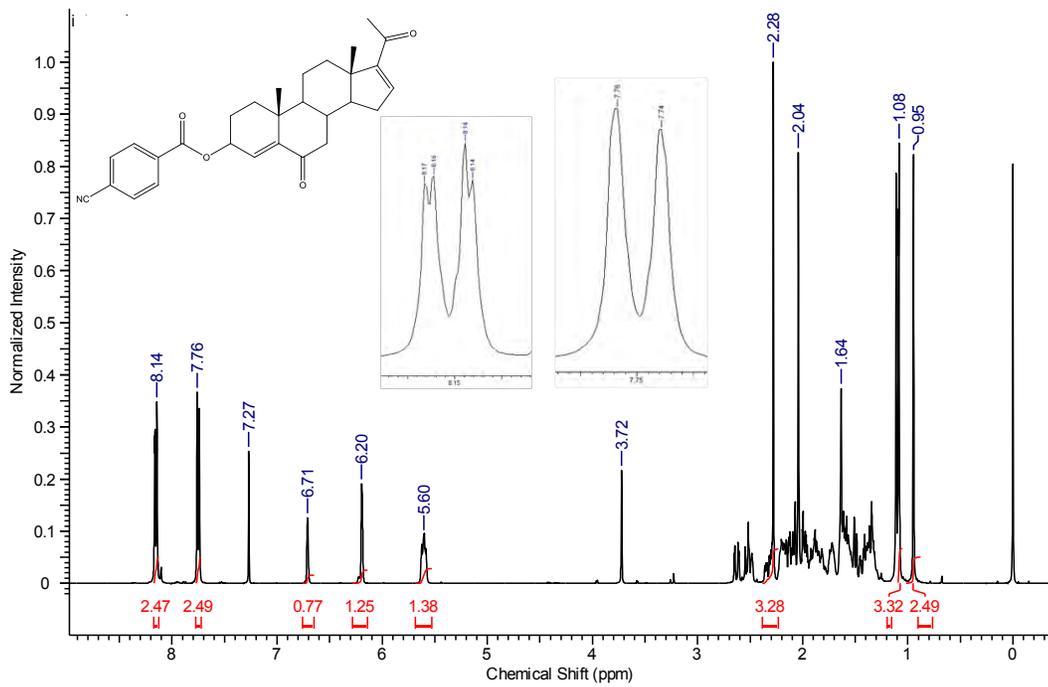


Figura A.59: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

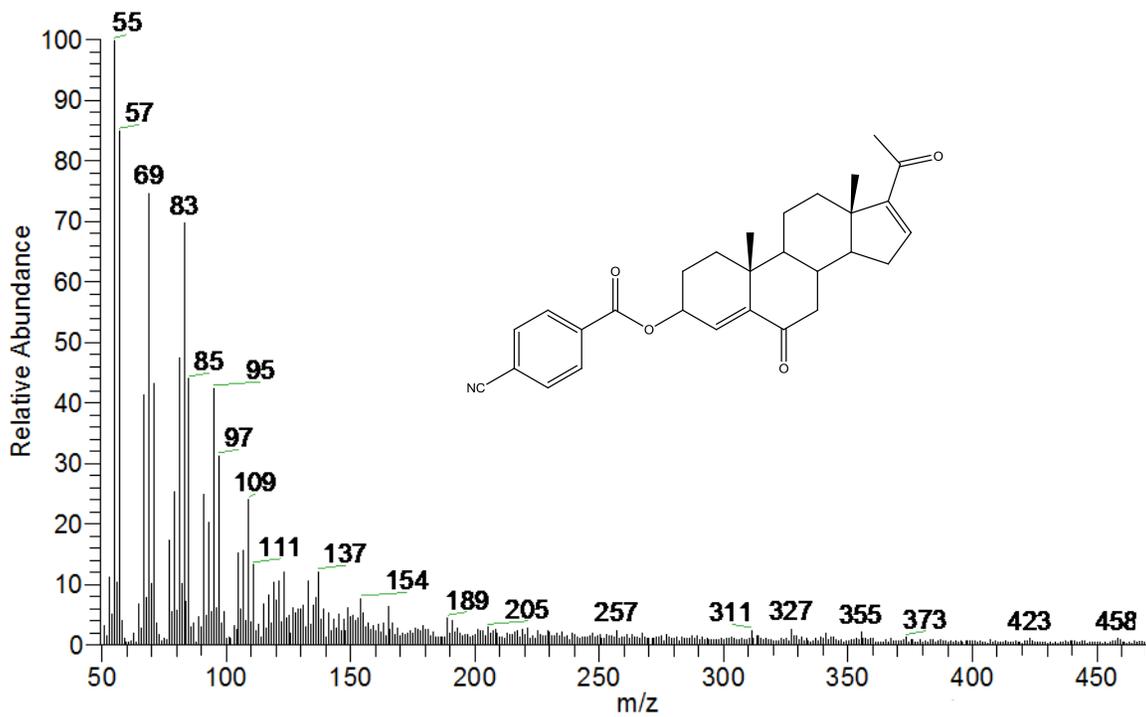
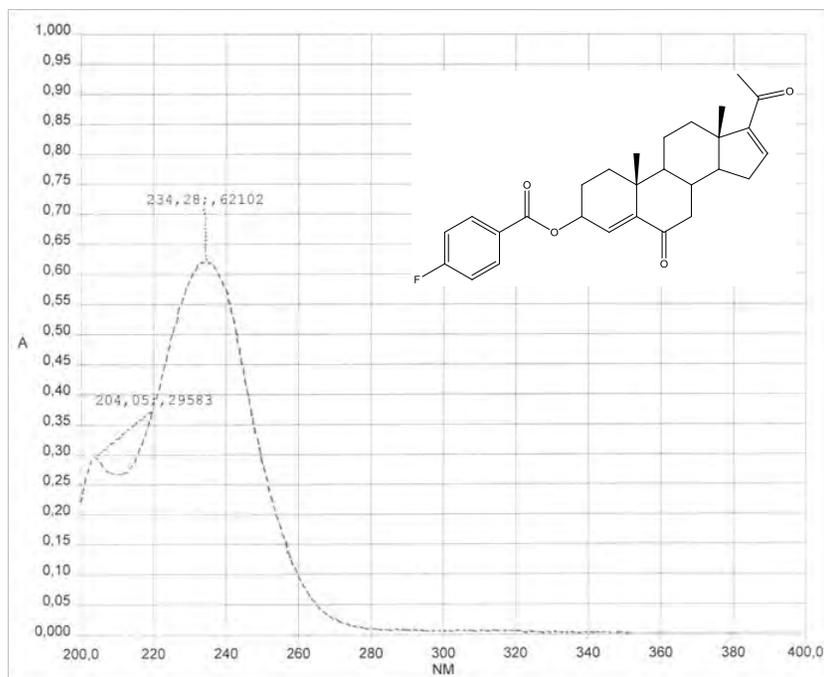
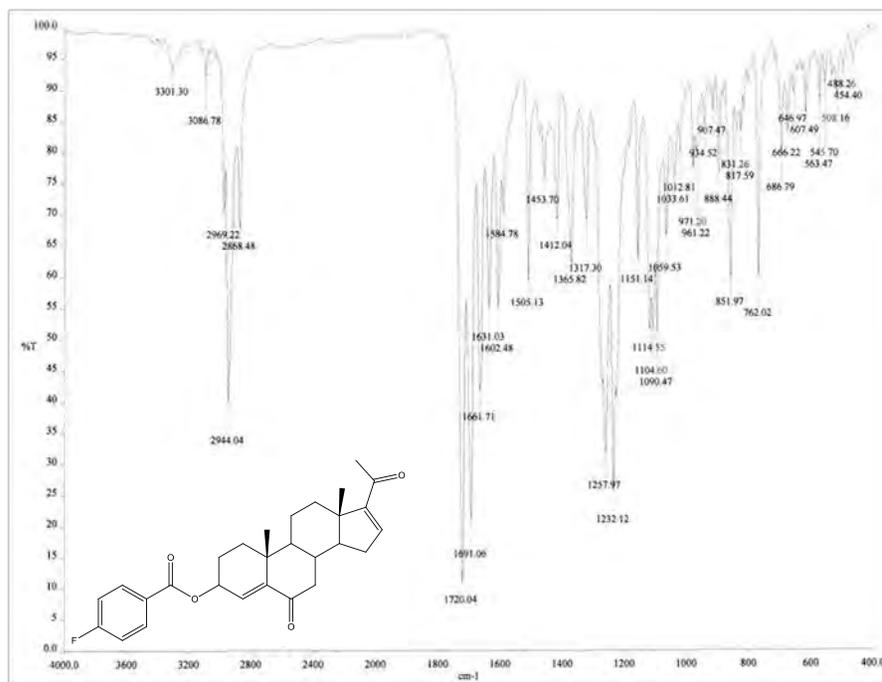


Figura A.60: Espectro de masas de la 3 β -(*p*-ciano)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (12)

A.13 Espectros de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)**Figura A.61:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)**Figura A.62:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

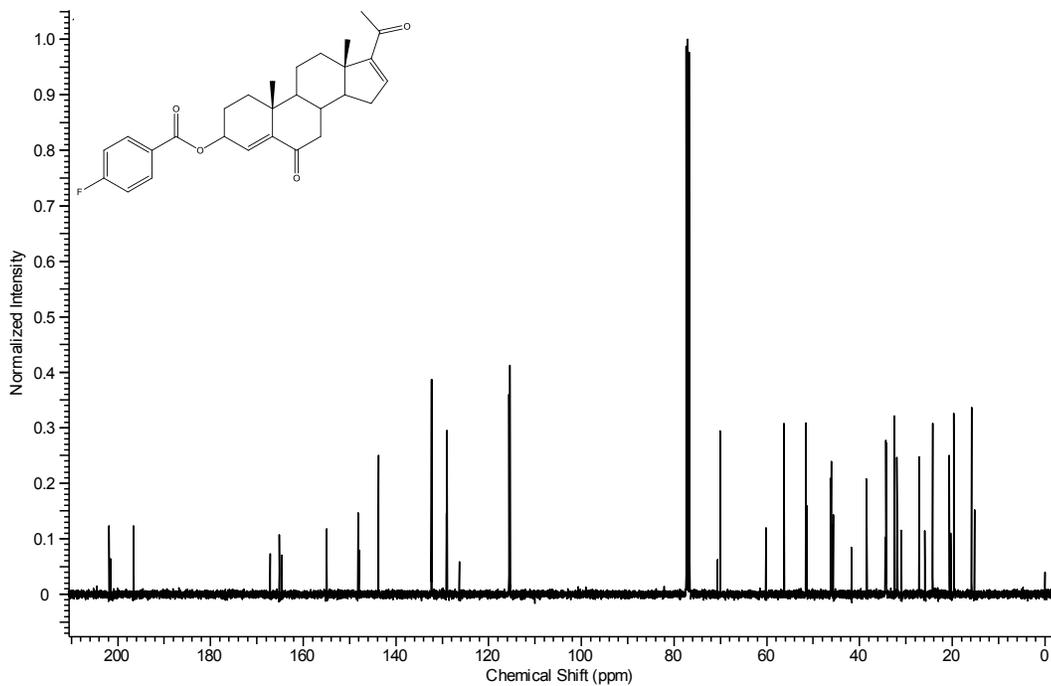


Figura A.63: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

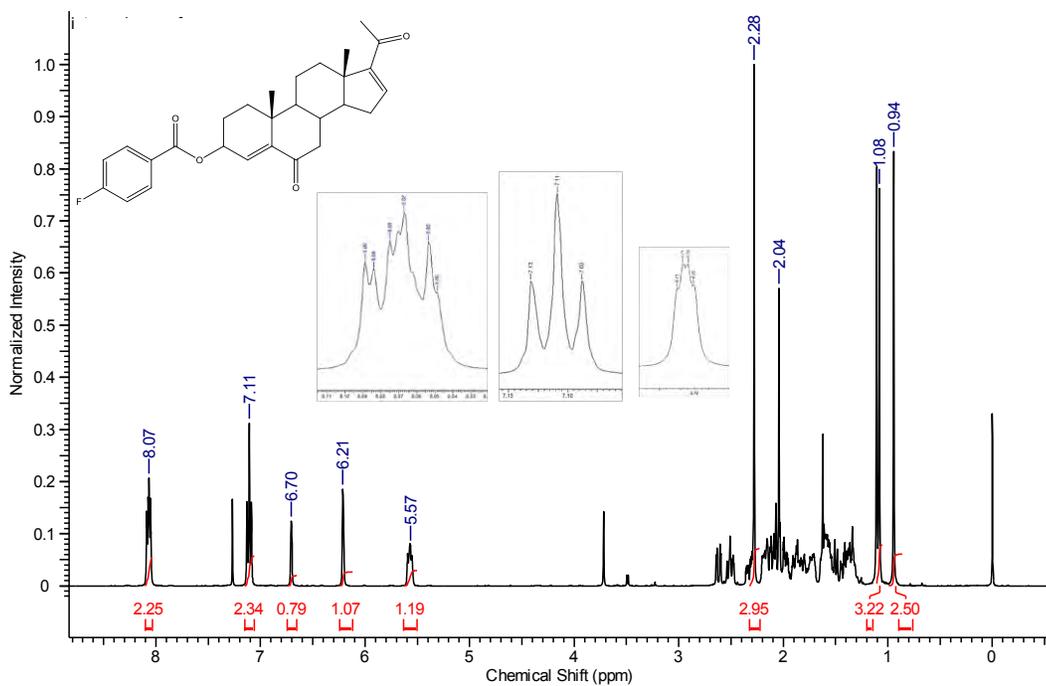


Figura A.64: Espectro de RMN- ^1H de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

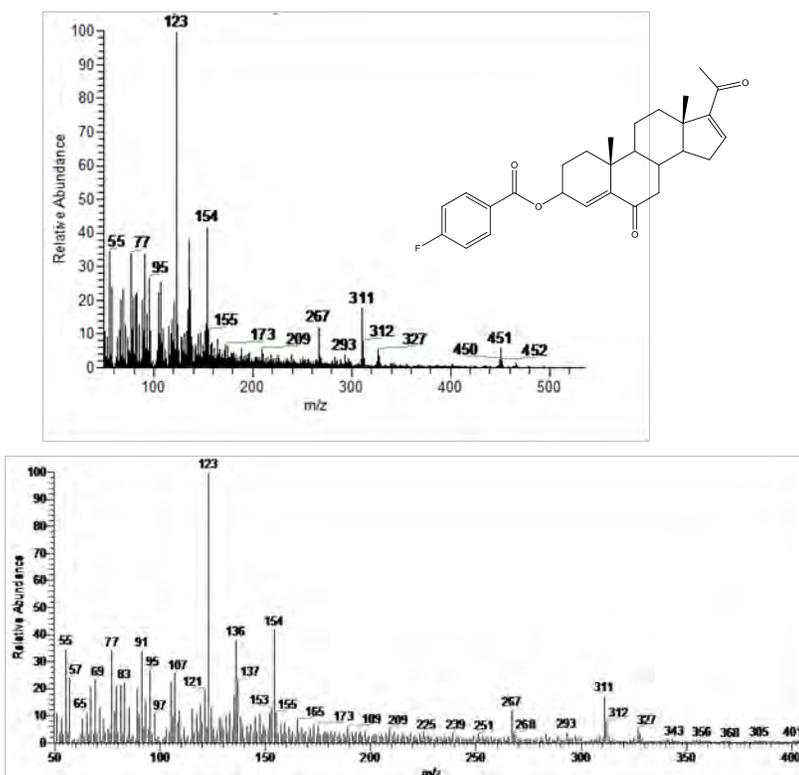


Figura A.65: Espectro de masas de la 3 β -(*p*-fluoro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (13)

A.14 Espectros de la 3 β -(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

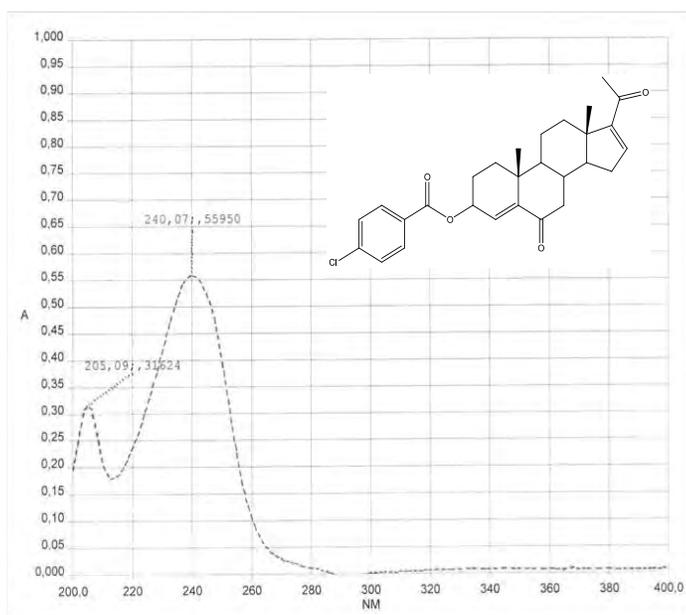


Figura A.66: Espectro de UV de la 3 β -(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

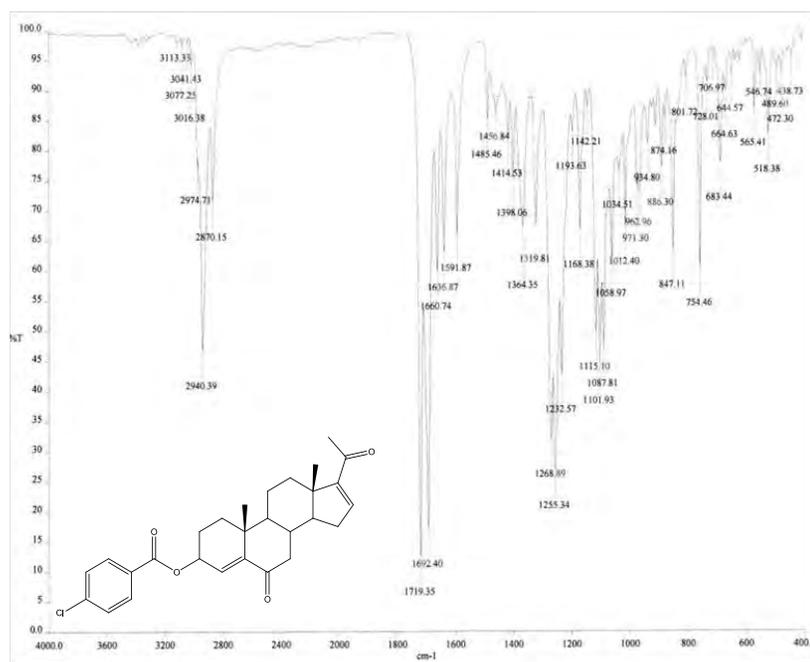


Figura A.67: Espectro de IR de la 3β-(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

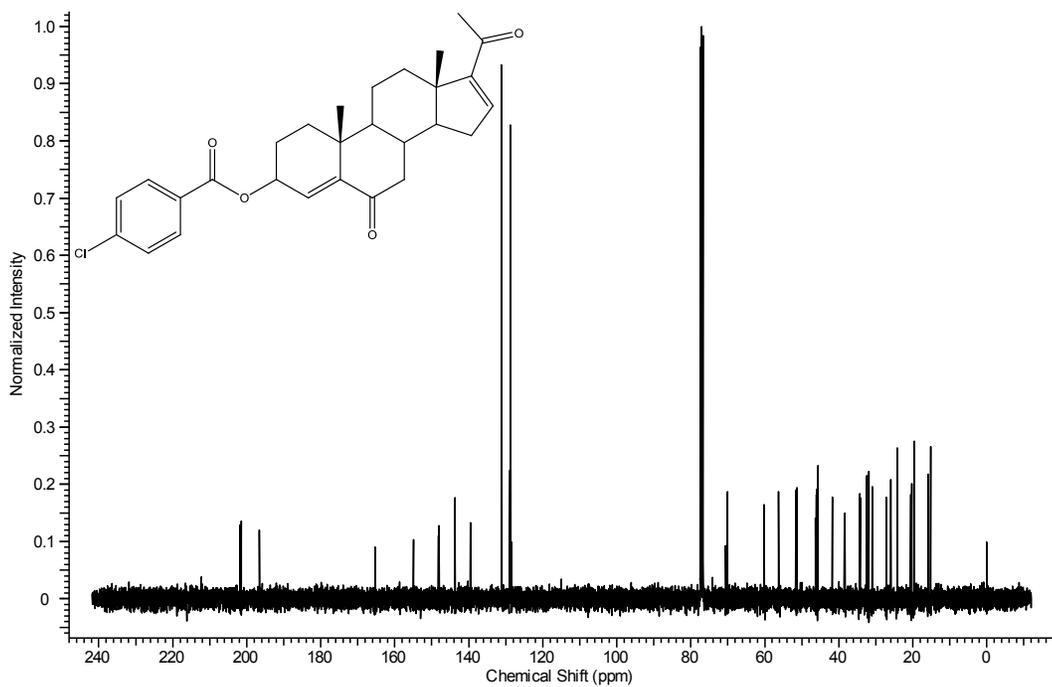


Figura A.68: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

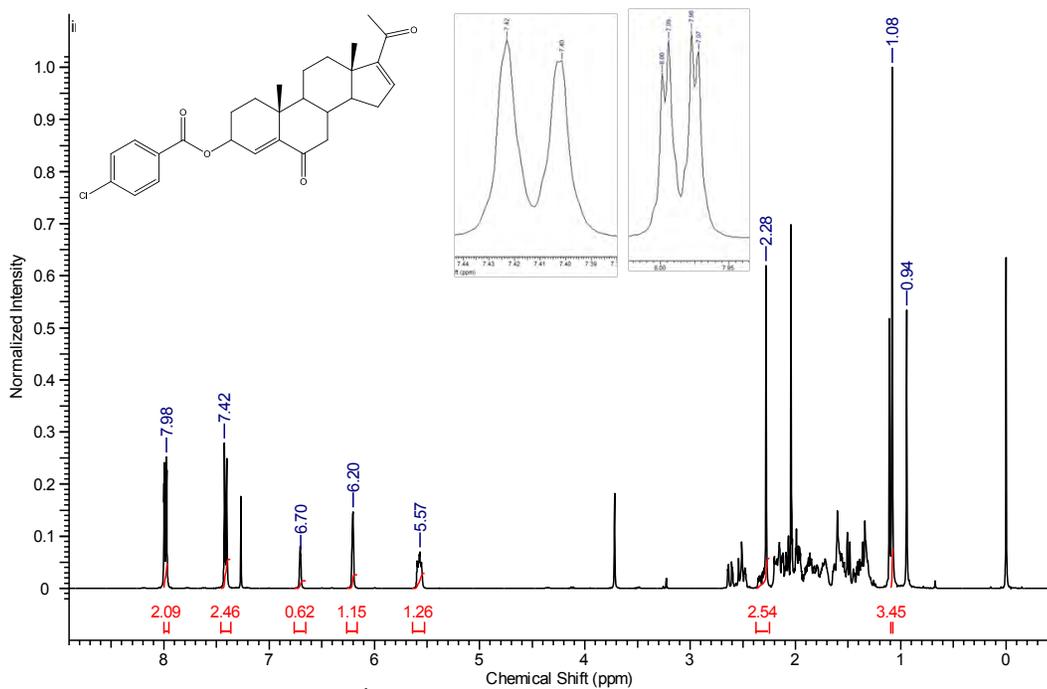


Figura A.69: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

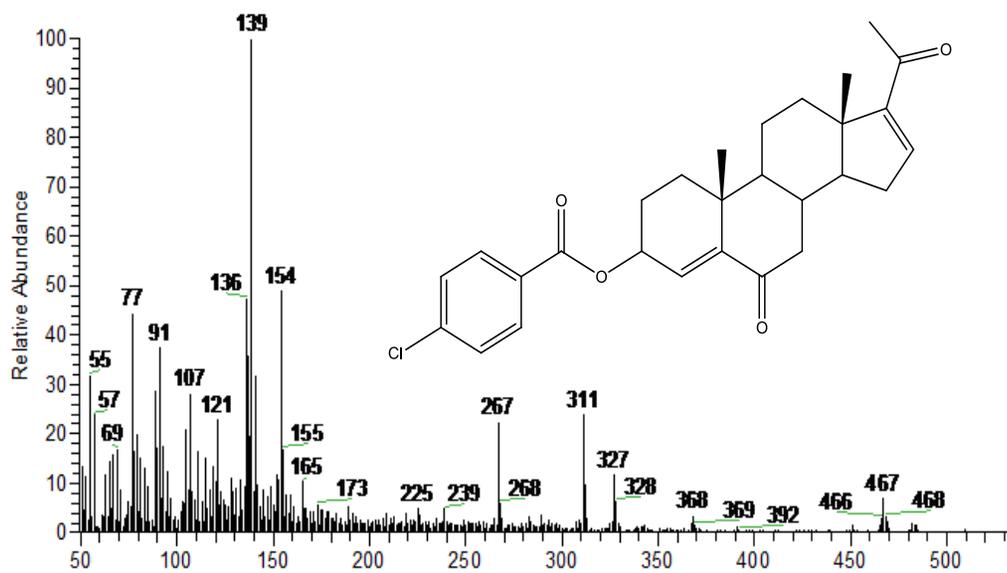
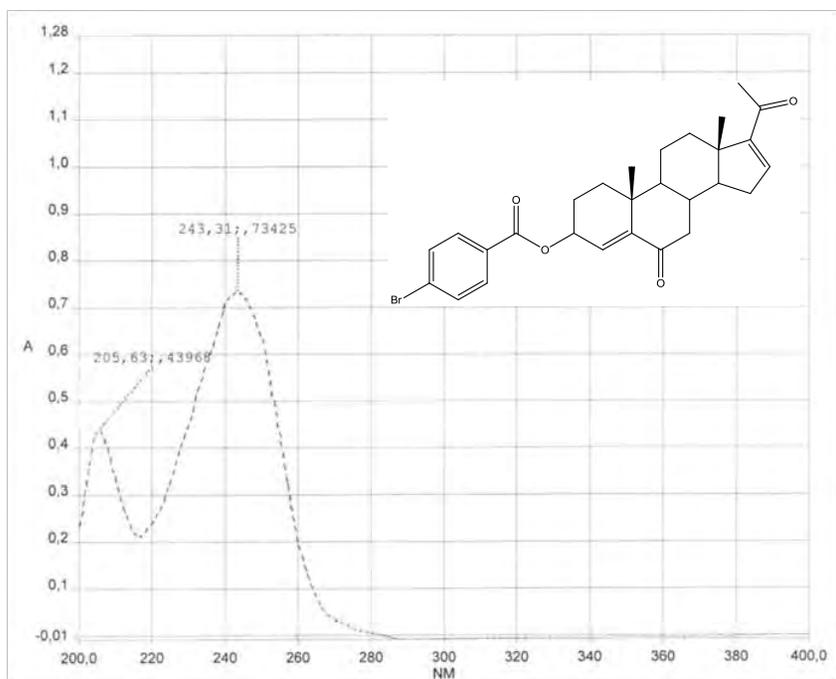
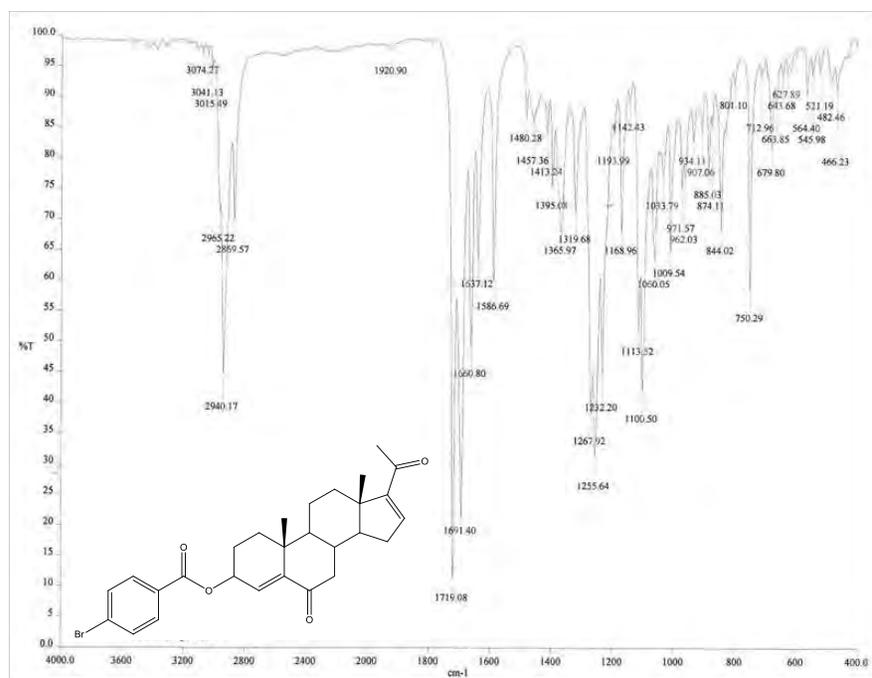


Figura A.70: Espectro de masas de la 3β-(*p*-cloro)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (14)

A.15 Espectros de la 3 β -(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)**Figura A.71:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)**Figura A.72:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

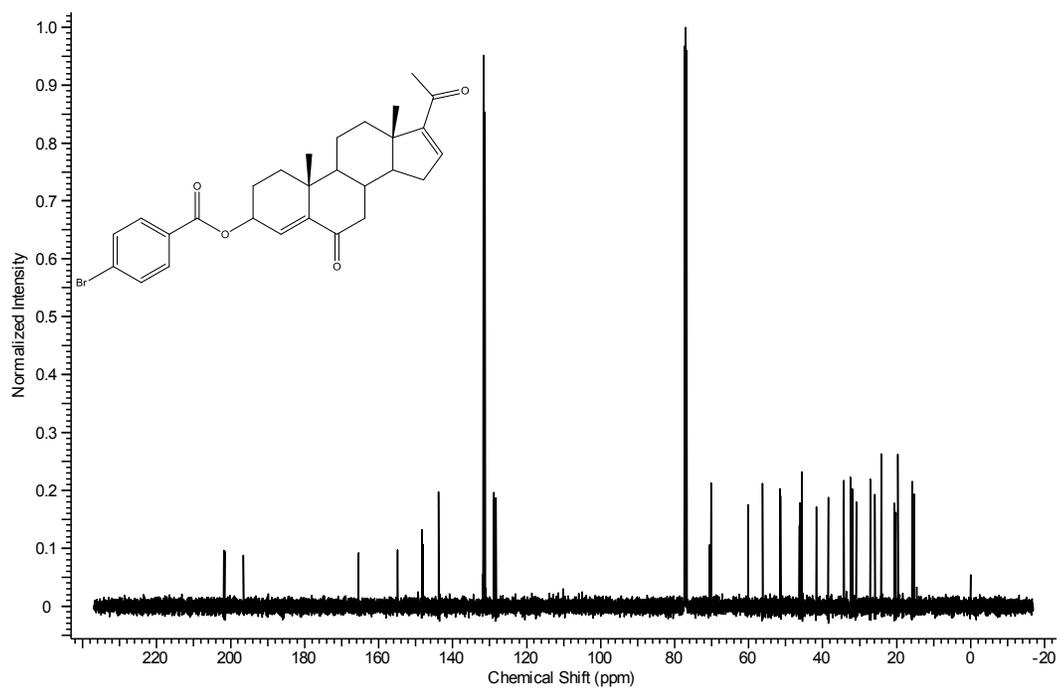


Figura A.73: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3β-(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

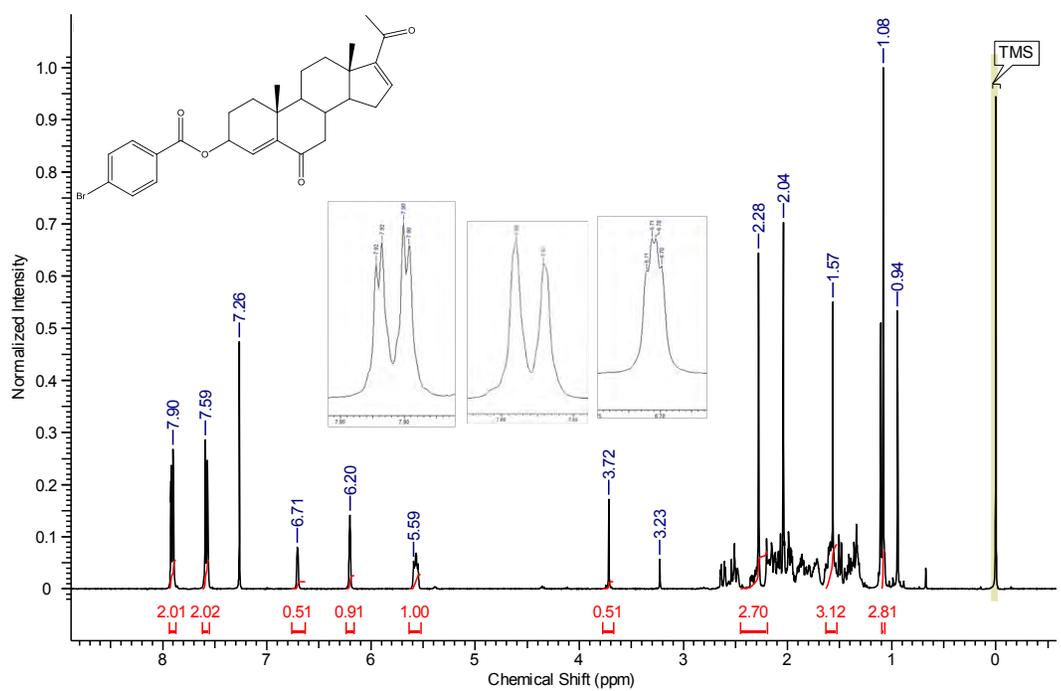


Figura A.74: Espectro de RMN- ^1H de la 3β-(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

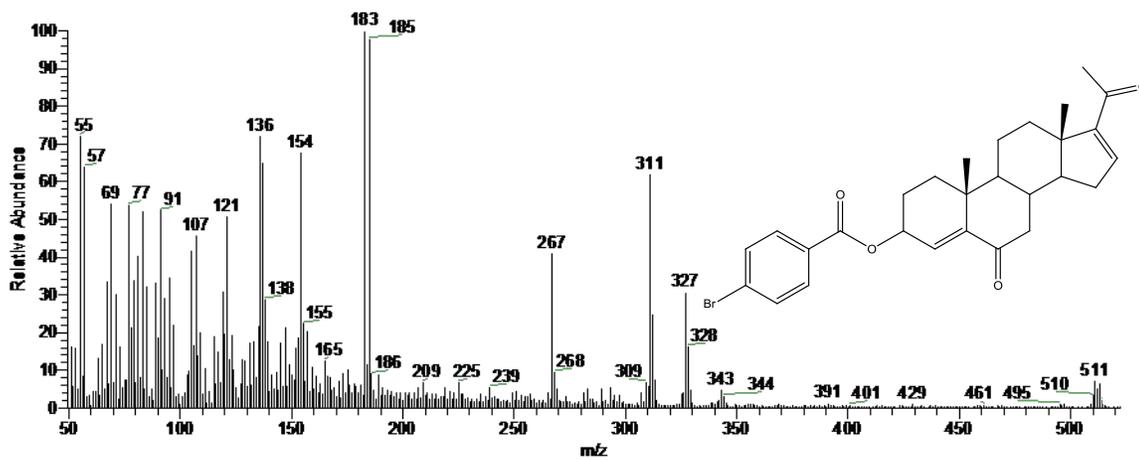


Figura A.75: Espectro de masas de la 3β-(*p*-bromo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (15)

A.16 Espectros de la 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

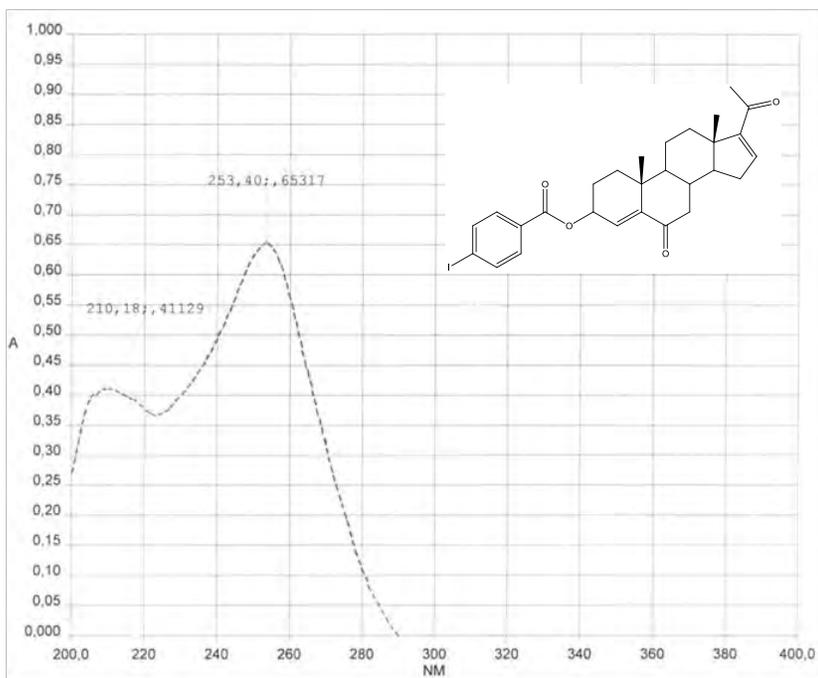


Figura A.76: Espectro de UV de la 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

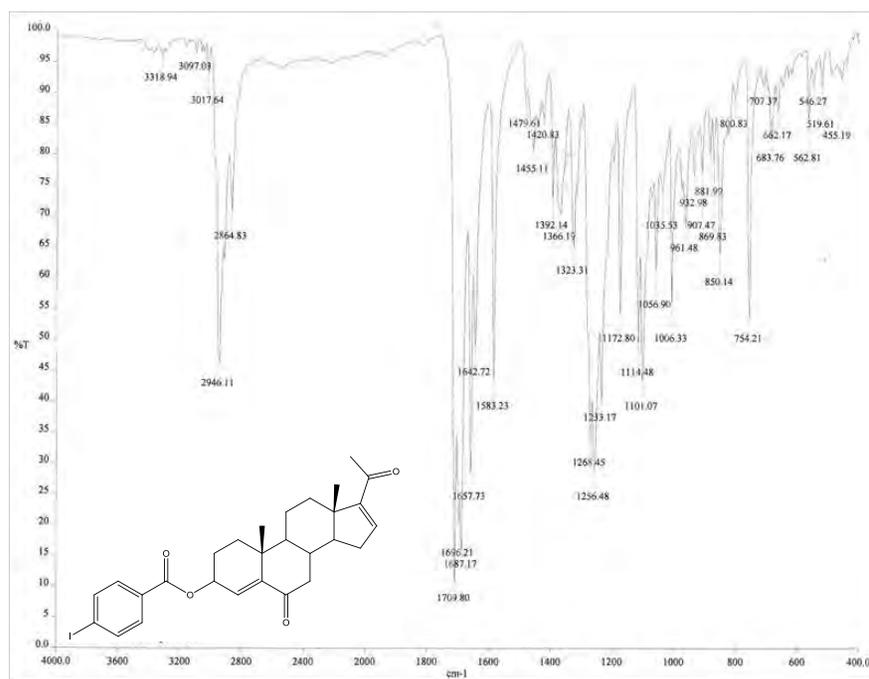


Figura A.77: Espectro de IR de la 3β-(*p*-yodo)benzoiroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

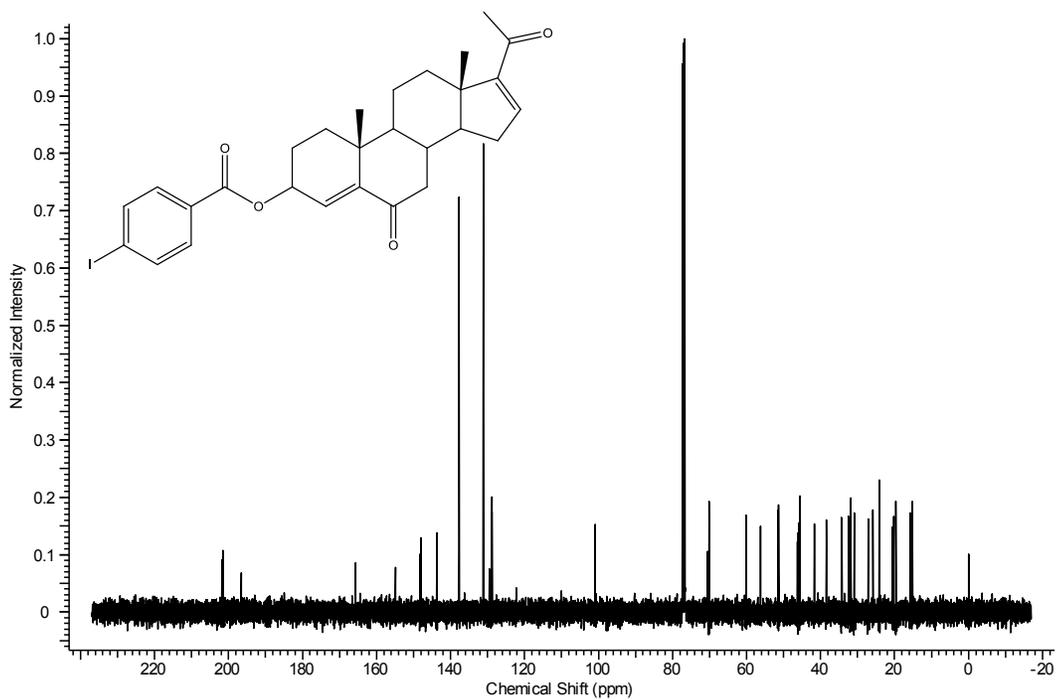


Figura A.78: Espectro de RMN ¹³C de la 3β-(*p*-yodo)benzoiroxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

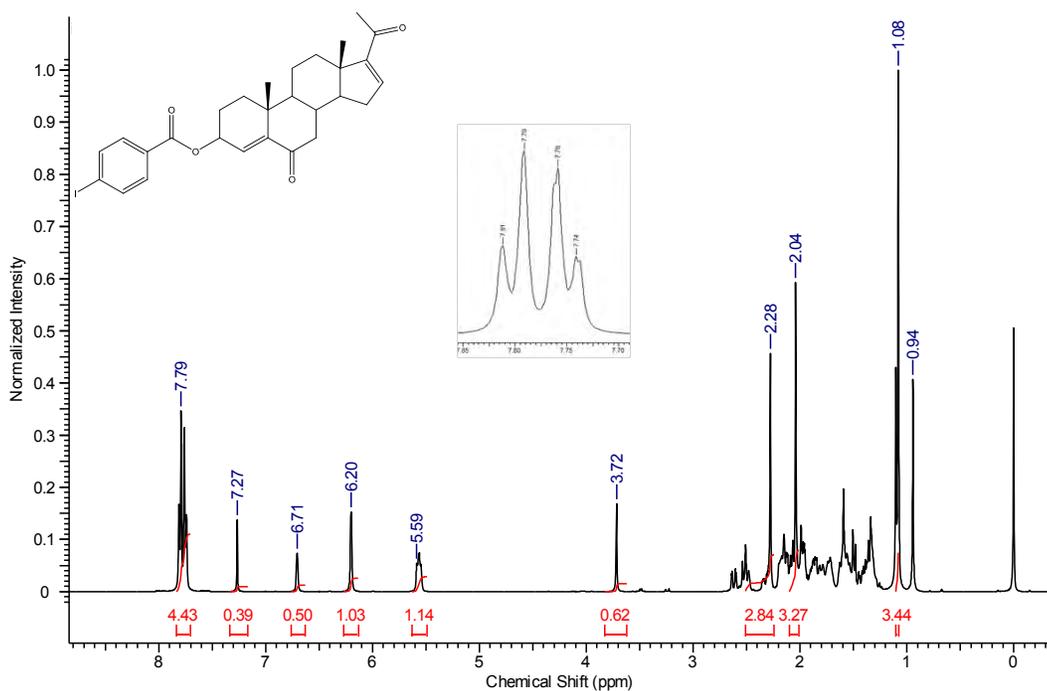


Figura A.79: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

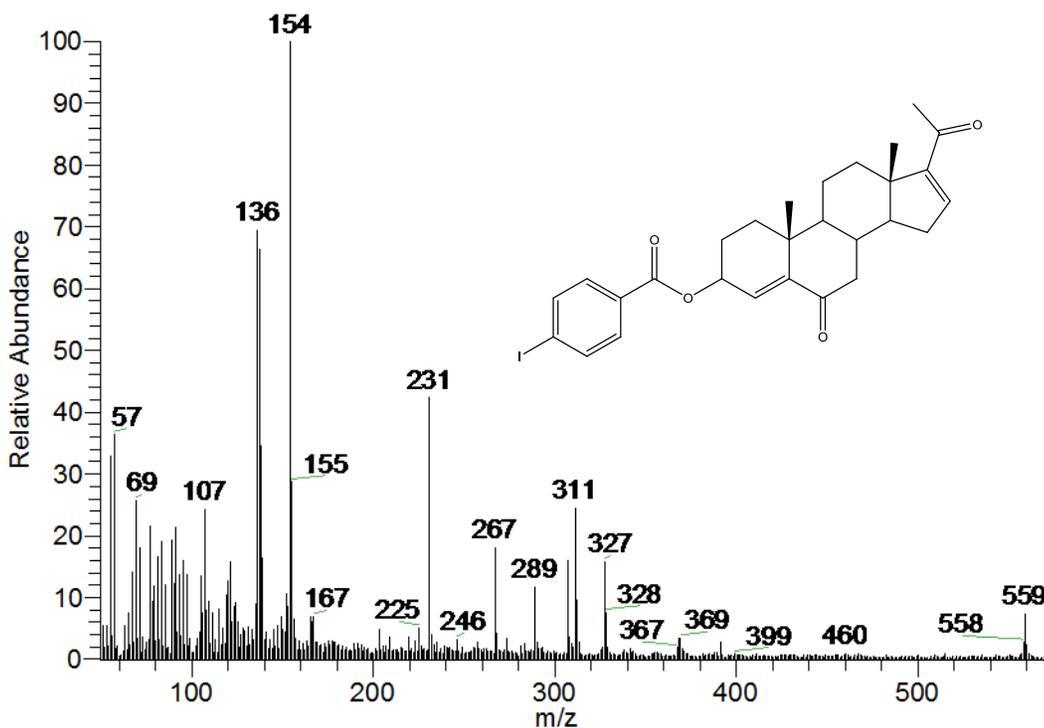
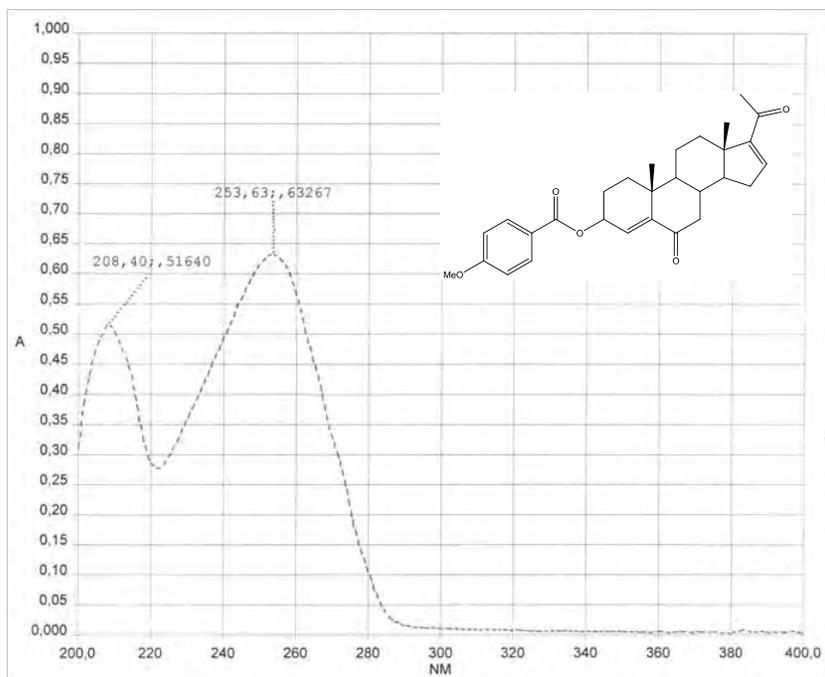
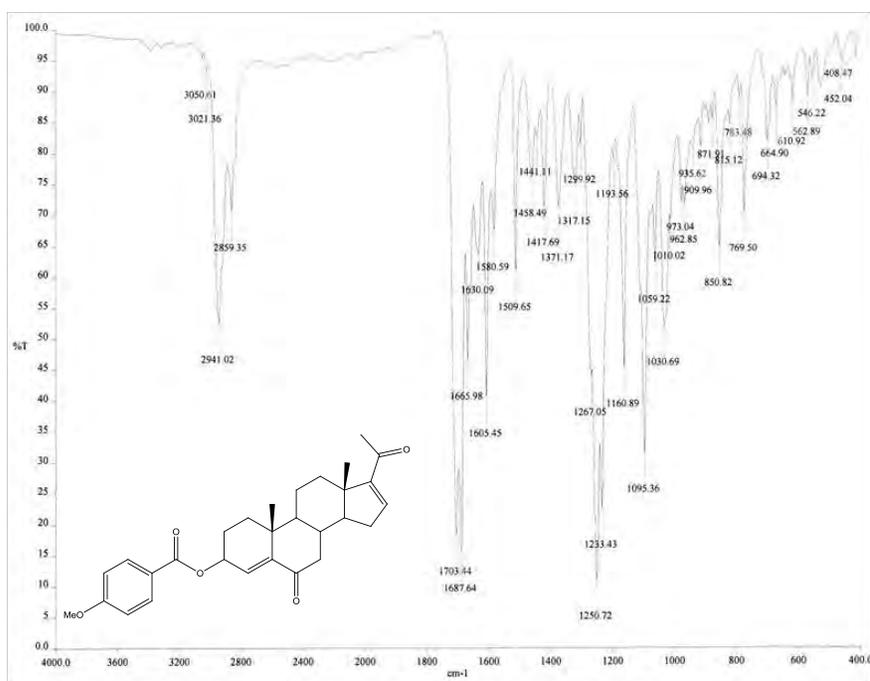


Figura A.80: Espectro de masas de la 3β-(*p*-yodo)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (16)

A.17 Espectros de la 3 β -(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)**Figura A.81:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)**Figura A.82:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

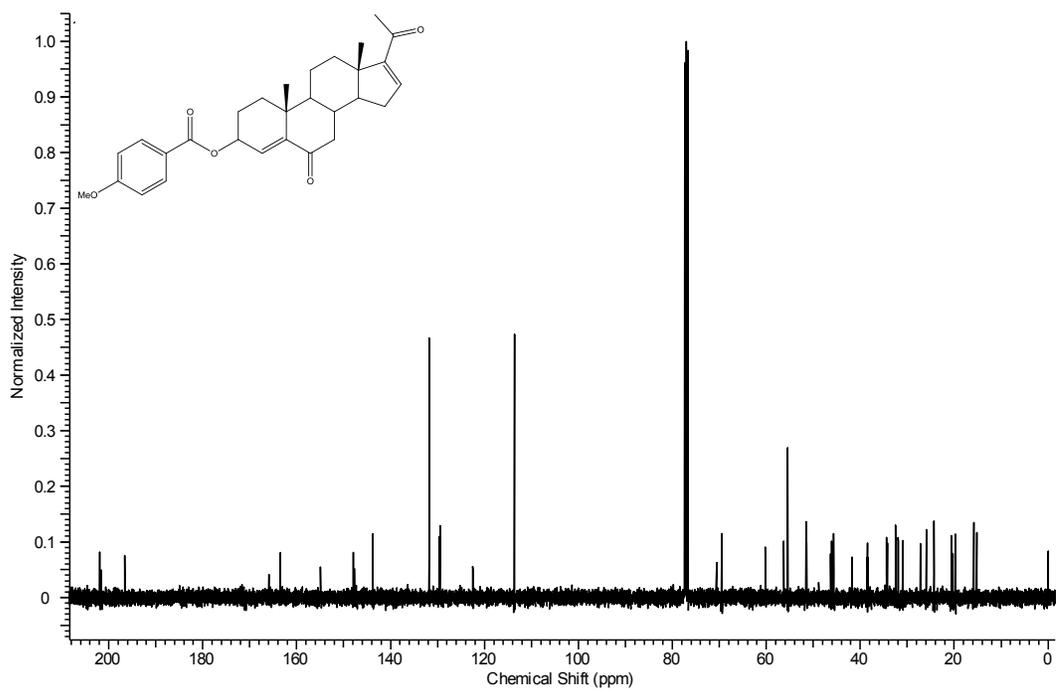


Figura A.83: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3β-(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

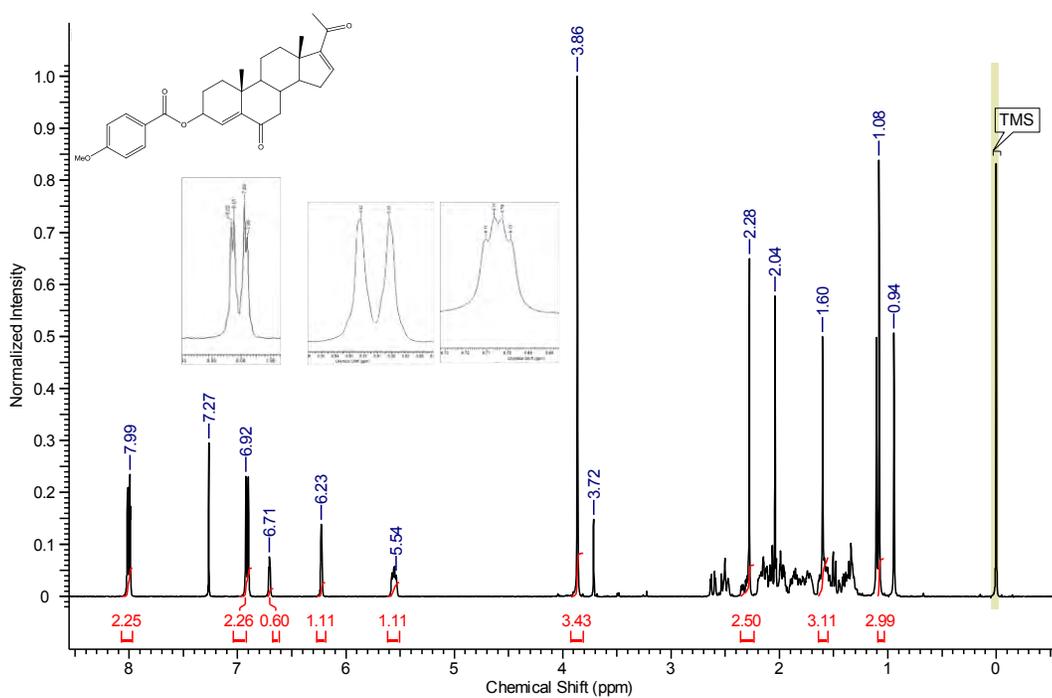


Figura A.84: Espectro de RMN- ^1H de la 3β-(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

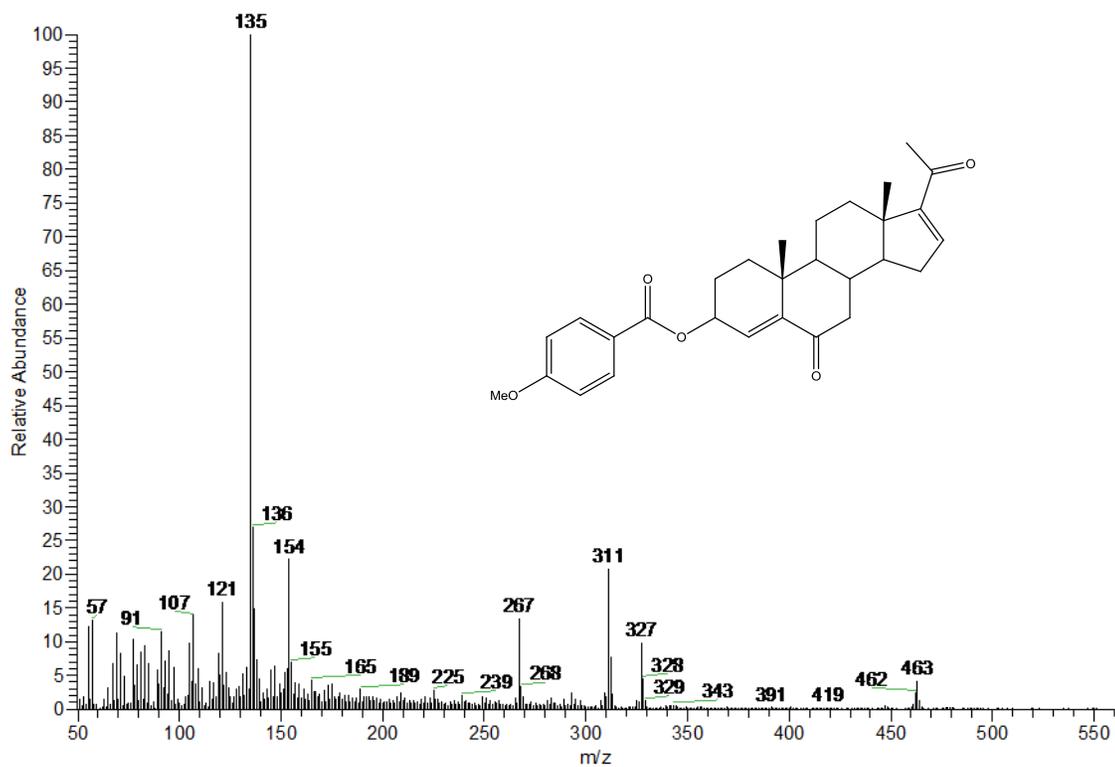


Figura A.85: Espectro de masas de la 3β-(*p*-metoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (17)

A.18 Espectros de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)

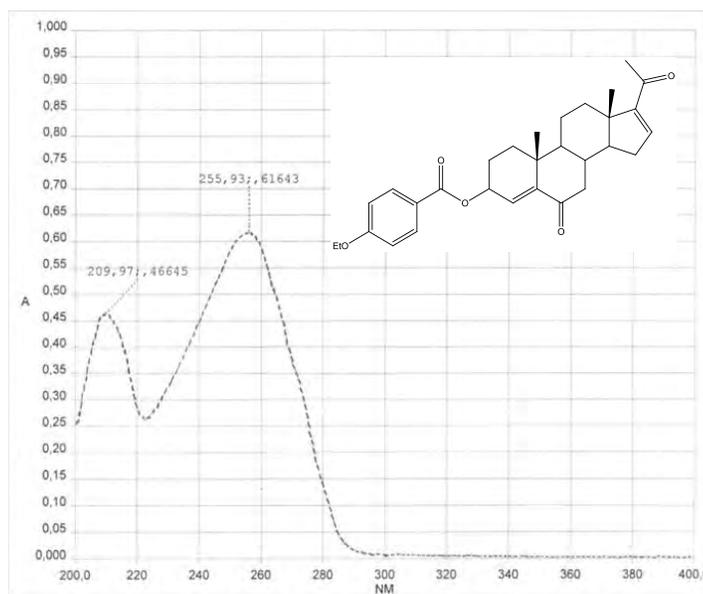


Figura A.86: Espectro de UV de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (18)

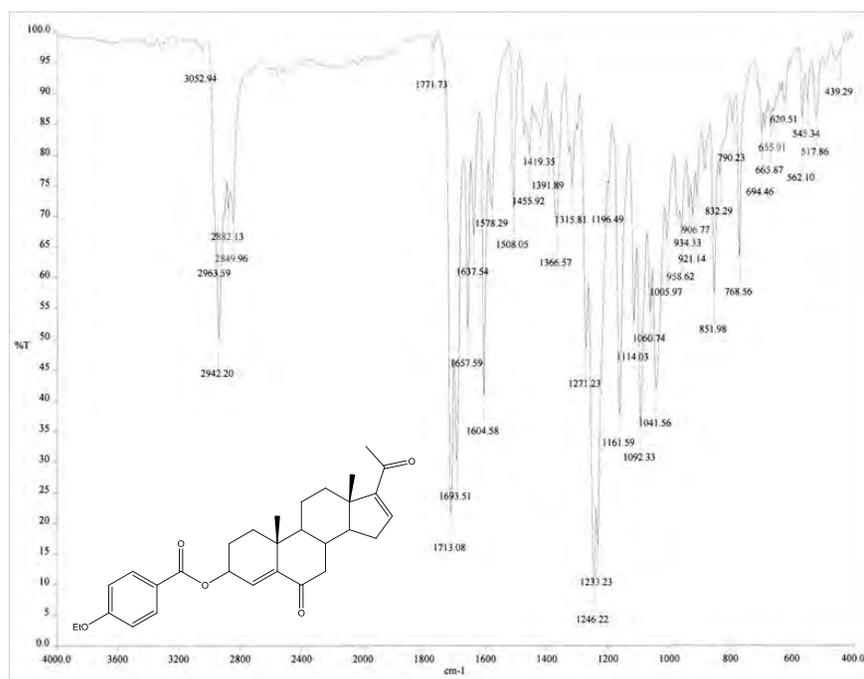


Figura A.87: Espectro de IR de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**18**)

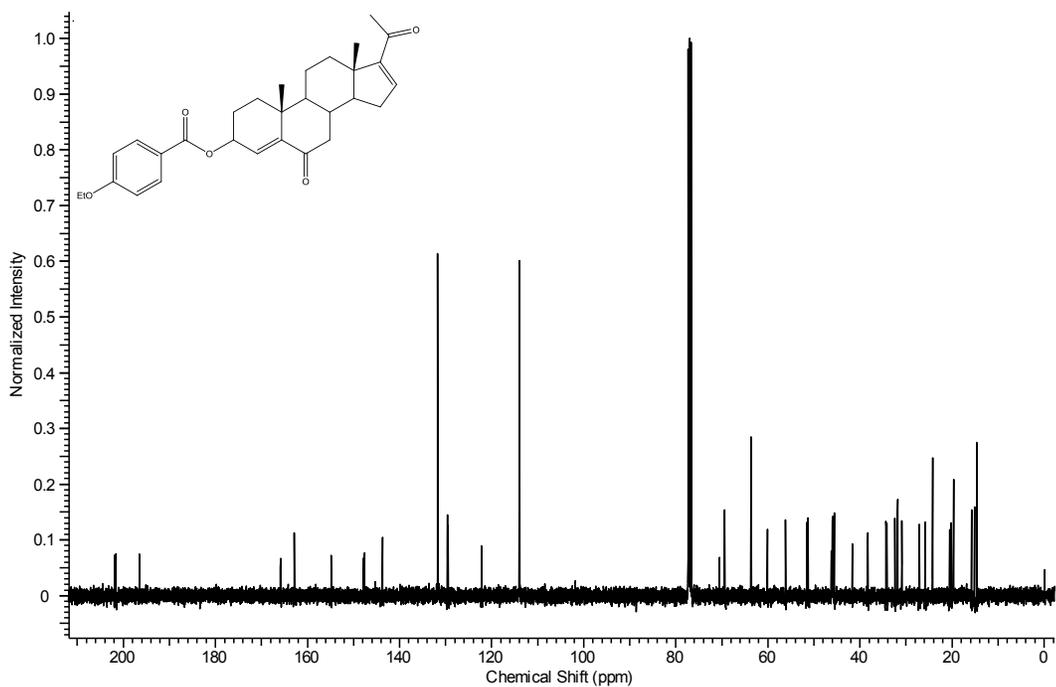


Figura A.88: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**18**)

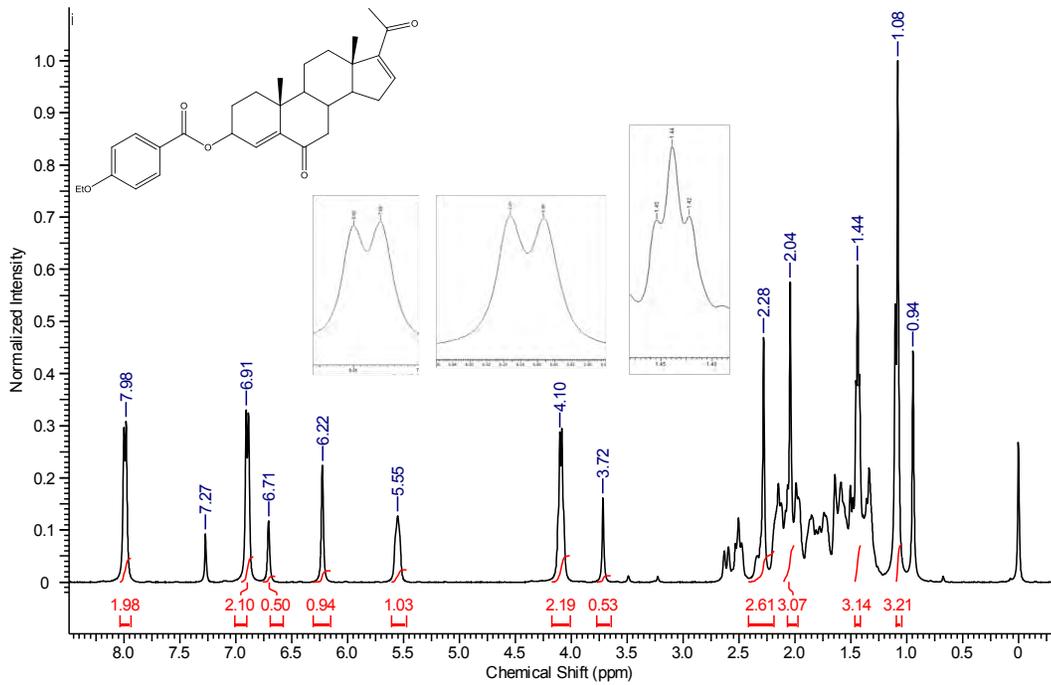


Figura A.89: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**18**)

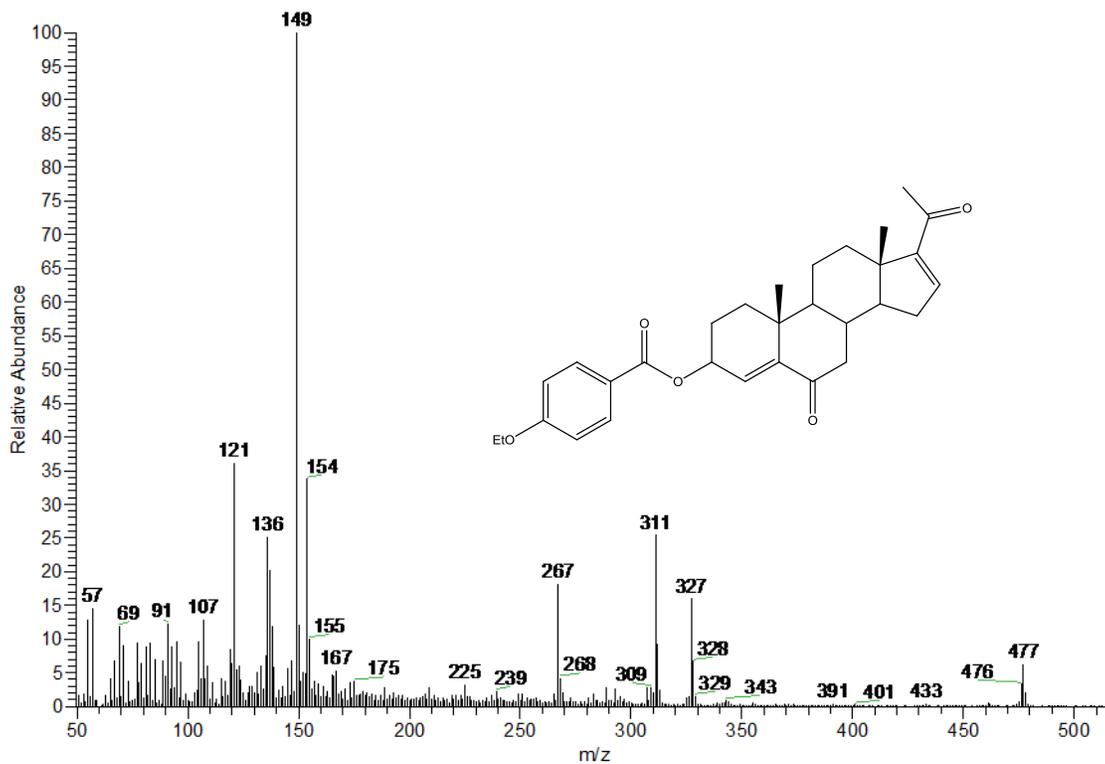
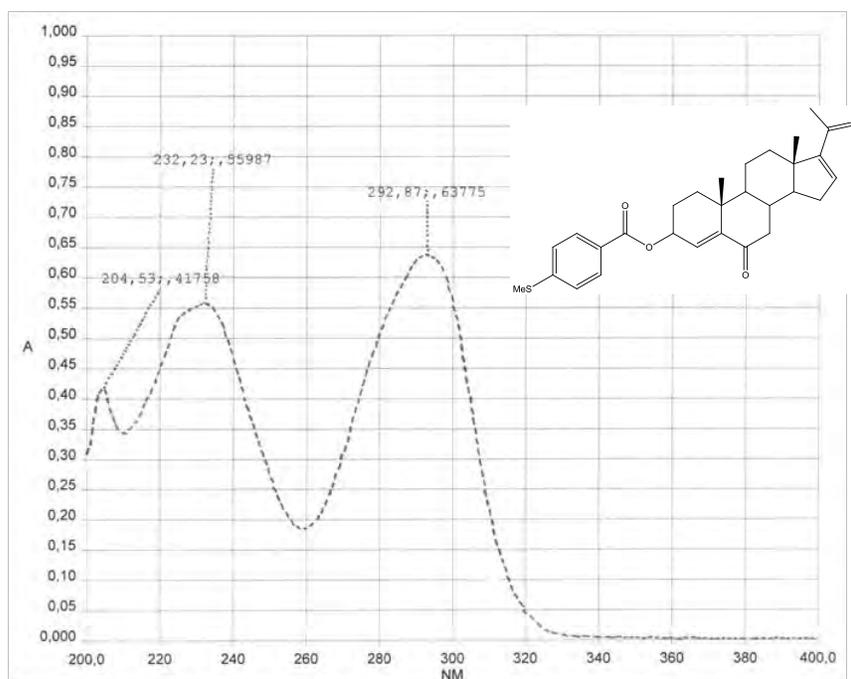
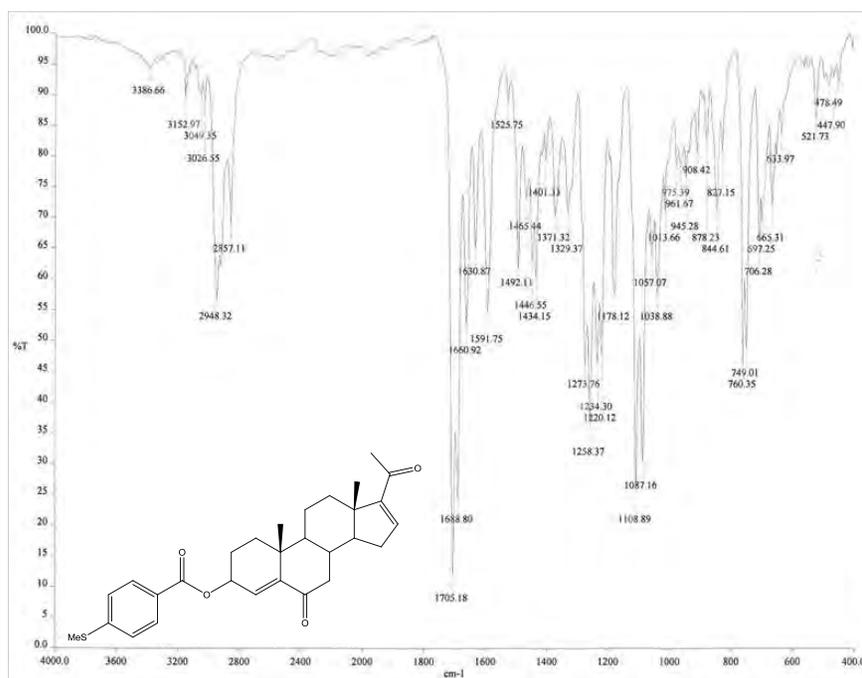


Figura A.90: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-etoxi)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**18**)

A.19 Espectros de la 3 β -(*p*-metilitio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)**Figura A.91:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-metilitio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)**Figura A.92:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-metilitio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)

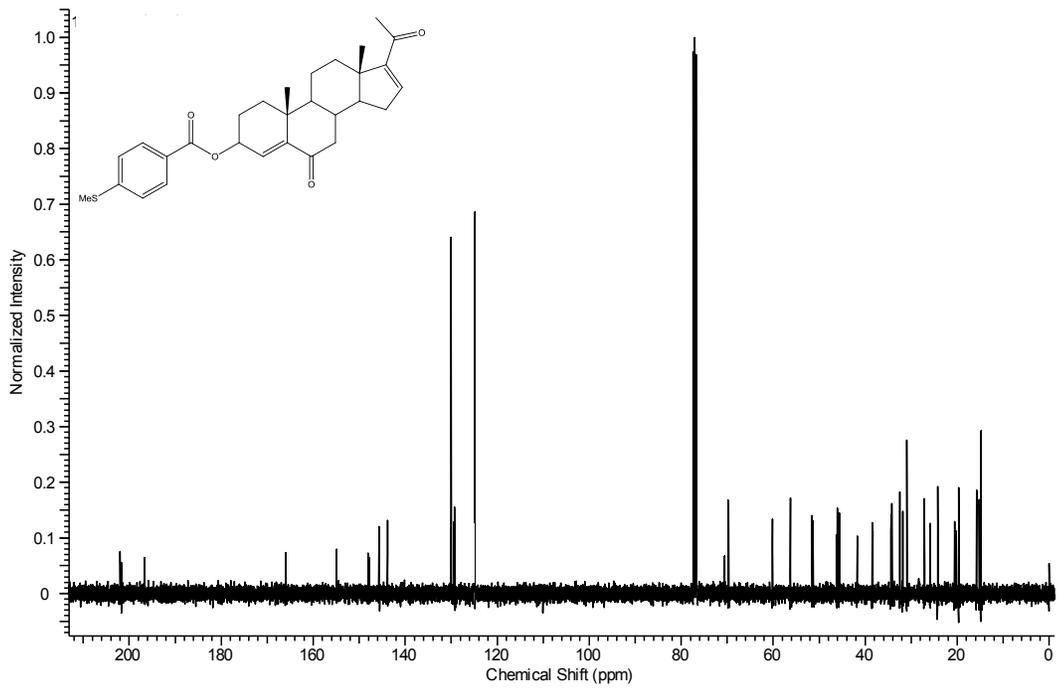


Figura A.93: Espectro de RMN- ^{13}C de la 3β -(*p*-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**19**)

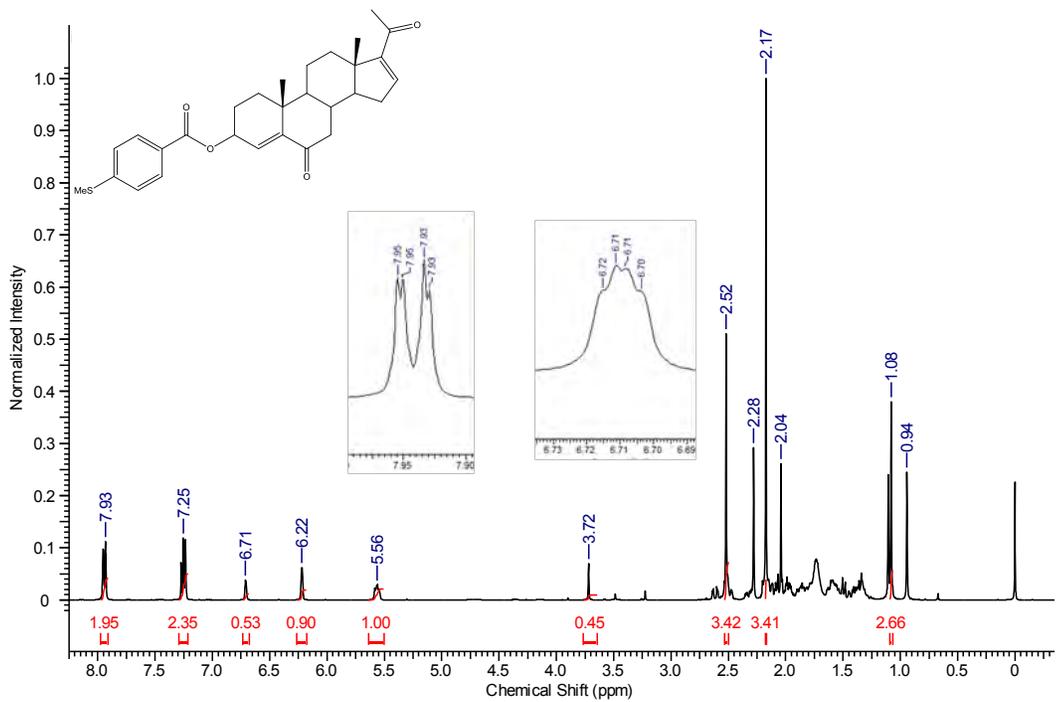


Figura A.94: Espectro de RMN- ^1H de la 3β -(*p*-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**19**)

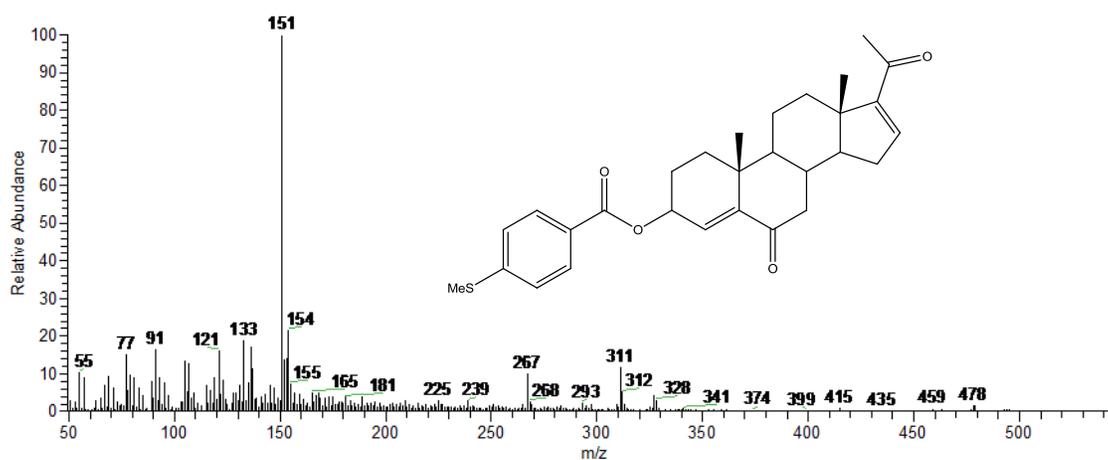


Figura A.95: Espectro de masas de la 3β-(*p*-metiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (19)

A.20 Espectros de la 3β-(*p*-etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

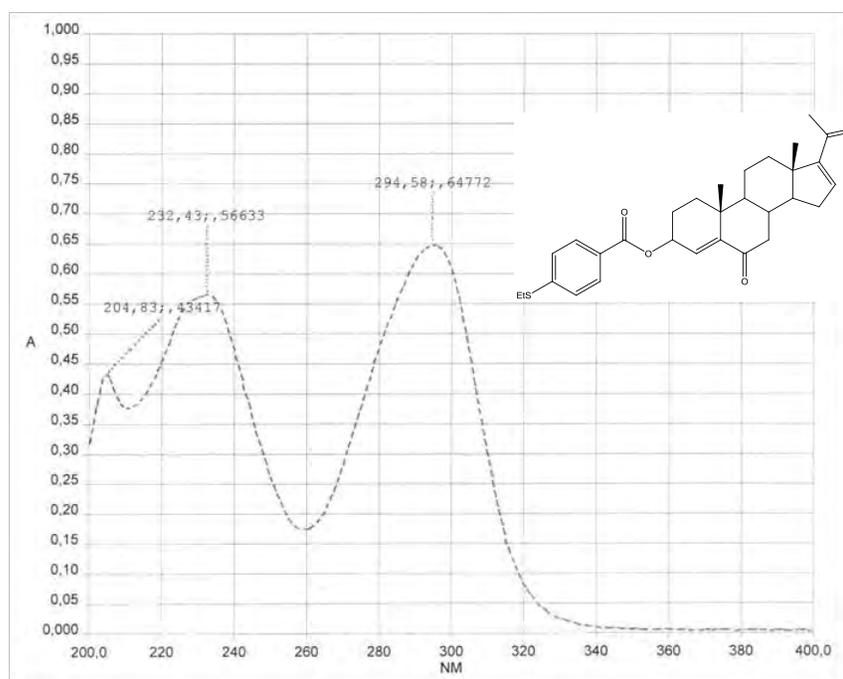


Figura A.96: Espectro de UV de la 3β-(*p*-etiltio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

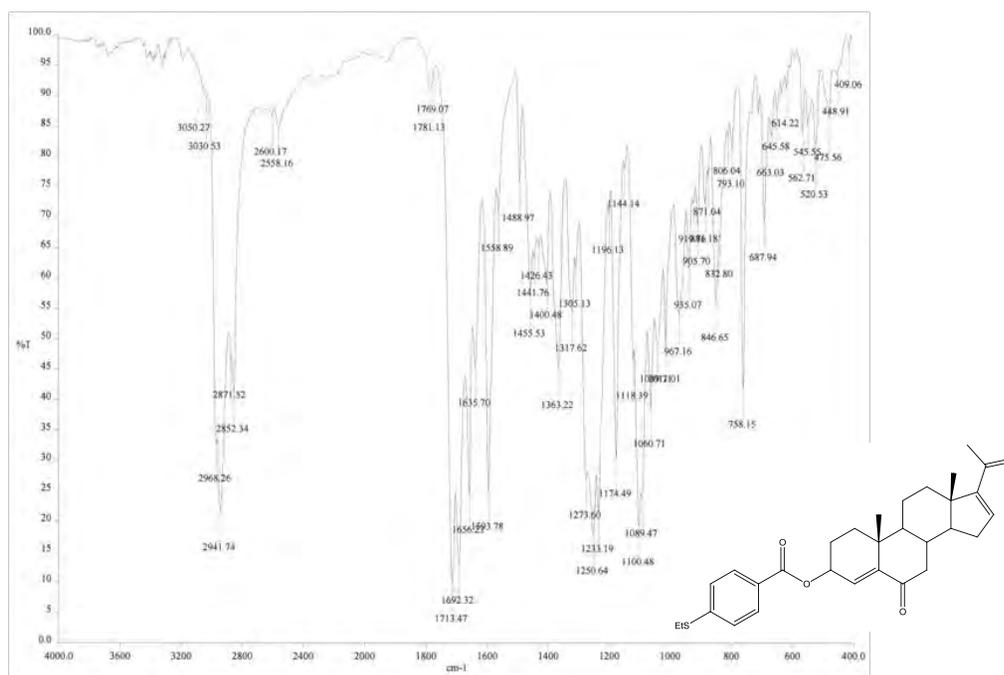


Figura A.97: Espectro de IR de la 3β-(*p*-etiltio)benzoyloxyprogna-4,16-dien-6,20-diona (20)

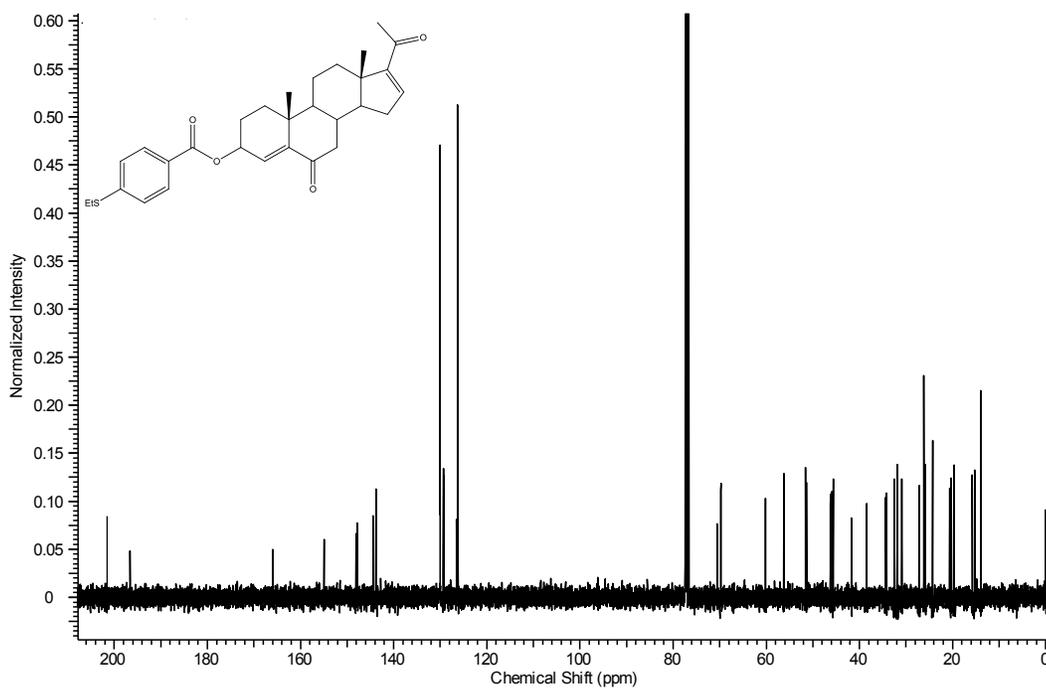


Figura A.98: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-etiltio)benzoyloxyprogna-4,16-dien-6,20-diona (20)

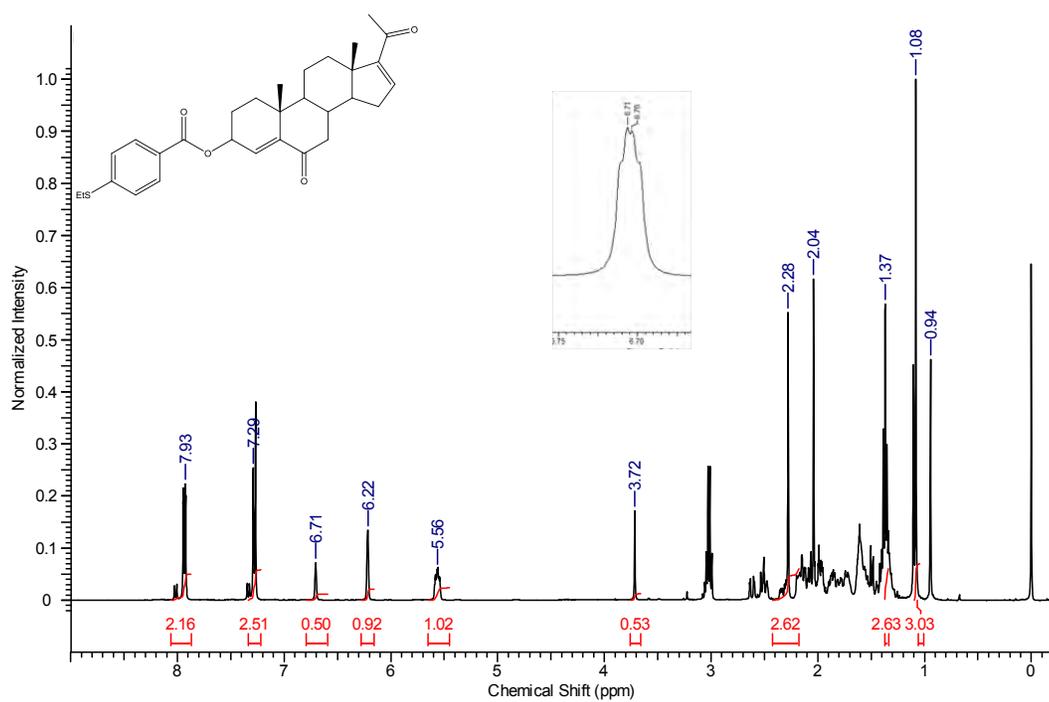


Figura A.99: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-etilitio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

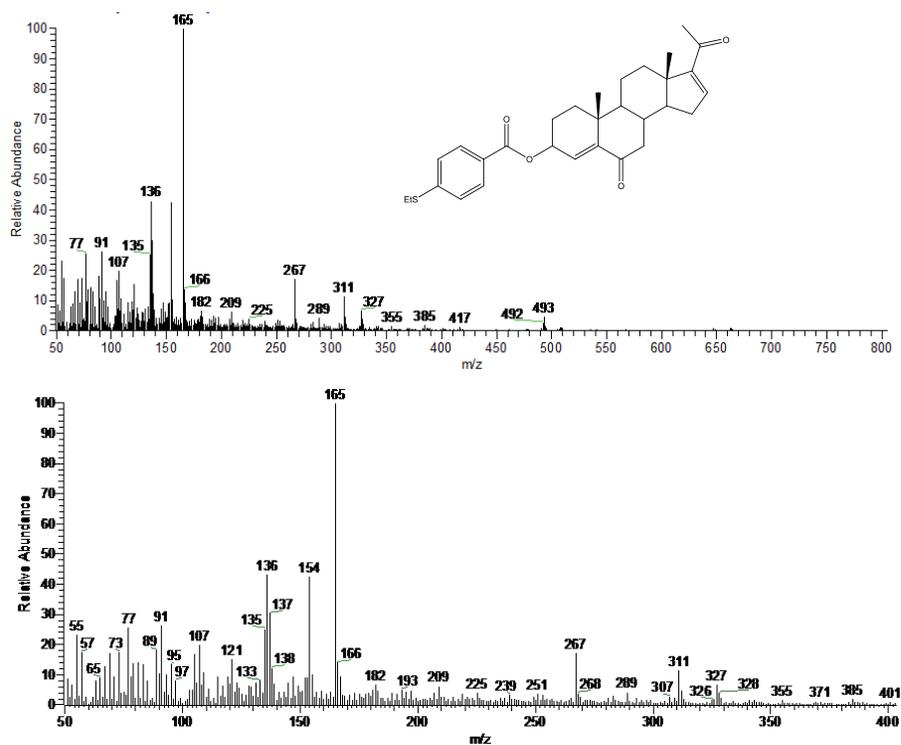
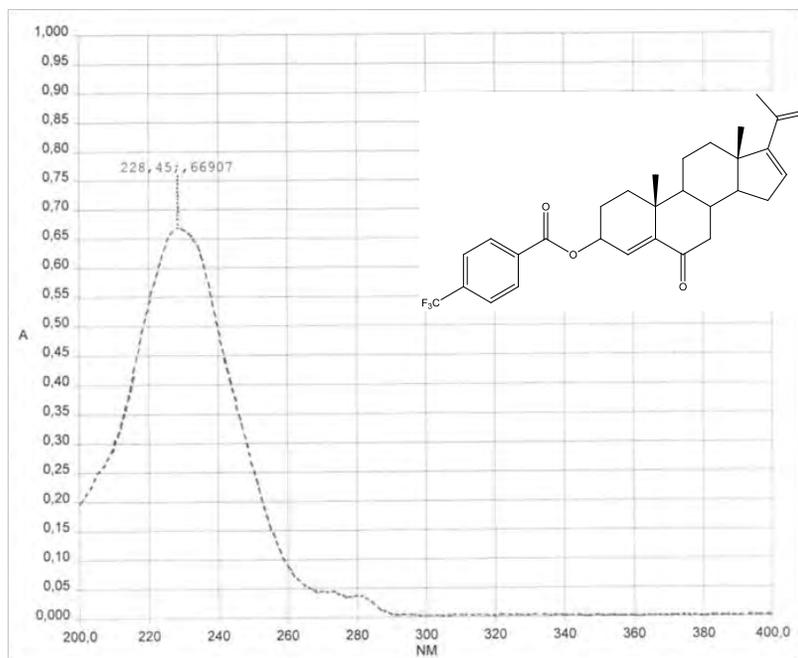
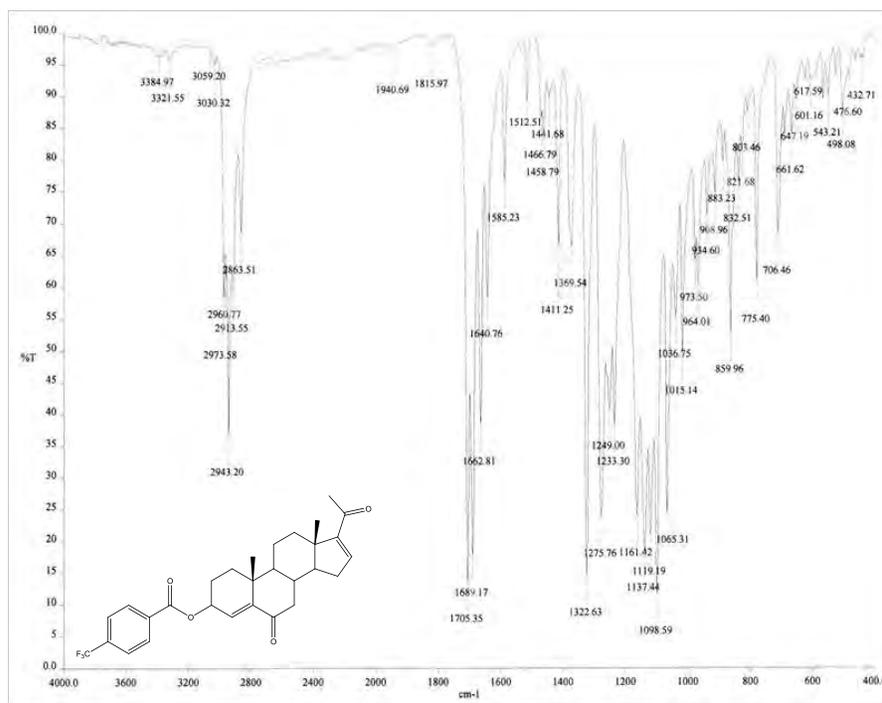


Figura A.100: Espectro de masas de la 3β-(*p*-etilitio)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (20)

A.21 Espectros de la 3 β -(*p*-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)**Figura A.101:** Espectro de UV de la 3 β -(*p*-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)**Figura A.102:** Espectro de IR de la 3 β -(*p*-trifluorotoluil)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)

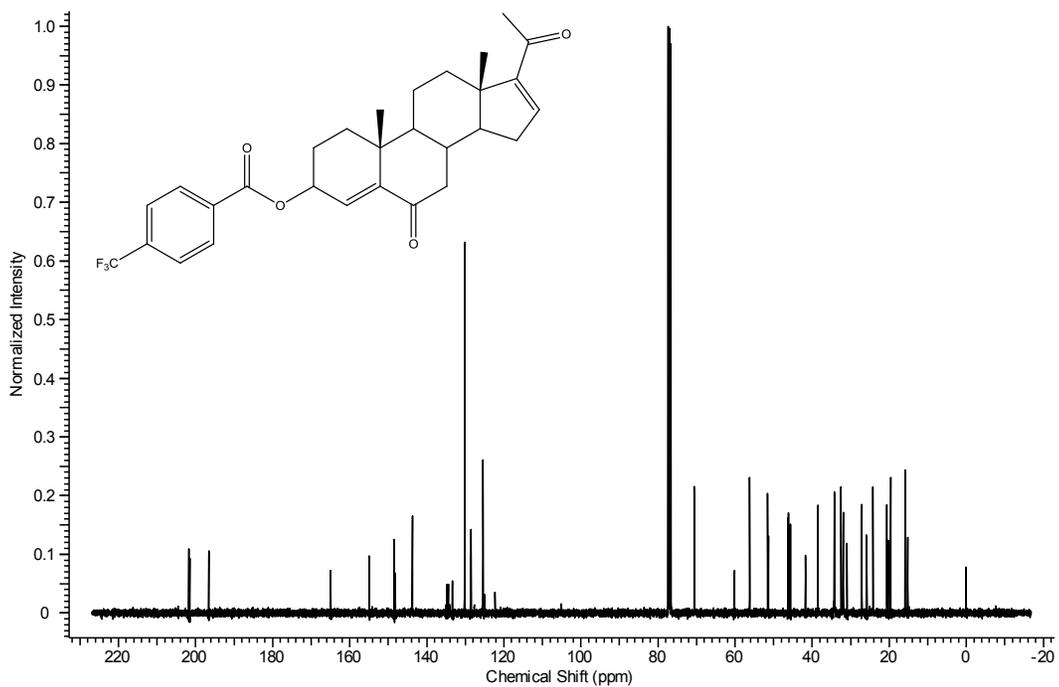


Figura A.103: Espectro de RMN-¹³C de la 3β-(*p*-trifluorotoluid)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**21**)

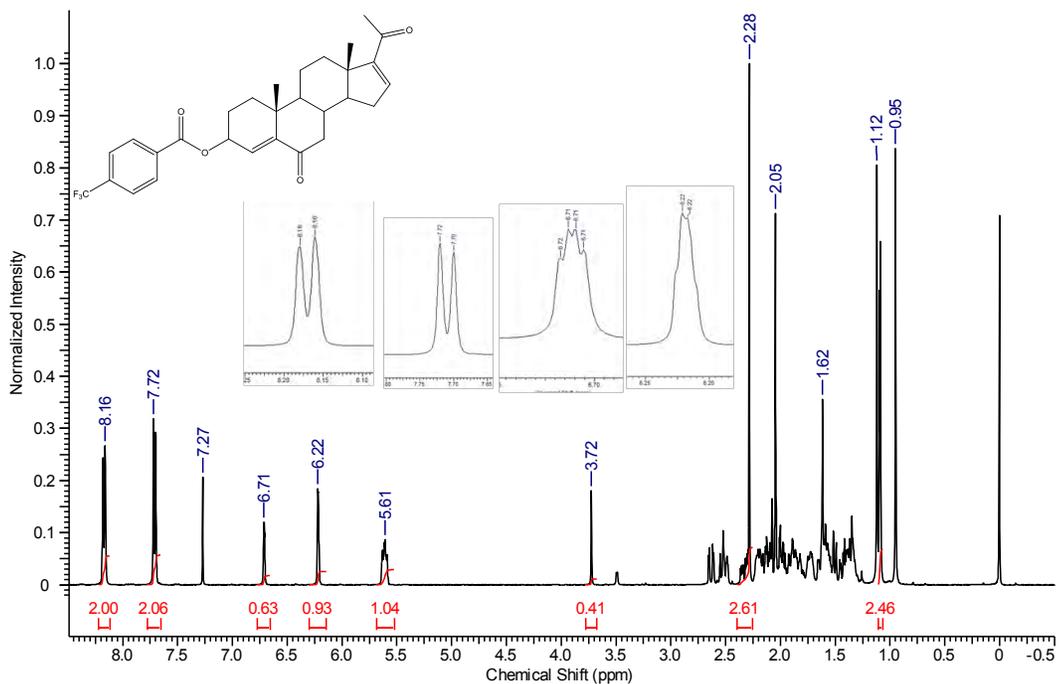


Figura A.104: Espectro de RMN-¹H de la 3β-(*p*-trifluorotoluid)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (**21**)

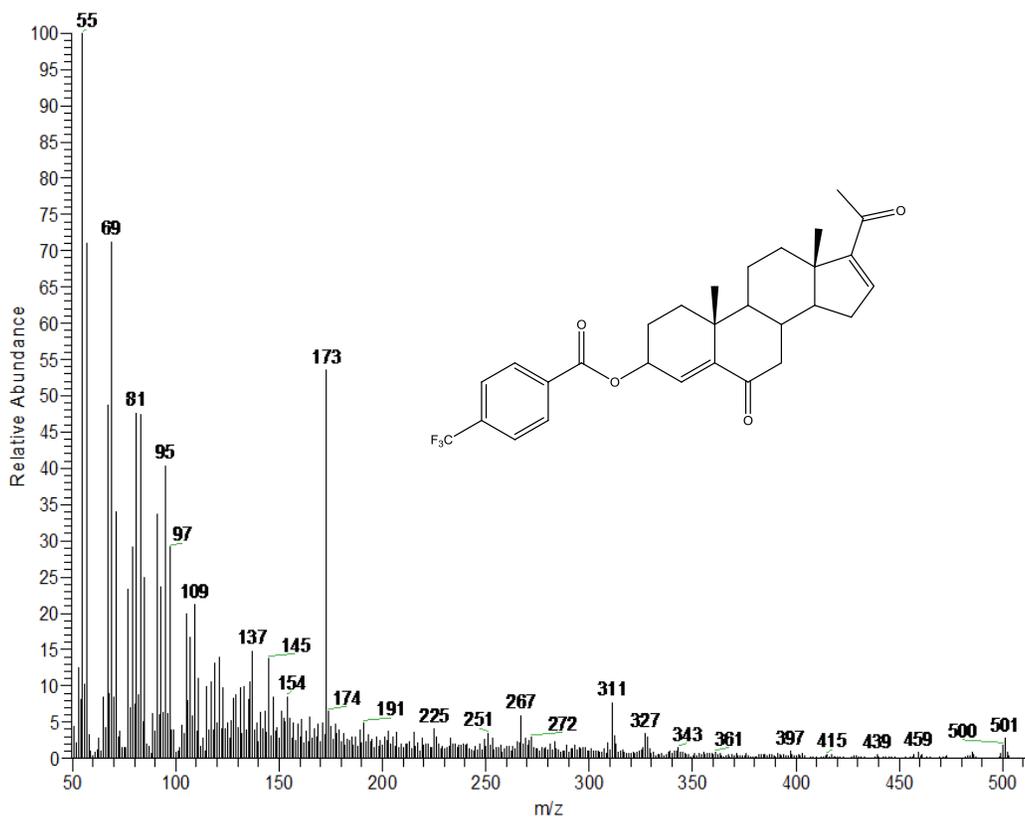


Figura A.105: Espectro de masas de la 3β-(*p*-trifluorotoluid)benzoiloxipregna-4,16-dien-6,20-diona (21)