



**Benemérita Universidad Autónoma de
Puebla**

**Facultad de Ciencias Químicas
Maestría en Ciencias Químicas**

**Síntesis y evaluación *in silico* de
compuestos esteroidales 1,2,3-triazol
1,4 disustituidos como potenciales
agentes bioactivos**

**Tesis para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Químicas**

Presenta

Q. F. B. Elvia Estrella Cabrera Castro

Director de tesis: Dra. Penelope Merino Montiel

Co-director: Dr. Victor Gómez Calvario

Junio 2024



El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. Penelope Merino Montiel, con el apoyo otorgado por CONAHCyT.

Los resultados obtenidos fueron presentados en:

- XXVII Simposio Interno del Posgrado, Puebla, Noviembre, 2022.
- Presentación de carteles “La niña y la mujer en la ciencia”, Puebla, Febrero, 2023.
- XVIII Reunión de la Academia de Química Orgánica, Nuevo León, Octubre, 2023.
- XXVIII Simposio Interno del Posgrado, Puebla, Noviembre, 2023.

Agradecimientos

- Dra. Sara Montiel Smith, Dr. José Luis Vega Báez, Dr. Oscar López López y Dra. Mónica Martínez Montiel

Como parte del comité revisor por el apoyo y las observaciones realizadas en este trabajo.

- Dra. Sara Montiel Smith, Dr. José Luis Vega Báez

Parte del laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales por el apoyo brindado en el laboratorio.

- Dra. Penélope Merino Montiel, Dr. Víctor Gómez Calvario

Agradezco por la dirección del trabajo realizado durante mi estancia en la maestría, por los consejos, el apoyo brindado y la oportunidad de trabajar juntos.

- A mi familia por ser pacientes y apoyarme incondicionalmente, por entender que tenemos caminos diferentes pero que al final siempre queremos lo mismo: mejorar constantemente. A mis papás, por darme oportunidad y la libertad de siempre elegir; a mis hermanos por ser mi apoyo, mi soporte y mi motivación.

- A mis amigos, que respetan mi espacio y mis prioridades, pero que aun en la distancia siempre encuentran la manera de estar en los mejores y peores momentos.

- A mis compañeras de laboratorio. Gracias por hacer de un nuevo lugar, un hogar para mí y mis sueños. Por cuidarme y estar para mí cada día. Gracias por su amistad, su tiempo y los aprendizajes conjuntos.

- A todas esas personas con las que coincidí en algún punto de este proceso, profesores, compañeros, nuevos amigos. Creo que al final soy lo que soy por muchas razones, y las personas que han entrado en mi vida forman parte de estas razones.

Dedicatoria

Para Olayo y Sebastián,

De quienes aprendí a luchar por lo que quiero.

Para Ruli: yo sé que durante mi ausencia me extrañaron el bombón, mi cuarto y mis juguetes

Pero yo te extrañé a ti todos los días.

Contenido

Resumen.....	1
Nuevos compuestos.....	3
Abreviaturas.....	4
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. Antecedentes	11
2.1 Triazoles.....	11
2.1.1 Actividad biológica.....	12
2.1.4 Obtención de 1,2,3-triazoles disustituídos a través de reacciones CuAAC	19
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo general	25
3.2 Objetivos específicos	25
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	26
4.1 Síntesis de 1,2,3-triazoles disustituídos en posiciones 1,4	26
4.2 Evaluación <i>in silico</i> de propiedades fisicoquímicas y de actividad biológica.....	38
4.3 <i>Docking</i> molecular.....	47
4.3.1 Aromatasa	47
4.3.2 17 β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (17 β -HSD).....	57
5. CONCLUSIONES.....	63
6. DESARROLLO EXPERIMENTAL	65
6.1 Métodos generales	65
6.2 Métodos de síntesis, propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos obtenidos	65
6.3 Determinación de probable actividad biológica y de propiedades fisicoquímicas	77
6.4 Determinación de probable actividad biológica y de propiedades fisicoquímicas	78

Resumen

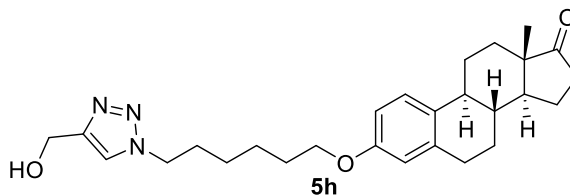
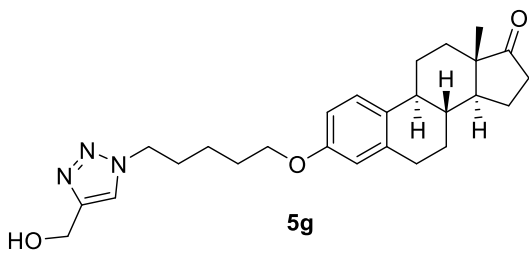
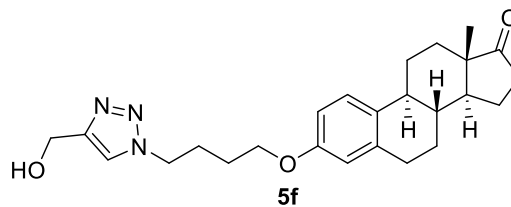
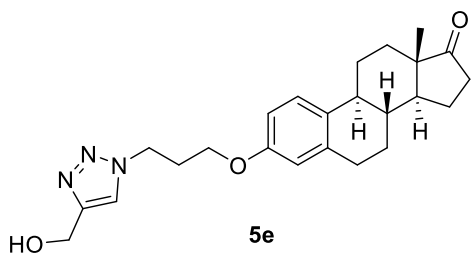
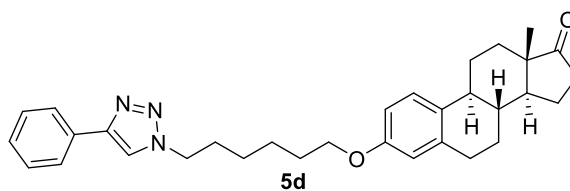
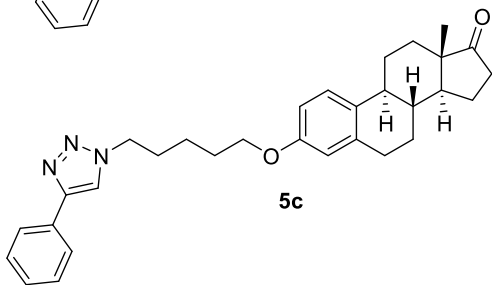
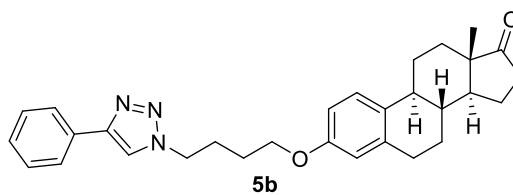
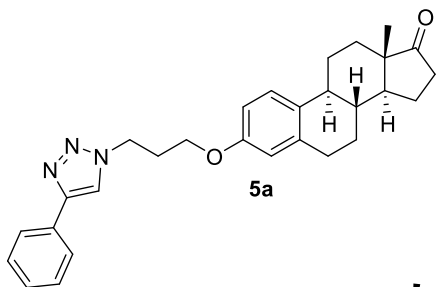
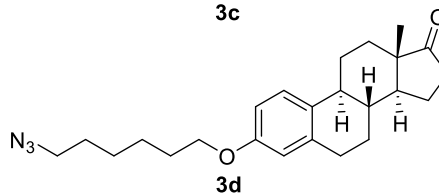
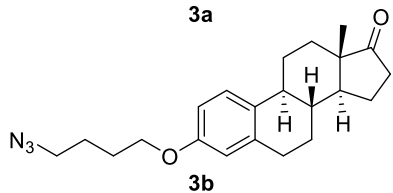
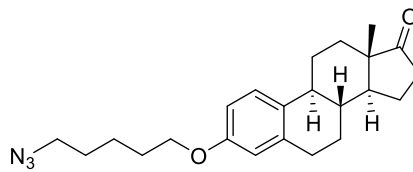
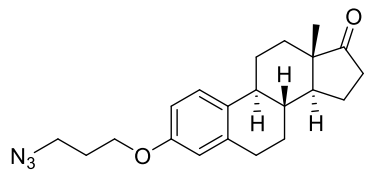
Las reacciones de cicloadición alquino-azida catalizadas por cobre (CuAAC) constituyen una estrategia sintética efectiva para la obtención de compuestos 1,2,3-triazol 1,4 disustituidos. En la síntesis a partir de compuestos de origen natural, los esteroides se consideran plataformas estructurales importantes, ya que sus estructuras admiten una gran posibilidad de modificaciones. Incorporar grupos funcionales reconocidos por su actividad biológica constituye una aproximación efectiva para la obtención de nuevos compuestos esteroidales. Por lo tanto, se planteó la modificación estructural de la estrona en dos pasos para obtener un derivado azido-alquilado que permita la introducción del grupo heterocíclico triazol.

En este trabajo se describe la obtención de una serie de ocho compuestos 1,2,3-triazol 1,4 disustituidos de origen esteroideal (derivados de la estrona) que fueron diseñados y sintetizados utilizando una reacción alquino-azida catalizada por cobre (CuAAC). Partiendo de la estrona, se obtuvieron las azidas correspondientes para hacerlas reaccionar con dos alquinos terminales (alcohol propargílico y fenilacetileno). Todos los compuestos obtenidos se caracterizaron a través de Resonancia Magnética Nuclear, mostrando las señales características de las transformaciones químicas llevadas a cabo. Concluyendo que esta aproximación sintética es efectiva para la obtención de compuestos 1,2,3-triazol disustituidos en posiciones 1,4.

Adicionalmente, se evaluó su potencial actividad biológica utilizando un enfoque *in silico*, mediante la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas (usando la plataforma Molinspiration), predicción de actividad biológica (a través de las plataformas PASSonline, Swiss Target Prediction y CLC-Pred) y la evaluación de las propiedades biofarmacéuticas (usando ADMETSar y SwissADME). Los resultados indicaron que los compuestos propuestos cumplen con los requisitos mínimos en cuanto a propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas para ser considerados como moléculas con probable actividad biológica. Además, usando los predictores de actividad, se identificó una posible ruta biológica en la que podrían ejercer actividad. Por ello, se evaluó también la interacción entre los compuestos y dos blancos biológicos específicos: la enzima aromatasa y la enzima 17 β -hidroxiesteroide

deshidrogenasa. Usando el programa MOE, se obtuvieron los diagramas de interacción 2D y 3D que muestran que efectivamente los compuestos interactúan con los aminoácidos reportados como clave en la inhibición de las enzimas mencionadas, presentándose a nivel *in silico* como inhibidores con mejor *score* de unión comparados con los ligandos endógenos.

Nuevos compuestos



Abreviaturas

17β-HSD	17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa
2D	Dos dimensiones
3D	Tres dimensiones
Å	Ángstrom
AcOEt	Acetato de Etilo
ADMET	Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad
AI	<i>Aromatase inhibitor</i>
Ala	Alanina
BBB	<i>Blood-Brain Barrier</i>
CCF	Cromatografía en Capa Fina
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
CuAAC	Cicloadición alquino-azida catalizada por cobre
Cys	Cisteína
Da	Dalton
DHT	Dihidrotestosterona
DMF	<i>N, N</i> -dimetilformamida
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp</i>
EtOH	Etanol
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Glu	Glutamina
Gly	Glicina
HBA	<i>Hydrogen-bonding acceptor</i>
HBD	<i>Hydrogen-bonding donor</i>
HCl	Ácido Clorhídrico
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
Ile	Isoleucina
Leu	Leucina
Met	Metionina
MHz	Mega Hertz
Mmol	Milimol
MOE	<i>Molecular Operating Environment</i>
MW	<i>Molecular Weight</i>
NADHP	Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina Fosforilado
nOHNH	Número de grupos NH y OH

Pa	Probabilidad de actividad
PAINS	<i>Pan-assay interference compounds</i>
Phe	Fenialanina
Pi	Probabilidad de inactividad
Pro	Prolina
RB	Rotable Bonds
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
SMILES	<i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
TPSA	<i>Topological Polar Surface Area</i>
Trp	Triptófano
Val	Valina

1. INTRODUCCIÓN

En el área de desarrollo de nuevas moléculas con actividad biológica, una de las aproximaciones sintéticas más utilizadas es la obtención de híbridos.¹ Con esta finalidad, se consideran al menos un par de bloques estructurales para la obtención de nuevas moléculas. De esta manera se pretende combinar las características de ambos para mejorar sus propiedades individuales, enfocándose en la obtención de compuestos menos tóxicos y más potentes.² Además, se suele tomar en cuenta la combinación de compuestos naturales y sintéticos, lo que permite ampliar la variedad de estructuras híbridas que se pueden diseñar³ y obtener a partir de diversos enfoques de síntesis como la síntesis total o la modificación estructural.

Entre los heterociclos más importantes, se encuentran a los triazoles, formados por un núcleo heterocíclico de cinco miembros, con tres átomos de nitrógeno y dos de carbono.⁴ Son considerados bioisómeros de enlaces tipo amidas⁵ presentan características de polaridad, rigidez, así como capacidad de actuar como donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno, que permite que los triazoles imiten a otros grupos funcionales.⁶ También presentan una gran estabilidad en condiciones hidrolíticas, oxidativas y reductoras.⁷ Todas estas características

¹ Tsogoeva, S. B. (2010). Recent progress in the development of synthetic hybrids of natural or unnatural bioactive compounds for medicinal chemistry. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 10(9), 773-793. <https://doi.org/10.2174/138955710791608280>

² Bhukal, A., Kumar, V., Kumar, L., & Lal, K. (2023). Recent advances in chalcone-triazole hybrids as potential pharmacological agents. *Results Chem.*, 6, 101173. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101173>

³ Burke, M. D., & Schreiber, S. L. (2003). A planning strategy for Diversity-Oriented synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43(1), 46-58. <https://doi.org/10.1002/anie.200300626>

⁴ Kashyap, A., & Silakari, O. (2018). Triazoles. En *Elsevier eBooks* (pp. 323-342). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102083-8.00009-1>

⁵ Doiron, J. E., Le, C. A., Bacsá, J., Breton, G. W., Martin, K. L., Aller, S. G., & Turlington, M. (2020). Structural consequences of the 1,2,3-Triazole as an amide bioisostere in analogues of the cystic fibrosis drugs VX-809 and VX-770. *ChemMedChem*, 15(18), 1720-1730. <https://doi.org/10.1002/cmde.202000220>

⁶ Bonandi, E., Christodoulou, M. S., Fumagalli, G., Perdicchia, D., Rastelli, G., & Passarella, D. (2017). The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. *Drug Discov. Today*, 22(10), 1572-1581. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.014>

⁷ Matin, M. M., Chakraborty, P., Rahman, M. R., Hadda, T. B., Almalki, F. A., Mahmud, S., Ghoneim, M. M., Alruwaily, M., & Alshehri, S. (2022). Triazoles and their derivatives: chemistry, synthesis, and therapeutic applications. *Front. mol. Biosci.*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.864286>

les confieren un enorme potencial en el diseño de fármacos, como farmacóforos, biosósteros o plataformas estructurales.⁸

Por lo tanto, se consideran un componente potencial en una amplia gama de estructuras farmacológicas.⁹ Por lo tanto se ha descrito una gran variedad de compuestos que contienen 1,2,3-triazoles con actividad biológica antibacterial,¹⁰ anti-tubercular,¹¹ anti-VIH,¹² anticancerígena¹³ y antifúngica¹⁴ (**Figura 1**).

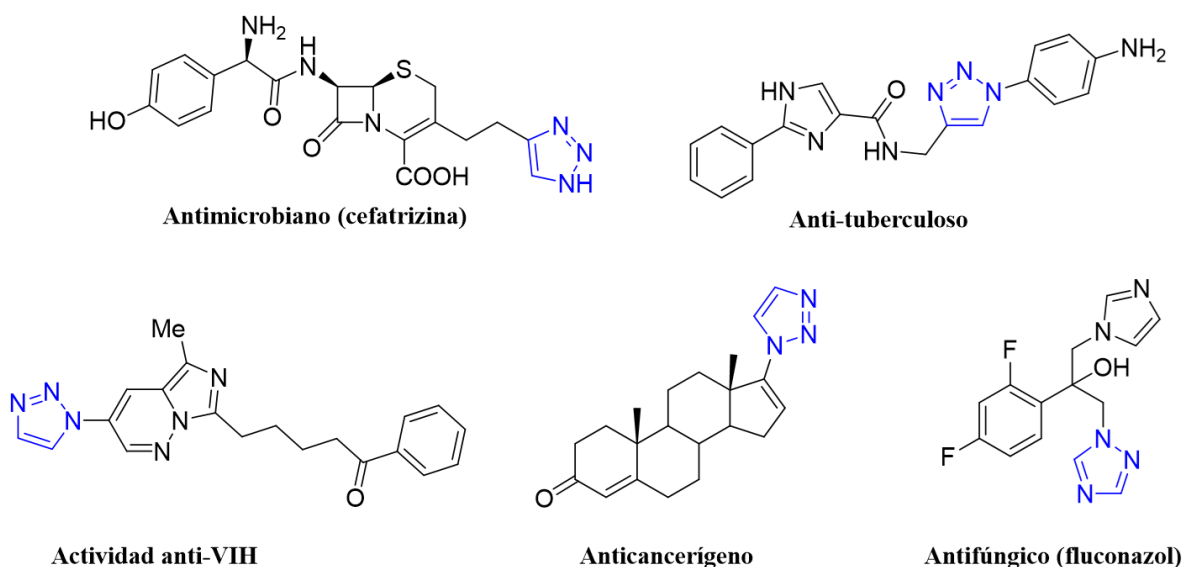


Figura 1. Compuestos con actividad biológica que contienen heterocícl^os 1,2,3-triazoles.

⁸ Lengerli, D., İbiş, K., Nural, Y., & Banoğlu, E. (2022). The 1,2,3-triazole ‘all-in-one’ ring system in drug discovery: a good biosostere, a good pharmacophore, a good linker, and a versatile synthetic tool. *Expert Opin Drug Discov.*, 17(11), 1209-1236. <https://doi.org/10.1080/17460441.2022.2129613>

⁹ Varala, R., Bollikolla, H. B., & Kurmarayuni, C. M. (2021). Synthesis of Pharmacological relevant 1,2,3-Triazole and its Analogues-A Review. *Curr. Org. Synth.*, 18(2), 101-124. <https://doi.org/10.2174/1570179417666200914142229>

¹⁰ Zhang, B. (2019). Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. *Eur. J. Med. Chem.*, 168, 357-372. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.055>

¹¹ Kumar, C. P., Prathibha, B., Prasad, K. N. N., Raghu, Prashanth, M., Jayanna, B., Alharthi, F. A., Chandrasekhar, S., Revanasiddappa, H. D., & Kumar, K. D. A. (2021). Click Synthesis of 1,2,3-triazole based imidazoles: antitubercular evaluation, molecular docking and HSA binding studies. *Bioorg Med Chem Lett*, 36, 127810. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127810>

¹² Feng, L., Zheng, M., Zhao, F., & Liu, D. (2020). 1,2,3-Triazole hybrids with anti-HIV-1 activity. *Arch. Pharm.*, 354(1). <https://doi.org/10.1002/ardp.202000163>

¹³ Alam, M. M. (2021). 1,2,3-Triazole hybrids as Anticancer agents: A review. *Arch. Pharm.*, 355(1). <https://doi.org/10.1002/ardp.202100158>

¹⁴ Dai, Z., Chen, Y., Zhang, M., Li, S., Yang, T., Shen, L., Wang, J., Qian, S., Zhu, H., & Ye, Y. (2015). Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives. *Org. Biomol. Chem.*, 13(2), 477-486. <https://doi.org/10.1039/c4ob01758g>

Por otra parte, los esteroides representan uno de los enfoques más importantes para el desarrollo de nuevas moléculas a partir de productos naturales.¹⁵ Esto se debe a varios factores: estructuralmente, representan una plataforma que admite la integración de diversos grupos funcionales,¹⁶ Permitiendo la obtención de una gran variedad de compuestos derivados. También es importante considerar la rigidez estructural que les confieren los anillos fusionados, lo que disminuye la cantidad de enlaces rotables y por lo tanto limita las interacciones no específicas, lo que se resume en el concepto de promiscuidad estructural.

Además, a nivel biológico tienen la capacidad de penetrar las membranas celulares y acceder a diversos receptores, por lo que pueden efectuar una gran cantidad de respuestas fisiológicas,¹⁷ por ello los compuestos que contienen una porción esteroidea han sido reportados con diversas propiedades farmacológicas como antiproliferativos,¹⁸ antiinflamatorios,¹⁹ antimicrobianos,²⁰ antifungicos,²¹ entre otros (**Figura 2**).

¹⁵ Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1986). A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis. *Science*, 232(4746), 34-47. <https://doi.org/10.1126/science.3513311>

¹⁶ Gomes, A. R., Pires, A. S., Roleira, F. M., & Da Silva, E. J. T. (2023). The structural diversity and biological activity of steroid oximes. *Mol.*, 28(4), 1690. <https://doi.org/10.3390/molecules28041690>

¹⁷ Gupta, A., Kumar, B. S., & Negi, A. S. (2013). Current status on development of steroids as anticancer agents. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 137, 242-270. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.05.011>

¹⁸ Frank, É., & Schneider, G. (2013). Synthesis of sex hormone-derived modified steroids possessing antiproliferative activity. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 137, 301-315. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.02.018>

¹⁹ Amr, A. E. E., & Abdulla, M. M. (2006). Anti-inflammatory profile of some synthesized heterocyclic pyridone and pyridine derivatives fused with steroidal structure. *Bioorg. Med. Chem.*, 14(13), 4341-4352. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.02.045>

²⁰ Vollaro, A., Esposito, A., Antonaki, E., Iula, V. D., D'Alonzo, D., Guaragna, A., & De Gregorio, E. (2020). Steroid derivatives as potential antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* planktonic cells. *Microorganisms*, 8(4), 468. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040468>

²¹ Huang, L., Wang, B., Zhang, J., Yuan, C., Gu, W., Mu, S., & Hao, X. (2016). Synthesis and evaluation of antifungal activity of C21-steroidal derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26(8), 2040-2043. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.02.080>

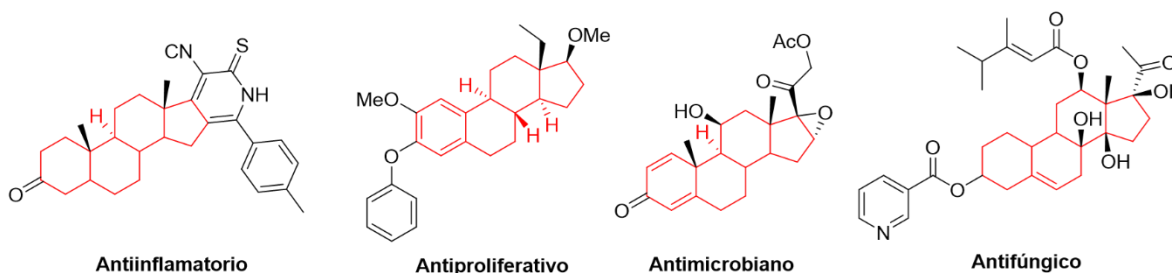


Figura 2. Compuestos con actividad biológica que contienen una estructura esteroidea en su estructura.

Debido a la gran cantidad de información respecto a la actividad biológica de un grupo funcional, es necesario identificar aquellos blancos moleculares más probables, de manera que futuras investigaciones *in vitro* o *in vivo* resulten exitosas. Con esta finalidad, se han desarrollado una serie de herramientas constituyen lo que se conoce como farmacología *in silico*.²² Estas herramientas incluyen enfoques computacionales, físicos y matemáticos que permiten modelar procesos biológicos teóricos, caracterizando el comportamiento farmacológico de una sustancia dentro de un organismo vivo.²³

La ventaja de los marcos de farmacología *in silico* es que ofrecen un enfoque de bajo costo, rápido y sistemático de alto rendimiento para guiar la priorización de objetivos. El punto clave de esta perspectiva es identificar marcadores moleculares críticos para diversas enfermedades, especialmente aquellas con mecanismos moleculares complejos,²⁴ Dirigiendo así objetivos específicos que optimizan los recursos destinados a las investigaciones.

Además de los blancos moleculares y la información asociada a las interacciones en el sitio de unión, se pueden cubrir otros aspectos de los compuestos obtenidos. Entre estas características se encuentran las propiedades fisicoquímicas y ADMET, las cuales afectan la farmacocinética y farmacodinamia y también están asociadas a la seguridad y toxicidad. Por lo tanto, son factores importantes en el desarrollo de moléculas con actividad biológica.²⁵ En

²² Chang, Y., Hawkins, B. A., Du, J. J., Groundwater, P. W., Hibbs, D. E., & Lai, F. (2022). A guide to in silico drug design. *Pharmaceutics*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049>

²³ Patil VM. (2017). In Silico Pharmacology and Drug Discovery. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, 2(5), 1051.

²⁴ Spanakis, M. (2023). In silico Pharmacology for Evidence-Based and Precision Medicine. *Pharmaceutics*, 15(3), 1014. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15031014>

²⁵ Bultum, L. E., Tolossa, G. B., Kim, G., Kwon, O., & Lee, D. (2022). In silico activity and ADMET profiling of phytochemicals from Ethiopian indigenous aloes using pharmacophore models. *Sci. Rep.*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26446-x>

conjunto, toda esta información permite entender las interacciones de los compuestos en un sistema biológico.

En este trabajo de tesis experimental, se planteó la obtención y caracterización de compuestos híbridos que contienen un anillo tipo triazol, específicamente un núcleo 1,2,3-triazol, y un fragmento derivado del esteroide estrona, usando un enfoque de la “*click chemistry*” a través de una reacción de cicloadición alquino-azida catalizada por cobre (CuAAC) (**Figura 3**). Además, se realizó la evaluación *in silico* de sus propiedades fisicoquímicas, ADMET y la determinación de su potencial actividad biológica.

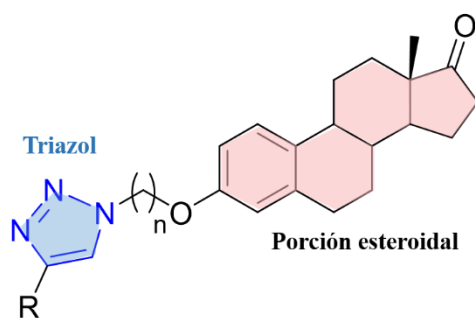


Figura 3. Estructura general de los compuestos sintetizados en este trabajo: hibridación de la estrona y el núcleo heterocíclico 1,2,3-triazol.

2. Antecedentes

2.1 Triazoles

También conocidos como pirrodiazoles, los triazoles son ciclos de cinco miembros doblemente insaturados que contienen tres átomos de nitrógeno y dos de carbono. Pueden presentar dos formas isoméricas 1,2,3-triazoles y 1,2,4-triazoles (**Figura 4**).²⁶

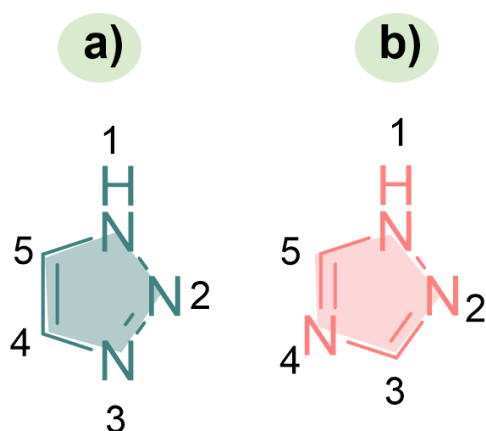


Figura 4. Formas isoméricas del triazol: a) 1,2,3-triazol y b) 1,2,4-triazol.

A pesar de que los isómeros contienen características similares, en este trabajo nos centraremos únicamente en los 1,2,3-triazoles. Debido a la disposición de los heteroátomos en posiciones 1, 2 y 3 también se les conoce como *v*-triazoles (triazoles vecinales).²⁷ Estos contienen un nitrógeno tipo pirrol y dos de tipo piridina. Debido a que todos los átomos tienen hibridación sp^2 , tiene seis electrones deslocalizados en orbitales moleculares π , lo que les confiere carácter aromático.²⁸ Además, son capaces de acomodar una amplia gama de sustituyentes (electrófilos y nucleófilos) alrededor de sus estructuras centrales lo que permite obtener una gran diversidad de derivados.

²⁶ Kashyap, A., & Silakari, O. (2018). Triazoles. En *Elsevier eBooks* (pp. 323-342). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102083-8.00009-1>

²⁷ Benson, F. R. B., & Savell, W. L. (1950). The chemistry of the vicinal triazoles. *Chem. Rev.*, 46(1), 1-68. <https://doi.org/10.1021/cr60143a001>

²⁸ Ram, V. J., Sethi, A. S., Nath, M., & Pratap, R. (2019). Five-Membered heterocycles. En *Elsevier eBooks* (pp. 149-478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101033-4.00005-x>

Este tipo de heterociclo ha sido ampliamente estudiado, como se mencionó anteriormente. Se han asociado a distintos blancos biológicos y, por lo tanto, se han desarrollado varias metodologías útiles para la obtención de estos compuestos. A continuación, se describen las características relevantes de los 1,2,3-triazoles en cuanto a su actividad biológica y síntesis.

2.1.1 Actividad biológica

Los triazoles poseen una serie de características que los hacen de gran interés en el desarrollo de nuevos compuestos orgánicos bioactivos.²⁹ En primer lugar, presentan una gran estabilidad, asociada a su carácter aromático y a la presencia de nitrógenos en la estructura; esto les confiere resistencia en ambientes biológicos. También son propensos a formar puentes de hidrógeno, lo que incrementa su solubilidad y favorece su interacción con blancos biológicos. Sus características estructurales les permiten formar otros enlaces no covalentes, como interacciones ion-dipolo, π - π , hidrofóbicas y fuerzas de van der-Waals.^{6,30}

De esta manera, los 1,2,3-triazoles pueden integrarse en el diseño de las moléculas con distintas intenciones. Por un lado, estructuralmente pueden brindar una mayor estabilidad; como farmacóforos, se convierten en la estructura central de las interacciones con el blanco molecular específico, por lo tanto, son responsables de la actividad biológica de los compuestos que lo presentan.

En mayor medida, las investigaciones relacionadas con este tipo de compuestos han incrementado con el desarrollo de metodologías de síntesis que mejoran los rendimientos y facilitan la obtención de los compuestos. Esto se relaciona directamente con el hecho de que no son compuestos que tengan presencia en la naturaleza; por lo tanto, no tienen una ruta de biosíntesis que permita su obtención a través de fuentes distintas a la sintética.

²⁹ Kharb, R., Sharma, P. C., & Yar, M. S. (2010). Pharmacological significance of triazole scaffold. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 26(1), 1-21. <https://doi.org/10.3109/14756360903524304>

³⁰ Rusu, A., Moga, I., Uncu, L., & Hancu, G. (2023). The role of Five-Membered heterocycles in the molecular structure of antibacterial drugs used in therapy. *Pharmaceutics*, 15(11), 2554. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112554>

Desde el desarrollo del enfoque “*click chemistry*” por Sharpless³¹ y la implementación de catálisis por cobre,³² se ha observado un aumento en la cantidad de estudios relacionados con compuestos 1,2,3-triazoles adquiriendo una mayor relevancia como potenciales compuestos con actividad biológica.

Dada la gran variedad de interacciones con blancos biológicos a las que se pueden unir, se reconocen varias actividades biológicas principales, entre las que destacan: antimicrobiana,³³ analgésica-antiinflamatoria,³⁴ antineoplásica,³⁵ antimalaria,³⁶ antiviral,³⁷ antiproliferativa³⁸ y anticancerígena.³⁹ De esta manera, podemos observar que tienen una amplia gama de aplicaciones terapéuticas. Su enfoque es hacia la innovación con presencia cada vez mayor en todas las disciplinas científicas.

2.1.2 Actividad antimicrobiana

Los triazoles son un grupo de compuestos cuya principal actividad antimicrobiana se asocia con enfermedades fúngicas. En la práctica clínica, una serie de fármacos que contienen anillos de tipo triazol están aprobados para su prescripción; incluso se consideran como el tratamiento principal para infecciones fúngicas.⁴⁰ Estos compuestos (**Figura 5**) fluconazol,

³¹ A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective «ligation» of azides and terminal alkynes. (2002). *PubMed*. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14)

³² Tornøe, C. W., Christensen, C. B. V., & Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-Triazoles by regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.*, 67(9), 3057-3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>

³³ Patil, S. A., Nesaragi, A. R., Rodríguez-Berríos, R. R., Hampton, S. M., Bugarin, A., & Patil, S. A. (2023). Coumarin triazoles as potential antimicrobial agents. *Antibiotics*, 12(1), 160. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010160>

³⁴ Kumar, A., Alam, M. S., Hamid, H., Chugh, V., Tikla, T., Kaul, R., Dhulap, A., & Sharma, S. K. (2023). Design and synthesis of anti-inflammatory 1,2,3-triazolylpyrrolobenzodiazepinone derivatives and impact of molecular structure on COX-2 selective targeting. *J. Mol. Struct.*, 1272, 134151. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134151>

³⁵ Al-Masoudi, N. A., & Al-Soud, Y. A. (2002). Synthesis of 1'-β-D-glucopyranosyl-1,2,3-triazole-4,5-dimethanol-4,5-bis(isopropylcarbamate) as potential antineoplastic agent. *Tetrahedron Lett.*, 43(22), 4021-4022. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(02\)00733-5](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(02)00733-5)

³⁶ Lopes, F. V., Stroppa, P. H. F., Marinho, J. A., Soares, R. R., De Azevedo Alves, L., Goliatt, P. V. Z. C., Abramo, C., & Da Silva, A. D. (2021). 1,2,3-Triazole derivatives: synthesis, docking, cytotoxicity analysis and in vivo antimalarial activity. *Chem. Biol. Interact.*, 350, 109688. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109688>

³⁷ Viegas, D. J., Da Silva, V. D., Buarque, C. D., Bloom, D. C., & Abreu, P. A. (2019). Antiviral activity of 1,4-Disubstituted-1,2,3-Triazoles against HSV-1 in vitro. *Antivir. Ther.*, 25(8), 399-410. <https://doi.org/10.3851/imp3387>

³⁸ Maghraby, M. T., Almutairi, T. M., Bräse, S., Salem, O. I. A., Youssif, B. G., & Sheha, M. (2023). New 1,2,3-Triazole/1,2,4-triazole hybrids as aromatase inhibitors: design, synthesis, and apoptotic antiproliferative activity. *Mol.*, 28(20), 7092. <https://doi.org/10.3390/molecules28207092>

³⁹ Xu, Z., Zhao, S., & Liu, Y. (2019). 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. *Eur. J. Med. Chem.*, 183, 111700. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111700>

⁴⁰ McCreary, E. K., Davis, M., Narayanan, N., Andes, D. R., Cattaneo, D., Christian, R., Lewis, R. E., Watt, K. M., Wiederhold, N. P., & Johnson, M. D. (2023). Utility of Triazole Antifungal Therapeutic Drug monitoring: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 43(10), 1043-1050. <https://doi.org/10.1002/phar.2850>

itraconazol, voriconazol, posaconazol e isavuconazol; adquirieron su relevancia debido a su amplio espectro de actividad y a su menor toxicidad comparada con otras familias de antifúngicos, tales como los imidazoles.²⁹

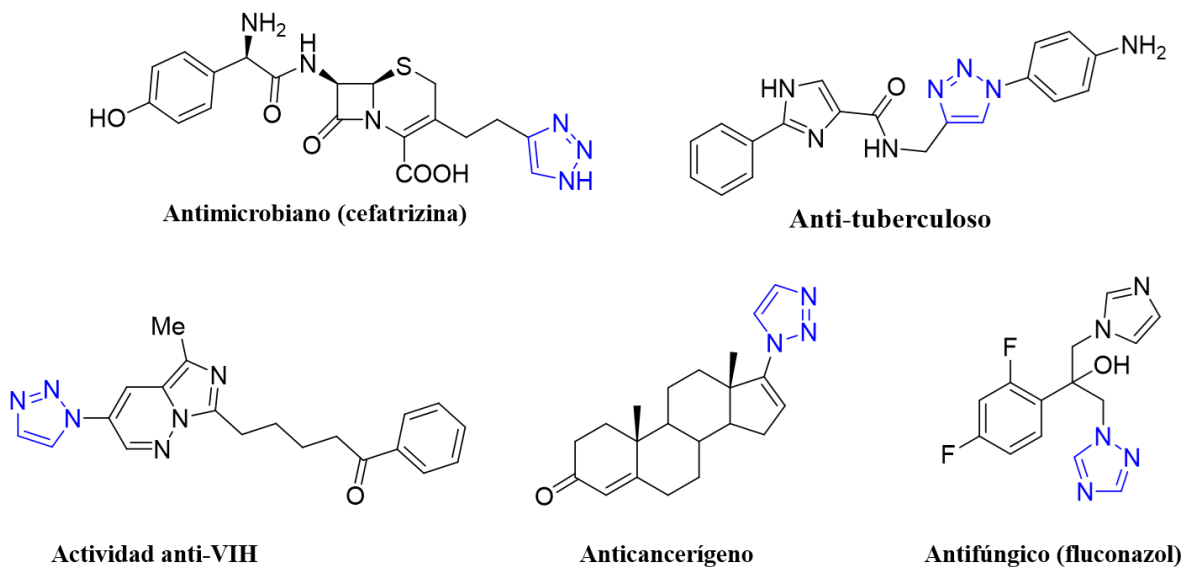


Figura 5. Fármacos antifúngicos que contienen en su estructura el heterociclo triazol.

Además, una serie de fármacos antibióticos que contienen 1,2,3-triazoles en su estructura (**Figura 6**) han exhibido efectividad frente a infecciones graves que ponen en riesgo la vida de los pacientes.⁴¹ estas enfermedades de importancia médica, son causadas por patógenos denominados ESKAPE (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter*), caracterizados por su resistencia a antibióticos y evasión a mecanismos inmunes.⁴²

⁴¹ Marzi, M., Farjam, M., Kazeminejad, Z., Shiroudi, A., Kouhpayeh, S., & Zarenezhad, E. (2022). A recent overview of 1,2,3-Triazole-Containing hybrids as novel antifungal agents: focusing on synthesis, mechanism of action, and Structure-Activity Relationship (SAR). *J. Chem.*, 2022, 1-50. <https://doi.org/10.1155/2022/7884316>

⁴² Deng, C., Yan, H., Wang, J., Li, K., Liu, B., & Shi, Y. (2022). 1,2,3-Triazole-containing hybrids with potential antibacterial activity against ESKAPE pathogens. *Eur. J. Med. Chem.*, 244, 114888. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114888>

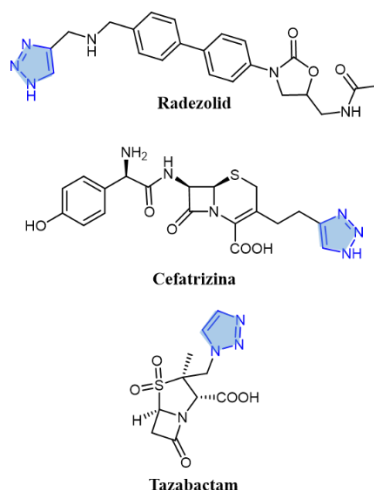


Figura 6. Fármacos antibióticos que contienen un anillo heterocíclico de triazol.

Estos compuestos, actúan como antibióticos de amplio espectro, contra bacterias grampositivas y gramnegativas; lo que explica que sean efectivos en el tratamiento de una amplia variedad de infecciones.⁴³ También están disponibles como medicamentos combinados, como el caso de piperacilina/tazobactama⁴⁴ o tazobactama/ceftolozano⁴⁵ lo que potencia sus efectos.

La diversidad de microorganismos que pueden causar este tipo de enfermedades, así como el desarrollo de agentes patógenos multifármaco-resistentes, crean una alta demanda de nuevos o mejorados fármacos.⁴⁶ La combinación de 1,2,3-triazoles con otros farmacóforos es una estrategia que ha permitido el desarrollo de nuevos candidatos eficaces para combatir enfermedades infecciosas.⁴⁷ Entre estos compuestos podemos encontrar híbridos de 1,2,3-

⁴³ Yu, X., Wang, C. Y., Li, Y. Y., Li, J., Wan, Q., Chen, J. H., Tay, F. R., & Niu, L. N. (2019). Considerations and caveats in combating ESKAPE pathogens against nosocomial infections. *Adv. Sci.*, 7(1). <https://doi.org/10.1002/advs.201901872>

⁴⁴ Molloy, L., Abdulhamid, I., Srivastava, R., & Ang, J. Y. (2020). Ceftolozane/Tazobactam treatment of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infections in children. *Pediatr. Infect. Dis.*, 39(5), 419-420. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000002593>

⁴⁵ Martínez-Miranda, R., Gastélum-Acosta, M., Guerrero-Estrada, P., Ayala-Figueroa, R. I., & Osuna-Álvarez, L. E. (2020). Actividad antimicrobiana de ceftolozano-tazobactam y ceftazidima-avibactam contra bacilos gramnegativos clínicamente relevantes aislados en México. *Gac. Med. Mex.*, 156(6). <https://doi.org/10.24875/gmm.19005335>

⁴⁶ Todorov, L., & Kostova, I. (2023). 1,2,3-Triazoles and their metal chelates with antimicrobial activity. *Front. Chem.*, 11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1247805>

⁴⁷ Patil, A., Banerji, R., Kanojiya, P., Koratkar, S. S., & Saroj, S. D. (2021). Bacteriophages for ESKAPE: Role in pathogenicity and Measures of control. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, 19(7), 845-865. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1858800>

triazoles con pleuromutilina,⁴⁸ macrólidos,⁴⁹ quinolina/quinolona/acridona,⁵⁰ cumarinas/cromenos³³ y aminoácidos/péptidos.⁵¹

Bajo este contexto, podemos confirmar que varios de los fármacos antimicrobianos existentes contienen farmacóforos de triazol en sus estructuras.³³ Esto ratifica que los triazoles se reconocen como plataformas estructurales con actividad antimicrobiana significativa.⁴²

2.1.3 Actividad anticancerígena

El cáncer representa una de las problemáticas más importantes en la actualidad. Las cifras de nuevos casos y de mortalidad mantienen en alarma a todos los especialistas relacionados con su tratamiento. Se ha estimado que la mortalidad incrementa de 16.3 a 29.5 millones para el 2040, si las estadísticas siguen la tendencia actual.⁵² Esto genera una gran demanda de nuevos fármacos que permitan solucionar las principales deficiencias de los fármacos actuales, que se asocian principalmente a los mecanismos de resistencia propios de las células cancerosas y a la escasa selectividad de los fármacos utilizados, afectando así a células sanas, y provocando la disminución en la supervivencia de los pacientes.⁵³

Los 1,2,3-triazoles, debido a su destacable potencial biológico, han sido considerados en el descubrimiento de fármacos para el desarrollo de agentes anticancerígenos.⁵⁴ Se han descrito varios mecanismos a partir de los cuales ejercen este efecto, entre los que destacan: la

⁴⁸ Breiner, L. M., Briganti, A. J., McCord, J. P., Heifetz, M. E., Philbrook, S. Y., Slebodnick, C., Brown, A. M., & Lowell, A. N. (2022). Synthesis, testing, and computational modeling of pleuromutilin 1,2,3-triazole derivatives in the ribosome. *Tetrahedron Chem.*, 4, 100034. <https://doi.org/10.1016/j.tchem.2022.100034>

⁴⁹ Qin, Y., Xu, L., Teng, Y., Yang, Y., Wang, Y., & Ma, P. (2021). Design, synthesis and antibacterial evaluation of novel 3-O-substituted 15-membered azalides possessing 1,2,3-triazole side chains. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 49, 128330. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128330>

⁵⁰ Graciano, I. A., De Carvalho, A. S., De Carvalho Da Silva, F., & Ferreira, V. F. (2022b). 1,2,3-Triazole- and quinoline-based hybrids with potent antiplasmodial activity. *Med. Chem.*, 18(5), 521-535. <https://doi.org/10.2174/1573406418666211110143041>

⁵¹ Schröder, D. C., Kracker, O., Fröhr, T., Góra, J., Jewgiński, M., Nieß, A., Antes, I., Latajka, R., Marion, A., & Sewald, N. (2019). 1,4-Disubstituted 1H-1,2,3-Triazole containing peptidotriazolamers: a new class of peptidomimetics with interesting foldamer properties. *Front. Chem.*, 7. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00155>

⁵² Zhao, S., Liu, J., Lv, Z., Zhang, G., & Xu, Z. (2023). Recent updates on 1,2,3-triazole-containing hybrids with in vivo therapeutic potential against cancers: a mini-review. *Eur. J. Med. Chem.*, 251, 115254. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115254>

⁵³ Agarwal, D. S., Sakhuja, R., Beteck, R. M., & Legoabe, L. J. (2023). Steroid-triazole conjugates: A brief overview of synthesis and their application as anticancer agents. *Steroids*, 197, 109258. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109258>

⁵⁴ Alam, M. M. (2021). 1,2,3-Triazole hybrids as anticancer agents: A review. *Arch. Pharm.*, 355(1). <https://doi.org/10.1002/ardp.202100158>

inhibición de enzimas (anhidrasa carbónica,⁵⁵ aromatasas,⁵⁶ timidilato sintasa,⁵⁷ triptófano 2,3- dioxigenasa⁵⁸), factores de crecimiento (factor de crecimiento endotelial vascular⁵⁹) y sus receptores (receptor de crecimiento epidérmico).⁶⁰ Sin embargo, debido a que el cáncer es una enfermedad compleja con una gran cantidad de mecanismos involucrados, es probable que los compuestos con acción anticancerígena no se asocien con un blanco específico; en su lugar, es probable que tengan su efecto sobre un conjunto de vías de señalización asociadas a citotoxicidad, activación de apoptosis, inhibición de angiogénesis, y otros mecanismos asociados a los tratamientos del cáncer.

En este punto, es importante señalar que los compuestos tipo triazol que han mostrado efectividad se encuentran en etapas tempranas de desarrollo; es decir, se ensayan *in vitro* y *ex vivo*. A este nivel, la búsqueda se centra en la obtención de compuestos que tengan actividad en líneas celulares cancerígenas multirresistentes a fármacos y una mayor selectividad.⁵⁴

De acuerdo con estas investigaciones, los triazoles presentan una ventana terapéutica útil por su toxicidad citoselectiva para células cancerosas resistentes a los fármacos.²⁹ Algunos resultados destacables indican que compuestos 1,2,3-triazol derivados de paeonol requieren una dosis 20 veces menor para obtener el mismo efecto que su análogo que no contiene el grupo 1,2,3-triazol.⁶¹ Esto ha impulsado el campo de investigación de los 1,2,3-triazoles, por lo que dentro de las estrategias más importantes para la obtención de estos compuestos es la

⁵⁵ Singh, P., Swain, B., Thacker, P. S., Sigalapalli, D. K., Yadav, P. P., Supuran, C. T., & Arifuddin, M. (2020). Synthesis and carbonic anhydrase inhibition studies of sulfonamide based indole-1,2,3-triazole chalcone hybrids. *Bioorg. Chem.*, *99*, 103839. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103839>

⁵⁶ Maghraby, M. T., Almutairi, T. M., Bräse, S., Salem, O. I. A., Youssif, B. G., & Sheha, M. (2023b). New 1,2,3-Triazole/1,2,4-triazole hybrids as aromatase inhibitors: design, synthesis, and apoptotic antiproliferative activity. *Mol.*, *28*(20), 7092. <https://doi.org/10.3390/molecules28207092>

⁵⁷ Alam, M. M., Malebari, A. M., Nazreen, S., Neamatallah, T., Almalki, A. S. A., Elhenawy, A. A., Obaid, R. J., & Alsharif, M. A. (2021). Design, synthesis and molecular docking studies of thymol based 1,2,3-triazole hybrids as thymidylate synthase inhibitors and apoptosis inducers against breast cancer cells. *Bioorg. Chem.*, *38*, 116136. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116136>

⁵⁸ Hou, X., Gong, X., Mao, L., Zhao, J., & Yang, J. (2022). Discovery of novel 1,2,3-triazole derivatives as IDO1 inhibitors. *Pharmaceuticals*, *15*(11), 1316. <https://doi.org/10.3390/ph15111316>

⁵⁹ Wang, D., Liu, K., Li, X., Lu, G., Xue, W., Qian, X., O, K. M., & Meng, F. (2021). Design, synthesis, and in vitro and in vivo anti-angiogenesis study of a novel vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) inhibitor based on 1,2,3-triazole scaffold. *Eur. J. Med. Chem.*, *211*, 113083. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113083>

⁶⁰ Kumar, S., Sengupta, S., Ali, I., Gupta, M. K., Lahlhenmawia, H., Azizov, S., & Kumar, D. (2023). Identification and exploration of quinazoline-1,2,3-triazole inhibitors targeting EGFR in lung cancer. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, *41*(21), 11353-11372. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2204360>

⁶¹ Yang, T., Shi, X., Guo, L., Gu, S., Zhang, W., Xu, G., Li, W., & Jiang, Y. (2019). Design, synthesis, and antitumor activity of novel paeonol derivatives containing the 1,4-benzoxazinone and 1,2,3-triazole moieties. *J. Chem. Res.*, *43*(7-8), 241-247. <https://doi.org/10.1177/1747519819857479>

conjugación química con otros farmacóforos. En particular, en el caso de triazoles híbridos con esteroides (**Figura 7**), se han descrito derivados de estrona, estradiol y androstrano que presentan una mejor actividad comparado con el estándar cisplatino en diversas líneas celulares como HeLa (cáncer cervicouterino humano), A278 (carcinoma ovárico), A431 (cáncer epidermoide de piel) y MCF-7 (línea celular de cáncer de mama),⁶²⁻⁶⁵ K562 (leucemia mielógena humana), OVCAR-3 (cáncer ovárico humano) y WM35 (melanoma).⁶⁶

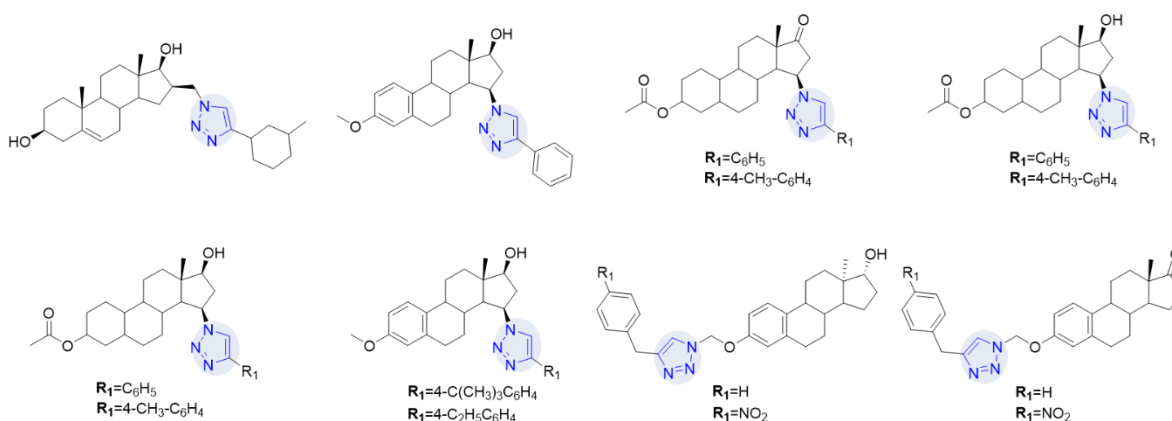


Figura 7. Compuestos híbridos de 1,2,3-triazol y esteroides que presentan actividad anticancerígena.

⁶² Szabó, J., Pataki, Z., Wölfling, J., Schneider, G., Bózsity, N., Minorics, R., Zupkó, I., & Mernyák, E. (2016). Synthesis and biological evaluation of 13A-estrone derivatives as potential antiproliferative agents. *Steroids*, *113*, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.05.010>

⁶³ Molnár, J., Frank, É., Minorics, R., Kádár, Z., Ocsovszki, I., Schönecker, B., Wölfling, J., & Zupkó, I. (2015). A Click approach to novel D-Ring-Substituted 16A-Triazolylestrone derivatives and characterization of their antiproliferative properties. *PLOS ONE*, *10*(2), e0118104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118104>

⁶⁴ Kádár, Z., Molnár, J., Schneider, G., Zupkó, I., & Frank, É. (2012). A facile 'click' approach to novel 15B-triazolyl-5 α -androstane derivatives, and an evaluation of their antiproliferative activities in vitro. *Bioorg. Chem.*, *20*(4), 1396-1402. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.01.008>

⁶⁵ Kádár, Z., Kovács, D., Frank, É., Schneider, G., Huber, J., Zupkó, I., Bartók, T., & Wölfling, J. (2011). Synthesis and in vitro antiproliferative activity of novel androst-5-ene triazolyl and tetrazolyl derivatives. *Mol.*, *16*(6), 4786-4806. <https://doi.org/10.3390/molecules16064786>

⁶⁶ Solum, E. J., Vik, A., & Hansen, T. V. (2014). Synthesis, cytotoxic effects and tubulin polymerization inhibition of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole analogs of 2-methoxyestradiol. *Steroids*, *87*, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.05.020>

2.1.4 Obtención de 1,2,3-triazoles disustituídos a través de reacciones CuAAC

Dada la importancia de los triazoles, su síntesis ha atraído mucha atención. Sin embargo, es importante considerar no solo la obtención del anillo heterocíclico, sino también las posiciones y tipo de sustituyentes, ya que estos cambios pueden influir significativamente en los resultados biológicos. Para afinar estos detalles en el diseño de nuevos compuestos con actividad biológica, uno de los conceptos más relevantes es el estudio de la relación estructura-actividad.

Los estudios de relación estructura-actividad permiten identificar los grupos funcionales y las posiciones en los farmacóforos que se pueden modificar para mejorar propiedades como solubilidad, potencia, selectividad, estabilidad metabólica, permeabilidad, toxicidad o actividad biológica.⁶⁷ En el caso de los 1,2,3-triazoles, aunque las posiciones 1,3,4 admiten una mayor cantidad de modificaciones, se observa una mayor diferencia entre la estructura y las propiedades según los grupos unidos al átomo de nitrógeno la posición 1.²⁹ De acuerdo con lo anterior, para este trabajo consideramos la sustitución de la posición 1 del triazol para introducir la porción esteroidea.

Para la obtención del anillo 1,2,3-triazol se han descrito varias metodologías que se pueden agrupar de manera general en dos categorías según la ruta de formación del anillo: la formación inter o intramolecular del heterociclo. Dentro del primer grupo se destaca la cicloadición 1,3-alquino-azida y la cicloadición de compuestos CH-acídicos a azidas. Por otro lado, en el segundo grupo la formación intramolecular se ha obtenido a través de la oxidación de bishidrazonas de 1,2-dicarbonilos y la oxidación de 1,2-bisfenilhidrazonas (**Figura 8**).⁶⁸ Sin embargo, la cicloadición alquino-azida se ha posicionado como la metodología principal para la obtención de compuestos 1,2,3-triazol.

⁶⁷ *Structure-Activity Relationship (SAR) study designs*. (2020, 9 junio). Australian Translational Medicinal Chemistry Facility. <https://www.monash.edu/atmcf/capabilities/-developing-structure-activity-relationships-sar>

⁶⁸ Eicher, T., Hauptmann, S., & Speicher, A. (2003). *The chemistry of heterocycles*. <https://doi.org/10.1002/352760183x>

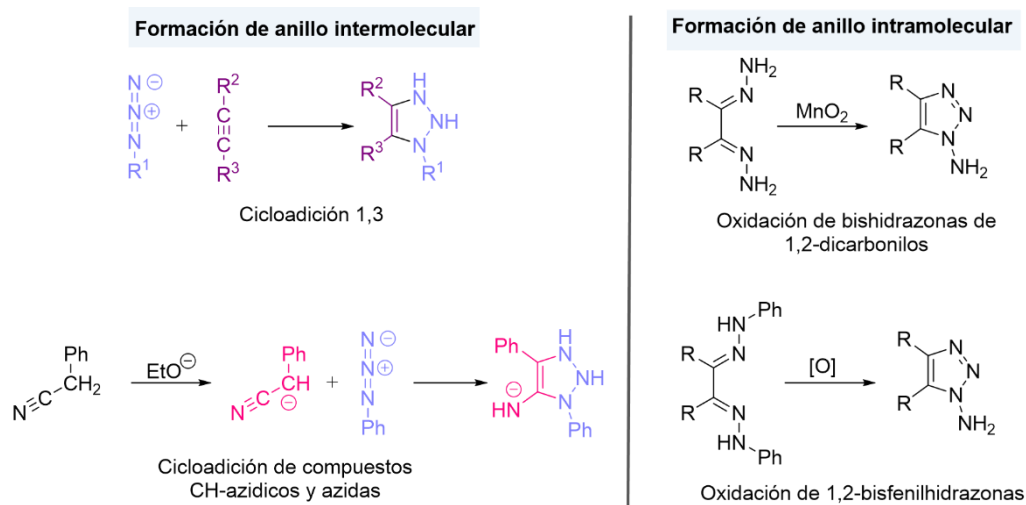


Figura 8. Métodos de síntesis para la obtención de compuestos 1,2,3-triazol.

La cicloadición alquino-azida fue reportada por primera vez por Huisgen en 1961⁶⁹ como una reacción térmica, no catalizada y no selectiva que resulta en la formación de los productos disustituídos en posiciones 1,4 y 1,5. Aunque esta aproximación sintética es un protocolo bien establecido y bastante predecible para la obtención de los heterociclos 1,2,3-triazoles disustituídos, presenta dos inconvenientes principales: la falta de selectividad y los tiempos prolongados de calentamiento necesarios para alcanzar la energía de activación.⁷⁰

En estudios subsecuentes, se desarrolló una modificación a esta aproximación. La introducción de metales como el cobre actuando como catalizador, generó lo que se conoce como cicloadiciones alquino-azida catalizadas por cobre (CuAAC).⁷¹ Esta metodología se ha posicionado como la aproximación sintética más importante para la obtención de triazoles 1,2,3 disustituídos en posiciones 1,4.

Sharpless incluyó esta reacción en lo que denominó *click chemistry*, un planteamiento sintético que considera a los compuestos como pequeños bloques que se unen para generar nuevos compuestos. Una de las características principales de la *click chemistry* es que estos

⁶⁹ Huisgen, R. (1963) 1,3-Dipolar Cycloadditions: Past and Future. *Angew. Chem.*, 2, 565-598. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.196305651>

⁷⁰ Beutick, S. E., Vermeeren, P., & Hamlin, T. A. (2022). The 1,3-Dipolar cycloaddition: From conception to quantum chemical design. *Chem. Asian J.*, 17(17). <https://doi.org/10.1002/asia.202200553>

⁷¹ Tornøe, C. W., Christensen, C. B. V., & Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-Triazoles by regioselective Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.*, 67(9), 3057-3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>

sean procesos sencillos, considerando condiciones de reacción compatibles con oxígeno y agua, materiales de partida y reactivos fácilmente disponibles, y procesos simples de purificación.⁷² Este concepto llevó a Sharpless a recibir el Premio Nobel de Química en 2001, lo que atrajo aún más atención a la reacción CuAAC, debido a su selectividad sin precedentes, naturaleza robusta y alcance sintético para obtener una gran cantidad de compuestos y su potencial aplicación en diversos ámbitos.⁷⁰

En contraste con la cicloadición térmica de Huisgen (**Figura 9**), la reacción CuAAC transforma azidas orgánicas y alquinos terminales exclusivamente en 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos gracias al mecanismo catalítico que involucra múltiples intermediarios orgánicos de cobre.⁷³ Permitiendo así la conexión de dos bloques estructurales diferentes, que a menudo son bastante complejos por sí mismos, siendo un procedimiento ampliamente aplicado en la modificación de biomoléculas como carbohidratos, esteroides e incluso proteínas.⁷⁴

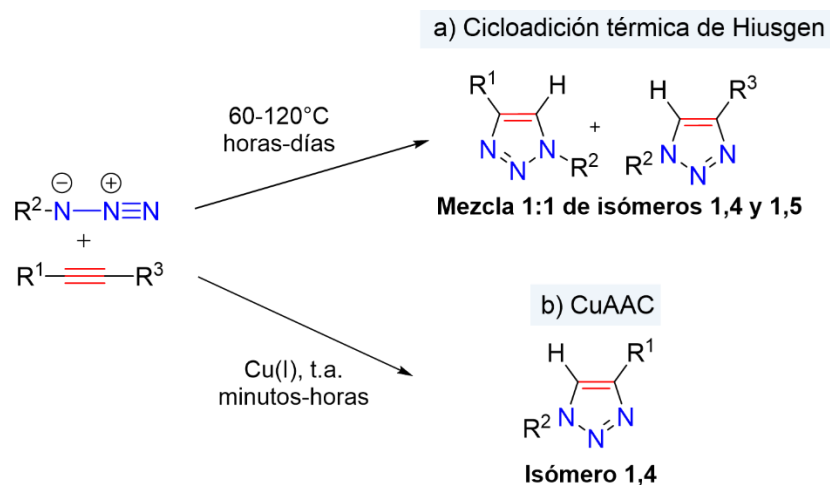


Figura 9. Cicloadición alquino-azida a) cicloadición térmica de Huisgen y b) catalizada por cobre.

⁷² Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2001, 40, 2004–2021.

⁷³ Jewett, J. C., & Bertozzi, C. R. (2010). Cu-free click Cycloaddition Reactions in Chemical Biology. *Chem. Soc. Revs.*, 39(4), 1272. <https://doi.org/10.1039/b901970g>

⁷⁴ Breugst, M., & Reißig, H. (2020). The Huisgen reaction: Milestones of the 1,3-Dipolar cycloaddition. *Angew. Chem.*, 59(30), 12293-12307. <https://doi.org/10.1002/anie.202003115>

Un aspecto muy importante a considerar es el uso del catalizador; como se describió anteriormente, la reacción involucra la participación de especies de cobre que actúan como intermediarios. Se ha identificado que únicamente el cobre en estado Cu(I) actúa como catalizador de la reacción. Por lo que se deben contemplar estrategias para asegurar la presencia de la especie catalítica. Se han desarrollado una serie de propuestas que implican la utilización de complejos de cobre (I), por ejemplo, CuI,⁷⁵ CuOTf·C₆H₆,⁷⁶ y [Cu(NCMe)₄]⁺;⁷⁷ la reducción *in situ* de una sal de cobre (II) como en el caso de la reducción de CuSO₄·5H₂O en presencia de ascorbato de sodio;⁷⁸ e incluso la oxidación de cobre metálico en reacciones asistidas por ultrasonido.⁷⁹

La elección de la fuente de Cu (I) requiere considerar distintas condiciones como los costos y la operatividad de la reacción. Sin embargo, una de las metodologías más reportadas es la reducción *in situ* de cobre (II), que comprende un ciclo catalítico inicial en el que el cobre que ha sido reducido luego ingresa al ciclo catalítico principal que conlleva a la CuAAC.⁷⁸

2.1.5 Mecanismo de reacción

En la primera aproximación al mecanismo de reacción de la reacción CuAAC se planteó como monomérico, con la participación de solo una especie de Cu (I). Sin embargo, con la posterior publicación de estudios que revelaron una cinética de segundo orden para el cobre se cuestionó el número de especies de cobre participantes.⁸⁰

Actualmente, los estudios teóricos respaldan la participación de dos especies de Cu (I) en el ciclo catalítico, basándose en que una segunda especie de cobre disminuiría la tensión de

⁷⁵ Tornøe, C. W., Christensen, C. B. V., & Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.*, 67(9), 3057-3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>

⁷⁶ Bolje, A., Urankar, D., & Košmrlj, J. (2014). Synthesis and NMR Analysis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles Tethered to Pyridine, Pyrimidine, and Pyrazine Rings. *Eur. J. Org. Chem.*, 2014(36), 8167-8181. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201403100>

⁷⁷ Viana, M. S., Gomes, C. S. B., & Rosa, V. (2023). Heteroleptic Copper Complexes as Catalysts for the CuAAC Reaction: Counter-Ion Influence in Catalyst Efficiency. *Catalysts*, 13(2), 386. <https://doi.org/10.3390/catal13020386>

⁷⁸ Jankovič, D., Virant, M., & Gazvoda, M. (2022). Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition of Hydrazoic Acid Formed *In Situ* from Sodium Azide Affords 4-Monosubstituted-1,2,3-Triazoles. *J. Org. Chem.*, 87(6), 4018-4028. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02775>

⁷⁹ Cintas, P., Barge, A., Tagliapietra, S., Boffa, L., & Cravotto, G. (2010). Alkyne-azide click reaction catalyzed by metallic copper under ultrasound. *Nat. Protoc.*, 5(3), 607-616. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.1>

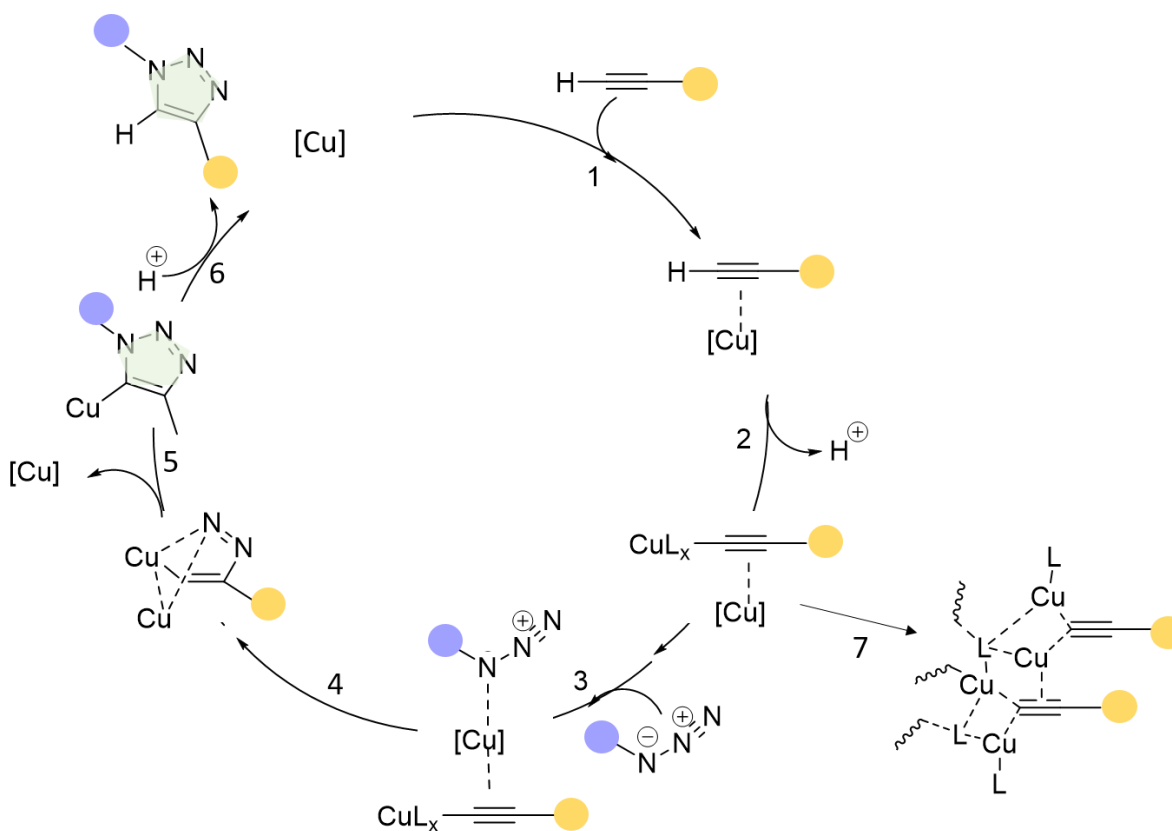
⁸⁰ Rodionov, V. O., Fokin, V. V., & Finn, M. G. (2005). Mechanism of the Ligand-Free CuI-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44(15), 2210-2215. <https://doi.org/10.1002/anie.200461496>

anillo en uno de los intermediarios metalocíclicos formados, disminuyendo efectivamente la barrera energética⁸¹ haciendo el proceso más favorable energéticamente.

De manera que el mecanismo de reacción resultante (**Esquema 1**) procede con la interacción de un ión Cu (I) con el triple enlace de alquino (**paso 1, Esquema 1**). Esto se ha justificado con la tendencia del cobre (I) a formar parte tanto del enlace π como del enlace σ en el triple enlace C-C.⁸² Por lo tanto, se tiene la interacción de dos especies de cobre: mientras un ion Cu (I) sustituye el hidrógeno de la posición terminal del alquino, otra especie se coordina con el enlace π para facilitar la cicloadición 1,3. Posteriormente este mismo centro interactúa con la azida para activarla, conduciendo a la formación del metalociclo de seis miembros en donde se genera la formación del primer enlace C-N. En este contexto, los estudios teóricos han determinado que la presencia de una especie binuclear de Cu(I) es más favorable energéticamente que las especies mono, tri o tetranucleares.⁷⁰ Este paso es seguido por la formación del enlace C-N intramolecular dando como resultado el intermediario triazolil-Cu, que posteriormente disocia uno de los iones de cobre. En el paso final de la reacción, la transferencia de un protón del alquino al triazolilo permite regenerar al complejo acetiluro de cobre que ingresa al sitio catalítico y da lugar a la obtención del 1,2,3-triazol 1,4-disustituído como producto de reacción.⁸²

⁸¹ Straub, B. F. (2007). μ -Acetylide and μ -alkenylidene ligands in “click” triazole syntheses. *ChemComm.*, 37, 3868. <https://doi.org/10.1039/b706926j>

⁸² Héron, J., & Balcells, D. (2022). Concerted Cycloaddition Mechanism in the CuAAC Reaction Catalyzed by 1,8-Naphthyridine Dicopper Complexes. *ACS Catal.*, 12(8), 4744-4753. <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c00723>



Esquema 1. Mecanismo de reacción de las reacciones CuAAC, adaptada de Tornøe, C. W., Christensen, C. B. V., & Meldal, M. (2002).⁷⁰

A pesar de que diversos estudios han permitido dilucidar aspectos bastante concretos del mecanismo de reacción, aún hay aspectos que se están investigando. Por ejemplo, el hecho de que los alquinos de cobre suelen formar agregados polinucleares⁸³ (**paso 7, Esquema 1**) cuya constante de formación se ha calculado que es bastante mayor a la constante de disociación, lo que influiría significativamente la velocidad de la reacción global. Sin embargo, el mecanismo actualmente aceptado es el descrito en el **Esquema 1** ya que involucra el consenso de los hallazgos confirmados en diversos estudios teóricos y experimentales que han logrado aislar y caracterizar varios intermediarios.

⁸³ Escobar, A. L. S. (2012). Reacciones de cicloadición 1, 3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. *Anales de Química de la RSEQ*, (4), 306-313.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Obtener los compuestos 1,2,3 triazoles 1,4-disustituídos derivados de estrona. Así como, evaluar *in silico* sus propiedades fisicoquímicas, ADMET, y mediante estudios de *docking* molecular determinar su actividad como inhibidores de las enzimas aromatasa y 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa.

3.2 Objetivos específicos

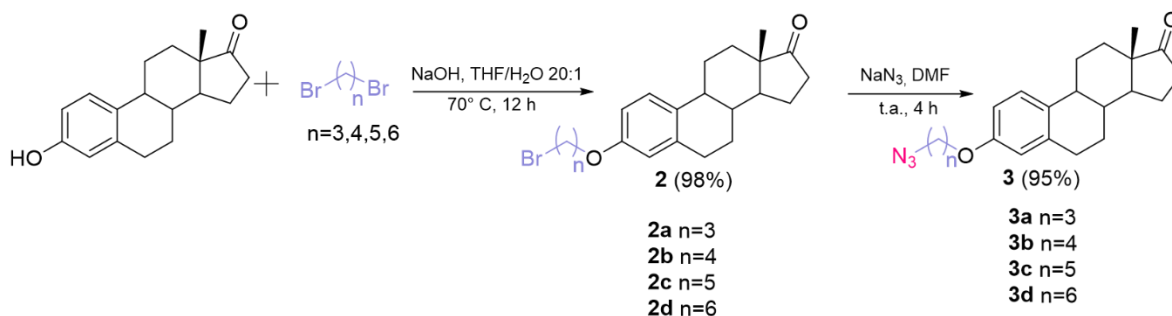
1. Obtener azidas derivadas de estrona.
2. Sintetizar los compuestos 1,2,3-triazoles disustituídos en posiciones 1,4 a partir de una reacción de cicloadición alquino-azida catalizada por cobre (CuAAC).
3. Caracterizar los compuestos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.
4. Evaluar *in silico* las propiedades fisicoquímicas y ADMET.
5. Realizar el *docking* molecular de los compuestos obtenidos para determinar su actividad inhibitoria frente a las enzimas aromatasa y 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa utilizando MOE como programa para la visualización, modelado y simulaciones *in silico* de las interacciones ligando-receptor.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Síntesis de 1,2,3-triazoles disustituídos en posiciones 1,4

Para la obtención de los compuestos híbridos, se planteó el uso de la cicloadición 1,3 alquinoazida catalizada por cobre para la formación del heterociclo triazol. Para lo cual se trabajó en incluir el grupo funcional azida sobre la porción esteroidea. De manera que la reacción con una serie de alquinos comerciales procediera con la formación de los compuestos 1,2,3-triazol disustituídos en posiciones 1,4.

En el inicio de esta ruta sintética, las azidas se obtuvieron como derivados del esteroide estrona a partir de dos pasos de reacción (**Esquema 2**).



Esquema 2. Síntesis de azidoalquilderivados 3.

Para la primera etapa de la síntesis se llevó a cabo la alquilación del hidroxilo fenólico a través de una reacción S_N2 , para lo que se utilizaron condiciones previamente descritas en la bibliografía.⁸⁴ Bajo estas condiciones de reacción, la base elimina el protón ácido del fenol en la estrona y actúa como nucleófilo sobre las cadenas alquílicas dibromadas, obteniéndose los derivados **2a-d** con rendimientos cuantitativos. En este paso de la reacción, el control de

⁸⁴ Kvasnica, M., Rárová, L., Oklešťková, J., Buděšínský, M., & Kohout, L. (2012). Synthesis and cytotoxic activities of estrone and estradiol cis-dichloroplatinum(II) complexes. *Bioorg. Med. Chem.*, 20(24), 6969-6978. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.10.013>

la temperatura es crucial, ya que, como ha observado nuestro grupo de investigación, un aumento en la temperatura conduce a la formación de dímeros de estrona.⁸⁵

Con la finalidad de determinar el efecto del espacio entre el heterociclo y la estrona, se propuso variar la longitud de la cadena alquílica (n=3, 4, 5 y 6) de las cadenas utilizadas como espaciadores moleculares.

En el espectro de RMN de ¹H se evidenció la formación de los derivados alquilados por la aparición de las señales pertenecientes a los protones de los metilenos adyacentes al bromo y al oxígeno, observados como señales triples ubicados entre 3.42-3.49 ppm y 3.93-3.97 ppm respectivamente. De igual forma, en el espectro de ¹³C-RMN se observaron las señales de estos carbonos en δ =31.58 y 67.62-65.15 ppm. Estos datos se compararon con los reportados en la literatura, así como con la información disponible sobre sus propiedades físicas.⁸⁴

En el siguiente paso de reacción los compuestos bromados **2a-d** se hicieron reaccionar con NaN₃ (5 eq.), en DMF como disolvente. La reacción permaneció a temperatura ambiente con agitación durante 4 horas. La reacción transcurre a través de un mecanismo S_N2, con la sustitución del bromo por el grupo azida obteniéndose los productos **3a-d** con rendimientos de alrededor del 95%. Este es el procedimiento más común para la obtención de azidas alifáticas, dentro de sus características más destacables es su compatibilidad con distintos solventes.⁸⁶

Por otra parte, una de las preocupaciones más comunes cuando se trabaja con azidas es su naturaleza explosiva. Particularmente, este comportamiento suele describirse para azidas de bajo peso molecular. Además, se acepta que, para el proceso de aislamiento, cumplir con la proporción atómica N:(C+O) > 1:3 es indicio de un aislamiento seguro; si la proporción es igual o menor a 1:2 exige un proceso de cuidado extremo.⁸⁶ En el caso de los compuestos obtenidos (**3a-d**) ambas características, alto peso molecular y proporción N:(C+O) se cumplen para que sean compuestos seguros de manipular.

⁸⁵ Fuentes Aguilar, A.G. (2016). *Síntesis de heterociclos esteroideos con potencial biológico* [Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio de Acceso Abierto <https://hdl.handle.net/20.500.12371/1765>

⁸⁶ Díaz-Díaz, D., Finn, M.G., Sharpless-Barry, K., Fokin, V. V & Hawker, C. J. (2008). Cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos. I: Principales aspectos sintéticos. *An. Quím.*, 104(3), 173-180.

En los espectros de ^1H -RMN (**Figura 10**) no se observó gran diferencia en el desplazamiento químico del metileno sobre el que se lleva a cabo la sustitución del bromo por el grupo azida.

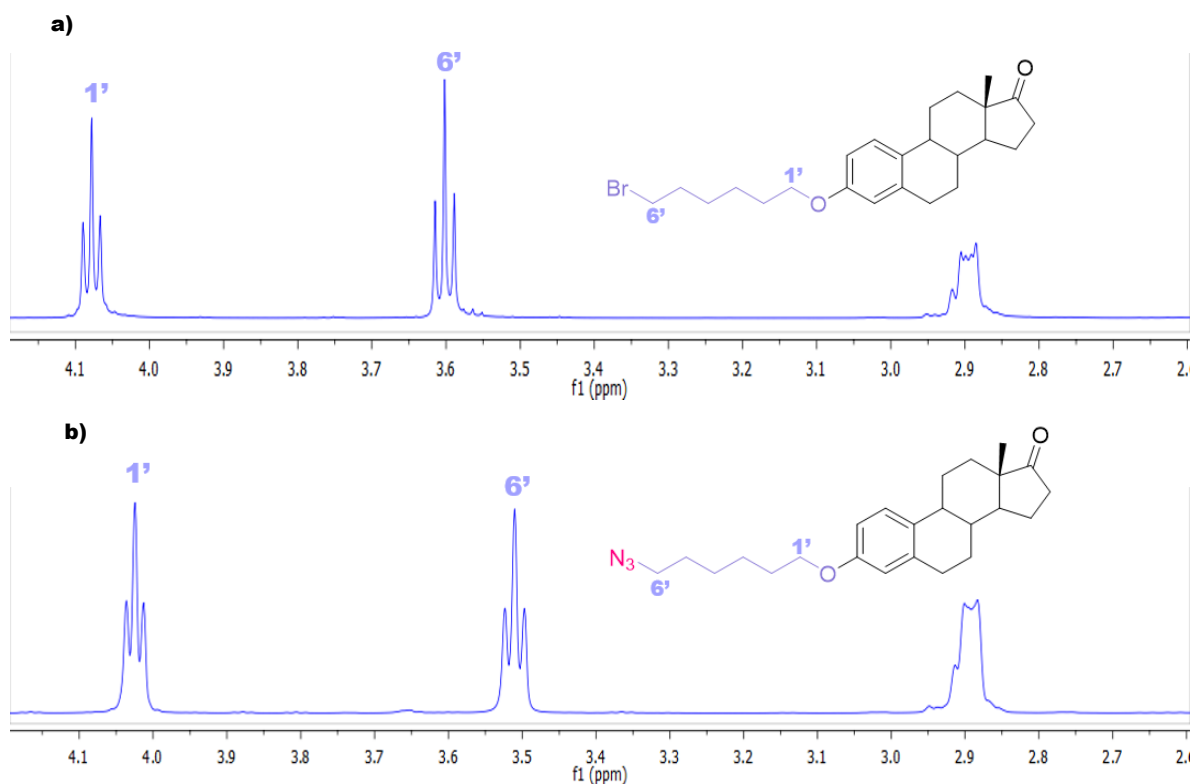


Figura 10. a) Espectro de ^1H -RMN 500 MHz en CDCl_3 del compuesto **2d**. b) Espectro de ^1H -RMN 500 MHz en CDCl_3 del compuesto **3d**.

Sin embargo, en el espectro de ^{13}C -RMN la señal del metileno se desplazó de 31.59 ppm a un intervalo entre 48.29- 51.38 ppm, evidenciando la transformación química (**Figura 11**).

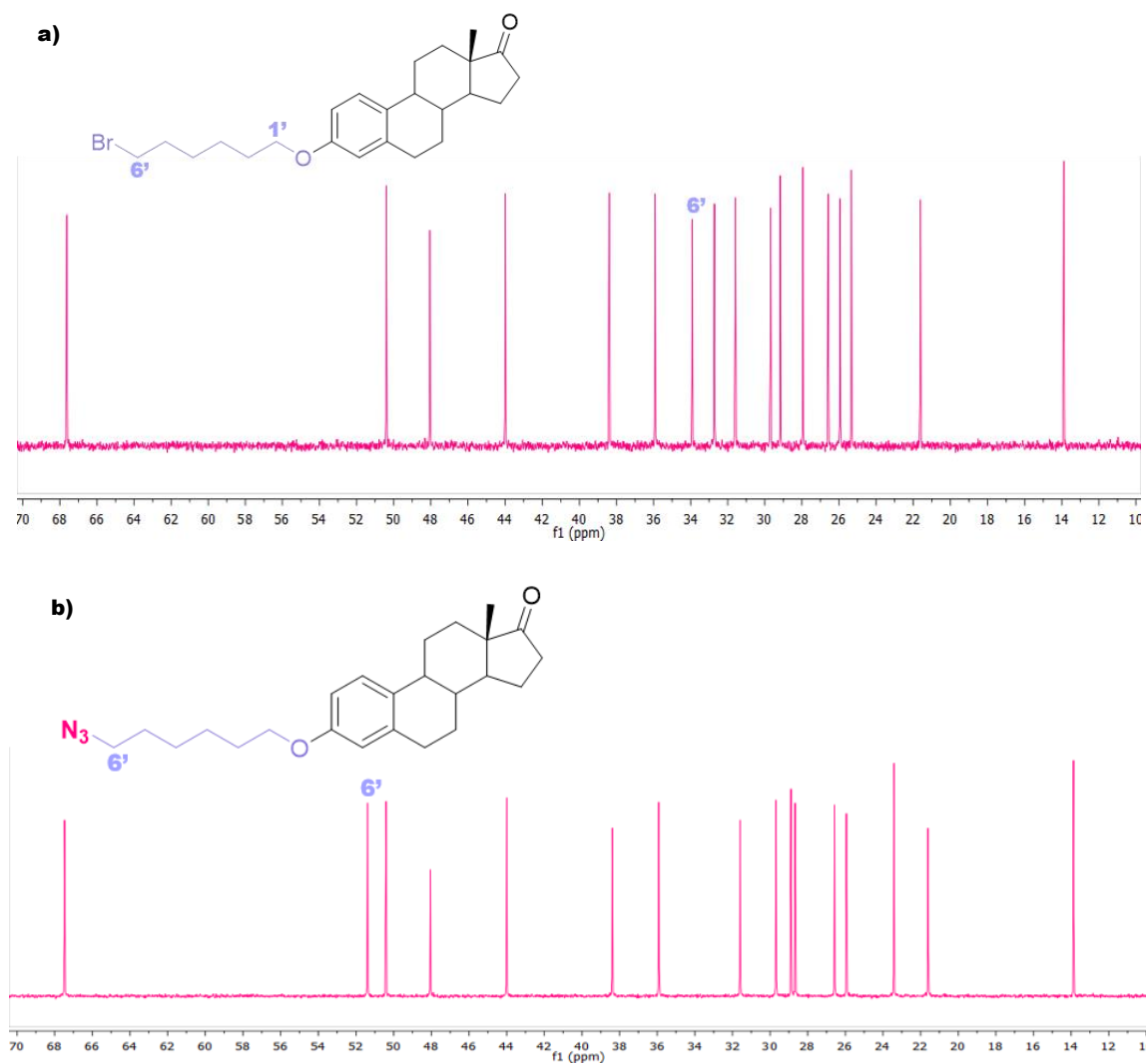
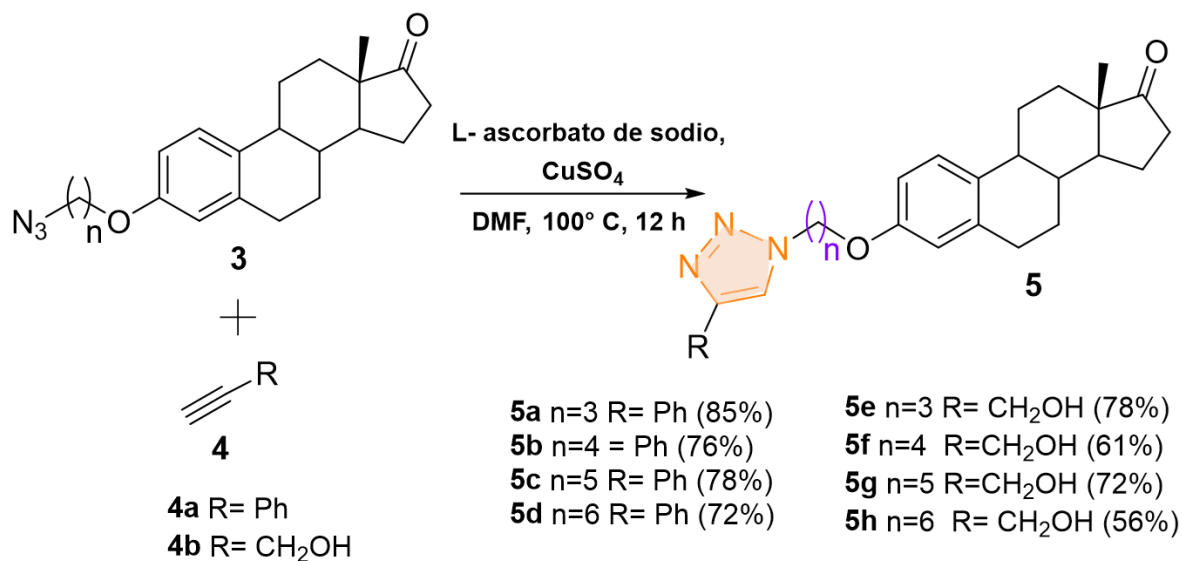


Figura 11. a) Espectro de ^{13}C -RMN 125 MHz en CDCl_3 del compuesto **2d**. b) Espectro de ^{13}C -RMN 126 MHz en CDCl_3 del compuesto **3d**.

El siguiente paso, que consistió en la reacción CuAAC (**Esquema 3**) se siguió la metodología planteada por Hussain *et al.*⁸⁷ En primera instancia se planteó utilizar los compuestos azidoalquil derivados **3** sin purificar, únicamente tratando la reacción con salmuera para eliminar el DMF y el exceso de NaN_3 . Sin embargo, en un primer ensayo se observó un rendimiento bajo (56%). Para descartar la posibilidad de que residuos de azida de sodio

⁸⁷ Hussain, M., Qadri, T., Hussain, Z., Saeed, A., Channar, P. A., Shehzadi, S. A., Hassan, M., Larik, F. A., Mahmood, T., & Arif, M. (2019). Synthesis, antibacterial activity and molecular docking study of vanillin derived 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles as inhibitors of bacterial DNA synthesis. *Heliyon*, 5(11), e02812. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e0281>

podieran haber reaccionado con el cobre utilizado como catalizador,⁸⁶ se decidió purificar los compuestos mediante cromatografía en columna.



Esquema 3. Síntesis de triazoles 1,2,3 disustituidos en posiciones 1,4.

Se hicieron reaccionar los compuestos **3** (**3a-d**), con los alquinos comerciales fenilacetileno o alcohol propargílico respectivamente, en DMF, la reacción se mantuvo a 100° C durante 12 horas. Se utilizó como catalizador CuSO₄, que proporcionó iones Cu (II) al medio; estos pasaron por un proceso de reducción con L-ascorbato de sodio que permitió la formación de iones Cu (I) *in situ*, siendo estos los últimos los que catalizan la reacción de cicloadición 1,3-alquino-azida, dando como resultado de manera selectiva el triazol disustituido en posiciones 1,4; de acuerdo con la metodología reportada.

La reducción *in situ* de sales de cobre (II) tiene como principal ventaja que no requiere de atmosfera inerte para evitar la oxidación del cobre (I) a cobre (II) en presencia del oxígeno atmosférico,⁸⁶ ya que el Cu(II) se reduce reiteradamente por acción del ascorbato de sodio presente en la reacción, de manera que el Cu(I) puede ingresar nuevamente al ciclo catalítico; de tal manera que este enfoque ofrece además una disminución de costos debido al uso de disolventes no anhidros y la simplificación las condiciones de reacción. Además, se ha demostrado que se obtienen rendimientos mayores con el uso de este sistema catalítico de

reducción *in situ* comparado con la utilización de sales de Cu (I) tales como CuI; Jankovič y colaboradores reportaron la sustitución del CuSO₄ por CuI obteniendo una disminución en el rendimiento de reacción, y se obtuvieron rendimientos aún más bajos en ausencia de ascorbato de sodio,⁷⁸ corroborando que el uso del ascorbato de sodio además es una buena estrategia para asegurar la permanencia de iones Cu(I) en el medio de reacción, aun cuando se utilicen sales de Cu(I).

Para la asignación estructural del triazol se utilizó como referencia el desplazamiento químico reportado en la literatura para triazoles disustituídos en posiciones 1,4 y 1,5. De acuerdo con estos reportes, en el caso de ¹H-RMN no se observa una diferencia significativa en los desplazamientos químicos de los protones de los isómeros 1,4 y 1,5 disustituídos; sin embargo, si se ha observado una tendencia en los desplazamientos químicos encontrados en los espectros de ¹³C-RMN. Mientras que el carbono de la posición 4 se encontró en un intervalo de desplazamiento químico de 117-123 ppm; el carbono de la posición 5 presentó un desplazamiento químico de 130-136 ppm,⁸⁸ mismos que permiten una correlación en los espectros dos dimensiones (2D). Para el caso de este trabajo, con los datos de correlación de los espectros de dos dimensiones del protón del triazol y el carbono al que se encuentra directamente unido. Así, se identificaron a los compuestos obtenidos como 1,2,3-triazoles disustituídos en posiciones 1,4 consistentes con la bibliografía para las reacciones tipo CuAAC.

En el caso de los derivados de fenilacetileno (**5a-d**), se obtuvieron con rendimientos moderados (58-78%), siendo el rendimiento global de la ruta sintética de 67 a 79% partiendo desde estrona. La caracterización (**Figura 12**) a través de ¹H-RMN permitió identificar las señales pertenecientes a los protones del anillo aromático del sustituyente fenilo entre 7.82 y 7.32 ppm, así como la señal correspondiente al hidrogeno de la posición 5' del triazol formado en un desplazamiento promedio de 7.76 ppm como una señal simple. Por otro lado, en el espectro de ¹³C se identificaron los carbonos correspondientes al anillo de fenilo y al triazol en la región característica de los carbonos aromáticos.

⁸⁸ Creary, X., Anderson, A. S., Brophy, C., Crowell, F., & Funk, Z. (2012). Method for Assigning Structure of 1,2,3-Triazoles. *J. Org. Chem.*, 77(19), 8756-8761. <https://doi.org/10.1021/jo301265t>

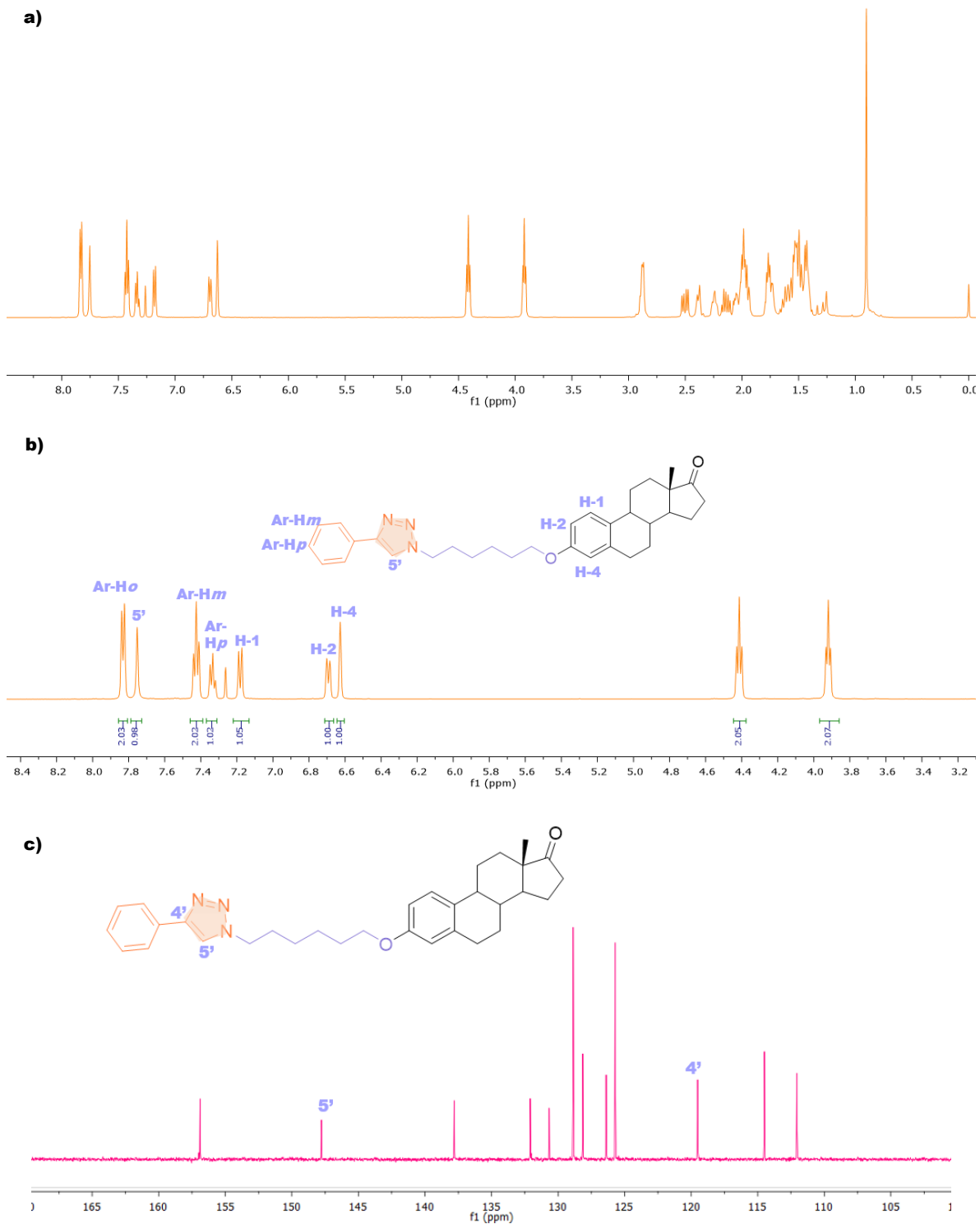


Figura 12. a) y b) Espectro de ^1H -RMN 500 MHz en CDCl_3 del compuesto **5d**. c) Espectro de ^{13}C RMN de 126 MHz en CDCl_3 del compuesto **5d**.

Por otra parte, los derivados del alcohol propargílico (**5e-h**) se obtuvieron en rendimientos bajos (22-32%); con rendimientos globales del 19-29%, siguiendo la metodología anteriormente descrita.

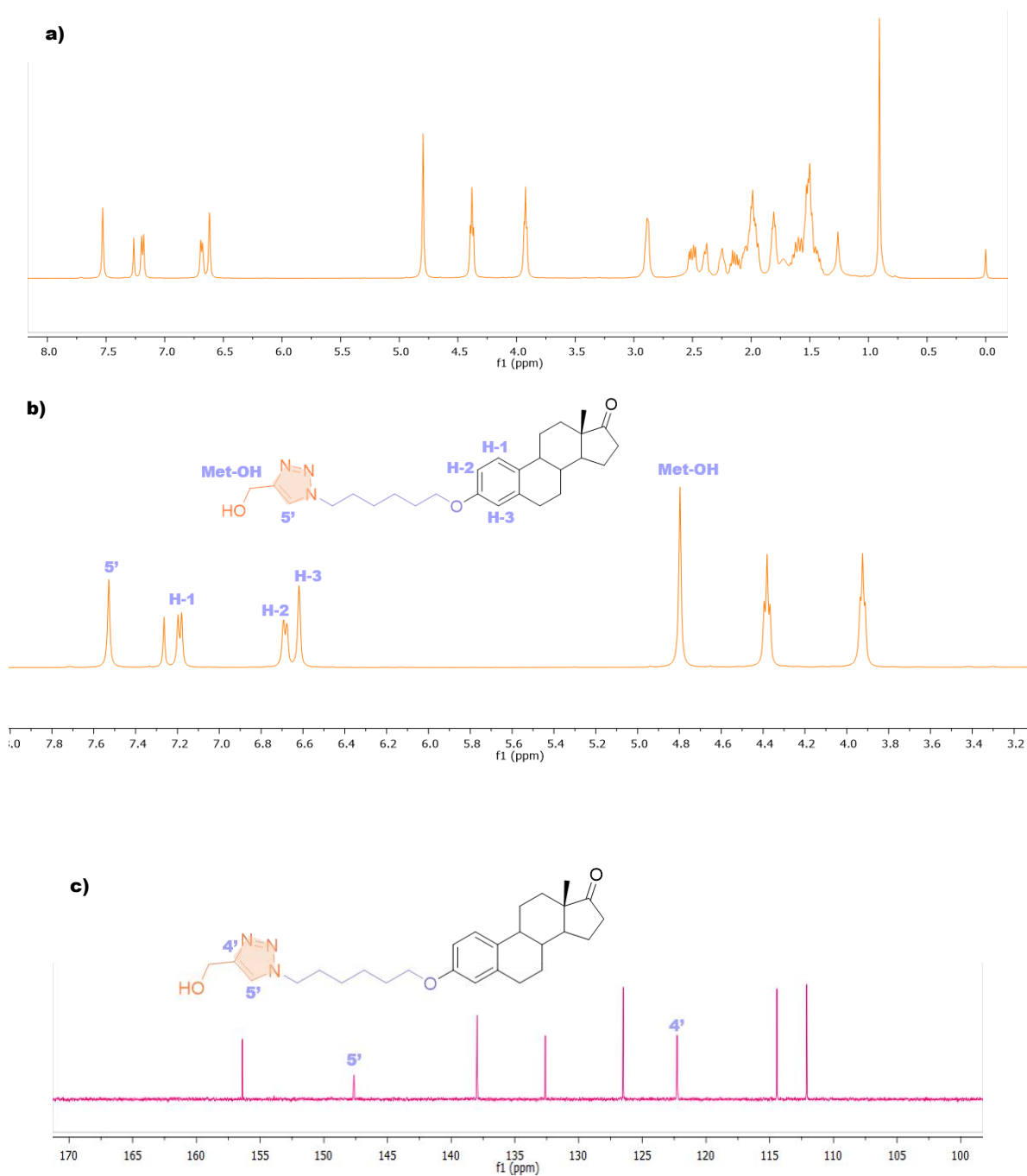


Figura 13. a) y b) Espectro de ^1H -RMN 500 MHz en CDCl_3 del compuesto **5h**. c) Espectro de ^{13}C -RMN 126 MHz en CDCl_3 del compuesto **5h**.

En el espectro de ^1H -RMN de los compuestos **5e-h** se identificó la señal característica del protón de la posición 5' del 1,2,3-triazol en un valor promedio de 7.55 ppm, así como el grupo metileno que sustituye a la posición 4', a pesar de que los protones de este metileno son diasterotópicos, se observaron en el espectro como una señal simple que integra para dos protones entre 4.77-4.80 ppm; lo que indica que se encuentran en un ambiente electrónico muy similar (**Figura 13**).

Ya que observamos una disminución en el rendimiento, se propuso modificar las condiciones de reacción. Por lo que, como primera intervención, se modificó el disolvente utilizado, considerando que estos disolventes no permitirían conservar las condiciones de temperatura (100° C), se propuso mantener las condiciones de temperatura a reflujo durante el mismo periodo de tiempo (12-16 horas).

Tabla 1. Condiciones de reacción utilizados para los ensayos de cambio de disolvente para la obtención de los compuestos **5e-5h**.

Temperatura	Disolvente	% de rendimiento
Reflujo	MeOH/H ₂ O	*
Reflujo	EtOH/ H ₂ O	*
Reflujo	ButOH/ H ₂ O	---
Reflujo	Isopropanol/H ₂ O	---
Reflujo	Octanol/ H ₂ O	---
Reflujo	Acetonitrilo	---
Reflujo	Acetona	*
Reflujo	DCM/MeOH	*
Reflujo	THF	---

*No se observó reacción

--- se observó reacción, pero no se logró aislar el producto

Los resultados anteriormente descritos no fueron favorables. En primer lugar, se intentaron replicar las condiciones estándar de la reacción de cicloadición alquino-azida tipo *click*, donde se utilizan diferentes mezclas alcohol-agua como disolvente de la reacción.⁸⁶ Sin embargo, los derivados azidoalquílicos demostraron baja solubilidad a temperatura ambiente, que si bien aumentaba un poco con el incremento de la temperatura, no se logró solubilizar completamente el fragmento esteroideal, de manera que la reacción procedió con bastante

lentitud y los productos de reacción no se lograron aislar. Con esta observación, se decidió disminuir la polaridad de los disolventes utilizados buscando que, al mejorar la solubilidad, la reacción se favoreciera en mayor medida, sin embargo, no se observó este efecto.

En este punto, considerando la metodología planteada que incluye lavados con soluciones acuosas para eliminar la DMF utilizada en el medio de reacción, se contempló la posibilidad de que el aumento considerable en la polaridad de los productos **5e-h** pudiera hacer que estos pasaran a la fase acuosa, resultando en un rendimiento pobre. Para eliminar este factor, se llevó a cabo la co-evaporación de DMF con tolueno empleando bomba de alto vacío hasta sequedad. Esto permitió mejorar los rendimientos de la reacción entre el 56-62%. Por último, siguiendo la metodología descrita por Hussain *et al.*⁸⁷ se manejó una equivalencia 2:1 derivados azidoalquilo y los alquinos. Con el objetivo de mejorar la economía atómica, se decidió reducir la cantidad de reactivos a una relación 1:1 (**Tabla 2**). Esta modificación permitió aumentar los rendimientos hasta un 98%.

Tabla 2. Comparación de los rendimientos obtenidos al modificar las condiciones de reacción de la CuAAC para la obtención de los compuestos **5e-h**.

	Rendimiento de la reacción		
	Lavados con salmuera	Evaporación del disolvente	Cambio de equivalentes
5e	32	78	98
5f	28	61	95
5g	22	72	95
5h	25	56	82

Con estas consideraciones, se optó por optimizar la obtención de los compuestos derivados de fenilacetileno **5a-d** mediante la co-evaporación directa del disolvente utilizando tolueno y ajustando la relación estequiométrica. Esta estrategia mejoró los rendimientos de la reacción hasta un 95 % (**Tabla 3**).

Tabla 3. Comparación de los rendimientos obtenidos al modificar las condiciones de reacción de la CuAAC para la obtención de los compuestos **5a-d**.

	Rendimiento de la reacción (%)	
	Lavados con salmuera	Evaporación del disolvente y cambio de equivalentes
5a	86	95
5b	76	92
5c	78	92
5d	72	89

Una vez optimizadas estas condiciones de reacción, se planteó la obtención de los 1,2,3-triazoles disustituidos en posiciones 1,4 a partir de los alquinos bromuro de propargilo y propargilamina. Sin embargo, en ambos casos observamos que la materia prima no se consumió totalmente.

En el caso de los derivados de bromuro de propargilo, a través de CCF (Cromatografía en Capa Fina) observamos la formación de una gran cantidad de subproductos, algunos de ellos no fueron lo suficientemente estables para lograr aislarlos. Por otro lado, los que se lograron aislar pertenecen a los azido-alquil derivados, sin observarse las señales características de la formación del heterociclo.

Kumar *et. al.*,¹¹ reportaron una serie de 1,2,3- triazoles disustituidos en posiciones 1,4 como híbridos derivados de cumarinas; mismos que fueron identificados a través de ¹H-RMN con señales características del protón de la posición 5 del triazol como un singulete con desplazamientos químicos entre 8.04-7.89 ppm, así como la señal perteneciente al metileno que sustituye en la posición 4 como un señal simple que integra para dos protones con desplazamientos químicos situados entre 4.58- 4.62 ppm. Por otro lado, Hussain *et al.*,⁸⁷ reportaron la formación de este tipo de heterocíclicos híbridos de vainillina, mismos que señalan la identificación de estos compuestos a través de estas señales características en rangos de desplazamiento químico similares a los mencionados anteriormente. Ya que en

espectros de los subproductos que logramos aislar de estos ensayos no observamos estas señales características, concluimos que no apreciamos la formación de este producto.

En el caso de los derivados de propargilamina, tampoco se observó el consumo completo de la materia prima. A través de cromatografía en columna, se lograron aislar compuestos identificados como los derivados alquilazido. Krzywik et. al⁸⁹ reportaron la obtención de derivados 1,2,3-triazoles a partir de la modificación estructural de la colchicina usando una aproximación sintética similar, a través de una CuAAC con un sistema catalítico CuSO₄/ascorbato de sodio obteniendo un rendimiento del 25%; por lo que se intentó replicar sus condiciones de reacción sin tener éxito de aislar productos identificables.

⁸⁹ Krzywik, J., Nasulewicz-Goldeman, A., Mozga, W., Wietrzyk, J., & Huczyński, A. (2021). Novel Double-Modified Colchicine Derivatives Bearing 1,2,3-Triazole: Design, Synthesis, and Biological Activity Evaluation. *ACS Omega*, 6(40), 26583-26600. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03948>

4.2 Evaluación *in silico* de propiedades fisicoquímicas y de actividad biológica

4.2.1 Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas pueden impactar directamente el comportamiento de una molécula al interactuar con un sistema vivo.⁹⁰ Por ejemplo, propiedades como el tamaño molecular y el coeficiente de partición determinarán la probabilidad de que un compuesto atraviese las membranas biológicas y pueda interactuar con receptores intracelulares.⁹¹ Además, determinar propiedades involucradas en la absorción y la biodisponibilidad de las moléculas.⁹²

Los descriptores moleculares que se utilizan con frecuencia incluyen el peso molecular (MW), el coeficiente de partición octanol/agua (SlogP), el área de superficie polar topológica (TPSA), los donantes de enlaces de hidrógeno (HBD), los aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA) y el número de enlaces rotativos (RB). Estos descriptores se utilizan normalmente para cuantificar características similares a fármacos o fármacos en desarrollo. En general, estos descriptores pretenden capturar tres características significativas de interés en el desarrollo de fármacos: tamaño (MW), polaridad (SlogP, TPSA, HBD, HBA) y flexibilidad (RB).⁹³

Es por esto que se han desarrollado una serie de parámetros fisicoquímicos que tienen como finalidad asegurar que las moléculas analizadas cumplan con los requisitos mínimos para que, a este nivel, una molécula sea considerada apta como candidato a evaluaciones de actividad biológica y de propiedades farmacocinéticas.

4.2.2 Molinspiration

Molinspiration es una plataforma en línea que ofrece una variedad de herramientas para la química computacional y la bioinformática, principalmente enfocadas en el diseño y análisis

⁹⁰ Bunally, S., Luscombe, C. N., & Young, R. J. (2019). Using Physicochemical Measurements to Influence Better Compound Design. *SLAS Discov.*, 24(8), 791-801. <https://doi.org/10.1177/2472555219859845>

⁹¹ Malan, S. F., Chetty, D. J., & Du Pressis, J. (2002). Physicochemical properties of drugs and membrane permeability. *S. Afr. J. Sci.*, 98, 385-391. <https://doi.org/10.10520/EJC97511>

⁹² Raevsky, O. A. (2004). Physicochemical Descriptors in Property-Based Drug Design. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 4(10), 1041-1052. <https://doi.org/10.2174/1389557043402964>

⁹³ Martinez-Mayorga, K., Madariaga-Mazon, A., Medina-Franco, J. L. & Maggiora, G. (2020). The impact of chemoinformatics on drug discovery in the pharmaceutical industry. *Expert Opin. Drug. Discov.*, 15(3), 293-306. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1696307>

de moléculas. Las herramientas de Molinspiration son ampliamente utilizadas en el campo de la química medicinal para evaluar las propiedades y actividades de los compuestos químicos (logP, área de superficie polar, número de donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno y otros). Es uno de los sitios más populares para llevar a cabo este tipo de cálculos, con un estimado de más de 80 000 moléculas analizadas por mes.⁹⁴

Los compuestos **5a-h** fueron analizados utilizando la plataforma Molinspiration, obteniéndose los resultados presentados en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Resultados de parámetros fisicoquímicos obtenidos del programa molinspiration.

Compuesto	LogP	MW	nON	nOHNH	# Violaciones	TPSA	Enlaces rotables
Criterio	<5	<500	<10	<5	<2	140 Å	<10
5a	5.02	441.57	5	0	1	57.02	6
5b	5.29	455.6	5	0	1	57.02	7
5c	5.80	469.63	5	0	1	57.02	8
5d	6.30	483.66	5	0	1	57.02	9
5e	2.92	395.50	6	0	0	77.25	6
5f	3.19	409.53	6	0	0	77.25	7
5g	3.70	423.56	6	0	0	77.25	8
5h	4.21	437.58	6	0	0	77.25	9

En primer lugar, se pudo observar que cuatro de los compuestos evaluados, específicamente aquellos que contienen un anillo fenilo como sustituyente en la posición 4 de los triazoles (**5a-d**) no cumplen con el valor óptimo de LogP. Este parámetro está relacionado con la capacidad de un compuesto de atravesar las membranas biológicas a través de un sistema de difusión simple (sin requerir de transportadores, canales o involucrar procesos energéticos),⁹⁵ sin embargo, es importante considerar que las moléculas de tipo esteroidal tienen una

⁹⁴ Molinspiration – cheminformatics [last accessed: November 2023] www.molinspiration.com

⁹⁵ Chandrasekaran, B., Abed, S. N., Al-Attraqchi, O., Kuche, K., & Tekade, R. K. (2018). Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. En *Elsevier eBooks* (pp. 731-755). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814421-3.00021-x>

excelente capacidad para atravesar membranas celulares⁹⁶ y pueden unirse a transportadores específicos lo que evita la necesidad de una difusión simple a través de la membrana.⁹⁷

Todas las moléculas de interés biológico cumplen con un peso molecular <500 Da, por lo que, a pesar de su tamaño, para fines de análisis de química medicinal se consideran como moléculas pequeñas.

En cuanto al número de aceptores de puentes de hidrogeno (que se cuantifican a través de la suma de nitrógenos y oxígenos presentes), así como el número de donadores de puentes de hidrógeno (cuantificados por la presencia de grupos amino y grupos hidroxilo). Los compuestos evaluados cumplen con las características indicadas. Estos parámetros se deben considerar ya que los puentes de hidrógeno son enlaces no covalentes que frecuentemente se encuentran en las interacciones ligando-receptor.⁹⁸ Además, están también relacionados con la polaridad, de manera que pueden modificar el perfil de permeabilidad y biodisponibilidad del compuesto.⁹⁹

El parámetro TPSA que se refiere a el área polar superficial topográfica se toma en cuenta como una medida de la polaridad, observamos que ninguno de los compuestos se encuentra cerca del límite (140 Å²), sin embargo, usualmente se considera como punto de corte 60-90 Å² para considerar que puede atravesar la barrera hematoencefálica, y por lo tanto tener actividad a nivel de sistema nervioso central.¹⁰⁰ Por lo que esto enciende las alertas sobre la posibilidad de un efecto secundario a nivel neurológico.

Por otro lado, el número de enlaces rotables se asocia con un mayor número de conformeros que se puedan adaptar a los sitios activos de las proteínas, tanto a la del blanco molecular deseado y a otros más, a lo que se denomina como promiscuidad,¹⁰¹ por lo tanto, una

⁹⁶ Bansal, R., & Suryan, A. (2022). A Comprehensive Review on Steroidal Bioconjugates as Promising Leads in Drug Discovery. *ACS Bio & Med Chem Au*, 2(4), 340-369. <https://doi.org/10.1021/acsbiomedchemau.1c00071>

⁹⁷ Okamoto, N., Viswanatha, R., Bittar, R., Li, Z., Haga-Yamanaka, S., Perrimon, N. & Yamanaka, N. (2018). A Membrane Transporter Is Required for Steroid Hormone Uptake in *Drosophila*. *Dev. Cell*, 47(3), 294-305.e7. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.09.012>

⁹⁸ Kenny, P. W. (2022). Hydrogen-Bond Donors in Drug Design. *J. Med. Chem.*, 65(21), 14261-14275. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01147>

⁹⁹ Coimbra, J. T. S., Feghali, R., Ribeiro, R. P., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2021). The importance of intramolecular hydrogen bonds on the translocation of the small drug piracetam through a lipid bilayer. *RSC Adv.*, 11(2), 899-908. <https://doi.org/10.1039/d0ra09995c>

¹⁰⁰ Shityakov, S., Neuhaus, W., Dandekar, T., & Förster, C. (2013). Analysing molecular polar surface descriptors to predict blood-brain barrier permeation. *Int. J. Comput. Biol. Drug Des.*, 6(1/2), 146. <https://doi.org/10.1504/ijcbdd.2013.052195>

¹⁰¹ Redhair, M., & Atkins, W. M. (2021). Analytical and functional aspects of protein-ligand interactions: Beyond induced fit and conformational selection. *Arch. Biochem. Biophys.*, 714, 109064. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.109064>

disminución en la selectividad del ligando por la proteína blanco. Todos los compuestos evaluados se encuentran dentro del rango aceptable de enlaces rotables.

Considerando estos resultados, de acuerdo al programa molinspiration se considera que los compuestos cumplen con la mayoría de estos parámetros fisicoquímicos, exceptuando el de solubilidad; el cual se contabiliza como una violación.

4.2.3 Predicción de actividad biológica

Para el desarrollo de moléculas bioactivas se ha vuelto clave identificar las proteínas objetivo, de manera que esto permita obtener información relativa a los procesos biológicos involucrados. El aporte de los enfoques bio y quimioinformáticos permite estimar los objetivos más probables, de manera que a partir de un ligando se puedan obtener los blancos más probables.¹⁰² Actualmente se encuentran disponibles en línea diversos predictores de actividad biológica que permiten el estudio de moléculas pequeñas.

4.2.3.1 Pass Online

El programa PASS permite estimar el probable perfil de actividad biológica de un compuesto que es evaluado como potencial fármaco de acuerdo a su fórmula estructural, para lo cual el primer requisito que debe cumplir los compuestos a evaluar es que tenga un tamaño entre los 50 y 125 Da.¹⁰³

De una manera simplificada, se puede explicar el funcionamiento de este programa como un análisis de las relaciones estructura-actividad de un conjunto de sustancias farmacológicas que incluyen candidatos a fármacos, en diversas etapas de investigación preclínica y clínica, así como compuestos con actividad tóxica específica. Lo que permite categorizar las

¹⁰² Brogi, S., Ramalho, T. C., Kuca, K., Medina-Franco, J. L. & Valko, M. (2020). Editorial: In silico Methods for Drug Design and Discovery. *Front. Chem.*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00612>

¹⁰³ Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Glorizova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V. & Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 50(3), 444-457. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>

moléculas como “activas” o inactivas”, para lo cual se ha calculado un porcentaje de predicción promedio del 95%.¹⁰³

Los resultados se obtienen a través de una lista de tipos de actividad y su probabilidad de “estar activo” P_a y “estar inactivo” que varían de 0 a 1. De manera que la probabilidad de encontrar una actividad dada incrementa a medida que el valor de P_a aumenta y el valor de P_i disminuye.¹⁰³ Entonces los resultados se pueden interpretar de la siguiente manera:

- Si $P_a > 0.7$: La molécula que se está analizando presenta actividad biológica, significando que existen agentes farmacéuticos similares en su base de datos que son análogos a ese compuesto bioactivo.
- Si el $0.5 < P_a < 0.7$: El compuesto bioactivo no es muy conocido y por lo tanto no será análogo a algún agente farmacéutico conocido.
- Si $P_a < 0.5$: La molécula analizada no comparte alguna similitud con agentes farmacéuticos en su base de datos. Interpretándose que el compuesto bioactivo es una nueva clase de molécula para actividades biológicas que se deseen analizar.
- Cuando los valores de P_a y P_i son similares, se considera que hay una probabilidad del 50% de que el compuesto analizado presente la actividad biológica descrita.

Considerando lo anterior, se llevó a cabo el análisis de las moléculas **5a-h** con el objetivo de obtener resultado de su potencial actividad biológica. Del total de resultados obtenidos se consideraron solo aquellos resultados con un valor de $P_a > 0.7$ y que además tuvieran un resultado de $P_a \gg P_i$ (**Tabla 5**).

Tabla 5. Análisis de los compuestos **5a-h** a través del programa *PASS Online* para la determinación de potencial actividad biológica. Pa: Probabilidad de actividad Pa: Probabilidad de inactividad.

Actividad	Compuestos								
		5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g	5h
Anti-seborreico	Pa	0.807	0.731	0.624	0.679	0.729	0.735	0.613	0.613
	Pi	0.004	0.032	0.051	0.041	0.032	0.031	0.053	0.053
Inhibidor de 3(o 17)beta hidroxisteroide	Pa	0.726	0.704	--	0.695	0.675	0.515	0.639	0.639
	Pi	0.001	0.001	--	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001
Inhibidor oxidoreductasa	Pa	0.704	0.751	0.724	0.767	0.666	0.777	0.734	0.734
	Pi	0.013	0.010	0.013	0.009	0.020	0.008	0.012	0.012
Inhibidor de ovulación	Pa	0.625	0.603	0.626	0.610	0.567	0.625	0.552	0.552
	Pi	0.013	0.017	0.013	0.015	0.027	0.013	0.033	0.033
Inhibidor de N-acetilglucosaminiltransferasa	Pa	0.609	0.637	0.637	0.608	0.636	0.742	0.635	0.0635
	Pi	0.012	0.009	0.009	0.012	0.010	0.004	0.010	0.010
Tratamiento en trastornos menopausicos	Pa	0.571	0.555	0.565	0.555	0.558	0.590	0.542	0.542
	Pi	0.008	0.009	0.008	0.009	0.009	0.007	0.010	0.010

De acuerdo con los resultados obtenidos, los compuestos evaluados presentan como actividades principales: antiseborreico, inhibidor de 3β - o 17β -hidroxisteroide, inhibidor de la ovulación, inhibidor de la N-acetilglucosaminiltransferasa y tratamiento en trastornos menopáusicos. Todas estas actividades se relacionan con lo mencionado anteriormente acerca de la función de la actividad biológica de compuestos derivados de la estrona.¹⁰⁴ Por lo que se puede concluir que los compuestos propuestos para este trabajo cumplen con propiedades similares a los derivados de la estrona ya reportados y por lo tanto tienen probabilidades de presentar actividad biológica.

¹⁰⁴ Szabó, J., Pataki, Z., Wölfling, J., Schneider, G., Bózsity, N., Minorics, R., Zupkó, I., & Mernyák, E. (2016). Synthesis and biological evaluation of 13α -estrone derivatives as potential antiproliferative agents. *Steroids*, 113, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.05.010>

4.2.3.2 Swiss Target Prediction

Este sitio web permite estimar los blancos macromoleculares más probables de una molécula pequeña, asumida como bioactiva. La predicción se basa en una combinación de similitud 2D y 3D con una biblioteca de 370.000 moléculas activas conocidas en más de 3000 proteínas de tres especies diferentes. De manera que los resultados indican la probabilidad de que una molécula evaluada tenga una determinada proteína como diana, pero no la probabilidad de ser bioactiva.¹⁰⁵

De los compuestos evaluados, los derivados de fenilacetileno (compuestos **5a-5d**) presentaron una probabilidad de 1.06 de unirse a una serie de 58 receptores humanos que contempla enzimas, quinasas, receptores acoplados a proteína G, proteasas, receptores de membrana, etc; mientras que los derivados de alcohol propargílico (compuestos **5e-5h**) mostraron una probabilidad de 0.125 de unirse a 53 receptores de distintos tipos (Tabla 6). Estos resultados indican que no se observa selectividad alguna, además, considerando que los valores en la escala de cero a uno, estos valores resultan de baja probabilidad de interacción con los receptores diana.

¹⁰⁵ Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic. Acids Res.*, *47*(W1), W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>

Tabla 6. Resultados representativos de predicción de actividad biológica a través del programa Swiss Target Prediction.

Compuesto	Blanco/target	Tipo	Probabilidad de unión
5a-d	6-fosphofructo-2-quinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa 3	Enzima	0.106
	Receptor de factor de crecimiento de hepatocitos	Quinasa	0.106
	Receptor 2 de cannabinoides	Receptor acoplado a proteína G	0.106
	Factor de coagulación IX	Proteasa	0.106
	Molecula de adhesión intracelular (ICAM-1), Integrina alpha-L/beta-2	Receptor de membrana	0.106
5e-h	Renina	Proteasa	0.125
	Proteina-glutamina gamma-glutamyltransferasa	Enzima	0.125
	Receptor muscarínico de acetilcolina M3	Receptor acoplado a proteína G	0.125
	Tirosin-protein quinasa TIE-2	Quinasa	0.125
	Molecula de adhesión intracelular (ICAM-1), Integrina alpha-L/beta-2	Receptor de membrana	0.125

Al final estos resultados se deben evaluar desde la perspectiva de que se basan en similitud, por lo que están condicionados a la existencia de estructuras similares en las bases de datos utilizadas en el programa.¹⁰⁵ Por lo tanto, para aquellos compuestos que no arrojaron un resultado favorable, es importante considerar la posibilidad de que se relacione con la ausencia de compuestos de referencia similares, en lugar de con la ausencia de actividad biológica.

4.2.3.3 CLC-Pred predicción del efecto citotóxico de los compuestos en líneas celulares de cáncer

CLCL-Pred es un servicio web disponible para la predicción de citotoxicidad de compuestos químicos contra líneas celulares normales y tumorales de diversos tejidos. Cada tabla de resultados incluye los valores de Pa (probabilidad de actividad) y Pi (probabilidad de inactividad), el nombre de las líneas celulares y el nombre del tejido. Estos datos permiten dar el seguimiento correspondiente al tipo de cáncer asociado.¹⁰⁶

Sin embargo, se debe considerar que la predicción de citotoxicidad contra cada línea celular se ejecuta de forma independiente de otras líneas celulares con una precisión de predicción diferente. Por lo que cada resultado se debe considerar de manera individual. Al igual que en el caso de PASS-online, los resultados a considerar son aquellos donde Pa>Pi. Además, el punto de corte se posicionó el valor de Pa>0.5.

Los resultados de los compuestos evaluados indican que sólo cuatro de ellos (**5a, 5b, 5e, 5f**) tienen probabilidad mayor al 50% de presentar actividad contra líneas celulares en pulmón y piel (**Tabla 7**). Sin embargo, debido a antecedentes sobre derivados de la estrona como agentes antiproliferativos, sobretodo actuando sobre líneas celulares de cáncer de mama se esperaba encontrar resultados relacionados a estos antecedentes.¹⁰⁴

Tabla 7. Resultados de la actividad citotóxica en líneas celulares cancerígenas

Tejido	Línea celular		Compuestos			
			5 ^a	5 ^b	5 ^e	5 ^f
Piel	UACC-62	Pa	0.544	0.529	0.528	*
		Pi	0.014	0.012	0.012	*
Pulmón	MDA-MB-231	Pa	0.544	0.514	0.514	0.503
		Pi	0.029	0.034	0.034	0.037

*Valores de probabilidad menores a 0.5

¹⁰⁶ Lagunin, A. A., Dubovskaja, V. I., Rudik, A. V., Pogodin, P. V., Druzhilovskiy, D. S., Glorizova, T. A., Filimonov, D. A., Sastry, N. G. & Poroikov, V. V. (2018). CLC-Pred: A freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS ONE*, 13(1), e0191838. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191838>

También es destacable mencionar que los compuestos evaluados no presentan actividad de citotoxicidad sobre líneas celulares de células sanas.⁵³ Esto es especialmente importante debido a que la citotoxicidad sobre líneas celulares no cancerígenas se asocia a efectos secundarios.

4.3 Docking molecular

De acuerdo con los resultados obtenidos de la predicción de actividad, en su mayoría estas son dirigidas por la porción esteroidea y hacia la vía de síntesis de estrógenos. Por ello, en este trabajo planteamos la evaluación de la unión de los compuestos obtenidos a enzimas como la enzima aromatasa y la 17- β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa.

A medida que se ha descrito la implicación de las hormonas sexuales en el desarrollo de diversas patologías; las vías de síntesis y regulación hormonal se han convertido en un objetivo en procesos de diseño y obtención de compuestos con actividad biológica. Por ejemplo, se ha determinado que el cuarenta por ciento de todos los cánceres, concretamente el de mama, próstata, ovario y útero, son sensibles a los esteroides sexuales y, por tanto, son candidatos ideales para enfoques basados en el control de la actividad endocrina.¹⁰⁷

4.3.1 Aromatasa

La enzima conocida comúnmente como aromatasa pertenece a la superfamilia de citocromos P450, por lo tanto, la enzima se reconoce como P450 19A1. Su función es la conversión de andrógenos a estrógenos. Es decir, la obtención de estrona, 17 β -estradiol y 17 β ,16 α -estriol a partir de androstendiona, testosterona y 16-hidroxitesterona. De manera concreta, cataliza la desmetilación del carbono 19 de los andrógenos, produciendo estrógenos fenólicos de 18 carbonos.¹⁰⁸ La conversión ocurre en tres pasos, los dos primeros corresponden a una

¹⁰⁷ Labrie, F., Luu-The, V., Lin, S., Labrie, C., Simard, J., Breton, R., & Bélanger, A. (1997). The key role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid biology. *Steroids*, 62(1), 148-158. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(96\)00174-2](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(96)00174-2)

¹⁰⁸ Blakemore, J. K., & Naftolin, F. (2016). Aromatase: Contributions to Physiology and Disease in women and men. *Physiol.*, 31(4), 258–269. <https://doi.org/10.1152/physiol.00054.2015>

reacción de C19-metil hidroxilación, y en el último paso se lleva a cabo la aromatización del anillo A del esteroide.¹⁰⁹

Como parte de superfamilia de citocromos P450, comparte la característica estructural de contener un grupo hemo como prostético de la enzima. Además, es un citocromo que requiere NADPH para ejercer su acción.¹¹⁰ Aunque no se han descrito totalmente el mecanismo de transferencia electrónica, se sabe que en cada paso se requiere de O₂ y NADHP.¹⁰⁹

La aromatasa es una enzima cuya actividad está estrechamente regulada. Se expresa principalmente en los ovarios de mujeres premenopáusicas; en la placenta de mujeres embarazadas; y en las células de fibroblastos adiposos de mujeres posmenopáusicas.¹¹⁰ A nivel patológico, se conoce que al menos el 70% de los casos de cáncer de mama expresan receptores de estrógenos. De manera que, los estrógenos se reconocen como esencialmente necesarios para la proliferación.¹¹¹ De ahí que algunos de los tratamientos desarrollados para combatir el cáncer de mama se enfoquen en la inhibición de la enzima aromatasa como medio para interrumpir la síntesis y acción de los estrógenos.

De acuerdo a esta línea de investigación, se han desarrollado al menos 3 generaciones de inhibidores de la aromatasa (AI). Sin embargo, tanto la primera como la segunda generación han destacado por su alto grado de toxicidad y baja selectividad.¹⁰⁹ Los resultados de la actividad biológica de los AI de tercera generación han demostrado ser más efectivos y menos tóxicos, por lo que la FDA (*Food and Drug Administration*) los ha recomendado como tratamiento de primera línea para el carcinoma de mama.¹¹² Esto hace que la búsqueda de nuevos compuestos que puedan replicar o mejorar estos resultados sea un espacio de oportunidad para la síntesis orgánica.

¹⁰⁹ Suvannang, N., Nantasenamat, C., Isarankura-Na-Ayudhya, C., & Prachayasittikul, V. (2011). Molecular docking of aromatase inhibitors. *Mol.*, 16(5), 3597–3617. <https://doi.org/10.3390/molecules16053597>

¹¹⁰ Chan, H. J., Petrossian, K., & Chen, S. (2016). Structural and functional characterization of aromatase, estrogen receptor, and their genes in endocrine-responsive and –resistant breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 161, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.07.018>

¹¹¹ Al-Shami, K., Awadi, S., Khamees, A., Alsheikh, A. M., Al-Sharif, S., Bereshy, R. A., Al-Eitan, S. F., Banikhaled, S. H., Al-Qudimat, A. R., Al-Zoubi, R. M., & Zoubi, M. S. A. (2023). Estrogens and the risk of breast cancer: A narrative review of literature. *Heliyon*, 9(9), e20224. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20224>

¹¹² Thürlimann, B., Hess, D., Köberle, D., Senn, I., Ballabeni, P., Pagani, O., Perey, L., Aebi, S., Rochlitz, C., & Goldhirsch, A. (2004). Anastrozole ('Arimidex') versus tamoxifen as first-line therapy in postmenopausal women with advanced breast cancer: Results of the double-blind cross-over SAKK trial 21/95 - a sub-study of the TARGET (Tamoxifen or 'Arimidex' Randomized Group Efficacy and Tolerability) trial. *Breast Cancer Res. Treat.*, 85(3), 247–254. <https://doi.org/10.1023/b:brea.0000025420.78346.f9>

Para el ensayo *in silico* de los compuestos obtenidos, se llevó a cabo el proceso de validación del sistema, eliminando el ligando co-cristalizado de la proteína, y llevando a cabo un *redocking* con la testosterona (**Figura 14**). El resultado obtenido de la desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés) fue de 0.0865 con una energía de unión de -9.2290. Estos resultados indican que el conformero cristalográfico y el del *docking* son muy parecidos.

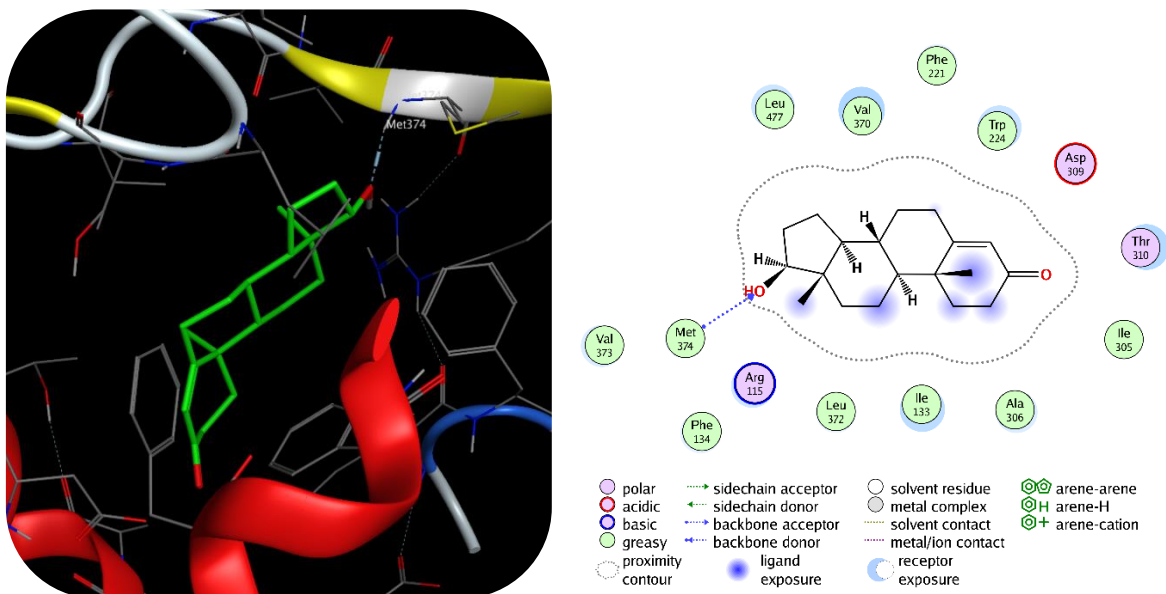


Figura 14. Diagramas de interacción en 2D y sus poses tridimensionales de la testosterona en la estructura cristalina de la aromataasa obtenido con el programa MOE.

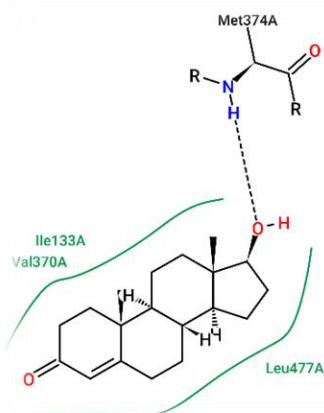


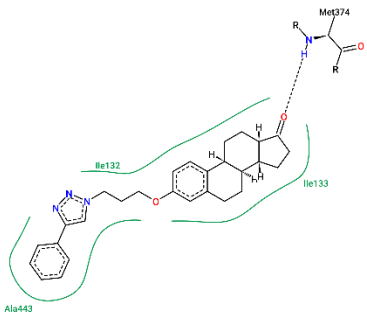
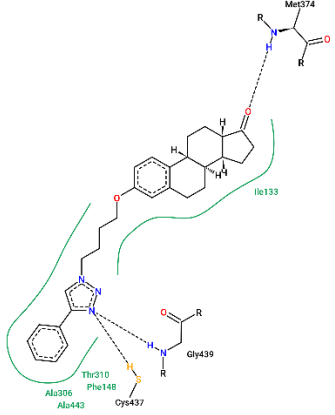
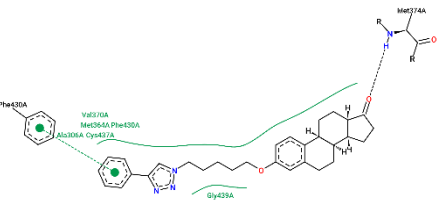
Figura 15. Diagrama 2D generado en ProteinsPlus

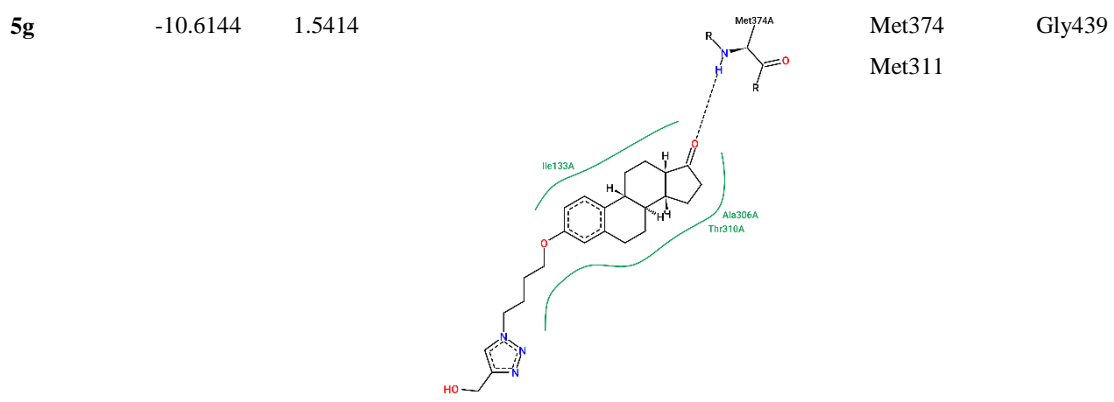
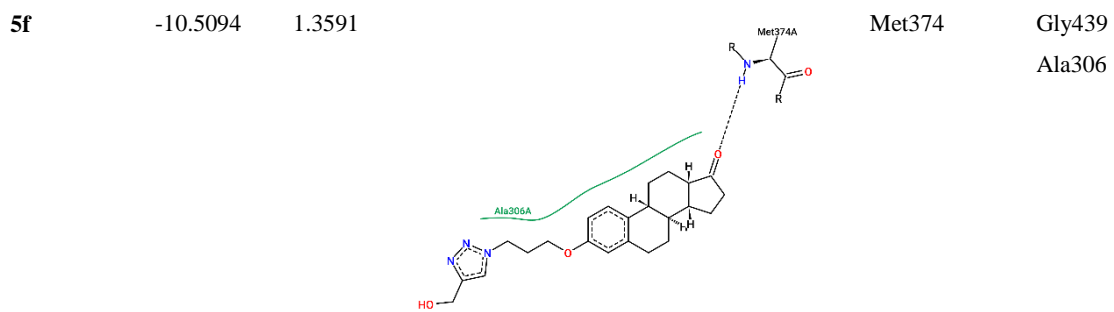
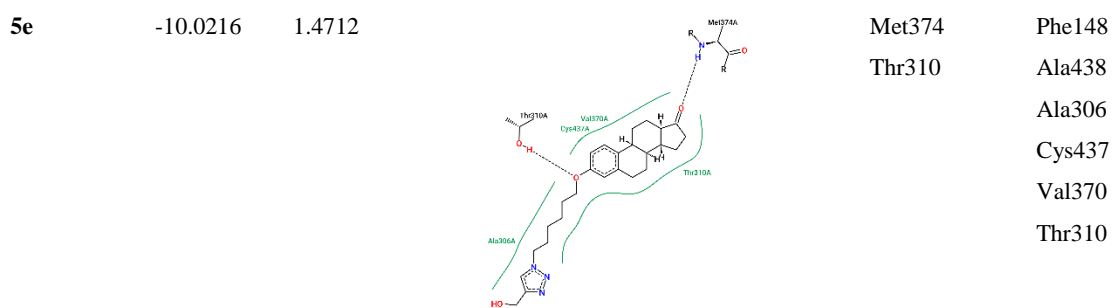
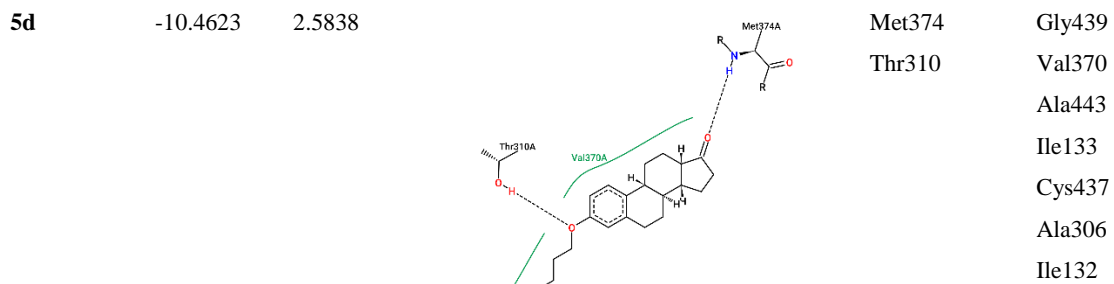
En la **Figura 14** se muestra la pose con menor RMSD. Se puede observar que los residuos de aminoácidos Trp224, Phe221, Phe134, Ile333, Val 370 y Met374 se encuentran en la proximidad del ligando cristalográfico, posicionándose como el sitio de unión. Las interacciones encontradas en este *docking* **Figura 15** corresponden a un puente de hidrógeno entre el grupo amino de la Met374 y el grupo hidroxilo de la posición 17 de la testosterona. Así como interacciones de tipo hidrofóbico de los residuos Ile133, Val370 y Leu477. La

interacción principal tanto de los ligandos endógenos como de los AI ha sido reportada como el enlace de hidrógeno con la Met374.¹⁰⁹

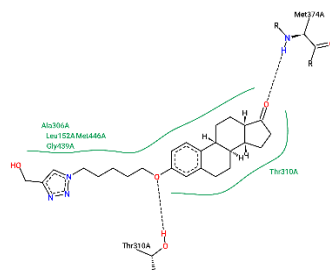
Para los compuestos evaluados, se seleccionaron las poses de menor *score* para realizar el análisis post-docking utilizando Pymol y ProteinsPlus para evaluar las interacciones en modelos 2D y 3D. En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos de la energía de unión y las interacciones entre la aromatasa y los compuestos derivados de estrona (**5a-5h**).

Tabla 8. Tabla de interacciones moleculares entre la aromatasa y los compuestos evaluados (5a-5h).

Compuesto	Score (Kcal/mol)	RMSD	Diagrama de interacciones 2D	Interacciones a través de puentes de hidrógeno	Otras interacciones
5^a	-10.0255	1.6354		Met374	Ile123 Ile133 Ala443
5b	-9.2376	0.9779		Met374 Cys437 Met303 Gly439	Ile133 Thr310 Phe148 Ala443 Ala306
5c	-9.6056	0.9779		Met374 Met311	Phe430 Gly439 Cys437 Phe430 Met304 Val370



5h -11.3314 2.6151



Met374 Ala306

Thr310 Leu152

Met446

Gly439

Thr310

Los compuestos derivados del fenilacetileno no muestra un comportamiento específico de acuerdo a la estructura y el *score* obtenido. Sin embargo, el compuesto que exhibe mejores resultados es el **5a**. Todos los compuestos derivados del fenilacetileno mostraron resultados de *score* mejores a los obtenidos por el ligando cristalográfico, los cuales comparten la interacción de enlace de hidrogeno con la Met374 (**Figura 16**). Otras interacciones de tipo puentes de hidrógeno se presentan en el compuesto **5b** con los aminoácidos Cys437, Met303 y Gly439. El compuesto **5c** presenta una interacción con la Met311 y el compuesto **5d** con la Thr370.

5a

5b

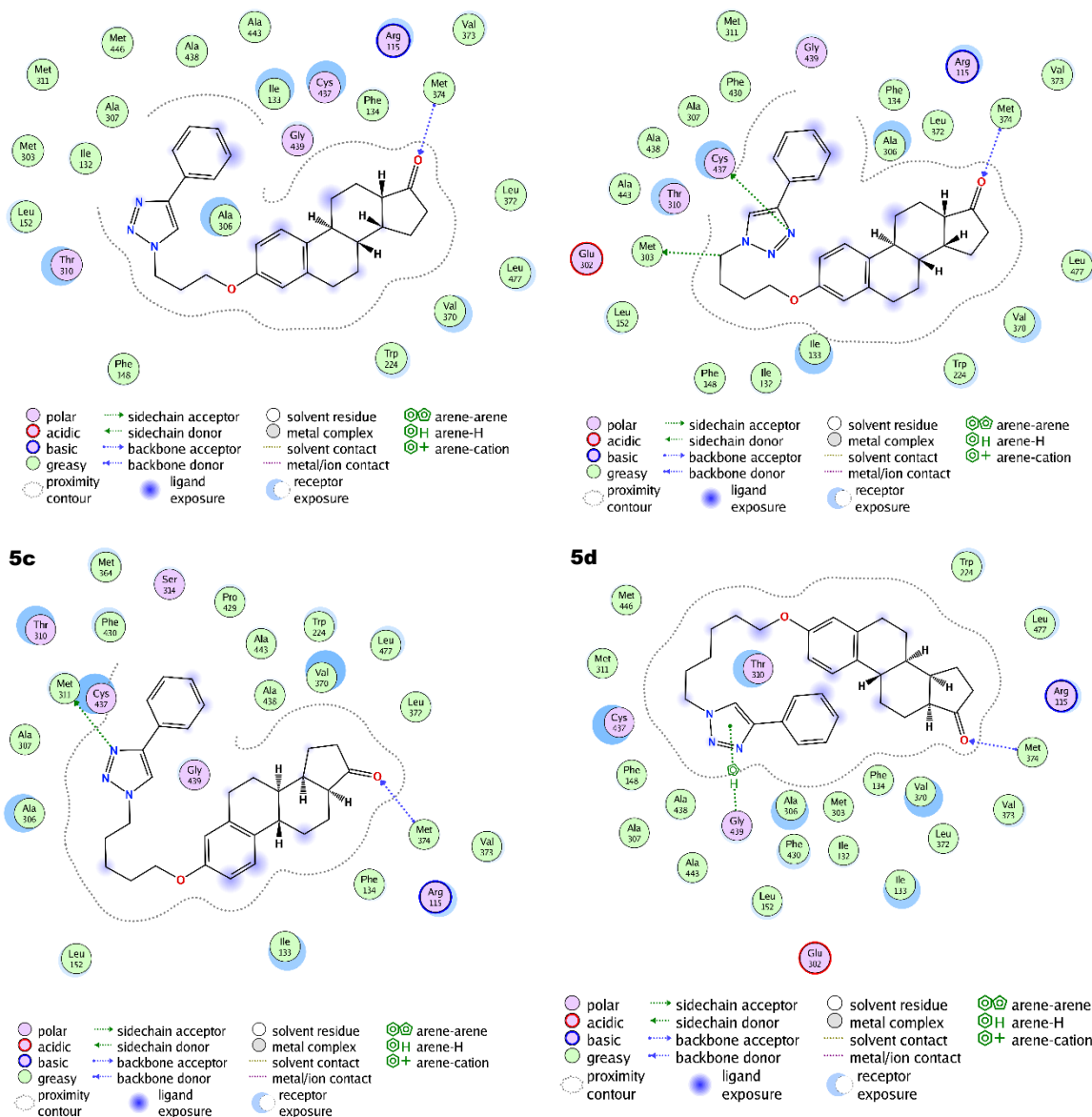


Figura 16. Diagramas de interacción en 2D de **5a-d** en la estructura cristalina de la aromatas obtenida con el programa MOE.

Además de estas interacciones, los compuestos **5c** y **5d** presentaron interacciones de tipo aromáticas por parte del anillo de triazol con los residuos Phe430 y Thr310 respectivamente **Figura 17**. El hecho de que solo se observen en los derivados con mayor longitud permite demostrar que es importante el tamaño de la cadena espaciadora para alcanzar sitios de contacto con los aminoácidos posicionados cerca del sitio de unión. Esta interacción con la Thr310 la presentan también los AI Aminoglutetimida y el Formestano.¹⁰⁹

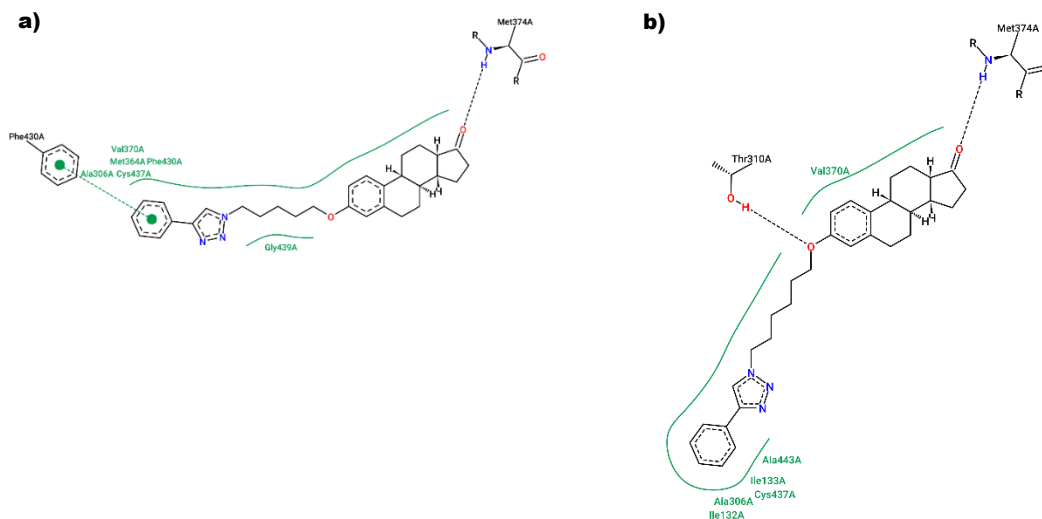


Figura 17. Diagramas de interacción en 2D de **a)** compuesto **5c** y **b)** compuesto **5d** en la estructura cristalina de la aromatasa obtenidos con ProteinsPlus.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los compuestos con un menor *score* son **5e-5h**, siendo estos los derivados del alcohol propargílico. Con un mejor *score* si se compara con el obtenido del ligando co-cristalizado. También se puede observar una tendencia a un *score* menor, a medida que se aumenta la longitud del espaciador molecular entre la estrona y el grupo triazol. Además de la interacción principal con la Met374, estos compuestos presentan otras interacciones a través de puentes de hidrógenos e interacciones de tipo aromático.

Los compuestos **5e** y **5h**, presentan interacciones a través de puentes de hidrógeno con el residuo Thr310 **Figura 18**. Estas interacciones también las presentan la Aminoglutetimida y el Formestano, que corresponde a AI de primera y segunda generación respectivamente.¹⁰⁹ De estos dos compuestos, resulta ser que en estudios previamente reportados la Aminoglutetimida presenta una energía de unión menor que el ligando endógeno y de otros inhibidores de la aromatasa, a pesar de presentar múltiples contactos. Por otro lado, el

Farmestano en este mismo estudio presenta una mejor energía de unión, incluso mejor que la energía de unión del ligando co-cristalizado.

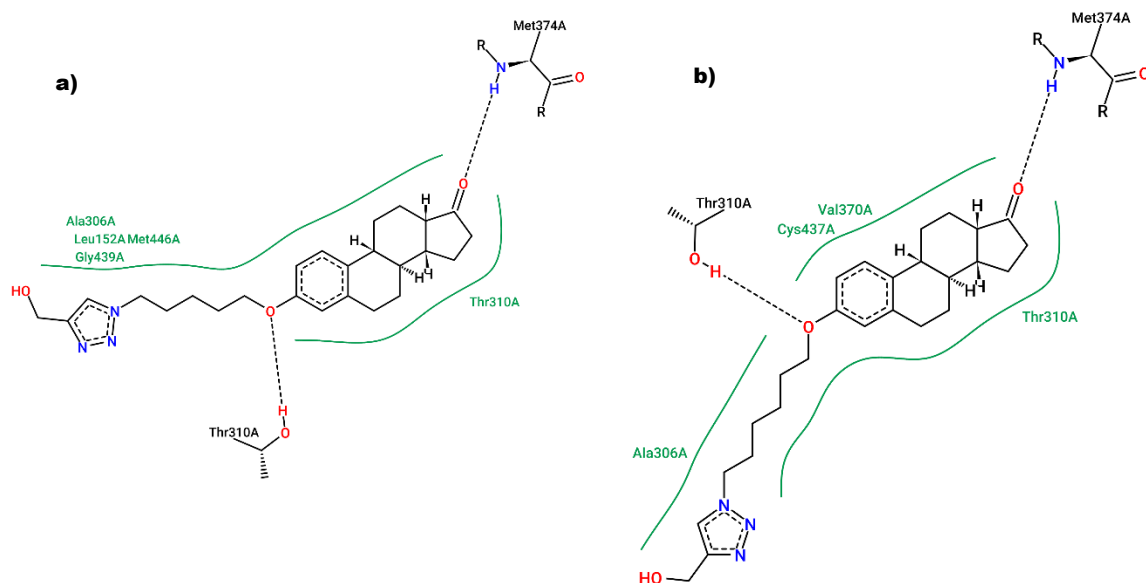


Figura 18. Diagrama 2D obtenido en ProteinsPlus de los derivados a) compuesto 5c y b) compuesto 5d.

Otras interacciones de tipo aromático también se observaron entre el anillo de triazol y algunos residuos de aminoácidos. Los compuestos **5f** y **5g**, adicionalmente presentan una interacción de tipo aromático con el aminoácido Gly239. Por otro lado, el compuesto **5e** presenta interacciones de tipo aromático con los residuos Phe148 y Ala4380 **Figura 19**. Si bien en los AI que presentan nitrógenos en su estructura han sido reconocidos por la coordinación con el grupo hemo, identificar estas interacciones podría indicar que están contribuyendo a los valores de *score* obtenidos.

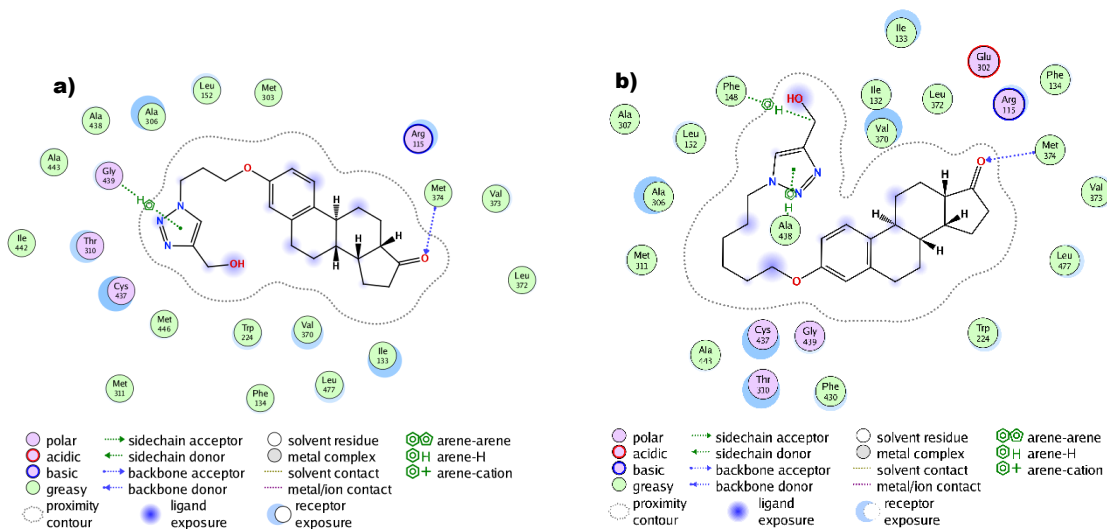


Figura 19. Diagramas de interacción en 2D de a) compuesto 5f y b) compuesto 5e en la estructura cristalina de la aromatasa obtenido con el programa MOE.

Finalmente, algunas de las interacciones de tipo hidrofóbicas encontradas en los compuestos evaluados han sido también reportadas en los IA. Los compuestos **5c**, **5d** y **5e** comparten la interacción con la Val370 con los inhibidores Aminoglutetimida, Fadrozol, Formestano, Exemestano, Anastrozol, Letrozol y Vorozol. Por otro lado, los compuestos **5a**, **5b** y **5d** presentan una interacción Ile133 que también presentan Aminoglutetimida, Formestano, Anastrozol, Letrozol y Vorozol. El residuo aminoacídico Ala306 se ha descrito parte de las interacciones con Fadrozol, Exemestano, Anastrozol, Letrozol y Vorozol y en esta evaluación se ha encontrado en interacción con los compuestos **5b**, **5d**, **5e** y **5h**. Finalmente, los compuestos **5b**, **5e** y **5h** presentan una interacción con el residuo Thr310 misma que los inhibidores Fadrozol, Anastrozol, Letrozol y Vorozol.

4.3.2 17β-hidroxiesteroide-deshidrogenasa (17β-HSD)

La enzima 17-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa (17β-HSD) cataliza la interconversión entre la forma activa e inactiva de hormonas esteroidales específicas en su paso final de biosíntesis.¹¹³ Su actividad es dependiente del cofactor NADPH⁺/NADP. Se han descrito al menos 14 tipos de 17β-HSD, de las cuales 12 se encuentran presentes en los seres humanos.

El estudio de las diferencias entre los tipos de 17β-HSD han permitido asociar algunos de ellos con funciones específicas, la 17-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa humana tipo 1 (17β-HSD1) se conoce con anterioridad que desempeña funciones críticas en la síntesis de estradiol y, más recientemente, en la inactivación de la dihidrotestosterona (DHT), lo que muestra una función dual que promueve la proliferación de células de cáncer de mama.¹¹⁴

Esto ha posicionado a la inhibición de 17β-HSD1 y, por tanto, la reducción de la concentración intracelular de estradiol, como un enfoque prometedor para el tratamiento de enfermedades dependientes de estrógenos.¹¹⁵ A partir del siglo 21 se han desarrollado una gran cantidad de estudios acerca de los inhibidores de la 17β-HSD1, lo que ha permitido identificar a inhibidores reversibles de tipo esteroidal y no esteroidal. En el caso particular de los inhibidores de tipo esteroidal, se ha trabajado sobre el mecanismo de inhibición de la enzima por su sustrato E1 (Estrona) intentando mimetizar las interacciones que permiten la regulación endógena de la actividad catalítica.¹¹⁶

Recientemente, la evidencia apoya la propuesta de que el mecanismo de inhibición por el sustrato se lleva a cabo por la formación de un complejo *dead-end* resultado de la unión no productiva de la molécula sustrato en el sitio catalítico de la 17β-HSD1.¹¹⁷ El análisis

¹¹³ Moeller, G., & Adamski, J. (2009). Integrated view on 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 301(1-2), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.10.040>

¹¹⁴ Aka, J. A., Zerradi, M., Houle, F., Huot, J., & Lin, S. (2012). 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 modulates breast cancer protein profile and impacts cell migration. *Breast Cancer Res. Treat.*, 14(3). <https://doi.org/10.1186/bcr3207>

¹¹⁵ Klein, T., Henn, C., Negri, M., & Frotscher, M. (2011). Structural basis for species specific inhibition of 17B-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (17B-HSD1): computational study and biological validation. *PLoS One*, 6(8), e22990. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022990>

¹¹⁶ Poirier, D., Roy, J., & Maltais, R. (2021). A Targeted-Covalent inhibitor of 17B-HSD1 blocks two Estrogen-Biosynthesis pathways: in vitro (Metabolism) and in vivo (Xenograft) studies in T-47D breast cancer models. *Cancers*, 13(8), 1841. <https://doi.org/10.3390/cancers13081841>

¹¹⁷ Li, T., Stephen, P., Zhu, D., Shi, R., & Lin, S. (2019). Crystal structures of human 17β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 complexed with estrone and NADP⁺ reveal the mechanism of substrate inhibition. *FEBS Lett.*, 286(11), 2155–2166. <https://doi.org/10.1111/febs.14784>

estructural ha permitido determinar la His²²¹ es un residuo clave en la reorganización y estabilización del complejo *dead-end*. Además, se ha determinado que en el caso de las moléculas de tipo esteroidal hay una orientación inversa en el sitio de unión al sustrato, de manera que el anillo D se posiciona hacia el extremo de reconocimiento (His²²¹ y Glu²⁸²) y el anillo A se coloca hacia el sitio catalítico. Este cambio espacial impide la acción catalítica de la enzima.

Se llevó a cabo el proceso de validación del sistema, eliminando el ligando co-cristalizado de la proteína, androstenediona, y llevando a cabo un *re-docking* con el mismo compuesto androstendiona (**Figura 20**). El resultado obtenido de la desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés) fue de 0.7901 con una energía de unión de -5.3717. Estos resultados indican que el conformero cristalográfico y el del *docking* son muy parecidos.

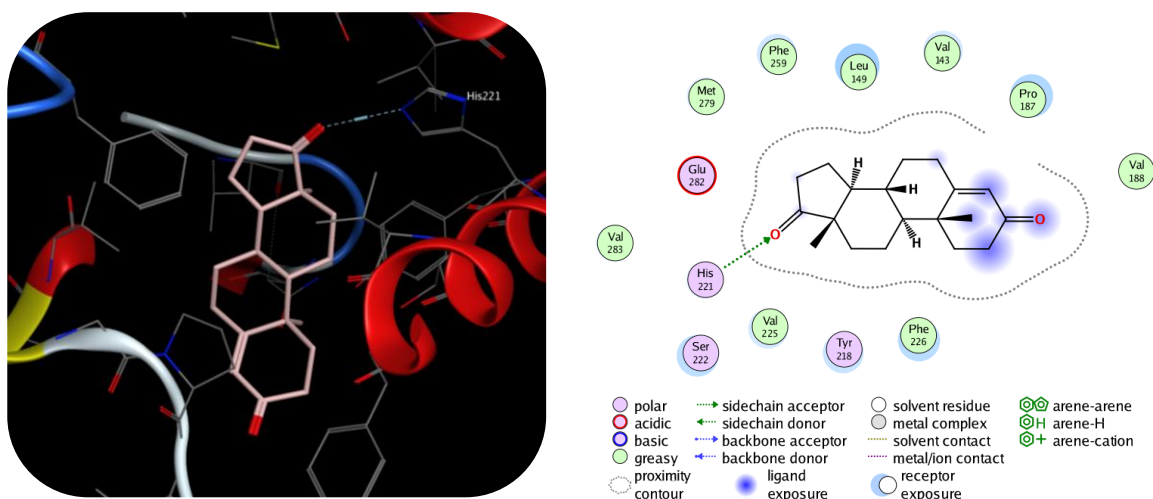


Figura 20. Diagramas de interacción en 2D y sus poses tridimensionales de la testosterona en la estructura cristalina de la 17β-HSD1 obtenido con el programa MOE.

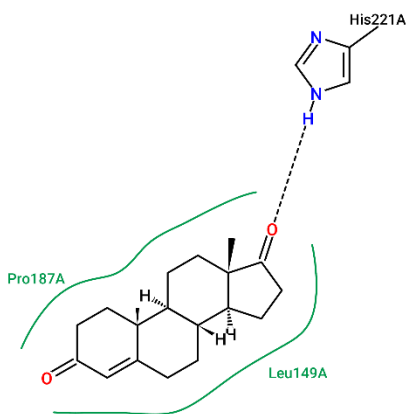
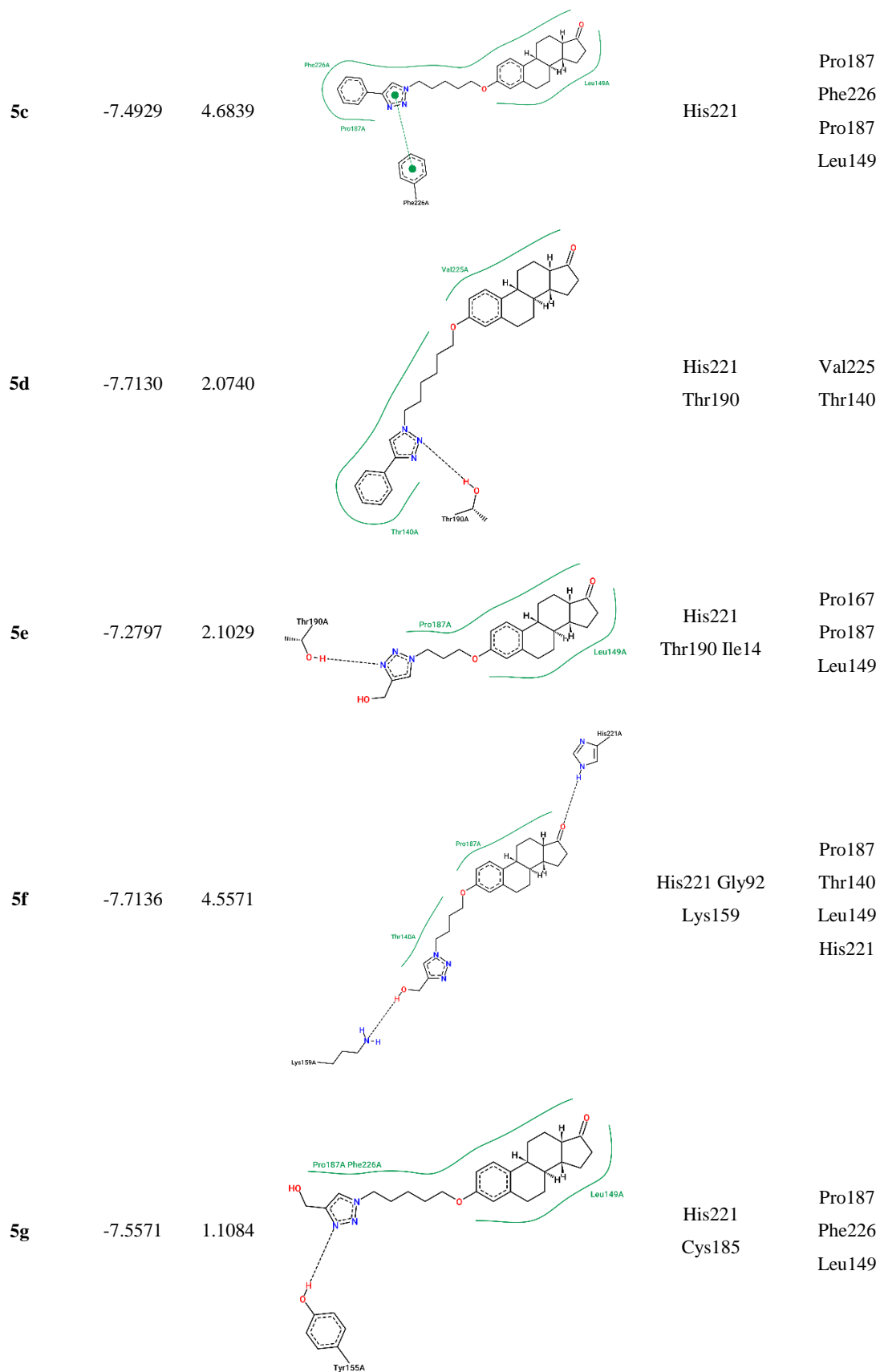


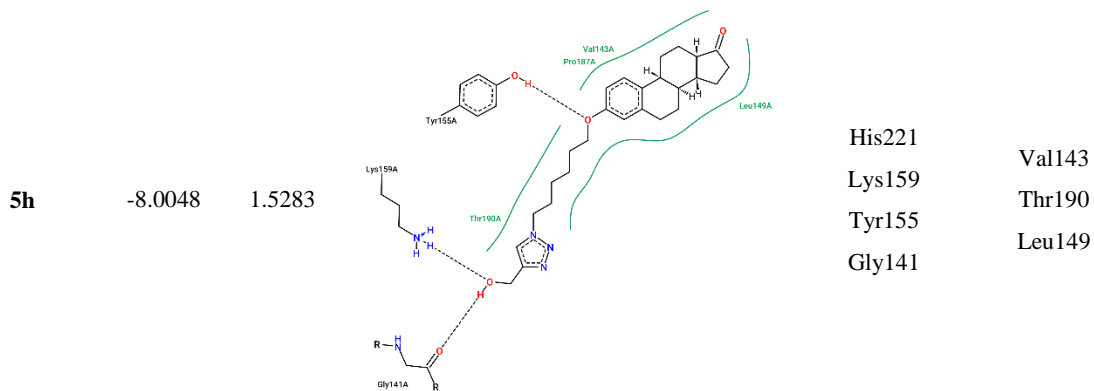
Figura 21. Diagrama obtenido en ProteinsPlus de la pose de revalidación del ligando testosterona.

En la **Figura 21** se muestra la pose con menor RMSD. Se puede observar que los residuos de aminoácidos Phe226, Tyr218, Val225, Ser222, His221, Glu282, Met279, Phe259, Leu149, Val343, Pro187 y Val288 se encuentran en la proximidad del ligando cristalográfico, posicionándose como el sitio de unión. Las interacciones encontradas en este *docking* **Figura 21** corresponden a un puente de hidrógeno entre el anillo imidazol de His221 y el grupo carbonilo de la posición 17 de la androstenediona. Como se mencionó anteriormente, la His221 se ha determinado ser clave en los mecanismos de inhibición de la enzima 17 β -

HSD1,¹¹⁵ por lo que de ahora en adelante será considerada la interacción principal. También se logró determinar otras interacciones de tipo hidrofóbico de los residuos Pro187 y Leu149.

Compuesto	Score (Kcal/mol)	RMSD	Diagrama de interacciones 2D	Interacciones a través de puentes de hidrogeno	Otras interacciones
5a	-6.7855	2.1487		His221 Val188 Pro167	Leu149 Phe259 His221
5b	-7.1973	2.2683		His221	Thr190 Leu149 Glu282 Phe159 Arg258





De acuerdo con los resultados obtenidos, los compuestos evaluados muestran una tendencia a mejorar el *score* de unión a medida que la cadena espaciadora entre la estrona y el grupo triazol aumentan de números de carbonos.

Los compuestos derivados del fenilacetileno (**5a-d**) presentan *score* de unión menores que los obtenidos en la validación por el ligando cristalográfico. Además de la interacción principal con el residuo His221, se ha determinado la presencia de otras interacciones del anillo triazol con distintos aminoácidos. Los compuesto **5b** y **5c** muestra interacciones de tipo aromático con el triazol y Thr298; así como del anillo fenilo del residuo Phe226 respectivamente **Figura 22**.

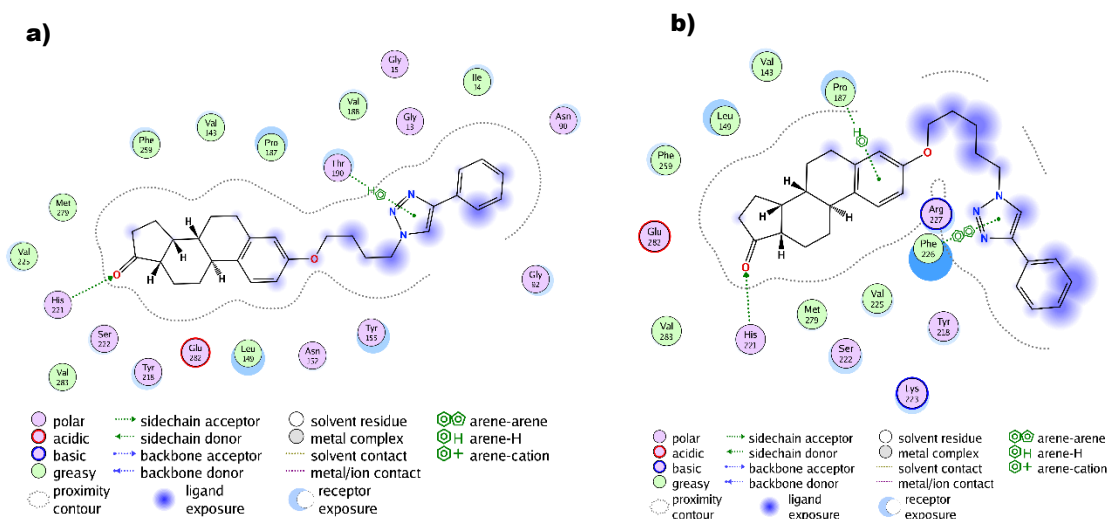


Figura 22. Diagrama 2D obtenido en MOE **a)** compuesto **5b**, quien presenta interacciones de tipo H-aromático entre el anillo del triazol y el residuo del aminoácido Thr298; y **b)** el compuesto **5c** que presenta interacciones de tipo H-aromática entre el residuo Phe226 y el anillo A de la estrona.

Los compuestos **5a** además de la interacción principal muestra interacciones tipo puente de hidrógeno con el anillo del triazol y los residuos de los aminoácidos Val188 y Pro187. Mientras que el compuesto **5d** muestra interacciones de puentes de hidrogeno con la Thr290, **Figura 23**.

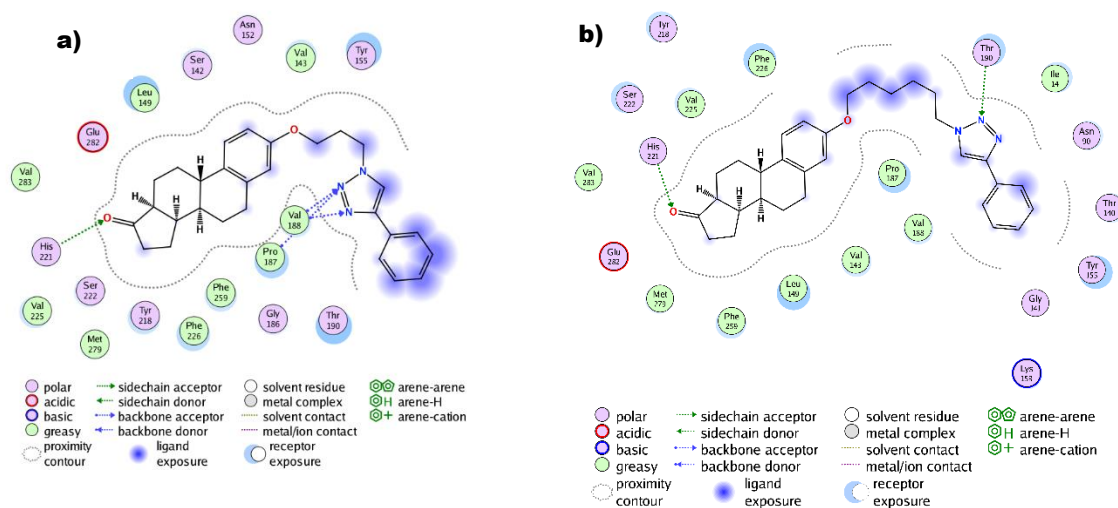


Figura 23. Diagramas de interacción 2D generado en MOE a) compuestos **5a** y b) compuesto **5d**

Las interacciones encontradas en la evaluación de los compuestos tipo triazol, permiten determinar que tanto la parte derivada de la estrona como el anillo de triazol son importantes para que el compuesto interactúe en el sitio de unión. Los resultados obtenidos son consistentes con los reportados para los derivados de esteroides¹¹² donde la similitud estructural y la rigidez del núcleo esteroidal permiten que actúen como inhibidores. Por otro lado, los triazoles han sido relacionados con interacciones fuertes con los aminoácidos cercanos al sitio de unión¹¹⁸ lo que permite aumentar la estabilidad de los complejos ligando-estructura mejor y por lo tanto se obtienen energías de unión más bajas.

¹¹⁸ Hernández-López, H., Leyva-Ramos, S., Gómez-Durán, C. F. A., Pedraza-Alvarez, A., Rodríguez-Gutiérrez, I. R., Leyva-Peralta, M. A., & Razo-Hernández, R. S. (2020). Synthesis of 1,4-Biphenyl-triazole derivatives as possible 17β-HSD1 inhibitors: an in Silico study. *ACS Omega*, 5(23), 14061–14068. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01519>

5. CONCLUSIONES

Siguiendo la metodología planteada se logró la modificación estructural de la estrona en la posición 3. A través de dos pasos de reacción se logró la obtención de azido-alquil derivados del esteroide estrona (**3a-3d**) que se utilizaron como intermediarios en la reacción con alquinos comerciales (fenilacetileno, alcohol propargílico y propargilamina) a través de una reacción de cicloadición alquino-azida catalizada por Cobre (Cu-AAC) para la obtención de triazoles 1,4-disustituídos. Como producto final de esta ruta de síntesis se logró la obtención de 8 compuestos 1,2,3-triazoles, los cuales se obtuvieron de los alquinos fenilacetileno y alcohol propargílico. Se obtuvo de manera selectiva los compuestos disustituídos en posición 1,4, coincidiendo con lo reportado en la literatura para este tipo de reacción; específicamente, en la posición 1 se encuentran sustituidos por el fragmento azido-alquil derivado y la posición 4 por el sustituyente derivado del alquino.

La ruta sintética seguida resultó ser una estrategia efectiva para la obtención de los compuestos 1,2,3-triazol disustituídos en posiciones 1,4. Ya que únicamente requirió de 3 pasos de reacción, los cuales alcanzaron rendimientos de reacción de hasta 98%.

La caracterización de los compuestos obtenidos se llevó a cabo a través de métodos espectroscópicos como ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, HSQC, HMBC y COSY. Se logró corroborar la estructura de los compuestos obtenidos al identificar las señales características de las transformaciones químicas obtenidas en cada paso.

Los resultados de la evaluación *in silico* de los compuestos obtenidos permitió definir que cumplen con los parámetros especificados en características fisicoquímicas como MW, TPSA, HBD, HBA, RB, nOH y nNHOH que son importantes para que un compuesto tenga mejores oportunidades para interactuar en un sistema biológico. Además, en la evaluación de las propiedades biofarmacéuticas también se obtuvieron resultados favorables en cuanto a absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad. Finalmente, de acuerdo a los resultados de predicción de actividad los blancos moleculares más probables para este tipo

de compuestos son aquellos involucrados en la síntesis y metabolismo de las hormonas esteroidales, precisamente debido a la similitud de la porción derivada de la estrona.

Estos últimos resultados llevaron a dirigir la evaluación de los compuestos como inhibidores de la aromatasas y la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Los resultados de la simulación de las interacciones entre los compuestos y las enzimas seleccionadas arrojaron diagramas de interacción en 2D, donde se identificaron las interacciones principales reportadas en la literatura para inhibidores de estas enzimas. Tal es el caso de la Met374 para la aromatasas y la His221 para la 17 β -HSD. Además, los resultados del *score* de unión indican que los compuestos evaluados tienen una mejor afinidad de unión comparada con los ligandos cristalográficos endógenos.

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1 Métodos generales

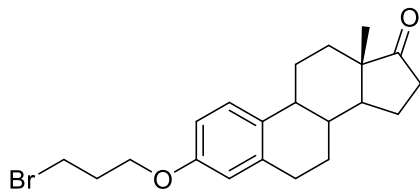
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión PRENDO FP-420 y no fueron corregidos. Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Autopol III serie #35598. Los espectros se obtuvieron en un instrumento Bruker Avance-500 y Bruker Ascend 500 (500.13 MHz para ^1H y 125.77 MHz para ^{13}C). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm. Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz). Las señales de RMN de ^1H y ^{13}C fueron asignadas con ayuda de experimentos de RMN de 1D y 2D (COSY, HMBC y HSQC). Para la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice 60 (malla 230-400). La cromatografía en placa fina se usaron placas comerciales de gel de sílice 60 F₂₅₄, como reveladores se utilizó radiación de luz ultravioleta de onda corta de 254 nm utilizando una lámpara UVG-54. También se emplearon reveladores de solución vainillina al 10% en EtOH en presencia de 1% de H₂SO₄.

6.2 Métodos de síntesis, propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos obtenidos

6.2.1 Preparación de bromoalquil derivados

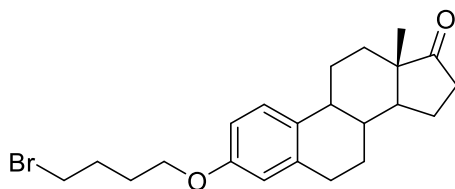
El dibromoalcano (14.7 mmol) fue agregado a una solución de estrona (1.8 mmol) y NaOH (4.6 mmol) en 10 mL de THF y agua 1 mL. La mezcla de reacción fue calentada en reflujo durante 12 horas. El final de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (hexano/AcOEt 7:3). La mezcla obtenida fue diluida en AcOEt y extraída con solución acuosa de HCl al 10% (3x), lavado con agua (3x) y secado en Na₂SO₄. El solvente fue evaporado y el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en sílice gel (hexano/AcOEt 8:2). El compuesto puro se llevó a sequedad al vacío.

6.2.2 Obtención de la 3-(3'-Bromopropoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona



El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 99%. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.77 (dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, 1H, H-2), 6.70 (d, $J = 2.7$, 1H, H-4), 4.12 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_2O), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2Br), 2.97 – 2.90 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.59 – 2.51 (m, 1H, H-16 β), 2.47 – 2.40 (m, 1H, H-11 α), 2.34 (tt, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 2.19 (dt, $J = 18.9, 8.9$ Hz, 1H, H-9), 2.14 – 2.02 (m, 2H), 2.00 (dd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H), 1.72 – 1.42 (m, 7H), 0.95 (s, 3H, C-18). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 156.7 (C-3), 137.9 (C-5), 132.3 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 65.1 (CH_2O), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.3 (C-8), 35.9 (C-16), 32.4 (CH_2Br), 31.6 (C-12), 30.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 30.0 (C-6), 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

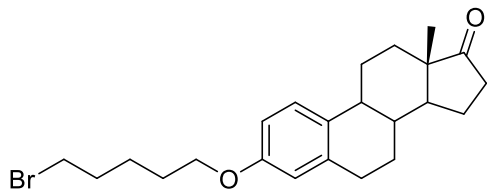
6.2.3 Obtención de la 3-(4'-Bromobutoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona



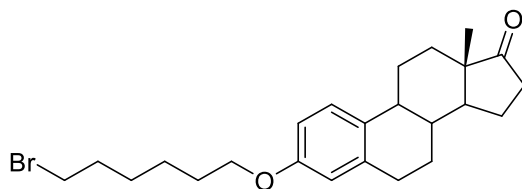
El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 99%. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-1), 6.70 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-2), 6.64 (s, 1H, H-4), 3.97 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH_2O), 3.49 (t, $J = 6.4$, 2H, CH_2Br), 2.94–2.84 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.51 (dd, $J = 19.0, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (m, 1H, H-11 α), 2.32 – 2.20 (m, 1H, H-9), 2.14 (dt, $J = 18.6, 8.9$ Hz, 1H), 2.10 – 1.97 (m, 3H), 1.94 (q, $J = 8.9, 7.0$ Hz, 3H), 1.68 – 1.39 (m, 7H), 0.91 (s, 3H, C-18). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 156.9 (C-3), 137.8 (C-5), 132.1 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 66.7

(CH₂O), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 33.6 (CH₂Br), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 29.5(C-7), 27.9(CH₂CH₂Br), 26.6 (CH₂CH₂O), 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

6.2.4 Obtención de la 3-(5'-Bromopentoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona



El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 99%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃). δ 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, *J* = 8.7, 2.8 Hz, 1H, H-2), 6.64 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-4), 3.94 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂O), 3.4 (t, *J* = 6.9, 2H, CH₂Br), 2.95 – 2.85 (m, 2H, H-6_α, H-6_β), 2.50 (dd, *J* = 19.0, 8.7 Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (m, 1H, H-11_α), 2.25 (td, *J* = 10.9, 3.9 Hz, 1H, H-9), 2.21 – 2.09 (m, 1H), 2.09 – 1.98 (m, 2H), 1.98-1.88 (m, 3H), 1.79 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.67 – 1.39 (m, 10H), 0.91 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 221.1 (C-17), 157.0 (C-3), 137.8 (C-5), 132.0 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.5 (CH₂O), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 33.7 (CH₂Br), 32.5, 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 28.50, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 24.9, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



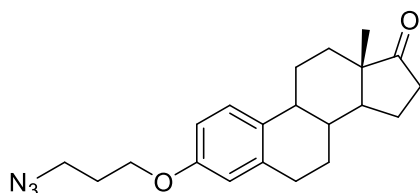
6.2.5 Obtención de la 3-(6'-Bromohexoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 98%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.19 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H, H-2), 6.64 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4), 3.93 (t, *J* = 6.19 Hz, 2H, CH₂O), 3.42 (t, *J* = 6.8, 2H, CH₂Br), 2.91 – 2.85 (m, 2H, H-6_α, H-6_β), 2.50 (dd, *J* = 19.0, 8.7 Hz, 1H, H-16β), 2.39 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-11_α), 2.25 (td, *J* = 10.8, 3.9 Hz, 1H, H-9), 2.19 – 2.09 (m, 1H), 2.09 – 2.04

(m, 1H), 2.00 (ddd, $J = 12.7, 5.9, 3.2$ Hz, 1H), 1.97 – 1.93 (m, 1H), 1.89 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.78 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.67 – 1.57 (m, 2H), 1.57 – 1.38 (m, 7H), 0.91 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 157.1 (C-3), 137.7 (C-5), 131.9 (C-10), 126.3 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.6 (CH_2O), 50.4 (C-14), 48.1 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 33.9 (C-12), 32.7, 31.6 (CH_2Br), 29.7 (C-6), 29.2, 27.9, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 25.3, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

6.2.6 Preparación de azidoalquil derivados

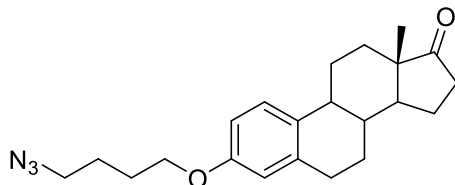
Nituro de sodio (9 mmol) fue agregado a una solución de bromoalquil derivados (1.8 mmol) en 8 mL de DMF. La mezcla de reacción se colocó en agitación a temperatura ambiente por 4 horas. El final de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (hexano/AcOEt 7:3). La mezcla obtenida fue diluida en AcOEt y extraída con salmuera (3x), lavado con agua (3x) y secado en Na_2SO_4 . El solvente fue evaporado y el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en sílice gel (hexano/AcOEt 9:1). El compuesto puro se llevó a sequedad al vacío.



6.2.7 Obtención de la 3-(3'-Azidopropoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

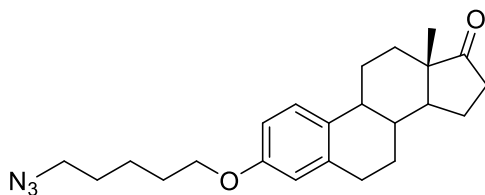
El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 95%. $[\alpha]_D^{25} + 123.40$ ($c=1$ mg/mL, DCM). P.F.=76° C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, C-1), 6.71 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1H, C-2), 6.65 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, C-4), 4.02 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2O), 3.51 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, CH_2N_3), 2.90 (dd, $J = 10.2, 5.8$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.51 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.43 – 2.36 (m, 1H, H-11 α), 2.25 (td, $J = 10.8, 3.9$ Hz, 1H, H-9), 2.14 (dt, $J = 18.6, 8.9$ Hz, 1H), 2.02 (tt, $J = 10.9, 4.4$ Hz, 3H), 1.98 – 1.92 (m, 1H), 1.70 – 1.37 (m, 7H), 0.91 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 156.7 (C-3), 137.9 (C-5), 132.3 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 64.4 (CH_2O), 50.4 (C-14), 48.3 (CH_2N_3), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.3 (C-8), 35.9 (C-

16), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 28.8 (CH₂CH₂Br), 26.5 (C-7), 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



6.2.8 Obtención de la 4-(4'-Azidobutoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

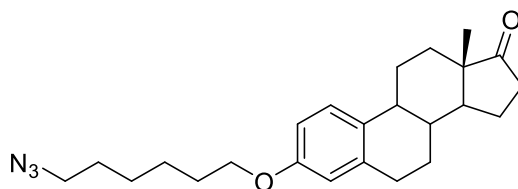
El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 95%. $[\alpha]_D^{25} + 154.60$ ($c=1$ mg/mL, DCM). P.F.=67° C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1H, H-2), 6.64 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H-4), 3.96 (t, $J = 6.29$, 2H, CH₂O), 3.36 (t, 2H, $J = 6.34$, CH₂N₃), 2.90 (dd, $J = 10.4, 5.9$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.51 (dd, $J = 19.0, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.40 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H, H-11 α), 2.26 (td, $J = 10.8, 3.8$ Hz, 1H, H-9), 2.20 – 2.09 (m, 1H), 2.10 – 2.04 (m, 1H), 2.04 – 1.98 (m, 1H), 1.98 – 1.92 (m, 1H), 1.85 (m, 2H), 1.80 (dt, $J = 9.0, 6.5$ Hz, 2H), 1.71 – 1.32 (m, 6H), 0.91 (s, 3H, C-18). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 221.1 (C-17), 156.9 (C-3), 137.8 (C-5), 132.1 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.0 (C-2), 67.1 (CH₂O), 51.2 (CH₂N₃), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 26.6, 26.5, 25.9 (C-11), 25.8, 21.6 (C-15), 13.8 (C-18).



6.2.9 Obtención de la 3-(5'-Azidopentoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 98%. P.F.=56.5 ° C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 1H, H-2), 6.64 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-4), 3.94 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH₂O), 3.30 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH₂N₃), 2.90 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.51 (dt, $J = 19.0$,

8.7 Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, H-11 α), 2.25 (td, $J = 10.9, 3.8$ Hz, 1H, H-9), 2.14 (dd, $J = 18.6, 8.9$ Hz, 1H), 2.09 – 1.97 (m, 1H), 1.95 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 1.79 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.72 – 1.40 (m, 11H), 0.91 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 157.0 (C-3), 137.8 (C-5), 132.0 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.5 (CH_2O), 51.4 (CH_2N_3), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 28.9, 28.67, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 23.4, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



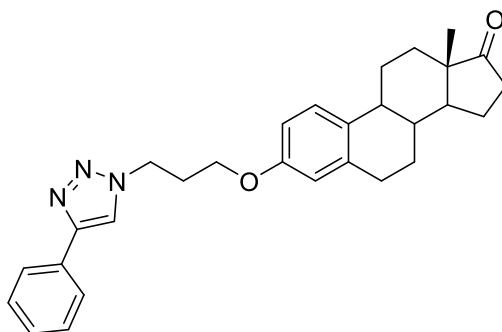
6.2.10 Obtención de la 3-(6'-Azidohexoxi)estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito. Rendimiento: 98%. $[\alpha]_D^{25} + 108.737$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F.= 51.5. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.19 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, 1H, H-2), 6.64 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H-4), 3.94 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2O), 3.30 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2N_3), 2.89 (dd, $J = 10.3, 6.1$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.0, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.45 – 2.32 (m, 1H, H-11 α), 2.30 – 2.20 (m, 1H, H-9), 2.13 (dd, $J = 18.8, 9.1$ Hz, 1H), 2.05 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 2.03 – 1.98 (m, 1H), 1.95 (dd, $J = 9.5, 2.9$ Hz, 1H), 1.83 – 1.73 (m, 2H), 1.67 (q, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.61 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 1.60 – 1.38 (m, 6H), 0.91 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 157.0 (C-3), 137.8 (C-5), 132.0 (C-10), 126.4 (C-1), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.5 (CH_2O), 51.4 (CH_2N_3), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 28.9, 28.7, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 23.4, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

6.2.11 Preparación de triazoles 1,4 derivados del fenilacetileno

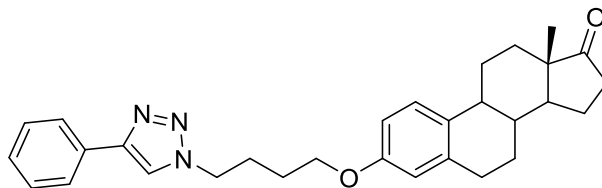
A una solución de Na_2SO_4 (0.0125 mmol) en DMF (1 mL) se le agregó *L*-ascorbato de sodio (0.0502 mmol) y se colocó en agitación a temperatura ambiente hasta obtener una solución azul. Luego se agregó gota a gota a una solución de azidoalquil derivados (0.251 mmol) y

fenilacetileno (0.251 mmol) en DMF (8mL). Se llevó a calentamiento a 100° C durante 12-16 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se finalizó agregando agua destilada. El disolvente de la mezcla se evaporó y el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en sílice gel (hexano/AcOEt 9:1, hexano/AcOEt 6:4). El compuesto puro se llevó a sequedad al vacío.



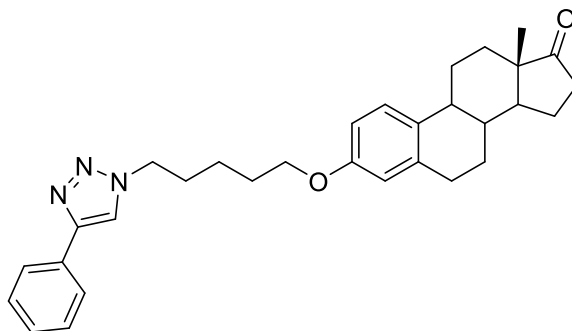
6.2.12 Obtención de la 3-[(4'-fenil[1.2.3]triazol-1'-il)propoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 12 horas. Rendimiento: 95%. $[\alpha]_D^{25} + 94.800$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P. F.= 184 ° C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (d, $J = 8.6$, 2H, Ar-Ho), 7.75 (s, 1H, H-5'), 7.41 (dd, $J = 8.4$, 7.0 Hz, 2H, Ar-Hm), 7.32 (dd, $J=7.0$ Hz, 1H, ArH-p), 7.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.71 (dd, $J = 8.6$, 2.8 Hz, 1H, H-2), 6.63 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, H-4), 4.62 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2N), 3.97 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, CH_2O), 2.87 (dd, $J = 7.2$, 3.3 Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.0$, 8.7 Hz, 1H, H-16 β), 2.45 – 2.36 (m, 3H), 2.25 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H, H-9), 2.14 (dd, $J = 19.0$, 8.9 Hz, 1H), 2.09 – 1.93 (m, 3H), 1.69 – 1.38 (m, 7H), 1.32 – 1.23 (m, 1H), 0.91 (s, 3H, H-18). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 221.0 (C-17), 156.5 (C-3), 147.7 (C-4'), 138.0 (C-5), 132.6 (C-10), 130.6 (Ar-H $_{ips}$), 128.8 (Ar-C $_m$), 128.1 (C-1), 126.5 (C-2), 125.7 (Ar-C $_o$), 120.2 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.2 (C-2), 63.9 (CH_2O), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 47.2 (CH_2N), 44.0 (C-9), 38.3 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.0, 29.7 (C-6), 26.5 (C-7), 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



6.2.13 Obtención de la 3-[(4'-fenil[1.2.3]triazol-1'-il)butoxy]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

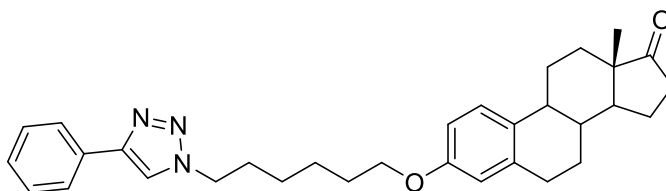
El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 12 horas. Rendimiento: 92%. $[\alpha]_D^{25} + 83.4000$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P. F. = 115.5 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar-Ho), 7.77 (s, 1H, H-5'), 7.42 (dd, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ar-Hm), 7.32 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1H, Ar-Hp), 7.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-1), 6.70 (dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, 1H, H-2), 6.62 (d, 2.7 Hz, 1H, H-4), 4.49 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2N), 3.98 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2O), 2.87 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.0, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.42-2.34 (m, 1H, H-11 α), 2.24 (m, 1H, H-9), 2.20 – 2.08 (m, 3H), 2.08 – 1.92 (m, 1H), 1.88 – 1.79 (m, 2H), 1.69 – 1.33 (m, 7H), 0.90 (s, 3H, H-18). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 221.0 (C-17), 156.7 (C-3), 147.8 (C-4'), 137.9 (C-5), 132.3 (C-10), 130.7 (Ar-H ips), 128.8 (Ar-C m), 128.1 (C-1), 126.4 (C-2), 125.7 (Ar-C o), 119.5 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.0 (C-2), 66.9 (CH_2O), 50.4 (C-14), 50.0 (CH_2N), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 29.6 (C-6), 27.3, 26.5 (C-7), 26.2, 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.8 (C-18).



6.2.14 Obtención de la 3-[(4'-fenil[1.2.3]triazol-1'-il)pentoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 14 horas. Rendimiento: 92%. $[\alpha]_D^{25} + 79.000$ ($c=1$ mg/mL, DCM). P.F.=123.5.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.83 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-*Ho*), 7.76 (s, 1H, H-5'), 7.43 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, Ar-*Hm*), 7.38 – 7.29 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1H, Ar-*Hp*), 7.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 6.68 (dd, $J = 8.53, 2.22$ Hz, 1H, H-2), 6.62 (d, $J = 2.22$ Hz, 1H, H-4), 4.43 (t, $J = 7.19, 2\text{H}$, CH_2N), 3.93 (t, 2H, CH_2O), 2.88 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.42 – 2.34 (m, 1H, H-11 α), 2.24 (m, 1H, H-9), 2.18 – 2.09 (m, 1H), 2.09 – 1.90 (m, 5H), 1.82 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.74 (s, 1H), 1.68 – 1.34 (m, 8H), 0.90 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 156.9 (C-3), 147.8 (C-4'), 137.8 (C-5), 132.1 (C-10), 130.7 (Ar-*Hips*), 128.9 (Ar-*Cm*), 128.1 (C-1), 126.4 (C-2), 125.7 (Ar-*Co*), 119.5 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.0 (C-2), 67.3 (CH_2O), 50.4 (CH_2N), 50.3 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.1, 29.7 (C-6), 28.7, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 23.2, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

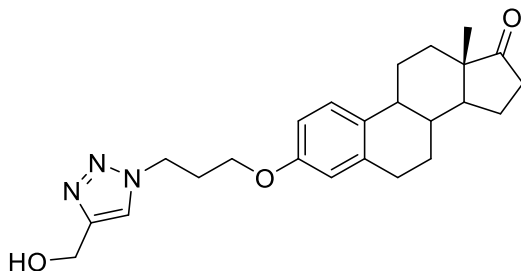


6.2.15 Obtención de la 3-[(4'-fenil[1.2.3]triazol-1'-il)hexoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 16 horas. Rendimiento: 89%. $[\alpha]_D^{25} + 67.000$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F. = 129.5 ° C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.83 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-*Ho*), 7.75 (s, 1H, H-5'), 7.43 (dd, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-*Hm*), 7.37 – 7.29 (m, 1H, Ar-*Hp*), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.69 (dd, $J = 8.5, 2.6$ Hz, 1H, H-2), 6.62 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-4), 4.41 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2N), 3.92 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2O), 2.88 (dd, $J = 10.4, 6.0$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.38 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-11 α), 2.29 – 2.20 (m, 1H, C-9), 2.14 (dt, $J = 18.5, 8.8$ Hz, 1H), 2.09 – 1.91 (m, 5H), 1.76 (td, $J = 13.2, 12.6, 6.0$ Hz, 3H), 1.69 – 1.38 (m, 10H), 0.90 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.1 (C-17), 157.0 (C-3), 147.9 (C-4'), 137.8 (C-5), 132.0 (C-10), 130.7 (Ar-*Hips*), 128.9 (Ar-*Cm*), 128.1 (C-1), 126.4 (C-2), 125.7 (Ar-*Co*), 119.5 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.5 (CH_2O), 50.4 (CH_2N), 50.3 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.3, 29.7 (C-6), 29.0, 26.6 (C-7), 26.2, 25.9 (C-11), 25.6, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

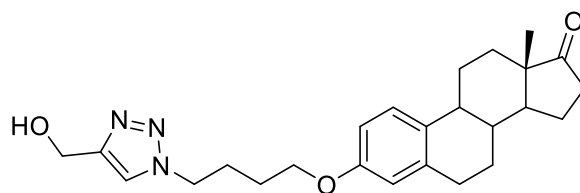
6.2.16 Preparación de triazoles 1,4 derivados del alcohol propargílico

A una solución de Na₂SO₄ (0.0125 mmol) en DMF (1 mL) se le agregó *L*-ascorbato de sodio (0.0502 mmol) y se colocó en agitación a temperatura ambiente hasta obtener una solución azul. Luego se agregó gota a gota a una solución de azidoalquil derivados (0.251 mmol) y alcohol propargílico (0.251 mmol) en DMF (8mL). Se llevó a calentamiento a 100° C durante 12-16 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se finalizó agregando agua destilada. El disolvente de la mezcla se evaporó y el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en sílice gel (hexano/AcOEt 9:1 → AcOet/hexano 2:1). El compuesto puro se llevó a sequedad al vacío.



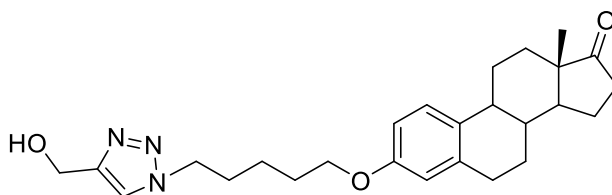
6.2.16 Obtención de la 3-[(4'-hidroximetil[1.2.3]triazol-1'-il)propoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 12 horas. Rendimiento: 98%. $[\alpha]_D^{25} + 88.350$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F. = 129.5 ° C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.55 (s, 1H, 5'), 7.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.69 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H, H-2), 6.63 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H-4), 4.77 (s, 2H, CH₂OH), 4.57 (t, $J = 6.73$, 2H, CH₂N), 3.98 – 3.87 (t, $J = 5.82$, 2H, CH₂O), 2.97 – 2.77 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.51 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.38 (q, $J = 6.9$ Hz, 3H), 2.25 (td, $J = 10.7, 3.7$ Hz, 1H), 2.20 – 2.10 (m, 1H), 2.09 – 1.98 (m, 1H), 1.98 – 1.91 (m, 1H), 1.68 – 1.38 (m, 7H), 0.91 (d, $J = 1.9$ Hz, 3H, H-18). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 221.1 (C-17), 156.4 (C-1), 147.6 (C-4'), 138.0 (C-5), 132.6 (C-10), 126.5 (C-2), 122.3 (C-5'), 114.4 (C-4), 112.1 (C-2), 63.8 (CH₂O), 56.4 (CH₂OH), 50.4 (C-14), 48.0 (C-13), 47.1 (CH₂N), 44.0 (C-9), 38.3 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.0 (C-6), 29.7 (CH₂CH₂N), 26.5 (C-7), 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



6.2.17 Obtención de la 3-[(4'-hidroximetil[1.2.3]triazol-1'-il)butoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

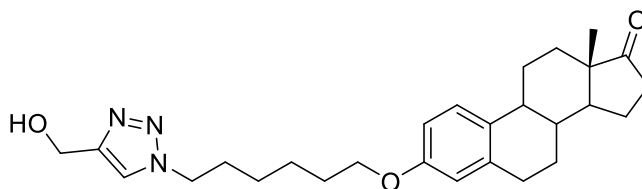
El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 16 horas. Rendimiento: 95%. $[\alpha]_D^{25} + 90.800$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F. =76.5 ° C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (s, 1H, H-5'), 7.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, C-1), 6.69 (dd, $J = 8.7, 2.7$ Hz, 1H, C-2), 6.62 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, C-4), 4.78 (s, 2H, CH_2OH), 4.44 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2N), 3.96 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2O), 2.93 – 2.85 (m, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, H-11 α), 2.29 – 2.22 (m, 1H, C-9), 2.13 (m, 3H), 2.02 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.69 – 1.39 (m, 6H), 0.91 (s, 3H, H-18). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 221.2 (C-17), 156.7 (C-3), 147.8 (C-4'), 137.9 (C-5), 132.3 (C-10), 126.4 (C-1), 121.7 (C-5'), 114.4 (C-4), 112.0 (C-2), 66.8 (CH_2O), 56.5 (CH_2OH), 50.4 (C-14), 50.0 (CH_2N), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.3 (C-8), 36.0 (C-16), 31.6 (C-12), 29.7 (C-6), 27.3, 26.5 (C-7), 26.2, 25.9 (C-11), 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



6.2.18 Obtención de la 3-[(4'-hidroximetil[1.2.3]triazol-1'-il)pentoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 16 horas. Rendimiento: 95%. $[\alpha]_D^{25} + 86.670$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F. =107 ° C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.53 (s, 1H, H-5'), 7.19 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1),

6.68 (d, $J = 7.5$, 1H, H-2), 6.62 (s, 1H, H-4), 4.80 (s, 2H, CH_2OH), 4.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2N), 3.92 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, CH_2O), 2.89 (dd, $J = 10.1, 5.7$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.0, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, H-11 α), 2.25 (td, $J = 10.8, 4.0$ Hz, 1H, C-9), 2.14 (dt, $J = 18.6, 8.8$ Hz, 1H), 1.98 (m, 3H), 1.86 – 1.69 (m, 3H), 1.53 (m, $J = 32.2$, 7H), 1.26 (s, 1H), 0.91 (s, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.0 (C-17), 156.9 (C-3), 147.7 (C-4'), 137.8 (C-5), 132.1 (C-10), 126.4 (C-1), 121.6 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.3 (CH_2O), 56.6 (CH_2OH), 50.4 (C-14), 50.2 (C-14), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.0, 29.7 (C-6), 28.6, 26.6 (C-7), 25.9 (C-11), 23.2, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).



6.2.19 Obtención de la 3-[(4'-hidroximetil[1.2.3]triazol-1'-il)hexoxi]estra-1,3,5(10)-trien-17-ona

El compuesto fue preparado de acuerdo al procedimiento general descrito con un tiempo de reacción de 16 horas. Rendimiento: 82%. $[\alpha]_D^{25} + 60.770$ ($c=1$ mg/mL, cloroformo). P.F. = 48 ° C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.53 (s, 1H, H-5'), 7.19 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-1), 6.69 (dd, $J = 8.3, 2.9$ Hz, 1H, H-2), 6.63 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, H-4), 4.78 (s, 2H, CH_2OH), 4.36 (td, $J = 7.2, 1.7$ Hz, 2H, CH_2N), 3.91 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2O), 2.89 (dd, $J = 10.7, 5.8$ Hz, 2H, H-6 α , H-6 β), 2.50 (dd, $J = 19.1, 8.7$ Hz, 1H, H-16 β), 2.39 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, H-11 α), 2.25 (td, $J = 10.8, 3.6$ Hz, 1H, C-9), 2.19 – 2.10 (m, 1H), 2.08-1.21, (m, 16H), 0.91 (d, $J = 1.7$ Hz, 3H, H-18). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 221.2 (C-17), 157.0 (C-3), 147.6 (C-4'), 137.8 (C-5), 132.0 (C-10), 126.4 (C-1), 121.6 (C-5'), 114.5 (C-4), 112.1 (C-2), 67.5 (CH_2O), 56.5 (CH_2OH), 50.3 (CH_2N), 48.0 (C-13), 44.0 (C-9), 38.4 (C-8), 35.9 (C-16), 31.6 (C-12), 30.2, 29.7 (C-6), 29.0, 26.6 (C-7), 26.2, 25.9 (C-11), 25.5, 21.6 (C-15), 13.9 (C-18).

6.3 Determinación de probable actividad biológica y de propiedades fisicoquímicas

Para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos obtenidos, se construyeron las moléculas en 2D en el editor de moléculas ChemDraw versión 13.0. Esto permitió obtener el código Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILES) el cual es un lenguaje que permite especificar estructuras moleculares.

Se utilizaron las plataformas PASSonline, Swisstarget Prediction y CLC-Pred para evaluar las probabilidades de que los compuestos propuestos presentaran alguna actividad biológica. Estas plataformas funcionan de manera parecida, al introducir los códigos SMILES de los compuestos, los resultados obtenidos muestran las probabilidades de que los compuestos muestren actividad, de acuerdo a los algoritmos propios que permiten la búsqueda en las bases de datos propias. Los datos obtenidos se filtraron de acuerdo a la probabilidad, reportándose así los datos de mayor probabilidad.

Por otro lado, la evaluación de las propiedades fisicoquímicas se llevó a cabo utilizando SwissADME y AdmetSAR. De manera similar, se utiliza el código SMILES como fuente de información acerca de las moléculas a evaluar. Estas plataformas arrojan resultados numéricos por lo cual no se requirió llevar a cabo algún tratamiento para los datos.

6.4 Determinación de probable actividad biológica y de propiedades fisicoquímicas

Para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos obtenidos, se construyeron las moléculas en 2D en el editor de moléculas ChemDraw versión 13.0. Mismas que fueron tratadas en el software Molecular Operating Environment (MOE) para llevar a cabo la minimización de energía utilizando AMBERT 10: EHT como campo de fuerza.

Por otro lado, se obtuvieron las estructuras cristalinas de las enzimas aromatas y 17 β -HSD de la plataforma Protein Data Bank con los códigos PDB: 5JKW y 1QYX, respectivamente. Se eliminaron las moléculas co-cristalizadas no necesarias para la interacción ligando-proteína; además, se ajustaron las cargas, los átomos de hidrogeno y se minimizó la energía usando MOE usando como campo de fuerza AMBERT 10: EHT.

Se llevó a cabo la validación del sistema a través de un *re-docking* con el ligando co-cristalizado utilizando triangulación como función de colocación y los *score* se calcularon con la función London ΔG y se seleccionaron las mejores poses usando la función GBVI/WSA ΔG (Generalized-Born Volume Integral/ Weight Surface Area). El sitio de unión fue determinado usando el ligando cristalográfico, es decir, se seleccionó el sitio ortostético. Para cada compuesto se generaron 100 repeticiones para 100 poses. Una vez definidas las mejores poses, se analizaron visualmente buscando aquellas con mejor solapamiento con el ligando cristalográfico.

Las poses elegidas fueron analizadas en MOE a través de la obtención de los diagramas de interacción en 2D y 3D. Además, se utilizó PloteinPlus para un análisis adicional de los resultados obtenidos, reportándose las interacciones obtenidas de ambos análisis.