



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
LICENCIATURA EN FARMACIA**

**“FORMACIÓN DE PIRIMIDINAS
ESTEROIDALES”**

TESIS

Que para obtener el título de licenciado en:

FARMACIA

Presenta:

FRANCISCO LUCIO VELAZQUEZ AYALA

Asesores:

Dra. Sara Montiel Smith

Dr. José Luis Vega Báez

Asesor técnico

Dra. Anabel Romero López

Puebla, Pué.

Junio, 2015

El presente trabajo se desarrolló en el Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. Sara Montiel Smith y el Dr. José Luis Vega Báez, como asesor técnico a la Dra. Anabel Romero López contando con el apoyo económico de una beca otorgada por la VIEP BUAP, BECA SEP.

Agradecimientos:

*Agradezco a **Dios**, por darme la vida, ya que al tener vida uno tiene muchos caminos a seguir y uno de ellos fue terminar mis estudios y es mediante esta tesis como lo reivindico.*

*Agradezco a todos mis familiares por apoyarme y es especial a mi **madre: Amada Ayala Bolaños** que confió en mí, en que terminaría la carrera y que me hizo fuerte cuando flaqueaba.*

*Agradezco a mis directores de tesis **Dra. Sara Montiel Smith** y **Dr. José Luis Vega Báez** por brindarme la oportunidad de trabajar junto a ellos y apoyarme en todo, así como a mi asesora **Dra. Anabel Romero López** que también fue un pilar para poder aprender lo necesario para llegar hasta estas alturas. A todos los demás **doctores** por darme ese espacio y apoyarme dentro de su equipo de investigación que fueron necesarios para lograr esto.*

*Agradezco finalmente a todos aquellos **amigos** que estuvieron en todo momento para apoyarme, haciéndome fuerte y seguir adelante.*

Índice

1.- Lista de abreviaturas	1
2.- Resumen	2
3.- Introducción	3
4.- Justificación	7
5.- Antecedentes	8
5.1.- Síntesis de pirimidinas	8
5.2.- Importancia de los azaesteroides	13
5.- Terapias anticancerígenas	18
6.- Objetivos	20
7.- Discusión de resultados	21
8.- Conclusiones	36
9.- Desarrollo experimental	37

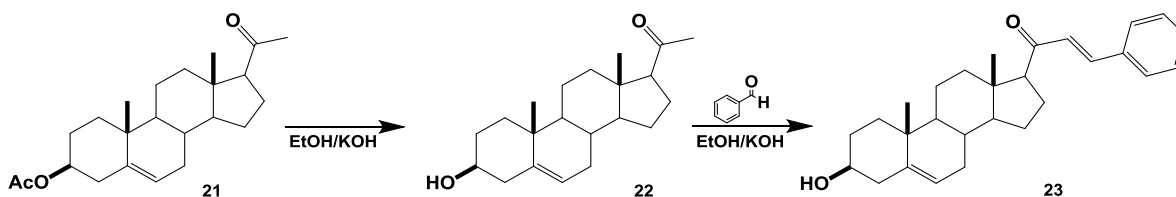
Siglas y abreviaturas

CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	Correlation Spectroscopy
CYP17	Enzima 17α-hidroxilasa-17,20-liasa
CYP19	Enzima aromatasa
δ	Desplazamiento químico en ppm
HEPG2	Carcinoma Humano Hepatocelular
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia Infrarroja
<i>t</i>-BuOK	<i>terc</i>-Butóxido de potasio
MDR	Resistencia a múltiples fármacos
ppm	Partes por millón
p.f.	Punto de fusión
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
R_F	Factor de retención
SMT	Enzima delta 24-esterol metíltransferasa

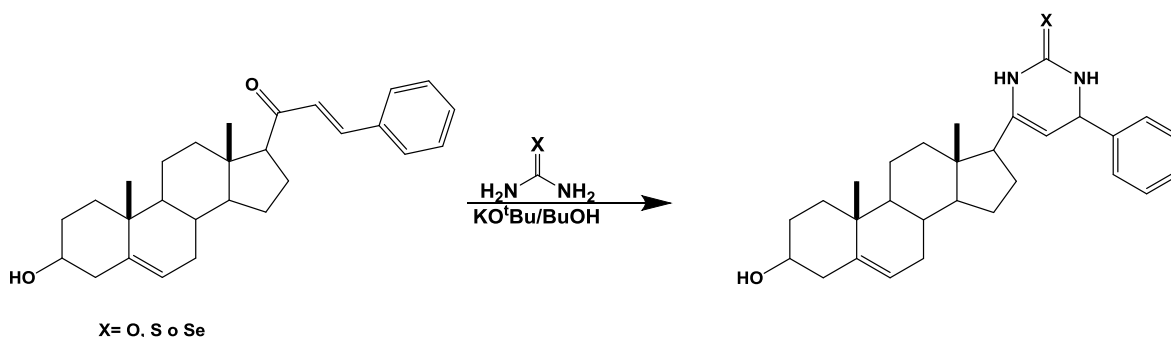
Resumen

En este trabajo se describe una ruta para la síntesis de nuevos derivados esteroidales tipo pirimidina, utilizando como materia prima la cetona α - β -insaturada **23**.

Utilizando el acetato de pregnenolona **21** como materia prima, se llevó a cabo la hidrólisis del grupo acetato en medio básico (EtOH/KOH) obteniendo el compuesto **22**, posteriormente se realizó una reacción de condensación aldólica¹ con benzaldehído en condiciones básicas (EtOH/KOH), para obtener el producto deseado **23**.



Una vez sintetizada la cetona α,β -insaturada **23**, se trató nuevamente en condiciones básicas ($\text{KO}^t\text{Bu}/\text{BuOH}$) a reflujo, haciéndola reaccionar con un grupo binucleofílico, con átomos de nitrógeno y obtener los derivados de pirimidina².



¹ Wade, L.; Condensación aldólica de cetonas y aldehídos. Pearson Educación S, A., Madrid, **2004**

² Huang, L-H.; Zheng Y-F.; Song C-J.; Wang Y-G.; Xie Z-Y.; Lai, Y-W.; Lu, Y-Z.; Liu, H-M. *Steroids* **2012**, *77*, 367-374.

Introducción

Los esteroides se encuentran presentes en proporciones variables en plantas y animales además poseen estructuras muy complejas y diversas actividades biológicas. Los esteroides presentan una estructura básica en común que consiste en cuatro anillos fusionados denominada ciclopentanoperhidrofenantreno³ la cual contiene 17 átomos de carbono. Algunos compuestos derivados de este núcleo muestran grupos metilo (-CH₃), en las posiciones 10 y 13 para integrar los carbonos 18 y 19; generalmente existe una cadena alifática en el carbono 17, la longitud de dicha cadena y la presencia de metilos en el carbono 10 y 13 determina las diferentes estructuras y propiedades de los diversos derivados (figura 1).

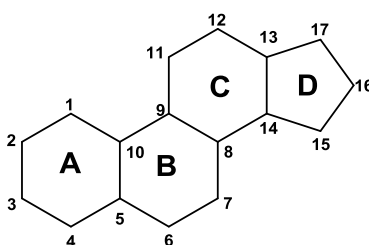


Figura 1. Estructura básica de los esteroides.

Diversas variaciones relativamente pequeñas a este tipo de núcleo crean toda una gama de compuestos con actividad biológica fundamental para la vida. Por ejemplo, los esteroides **1**, sapogeninas **2**, ácidos biliares **3**, corticoesteroides **4**, hormonas sexuales **5**, brasinoesteroides **6**, entre otros, poseen actividades diversas y específicas (figura 2).

³ Moss, G. P. *Pure Appl. Chem.* **1989**, 61, 1783-1822.

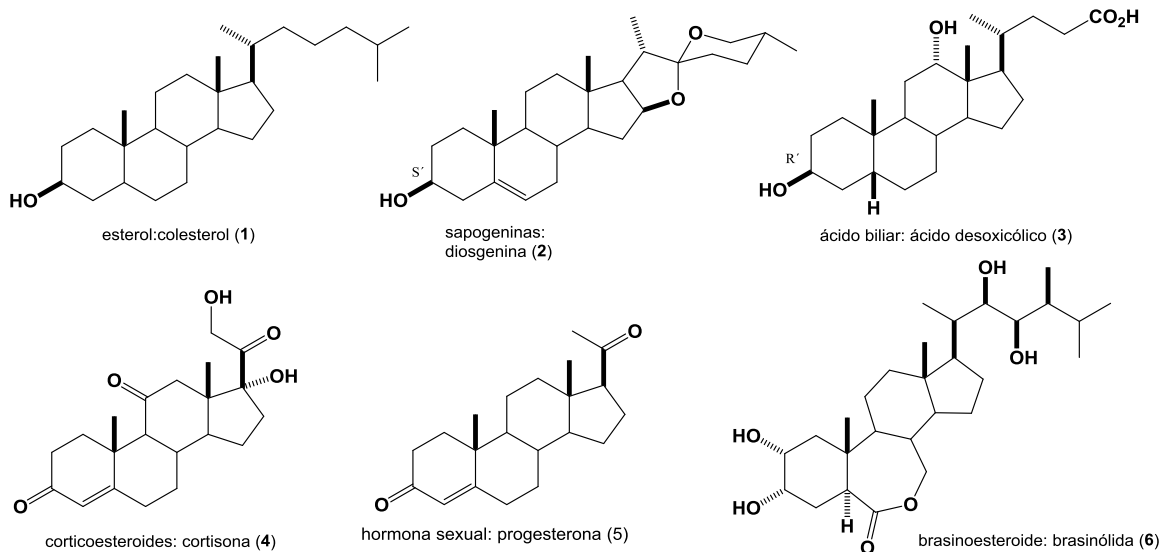


Figura 2. Diversos compuestos esteroidales.

Los ácidos biliares cumplen una función fundamental para la digestión y absorción de las grasas en el colon de los mamíferos, además son utilizados como materia prima accesible en la semisíntesis de una gran variedad de fármacos de gran relevancia. Los corticoesteroides tienen especial importancia debido a que se utilizan como paliativos en algunas enfermedades asociadas con procesos inflamatorios; la cortisona e hidrocortisona pertenecen a este grupo de esteroides. El colesterol que desempeña funciones importantes en las células eucariotas, siendo la más trascendental como componente estructural de la membrana plasmática.⁴

La síntesis de diversos esteroides modificados ha recibido considerable atención en los años recientes. En particular, han ganado mucha importancia en la síntesis de nuevos compuestos ya sea fusionados o ligados al esqueleto esteroide. Aparte de ser precursores para la síntesis de moléculas más

⁴ a) Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*; 2nd Ed. John Wiley & Sons: Chichester. **2002**. b) Sjövall, J.; Danielsson, H. *New Comprehensive Biochemistry, Vol. 12. Sterols and Bile Acids*. Elsevier Science Publisher B. V: Amsterdam. **1985**, pp 1-2. c) Jenkins, G.; Hardie L. J. *Bile Acids. Toxicology and Bioactivity*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge. **2008**, pp 1-2.

complejas, se ha demostrado que algunos heterociclos esteroidales poseen un amplio rango de actividades biológicas.⁵

En general, la presencia de heterociclos principalmente nitrogenados sobre estructuras esteroidales le confiere a la molécula una alta gama de actividades biológicas⁶ por ello, una gran cantidad de éstos derivados han sido desarrollados como fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades, por ejemplo cardiovasculares, tumores en el cerebro, cáncer de próstata, osteoartritis, etc.⁷

Algunos derivados de esteroides con sustituyentes que contienen nitrógeno en el anillo D ya están siendo utilizados en la práctica médica o están experimentando ensayos clínicos. Los avances se han debido en gran parte a los logros de la ciencia moderna fundamental, a saber, el descubrimiento de dianas moleculares para la lucha contra las patologías mencionadas. En la actualidad, se han desarrollado métodos para la investigación farmacológica en enfermedades oncológicas de la próstata (inhibición de la 17 α -hidroxilasa-17,20-liasa (CYP17)) y de mama (inhibición de la aromatasa (CYP19)), así como enfermedades infecciosas tales como la malaria (inhibición de la 24-esterol metiltransferasa (SMT)). El estudio de la interacción de CYP17, CYP19, y SMT con inhibidores sintéticos hace una importante contribución a la farmacología molecular contemporánea y la medicina molecular, y también proporciona una base para el diseño y la síntesis racional de nuevos compuestos biológicamente activos.⁸

En particular, un número de diferentes sistemas heterocíclicos han sido introducidos en la estructura del núcleo esteroidal como: pirazolinas, pirazoles, isoxazoles, isoxazolinas, tiazoles, tiadiazoles, piridinas, pirimidinas, imidazoles, etc., como las más importantes. Entre estos heterociclos las pirazolinas son un

⁵ a) Kovacs, D.; Kadar, Z.; Motyan G.; Schneider, G.; Wolfling J.; Zupko, I, Frank E. *Steroids* **2012**, *77*, 1075-1085. b) Haung, L-H.; Zheng Y-F.; Song C-J.; Wang Y-G.; Xie Z-y.; Lai Y-W.; Lu, Y-Z.; Liu H-M. *Steroids* **2012**, *77*, 367-374. c) El-Far M.; Elmegeer, G. A.; Eskander, E. F.; Rady H. M.; Tantawy M. A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3936-3946.

⁶ Hirschmann, R.; Buchschacher, P. ; Steinberg, N.G.; Fried, J.H.; Ellis, R.; Kent, G.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1520-1527.

⁷ Sheridan, P. J.; Blum, K.; Trachtenberg, M. *Steroid receptors and disease* **1988**, 289-564.

⁸ Stulov, S. V.; Misharin, A. Yu. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *48*, 1431-1472.

grupo interesante de compuestos, muchos de los cuales poseen propiedades farmacológicas muy diversas tales como: analgésicas, antipiréticas, así como también actividades antidepresivas, anti-inflamatorias,⁹ anti-reumatoides,¹⁰ antidiabéticas¹¹ y recientemente han sido reportadas exhibiendo actividades antimicrobianas¹² y antitumorales.^{13,14}

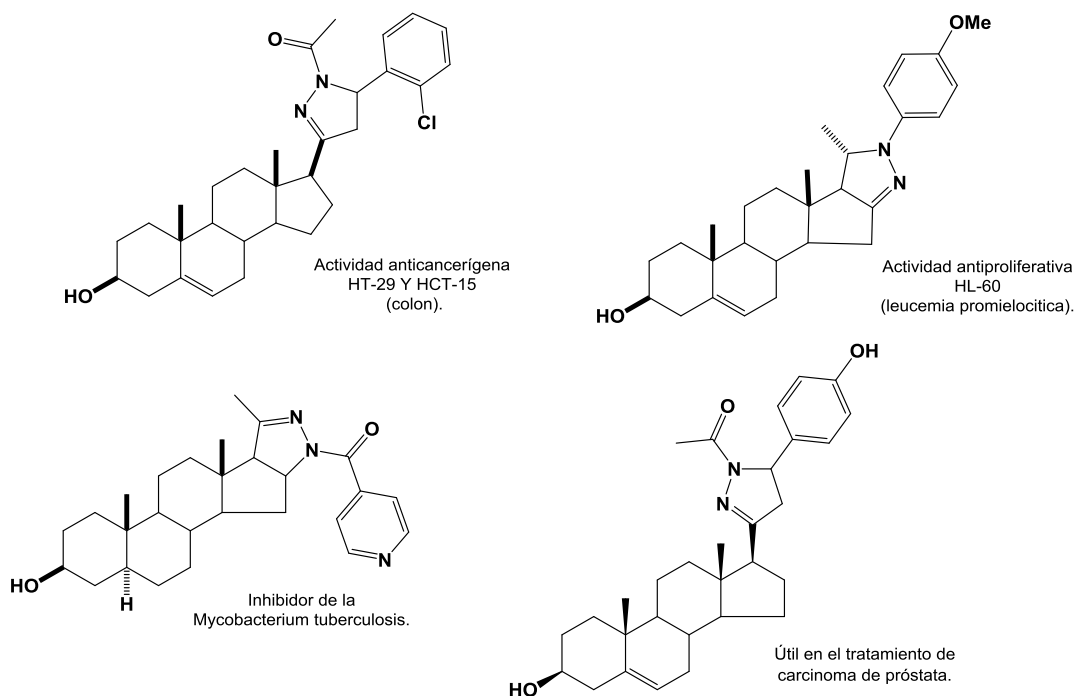


Figura 3. Pirazolinas esteroidales con diferentes actividades biológicas.¹⁵⁻¹⁷

⁹ Bansal E, Srivastava VK, Kumar A. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 81–92.

¹⁰ Jung, J. C.; Watkins, E.B.; Avery, M. A. *Heterocycles* **2005**, *65*, 77–94.

¹¹ Hammam, A. G.; Fahmy, A. F.; Amr A. E.; Mohamed, A. M. *Ind. J. Chem.* **2003**, *42*, 1985–1993.

¹² Amr, A. E. *Ind J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *10*, 49–58.

¹³ Banday, A. H.; Mir, B. P.; Lone, I. H.; Suri, K. A.; Sampath Kumar, H. M. *Steroids* **2010**, *75*, 805-809.

¹⁴ Banday, A. H.; Shameem, S. A.; Gupa, B. D.; Sampath Kumar, H. M. *Steroids* **2010**, *75*, 801-804

¹⁵ Minorics, R.; Szekeres, T.; Krupitza, G.; Saiko, P.; Giessrigl, B.; Wolfling, J. *Steroids* **2011**, *76*, 56-59

¹⁶ Iványi, Z.; Szabó, N.; Huber, J.; Wolfling, J. *Steroids* **2012**, *77*, 566-574.

¹⁷ Merlani, M.; Kemertelidze, E.; Papadopoulos, K.; Men'shova, N. *Rus. J. Bioorg. Chem.* **2004**, *30*, 497-501.

Justificación

Durante las últimas décadas los esteroides conteniendo heterociclos que formen parte de sustituyentes o fusionados en alguno de los anillos A o D de la estructura esteroideal han atraído el interés de muchos farmacéuticos, ya que estos heteroesteroides poseen una amplia actividad biológica. Algunos de estos compuestos que ya están en el mercado mundial poseen actividad antiinflamatoria, antihipertensiva, estimulante cardiaco, antimalario, antifúngico, antimicrobial, anticancerígeno, entre otros.

En los últimos años se ha visto un amplio enfoque de la investigación hacia la modificación racional de moléculas esteroidales. Esto es probablemente debido a las diversas ventajas asociadas con base a esteroides quimioterapéuticos. Estos compuestos resultan ser no tóxicos, menos vulnerables a la resistencia a múltiples fármacos (MDR) y altamente biodisponibles por ser capaces de penetrar la pared celular. La pregnenolona se utilizó como materia prima para desarrollar nuevos compuestos contra el cáncer.¹⁸

En vista de la importancia terapéutica de los derivados heterocíclicos esteroidales nos hemos interesado en el diseño de la síntesis de nuevos heteroesteroides y de su evaluación biológica.

¹⁸Moraheb, R-M.; Al-Omran, Fatima. *Steroids* **2012**, 77, 1151-1559.

Antecedentes

Síntesis de pirimidinas.

Uno de los métodos más utilizados para la síntesis de derivados de dihidropirimidinas es el tratamiento de cetonas α,β -insaturadas con urea y sus análogos (tiourea, seleneourea, guanidina y amidinas). Sin embargo, la mayoría de las publicaciones han tratado este tipo de síntesis utilizando tiourea.¹⁹

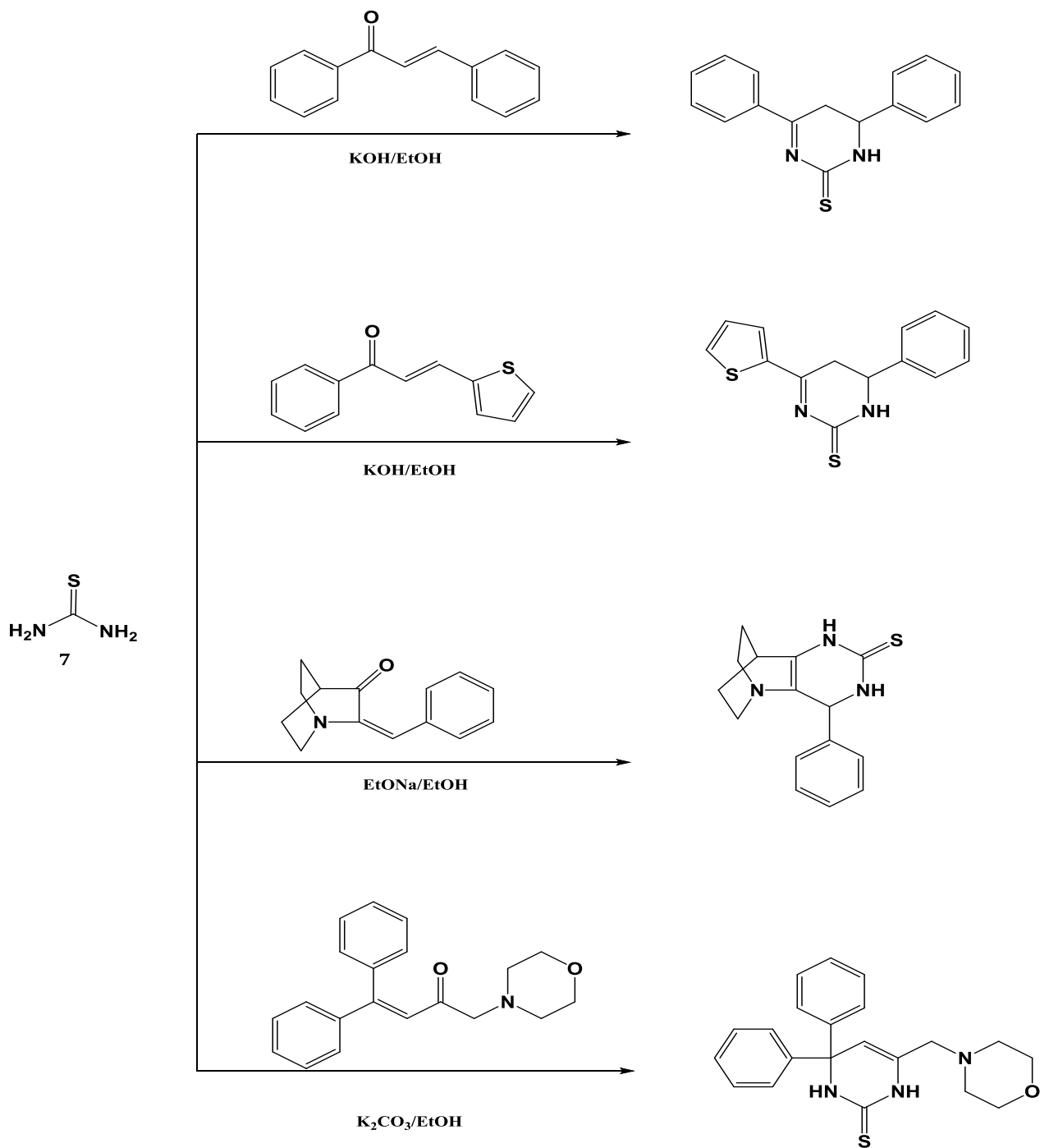
Las condiciones de heterociclación de tiourea (7) con cetonas α,β -insaturadas puede ser muy variada y usualmente es usada una catálisis básica. Las bases más utilizadas son hidróxido de potasio, *tert*-butóxido de potasio, hidróxido de sodio,²⁰ metóxido y etóxido de potasio²¹ o una base más suave como el carbonato de sodio²² (esquema 1).

¹⁹ Soliman, F. M. A.; El-Hashash, M. A.; Souka, L.; Salman, A. S. *Rev. Roum. Chim.* **1996**, *41*, 109-117.

²⁰ a) Willems, A.; Vandenberghe, N. *Congr. Int. Chim. Ind. Luettich*, **1958**, *2*, 476-477. b) El-Hashash, M. A.; El-Nagdy, S.; Amine, M. S. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1991**, *55*, 279-283. c) Bayoumy, B. E.; El-Bahie, S.; El-Mobayed, M.; El-Latif, G. A. *Rev. Roum. Chim.*, **1993**, *38*, 701-705. d) Peesapati, V.; Rupavani, G. *Indian J. Chem. Sect. B*, **1998**, *37*, 468-472.

²¹ a) Sayed, H. H. *Indian J. Chem. Sect. B*, **1998**, *37*, 1054-60. b) Mahmoud, M. R.; Madkour, H. M. F. *Synth. Commun.*, **1996**, *26*, 3799-3808. c) El-Ablak, F. Z.; Etman, H. A.; Metwally, M. A. *Boll. Chim. Farm.*, **1995**, *134*, 77-9.

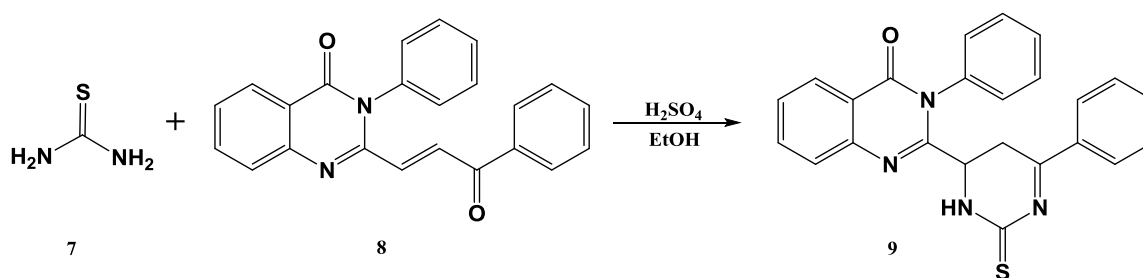
²² a) Gautier, J.-A. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1972**, 682-688. b) Simon, D.; Lafont, O.; Farnoux, C. C.; Miocque, M. J. *Heterocycl. Chem.* **1985**, *22*, 1551-1157.



Esquema 1. Síntesis de diversas pirimidinas con diferentes condiciones.

El uso de la catálisis ácida también es posible, algunos ejemplos incluyen la aplicación de ácido sulfúrico,²³ ácido clorhídrico²⁴ y ácido acético.²⁵ Usualmente la catálisis ácida es usada en el caso de cetonas α,β -insaturadas con heterociclos naturales o más sustituyentes heterocíclicos.

Por ejemplo, se utilizó ácido sulfúrico para catalizar la reacción de tiourea (7) con 2-(3-oxo-3-fenilpropenil)-3-fenil-3H-quinolizin-4-ona (8) para generar la pirimiditona 9 (esquema 2).



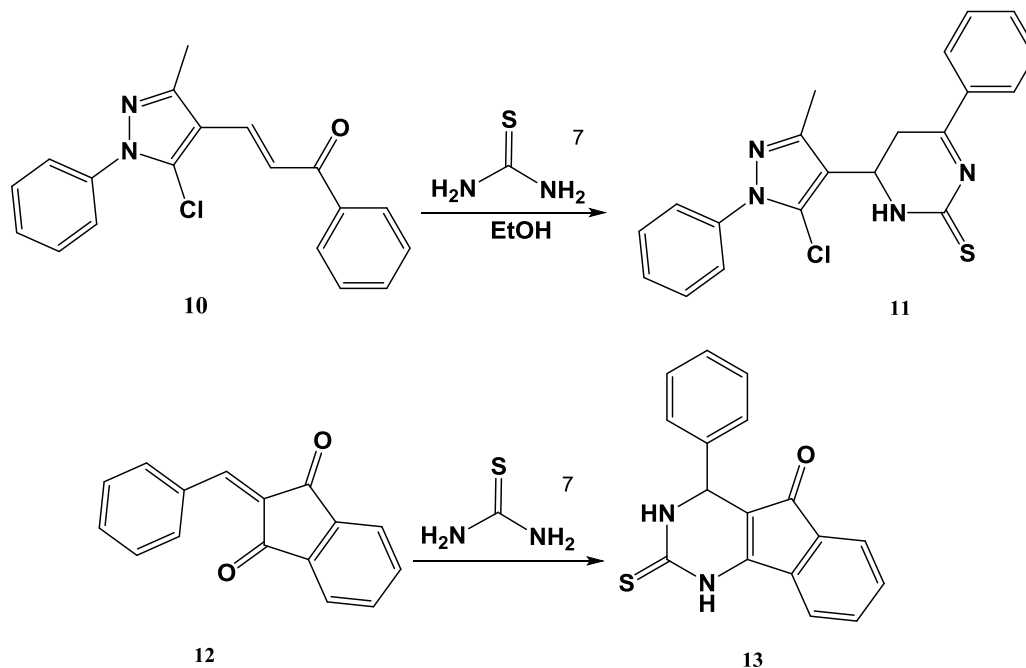
Esquema 2. Síntesis de la pirimidinas 9 en medio ácido.

Un ejemplo del uso de HCl es la reacción de tiourea (7) con el compuesto 10 en el cual se obtiene el compuesto 11. Otro ejemplo utilizando medio ácido es la reacción del compuesto 12 con tiourea (7) en este caso se usó ácido acético como catalizador generando el compuesto 13.

²³ Khalil, M. A.; Soliman, R.; Farghaly, A. M.; Bekhit, A. A. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **1994**, 327, 27-52.

²⁴ a) Latif, F. M.; Maghraby, A. S.; Barsy, M. A.; Badr, M. Z. A.; Dopp, D. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1994**, 59, 247-252. b) El-Latif, F. M. A.; Barsi, M. A.; Maghraby, A. S.; Badr, M. Z. A.; Doepp, D. *J. Indian Chem. Soc.*, **1995**, 72, 641-650.

²⁵ a) Zandersons, A. Z.; Lusiš, V. K.; Liepin'sh, E. E.; Mutsenietse, D. K.; Khanina, E. L.; Dubur, G. Y. *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1998**, 24, 1136-1140. b) Salama, M. A.; El-Essa, S. A. *Indian J. Chem. Sect. B*, **1999**, 38, 739-743. c) Ali, M. I.; El-Fotooh, A.; Hamman, G.; Mohamed, S. F. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1988**, 39, 211-218.

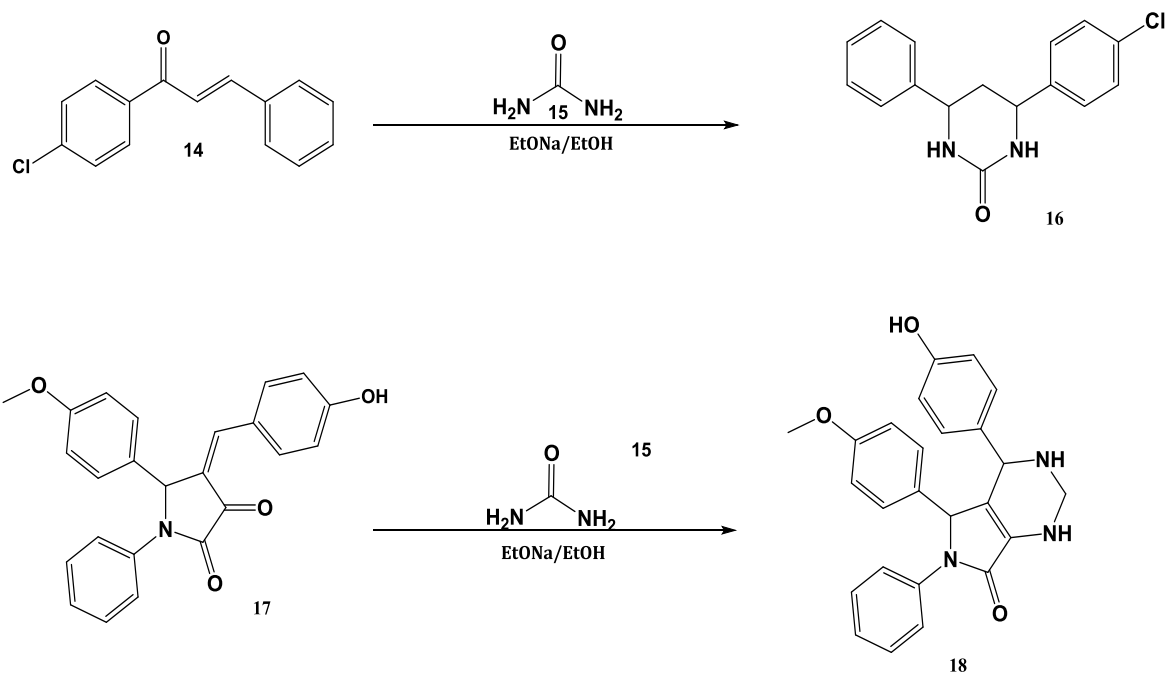


Esquema 3. Síntesis de las pirimidinas 11 y 13 en medio ácido.

El análisis de reportes previos muestra que los tiempos de reacción varían de 30 minutos hasta 12 horas en rendimientos del 40-80% dependiendo del tipo de catálisis que se utilice.

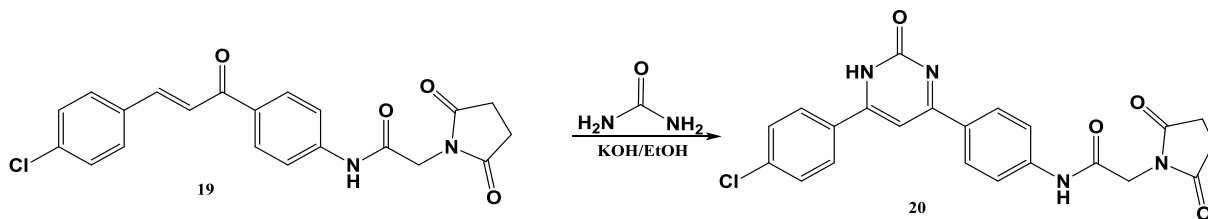
Las reacciones de cetonas α,β -insaturadas con urea (**15**) como ya se había mencionado han sido menos estudiadas y requieren condiciones de reacción más fuertes. En tal proceso el etóxido de sodio es usualmente empleado²⁶ en la síntesis de las pirimidinas **16** y **18** (esquema 4).

²⁶ a) Hatt K. *Aust. J. Chem.* **1970**, 23, 561. 73-78. b) Sabri, S. S.; Hussein, A. Q.; Al-Hajjar, F. H. *J. Chem. Eng. Data* **1985**, 30, 512-514. c) El-Maati, T. M. A. *Boll. Chim. Farm.* **1999**, 138, 272-279.



Esquema 4. Síntesis de las pirimidinas 16 y 18 con urea.

La catálisis básica de urea con la cetona α,β -insaturada **19** puede guiar a aromatización²⁷ con la formación de la pirimidinona **20** (esquema 5).



Esquema 5. Síntesis de un derivado de la pirimidina 20.

²⁷ Essawy, S. A.; Wasfy, A. A. F. *Egypt. J. Chem.* **1994**, *37*, 283-293.

Importancia de los azaesteroides.

Los derivados esteroidales conteniendo nitrógeno juegan un rol importante en la síntesis de moléculas biológicamente activas. Un enorme número de trabajos experimentales han sido dedicados a la síntesis y estudios de estructura- actividad biológica de azaesteroides.

Todos los estudios biológicos realizados han permitido diseñar diversos derivados en función de la relación estructura-actividad, por lo tanto el gran éxito en la búsqueda de nuevos azaesteroides con una actividad biológica determinada se lleva a cabo convenientemente entre compuestos que tienen características estructurales específicas.

Actualmente se han desarrollado diferentes métodos para la síntesis de azaesteroides con átomos de nitrógeno en diferentes posiciones del anillo y para la síntesis de esteroides o ácido biliares análogos con una cadena conteniendo átomos de nitrógeno en varias posiciones.

La síntesis de heterociclos esteroidales ha conducido al descubrimiento de nuevas moléculas que presentan un amplio espectro de propiedades biológicas; estructuras esteroidales con heterociclos sobre el anillo D que poseen propiedades biológicas únicas y confieren a este tipo de compuestos no solo las típicas actividades hormonales, sino también actúan como potentes antibióticos, anticancerígenos o antioxidantes entre otros, además algunos de estos derivados ya están siendo utilizados en la práctica médica y otros se encuentran en ensayos clínicos como anticancerígenos, antifúngicos o antiparasitarios.²⁸

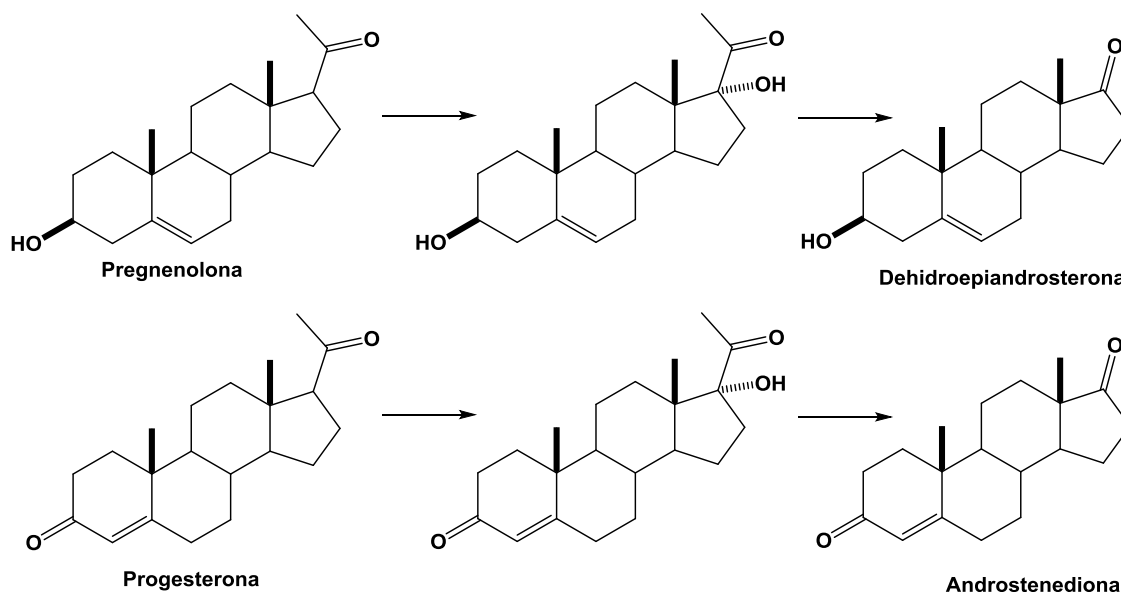
La reducción del nivel de andrógenos en el organismo es una manera eficaz de tratar el cáncer de próstata, como primero se demuestra en los trabajos pioneros por Huggins²⁹ publicado en 1941. Mediante la unión del andrógeno receptor con la célula objetivo, se inicia la transcripción de los genes responsables de la proliferación celular. Por lo tanto, los compuestos que son capaces de bloquear la transcripción de los genes y así evitar su biosíntesis son considerados como fármacos potenciales para el tratamiento de cáncer de próstata.

²⁸ Zavarin, I. V.; Chertkova, V. V.; Levina, I. S.; Chernoburova, E. I. *Russ. Chem. Rev.* **2011**, *80*, 661-682.

²⁹ Huggins, C.; Hodges, C. V. *Cancer Res.* **1941**, *1*, 293-297.

Sin embargo, la simple supresión del nivel de andrógenos en el organismo no es capaz de bloquear completamente el desarrollo de tumores, incluyendo el de próstata. Por esta razón, los esfuerzos de muchos investigadores se han extendido a la búsqueda de nuevos objetivos específicos, la síntesis de nuevos antiandrógenos esteroidales, y el desarrollo de una estrategia para la supresión total de la formación de andrógenos. Un logro significativo de la nueva estrategia es la elección de una de las enzimas de la familia del citocromo P450 la 17 α -hidroxilasa-17/20-liasa (CYP17) como objetivo, y también el éxito de la búsqueda de nuevos inhibidores específicos de CYP17 humana.^{30,31}

La CYP17 cataliza dos de las etapas más importantes en la biosíntesis de los andrógenos, es decir, la 17 α -hidroxilación de pregnenolona (o progesterona) y la posterior eliminación del grupo acetilo del intermediario 17 α -hidroxilado con la formación de 17-ceto andrógenos dehidroepiandrosterona (o androstenediona) (esquema 6).



Esquema 6. Formación de los andrógenos catalizada por la CYP17.

³⁰ Njar, V. C. O.; Brodie, A. M. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, *5*, 163-180.

³¹ Bruno, R. D.; Njar, V. C. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5047-5051.

Un farmacóforo que contiene los requisitos necesarios para inhibir la CYP17 fue desarrollado con derivados de esteroides con sustituyentes que contienen nitrógeno en el anillo D.³² Los factores más importantes que deben tener dichos inhibidores son: a) La ausencia de un átomo de hidrógeno en el átomo de C-17; b) la presencia de un átomo de nitrógeno con un par de electrones solitario capaz de coordinarse con el átomo de Fe del anillo de porfirina; c) adecuada orientación estérica de los sustituyentes en el átomo de C-20; d) la presencia de dos grupos de anclaje capaces de formar un enlace de hidrógeno (el grupo 3β-OH y el átomo de nitrógeno del heterociclo unido al anillo en D); e) la presencia de un fragmento no polar que interactúa con los residuos de aminoácidos hidrófobos del centro activo de CYP17.³³ La figura 4 muestra las estructuras de algunos inhibidores de la CYP17.

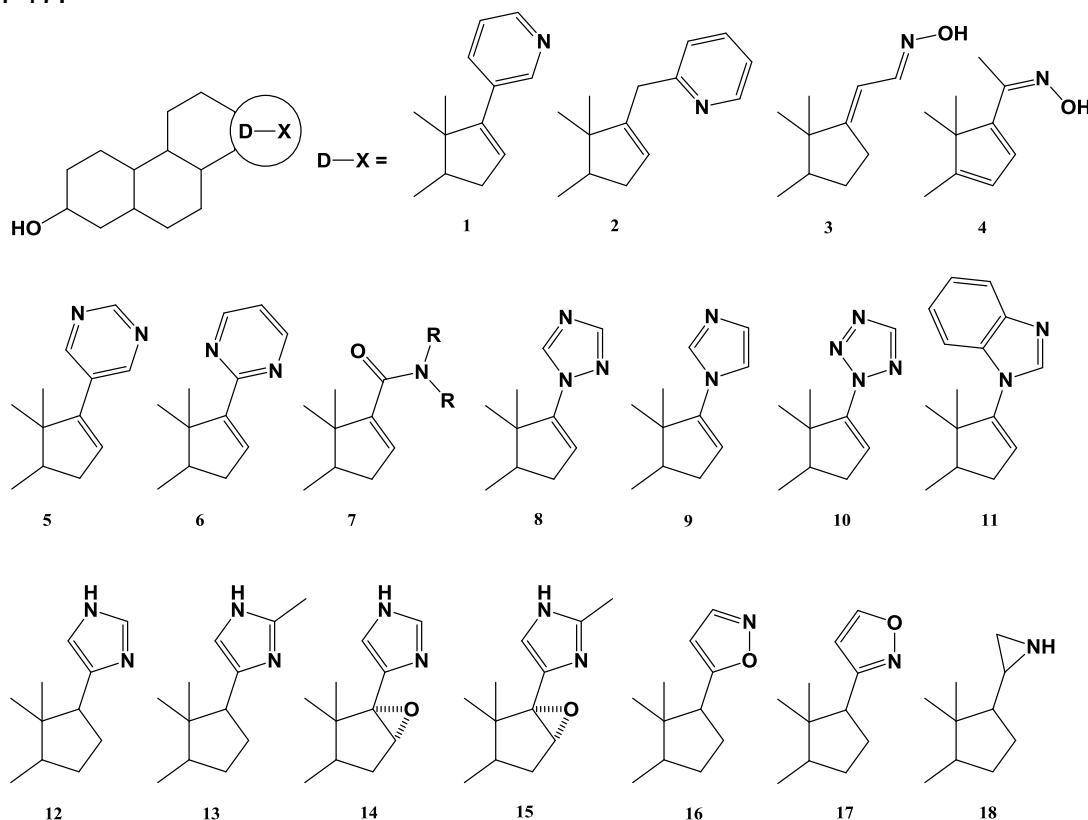


Figura 4. Derivados esteroidales inhibidores de CYP17.³⁴

³² Brodie, A. M. H.; Schwarzel W. C.; Shaikh, A. A.; Brodie, H. J. *Endocrinology* **1977**, *100*, 1684-1695.

³³ Clement, O. O.; Freeman, C. M.; Hartmann, R. W.; Handratta, V. D.; Vasaitis, T. S.; Brodie A. M. H.; Njar, V. C. O. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2345-2351.

³⁴ Stulov, S. V.; Misharin, A. Yu. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *48*, 1430-1472.

La principal diferencia en el metabolismo primario de los animales, plantas, bacterias, hongos y microorganismos se encuentra en la biosíntesis de esteroides; los mamíferos sintetizan C-27 esteroides de la serie del colestano, mientras que otros organismos sintetizan C-28 y C-29 que contienen un grupo metilo o etilo en el átomo de C-24 de esteroides. La enzima que cataliza la alquilación de esteroides en el átomo C-24, es la metiltransferasa Δ^{24} -esterol (SMT) la cual está ausente en los mamíferos, pero es de vital importancia para otros organismos.³⁵ En consecuencia, la inhibición de la SMT es capaz de provocar la supresión del crecimiento y la muerte de los organismos patológicos, y los inhibidores específicos de SMT pueden presentar efectos como agente antibacterial, antifúngico y antiparasitario.

La metilación de diferentes Δ^{24} -esteroides es catalizada por SMT en plantas, bacterias y microorganismos, se lleva a cabo de una manera muy complicada, ya que implica la formación de intermediarios enantioméricos inestables y conduce a productos que difieren en la estructura y configuración en el C-24.²⁴ Sin embargo se han identificado determinadas características reconocidas por SMT en la estructura del sustrato.^{36,37} La unión del sustrato en el centro activo de SMT requiere la formación de dos enlaces de hidrógeno, es decir, debe estar presente un hidrogeno enlazado al oxígeno en la posición 1 y otro enlazado al carbono del doble enlace en la posición 4 (Fig. 5), una correcta orientación estérica de los sustituyentes en el átomo de C-20 (3), y la posición más aplanada del esqueleto esteroide en la etapa de formación del complejo principal del sustrato con la enzima (parte 2).²

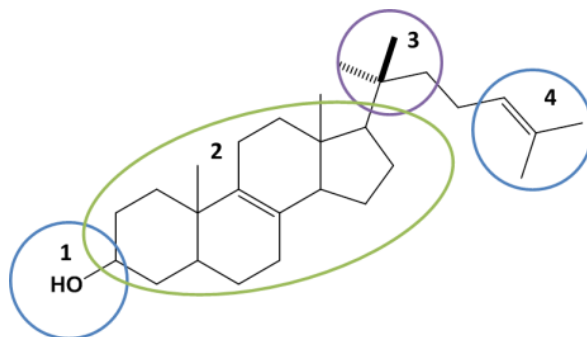


Figura 5. Características importantes de los esteroides para unirse al centro activo de SMT.

³⁵Nes, W. D. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, 1529, 63-88.

³⁶ Venkatramesh, M.; Guo, D.; Jia, Z.; Nes, W. D. *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, 1299, 313-324.

³⁷ Mangla, A. T.; Nes, W. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 925-936.

La inhibición de la SMT de bacterias patógenas, hongos y microorganismos por diversos azaesteroides causan su muerte por lo tanto son de particular interés. La búsqueda y la síntesis química de tales compuestos en gran parte se han llevado a cabo en derivados de esteroides y ácidos biliares con grupos que contienen nitrógeno en la cadena lateral en la posición C-17 (figura 6).

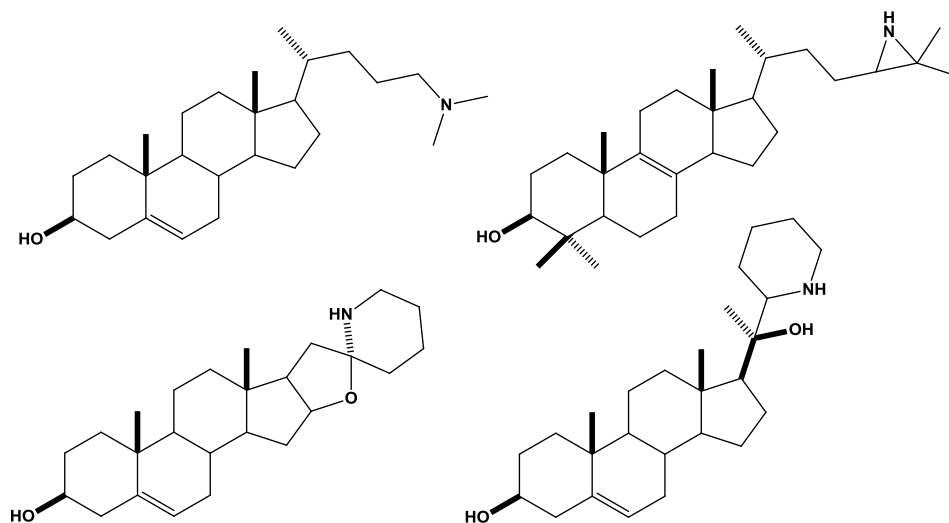


Figura 6. Inhibidores de SMT.

La actividad antitumoral de esteroides conteniendo nitrógeno ha sido estudiada³⁸ mostrando buenos resultados al ser evaluados contra el carcinoma de hígado sobre la línea celular HEPG2 (figura 7).

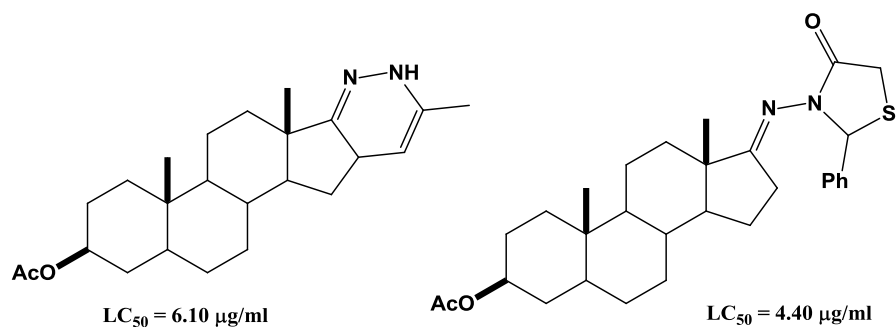


Figura 7. Azaesteroides con actividad antiproliferativa en la línea celular de carcinoma de hígado HEPG2.³⁹

³⁸ Elfar, M.; Elmegeed, G. A.; Eskander E. A.; Rady H, M.; Tantawy M. A. *J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3936-3964.

Terapias anticancerosas

El mantenimiento de la organización en los seres pluricelulares, es la consecuencia de un estricto control sobre los procesos de la división y la diferenciación celular. Así, la proliferación celular es la base del desarrollo de los organismos a partir de las células embrionarias y del mantenimiento de los mismos, pero es también la raíz del primero de los procesos que origina un cáncer: el crecimiento descontrolado de un grupo de células no diferenciadas.

Las células se reproducen duplicando su contenido y dividiéndose en dos células hijas. La división celular es necesaria para reemplazar las células perdidas por desgaste, deterioro o muerte celular programada; sin embargo, para mantener la organización en el organismo, es necesario que la proliferación esté limitada por controles estrictos. La mayor parte del tiempo, aún en presencia de nutrientes, las células en los tejidos se hallan fuera del ciclo de división, llevando a cabo su función especializada, bajo señales específicas se pone en marcha la etapa de proliferación celular; estas señales son en su mayoría factores de crecimiento proteicos que se unen a receptores de membrana plasmática y las combinaciones adecuadas, estimulan la proliferación en células que presenten su receptor específico. Ahora bien, cuando estas señales están diferenciadas del proceso normal, lleva como consecuencia una estimulación excesiva y por lo tanto una proliferación descontrolada de células. El ciclo de vida de las células normales es nacer, crecer, reproducirse y morir, en cambio una célula cancerosa es nacer, crece, se reproduce y no muere.⁴⁰

En la actualidad, la investigación⁴¹ sobre terapia anticancerosa basa su trabajo, de forma muy general en tratar de que, una vez identificadas las células, se inhiba el desarrollo de las células anómalas o con comportamientos aberrantes. Entre muchas formas de estudio para atacar el cáncer es encontrar fármacos que

³⁹ Abdelhalim, M. M.; Kamel, E. M.; Rabie, S. T.; Mohamed, R. N. *Steroids* **2011**, *76*, 78-84.

⁴⁰ National Cancer Institute. <http://www.cancer.gov/cancertopics/cancerlibrary/what-is-cancer> (Consulta: 18 de febrero 2015).

⁴¹ Díaz, G. M. Diseño y Síntesis de Benzoxazepinas como fármacos antitumorales. Incremento de la diversidad estructural. Tesis doctoral. Granada, España, <http://hera.ugr.es/tesisugr/15504177.pdf> (Consulta: 18 de febrero del 2015).

actúen directamente en un blanco objetivo o bien con fenómenos relacionados con éste mal, por ejemplo inhibiendo la proteína farnesil transferasa o actuando como antioxidantes.

Objetivos

Objetivo general:

- Sintetizar y caracterizar pirimidinas esteroidales para posteriormente evaluar su actividad biológica.

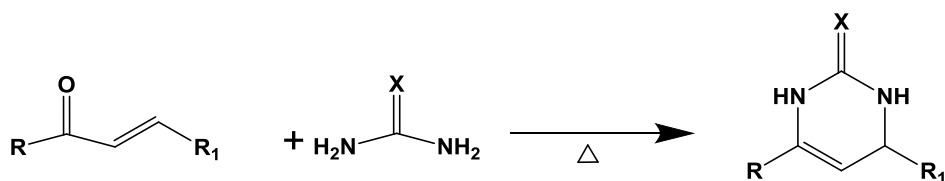
Objetivos particulares:

- Obtener derivados esteroidales con heterociclos de 6 átomos, tales como pirimidinas.
- Caracterizar por métodos físicos y espectroscópicos todos los compuestos sintetizados.
- Proponer los mecanismos de reacción de los productos generados.

Discusión de resultados

Con base a los antecedentes ya descritos y considerando la importancia farmacológica que tienen los derivados conteniendo heterociclos de nitrógeno, nos dimos a la tarea de sintetizar estructuras esteroidales con un anillo heterocíclico pirimidínico como sustituyente sobre el núcleo esteroidal.

Uno de los métodos más utilizados para sintetizar heterociclos de seis miembros con nitrógeno es a través de la reacción entre una cetona α,β -insaturada y un compuesto 1,3-binucleofílico, entre los más utilizados podemos mencionar a la tiourea y urea, mientras que con selenourea hay escasos reportes (Esquema 7).



$\text{X} = \text{S}, \text{O}, \text{Se}.$

Esquema 7. Esquema general para la formación de derivados heterociclos tipo pirimidina

Utilizando la metodología anterior y como primera parte de este proyecto, nos dimos a la tarea de sintetizar una cetona α,β -insaturada esteroidal, utilizando como núcleo esteroidal al acetato de pregnenolona (**21**, figura 8).

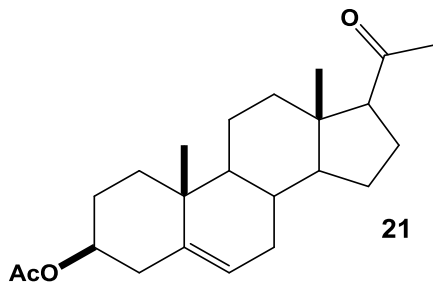
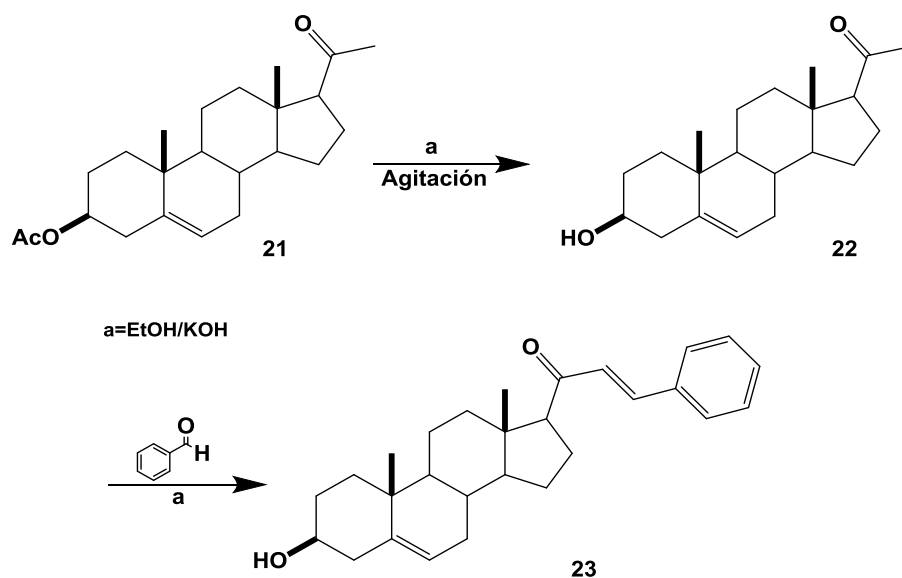


Figura 8. Núcleo esteroidal utilizado como materia prima para la formación de la cetona α,β -insaturada 21.

Como paso posterior de este proyecto, se llevó a cabo la formación de pirimidinas esteroidales utilizando como compuestos 1,3-binucleofílicos, la tiourea, selenourea y urea en medio básico (BuOH/KO^tBu) y manteniendo la mezcla de reacción a reflujo entre 5 a 6 horas.

Obtención de (21E)-21-benciliden-3β-hidroxi pregn-5-en-20-ona (23)

La primera cetona α,β-insaturada fue sintetizada a través de una condensación aldólica, al tratar el acetato de pregnenolona con benzaldehído, en una solución al 10 % de EtOH/KOH, la mezcla se mantuvo en agitación durante aproximadamente 3 horas para generar el correspondiente derivado **23** (esquema 8).

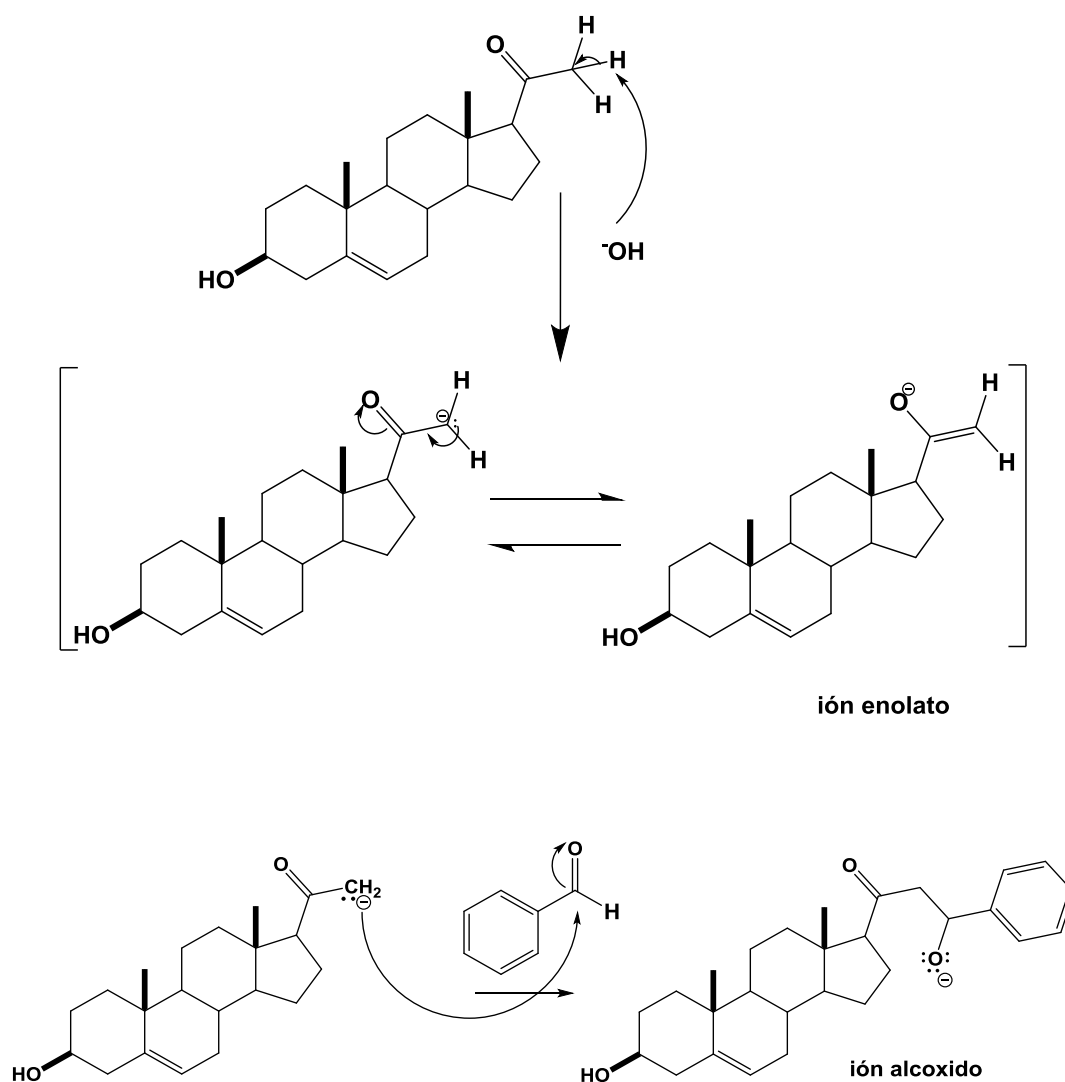


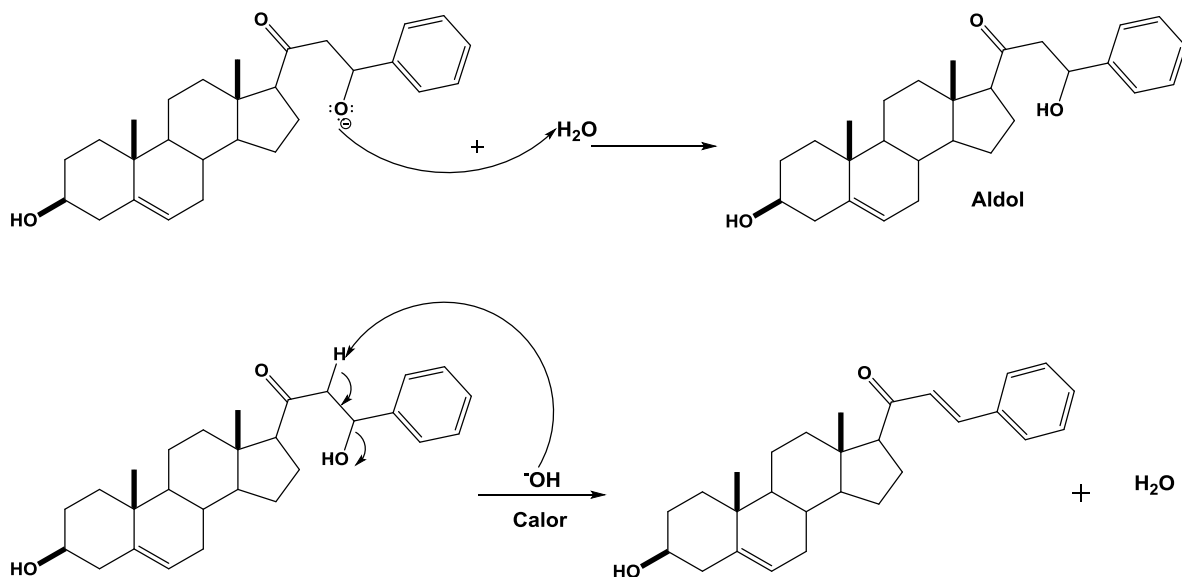
Esquema 8. Síntesis de la cetona α, β-insaturada 23.

La reacción se llevó a cabo en condiciones básicas con un ligero aumento de temperatura (al mantenerla en agitación), fue monitoreada por CCF; observando la formación de un compuesto más polar el cual corresponde a la hidrólisis del acetato en el C-3. La reacción se continuó en agitación y se aumentó la temperatura siguiendo su monitoreo hasta observar el producto deseado con un

Rf muy cercano al de la pregnenolona, pero nuestro producto obtenido es visible en la lámpara UV confirmando la presencia de la cetona α,β -insaturada.

El mecanismo de reacción propuesto para la formación de la cetona α,β -insaturada es a través de la formación del enolato, el cual se genera por la extracción del protón alfa al carbonilo, posteriormente el enolato actúa como nucleófilo y ataca al carbonilo del benzaldehído formando un ión alcóxido, el ión alcóxido reacciona con el H_2O para formar un aldol, por último se lleva a cabo la deshidratación del OH y así obtener la cetona α,β -insaturada (esquema 9).





Esquema 9. Mecanismo de reacción para obtener la cetona α,β -insaturada 23.

La formación de la cetona α,β -insaturada **23** se confirmó por sus espectros de RMN de ^1H , y ^{13}C . Mostrando en el espectro de RMN de ^1H dos señales características alrededor de 6.75 y 7.50 ppm, las cuales son asignadas a los protones del doble enlace en el C-21. También se observan una señal en 5.38 ppm correspondiente al protón del doble enlace del C-6 y las señales correspondientes al fenilo alrededor de 7.56-7.52 ppm y un multiplete en 3.53 ppm asignado al H-3 (figura 9).

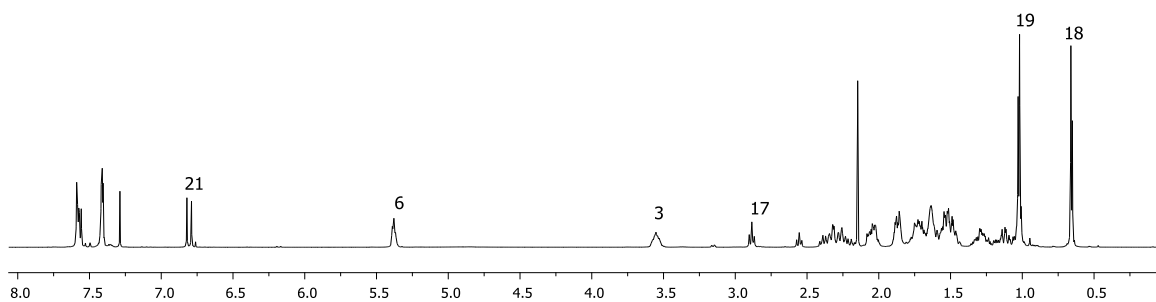


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H de la cetona α,β -insaturada 23.

En el espectro de RMN de ^{13}C se observan a frecuencias altas las señales correspondientes el grupo fenilo entre 128.3 y 130.3 ppm respectivamente, en 128.3 y 141.5 ppm aparecen los carbonos vinílicos C-21 y C-22 respectivamente y por último se aprecia la señal del carbonilo del grupo cetónico en 200.4 ppm.

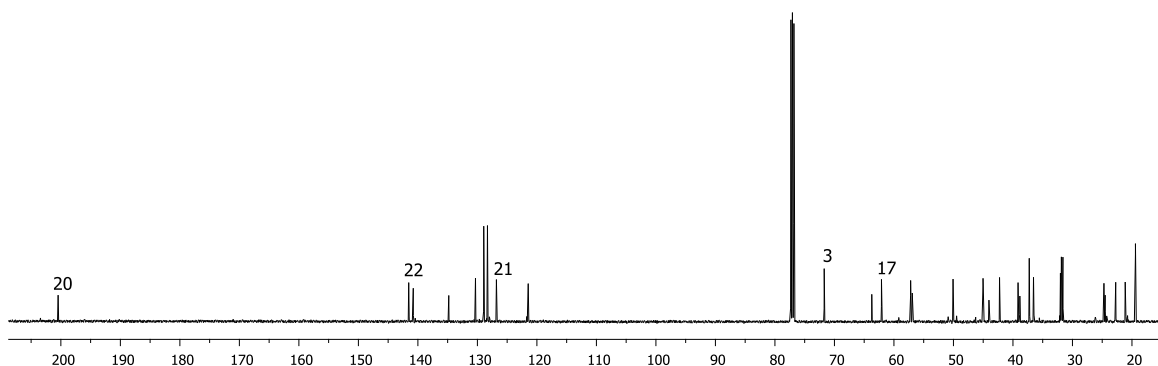


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C de la cetona α, β -insaturada 23.

En el espectro de IR del compuesto **23** se tienen las bandas importantes con las que confirmamos la presencia de los grupos funcionales presentes, tales como las bandas de flexión del grupo O-H en 3452.7 cm^{-1} , las de C=O en 1680 cm^{-1} y del C=C en 1602 cm^{-1} .

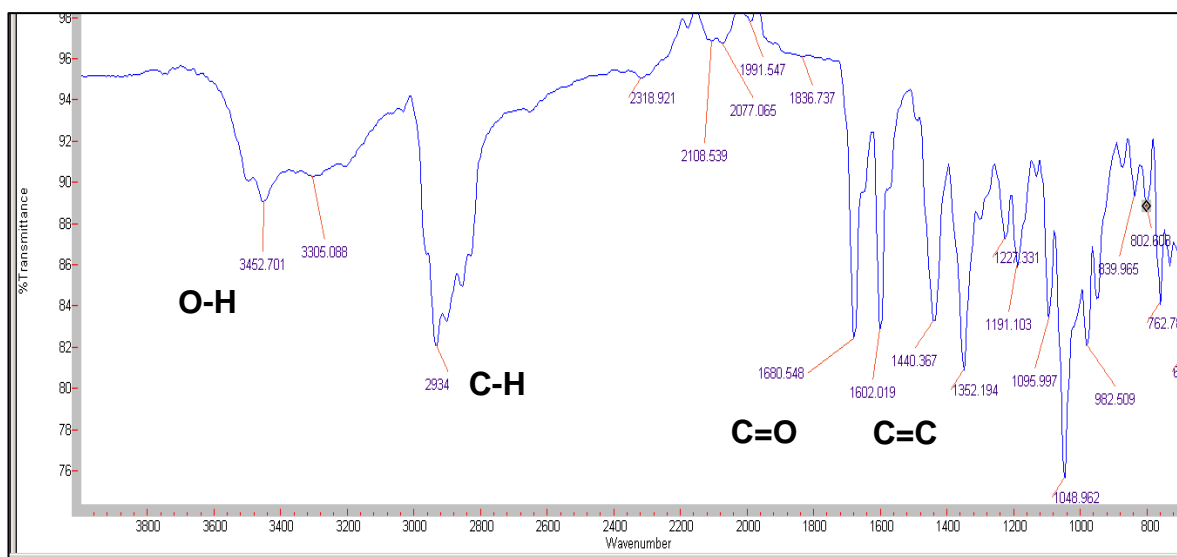
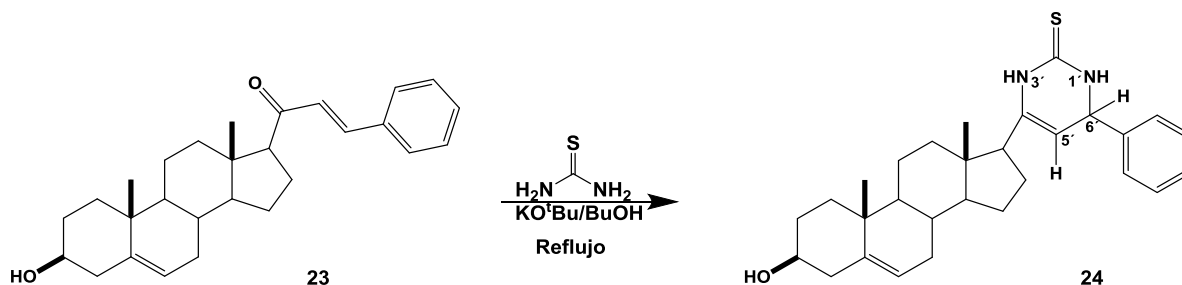


Figura 11. Espectro de IR para el compuesto 23.

Derivados de pirimidina esteroidal sustituidos en el C-20

Obtención de 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-tioxopirimidin-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (24)

Se llevó a cabo la cicloadición a partir de la cetona α,β -insaturada **23** con tiourea utilizando como disolvente butanol y como base *tert*-butóxido de potasio, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo entre 4 y 6 h y fue monitoreada por CCF observando un compuesto más polar que la materia prima. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna, utilizando un sistema de disolventes 7:3 de hexano-acetato de etilo, aislando el producto mayoritario el cual se caracterizó por RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 10. Síntesis de la pirimidina esteroidal 24.

El derivado obtenido fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C . El espectro de ^1H muestra nuevas señales con respecto al espectro de RMN de la materia prima y otras que desaparecieron, indicando que hubo una transformación de la materia prima. En 4.66 y 5.08 ppm se observan dos nuevas señales simples correspondientes a los H-5' y H-6' confirmando la presencia del heterociclo, además dos señales simples en 6.87 y 7.10 pertenecientes a los protones N-H-1' y 3' respectivamente, así como la desaparición de la señal del protón vinílico H-21 reafirmando la transformación de la cetona α,β -insaturada.

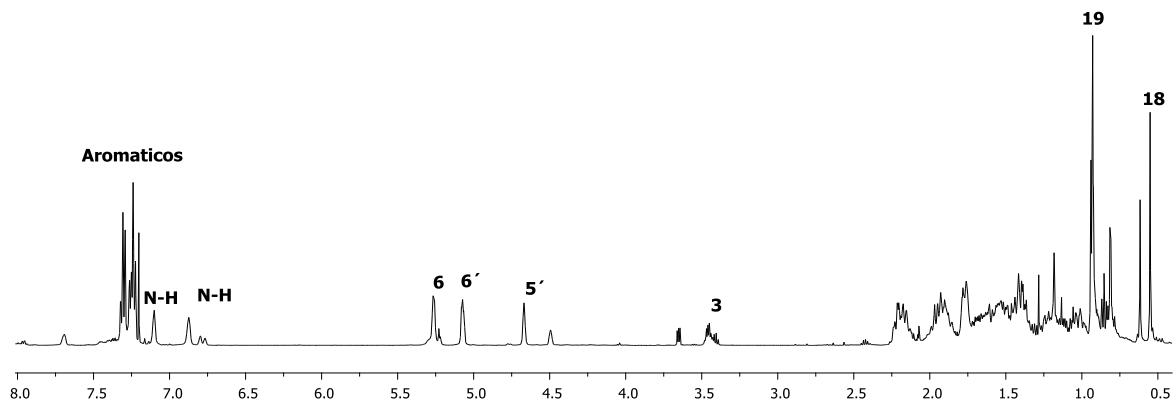


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H de la pirimidina esteroidal 24.

En el espectro de ^{13}C se aprecian señales características de un heterociclo de pirimidina, en 57.16 ppm aparece el C-6', en 99.9 y 142.9 ppm las señales correspondientes a los carbonos vinílicos C-5' y C-4' respectivamente y la señal del tiocarbonilo se aprecia en 174.3 ppm, también se observan señales características del núcleo esteroidal en 71.6, 57.1 13.0 y 19.4 ppm correspondientes las posiciones C-3, C-17, C-18 y 19 respectivamente.

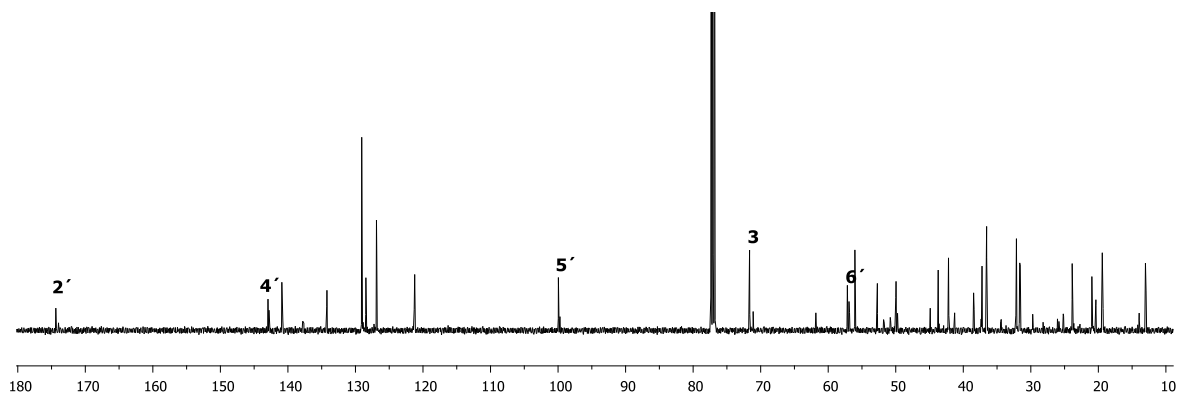
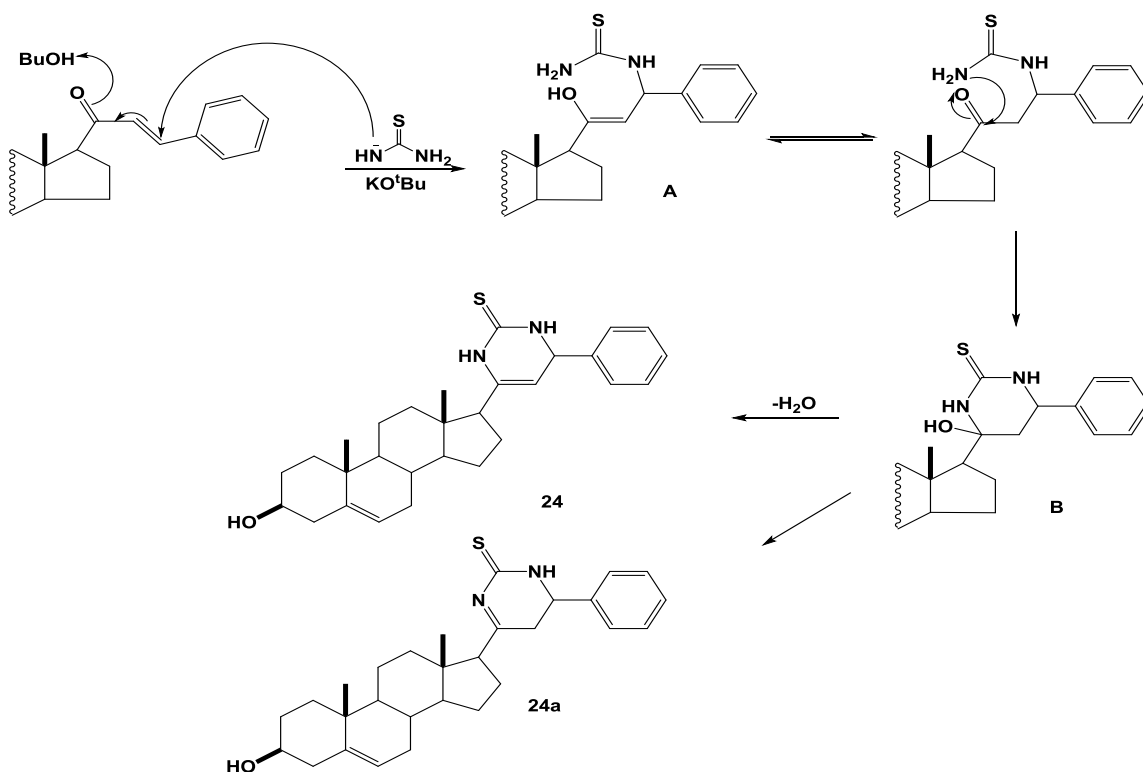


Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C de la pirimidina esteroidal 24.

El mecanismo de reacción propuesto para la formación de la pirimidina esteroidal **24** se representa en el esquema 11.



Esquema 11. Mecanismo propuesto para la formación de la pirimidina esteroidal 24.

Según la literatura reportada,⁴² el grupo 1,3 binucleofílico en medio básico se encuentra como anión, un átomo de nitrógeno de la molécula realiza el ataque al doble enlace de la cetona α,β -insaturada aromática, para dar el intermediario **A**, posteriormente el grupo amino ataca al grupo carbonilo formando el heterociclo **B**, a través de una cicloadición intramolecular, seguida por la eliminación de agua para dar finalmente con el derivado pirimidínico. Aunque es posible obtener el otro isómero **24a** como se muestra en el esquema, los experimentos confirman que se obtiene el isómero **24**.

⁴² Huang, L-H.; Zheng Y-F.; Song C-J.; Wang Y-G.; Xie Z-Y.; Lai, Y-W.; Lu, Y-Z.; Liu, H-M. *Steroids* **2012**, 77, 367-374.

En el espectro de IR para el compuesto **24** podemos observar las señales características para el grupo O-H en 3209.1 cm⁻¹ y para C=C en 1682.9 cm⁻¹.

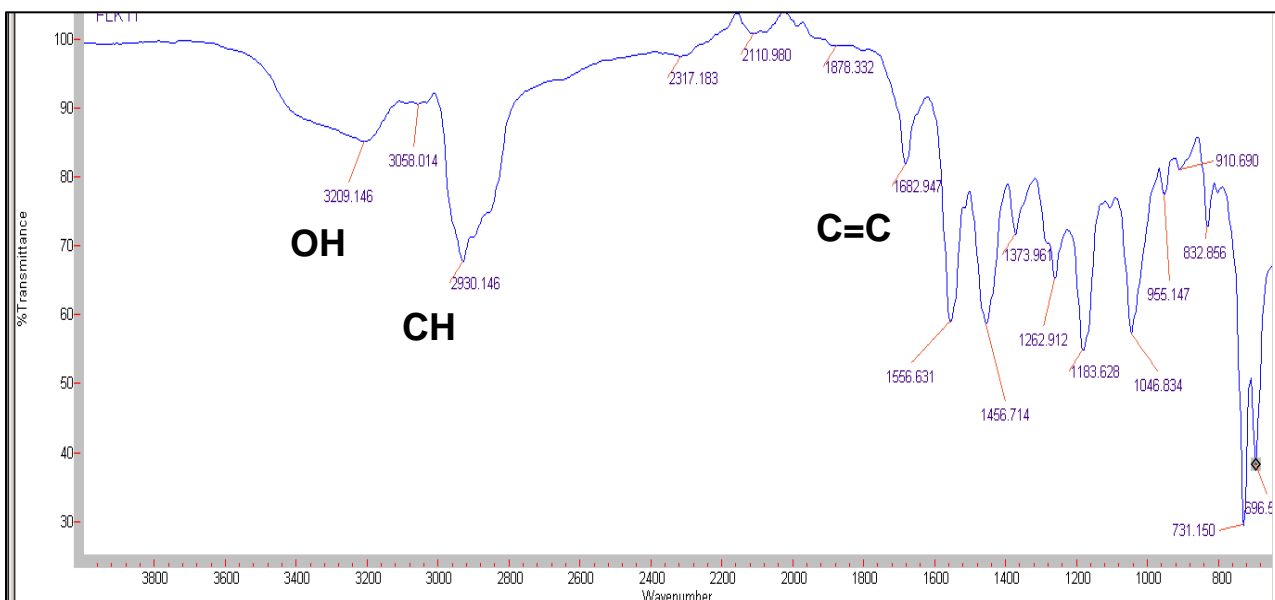
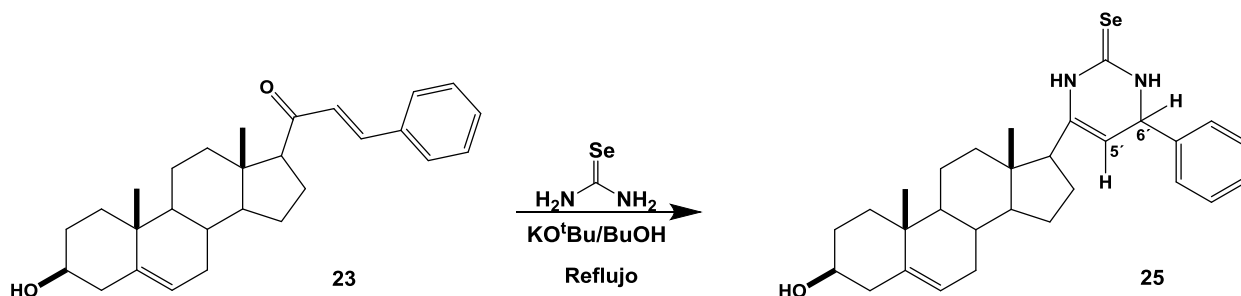


Figura 14. Espectro de IR para el compuesto 24.

Obtención de 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-selenopirimidin-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (25)

Se llevó a cabo la cicloadición a partir de la cetona α,β -insaturada **23** con seleneourea, butanol y *terc*-butóxido de potasio, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo de 4 a 6 h, y fue monitoreada por CCF observando un compuesto más polar que la materia prima.

El crudo de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna, utilizando un sistema de disolventes 6:4 hexano-acetato de etilo, el producto mayoritario se caracterizó por RMN de ¹H y ¹³C.



Esquema 12. Síntesis de la pirimidina esteroidal 25.

El compuesto **25** fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C . En el espectro de ^1H se puede observar una señal simple en 7.15 ppm perteneciente al protón H-5', y en 2.92 ppm se encuentra una señal triple del protón H-6', así como los protones del núcleo esteroidal H-6 y H-3 en 5.36 y 3.55 ppm respectivamente.

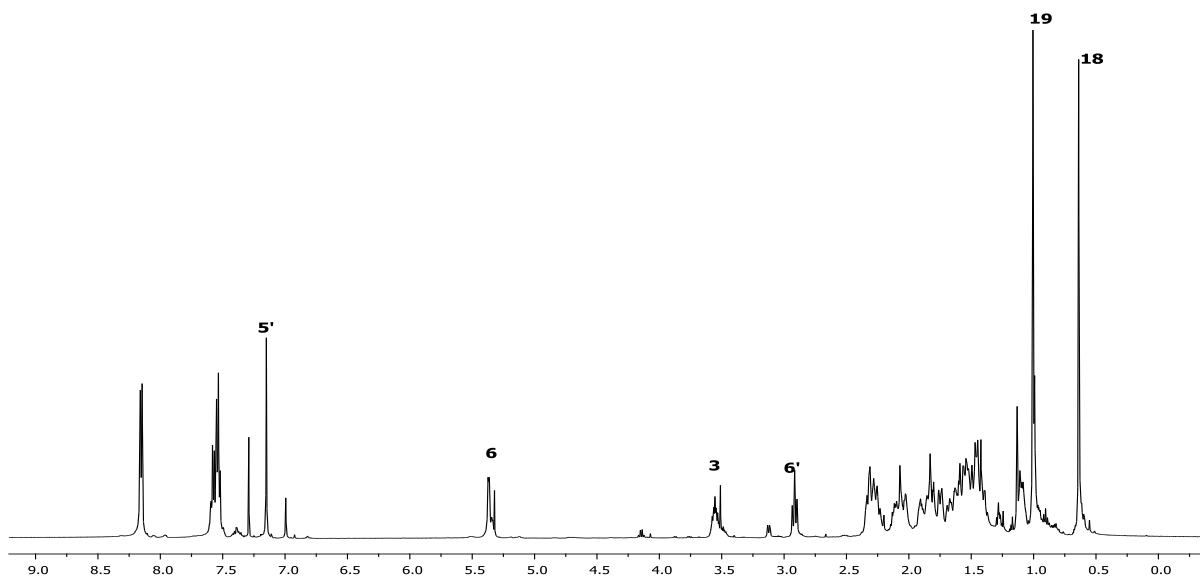


Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C de la pirimidina esteroidal 25.

En el espectro de RMN de ^{13}C se presentan señales características; en 159.7 ppm la del C-2', en 135.3 ppm la del C-6', en 107.6 ppm la del C-5', en 56.3 ppm la del C-4', todos estos carbonos pertenecientes al heterociclo pirimidínico. Además de que se encuentran señales características del núcleo esteroidal como en 140.7, 71.7 y 56.4 ppm pertenecientes a los C-5, C-3 y C-17 respectivamente.

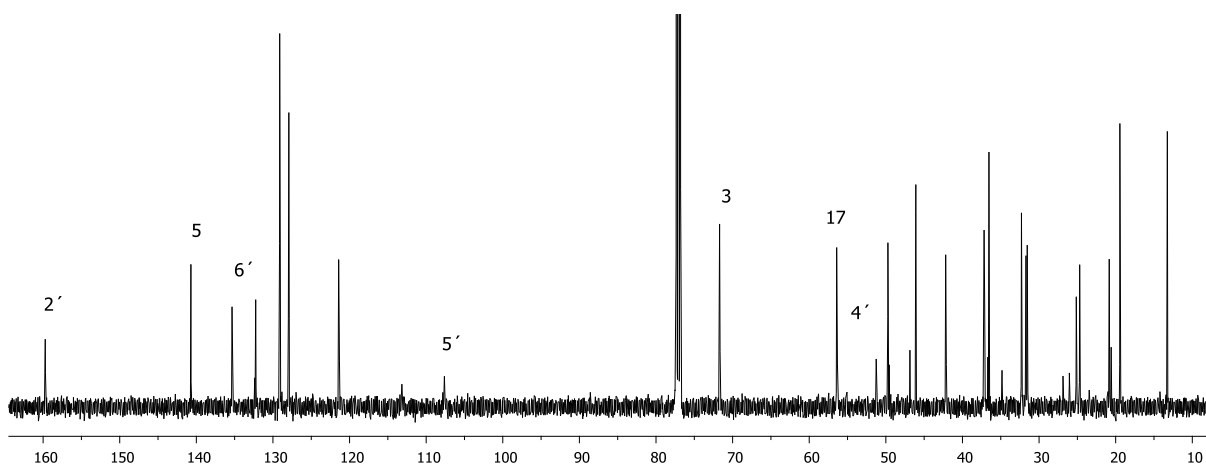


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C de la pirimidina esteroidal 25.

El mecanismo propuesto para la obtención de este nuevo derivado esteroidal, es similar al propuesto en el esquema 11, ya que se lleva a cabo en las mismas condiciones, a diferencia de que el reactivo binucleofílico utilizado en esta reacción fue selenourea en lugar de tiourea.

En el espectro de IR del compuesto **25** observamos las señales características para el grupo N-H en 3389.6 cm^{-1} , C-H en 2929.2 cm^{-1} , C=C en 1628.9 cm^{-1} .

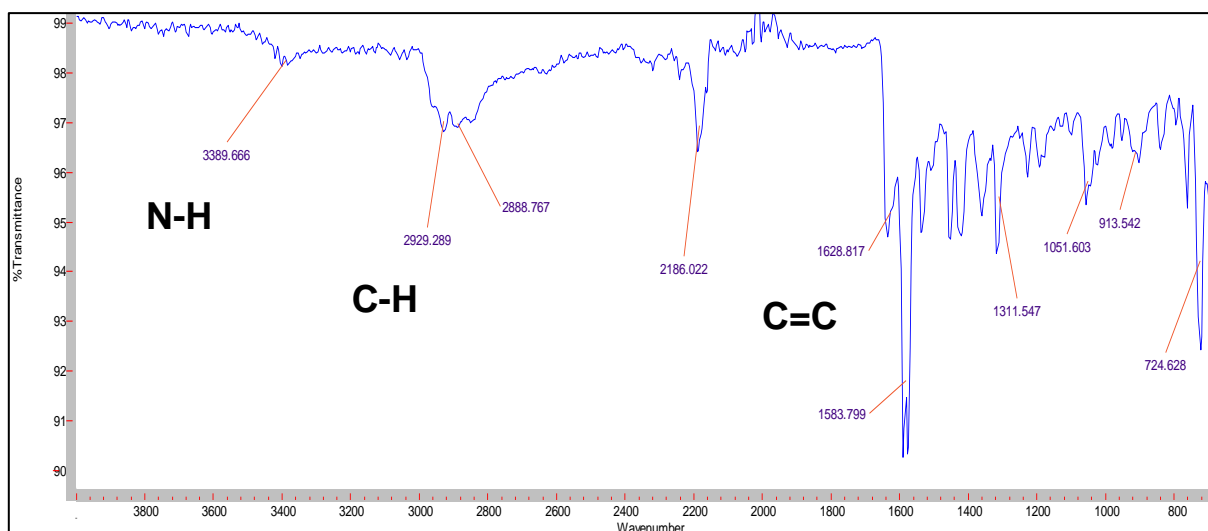
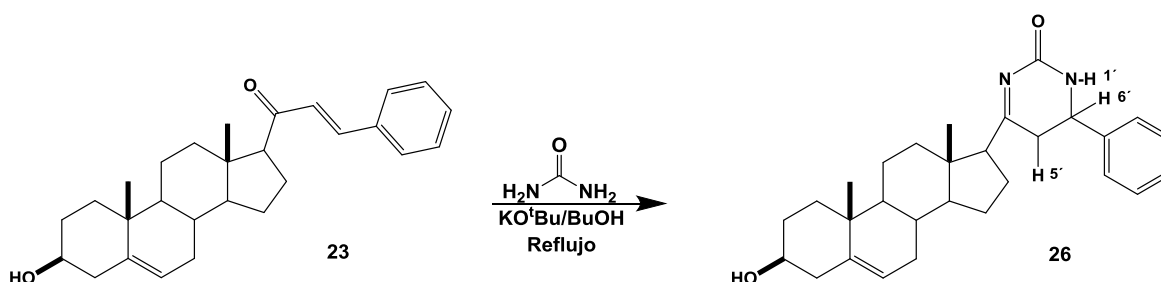


Figura 15. Espectro de IR de la pirimidina esteroidal 25.

Obtención de 17 β -(6-fenil-1',5',6'-trihidro-2'-oxopirimidina)-androst-5-en-3 β -ol (26)

Se llevó a cabo la cicloadición utilizando la cetona α,β -insaturada **23**, urea, butanol y *tert*-butóxido de potasio, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo por aproximadamente 6 h y fue monitoreada por CCF observando compuestos más polares que la materia prima.



Esquema 13. Síntesis de la pirimidina esteroidal 26.

El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna, utilizando un sistema de disolventes 7:3 hexano-acetato de etilo, separando la materia prima primero, enseguida se aumentó la polaridad del sistema hasta 8:2 hexano-acetato de etilo para obtener el producto mayoritario.

En el espectro de RMN de ^1H podemos observar señales características del núcleo esteroidal, en 6.11 ppm se observa una señal simple perteneciente al H-1', en 4.39 ppm aparece la señal de H-6', en 2.85 y 2.43 ppm se ve una señal doble de doble de los dos protones H-5' con $J = 15$ Hz y $J = 25$ Hz respectivamente, cabe mencionar que ya no es visible la señal del protón 21 confirmando la transformación.

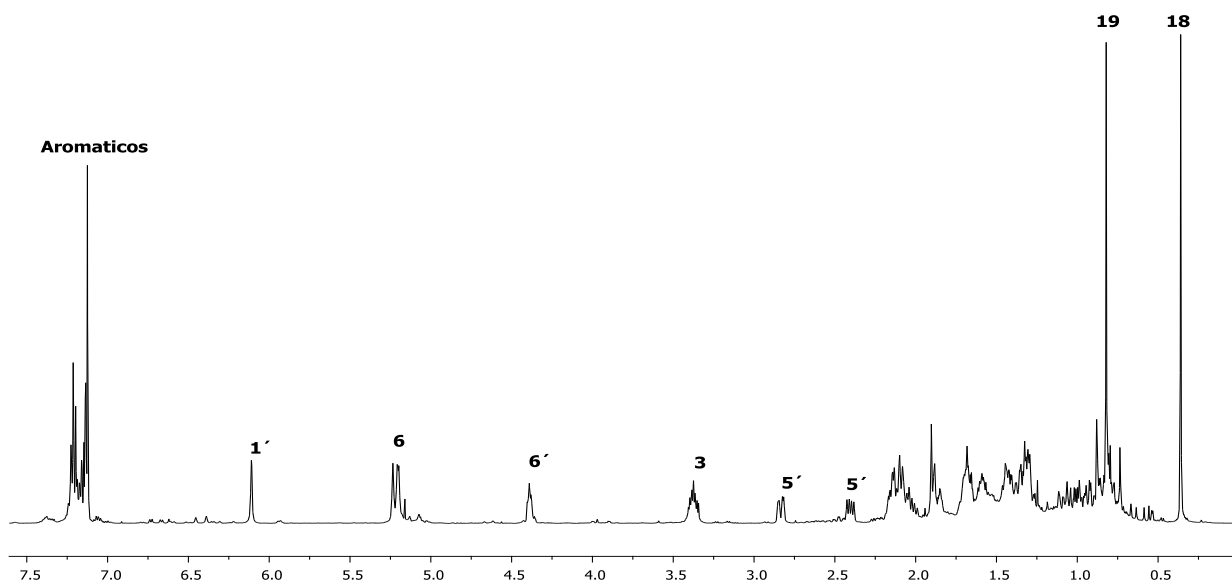


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C de la pirimidina esteroidal 26.

En el espectro de RMN de ^{13}C observamos las señales de los carbonos que forman el anillo de trihidropirimidina: en 154.6 ppm aparece el C-2', en 121.1 ppm se observa C-4', en 31.6 ppm se muestra C-5' y en 53.9 ppm se observa C-6'.

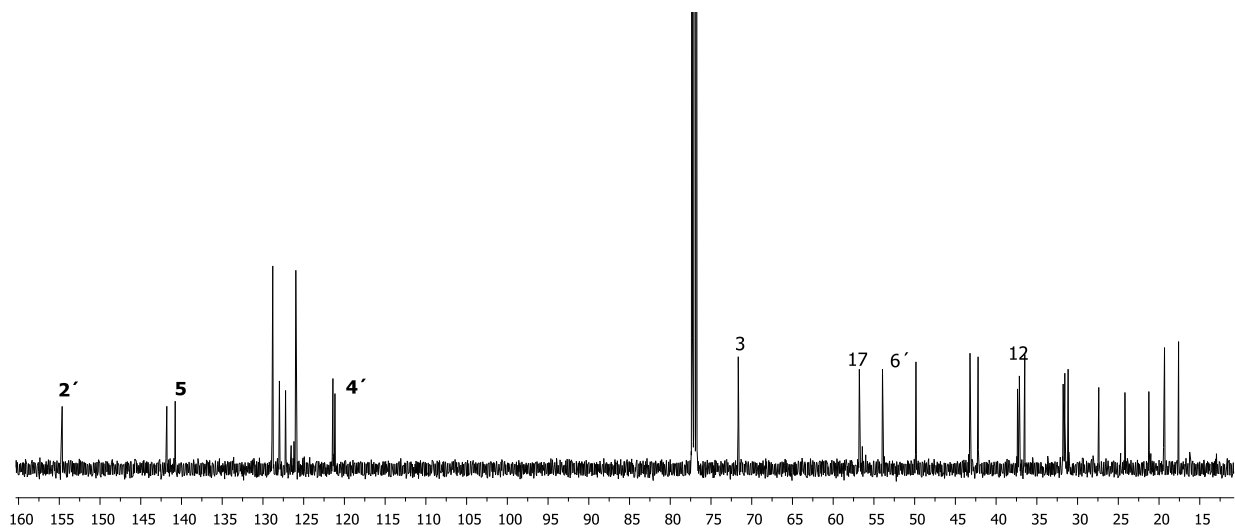
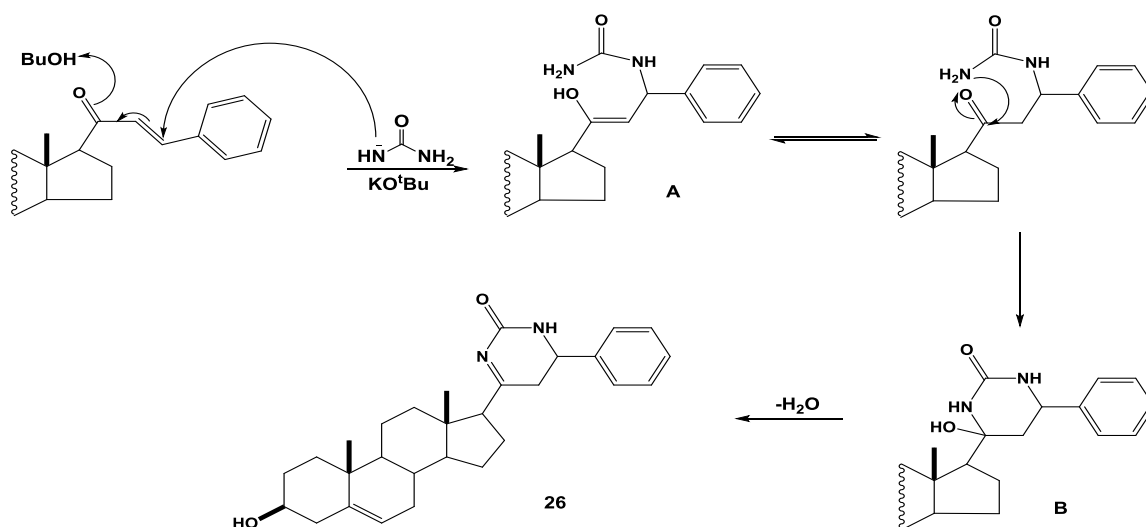


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C de la pirimidina esteroidal 26.

El mecanismo propuesto para la formación de la pirimidina esteroidal **26** es muy similar al mostrado en el esquema 11 de modo que el grupo 1,3 binucleofílico en medio básico se encuentra como anión, un átomo de nitrógeno de la molécula realiza el ataque al doble enlace de la cetona α,β -insaturada aromática, para dar el intermediario **A**, posteriormente el grupo amino ataca al grupo carbonilo formando el heterociclo **B**, a través de una reacción intramolecular seguida por la eliminación de agua, formando finalmente el derivado trihidropirimidínico. A diferencia de los compuestos **24** y **25** la ciclación se lleva a cabo mediante la formación de un doble enlace a uno de los átomos de nitrógeno, quedando finalmente el compuesto **26**.



Esquema 14. Mecanismo propuesto para la formación de la pirimidina esteroidal 26.

En el espectro IR del compuesto **26** observamos las señales características para el grupo N-H en 3430 cm^{-1} , para $=\text{C}-\text{H}$ en 3055 cm^{-1} , para C-H en 2974.1 cm^{-1} y en $1674.9\text{ C}=\text{C}\text{ cm}^{-1}$.

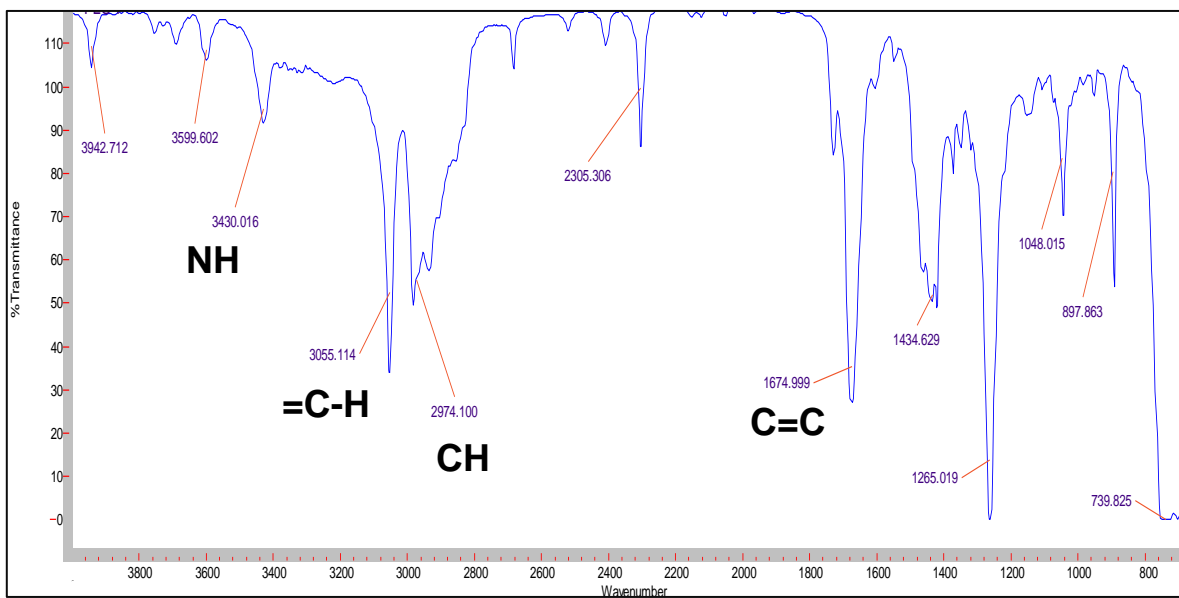


Figura 18. Espectro de IR de la pirimidina esteroideal 26.

Conclusiones

Se sintetizó una nueva cetona α,β -insaturada esteroideal, optimizando las condiciones reportadas en la bibliografía.

Se sintetizaron nuevos derivados esteroidales trihidropirimidínicos obtenidos a partir de la una cetona α,β -insaturada, los esteroides heterocíclicos preparados se caracterizaron por diferentes técnicas físicas y espectroscópicas: RMN de ^1H , ^{13}C , IR.

Se probaron distintas técnicas para llegar a este tipo de pirimidina esteroideal, encontrando que la metodología descrita en esta tesis fue la que nos dio los mejores resultados.

Las pirimidinas esteroidales obtenidas serán sometidas a pruebas biológicas, ya que la bibliografía reporta, que este tipo de compuestos conteniendo átomos de nitrógeno y en particular de selenio, pueden tener actividad farmacológica.

Desarrollo experimental

Cromatografía:

- La cromatografía analítica en capa fina (CCF) se realizó empleando placas comerciales de gel de sílice grado 60 con espesor de capa 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencia (F_{254}) y como fase móvil sistema de elución hexano /acetato de etilo. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UV-G-54) o por calcinación de las placas previamente empapadas con ácido sulfúrico al 5%.
- Para la cromatografía en columna, se utilizó gel de sílice 60 (230-400 mallas) Merck, de acuerdo a la técnica de cromatografía en columna tipo flash,⁴³ utilizando un sistema de eluyentes hexano/acetato de etilo.

Punto de fusión:

- Los puntos de fusión se midieron en un aparato Melt-Temp, con escala en grados Celsius, utilizando la técnica del capilar abierto.

Resonancia Magnética Nuclear:

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se obtuvieron en un espectrómetro VARIAN-MERCURY (multinuclear a 400 y 300 MHz para los espectros de ^1H ; a 100 y 75 MHz para los espectros de ^{13}C), como disolvente se utilizó cloroformo deuterado (CDCl_3) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

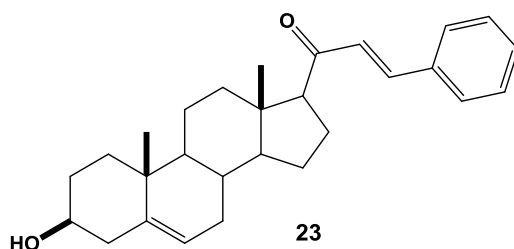
- Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm, las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales en los espectros de ^1H está referida como: “s” para una señal simple, “d” para una señal doble, “dd” para una señal doble de dobles, “m” para una señal múltiple.

⁴³ Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. J. *Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

Disolventes y materias primas:

- Los reactivos que se utilizaron fueron de calidad grado analítico.
- Los disolventes utilizados fueron purificados y secados de acuerdo a los métodos reportados.⁴⁴

Obtención de (21E)-21-benciliden-3β-hidroxi pregn-5-en-20-ona (23)



En un matraz de bola que contiene 358 mg de acetato de pregnenolona **21** (1 mmol) se disuelven con 10 ml de una solución etanólica de hidróxido de potasio al 10%. Se pone en agitación aproximadamente 1 hora y se monitorea por CCF hasta la formación del compuesto hidrolizado **22**. Una vez que se ha obtenido el compuesto **22** se le agrega 0.1 ml de benzaldehído (1 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente y fue monitoreada por CCF hasta la desaparición del compuesto **22**. Se observa la formación de un precipitado, el cual fue filtrado, lavado con agua destilada y secado a vacío, para obtener la cetona α,β-insaturada **23**.

El derivado **23** muestra los siguientes datos:

- ◆ $C_{28}H_{36}O_2$
- ◆ Sólido blanco

⁴⁴ Perrin, P . D.; Armarego, W. L. F. "Purification of Laboratory Chemicals". 3a Ed. Pergamon Press, Oxford, 1989.

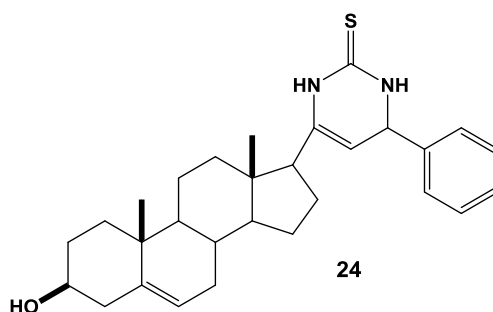
- ◆ Masa molecular: 404.27 g/mol
- ◆ Rendimiento del 90%.
- ◆ Punto de fusión 150-152 °C

IR $\bar{\nu}_{\max}$: 3452 (O-H), 1680 (C=O cetona)

$^1\text{H NMR } \delta$: 0.66 (s, H-3, CH₃-18), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 2.88 (t, 1H, $J=15$ Hz, H-17), 3.55 (t, 1H, $J=10$ Hz, H-3), 5.39 (t, 1H, $J=10$ Hz, H-6), 6.82 (d, 1H, $J=15$ Hz, H-21), 7.29-7.41 (m traslapados, 3H, H-3', H-4', H-5'), 7.56-7.59 (m traslapados, 3H, H-2', H-6', H-22).

$^{13}\text{C NMR } \delta$: 13.4 (C-18), 19.4 (C-19), 21.1 (C-11), 22.7 (C-15), 24.7 (C-16), 31.8 (C-7), 36.5 (C-2), 37.2 (C-8), 39.1 (C-1), 42.2 (C-10), 44.0 (C-12), 45.0 (C-4), 50.0 (C-13), 57.2 (C-9), 62.3 (C-14), 62.3 (C-17), 71.7 (C-3), 121.4 (C-6), 126.8 (C-21), 128.3 (C-2',6'), 128.9 (C-3',5'), 130.3 (C-4'), 134.8 (C-1'), 140.7 (C-5), 141.5 (C-22), 200.4 (C-20).

Obtención de 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-tioxopirimidin-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (24)



El compuesto **23** (0.3 g, 1 mmol) fue disuelto en un matraz de bola con 5 ml de BuOH, se le agrego 0.151 g (2 mmoles) de tiourea y 3 ml de KO^tBu. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante aproximadamente 6 horas la cual fue monitoreada por CCF. Una vez transcurrido el tiempo, se evapora el disolvente y

se extrae con diclorometano, se le hacen dos lavados con agua destilada, tres con salmuera. La fase orgánica fue secada con Na_2SO_4 anhidro y concentrada a sequedad. El crudo obtenido fue purificado mediante la técnica de columna cromatográfica utilizando como sistema de disolventes hexano/acetato de etilo (7:3) de la reacción se obtienen 100 mg, que se caracterizó e identificó como el compuesto **24**.

El derivado **24** muestra los siguientes datos:

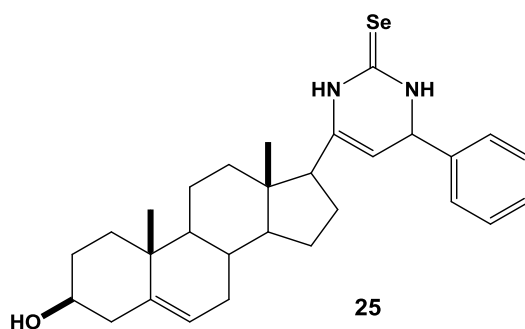
- ◆ $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{S}$
- ◆ Sólido blanco
- ◆ Masa molecular: 462.69 g/mol
- ◆ Rendimiento del 29%.
- ◆ Punto de fusión $165\text{-}168 \text{ }^\circ\text{C}$

IR $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3209 (O-H), 2930 (C-H), 1682 (C=C).

$^1\text{H NMR } \delta$: 0.55 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.93 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-19}$), 3.44 (m, 1H, H-3), 4.66 (sa, 1H, H-5'), 5.08 (sa, 1H, H-6'), 5.26 (Sa, 1H, H-6'), 6.87 (sa, 1H, N-H), 7.10 (sa, 1H, N-H), 7.35-7.22 (m, 1H, 2'', 3'', 4'', 5'', 6'').

$^{13}\text{C NMR } \delta$: 13.0 (C-18), 19.4 (C-19), 38.4 (C-12), 42.2 (C-1), 49.9 (C-9), 56.0 (C-17), 57.1 (C-6'), 71.6 (C-3), 99.9 (C-5'), 121.2 (C-6), 126.8 (C-2'',6''), 134.2 (C-4'), 129.0 (C-3'',5'') 134.2 (Ipso), 142.8 (C-4''), 140.9 (C-5), 174.3 (C-2').

Obtención de 17β-(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-selenopirimidin-4'-il)-androst-5-en-3β-ol (25)



El compuesto **23** (.3 g, 1 mmol) fue disuelto en un matraz de bola con 5 ml de BuOH, se le agrego 0.182 g (2 mmoles) de seleneourea y 3 ml de KO^tBu. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante aproximadamente 6 horas, y fue monitoreada por CCF. Una vez transcurrido el tiempo, se evapora el disolvente y se extrae con diclorometano, se le hacen dos lavados con agua destilada, tres con salmuera. La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada a sequedad. El crudo obtenido fue purificado por la técnica de cromatografía en columna, utilizando un sistema de disolventes hexano/acetato de etilo (7:3) de la reacción se obtienen 0.94 g, que se caracterizó e identificó como el compuesto **25**.

El derivado **25** muestra los siguientes datos:

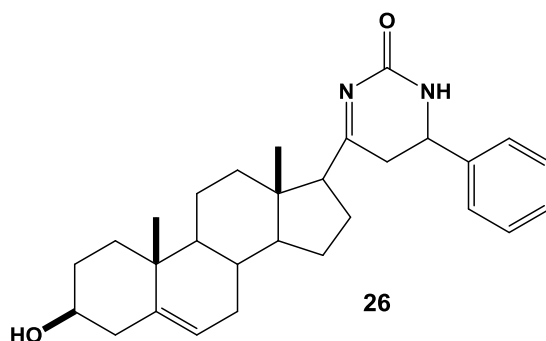
- ◆ C₂₉H₃₈N₂Se
- ◆ Sólido amarillo.
- ◆ Masa molecular: 509.58 g/mol
- ◆ Rendimiento del 26%.
- ◆ Punto de fusión 160-162 °C

IR $\bar{\nu}_{\max}$: 3389 (N-H), 2929 (C-H), 1628 (C=C).

$^1\text{H NMR } \delta$: 0.64 (s, 3H, CH_3 -18), 1.01 (s, 3H, CH_3 -19), 2.93 (t, 1H, $J=15$ Hz, H-6') 3.55 (m, 1H, $J=15$ Hz, H-3), 5.36 (s, 1H, H-6), 6.99, 7.15 (s, 1H, H-5'), 7.48-8.21 (1'', 4'', 3'' y 5'', 2'' y 6'').

$^{13}\text{C NMR } \delta$: 13.2 (C-18), 19.4 (C-19), 24.7 (C-15), 36.5 (C-4), 37.1 (C-12), 46.1 (C-14), 56.3 (C-4'), 56.4 (C-17), 71.7 (C-3), 107.6 (C-5'), 121.4 (C-6), 127.8 (C-2'' y 4''), 127.9 (C-4''), 129.1 (3'' y 5''), 132.2 (C-6'), 135.3 (C-1''), 140.7 (C-5), 159.7 (C-2').

Obtención de 17 β -(6-fenil-1',5',6'-trihidro-2'-oxopirimidina)-androst-5-en-3 β -ol (26)



El compuesto **23** (0.3 g, 1 mmol) fue disuelto en un matraz de bola con 5 ml de BuOH, se le agrego 0.120 g (2 mmoles) de urea y 3 ml de KO^tBu . La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante aproximadamente 6 horas la cual fue monitoreada por CCF. Una vez transcurrido el tiempo, se evapora el disolvente y se extrae con diclorometano, se le hacen 2 lavados con agua destilada, 3 con salmuera. La fase orgánica fue secada con Na_2SO_4 anhidro y concentrada a sequedad. El crudo obtenido fue purificado por la técnica de columna cromatográfica utilizando un sistema de disolventes hexano/acetato de etilo (2:8), de la reacción se obtienen 25 mg que se caracterizó e identificó como el compuesto **26**.

El derivado **26** muestra los siguientes datos:

- ◆ $C_{29}H_{38}N_2O_2$
- ◆ Sólido blanco
- ◆ Masa molecular: 446.62 g/mol
- ◆ Rendimiento del 10%.
- ◆ Punto de fusión 168-170 °C

IR $\bar{\nu}_{max}$: 3430 (N-H), 3055 (=C-H), 2974 (C-H), 1674 (C=C).

1H NMR δ : 0.36 (s, 3H, CH₃-18), 0.82 (s, 3H, CH₃-19), 2.43 (dd, 1H, $J=25$ Hz, H-5'), 2.85 (dd, 1H, $J=15$ Hz, H-5'), 3.41 (m, 1H, $J=35$ Hz, H-3), 4.38 (s, 1H, H-6'), 5.20 (s, 1H, H-6), 6.11 (s, 1H, H-1'), 7.23-7.12 (m, 3H, H-2'' y 6'', H-4'', H-3'' y 5'').

^{13}C NMR δ : 13.2 (C-18), 17.6 (C-19), 31.6 (5'), 36.4 (C-4), 37.1 (C-12), 42.2 (C-14), 53.9 (C-6'), 56.7 (C-17), 71.6 (C-3), 121.1 (C-4'), 121.4 (C-6), 125.9 (C-2'' y 6''), 127.2 (C-4''), 128.8 (C-3'' y 5''), 140.7 (C-5), 141.8 (C-1''), 154.6 (C-2').