



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

“Síntesis de nuevos dímeros heteroesteroidales”

TESIS

Que para obtener el título de:

Licenciatura en Farmacia

Presenta:

Diana Clara Martínez López

Directora

Dra. Socorro Meza Reyes

Co- Directora

Dra. Sara Montiel Smith

Asesor Técnico

Dra. Ailed Verónica Arenas González

Puebla, Pue.

Septiembre 2018

El presente trabajo de Tesis se desarrolló en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. Socorro Meza Reyes y la Dra. Sara Montiel Smith, contando con el apoyo de una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Número de registro 26792) y al Proyecto VIEP (Estudio de diversas metodologías para la obtención de compuestos heterocíclicos esteroidales)

DEDICATORIA

*A mis papás, Adolfo Martínez Mireles
y Adelfa López García,
quienes merecen todo en la vida,
y a quienes admiro mucho, les dedico especialmente el
presente trabajo ya que sin su amor incondicional
y su enorme apoyo no lo hubiera logrado. Gracias por todo
el cariño que siempre tengo de ustedes.*

AGRADECIMIENTOS

A mi hermana Elizabeth, quien es un gran ejemplo a seguir, por siempre apoyarme, ayudarme, darme ánimos en cada momento de mi vida, más cuando sentía que no podía y que el mundo se me caía encima, por estar siempre ahí.

A Ulises por volverse como el hermano mayor que nunca tuve por siempre echarme porras, animarme, darme consejos en cualquier momento de mi vida, así como preocuparse siempre de mí.

A mis directoras de tesis, Dra. Socorro y Dra. Sara por brindarme la oportunidad, así como la confianza de formar parte de su equipo de trabajo, por asesorarme y darme nuevo conocimiento cada día.

Al Dr. José M. Padrón del laboratorio de Bio-Lab del Instituto Universitario de Bio-Organica "Antonio González", de la Universidad de la Laguna (Tenerife), por el desarrollo de la parte de estudios de actividad biológica.

Al Dr. Sylvain Bernés del Instituto de Física. Por la realización del estudio de rayos X del compuesto.

A mi comisión revisora, la Dra. Penélope Merino Montiel, Dr. José Luis Vega y a la Dra. Angélica Hernández Linares por tomarse el tiempo para revisar el presente trabajo, y por sus consejos acerca del escrito.

A la Dra. Ailé gracias no sólo por ser una gran maestra en el laboratorio, sino por siempre brindarme su amistad, darme consejos laborales y de vida, la admiro y aprecio mucho, es una gran mujer y una gran química a seguir.

Por supuesto a Jocelyn, Sarai y Heriberto, por ser los mejores amigos en la vida, aunque kilómetros de distancia nos separan, siempre están cerca de mí, con lecciones de vida, los adoro, son parte importante de mi vida.

A Gerardo Sánchez, por ser el mejor compañero de trabajo, por explicarme lo que no entendía y enseñarme cosas nuevas, la gran paciencia en el tiempo juntos bajo la misma campana, te aprecio de verdad.

Gera M, Luis y Alma, por todos sus consejos, y paciencia conmigo en el laboratorio, por sus conocimientos compartidos y los buenos momentos.

A mis amigas Fani y Erika por siempre cada una apoyarme, darme consejos, escucharme, y compartir risas, Moni por cuidarme como una hermanita mayor y especialmente a Víctor, una de las cosas más bonitas de la tesis fue conocer y tener a un gran amigo como tú.

A mis compañeritos del laboratorio, con quienes compartí agradables momentos y me brindaban apoyo incondicional.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	10
2.1 Esteroides	11
2.1.1 Clasificación de los esteroides	12
2.2 Estrona.....	15
2.3 Heterociclos.....	17
2.4 Dímeros esteroidales	18
2.4.1 Dímeros esteroidales, clasificación	19
2.4.2 Antecedentes e importancia	20
2.5 Reacción de Claisen-Schmidt.....	22
2.6 Reacción de Vilsmeier–Haack.....	24
OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo General:	26
3.2 Objetivos Particulares:	26
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
4.1 Análisis retrosintético del: Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' amino-pirimidin-3-ilo} (3) y <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ⁵ -bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-3-hidroxipirimidina-glutaramida (2)}.....	28
4.2 Síntesis del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' aminopirimidin-3-ilo} (3).....	29
4.2.1 Obtención de 17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (7).....	29
4.2.2 Obtención del hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' aminopirimidina (6)	35
4.2.3 Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' aminopirimidin-3-ilo} (3).....	38
4.3 Síntesis del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' aminopirimidin-3-ilo} (3).....	41
4.3.1 Obtención de glutarato de bis[estra-1,3,5(10)- trien-17-oxo-3-ilo] (8)	42
4.3.2 Obtención de glutarato de bis[17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ilo] (9).....	46
4.3.3 Obtención de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' aminopirimidin-3-ilo} (3).....	50

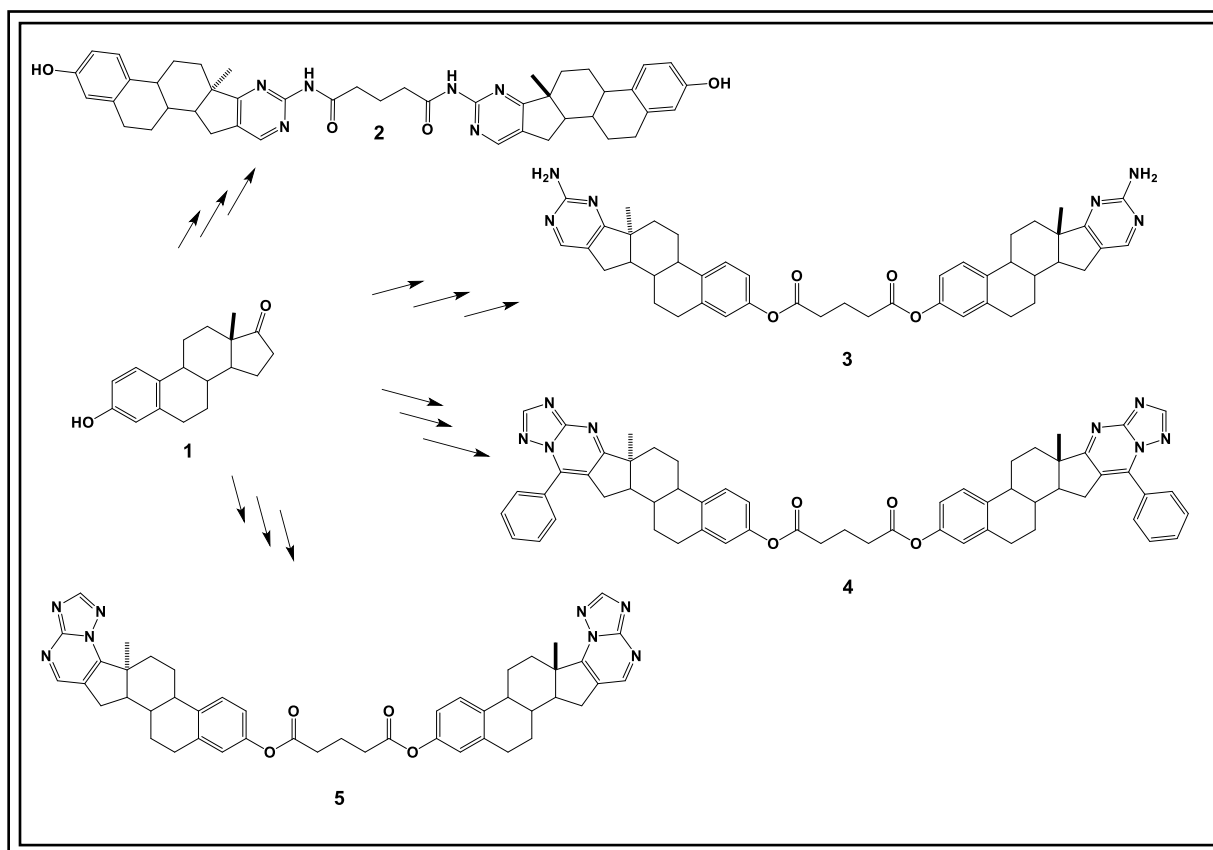
4.4	Análisis retrosintético del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3) y glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4).....	52
4.5	Síntesis de glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)....	52
4.5.1	Obtención del (<i>E</i>)-16-benzilideno-3β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (10).....	53
4.5.2	Obtención de 3-hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (11)	55
4.5.3	Obtención de glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4).....	58
4.6	Síntesis de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (16)	64
4.6.1	Obtención de estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)	65
4.6.2	Obtención de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (16)..	69
4.7	Estudio por difracción de rayos X de	74
4.8	Ensayos antiproliferativos	76
	DESARROLLO EXPERIMENTAL	78
	Equipo y técnicas utilizadas	79
	17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (12) y 17-cloro-16-formilestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (7) ...	81
	3-Hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidina (6)	83
	Glutarato de bis[estra-1,3,5(10)-trien-17-oxo-3-ilo] (8)	84
	Glutarato de bis[17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ilo] (9)	85
	Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3)	86
	(E)-16-Benzilideno-3β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (10)	88
	3-Hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (11)	89
	Glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)	90
	5-cloro-5-oxopentanoato-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (13)	91
	17-{5'-Amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (14) y estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)	92
	17-{5'-amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (14)	92
	Estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)	93
	Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (5)	94
	CONCLUSIONES	95

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
CDCl₃	Cloroformo deuterado
J	Constante de acoplamiento en Hertz (en RMN)
CCF	Cromatografía en capa fina
δ	Desplazamiento químico
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
Hz	Hertz
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IR	Infrarrojo
CD₃OD	Metanol deuterado
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
POCl₃	Oxicloruro de fósforo
ppm	Partes por millón
p.f	Punto de fusión
E2	Receptores de estradiol
E1	Receptores de estrona
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
V-H	Vilsmeier - Haack

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la síntesis de nuevos dímeros esteroidales (**2**, **3**, **4**, **5**) los cuales contienen un heterociclo sobre el anillo D del esteroide utilizando como materia prima la estrona (**1**).



Esquema 1. Esquema general de trabajo

La secuencia de síntesis se realizó mediante diferentes rutas de reacción. Para la obtención de **2** y **3** la materia prima se trató bajo condiciones de reacción de Vilsmeier –Haack, mientras que para la obtención de **4** y **5** a la materia prima se le llevó a cabo una condensación aldólica con benzaldehído para la formación del carbonilo- α,β -insaturado.

La síntesis de cada uno de los nuevos dímeros esteroidales se llevó a cabo en 3 etapas. Se buscó mejorar el rendimiento de cada una de ellas para obtener un buen rendimiento global de cada nuevo compuesto.

Para la obtención del compuesto **2**, se trató la estrona (**1**) bajo condiciones de reacción de Vilsmeier –Haack, para obtener el derivado β -clorado y un carbonilo- α,β -insaturado- β -clorado. Posteriormente para la obtención del heterociclo esteroidal el derivado carbonilo- α,β -insaturado- β -clorado es tratado con guanidina y finalmente por tratamiento con DMAP y cloruro de glutaloilo para formar el dímero esteroidal esperado. Para la síntesis del dímero **3** en primer lugar se llevó a cabo el acoplamiento con cloruro de glutaloilo en presencia de DMAP, posteriormente la cetona se hizo reaccionar en condiciones Vilsmeier–Haack para la obtención del carbonilo- α,β -insaturado- β -clorado que finalmente se condensó con guanidina para obtener el heteroesteroide dimérico.

La obtención de **4** y **5**, se realizó mediante una condensación aldólica entre la estrona y benzaldehído para la formación de un carbonilo- α,β -insaturado que posteriormente al ser tratado con 1,2,4-triazolopirimidina en presencia de *tert*-butóxido de potasio condujo al heteroesteroide, finalmente se dimerizó con DMAP y cloruro de glutaloilo. Para la formación de **5** se trató el carbonilo- α,β -insaturado con carbonato de cesio y 1,2,4-triazolopirimidina, posteriormente se dimerizó con DMAP y cloruro de glutaloilo. (Esquema 1)

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN



El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo. Muchos tipos de cáncer se podrían prevenir evitando la exposición a factores de riesgo comunes como el humo de tabaco. Además, un porcentaje importante de cánceres pueden curarse mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, especialmente si se detectan en una fase temprana.¹ El cáncer es un problema de salud pública de creciente importancia. En 2012 hubo en el mundo 14,1 millones de casos nuevos y 8,2 millones de fallecimientos ligados al cáncer. Según las proyecciones, para 2030 el número de nuevos casos habrá aumentado hasta llegar a los 21,6 millones anuales.²

El cáncer es una enfermedad de alto impacto psicológico, social y económico. De acuerdo con un análisis preliminar de Gutiérrez Delgado y colaboradores, en el periodo comprendido entre 2000 y 2013 en México ocurrieron, en promedio, 66 000 muertes anuales por esta causa, lo que equivale a 13% de la mortalidad nacional anual.³

La quimioterapia contra el cáncer que emplea fármacos citotóxicos o anticancerosos citostáticos, se basa en la teoría de que las células que proliferan rápidamente son más sensibles a estas drogas que las normales. Sin embargo, los efectos secundarios severos generalmente identificados, algunos de los cuales son potencialmente mortales, demuestran que la quimioterapia es una tarea muy difícil. Las células cancerosas desarrollan con frecuencia la resistencia del tratamiento, conduciendo a quimioterapias ineficaces. De esta manera se necesita el desarrollo de fármacos citotóxicos nuevos más potentes y selectivos. Los productos naturales representan estructuras privilegiadas, que han sido optimizadas a través de la evolución para ejercer sus efectos y, por tanto, pueden representar útiles andamios para el descubrimiento, diseño y síntesis de nuevas moléculas. Los esteroides son un grupo de lípidos cuyas estructuras químicas son características del mundo viviente. Comprenden un amplio repertorio de compuestos naturales relacionados estructuralmente con importantes funciones in vivo, como los reguladores fisiológicos, las hormonas y las provitaminas entre otros.⁴

¹ Organización Mundial de la Salud [OMS].; *Temas de Salud > Cáncer.*, **2018**

² Organización Mundial de la Salud [OMS]. *Prevención y control del cáncer en el contexto de un enfoque integrado*, **2016**, pp. 1.

³ Salud Pública de México., **2014**, vol. 56, no. 5, pp. 418

⁴ Salvador, J. A. R.; Calvalho, J. F.S.; Neves, M. A. C.; Silvestre, S. M.; Leitao, A. J.; Silva, M. M. C. y Sá e Melo, M. L. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 324-325.

El interés en la química de esteroides surge de la calificación significativa que estos compuestos han sido concedidos en la medicina. La investigación comercial sobre esteroides se centra en encontrar análogos de drogas sintéticas más potentes y de larga acción y que posean propiedades farmacológicas esenciales. Es bien sabido el uso de las hormonas esteroidales, tales como corticoides, progesterona, y varios agentes anabólicos (de la construcción del músculo en la terapia clínica moderna).⁵

El núcleo esteroideal es una de las unidades rígidas más grandes, fácilmente disponibles y con centros quirales múltiples, por lo que la importancia biológica de esta entidad estructural está bien documentada.⁶

1.2 Los estrógenos y su participación en la carcinogénesis

Los estrógenos son un grupo de hormonas esteroidales que exhiben diversos mecanismos de acción en múltiples sistemas fisiológicos y también están implicados en el desarrollo o la progresión de numerosas enfermedades, como varios tipos de cáncer entre las que se encuentran el cáncer de mama, de ovario, de próstata y de endometrio, así como la osteoporosis, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. Los esteroides son moléculas hidrofóbicas capaces de atravesar las membranas celulares por difusión simple; intracelularmente, el esteroide puede unirse de forma reversible a un receptor proteico específico. Por otra parte, el esteroide también puede unirse a un receptor citoplasmático, lo que ocasiona en el receptor una modificación alostérica de su configuración incrementando su capacidad de migrar a través de los poros nucleares, o bien atravesar los poros nucleares por sí mismo y unirse a un receptor presente en el núcleo celular. El complejo esteroide-receptor proteico tiene gran afinidad para unirse al ADN y ocasiona una acumulación de los complejos hormona-receptor en el núcleo celular. Algunos de los receptores de la hormona activados, se unen al ADN nuclear y son capaces de modular la transcripción genética. Este es el proceso a través del cual las moléculas de ARN abandonan el núcleo y como moléculas ARNm dan lugar a la síntesis de nuevas

⁵ Ibrahim-Ouali, M.; Botsi-Nkomendi, N.; Rocheblave L., *Tetrahedron Letters*. **2009**, *51*, 93-95.

⁶ Li, Y.; Ray-Dias, J., *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 283-304.

proteínas en el citoplasma.⁷ La regulación de la transcripción génica por estrógenos es altamente compleja. (Fig. 1)

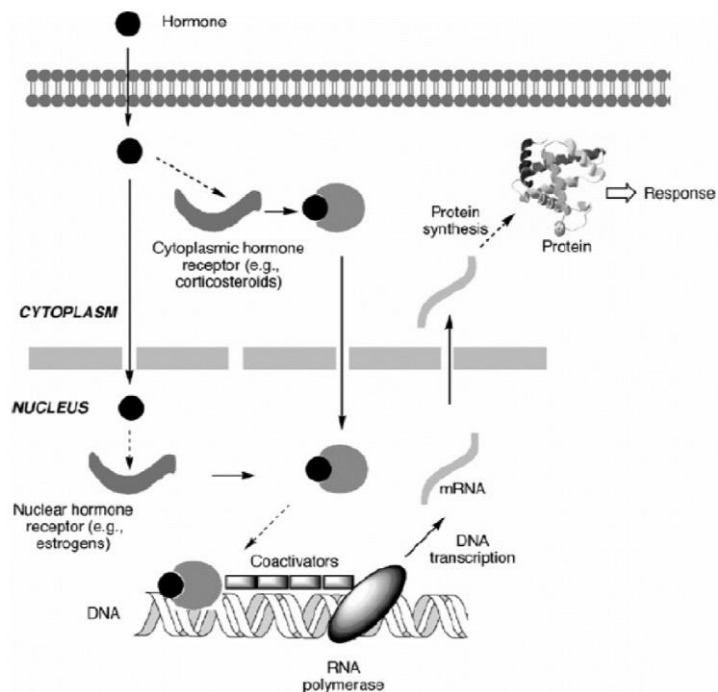


Figura 1. Secuencia de eventos relacionados con la actividad de la hormona esteroide

Se han propuesto varios mecanismos que explican el desarrollo de tumores dependientes de estrógenos. En primer lugar, el proceso de transcripción iniciado por la unión de estrógenos a sus receptores induce finalmente la proliferación celular en algunos tejidos diana. Algunos ejemplos son los tejidos mamarios, donde los estrógenos desencadenan la proliferación de las células que recubren las glándulas mamarias, preparando el pecho para producir leche en caso de embarazo y el endometrio del útero, donde estimulan la proliferación celular para preparar el útero para la implantación. Esta acción proliferativa es una de las funciones fisiológicas de los estrógenos, pero también puede conducir al desarrollo de cáncer de mama o útero porque si las

⁷ J-Deroo, B.;S-Korach, K., J. *Clin. Invest.* **2006**, *116*, 561–570.

células de estos tejidos ya poseen una mutación de ADN que aumenta el riesgo de desarrollar cáncer, proliferarán (junto con células normales) en respuesta a la estimulación con estrógenos.

Muchos tumores mamarios y endometriales son dependientes de estrógenos, y por esta razón su tratamiento se basa en la modulación de estas hormonas. Esto se puede lograr directamente mediante la administración de antiestrógenos o indirectamente mediante la inhibición de la aromatasas, la enzima responsable de la biosíntesis de los estrógenos.⁸

Existen compuestos llamados conjugados, esta clase de agentes comprende dos principios activos en el mismo compuesto, generalmente uno con afinidad con el ER, esteroide o no esteroide, estrógeno o antiestrógeno y otro con actividad citotóxica, varios ejemplos se pueden encontrar en la literatura.⁹

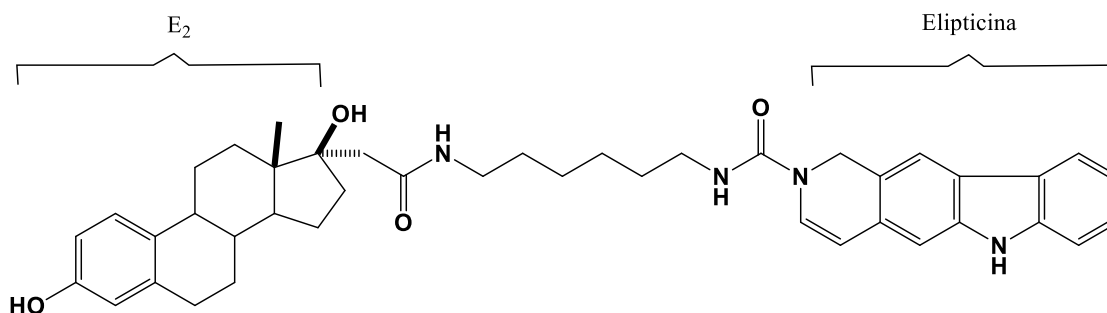


Figura. 2 Estrógenos citotóxicos conjugados.

Por otra parte, los dímeros esteroidales son un grupo especial de compuestos que llamaron la atención recientemente ya que exhiben diversas actividades biológicas, tales como un potente citotóxico.¹⁰ Los dímeros esteroidales se han usado como catalizadores para algunos tipos de reacciones y pueden conducir a nuevos esteroides farmacológicamente activos. Por ejemplo, las cefalostatinas son un grupo de esteroides diméricos que se encuentran entre las

⁸Avendaño, C.; Menendez, J.C. *Estrogens and Their involvement in carcinogenesis*. En. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. 1st Ed. Elsevier, Amsterdam, 50-55.

⁹ Rajesh Devraj.; F-Barrett, J.; A-Fernandez, J.; A-Katzenellenbogen, J.; Cushman, M., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3367–3374.

¹⁰ Pezzella, A.;Lista, L.;Napolitano, A.; d'Ischia M., *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5652–5659.

citotoxinas naturales más potentes. Esta excepcional actividad de las cefalostatinas ha llevado a interesarse en la síntesis de estos compuestos y análogos como posibles agentes antitumorales.¹¹

En base a esta información, se ha centrado este trabajo en la síntesis y caracterización de compuestos monoméricos y diméricos teniendo en base heterociclos fusionados o sustituyendo diferentes posiciones del esqueleto esteroidal.

¹¹ R-Pettit, G.; Inoue, M.; Kamano, Y.; L-Herald, D.; Arm, C.; Dufresne, C.; D-Christie, N.; M-Schmidt, J.; L-Doubek, D.; S-Krupa, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2006-2007.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES



2.1 Esteroides

Los esteroides son compuestos naturales que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza tanto en plantas como animales. La IUPAC define a los esteroides como compuestos que poseen el esqueleto del ciclopentanoperhidrofenantreno o un esqueleto derivado del mismo por una o más fisiones de enlaces, expansiones o contracciones de anillos (Figura 3).¹²

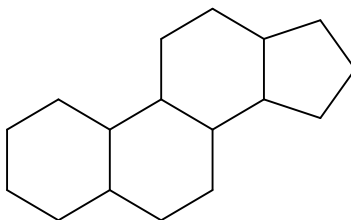


Figura 3. Ciclopentanoperhidrofenantreno

Los anillos del esqueleto esteroideal se designan con las letras A, B, C, D, los átomos de carbono se enumeran de forma particular, normalmente presentan grupos metilos sobre los átomos C-10 y C-13, pueden contar con una cadena alquílica sobre C-17 como se muestra en la figura 4.¹²

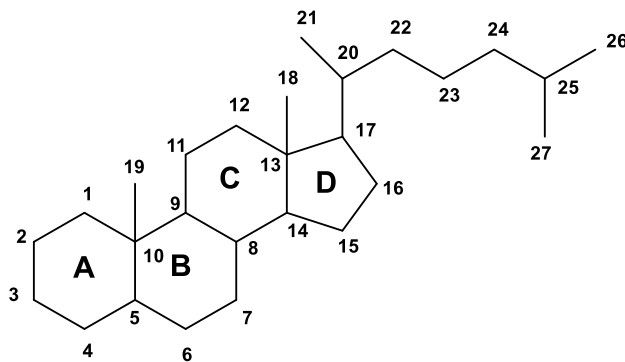


Figura 4. Enumeración del esqueleto esteroideal

¹² *Pure Appl. Chem* **1989**, No 10 Vol. 61, 1783-182.

Cada miembro de la familia de esteroides tiene una estructura que difiere del esqueleto básico de ciclopentanoperhidrofenantreno los grados de insaturación dentro de los anillos y las identidades de los sustituyentes de la cadena lateral hidrocarbonada, por ejemplo, alquilo, grupos funcionales de alcohol, aldehído, cetona o ácido carboxílico, unidos a los anillos.

Incluso pequeños cambios en las funcionalidades asociadas al esqueleto esteroideal pueden llevar a cambios significativos en sus actividades biológicas y farmacológicas. Es por eso que los químicos sintéticos siempre han estado interesados en llevar a cabo modificaciones estructurales de los esteroides para mejorar sus propiedades biológicas y farmacológicas o para descubrir nuevas propiedades.¹²

Los esteroides son una clase biológicamente importante de compuestos naturales con una amplia gama de actividades farmacológicas, tales como, antihipercolesterolémicos, propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, o con capacidad anticancerígena, la cual es uno de las características más investigadas en esteroides naturales y análogos sintéticos. Por otra parte, en sus derivados se ha encontrado potencial como drogas para tratar un gran número de enfermedades, incluyendo cardiovascular, enfermedades autoinmunes, tumores de cerebro, cáncer de pecho, cáncer de próstata, osteoartritis, etc.¹³

2.1.1 Clasificación de los esteroides

Los esteroides son parte integral de las membranas celulares, metabolitos de las grasas, sustancias cardioactivas, hormonas y diferentes modificaciones en su estructura permiten utilizarlos como fármacos terapéuticos. Las principales familias de esteroides, según su estructura y función en el organismo se pueden dividir en:

- a) Esteroles
- b) Calciferoles o vitaminas D.
- c) Ácidos biliares.
- d) Hormonas esteroideas
 - Estrógenos
 - Andrógenos

¹³Hong C.; Xue L.; Tao S.; Xiaoguang Q.; Zhan Z.; Ziyong L.; Chaojung H. *Steroids*. **2018**, *134*, 101–109.

- Progestágenos
- Corticoides (Mineralocorticoides y glucocorticoides)

A continuación, se explica brevemente cada uno de ellos.

Esteroles

Son los más abundantes, estructuralmente se consideran derivados del colestano. Presentan un grupo β -OH en C-3, lo que les da cierto carácter anfipático y una cadena lateral de 8 átomos de carbono en C-17. El colesterol (Figura 5), principal exponente de esta familia, es un componente habitual de la membrana plasmática de todos los seres vivos (excepto las eubacterias), donde su función es la de regular la fluidez en la bicapa lipídica.¹⁴

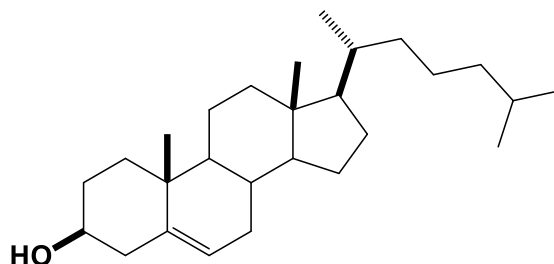


Figura 5. Estructura del Colesterol

Calciferoles o vitaminas D

Los calciferoles (vitaminas D) son esteroides implicados en la absorción de calcio por parte del intestino de los animales superiores. Su función principal es la regulación y el equilibrio del metabolismo del calcio y el fósforo, y la formación normal de hueso.¹⁴

Ácidos biliares.

Se consideran como derivados estructurales del colano, y se caracterizan por tener en el C-17 una cadena alifática ramificada de 5 átomos de carbono, un grupo carboxilo en C-24 y entre uno y tres grupos hidroxilo en su núcleo. Las sales biliares son moléculas fuertemente anfipáticas que

¹⁴José Andrés M. E; **2010**. *Síntesis de esteroides de alta actividad (Tesis de Doctorado)*; Universidad de Salamanca; Salamanca-España; 258 p.

el organismo utiliza como emulsionantes de los lípidos que llegan al intestino, para favorecer su digestión y absorción.¹⁴

Hormonas esteroideas.

Son sustancias producidas por las glándulas endocrinas, que se distribuyen por el torrente sanguíneo y ejercen funciones de regulación metabólica en tejidos específicos. Se distinguen 4 familias de hormonas esteroideas:¹⁴

1.- *Los estrógenos*: son derivados del esqueleto estrano, de 18 átomos de carbono y su anillo A es aromático. Son hormonas propias de la primera mitad del ciclo sexual femenino. Se producen en los ovarios y, en menor medida, en las glándulas adrenales. Inducen fenómenos de proliferación celular sobre los órganos diana, principalmente endometrio, mama y ovario. Son causantes del crecimiento de los órganos sexuales femeninos y de la mayor parte de los caracteres sexuales secundarios. Los estrógenos naturales más importantes son la estrona (a), el 17 β -estradiol (b), y el estriol (c) cuales se muestran en la Figura 6.

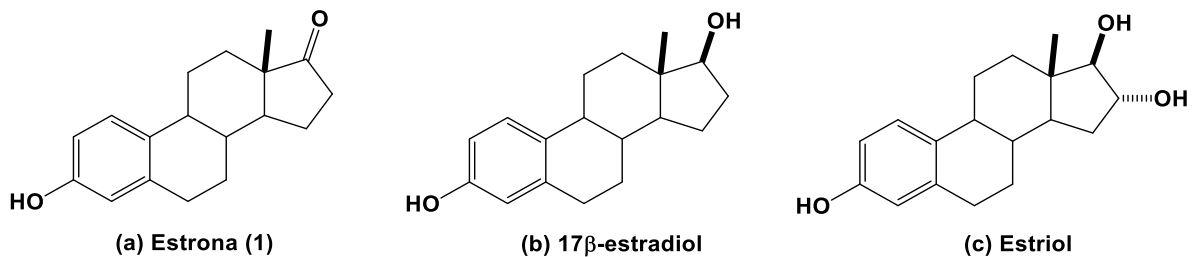


Figura 6. Estructuras de los estrógenos naturales más importantes

2.- *Los andrógenos*: se consideran derivados del androstano, de 19 átomos de carbono. Son las hormonas sexuales masculinas. Originan el desarrollo de los órganos sexuales masculinos y de la mayor parte de los caracteres sexuales secundarios.

3.- *Los gestágenos*: o progestágenos derivan del esqueleto pregnano, de 21 átomos de carbono. Son hormonas femeninas implicadas en el ciclo menstrual, y de importancia durante el embarazo.

4.- *Los corticoides*: también derivan del pregnano, y difieren de los progestágenos porque tienen un hidroxilo en C-21. Son hormonas segregadas por la corteza suprarrenal.

2.2 Estrona

La propuesta de usar esteroides para el desarrollo de nuevas moléculas depende de su regulación de una variedad de procesos biológicos y de ser una clase fundamental de moléculas de señalización.¹⁵ Los estrógenos endógenos, como el 17β -estradiol (estradiol o E_2) y la estrona (E_1), son importantes hormonas gonadales femeninas que tienen acciones fisiológicas y patofisiológicas muy diversas. Metabólicamente, E_2 y E_1 experimentan el metabolismo extenso *in vivo*, incluyendo la oxidación y la conjugación (tal como glucuronidación, sulfonación, y *O*-metilación).¹⁶ Aunque muchas de las acciones biológicas de los estrógenos endógenos se cree que están directamente mediadas por los receptores de estrógeno (a saber, los ER- α y/o ER- β subtipos), también hay pruebas experimentales de montaje que sugieren que algunos de las únicas acciones biológicas de los estrógenos endógenos son ejercidas por sus metabolitos. Por ejemplo, 4-hidroxiestradiol es un metabolito de estrógeno genotóxico/mutágeno, y también parece tener su propia vía de transducción de señales que es diferente de las vías clásicas mediadas por ER. Este metabolito del estrógeno de catecol se ha sugerido para desempeñar un papel importante en carcinogénesis hormonal en modelos animales y seres humanos.¹⁷

La estrona (**1**), siendo uno de los tres estrógenos naturales, es de interés para el tratamiento y la prevención del cáncer de mama, y varios tipos de análogos de estrona substituidos han sido reportados como agentes anticancerosos citotóxicos o citoestáticos (antiproliferativos) para tratar el cáncer.

Así, la modificación de la estructura estrona es muy importante para el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos.¹⁵ Estos derivados de la estrona a su vez han sido usados como el componente de la píldora anticonceptiva.¹⁸

Las modificaciones en los esteroides son un área importante de investigación debido a su utilidad establecida en la industria farmacéutica para el desarrollo de terapias para combatir diversas enfermedades tales como inflamación (I, II), asma (I), artritis reumatoide (I, II)

¹⁵Hong, C.; Xue, L. Tao, S.; Xiaoguang, Q.; Zhan, Z.; Ziyong, L.; Chaojung, H. *Steroids*. **2018**, *134*, 101–109.

¹⁶Aaron, Y.C.; Anthony, J.L.; Jiang, X.R.; Zhu, B.T. *Med Chem*. **2013**, *50*, 5372–5381

¹⁷Anthony, J. L.; Walter, S.; William, E. C.; Bao, T. Z. *Steroids*. **2004**, *69*, 61–65.

¹⁸Anton, I.; Syeda, A.E.; Syed, J.A.; Peter, E.; Alexander, V.; Eva, F.; Gyula, S.; János, W.; Qamar, R.; Peter, L. *Bioorg. Med. Chem*. **2017**, *25*, 949–962

enfermedad de Crohn (I), colitis ulcerosa (II), eczema, leucemia, inflamación del cerebro, anticoncepción, inhibidor de la ovulación (III) y cáncer de mama (Fig.8).

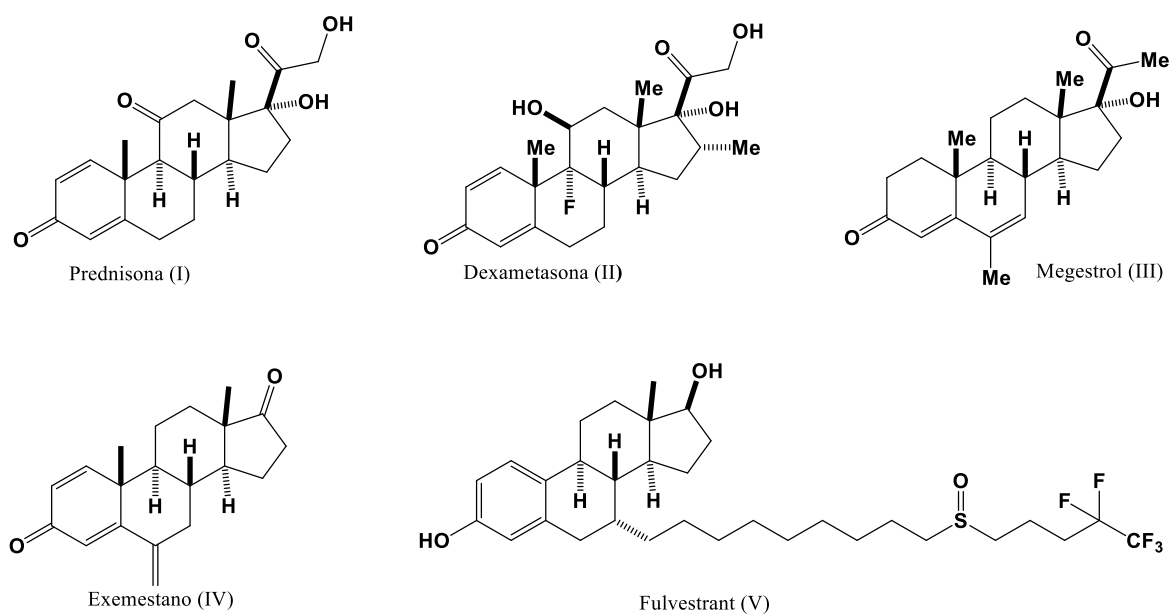


Figura 8. Esteroides modificados con utilidad clínica

Estas modificaciones se logran ya sea a través de la sustitución de diferentes grupos en posiciones definidas o a través de manipulaciones en la propia base esteroidea en un receptor de manera tratable. En el caso del núcleo de la estrona, la modificación y/o la extensión del anillo cercano al anillo D o en la base esteroidal lleva a principalmente los inhibidores enzimáticos. Siguiendo este enfoque, Fischer y otros reportaron pirazol unido a derivados de estrona como inhibidores de 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1, mientras que Mohareb y su equipo de trabajo reportaron Piran(VII), pirimidina y tiazolo extendida en derivados de estrona que poseen actividad anticancerígena en varias líneas de células de carcinoma. Numerosos protocolos para la extensión del anillo de estrona han sido reportados en la literatura.¹⁹

¹⁹Hardesh, K. M.; Mohammad, H. Ch.; Pavan, K.; Prema, G. V.; Jayanta. S.; Atul, G. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 68843–68851.

2.3 Heterociclos

La modificación de los compuestos esteroideos mediante el reemplazo, la inserción de uno o más átomos de carbono o la incorporación de un heterociclo puede alterar sus propiedades químicas y biológicas, desempeñando un papel crítico en la construcción de nuevos activos para productos farmacéuticos.²⁰

Un número de propiedades biológicamente importantes de los esteroides modificados dependen de las características estructurales del sistema de anillos del esteroide y de la cadena lateral. Estas modificaciones proporcionan un camino para alterar los grupos funcionales, y a su vez las numerosas relaciones de la actividad de la estructura. La especificidad de las actividades biológicas encontradas en los compuestos naturales es generalmente en relación con la complejidad estructural característica y de su estereoquímica bien definida.²¹ Numerosos heterociclos esteroideos han sido sintetizados y estudiados en las últimas décadas, debido a las importantes actividades biológicas que poseen, por ejemplo, actividad antitumoral, antiinflamatoria, anabólica, como androgénicos, antibacterianos, antiproliferativos, citotóxicos, o actividad anticancerígena entre otros.²²

Varios esteroides con restos heterocíclicos (por ejemplo, imidazol, pirazol, isoxazol, tiazol y oxazol) en C-17 muestran propiedades biológicas interesantes.²³ Por otro lado, los triazoles esteroideos unidos por C-17 poseen actividad hacia líneas celulares de cáncer de mama y próstata.²⁴ Así el 17β -estradiol y los estrógenos estructuralmente relacionados poseen propiedades carcinógenas y neuroprotectoras que se han atribuido a la susceptibilidad inherente del anillo A fenólico a la oxidación enzimática o química.²⁵ Los heterociclos con base triazol, fueron identificados biológicamente como importantes farmacóforos, y se reportó que poseen un buen potencial anticancerígeno con orientación a múltiples tipos de tumores malignos. Varios estudios han sugerido que los triazoles se dirigen a los receptores del factor de crecimiento

²⁰Malika, I. O.; Nicaise, B. N.; Luc R., *Tetrahedron Letters*. **2010**, *51*, 93–95

²¹Bin, Y.; Xiao-Jing, Shi.; Ping-Ping, Qi.; De-Quan, Yu.; Hong-Min, Liu., *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2014**, *141*, 121–134.

²²Ailed, A.G; Luis, M.D.; Penélope, M. M.; José, M. P.; Sara, M. S.; José, V. B.; Socorro, M. R., *Steroids*. **2016**, *116*, 13–19.

²³Eszter, T.; Zolta'n, B.; Viktor, H.; Sa'ndor, M.; La'szlo, K.; Rita., *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 4659–4663

²⁴Marija N. S.; Andrea R. G.; Janos J. C.; Evgenija A. D.; Olivera k.; Vesna K.; Gordana B.; Katarina M.; Penov G., *Tetrahedron Letters*. **2009**, *50*, 4107–4109.

²⁵Alessandro, P.; Liliana, L.; Alessandra, N.; Marco D., *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5652–5659.

endotelial vascular para inducir su actividad anticancerígena.²⁶ Además, algunos triazolo pirimidinas no esteroideos son compuestos que muestran interesantes propiedades biológicas como los agentes cardiovasculares o antibacterianos.²²

Abdel-Galil y su equipo de trabajo demostraron que los derivados heterocíclicos y esteroides substituidos actúan como analgésicos, anticonvulsivantes, y con actividad antimicrobiana. Además, las actividades androgénicas, anabólicas, y anti-inflamatorias de muchos derivados esteroides heterocíclicos han sido reportadas. Por otra parte, demostraron que los derivados de cianopiridona y tiopiridina (Figura 9) actúan como un agente antimicrobiano prometedor, así como actividades anticancerígenas.²⁷

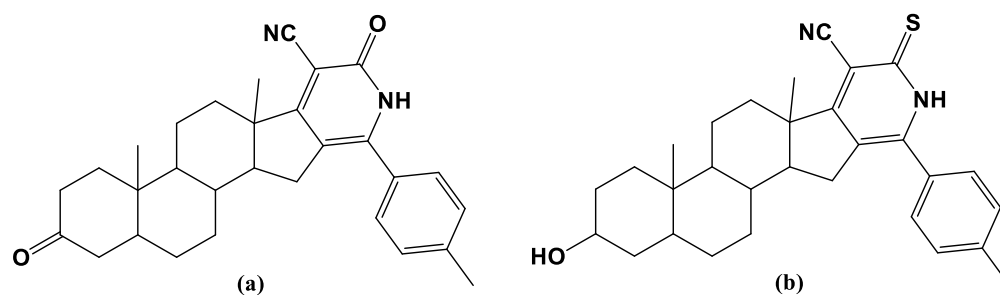


Figura 9. Nuevos compuestos heterocíclicos que contienen anillos de cianopiridona (a) y tiopiridina (b) fusionado al núcleo esterooidal.

2.4 Dímeros esteroideos

Uno de los desafíos más fascinantes en la química orgánica moderna es el diseño de estructuras diversas y complejas de moléculas que son útiles para el estudio de importantes procesos biológicos. En muchos de ellos, la simetría juega un papel crucial. Por ejemplo, numerosas proteínas responsables de la proliferación celular y la diferenciación existen como homodímeros o se activan a través de la dimerización como un paso clave en su respectiva cascada de señalización. Por esta razón, la síntesis de moléculas diméricas (o ligandos bivalentes) capaces, no solo de interactuar con receptores biológicos específicos, sino también para inducir mayores respuestas biológicas que las especies monoméricas correspondientes se han desarrollado. Los dímeros esteroideos forman un grupo significativo de compuestos farmacológicamente activos

²⁶Maryam, G.; Kachigere, B. H.; Chakrabhavi D. M.; Ainiah R. R.; Shobith R.; Vijay P.; Peter E. L.; Basappa; Kanchugarakoppal S. R., *Bioorg. Med. Chem Lett.* **2018**, 28, 2314–2319.

²⁷Abdel-Galil, E. Amr.; Mohamed M. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 4341–4352.

que son biosintetizados predominantemente por diversos organismos marinos, y también son sintetizados en laboratorios.²⁸

La dimerización del esqueleto esteroideal presenta algunas características únicas aplicables a diferentes áreas. Tienen propiedades micelares, detergentes, al igual han sido utilizados como catalizadores para diferentes tipos de reacciones orgánicas en las que juegan un papel clave en las mejoras de la tasa de unión hidrofóbica.²⁸ Los dímeros de esteroides son uno de esos grupos de esteroides modificados bien conocidos por su arquitectura rígida, predecible e inherentemente asimétrica. Los esteroides diméricos entonces se observaron por primera vez como subproductos sintéticos y luego se descubrieron en la naturaleza. Con el descubrimiento de una segunda clase de dímeros esteroidales, se puede conjeturar que eventualmente otros dímeros esteroidales naturales pueden ser identificados.²⁹

2.4.1 Dímeros esteroidales, clasificación

Este grupo puede ser clasificado como dímeros simétricos y asimétricos; cuando un dímero se compone de dos unidades monoméricas esteroidales idénticas, se llama dímero simétrico, y cuando se compone de dos diferentes unidades monoméricas esteroidales, o dos unidades idénticas de esteroides monoméricos que se unen en una forma en que no hay simetría en el dímero resultante, el dímero se conoce como dímero asimétrico (Figura 10). Otra forma de clasificar los dímeros de esteroides es dividirlos por su origen, naturales o sintéticos.³⁰

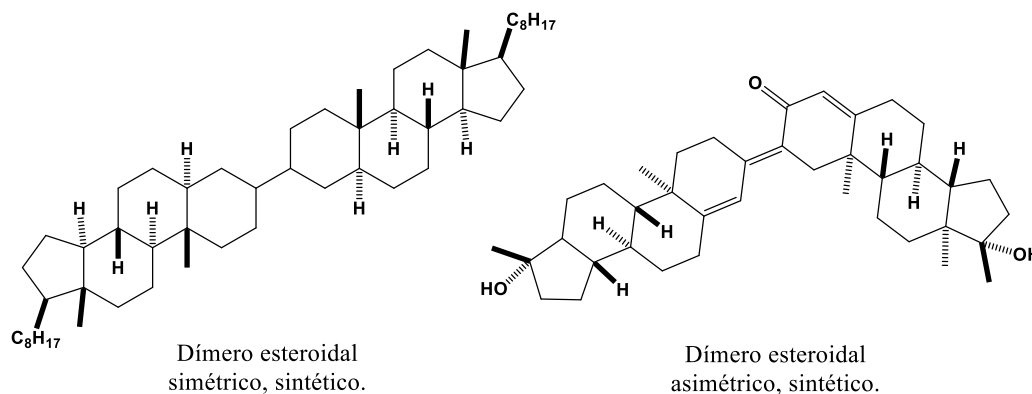


Figura 10. Clasificación de dímeros esteroidales

²⁸Natalija, M. K.; Ivana, Z. M.; Zorica D. Jurani.; Irena T. N.; Dušan M. S. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2014**, *143*, 365–375.

²⁹Shamsuzzaman.; Alam, M.G.; Siddiqui T. *J. Chem. Sci.* **2011**, *123*, 491–495.

³⁰Nahar, L.; Sarker S. D. *Steroid dimers* **2012**, *1*, 18-19 .

2.4.2 Antecedentes e importancia

La formación de un dímero esteroidal se observó por primera vez durante los estudios fotoquímicos con esteroides. Durante la investigación del efecto de la luz sensibilizada sobre la activación de ergosterol en la ausencia de oxígeno, se descubrió que en una solución alcohólica que contiene sensibilizador, el ergosterol en la exposición a la luz del sol se había sometido a la deshidrogenación para formar una fuerte sustancia levorrotatoria, que tiene el doble del peso molecular a la original, y dos grupos hidroxilo. Este producto bimolecular fue llamado bisergostatrienol.³⁰

Los primeros informes de derivados diméricos con diversos enlaces entre esteroides resultaron de la formación de subproductos, y solo en los últimos años se ha buscado la preparación de estos compuestos. Los esteroides diméricos pueden ser lineales o cíclicos y pueden estar conectados a través de anillos en el núcleo de esteroides (A-A, B-B, etc.) o través de las cadenas laterales, siendo el último comúnmente usado para formar dímeros de ácidos biliares. Las fracciones individuales pueden estar unidas mediante conexión directa o mediante grupos espaciadores. En la mayoría de los ejemplos encontrados en la literatura, la conexión entre las unidades implica un enlace lábil tal como un resto éter, amida, amina, hidrazona o éster. Los esteroides dímeros unidos a carbono-carbono deberían ser más estables a los medios químicos biológicos o agresivos, sin embargo, son menos comunes y solo se encuentran algunos ejemplos en la literatura, la mayoría de los cuales implican una conexión directa entre los anillos.³¹

Los dímeros de esteroides han evolucionado a partir de simples curiosidades aisladas de la naturaleza o productos secundarios de algunas reacciones, a un campo en desarrollo en el que los compuestos sintéticos diseñados para desarrollar o explorar propiedades físicas, biológicas o químicas se agregan constantemente a un número creciente de dímeros naturales que también exhiben propiedades interesantes.³²

El esqueleto esteroidal proporciona una superficie hidrofóbica y los grupos hidroxilo funcionan como el grupo polar. Se pueden usar diferentes enlazadores para que la hidrofobicidad se pueda lograr. Para apoyar dichas hipótesis, se han diseñado y sintetizado nuevos dímeros esteroidales evaluando su actividad biológica.³³

³¹Valeria, C. E.; Pablo D.C.; Gerardo B. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 3615–3623.

³²Manuel, R. E.; Martín, I. A. *Steroids*. **2017**, *128*, 46–49.

³³Deepak, B. S.; Braja, G. H.; Vandana, S. P.; Manoj, K. B.; Pallavi, B. N.; Mukund V. D. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1591-1594.

Los esteroides diméricos son un grupo especial de compuestos que recientemente han recibido atención significativa. Existe evidencia de que la dimerización del esqueleto esteroideal ofrece algunas características únicas que son aplicables en diferentes áreas, especialmente en farmacología. Entre ellos, productos naturales como las cefalostatinas, ritterazinas y crellastatinas (Fig. 11) son esteroides diméricos clásicos con citotoxicidad potente.

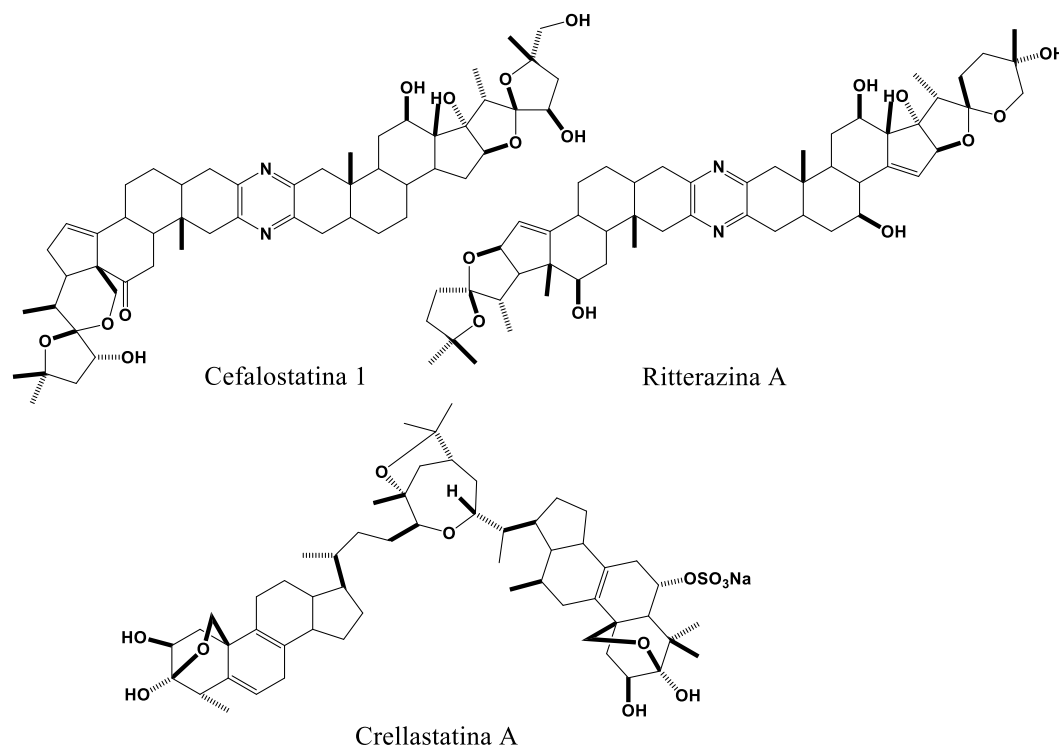


Figura. 11. Tres clásicos dímeros esteroidales naturales

Como el suministro natural de esteroides dimérico con cualquier acción farmacológica directa es extremadamente limitada, la síntesis de ellos ha atraído una gran atención entre los químicos medicinales. Hasta ahora, ha habido una serie de dímeros esteroidales sintetizados y estudiados por sus actividades farmacológicas.³⁴

Por otro lado, los esteroides pueden actuar como receptores artificiales. En general, los esteroides se caracterizan por una superficie lipofílica. Para actuar como huéspedes, los esteroides generalmente se modifican por adición de grupos polares especialmente diseñados. Las modificaciones estructurales de los esteroides proporcionan dímeros, en los que los esqueletos de esteroides están directamente unidos o conectados por varios grupos espaciadores.

³⁴Bin Y.; Shi, X. J.; Zheng, Y.F.; Fang, Y.; Zhang E.; Yu, D. Q.; Liu, H. M. *European J Med. Chem.* **2013**, *69*, 323–330.

Algunos dímeros de esteroides naturales y sintéticos exhiben diversas propiedades biológicas y farmacológicas interesantes.³⁵

Hasta la fecha, se han sintetizado y estudiado una serie de dímeros esteroidales, que incluyen dímeros de estradiol, testosterona, pregnenolona, entre otros. De los analizados hasta la fecha, es evidente que las propiedades son biológicamente importantes.³⁶

En base a lo reportado sobre dímeros esteroidales, en nuestro grupo de investigación Arenas González ha llevado a cabo la síntesis y caracterización de compuestos monoméricos y diméricos teniendo derivados [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas fusionadas o sustituyendo diferentes posiciones del esqueleto esteroideal.²² (Fig.12)

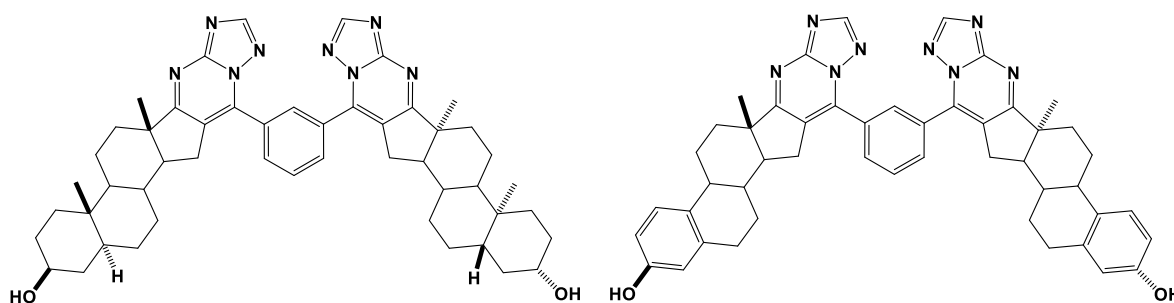


Figura 12. Dímeros con núcleos de triazolopirimidina

2.5 Reacción de Claisen-Schmidt.

La reacción de Claisen-Schmidt es un tipo de condensación aldólica, consistente en la síntesis de cetonas α,β -insaturadas por condensación de un aldehído aromático con una cetona. Como el aldehído aromático no posee hidrógenos en posición α respecto al grupo carbonilo, no puede dar auto condensación, pero reacciona fácilmente con la acetona presente.³⁷ Los ésteres, al igual que los aldehídos y las cetonas, son débilmente ácidos. Cuando un éster con un hidrógeno α se trata con un equivalente de una base como el etóxido de sodio, ocurre una reacción de condensación carbonílica reversible para producir un β -cetoéster; por ejemplo, el acetato de etilo

³⁵Zdzislaw, P.; Monika, P.; Roman, J.; Emilia L.; Wanda R.P. *Journal Of Rare Earths*. **2010**, 28, 56-60.

³⁶Jurášek, M., et al. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2018**, ,1- 12.

³⁷Brian, S. F.; Antony, J. H; Peter, W.G.; Austin R. T. *Vogel's. Textbook of Practical Organic Chemistry*. 5th ed., Longman, 1032.

produce acetoacetato de etilo en el tratamiento con una base. Esta reacción entre dos moléculas de éster se conoce como reacción de condensación de Claisen.³⁸

Las chalconas son cetonas α,β -insaturadas que se encuentran en abundancia en plantas comestibles y se consideran precursoras de flavonoides e isoflavonoides. La presencia del doble enlace en conjugación con una funcionalidad de carbonilo se propone como una de las funciones que contribuye a sus actividades biológicas importantes en comparación con sus análogos saturados.³⁹

Las chalconas han atraído mucha atención debido a sus diversas aplicaciones biológicas, como agentes anticancerígenos, antiinflamatorios y antihiperoglucémicos. El método preferido para la síntesis de chalconas es mediante la condensación de Claisen-Schmidt de un aldehído y una cetona mediante una reacción catalizada por ácido o base seguida de deshidratación. La reacción de condensación de Claisen-Schmidt garantiza la formación de enlaces C-C entre dos derivados de carbonilo y es una modificación de la bien conocida condensación aldólica que también proporciona la síntesis de diversas moléculas importantes que se promueve en condiciones catalíticas ácidas y básicas.²⁵ Destacando la importancia de la reacción de Claisen Schmidt.³⁹

Lawrence et al. han sintetizado con buenos rendimientos chalconas, por vía Claisen-Schmidt los cuales muestran importante actividad anticancerígena. (Fig 13).⁴⁰

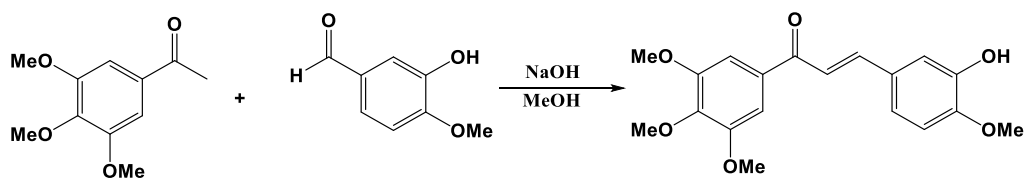


Figura 13. Síntesis de chalconas vía Claisen-Schmidt

³⁸John McMurry., *Organic Chemistry, 7th ed*, **2008**, 888 -889.

³⁹Arul, M.; Robert, M. G.; Lin, C. H. *J of the Taiwan Institute of Chem. Eng.* **2017**, *80*, 852–866.

⁴⁰Nicholas, J. L.; David, R.; Alan, T. M.; Sylvie, D.; Lubna, A. G.; John A. H.; Nader K., *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 421-426.

2.6 Reacción de Vilsmeier–Haack

El reactivo Vilsmeier-Haack (sal de halometilenoiminio) formado a partir de la interacción de formamida de dialquilo como DMF con POCl_3 ha atraído la atención de los químicos orgánicos sintéticos desde su descubrimiento en 1927.⁴¹ Es uno de los reactivos más comúnmente utilizados para la introducción de un grupo aldehído (CHO) en sistemas aromáticos ricos en electrones.⁴² Sin embargo, el alcance del reactivo de Vilsmeier no se limita solo a la reacción de formilación aromática. Una amplia variedad de derivados de alqueno, así como compuestos de carbonilo con los grupos metilo y metileno activados exhiben reactividad hacia el reactivo Vilsmeier. Además de los nucleófilos de carbono, algunos nucleófilos de oxígeno y nitrógeno también son reactivos con el reactivo de Vilsmeier-Haack.⁴³ Se muestra a continuación la obtención de una β -Cloroacrolina sintetizada a partir de su correspondiente cetona vía Vilsmeier-Haack, por Heesse y Kirsch. (Fig 14)⁴⁴

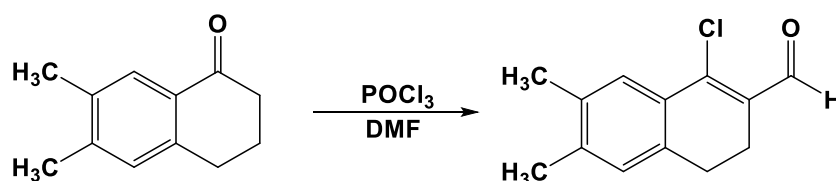


Figura 14. Obtención de una β -cloroacrolina a partir del reactivo de V-H.

⁴¹Shamsuzzaman; Hena K.; Ashraf M.; Nazish S. *Tetrahedron Letters*. **2013**, *54*, 874–877.

⁴²Meth-Cohn, O.; Westwood, K. T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1984**, *1*, 1173–1182.

⁴³Rao, G. S. K. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 5371–5373.

⁴⁴Stephanie, H.; Gilbert, K., *Tetrahedron Letters*. **2002**, *43*, 1213–1215.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General:

- Desarrollar rutas sintéticas para llevar a cabo la formación de nuevos dímeros esteroidales con heterociclos en el anillo D del esteroide.

3.2 Objetivos Particulares:

- I. Adicionar un grupo aldehído en la posición 16 de la estrona, bajo condiciones de reacción de Vilsmeier –Haack, para obtener un compuesto carbonílico- α,β -insaturado- β -clorado en el anillo D del esteroide y posterior formación del heterociclo.
- II. Generar el carbonilo- α,β -insaturado en el anillo D de la estrona por condensación aldólica con benzaldehído y posteriormente formación del heterociclo de triazolopirimidina.
- III. Generar los dímeros esteroidales correspondientes.
- IV. Caracterizar inequívocamente los productos que se generen mediante los diferentes métodos espectroscópicos físicos y espectroscópicos.
- V. Realizar estudios de actividad antiproliferativa en diversas líneas de células cancerígenas.

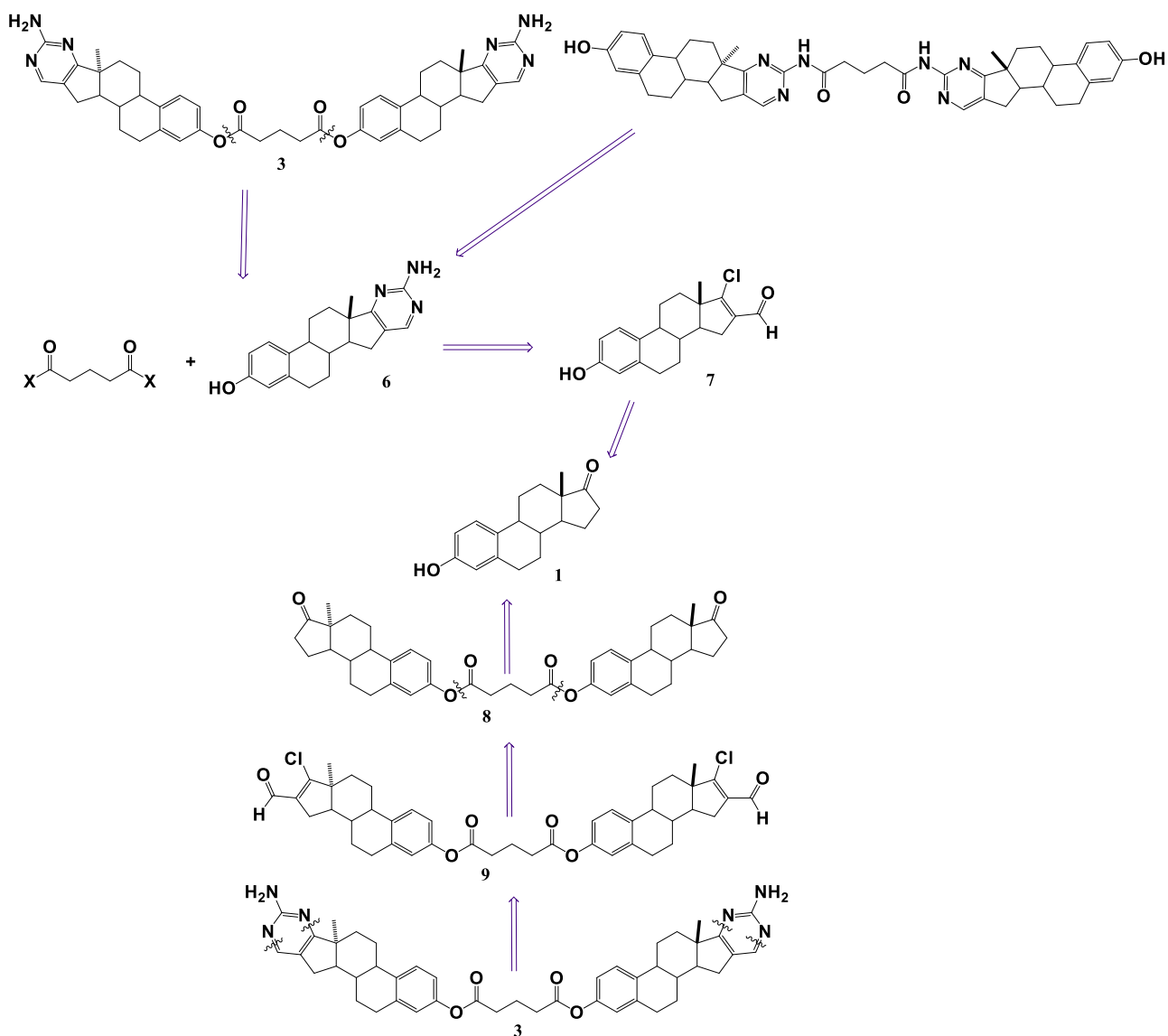
CAPITULO IV DISCUSIÓN DE RESULTADOS



Se describe a continuación la síntesis de nuevos dímeros que contengan heterociclos en el anillo D del núcleo esteroidal utilizando como *linker* cloruro de glutaloilo.

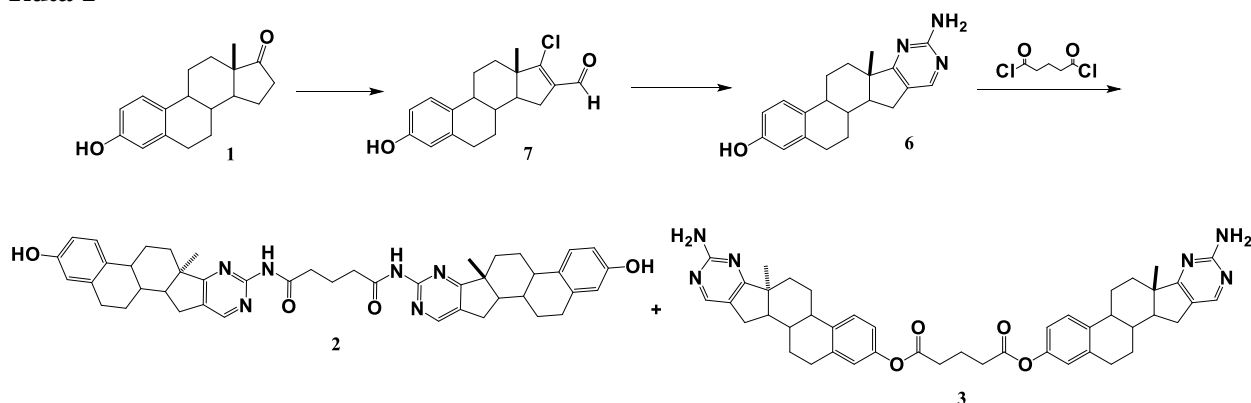
4.1 Análisis retrosintético del: Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2' amino-pirimidin-3-ilo} (3) y N^1, N^5 -bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-3-hidroxipirimidina-glutaramida (2)

El presente trabajo inició con el análisis retrosintético de una de las moléculas objetivo, que se propone a continuación:

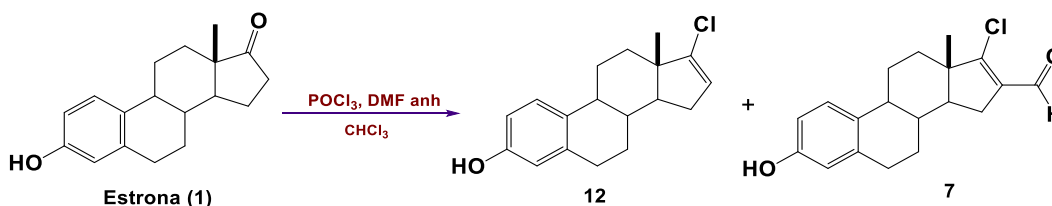


Esquema 2. Esquema retrosintético para generar el correspondiente dímero heteroesteroidal **3**

4.2 Síntesis del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3) Ruta 1



4.2.1 Obtención de 17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (7)



La estrona (**1**) se trató bajo condiciones de Vilsmeier-Haack, ($\text{POCl}_3 / \text{DMF}$) reacción que ya ha sido reportada en 1998 por Vincent C. O. Njar⁴⁵ y que ha sido probada en esteroides por nuestro grupo de investigación. Al tratar la estrona en estas condiciones se llega a la formación de dos compuestos **12** y **7**, los rendimientos reportados⁴⁶ han sido de 23 % y 30 % respectivamente, sin embargo, tras realizar un ajuste de equivalentes (ver tabla 1) en el presente trabajo, el rendimiento de **7** ha incrementado más de un 50%, y el rendimiento de **12** ha disminuido, con un mínimo de materia prima sin reaccionar.

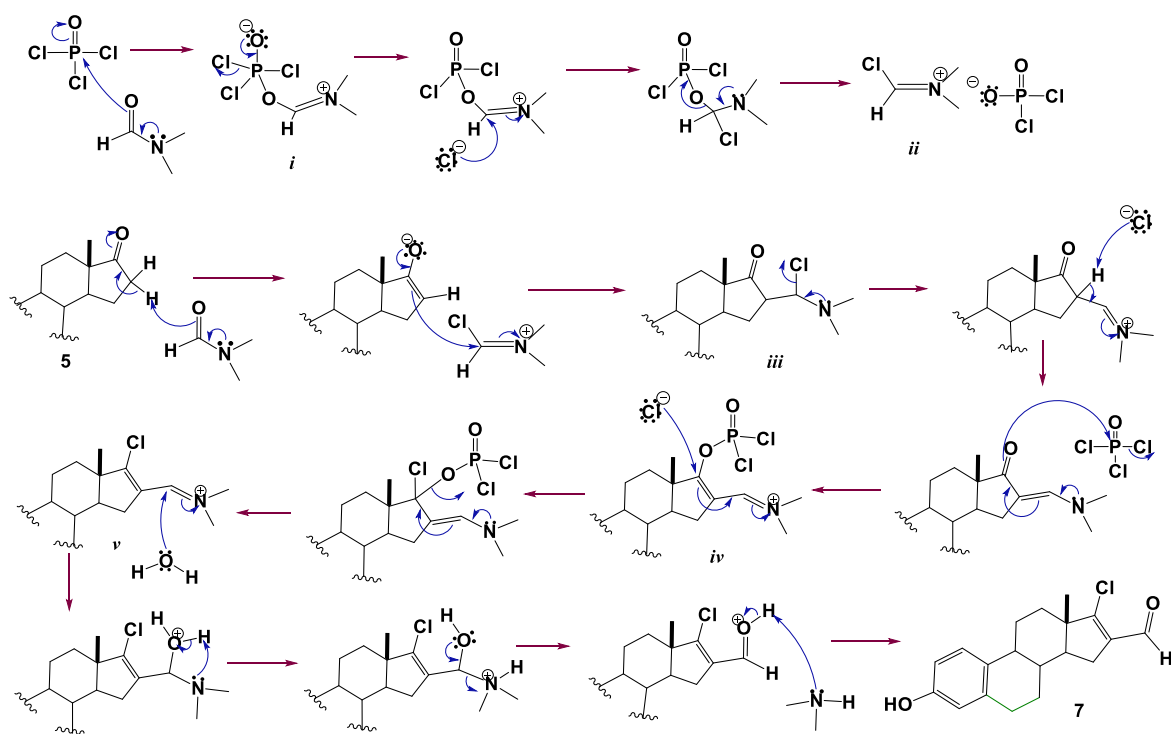
Tabla 1. Rendimientos obtenidos con diferentes equivalentes.

⁴⁵ Njar V. C.; Kato, K.; Nnane I. P.; Ggrigoryev D. N.; Long B. J.; Brodie A. M. H., *J Med. Chem.* **1998**, 41, 902-912

⁴⁶ Fuentes Aguilar A. G. **2016** *Síntesis de heteroesteroides derivados de estrona y estudios de actividad biológica* (Tesis de Maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México Puebla, pp.

Reactivos	Equivalentes	Rendimiento		Reactivos	Equivalentes	Rendimiento	
		12	7			12	7
POCl ₃ DMF anh CH ₃ Cl	115.6 139.7 105.47	23 %	30%	POCl ₃ DMF anh CH ₃ Cl	57.83 90.79 50	10%	90%
Reactivos	Equivalentes	Rendimiento		Reactivos	Equivalentes	Rendimiento	
		12	7			12	7
POCl ₃ DMF anh CH ₃ Cl	28 46 26	5%	15%	POCl ₃ DMF anh CH ₃ Cl	12 12 5	0%	0%

El mecanismo de reacción ya ha sido propuesto para la formación de **7** y se presenta a continuación:



Esquema 5. Mecanismo de reacción para la formación de **7**

la reacción inicia cuando el reactivo *N,N*-dimetilformamida reacciona con el oxiclorigo de fosforo, para formar el agente formilante, el par electrónico sin compartir del nitrógeno entra para formar un doble enlace desplazando el par electrónico hacia el oxígeno, el cual ataca al fosforo para formar un intermediario *i*. El par electrónico del oxígeno retorna hacia el fósforo

desplazando al cloro, el cual ataca al carbono desplazando el par electrónico al nitrógeno y estabiliza la carga del átomo. El par electrónico del nitrógeno nuevamente entra para formar el doble enlace formando así el ion $PO_2Cl_2^-$ y la sal de halometilenimino (reactivo de Vilsmeier, *ii*). La molécula de DMF actúa como base extrayendo del protón del carbono α al carbonilo del esteroide para la formación del ion enolato, el par electrónico del oxígeno retorna desplazando el par electrónico del doble enlace que atacará al carbono del reactivo de Vilsmeier desplazando así el par electrónico al nitrógeno y estabilizando la carga, llevándose una reacción de sustitución electrofílica (S_E), formando un intermediario *iii*, en dicho intermediario el par electrónico sin compartir del nitrógeno entra para formar un doble enlace eliminando al cloro y formando el ion iminio. El ion cloruro extrae el protón del carbono α al carbonilo para desplazar el par electrónico al nitrógeno, al retornar dicho par electrónico sin compartir del nitrógeno vuelve a desplazar el par electrónico del doble enlace que se formó para que el par electrónico del oxígeno ataque a una molécula de oxiclورو de fosforo eliminando uno de los cloros de dicha molécula, el ion cloruro que se eliminó vuelve a atacar al carbono del carbonilo desplazando el par electrónico del doble enlace al mismo tiempo que desplaza el par electrónico al nitrógeno, nuevamente el par electrónico sin compartir del nitrógeno retorna para formar un doble enlace desplazando el par electrónico del otro doble enlace eliminado al ion $PO_2Cl_2^-$ y formando las sales de haloiminio *iv*.

Posteriormente el par electrónico del oxígeno de una molécula de agua que se obtiene de la neutralización del ácido clorhídrico formado la cual se realiza con hielos, ataca al carbono del ion imino *v* para desplazar el par electrónico al nitrógeno, el par electrónico sin compartir del nitrógeno ataca a uno de los protones del oxígeno del agua para estabilizar la carga de dicho átomo, uno de los pares electrónicos del oxígeno entra para eliminar a la amina, para que después el par electrónico sin compartir de la amina extrae el protón del oxígeno estabilizando la carga de dicho átomo y así formar el respectivo compuesto **7**.

4.2.1.1 Caracterización espectroscópica de 17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (**12**) y 17-cloro-16-formilestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3 β -ol (**7**)

Los compuestos obtenidos **7** y **12** se identificaron por las señales de los espectros de ^1H y ^{13}C en comparación con los ya reportados en la literatura.⁴⁶ En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **12** se puede ver que muestra una señal simple a 5.6 ppm que pertenece al hidrógeno vinílico en C-16, entre 6.5 – 7.5 ppm las señales del anillo aromático, al igual del pequeño desplazamiento de la señal del H del hidroxilo en C-3, Para **7** no se observa la señal del hidrógeno vinílico debido a que ahora tiene un grupo aldehído, mostrándose la señal del $-\text{CHO}$ simple en 9.9 ppm característica del H del aldehído. En cuanto al espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **12** se observa la señal del C-16 en 124.7 ppm perteneciente a un carbono vinílico, el C-17 vinílico en 145.0 ppm. Para el compuesto **7** se aprecia la nueva señal en 188.3 ppm que pertenece al $-\text{CHO}$ de aldehído y una señal en 136.4 ppm para C-16 que es un carbono cuaternario, la señal del C-17 es desplazado hacia frecuencias altas en 163.0 ppm. El C-3 en ambos compuestos se presentan entre 153.6.0 y 153.5 ppm respectivamente. (ver tabla 2)

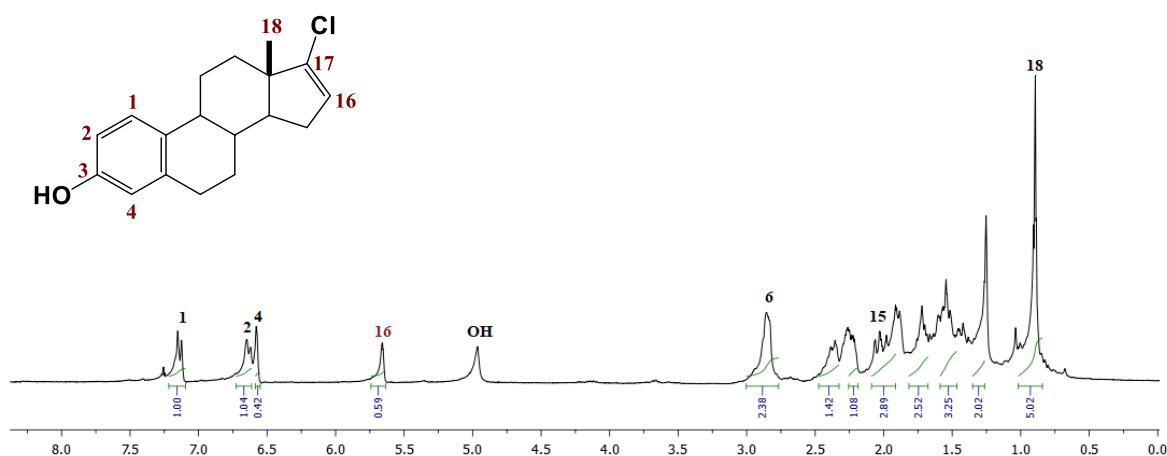


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **12**

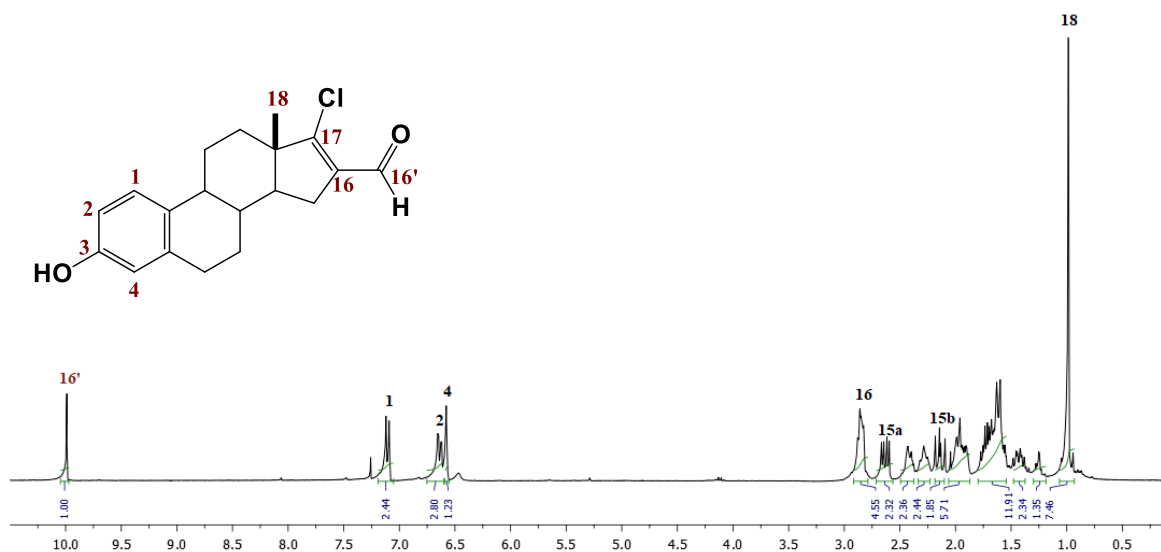


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 7

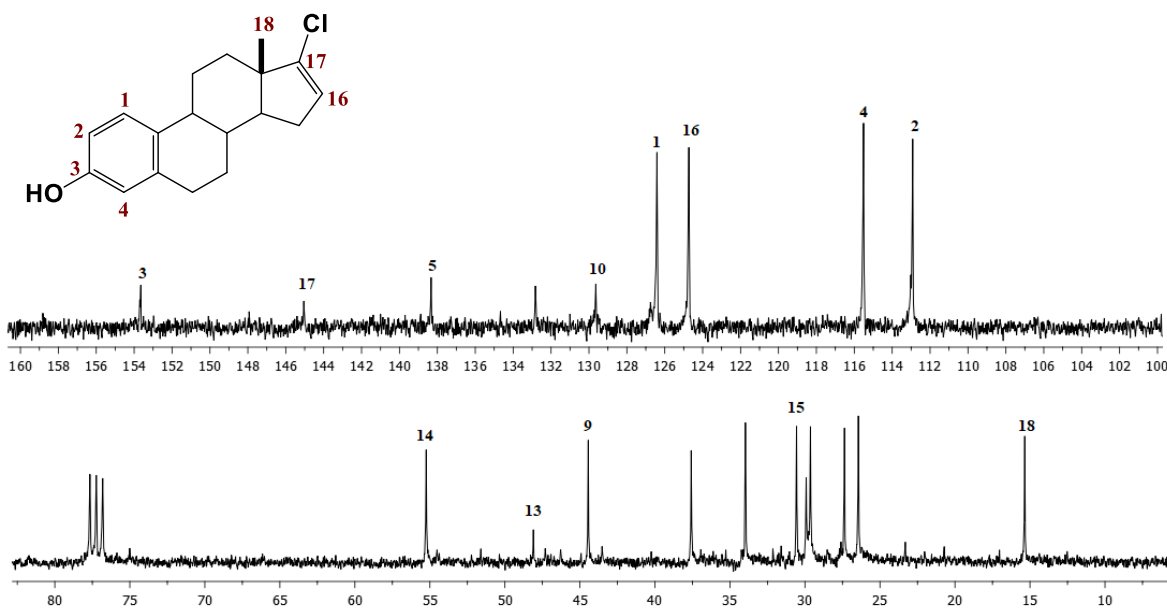


Figura 17. Espectro de RMN de ¹³C del compuesto 12

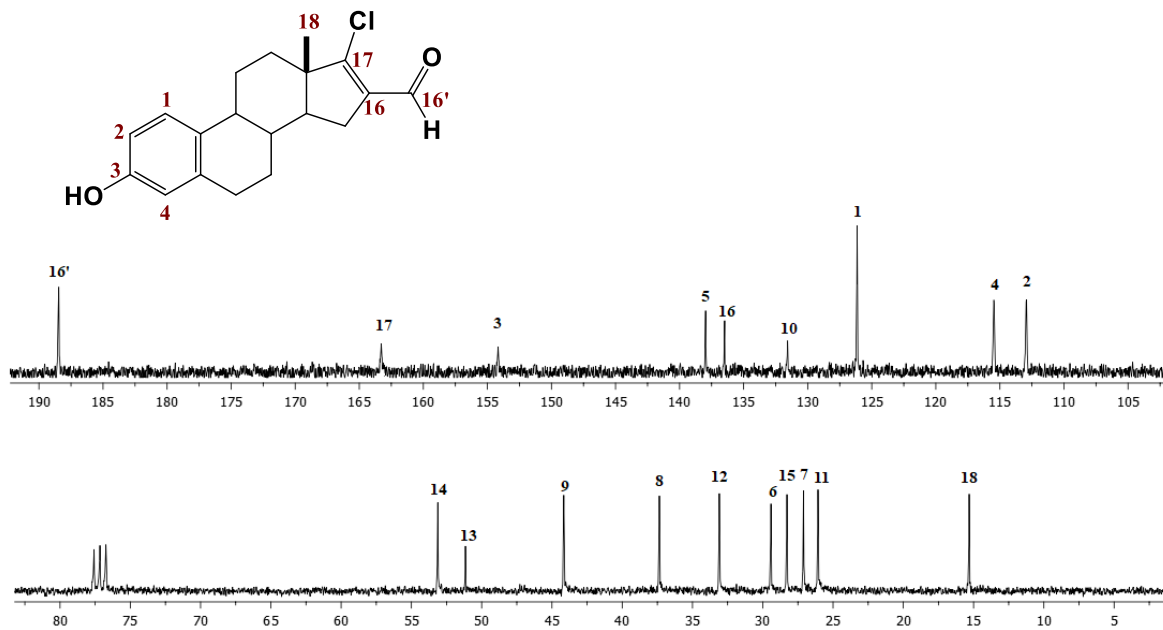
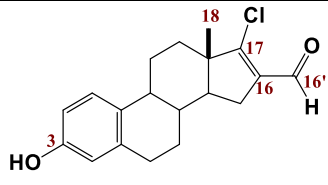
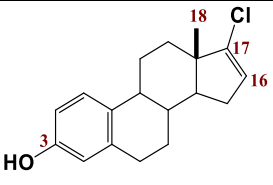
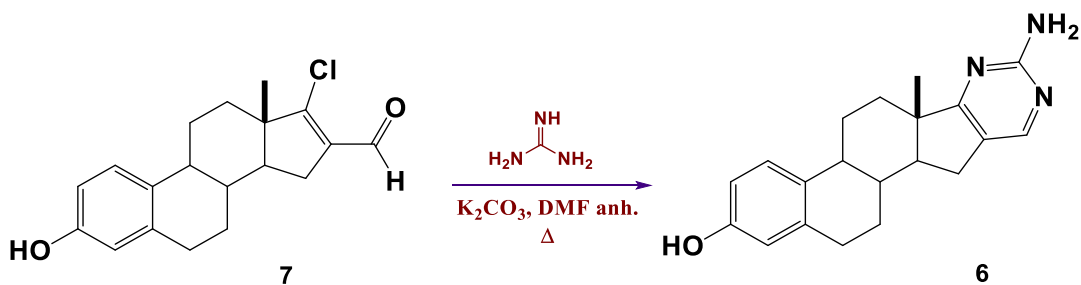


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 7

Tabla 2. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de 7 y 12

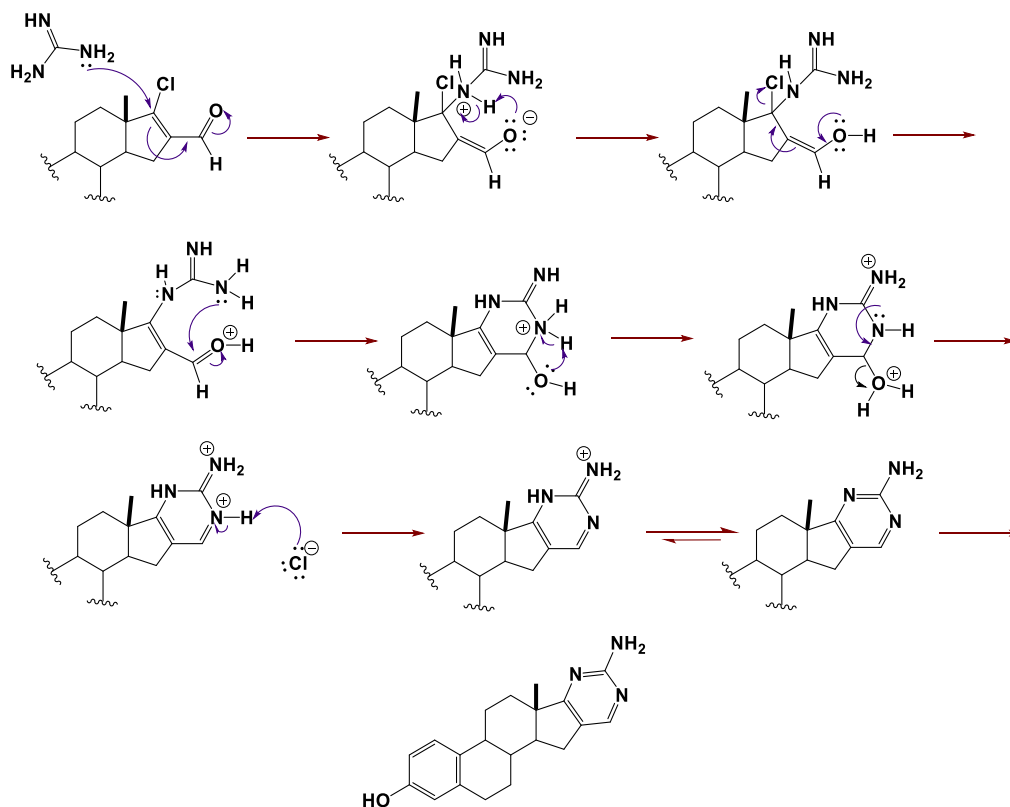
				
	7		12	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
3	---	153.6	---	153.5
16	---	136.4	5.6	124.7
16'	9.9	188.3	---	---
17	---	163.0	---	145.0
18	0.9	15.3	0.8	15.3

4.2.2 Obtención del hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidina (6)



Para la formación del heterociclo de **6** fusionado al anillo D de la estrona (**1**) se trata el derivado **7** en condiciones básicas, DMF anh y guanidina que es un grupo binucleofílico, el rendimiento reportado fue del 51 % en 2 horas de reacción, sin embargo, tras dejar la reacción por un par de horas más, la materia prima se consume en su totalidad. Se comparan los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se pueden observar las señales del compuesto esperado.

El mecanismo de reacción propuesto para la formación del heterociclo se inicia con el ataque nucleofílico del par electrónico no compartido de uno de los nitrógenos de la guanidina, hacia el C-17 y desplazando el par electrónico del doble enlace hacia el grupo carbonilo y la formación del enolato. En dicho intermediario uno de los pares electrónicos del oxígeno atrae al protón unido al nitrógeno para estabilizar la carga y formar un enol, posteriormente el par del oxígeno entra para formar un doble enlace desplazando el par electrónico del doble enlace carbono- carbono y consecutivamente favorece la eliminación del cloro. El par electrónico sin compartir del otro nitrógeno ataca al carbono del carbonilo desplazando el par electrónico hacia el oxígeno estabilizando su carga, para que después nuevamente el par electrónico del oxígeno extraiga el protón del nitrógeno estabilizando su carga y formando el ion hidronio, nuevamente el par electrónico sin compartir del nitrógeno que se unió al carbono perteneciente al que era de carbonilo, entra para formar un nuevo doble enlace eliminando agua que se formó. El ion cloruro extrae el protón para estabilizar la carga del nitrógeno, después ocurre una tautomerización y así formación del compuesto esperado **6**. Esquema 6



Esquema 6. Mecanismo de reacción para la formación de 6

4.2.2.1 Caracterización espectroscópica 3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'-aminopirimidina (6)

Se obtiene el espectro correspondiente a ^1H y ^{13}C , en cuanto al espectro de ^1H se observa la aparición de una señal en 8.0 ppm, correspondiente al protón de C-4', no observándose la señal del aldehído. Para ^{13}C se presenta la señal para el C-4' en 152.4 ppm, mientras que para C-2' en 161.7, desapareciendo la señal perteneciente al carbono del aldehído. (ver tabla 3)

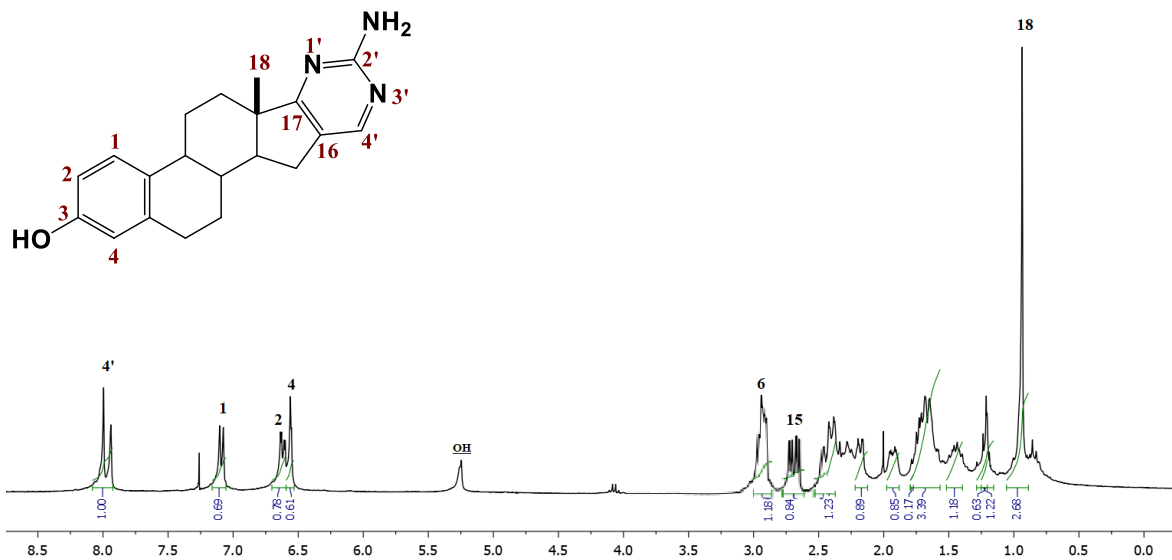


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 6

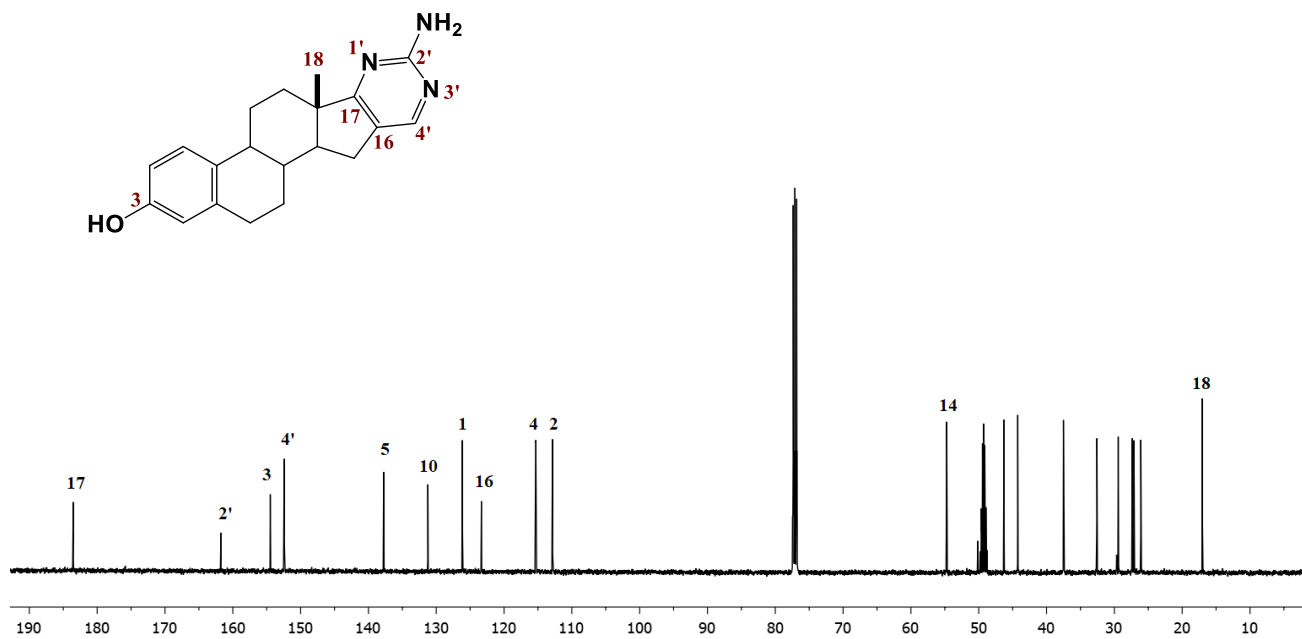
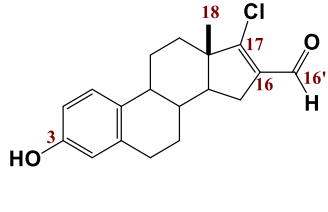
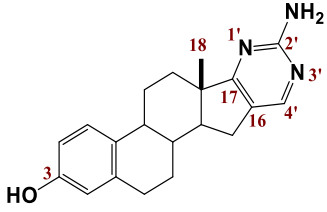
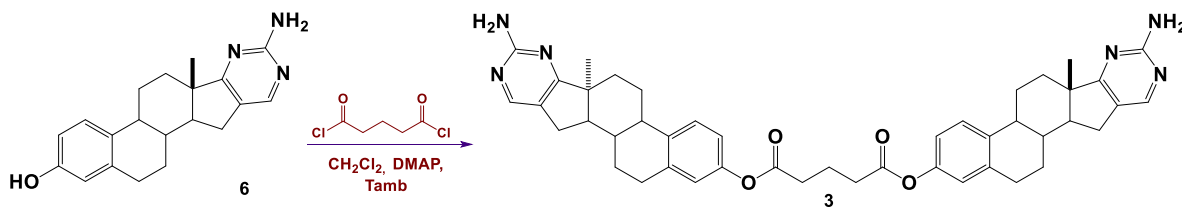


Figura 20. Espectro de RMN de ¹³C del compuesto 6

Tabla 3. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de **7** y **6**

				
	7		6	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
3	---	153.6	---	154.5
16	---	136.4	---	123.2
16'	9.9	188.3	---	---
17	---	163.0	---	183.4
18	0.9	15.3	0.8	17.0
2'	---	---	---	161.7
4'	---	---	8.0	152.4

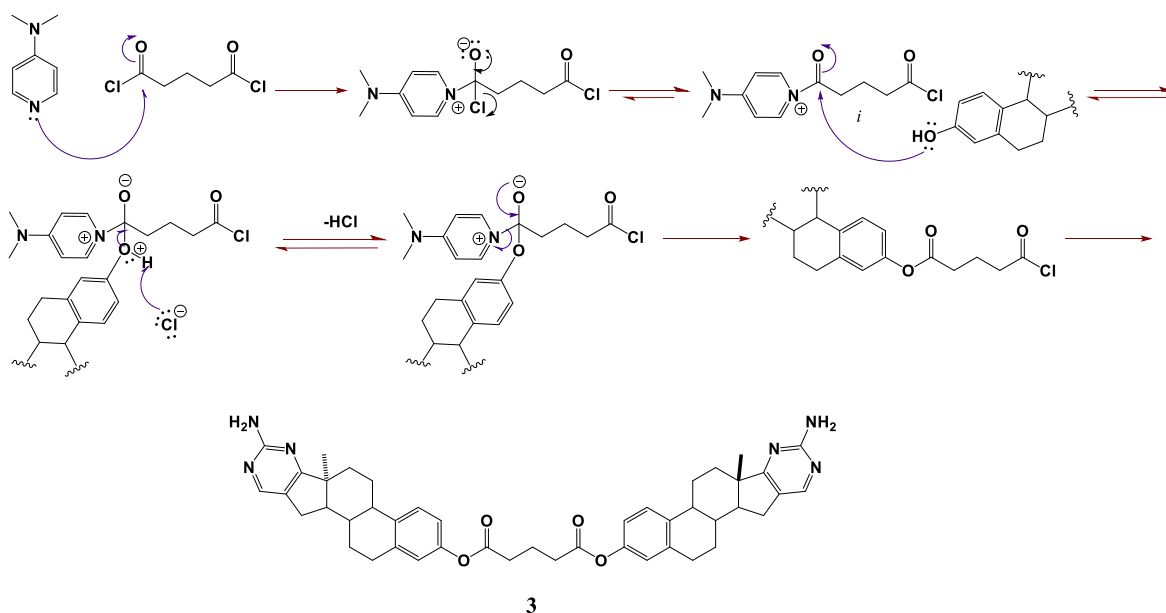
4.2.3 Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (**3**)



La formación del nuevo dímero esteroidal se llevó a cabo por el tratamiento de **6** con cloruro de glutaloilo como *lincker* a temperatura ambiente, formando un crudo de reacción color café, y dando como compuesto final un sólido blanco. Se propone que exista la formación de 3 nuevos dímeros heteroesteroidales, esto debido a que puede existir la unión del monómero **6** por alguno de sus grupos nucleofílicos, haciendo la combinación ($\text{H}_2\text{N-Z-NH}_2$, $\text{H}_2\text{N-Y-OH}$ y HO-W-OH) de tres productos. Tras llevar a cabo la reacción se observó en el monitoreo por CCF que la materia prima reaccionó en su totalidad, formando 3 nuevos compuestos, sin embargo, debido a su R_f similar, dos de ellos no fueron posibles aislar y se muestra como una mezcla y con bajo rendimiento, el 3er compuesto caracterizado como **6** se obtuvo con mejor rendimiento, y fue posible aislarlo y caracterizarlo. La unión mayoritaria por el grupo $-\text{OH}$ es favorecida probablemente debido a que el grupo $-\text{NH}_2$ se encuentra unido a un heterociclo con dos N, los

cuales jalan densidad, y que además el par de electrones libres de la amina pueda entrar en resonancia siendo más estable, haciendo que se disminuya su propiedad nucleofílica.

El mecanismo de reacción que se propone es el siguiente: el par electrónico libre del DMAP ataca nucleofílicamente al carbonilo del cloruro del glutaloilo, desplazando el par electrónico del doble enlace hacia el oxígeno formándose un ion enolato, que regresa el par de electrones al carbono y desplaza al cloro, posteriormente uno de los pares electrónicos del oxígeno del –OH esteroidal, ataca al carbono del intermediario formado *i*, el ión cloruro extrae un protón liberando ácido clorhídrico, posteriormente el par electrónico del ion formado inicialmente regresa al carbono, liberando DMAP y formando el éster, actuando simultáneamente para la formación del dímero.



Esquema 7. Mecanismo de reacción para la formación de 3

4.2.3.1 Caracterización espectroscópica del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3)

El derivado **3** se obtuvo con un rendimiento del 30% y fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y 2D (HSQC, HMBC). En el espectro de IR se observa una banda ancha en 3319 cm^{-1} del NH_2 , en 1610 cm^{-1} una banda que corresponde a la vibración de tensión debida al

carbonilo del éster. En 1562 cm^{-1} aparece una banda tensión para el doble enlace carbono-carbono.

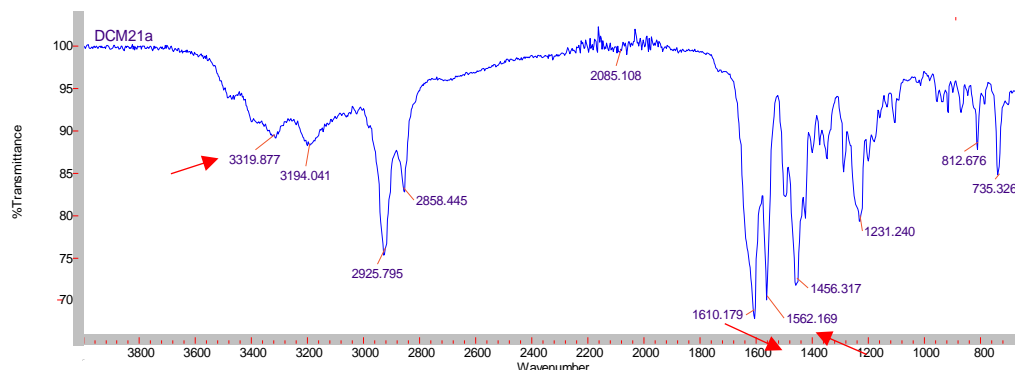


Figura 21. Espectro IR del compuesto 3

En el espectro de RMN de ^1H se observa una señal simple en 8.0 ppm característica para el protón del anillo de aminopirimidina H-4'. A frecuencias bajas se observan dos señales múltiples correspondientes a los hidrógenos del glutarato en H-3b y H-3c en 2.3 ppm y 2.2 ppm respectivamente. Se puede observar que se mantienen las señales de los protones característicos de la materia prima. (Fig. 22) En el espectro de ^{13}C se muestra la aparición de las señales pertenecientes a los hidrógenos del *lincker*, C-3a en 171.5 ppm, quedando en esta región debido a que es un carbono perteneciente a un éster, mientras que C-3b en 37.0 ppm y C-3c por 21.2 ppm. (Fig. 23)

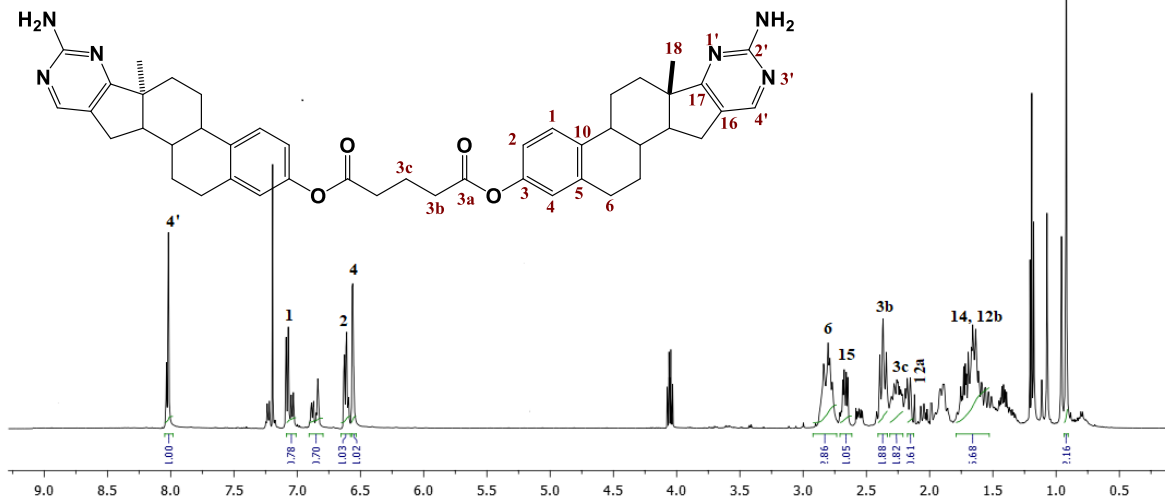


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 3

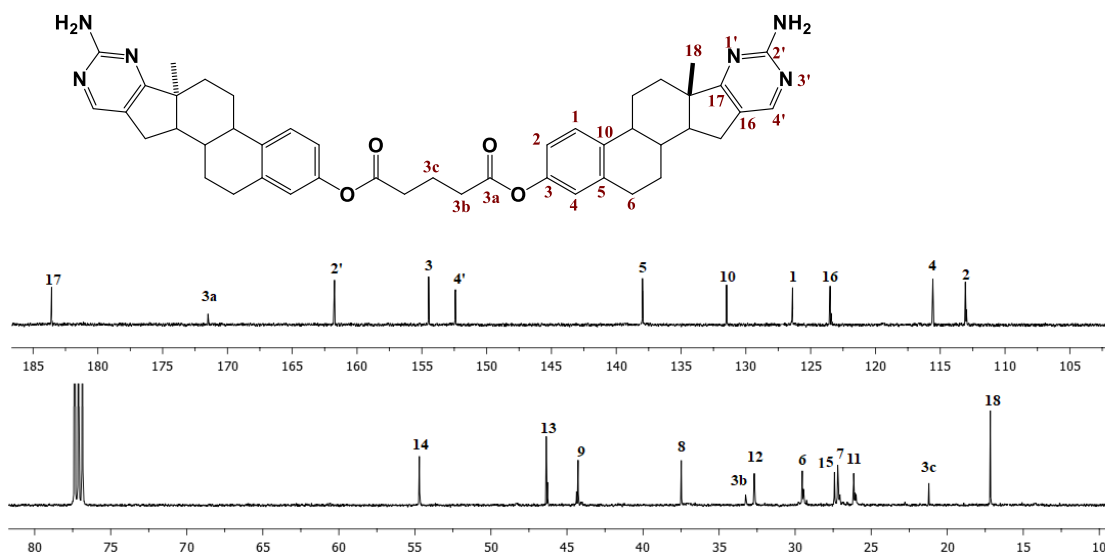
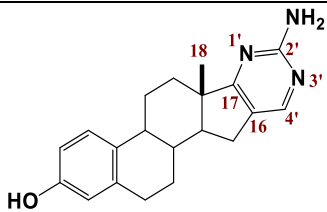
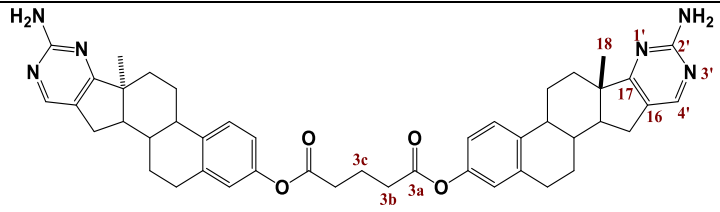


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **3**

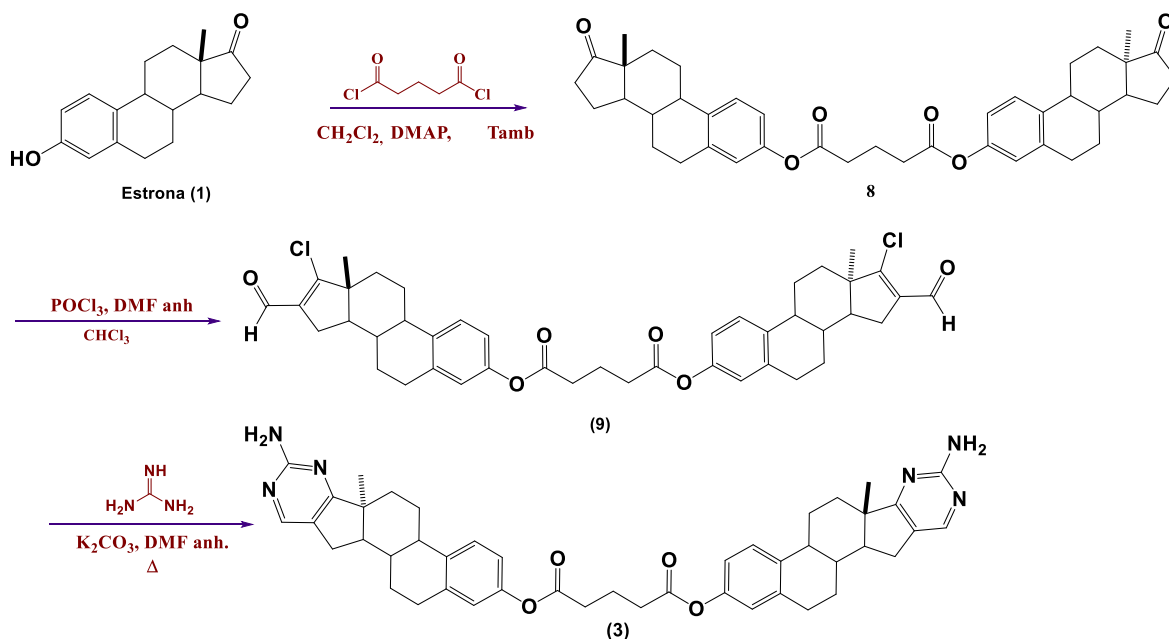
Tabla 4. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de **6** y **3**

				
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
16	---	123.2	---	123.4
17	---	183.4	---	183.6
2'	---	161.7	---	161.7
4'	8.0	152.4	8.0	152.5
3a	---	---	---	171.5
3b	---	---	2.3	37.0
3c	---	---	2.2	21.2

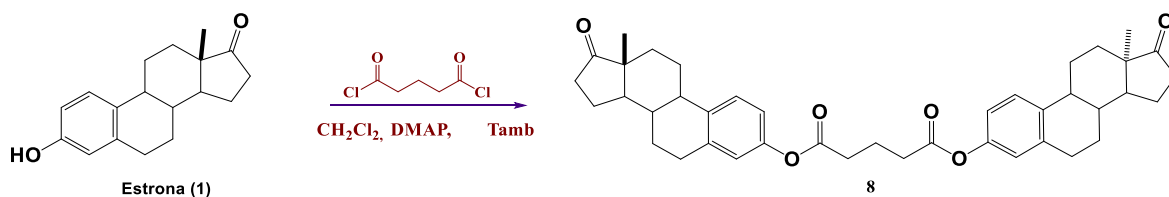
4.3 Síntesis del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (**3**) Ruta 2

Otra ruta de síntesis alternativa para obtener el dímero **3** fue iniciar con el dímero de la materia prima, por lo que se llevó a cabo la dimerización de la estrona, teniendo en cuenta que al sólo tener un grupo nucleófilo reacciona únicamente por el grupo $-\text{OH}$ de C-3, obteniendo un único

producto sólido blanco con un Rf más bajo, formando una molécula más polar, con un rendimiento de 95%.



4.3.1 Obtención de glutarato de bis[estra-1,3,5(10)- trien-17-oxo-3-ilo] (8)



4.3.1.1 Caracterización espectroscópica glutarato de bis[estra-1,3,5(10)- trien-17-oxo-3-ilo] (8)

El derivado glutarato (8) se obtuvo con un rendimiento del 95% y fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC).

En el espectro de IR se observa una banda de tensión en 1732 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo perteneciente a la cetona en C-17 de la estrona, en 1759 cm^{-1} una banda que corresponde a la vibración de tensión debida al carbonilo del éster. (Fig. 24)

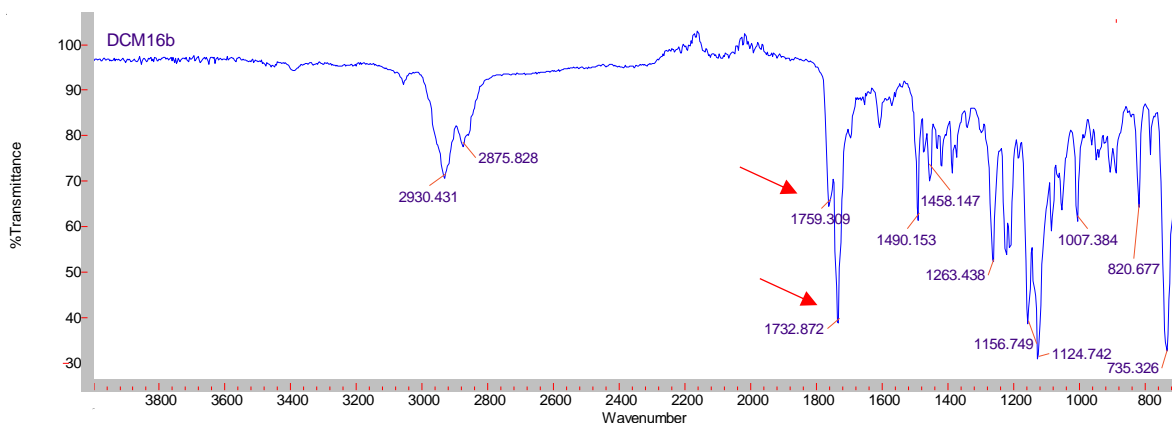


Figura 24 Espectro IR del compuesto **8**

En el espectro de RMN de ^1H de se puede observar que se mantienen las señales de los protones característicos de la estrona, se observan nuevas señales de los protones H-3c en 1.9 ppm y H-3b en 2.5 ppm, sin mostrar cambio significativo respecto a la materia prima.

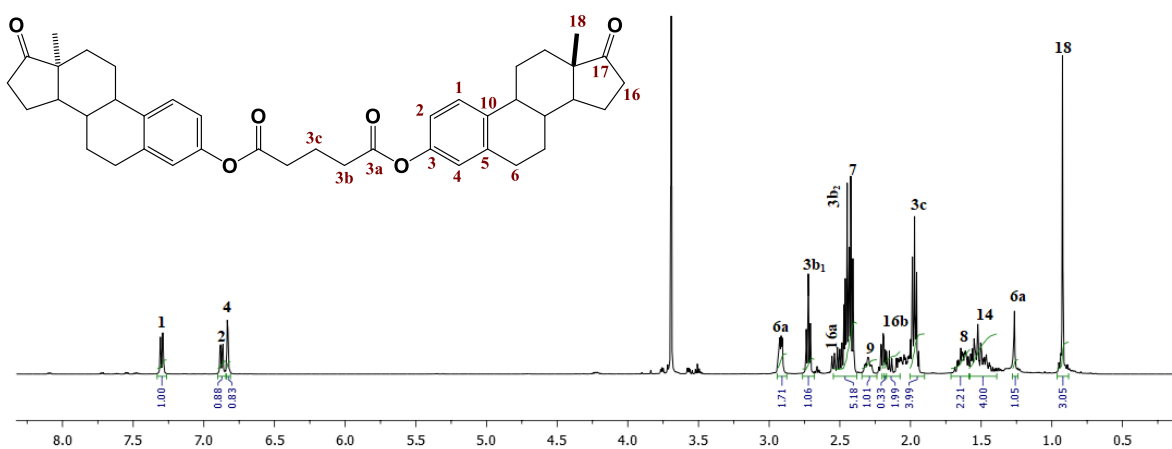


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **8**

En el espectro de ^{13}C se muestra la aparición de las señales pertenecientes al glutarato, apareciendo 3 nuevas señales, el C-3a perteneciente al carbonilo cual aparece a frecuencias altas en 171.9 ppm, mientras que el C-3b en 33.5 y el C-3c en 20.3 ppm, ubicándose en frecuencias más bajas.

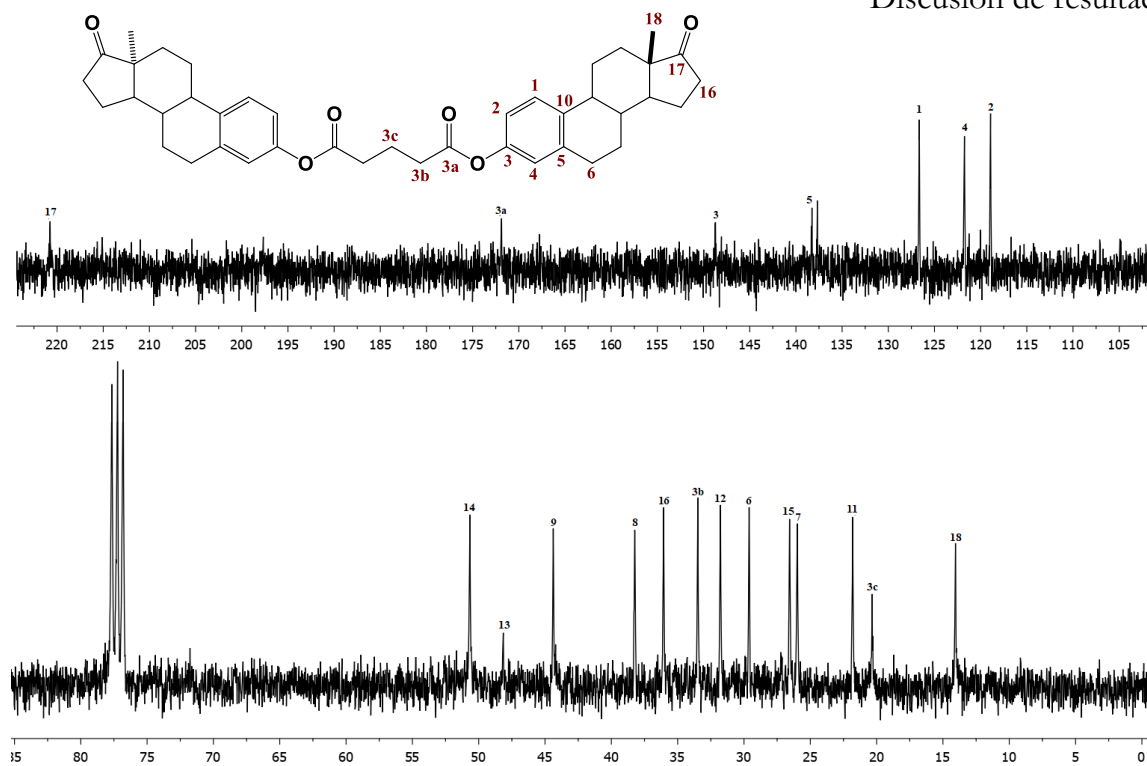
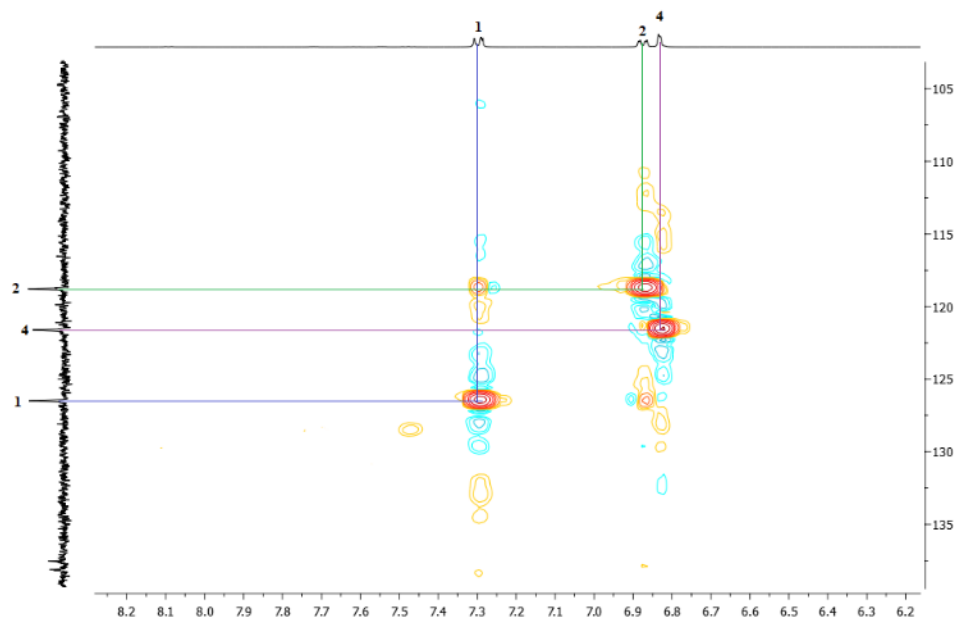


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **8**

En el espectro de HSQC se pudo identificar los carbonos de los protones de 1, 2, 3b,3c, 4, 18, 6 y además la correlación entre los C-3b y C-3c con sus respectivos protones, evidenciando que C-3a no tiene protón ya que es un carbono cuaternario. Confirmando la formación del dímero esterooidal.



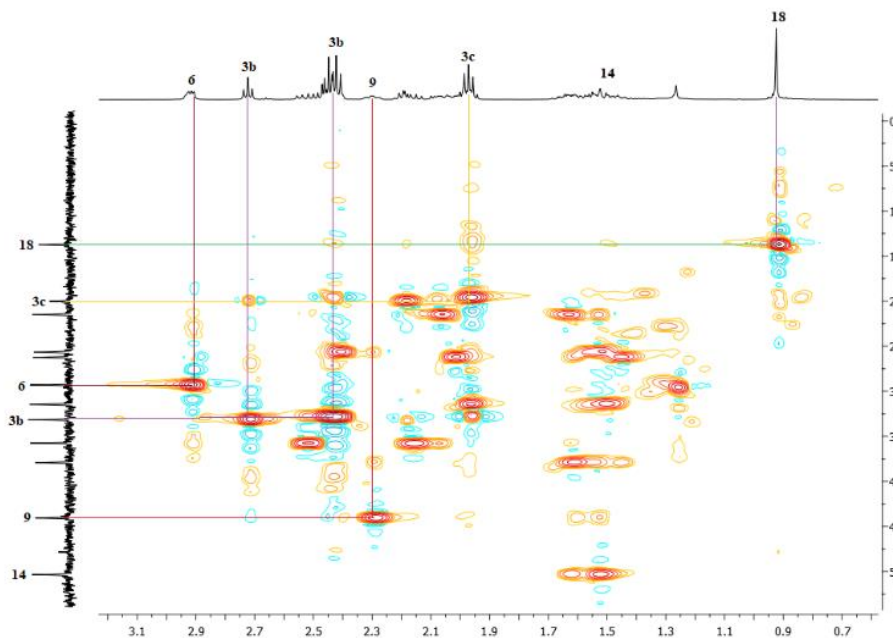


Figura 27. Espectro de RMN de HSQC del compuesto 8

En el experimento HMBC sirvió para apoyar la asignación de varios carbonos.

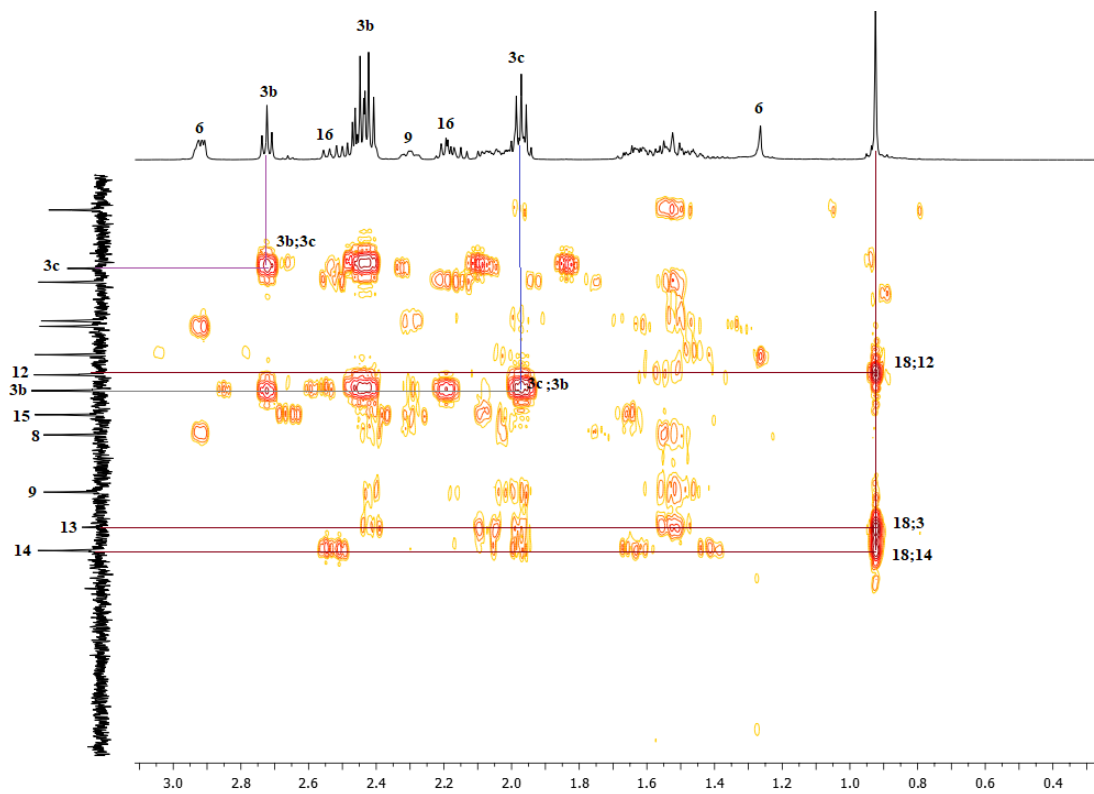
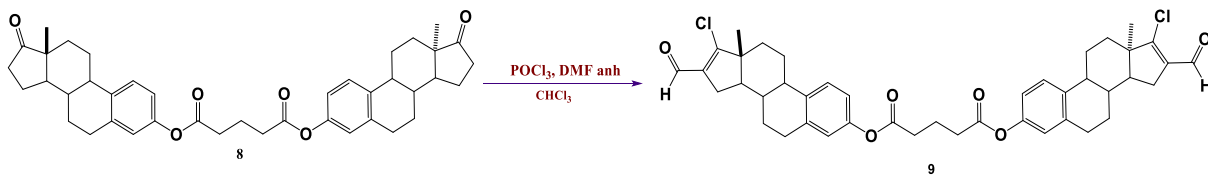


Figura 28. Correlaciones entre protones 3b, 3c, y 18 por HMBC del compuesto 8

4.3.2 Obtención de glutarato de bis[17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ilo] (9)



En seguida se procedió a reaccionar **8** en condiciones Vilsmeier-Haack, con POCl_3 / DMF , teóricamente puede proponerse la formación de 3 estructuras, debido a que el reactivo de V-H puede formar 2 dímeros simétricos (a) con cloro en C-17 y (b) con aldehído en C-16 y cloro en C-17, y 2 asimétricos. Sin embargo, en la práctica se formaron únicamente 3 productos y materia prima sin reaccionar, 2 en muy bajo rendimiento en menos del 10% que no pudieron purificarse debido a su R_f muy similar, y el de mejor rendimientos el dímero que forma el derivado del carbonilo- α,β -insaturado- β -clorado en ambos lados, el de mayor interés para formar el dímero heteroesteroideal.

4.3.2.1 Caracterización espectroscópica glutarato de bis[17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ilo] (9)

El derivado **9** se obtuvo con un rendimiento del 57.4% y fue caracterizado por espectroscopia IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC).

En el espectro de IR se observa una banda de tensión en 2857 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo perteneciente al aldehído unido al C-16, en 1660 cm^{-1} se observa una banda ancha que corresponde a la vibración de tensión debida al carbonilo del éster. (Fig.29)

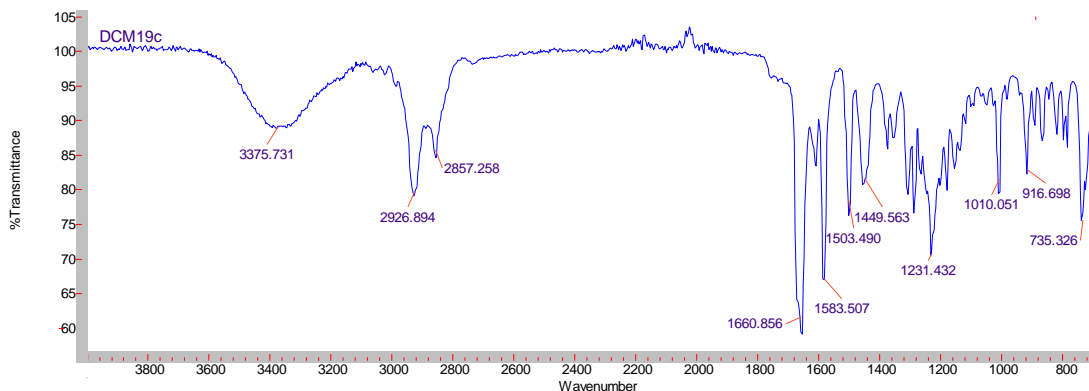


Figura 29. Espectro de IR del compuesto **9**

En el espectro de RMN de ^1H se logra apreciar una señal en 9.9 ppm perteneciente al H del aldehído formado, debido a que se trata de un dímero simétrico, únicamente se aprecia una señal, los protones del *linker* se mantienen, y ya no se observa las señales de los protones pertenecientes al C-16, ya que el ataque correspondiente ocurrió aquí y por lo tanto C-16 es ahora un carbono cuaternario.

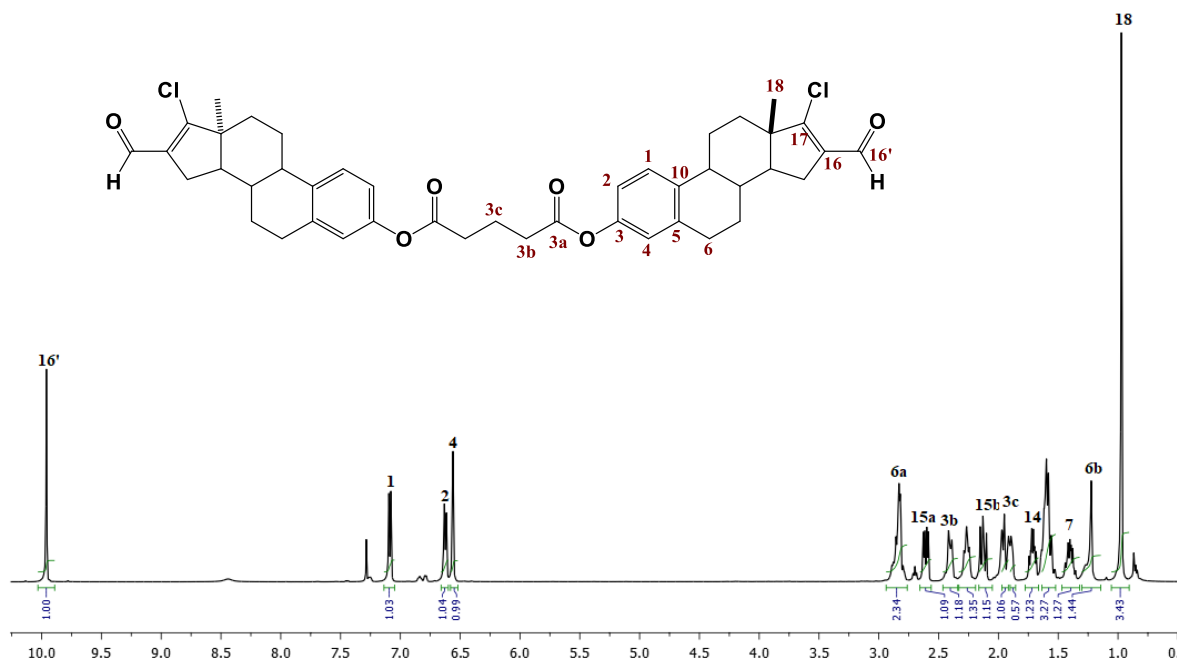


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **9**

En el espectro de ^{13}C se muestra la aparición de las señales pertenecientes los carbonos del glutarato que une a los monómeros, sin embargo C-17, que antes se apreciaba en 220 ppm, ahora se ve en 163.6 ppm, debido a que se encuentra unido a un halógeno y un doble enlace, además una nueva señal de carbonilo en 188.7 ppm, perteneciente al carbono del carbonilo presente sobre C-16 y que se desplaza a frecuencias altas, comparándolo con la materia prima se puede ver que pasa de una hibridación sp^3 y se observaba en 36.1 ppm ahora presenta una hibridación sp^2 desplazándose a 136.3 ppm, las demás señales no presentan cambios significativos.

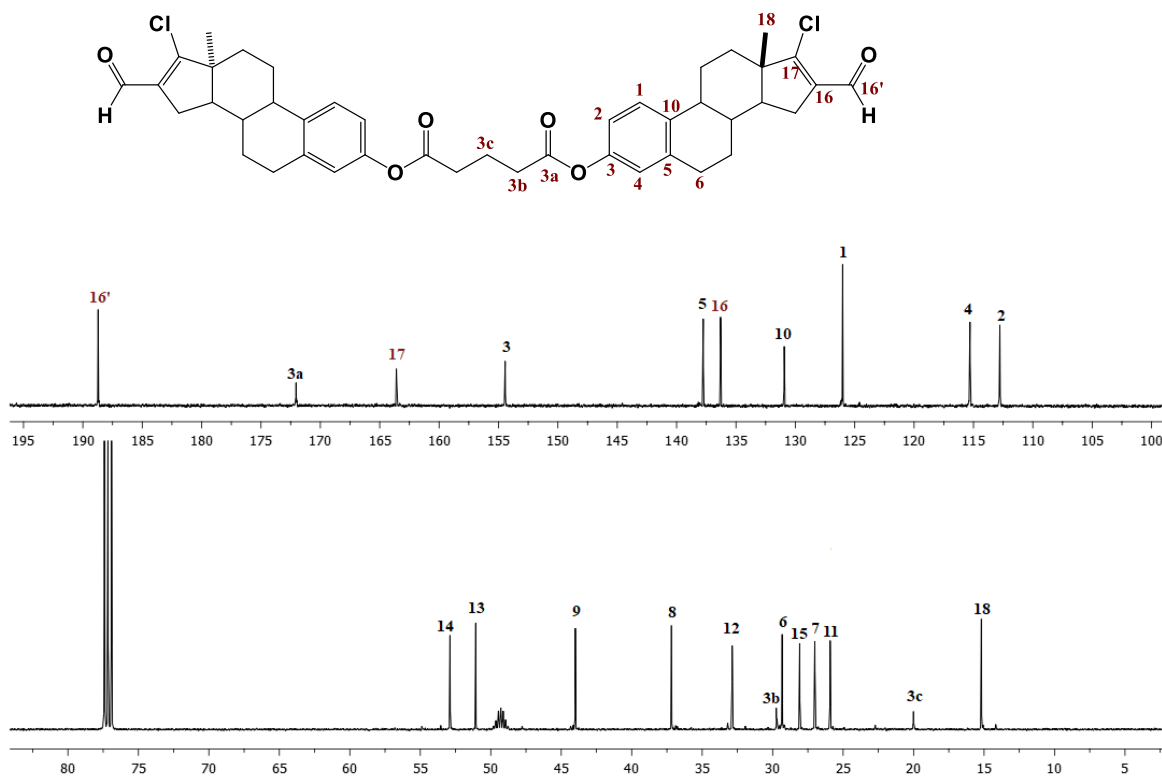


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 9

Tabla 5. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de 8 y 9

	8		9	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
16	2.1 - 2.5	36.1	---	136.3
16'	---	---	9.9	188.7
17	---	220.0	---	163.6
18	1.0	14	1.0	15.1
3a	---	171.9	---	172.0
3b	2.5 - 2.7	33.5	2.4	29.7
3c	1.9	20.3	1.9	19.9

En el espectro de HSQC se pudo identificar las señales de los protones 1, 2, 4 y además la correlación entre los C-3b y C-3c con sus respectivos protones.

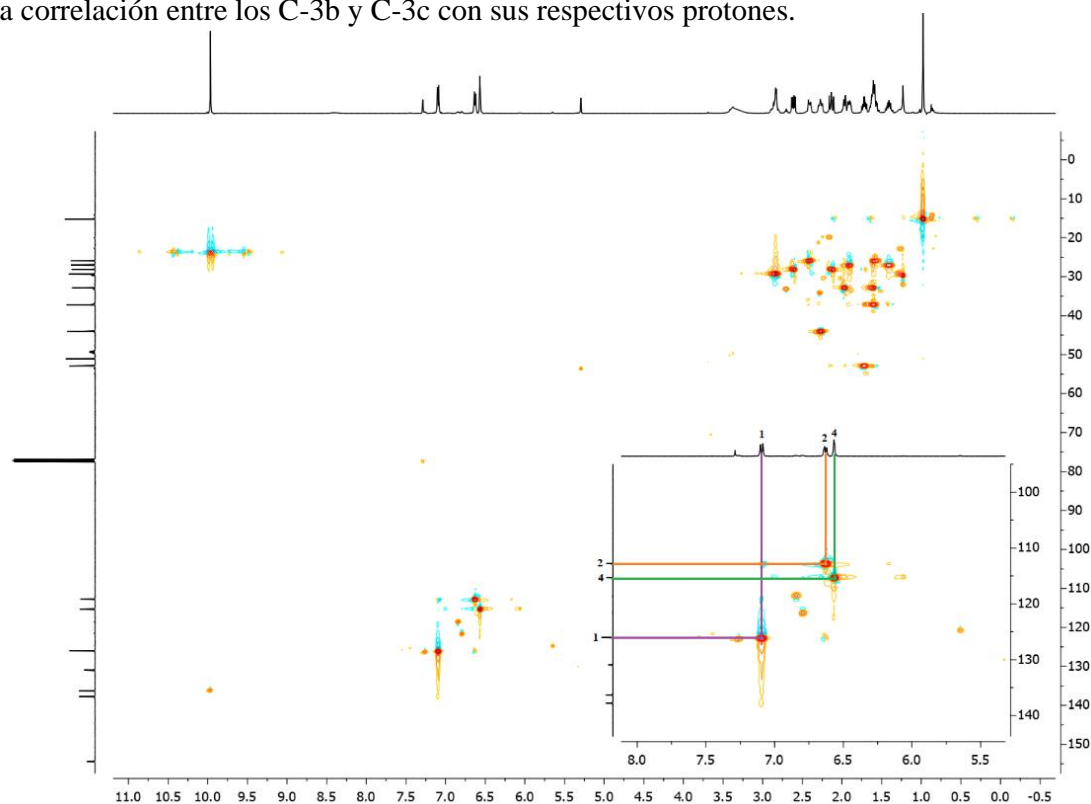
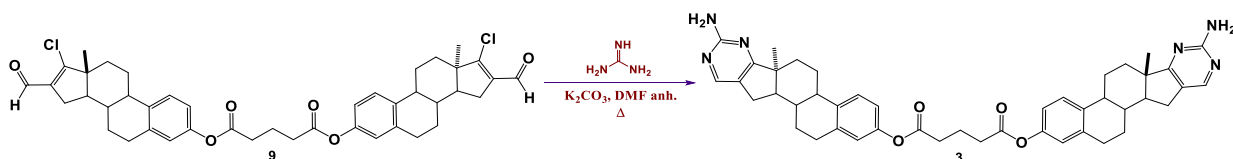


Figura 32. Espectro de RMN de HSQC del compuesto 9

4.3.3 Obtención de glutarato de bis[estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'-aminopirimidin-3-ilo] (3)

Tras llevar a cabo el último paso de la ruta 2, se obtuvieron dos compuestos, uno en bajo rendimiento y el dímero de interés **3**. Los espectros de RMN obtenidos se compararon con los de la ruta 1, así como los rendimientos, obteniéndose mejor resultado en la ruta 2.



Rendimiento	
Ruta 1	Ruta 2
10%	30%

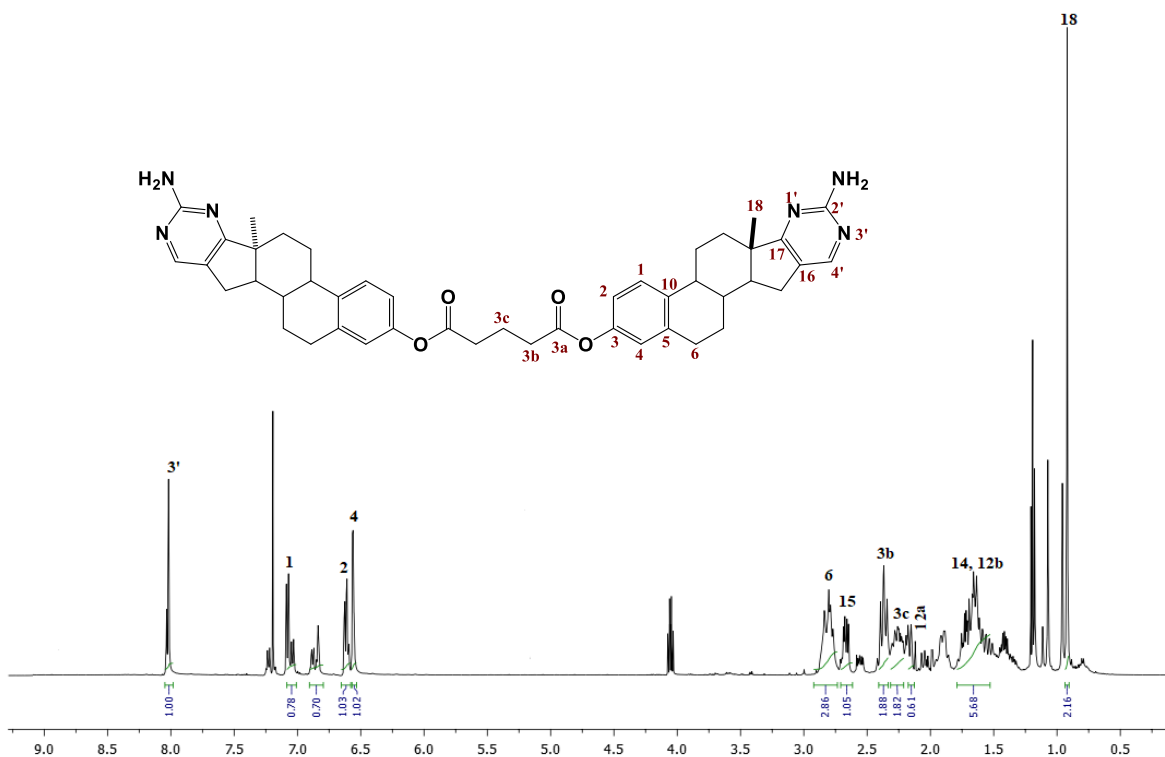


Figura 34. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **3** a partir de la ruta 2

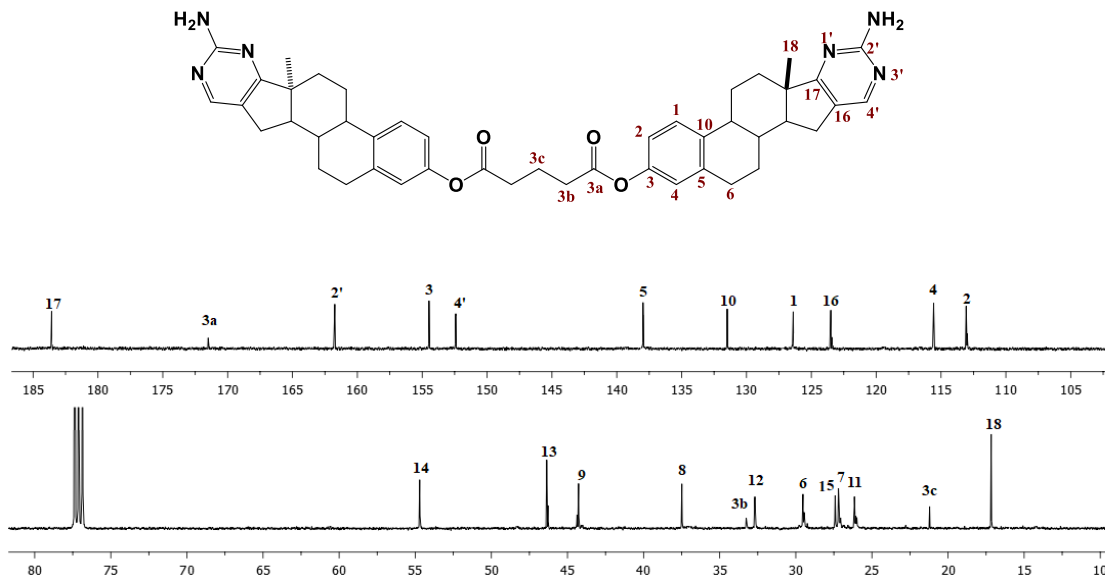
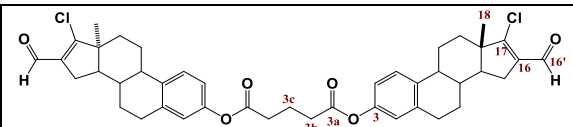
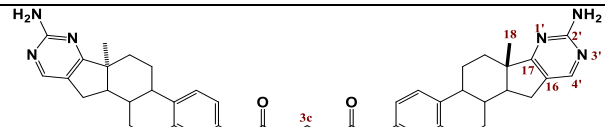
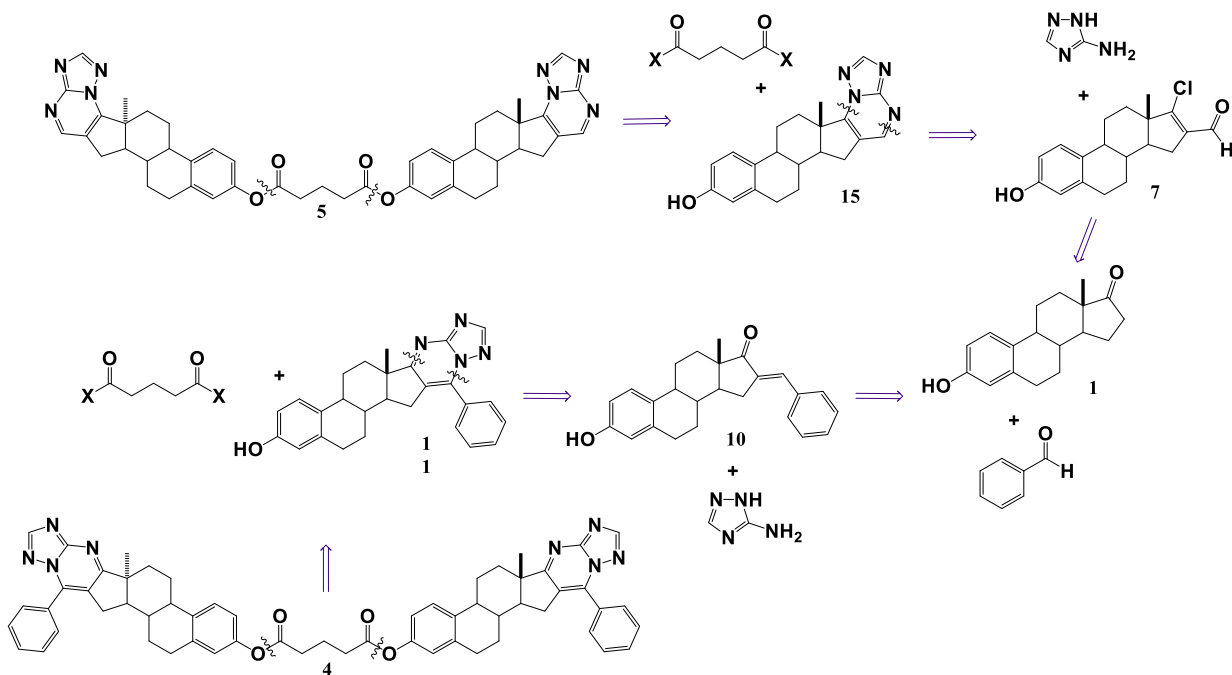


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **3** a partir de la ruta 2

Tabla 6. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de **9** y **3**

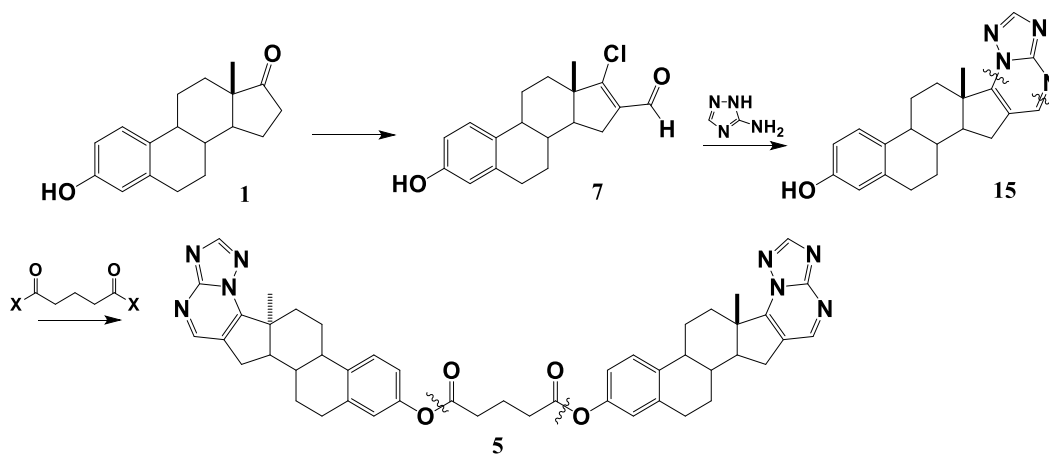
	 9		 3	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
16	---	136.3	---	123.4
16'	9.9	188.7	---	---
17	---	163.6	---	183.6
3a	---	172.0	---	171.5
3b	2.4	29.7	2.3	37.0
3c	1.9	19.9	2.2	21.2

4.4 Análisis retrosintético del glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3) y glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)



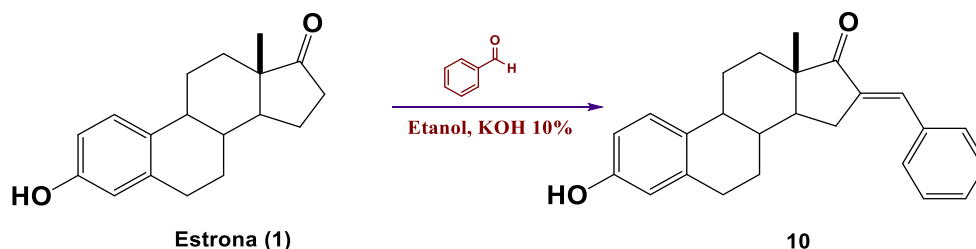
Esquema 3. Esquema retrosintético para generar el dímero heteroesteroidales 4 y 5

4.5 Síntesis de glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)

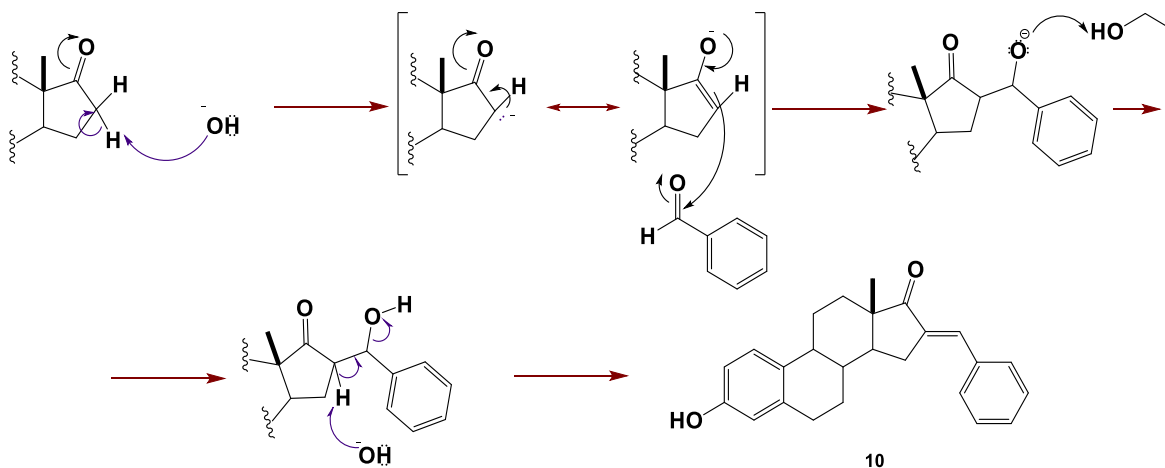


4.5.1 Obtención del (*E*)-16-benzilideno-3 β -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (10)

La obtención del carbono α,β -insaturado se obtuvo a partir de una condensación de Claisen-Schmidt, utilizando un aldehído aromático con una cetona. El rendimiento obtenido fue de un 95%, lo restante fue materia prima.



El mecanismo de reacción propuesto es el siguiente, base extrae un protón α al carbonilo de la estrona para formar el enolato, el cual actúa como nucleófilo atacando al carbonilo del benzaldehído, haciendo que el par electrónico del doble enlace se desplace al oxígeno, formando un alcóxido, posteriormente, este alcóxido se extrae el proton del etanol del medio, finalmente, la base toma el protón α al carbonilo que al entrar hacia el carbono desplaza el hidroxilo para formar el doble enlace formando el carbono α,β -insaturado.



Esquema 8. Mecanismo de reacción para la formación de 10.

4.5.1.1 Caracterización espectroscópica de (E)-16-Benzilideno-3β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (10)

El compuesto obtenido **10** se identificó por las señales de los espectros de ^1H y ^{13}C en comparación con los ya reportados en la literatura.⁴⁷ En el espectro de RMN de ^1H se pueden ver los protones del nuevo anillo aromático en la molécula en 7.4 ppm, para H-3', H-4', H-5' esto debido a que el anillo es simétrico y en 7.6 ppm para los correspondientes a H-6' y H-2'.

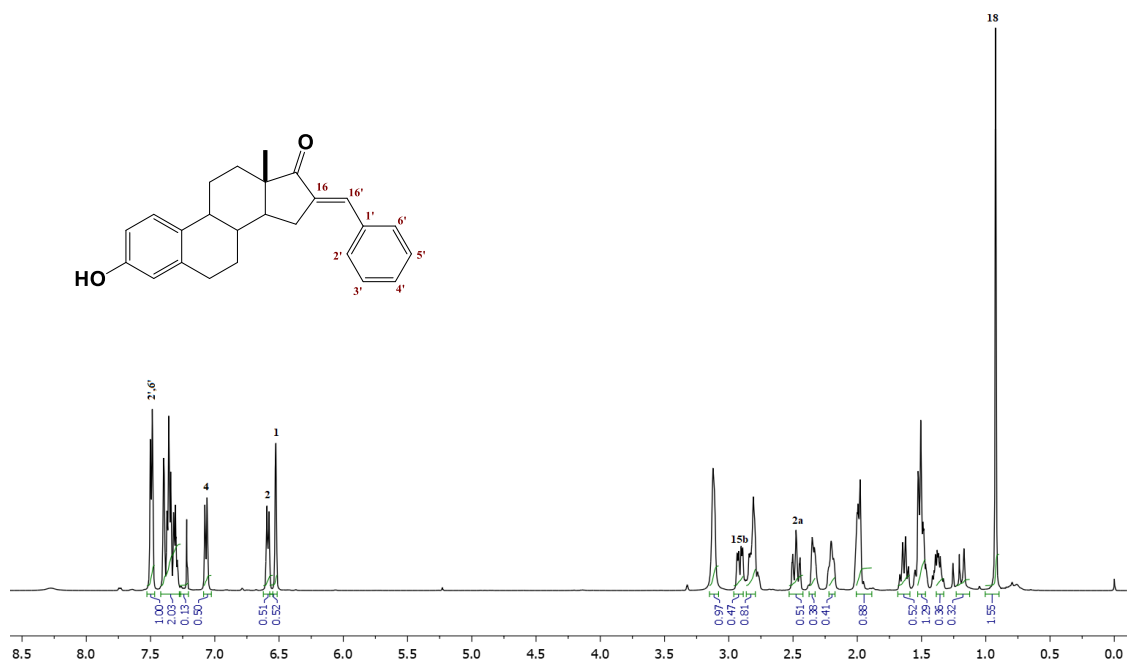


Figura 36. Espectro RMN de ^{13}C del compuesto **10**

En el espectro de carbono se aprecian las señales para C-16' y C-16 vinílicos en 133.5 ppm y 137.4 ppm, C-17 en 210.8 ppm, carbonos que forman el sistema de carbonilo α,β -insaturado, así como los carbonos que forman parte del nuevo anillo aromático en 128.4 ppm para C-3' y C-5' a 129.2 ppm C-4', y en 130.1 ppm C-2' y C-6'.

⁴⁷ Arenas González A.V.; Síntesis de derivados esteroidales con heteroátomos de N, O y Se con actividad antiproliferativa, (Tesis de Doctorado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México Puebla, pp.131

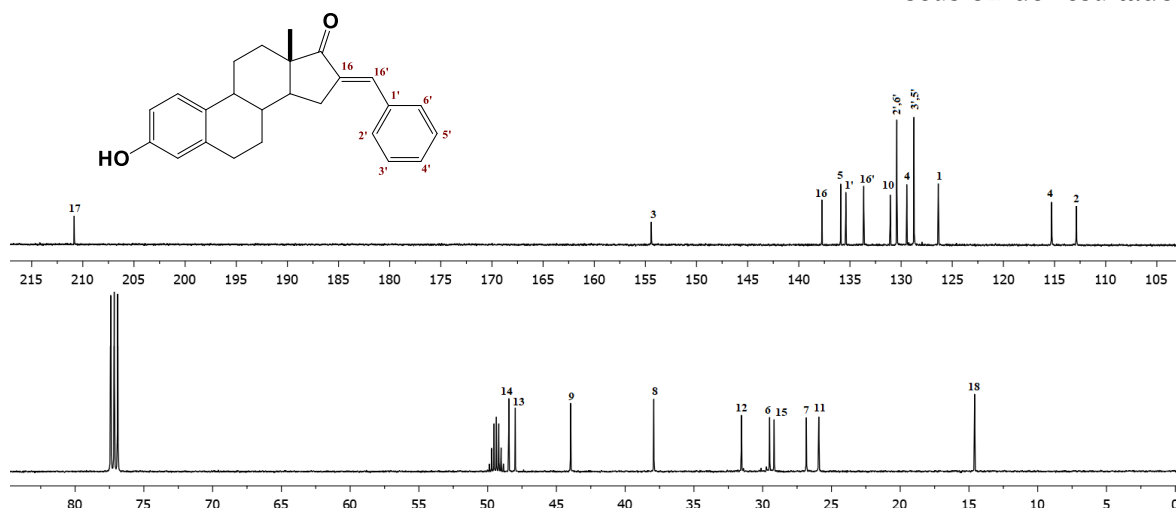
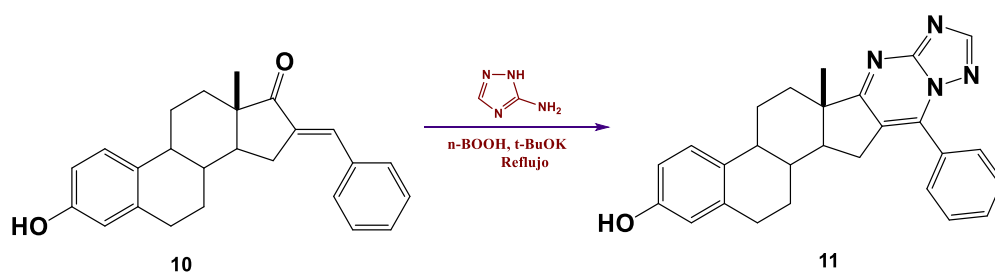


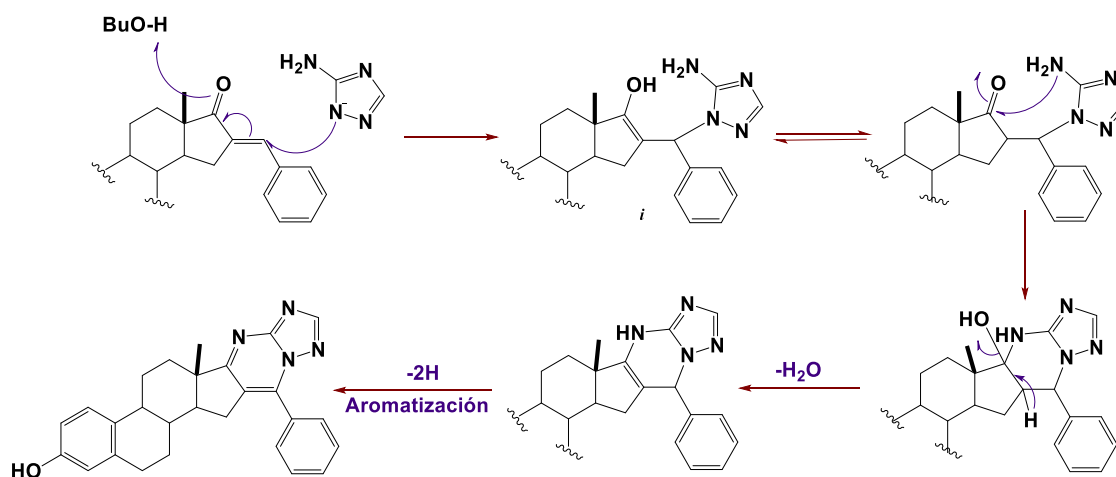
Figura 37. Espectro de RMN para ^{13}C de **10**

4.5.2 Obtención de 3-hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (**11**)

A partir del compuesto **10** se obtiene el compuesto **11** en condiciones básicas, debido a que es un compuesto muy polar fue un poco complicado llevar a cabo la separación por columna, por lo que se propuso probar con diferentes sistemas de disolventes y finalmente purificar por placa preparativa, obteniendo un 80% de rendimiento y materia prima sin reaccionar.



El mecanismo de reacción ha sido propuesto por B. Yu y su equipo de trabajo³⁴, el cual se muestra a continuación: en condiciones básicas el 3-amino-1,2,4-triazolo existe como su anión, y ataca al carbono β del carbonilo- α,β -insaturado por una adición de Aza-Michael para dar el primer intermediario *i*, posteriormente el grupo amino ataca al carbono de la cetona para formar un primer heterociclo, y por una ciclación intramolecular se libera agua en el medio, formándose la dihidrotriazolopirimidina, seguido de una aromatización.



Esquema 9. Mecanismo de reacción para la formación de **11**.

4.5.2.1 Caracterización espectroscópica 3-hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d] triazolo[1,5-a]pirimidina (**11**)

El compuesto obtenido **11** se identificó por las señales de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C en comparación con los ya reportados en la literatura.⁴⁷ Se logra apreciar el cambio de la materia prima hacia la formación del ciclo, con la aparición de los carbonos y protones pertenecientes al mismo, para RMN de ^1H , se ve la nueva señal de H-2' del heterociclo. Mientras que para ^{13}C las señales de C-3a', C-2', en 155.4 ppm y 154.0 ppm respectivamente, mientras que 7' al cambiar su hibridación pasó a frecuencias más altas, anteriormente se encontraba en 133.5 ppm y tras la formación del ciclo se desplazó a 142.9 ppm.

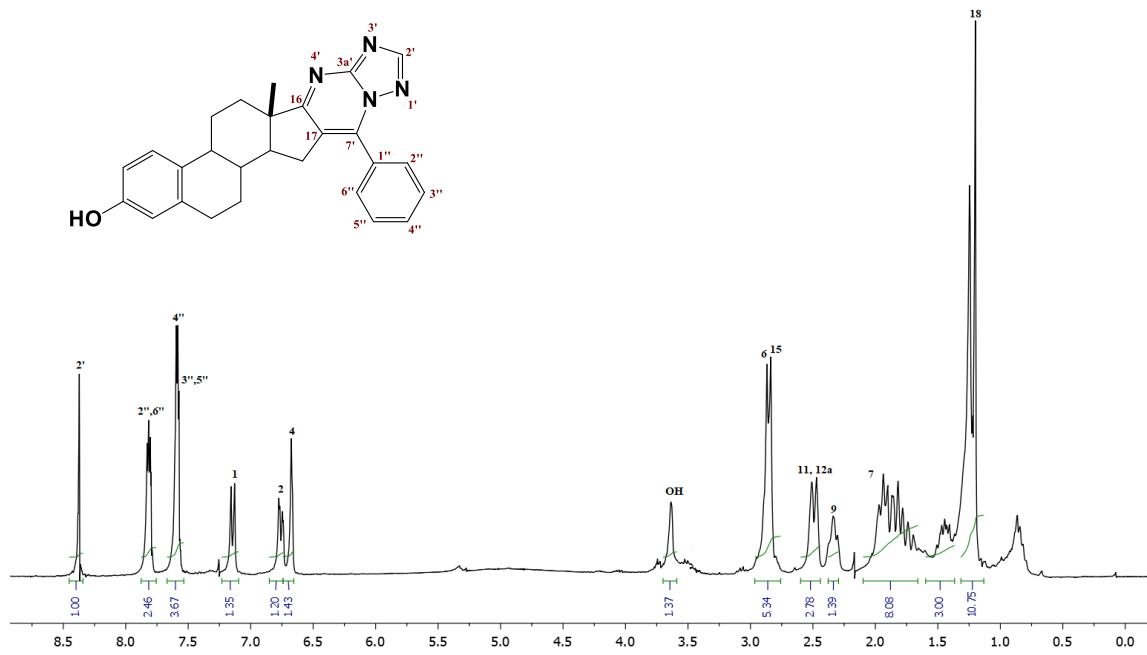


Figura 38. Espectro de RMN para ^1H de 11

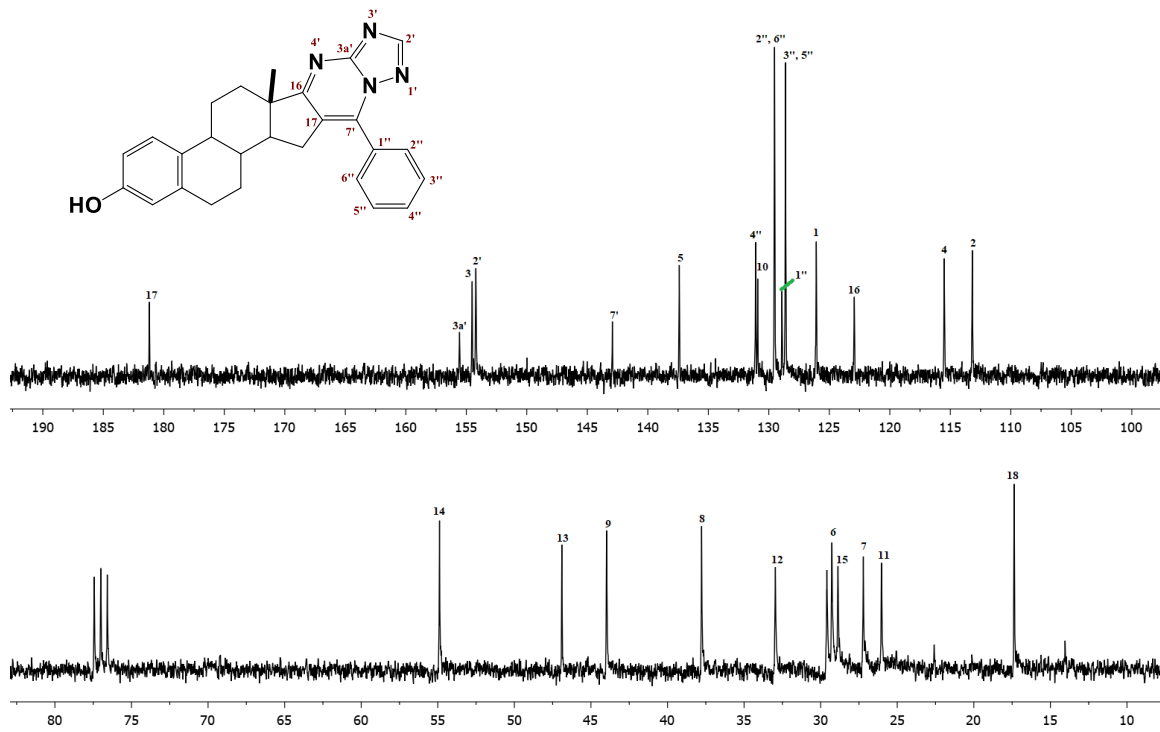


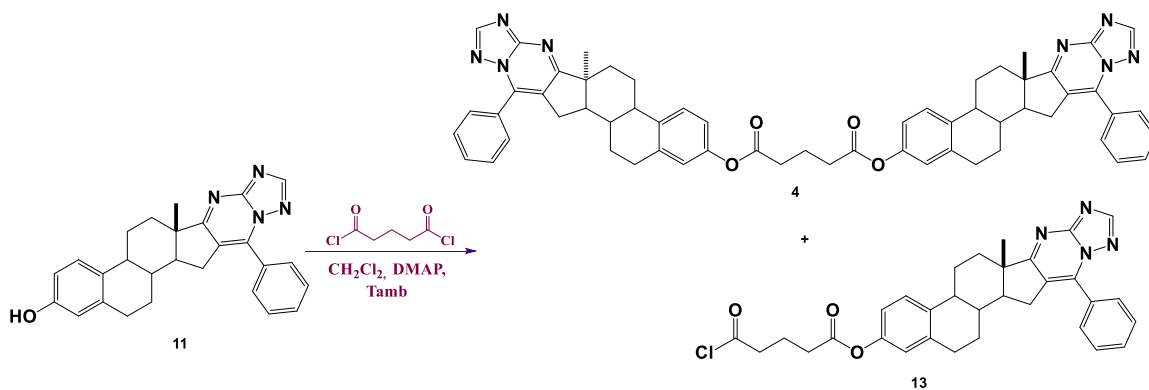
Figura 39. Espectro de RMN para ^{13}C de 11

Tabla 7. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de 10 y 11

	10		11	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
3	---	154.3	---	154.5
16	---	137.4	---	123.0
16'		133.5	----	142.9
17	----	210.8	----	181.2
18	1.0	14.3	1.1	17.2

4.5.3 Obtención de glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)

La formación del nuevo dímero esteroidal se lleva a cabo bajo las condiciones antes ya mencionadas aplicadas ahora en **11** sin embargo en esta reacción de dimerización, a diferencia de las anteriores, se pudo observar no sólo la formación del dímero, si no que a su vez se aísla otro compuesto donde el monómero solo reaccionó por un solo lado de cloruro de glutaloilo **13**, obteniendo rendimientos similares de ambos, además de un 40% de materia prima sin reaccionar. Debido a que los R_f eran muy cercanos, se realizaron pruebas en diferentes sistemas con alta polaridad para lograr separarlas adecuadamente, por lo que se llevó a cabo la purificación por placa preparativa.



4.5.3.1 Caracterización espectroscópica del glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)

El dímero **4** fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC).

En el espectro de IR se observa en 1756 cm^{-1} una banda que corresponde a la vibración de tensión debida al carbonilo del éster. En 1527 cm^{-1} aparece una banda tensión para el doble enlace carbono-carbono. También se observa una banda en 1273 cm^{-1} al enlace C—N cíclico.

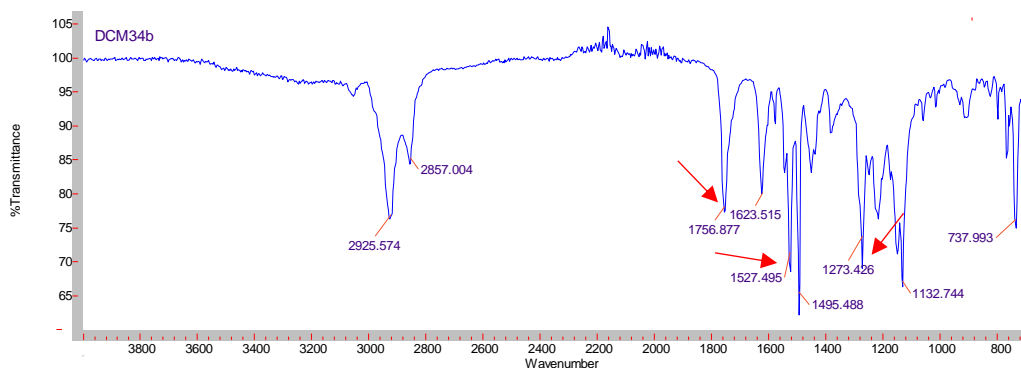


Figura 40. Espectro de IR del compuesto **4**

Se observa en el espectro de ^1H las nuevas señales para H-3b en 2.7 ppm y para H-3c en 2.2 ppm del *linker*, manteniéndose las señales características del heteroesteroide.

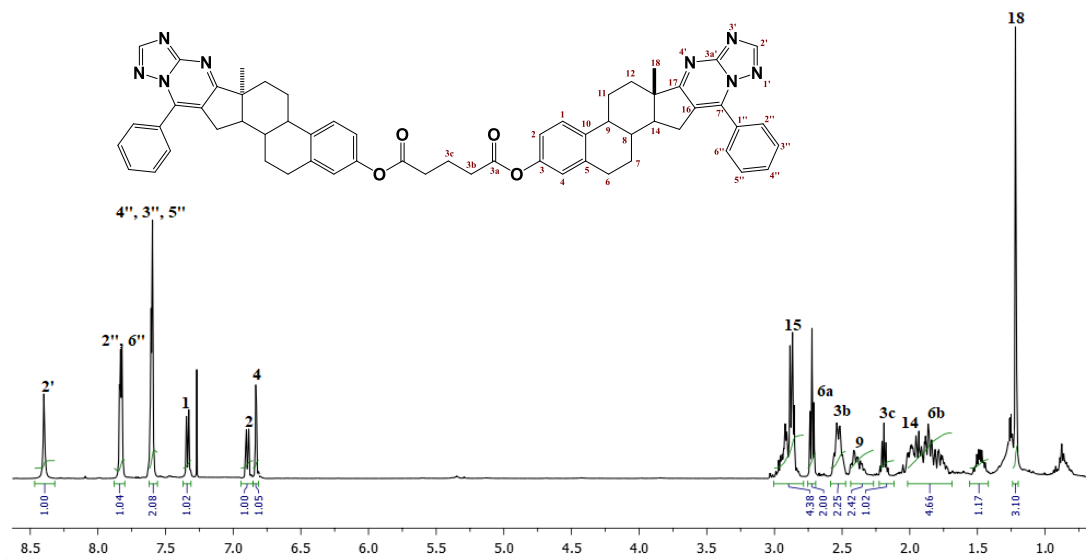


Figura 41. Espectro de RMN para ^1H de **4**

Para el espectro de ^{13}C se pueden notar los cambios significativos de las señales para C-3a, C-3b y C-3c correspondientes a los carbonos que unen a las partes monoméricas, éstas se encuentran en 171.5 ppm, 33.2 ppm, y 20.0 ppm respectivamente, mientras que las demás señales se mantuvieron sin un cambio significativo.

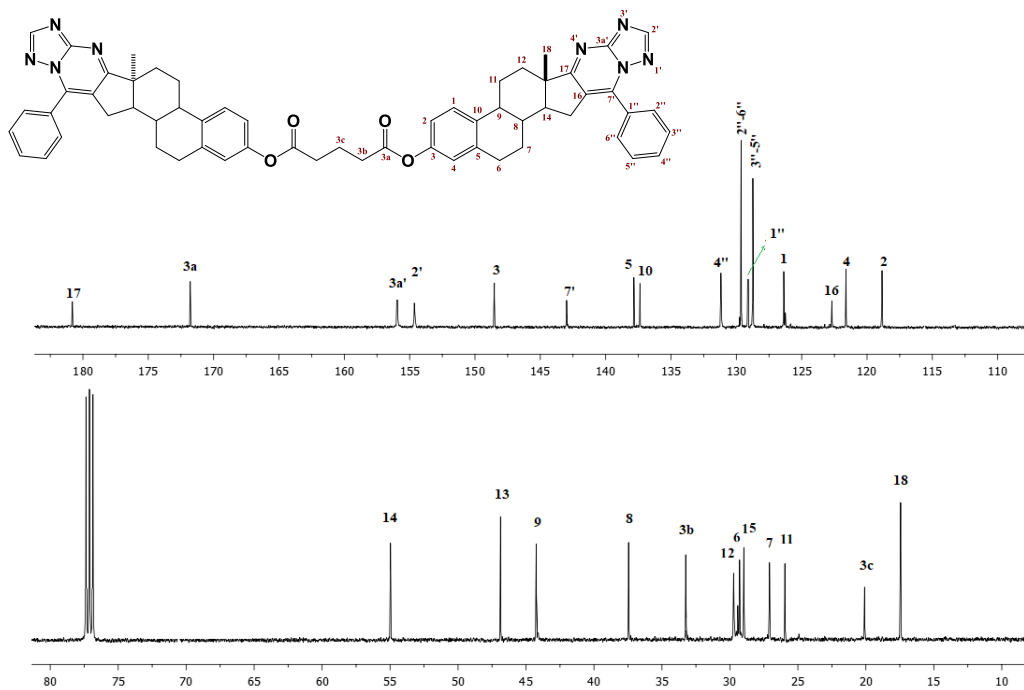


Figura 42. Espectro de RMN para ^{13}C de **4**

Con el experimento HSQC, se puede mostrar algunas de las correlaciones entre los protones y carbonos de altas frecuencias donde se encuentran los carbonos aromáticos y de 2', pertenecientes al heterociclo.

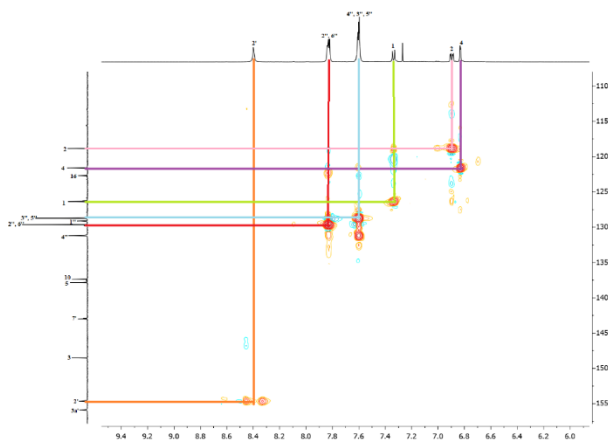


Figura 43. Espectro de RMN-500 de HSQC del compuesto **4**

En el experimento HMBC de **4** corrobora las asignaciones ya que podemos observar los protones que se correlacionan con los diferentes carbonos.

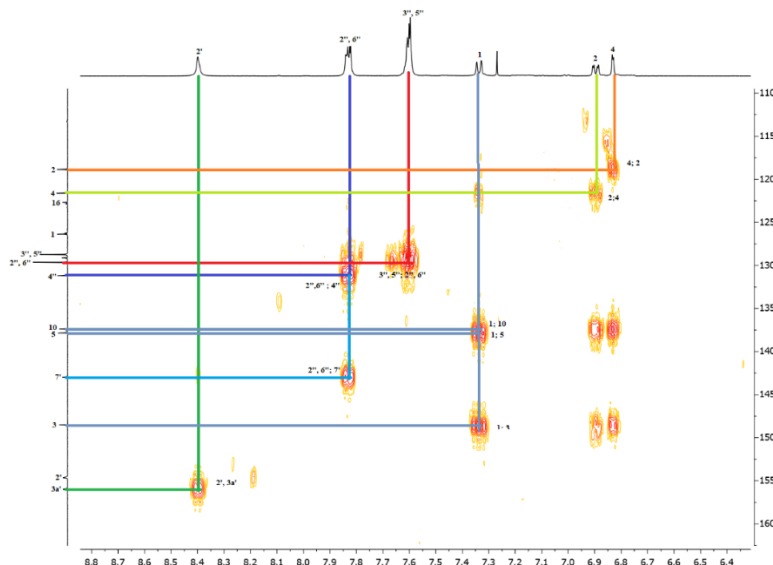


Figura 44. Espectro de RMN de HMBC del compuesto **4**

4.5.3.2 Caracterización espectroscópica de 5-cloro-5-oxopentanoato-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (**13**)

El derivado monomérico (**13**) fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC). En el espectro de IR se observa en 1740 cm^{-1} una banda que corresponde a la vibración de tensión debida al carbonilo del éster. En 1527 cm^{-1} aparece una banda tensión para el doble

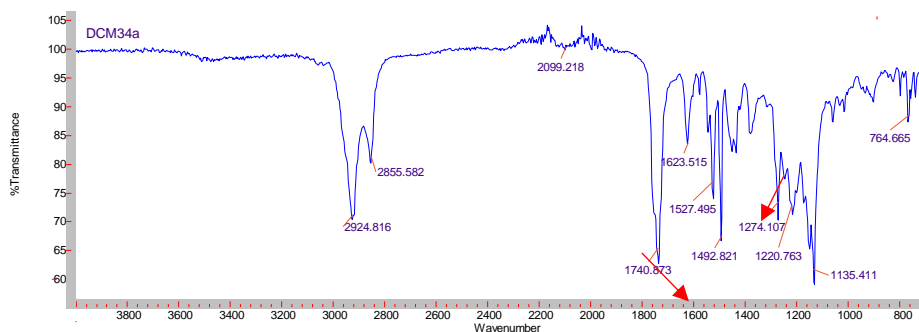


Figura 45. Espectro de IR del compuesto **13**

enlace carbono-carbono, una banda en 1220 cm^{-1} característica del enlace C - N, así como una banda alta en 764 cm^{-1} perteneciente al cloro.

Ya que se formó únicamente la unión del cloruro de glutaloilo con una sola molécula de **11**, en el espectro de ^1H se observan los protones correspondientes a H-3b, H-3d, H-3c, siendo 2.6, 2.5 y 2.0 ppm respectivamente, el resto de las señales quedan sin cambio significativo respecto a la materia prima

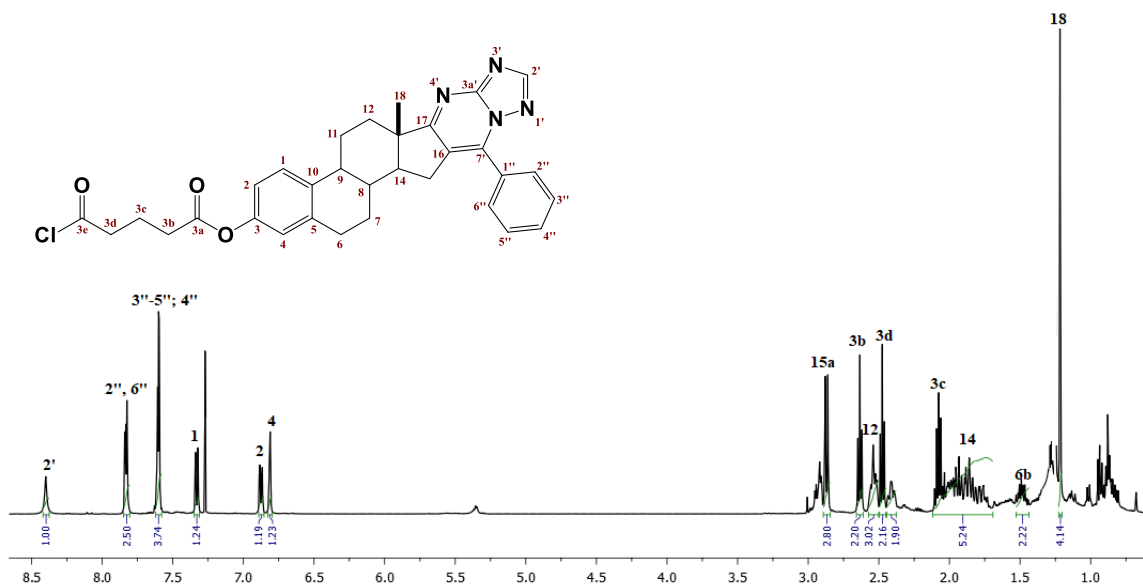


Figura 47. Espectro de RMN para ^1H de **13**

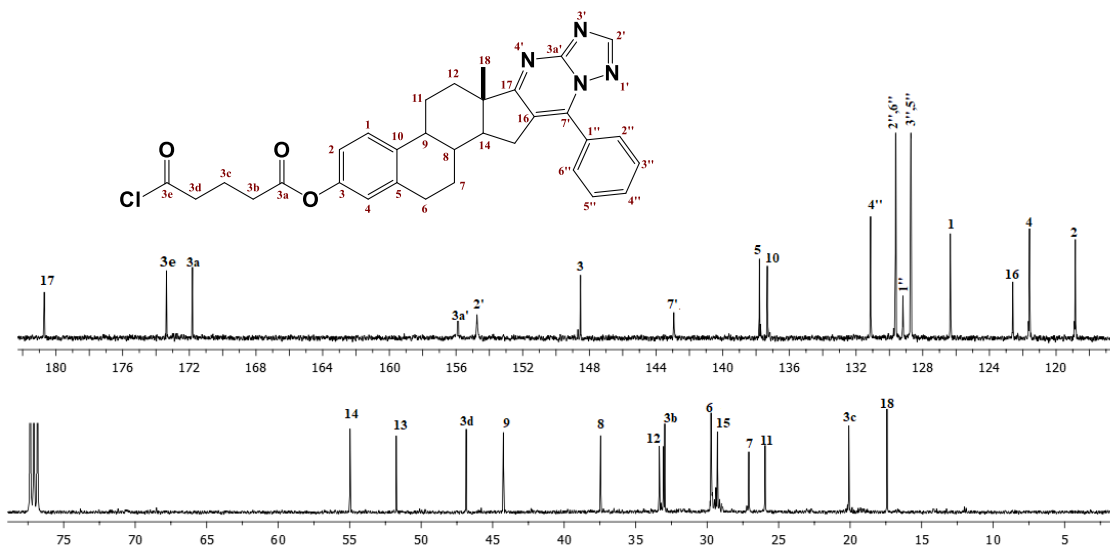


Figura 46. Espectro de RMN para ^{13}C de **13**

En cuanto al espectro de ^{13}C , se muestran las nuevas señales de carbono C-3e, C-3a, C-3b, C-3c, C-3d con desplazamientos de 173.3 ppm, 171.21 ppm, 33.0 ppm, 20.1 ppm y 44.2 ppm

respectivamente, haciendo notar que C-3e y C-3a son carbonos pertenecientes a un grupo haluro de ácido y éster por lo que se encuentra a mayores frecuencias, el resto de las señales no presentan cambio significativo respecto a la materia prima.

Tabla 8. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de **11**, **13** y **4**

	11		13		4	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
2'		154.0		154.7	8.4	154.6
3a'	---	155.4	---	155.8	---	155.8
7'		142.9	---	142.9	---	142.9
16		123.0	---	122.6	---	122.6
17		181.2	---	180.7	---	180.8
3a	---	---	---	171.8	---	171.7
3b	---	---	2.6	33.0	2.7	33.2
3c	---	---	2.0	20.1	2.2	20.0
3d	---	---		44.2	---	---
3e	---	---	---	173.3		---

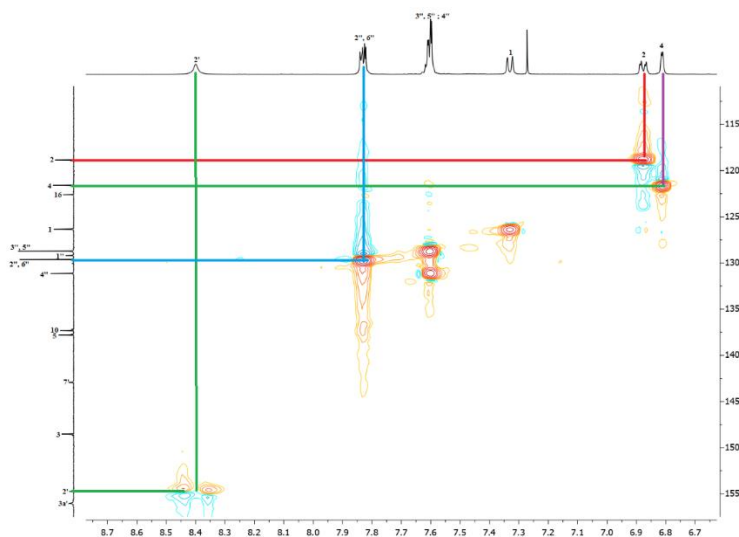


Figura 47. Espectro de RMN de HSQC del compuesto **13**

En el experimento HMBC para **13**, se puede apreciar claramente la correlación entre los protones del *linker*. H-3b con el carbono C-3a y los H-3c con los carbonos 3a y 3e, mientras que H-3d con el carbono C-3e.

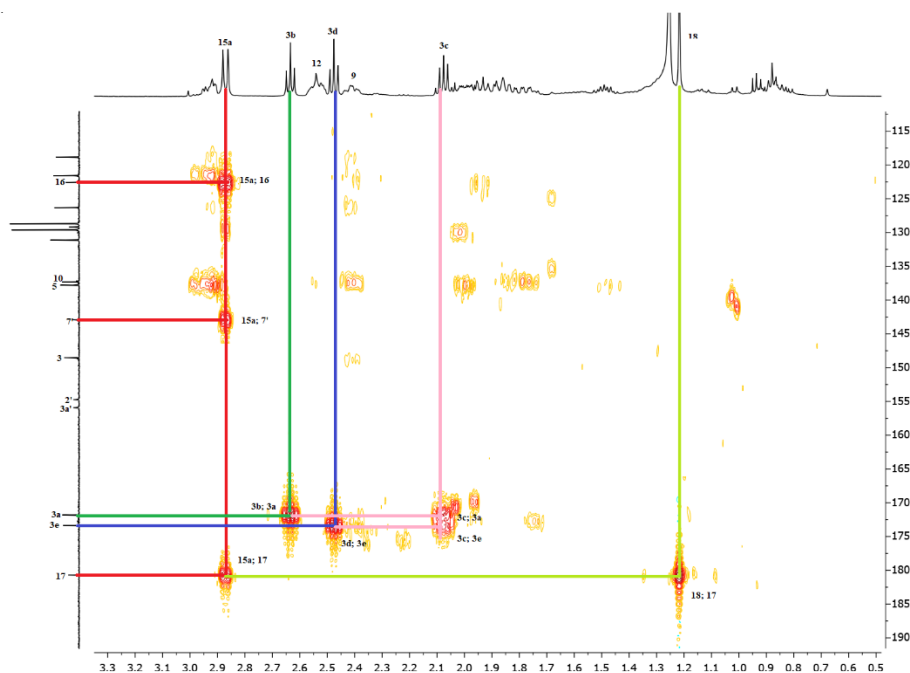
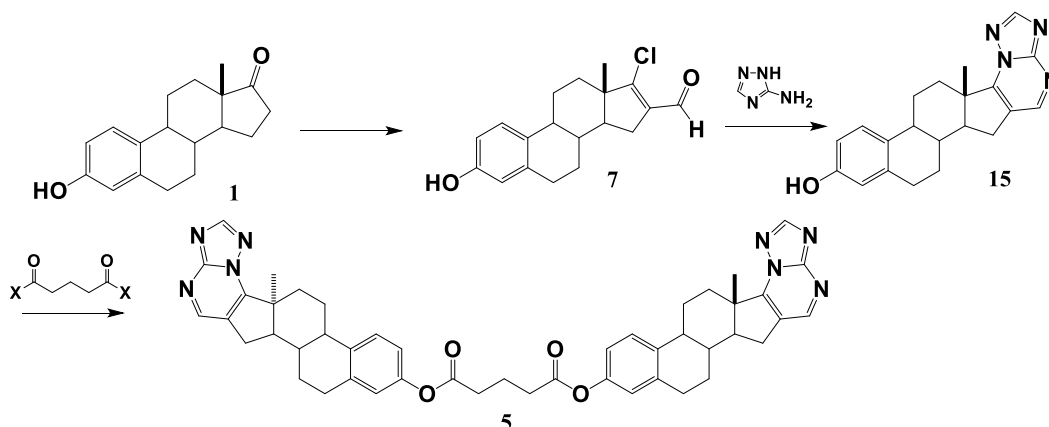


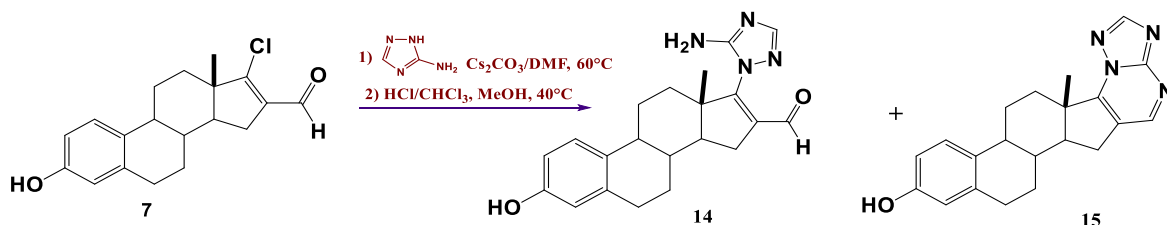
Figura 48. Espectro de RMN de HMBC del compuesto **13**

4.6 Síntesis de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (**16**)



4.6.1 Obtención de estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (**15**)

Para la formación de **15** se tomó el compuesto **7**, además se aisló un segundo producto **14** obteniéndose 46% y 27% de rendimiento respectivamente, el compuesto **14** que se identificó como 17-{5'-Amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol que es el intermediario para formar **15**, se deduce que debido a la temperatura durante la segunda fase de reacción, la amina se condensa con el carbonilo C-16', sin embargo fue complicado la caracterización de **15** ya que no es un compuesto muy soluble a pesar de que se utilizaron varios y se decidió el uso de DMSO para poder llevar a cabo su RMN.



4.6.1.1 Caracterización espectroscópica de 17-{5'-Amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (**14**)

El derivado **14** fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC).

En 3400 se observa una banda ancha perteneciente a $-\text{NH}_2$, en 1719 cm^{-1} , una banda que corresponde a la vibración de tensión característica de $-\text{CHO}$ y en 1249 cm^{-1} las señales que pertenecen a enlaces C-N.

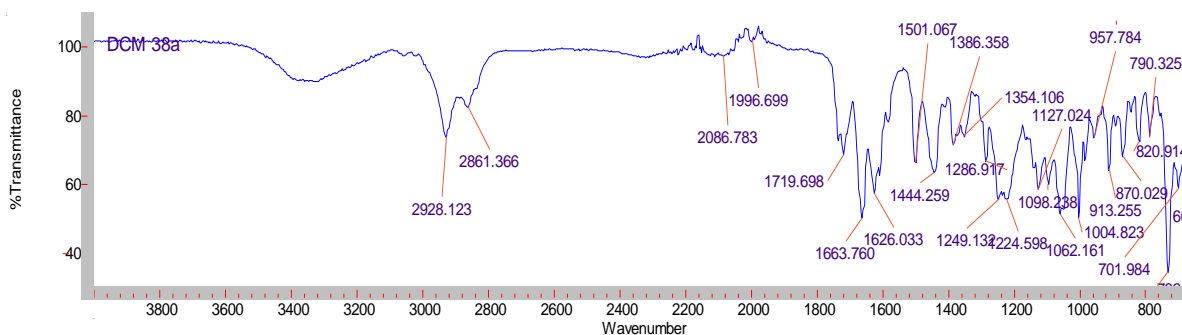


Figura 49. Espectro de IR del compuesto **14**

En el espectro de ^1H puede notarse que se encuentra aún el protón del $-\text{CHO}$, está en 9.7 ppm, así como se logra apreciar la aparición de una nueva señal en 8.0 ppm, que corresponde al H-3', perteneciente al ciclo unido, permaneciendo el resto de las señales semejantes a la materia prima.

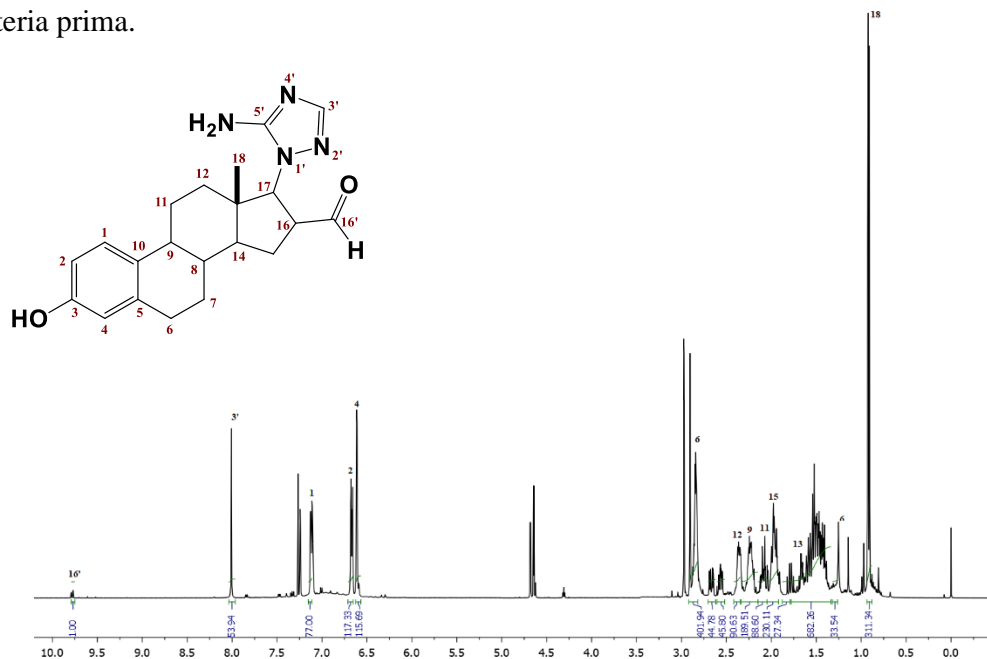


Figura 50. Espectro de RMN para ^1H de 14

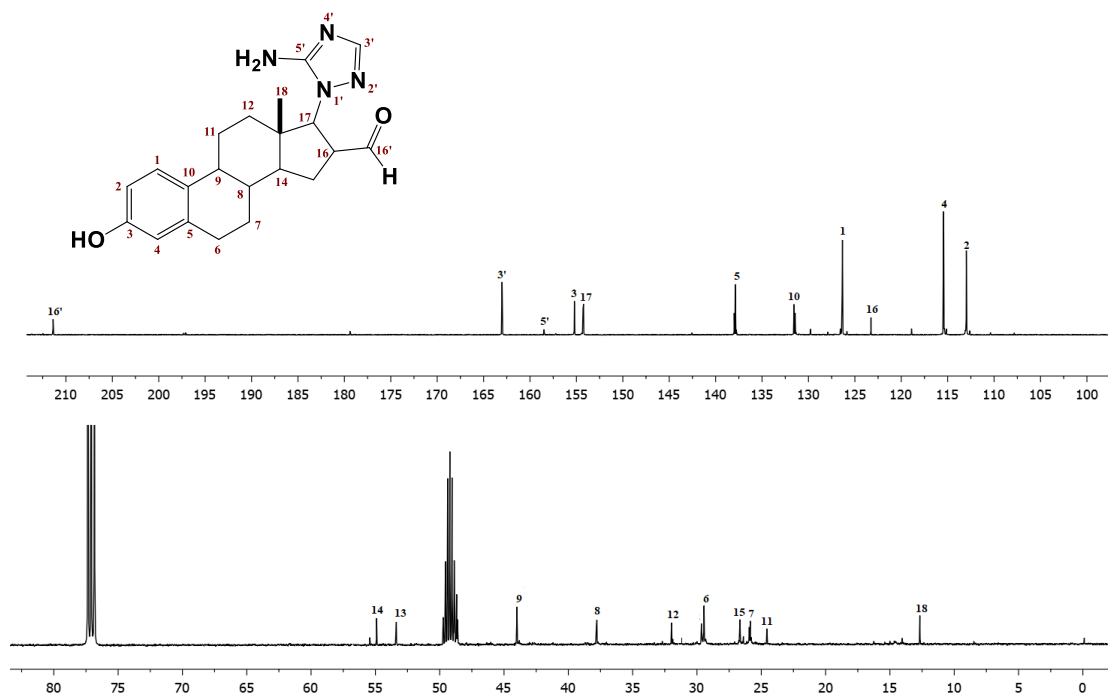


Figura 51. Espectro de RMN para ^{13}C de 14

En el espectro de ^{13}C se observa que se mantiene la señal perteneciente al carbono del aldehído, así como el de una nueva señal a altas frecuencias, C-3' y C-5' Pertenecientes al ciclo que sustituyó al Cl, estos carbonos se encuentran desplazados a 163.0 y 158.5 respectivamente.

4.6.1.2 Caracterización espectroscópica de estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)

En el espectro de RMN de ^1H se aprecian las nuevas señales a frecuencias altas que corresponden a H- 2' y H-5' que se encuentran a 8.6 y 8.5 ppm respectivamente. A su vez, en el espectro de ^{13}C se aprecia la aparición de 3 nuevas señales que corresponden al nuevo ciclo. Los tres nuevos carbonos se presentan a frecuencias altas en 152.7, 155.6 y 156.6 ppm asignadas a C-5', C-3a' y C-2' respectivamente.

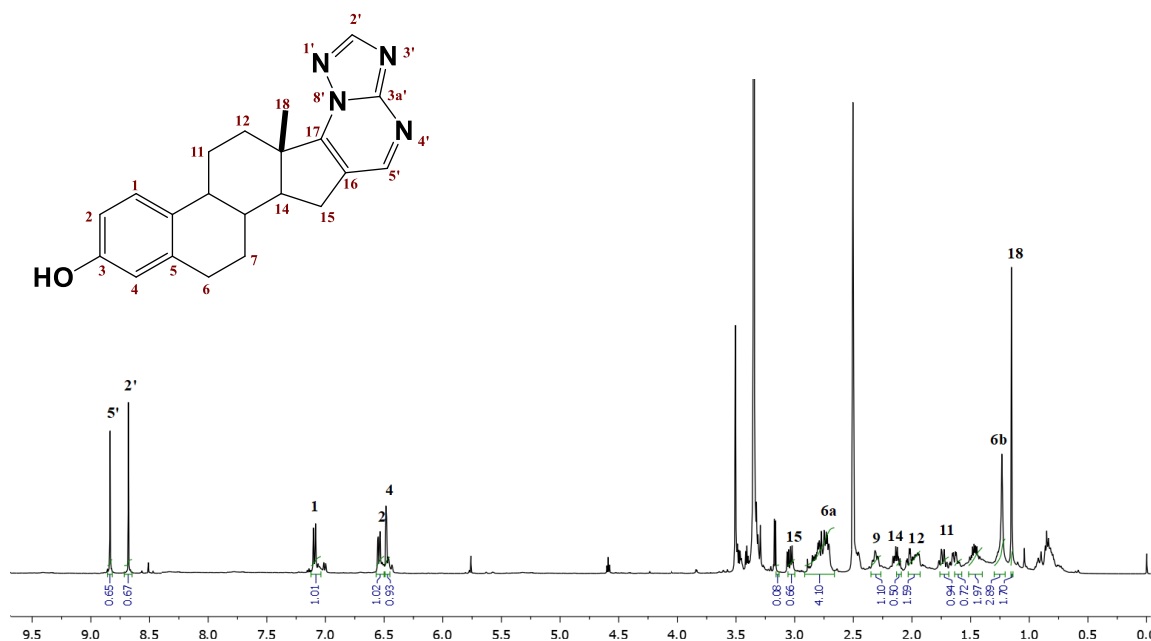


Figura 51. Espectro de RMN para ^1H de 15

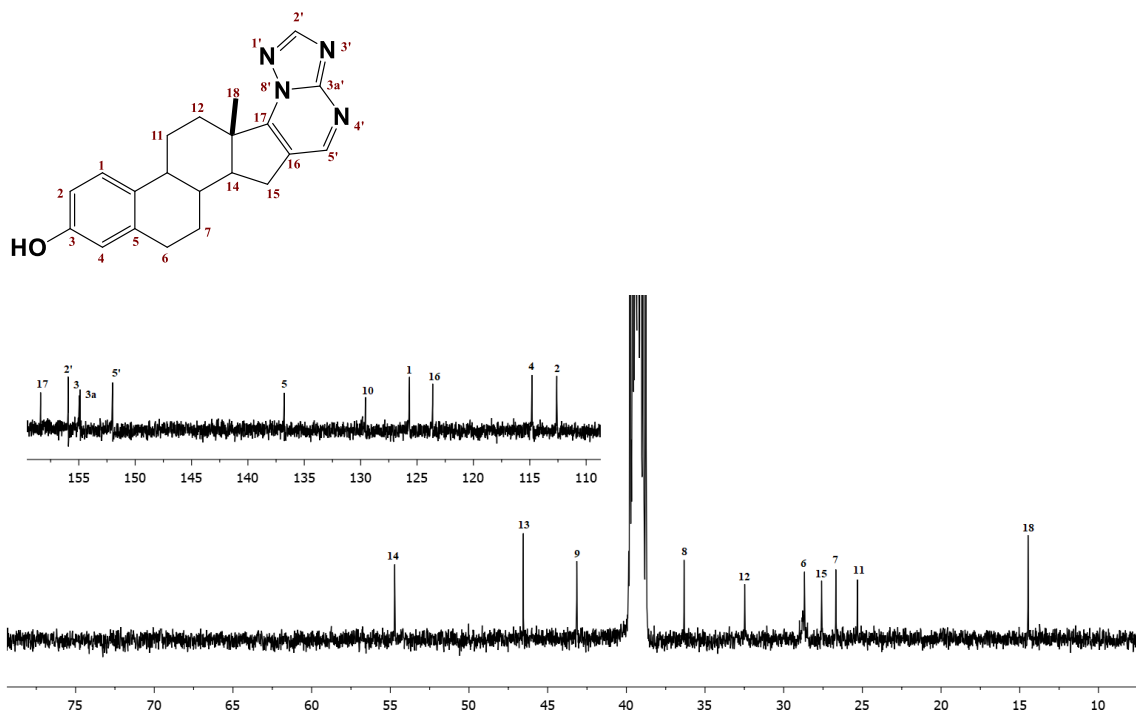


Figura 53. Espectro de RMN para ^{13}C de 15

Con ayuda de un experimento HSQC se pudieron asignar por ejemplo los carbonos de 5', 2'.

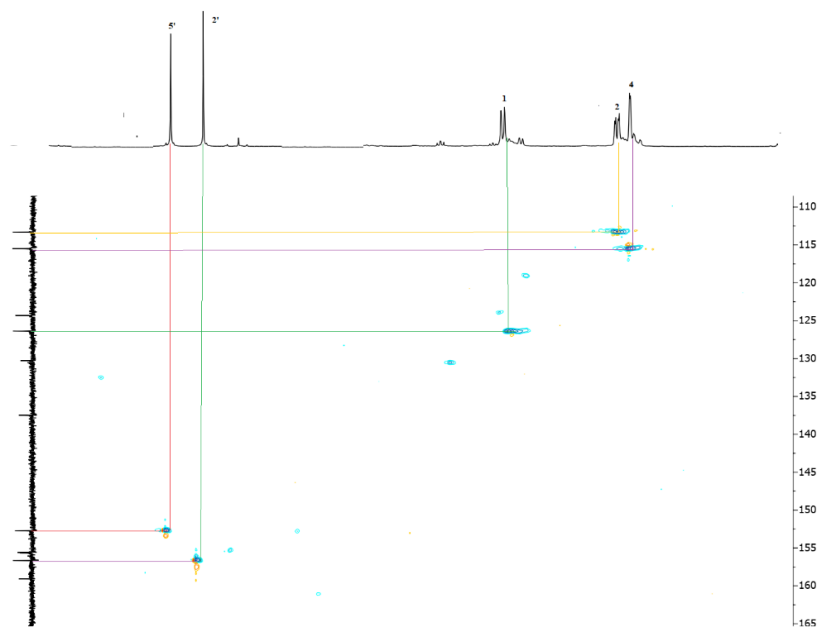
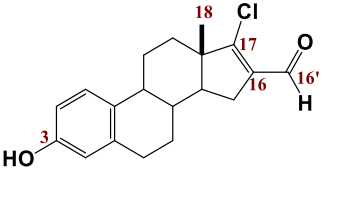
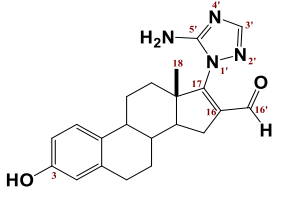
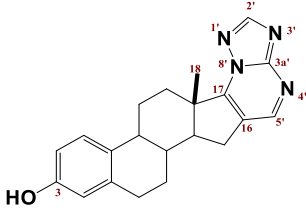


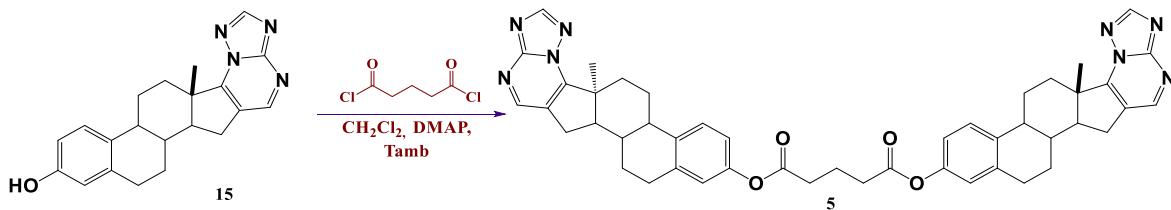
Figura 54. Espectro de RMN de HSQC del compuesto 15

Tabla 9. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de **7**, **14** y **15**

						
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
3	---	153.6	---	155.2	---	155.7
16	---	136.4	---	129.7	---	124.3
16'	9.9	188.3	9.6	211.3	---	---
17	---	162.9	---	154.3	---	159.1
18	0.9	15.3	0.9	14.2	1.1	15.2
2'	---	---	---	---	8.7	156.6
3a'	---	---	---	---	---	155.6

4.6.2 Obtención de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (**16**)

Una vez obtenido el compuesto **15**, se procedió a la dimerización antes propuesta, debido a su poca solubilidad en CH_2Cl_2 del compuesto **15**, se sometió a calentamiento para su disolución y reacción, obteniendo un único producto y materia prima sin reaccionar. A diferencia del monómero, el dímero se obtuvo como un aceite color ámbar.



4.6.2.1 Caracterización espectroscópica de glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (5)

El dímero **5** fue caracterizado por espectroscopía IR, RMN 1D (^1H y ^{13}C) y RMN 2D (HSQC, HMBC).

En el espectro de IR se observa en 1730 cm^{-1} una banda que corresponde a la vibración de tensión debida al carbonilo del éster. En 1558 cm^{-1} aparece una banda tensión para el doble enlace carbono-carbono. En 1609 cm^{-1} se observa una señal característica de enlaces $\text{N}=\text{C}$.

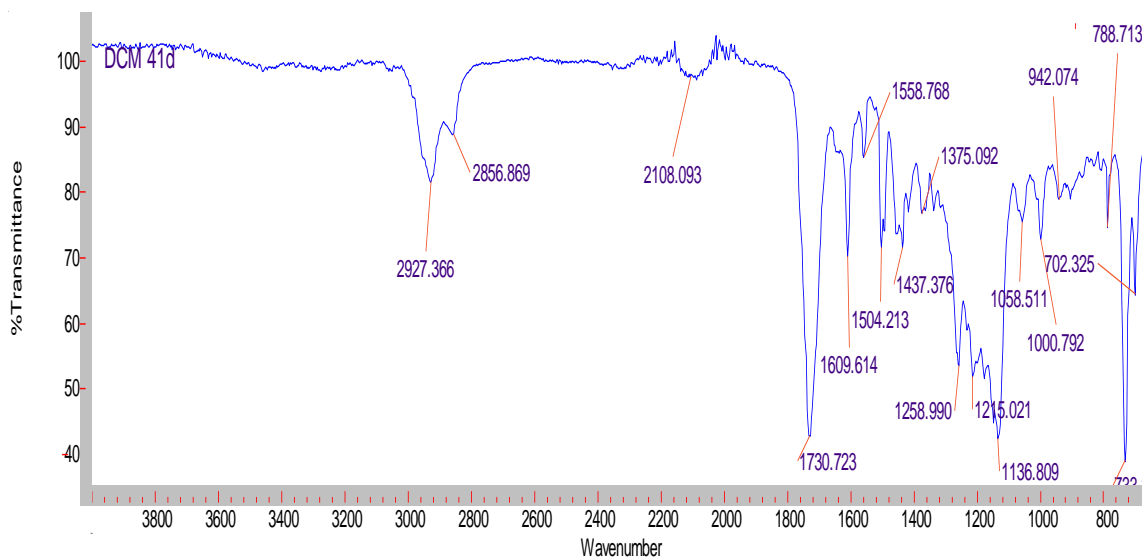


Figura 55. Espectro de IR del compuesto **5**

Se presentan señales correspondientes a los protones del *linker*, H-3b, y H-3c los que se observan a 2.4 ppm y a 2.0 ppm. Mientras que para ^{13}C en 33.1 ppm para C-3b y 20.1 ppm para C-3c, y finalmente 173.5 ppm para C-3a.

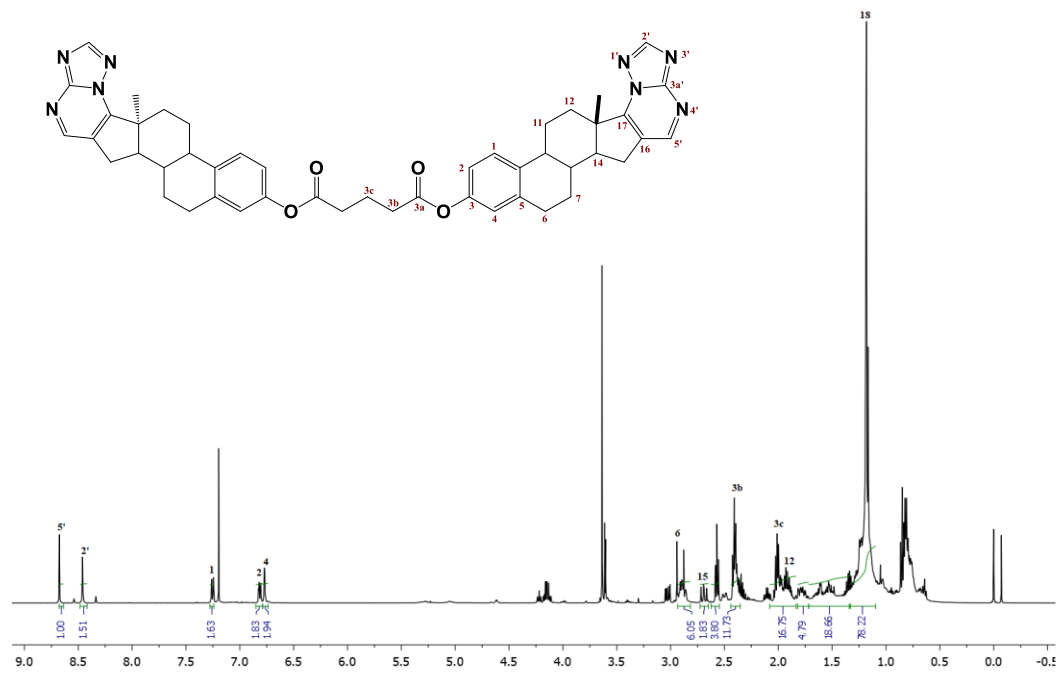


Figura 56. Espectro de RMN para ¹H de 5

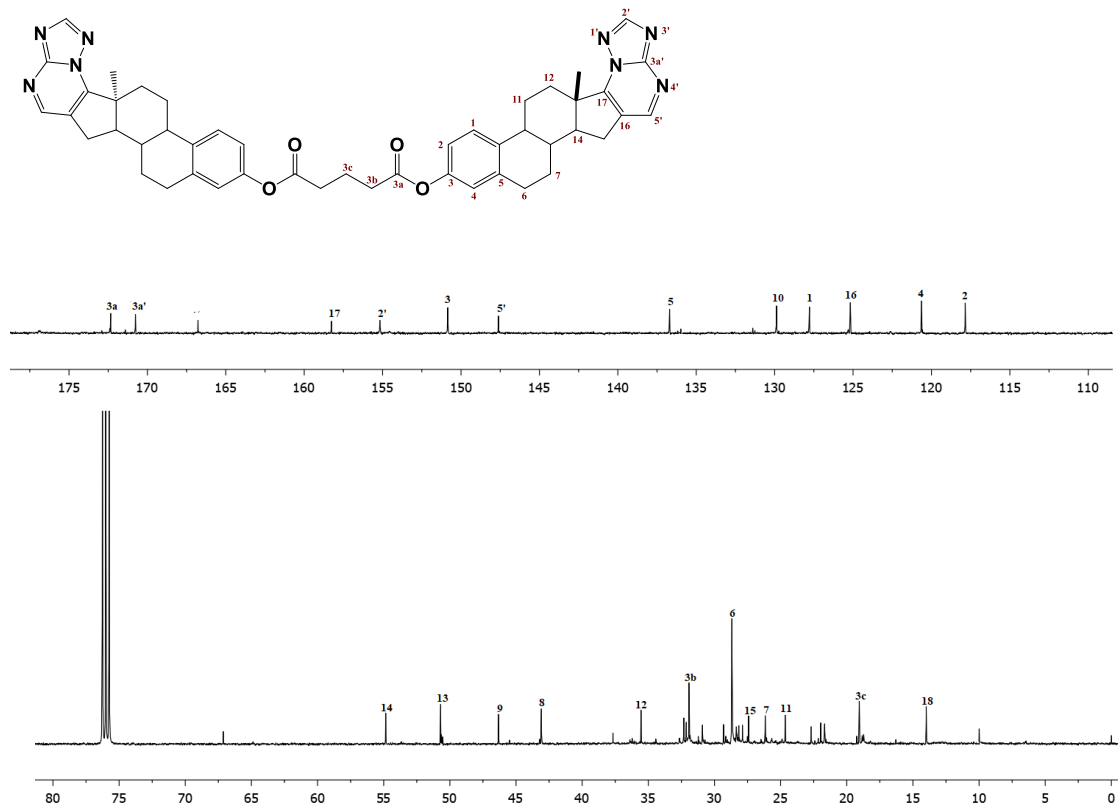


Figura 57. Espectro de RMN para ¹³C de 5

Tabla 10. Tabla comparativa de desplazamientos de ^1H y ^{13}C de 15 y 5

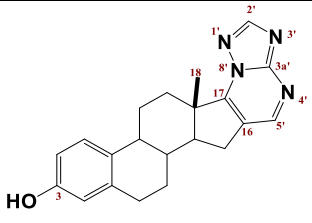
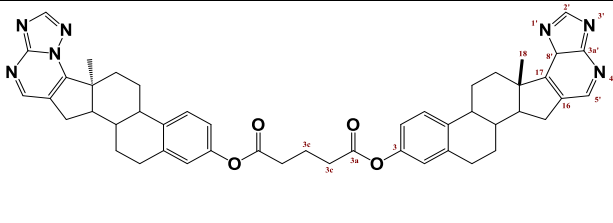
				
	15		5	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
3	---	155.7	---	150.8
16	---	124.3	---	123.8
17	---	159.1	---	158.3
18	1.1	15.2	1.2	15.1
2'	8.7	156.6	8.5	155.2
3a'	---	155.6	---	167.9
3a	---	---	---	173.5
3b	---	---	2.4	33.1
3c	---	---	2.0	20.1

Tabla 11. Desplazamientos de ^1H y ^{13}C para los protones del *linker* de los compuestos **3**, **4**, **5**, **8** y **9**.

Estructura	3a		3b		3c	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
	---	171.5	2.3	37.0	2.2	21.2
	---	171.9	2.7 - 2.5	33.5	1.9	20.3
	---	172.0	2.4	29.7	1.9	19.9
	---	171.7	2.7	33.2	2.2	20.0
	---	173.5	2.4	33.1	2.0	20.1

Finalmente se pueden describir las señales características de los 5 dímeros obtenidos, puede observarse que para cada uno de ellos, los desplazamientos de los carbonos del *linker* son similares, sin embargo las pequeñas variaciones que hay se debe a los grupos monoméricos que contienen. (ver Tabla 11)

4.7 Estudio por difracción de rayos X de

El compuesto **7** logró cristalizarse y se realizó un estudio por difracción de rayos X. En la tabla 13 se muestra datos relevantes.

Tabla 12. Datos cristalográficos relevantes del compuesto **7**

Datos del cristal					
Fórmula	P.M. (g/mol)	Tamaño (mm ³)	Grupo espacial	Sistema del cristal	Color
C ₁₉ H ₂₁ ClO ₂	316.81	0.400 x 0.350 x 0.050	P2 ₁	Monoclínico	Amarillo
Parámetros de la celda					
a(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)		
a = 7.2590	b = 24.7476	c = 9.3715	b = 108.814°		
V(Å ³)	Z	μ(mm ⁻¹)	ρ(mg/m ³)		
1593.57 Å ³	4	0.133 mm ⁻¹	1.320 mg/m ³		
Colección de datos					
<i>Reflexiones colectadas</i>			<i>Reflexiones independientes</i>		
33187			6944		

El tipo de hibridación que presentan los carbonos de los enlaces representativos de la estructura $\text{Cl}-\text{C}=\text{C}-\text{CHO}$ son sp^2 . Para los carbonos del doble enlace carbono - carbono y el carbono del carbonilo como del carbono - carbono del carbonilo y oxígeno se esperan ángulos cercanos a 120°, de acuerdo a los datos obtenidos por el estudio de difracción de rayos X, los ángulos que forman estos enlaces son no mayor a 129°, además, como se sabe los enlaces C=C tienen un tamaño esperado de 1.34 Å apreciando entonces que la longitud de enlaces del sistema carbonilo α,β -insaturado- β -clorado se aproximan a este valor, corroborando entonces que se trata de la estructura de nuestra molécula (ver tabla 14).

Tabla 13. Datos de longitud de enlace y tamaño de ángulo del compuesto 7

	Cl-C	C=C	C=O
Longitud de enlace	1.724	1.334	1.218
	Cl-C-C	C=C-C	C-C=O
Ángulo de enlace	125.6	129.5	122.9

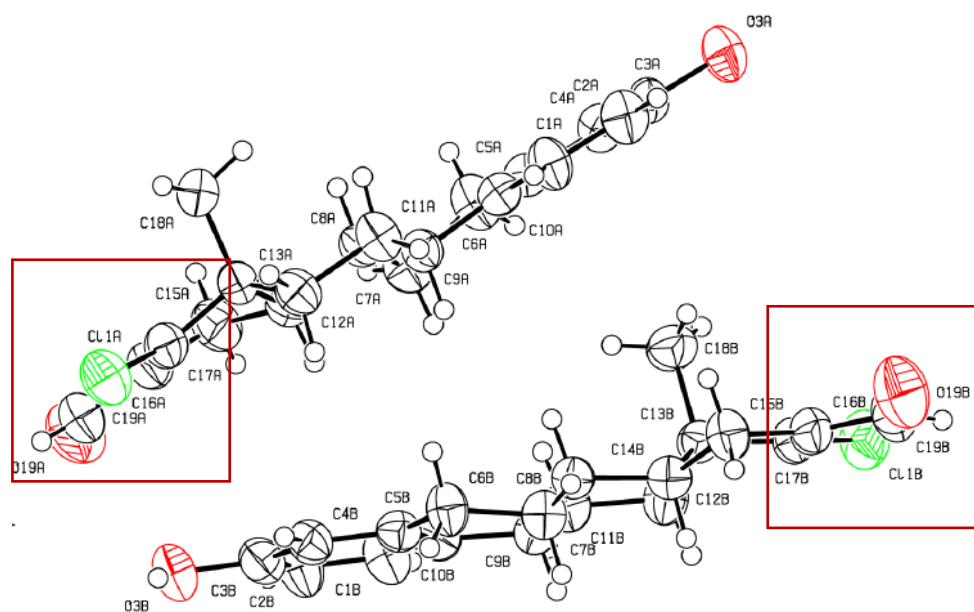


Figura 57. Estructura molecular del compuesto 7

4.8 Ensayos antiproliferativos

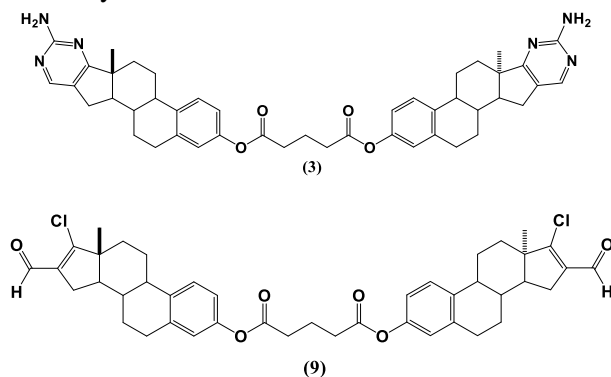
La actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos **9** y **3** se evaluó usando el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos. Este estudio fue realizado por el Dr. José M. Padrón en el laboratorio BioLab del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, de la Universidad de la Laguna (Tenerife). Los compuestos se evaluaron contra un panel de seis líneas celulares de tumores sólidos humanos: A549 (pulmón), HBL-100, (mama), HeLa (cérvix), SW1573 (pulmón), T-47D (mama) y WiDr (colon). Los resultados se expresan como el 50% de la inhibición del crecimiento (GI_{50}). Los resultados de la actividad antiproliferativa de los dímeros esteroidales obtenidos se presentan en la Tabla 12. De acuerdo a los valores de GI_{50} , se observa que los derivados evaluados tuvieron actividad contra todas las líneas celulares, excepto el derivado **8** que fue insoluble en el disolvente usado en las líneas celulares.

Tabla 14. Actividad antiproliferativa (GI_{50} , μM) frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos

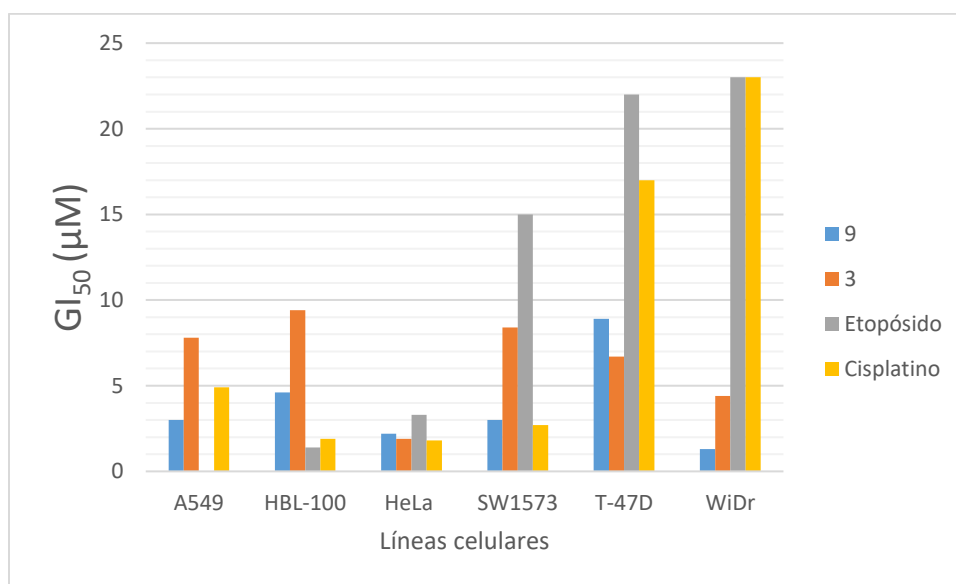
Compuestos	Líneas celulares					
	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
9	3.0±0.6	4.6±0.7	2.2±0.7	3.0±0.7	8.9±0.7	1.3±0.6
3	7.8±0.6	9.4±0.6	1.9±0.6	8.4±0.6	6.7±0.6	4.4±1.5
8	[a]					
Etopósido	----	1.4±0.9	3.3±1.6	15±1.5	22±5.5	23±3.1
Cisplatino	4.9±0.2	1.9±0.2	1.8±0.5	2.7±0.4	17±3.3	23±4.3

a) Insoluble bajo las condiciones del ensayo

Estructuras de los compuestos ensayados:



A continuación se presenta una gráfica donde se muestra la comparación entre los compuestos **9** y **3** contra los fármacos anticancerígenos conocidos por excelencia (Etopósido y Cisplatino) se observa que para la línea celular A549 (pulmón), el compuesto **9** presenta mejor actividad antiproliferativa con relación al Cisplatino, sin embargo **3** no, para HBL-100, (mama) ambos compuestos resultan ser poco activos a diferencia del Etopósido y Cisplatino. En la línea celular de HeLa, se observa que **3** es equiparable al Cisplatino, mientras que **9** sigue teniendo mejores resultados ante el Etopósido. Para SW1573 (pulmón) ambos compuestos resultaron más activos que el Etopósido, pero sin superar la actividad del Cisplatino, finalmente para T-47D (mama) y WiDr (colon), **9** y **3** presentaron mejor actividad en comparación con dichos fármacos.



Gráfica 1. Actividad antiproliferativa de 9 y 3 en comparación con el Etopósido y el Cisplatino

CAPITULO V DESARROLLO EXPERIMENTAL



Equipo y técnicas utilizadas

Cromatografía analítica en capa fina (CCF)

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60, con espesor de capa 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencia (F₂₅₄) empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda (254 nm, lámpara de UVG-54) o por calcinación de las placas impregnadas con ácido sulfúrico al 5%, una solución de vainillina 1 % en EtOH, ninhidrina etanólica al 0.1 % ó ácido fosfomolibdico al 5% en MeOH.

Cromatografía en columna

La purificación de todos los productos esteroidales se realizó empleando la técnica de cromatografía tipo flash, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas) y como fase móvil los distintos eluyentes indicados en cada caso.

Puntos de fusión

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

Espectroscopia de infrarrojo (IR)

Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR, los datos se expresan en numeros de onda ($\bar{\nu}$) en cm⁻¹ utilizando interfaces como ATR con punta de diamante y DIAL PATH.

Rotaciones ópticas

Las rotaciones específicas se midieron en un polarímetro Perkin Elmer 341 y Jasco P-2000, usando cloroformo, metanol, dimetilsulfóxido (dependiendo de la muestra) empleando la línea de emisión del Na ($\lambda = 589$ nm).

Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C se realizaron en los espectrómetros Varian-Mercury multinuclear a 300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C, Bruker Avance III 500 MHz para ¹H y 125 MHz para ¹³C empleando como disolvente CDCl₃, CD₃OD, DMSO según

se indica en cada caso. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. La multiplicidad de las señales de los espectros de ^1H está referida como: “s” para una señal simple; “d” para una señal doble; “t” para una señal triple; “dd” para una señal doble de doble y “m” para una señal múltiple.

Espectros de masas

Se determinaron en espectrómetros Jeol-JMS-700 MS Station y QExactive. La fuente de ionización empleada es electrospray (ES). En los datos incluidos de los espectros de masas de alta resolución se compara con el valor de m/z encontrado hasta la cuarta cifra decimal para el ion molecular, con el calculado a partir de los isótopos más abundantes.

Materia prima y disolventes

Los reactivos que se utilizaron fueron de calidad grado analítico.

Todos los disolventes empleados se purificaron y se secaron según los métodos reportados en la literatura.⁴⁸

Difracción de Rayos X

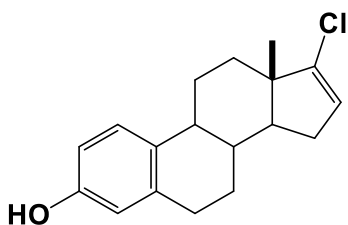
Las pruebas de difracción se llevaron a cabo por el Dr. Sylvain Bernès del instituto de Física de la BUAP. Se realizó la cristalización y recristalización del compuesto **7** en sistemas de disolventes bajo evaporación lenta a temperatura ambiente, de manera que se obtuvieran cristales capaces de difractar.

⁴⁸ Perrin, D., D.; Armarego, W., L., F. “*Purification of Laboratory Chemicals*” 3^a ed. Pergamon Press, Oxford, **1988**.

17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (12) y 17-cloro-16-formilestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (7)

En un matraz de fondo redondo de 50 mL que se coloca sobre hielo, se disuelven 500 mg (1.84 mmol) de estrona (1) en 5 mL (62.40 mmol) de ClCH_3 , se añade gota a gota 3.5 mL (25.89 mmol) de POCl_3 y 2.5 mL (42.53 mmol) de DMF anh., una vez agregado los reactivos se deja alcanzar la temperatura ambiente y en seguida se coloca a reflujo durante 5 horas. Se quita el reflujo dejando alcanzar la temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se evapora a presión reducida hasta quitar el ClCH_3 , se añade al matraz hielo poco a poco hasta que termine la expulsión de gases. Se extrae con CH_2Cl_2 , se hacen lavados con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H_2O (2x10 mL), se seca con MgSO_4 , se concentra a sequedad. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna con un sistema (hexano:AcOEt 95:5), para aislar los compuestos **12** y **7** como sólidos amarillos. Los datos espectroscópicos fueron comparados en la literatura mejorando su rendimiento a lo ya reportado.⁴⁶

17-cloroestra-1,3,5,(10)-16-tetraen-3-ol (12)

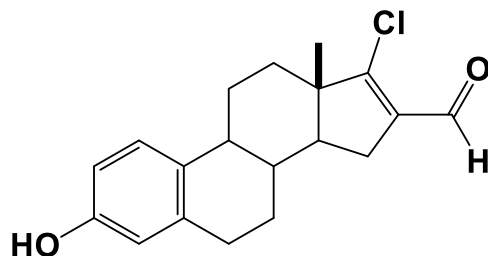


Rendimiento: 10%; p.f. 156°C

^1H RMN (CDCl_3 , 500 MHz): δ : 0.8 (s, 3H, CH_3 -18), 1.1 (m, 2H, H-11), 1.3 (m, 2H, H-7), 1.5 (m, 1H, H-8), 1.6 (ddd, $J_{14,8} = 6.4$ Hz, $J_{14,15a} = 6.4$ Hz, $J_{14,15b} = 6.4$ Hz, 1H, H-14), 1.8 (m, 2H, H-12), 1.9 (m, 2H, H-15), 2.2 (m, 1H, H-9), 2.8 (m, 2H, H-6), 5.6 (s, 2H, H-16), 6.5 (s, 1H, H-4), 6.6 (dd, $J_{2,4} = 2$ Hz, $J_{4,2} = 2$ Hz, 1H, H-2), 7.1 (d, $J_{1,2} = 4.8$ Hz, 1H, H-1).

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 15.3 (C-18), 26.4 (C-11), 27.3 (C-7), 29.6 (C-6), 29.9 (C-10), 30.6 (C-15), 33.9 (C-12), 37.4 (C-8), 44.4 (C-9), 48.0 (C-13), 55.1 (C-14), 112.8 (C-2), 115.4 (C-4), 124.7 (C-16), 126.4 (C-1), 138.3 (C-5), 145.0 (C-17), 153.5 (C-3).

17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (7)

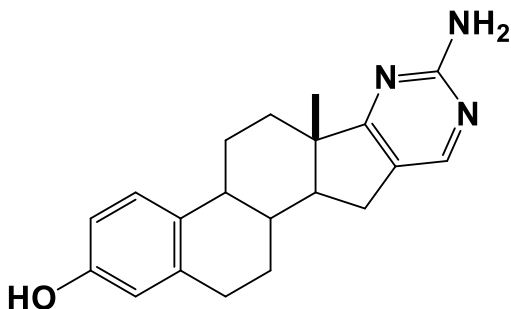


Rendimiento: 90%; p.f. 215°C

^1H RMN (CDCl_3 , 500 MHz): δ : 0.9 (s, 3H, CH_3 -18), 1.6 (m, 1H, H-8), 1.62 (m, 1H, H-14), 1.7 (m, 2H, H-7), 1.9 (m, 2H, H-12), 2.3 (m, 1H, H-9), 2.4 (m, 2H, H-11), 2.1 (dd, $J_{15b,14} = 11.6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 14.8$ Hz, 2H, H-15), 2.6 (dd, $J_{15a,14} = 6.4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 14.8$ Hz, 2H, H-15), 2.8 (m, 2H, H-6), 4.9 (s, 1H, OH), 6.6 (d, $J_{4,2} = 2.4$ Hz, 1H, H-4), 7.1 (dd, $J_{2,4} = 2.8$ Hz, $J_{2,1} = 2.4$ Hz, 1H, H-2), 7.1 (d, $J_{1,2} = 4.4$ Hz, 1H, H-1), 9.9 (s, H- Aldehído).

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz): δ : 15.3 (C-18), 26.0 (C-11), 27.0 (C-7), 28.2 (C-15), 29.4 (C-6), 33.0 (C-12), 37.3 (C-8), 44.1 (C-9), 51.0 (C-13), 53.0 (C-14), 112.9 (C-2), 115.4 (C-4), 126.2 (C-1), 131.9 (C-10), 136.4 (C-16), 138.1 (C-5), 153.6 (C-3), 163.0 (C-17), 188.3 (C-16')

3-Hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidina (6)



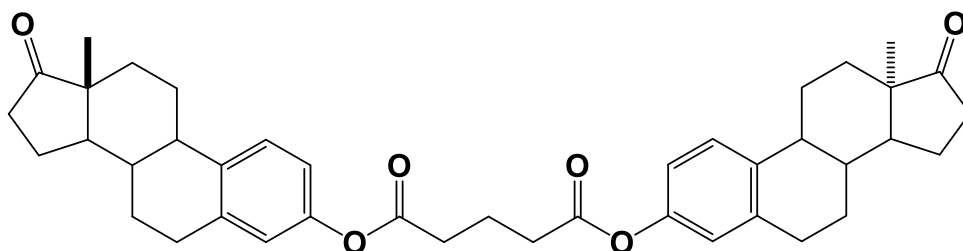
En un matraz de fondo redondo se disuelven 200 mg (0.63 mmol) de materia prima (7) en 3 mL (38.75 mmol) de DMF anh. Posteriormente se adicionan 218.10 mg (1.57 mmol) de K₂CO₃ y 215.32 mg (1.57 mmol) de clorhidrato de guanidina (NH₂C(=NH)NH₂·HCl), se coloca a reflujo durante 2 horas, una vez que se ha consumido la materia prima, se deja alcanzar la temperatura del medio y se añade 3.0 mL de H₂O, 3.0 mL de AcOEt y la reacción se mantiene en agitación por 15 min, posteriormente se extrae con AcOEt, se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄, se filtra y la fase orgánica se concentra a sequedad. El crudo de reacción se purifica con sistema (hexano:AcOEt 9:1) obteniéndose **6** como un sólido blanco.

Rendimiento: Cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} +99$ (c 0.2, EtOHCHCl₃); p.f. 284°

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.9 (s, 3H, H-18), 1.4 (m, 2H, H-7), 1.6 (m, 1H, H-8), 1.7 (m, 1H, H-14), 1.9 (m, 2H, H-12), 2.0 (dd, $J_{15b-14} = 11.0$ Hz, $J_{gem} = 8.0$ Hz m, 2H, H-15), 2.2 (dd, $J_{15a-14} = 3.0$ Hz, $J_{gem} = 8.0$ Hz m, 2H, H-15) 2.3 (m, 1H, H-9), 2.4 (m, 2H, H-11), **2.8** (m, 2H, H-6), 6.6 (d, $J_{4,2} = 5.0$ Hz, 1H, H-4), 6.6 (dd, $J_{2,4} = 5.0$ Hz, $J_{2,1} = 5.0$ Hz, 1H, H-2), 7.1 (d, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, 1H, H-1) 8.0 (s, 1H, H-4')

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 17.0 (C-18), 26.0 (C-11), 27.1 (C-7), 29.3 (C-6), 31.4 (C-15), 32.5 (C-12), 37.4 (C-8), 44.1 (C-9), 46.1 (C-13), 54.6 (C-14), 112.8 (C-2), 115.3 (C-4), 123.2 (C-16), 126.1 (C-1), 131.8 (C-10), 137.7 (C-5), 152.4 (C-4'), 154.5 (C-3), 161.7 (C-2'), 183.4 (C-17)

Glutarato de bis[estra-1,3,5(10)- trien-17-oxo-3-ilo] (8)



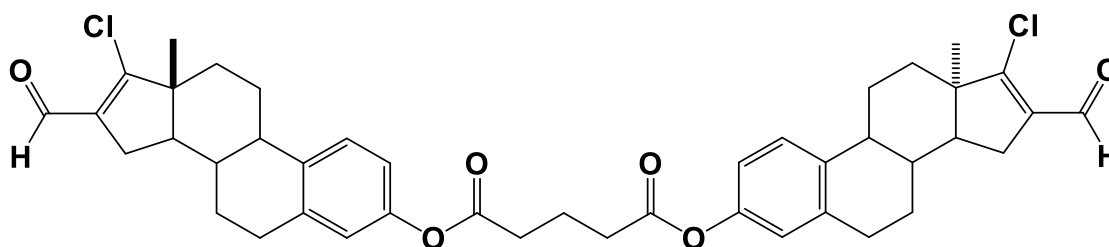
En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disuelven 300 mg (1.10 mmol) de estrona (**1**) en 5 mL de CH₂Cl₂ se adiciona 406.67 mg (3.32 mmol) de DMAP, después se adicionan 0.4 mL (3.32 mmol) de ClCO(CH₂)₃COCl (cloruro de glutaloilo) dejando reaccionar por 5 horas. Terminada la reacción se realiza la extracción con CH₂Cl₂ se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄, se filtra y se concentra a sequedad. Se purifica con un sistema (hexano:AcOEt 9:1) obteniéndose **8** como un sólido blanco.

Rendimiento: 57.4%; $[\alpha]_D^{25} +37.6$ (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 204-210° C

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ: 1.0 (s, 3H, CH₃-18), 1.3 (s, 1H, H-6a), 1.5 (m, 2H, H-14), 1.6 (m, 2H, H-8), 1.9 (m, 2H, H-3c), 2.1 (m, 1H, H-16b), 2.3 (m, 1H, H-9), 2.4 (m, 1H, H-7), 2.5 (m, 1H, H-3b₁), 2.5 (m, 1H, H-16a), 2.7 (m, 1H, H-3b₂), 2.9 (m, 1H, H-6a) 6.8 (d, *J*_{4,2} = 3.4 Hz, 1H, H-4), 6.9 (dd, *J*_{2,1} = 6.8 Hz, *J*_{2,4} = 3.4 Hz, 1H, H-2), 7.3 (d, *J*_{1,2} = 7.01 Hz, 1H, H-1),

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 14.0 (C-18), 20.3 (C-3c), 21.8 (C-11), 25.9 (C-7), 26.6 (C-15), 29.6 (C-6), 31.8 (C-12), 33.5 (C-3b), 36.1 (C-16), 38.2 (C-8), 44.4 (C-9), 48.3 (C-13), 50.6 (C-14), 118.9 (C-2), 121.7 (C-4), 126.6 (C-1), 137.7 (C-10), 138.2 (C-5), 148.6 (C-3), 171.9 (C-3a) 220.0 (C-17).

Glutarato de bis[17-cloro-16-formilestra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ilo] (9)



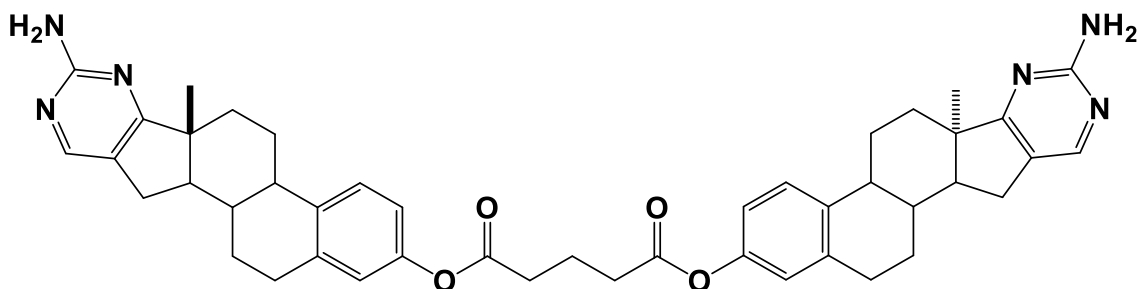
En un matraz de fondo redondo de 50 mL que se coloca sobre hielo, se disuelven 400 mg (0.63mmol) de materia prima (**8**) en 5 mL (62.41mmol) de ClCH_3 , se añade gota a gota 3.44 mL (36.86 mmol) de POCl_3 y 1.57 mL (44.55 mmol) de DMF anh., una vez agregado los reactivos se deja alcanzar la temperatura ambiente y en seguida se coloca a reflujo durante 5 horas. Se quita el reflujo dejando alcanzar la temperatura ambiente y la mezcla de reacción se evapora a presión reducida hasta quitar el ClCH_3 , se añade al matraz hielo poco a poco hasta que termine la expulsión de gases. Se extrae con CH_2Cl_2 , se hacen lavados con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H_2O (2x10 mL) se seca con MgSO_4 , se filtra y se concentra a sequedad. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna con un sistema (hexano:AcOEt 97:3) para dar **9** como un sólido blanco.

Rendimiento: 30%; $[\alpha]_D^{25} +196$ (c 0.1, CHCl_3); p.f. 227°- 230°C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.0 (s, 3H, CH_3 -18), 1.2 (m, 2H, CH_2 -6b), 1.4 (m, 1H, H-7b), 1.6 (m, 2H, H-14), 1.7 (m, 1H, H-7a), 1.9 (m, 2H, H-3c), 2.1 (m, 1H, H-15b), 2.3 (m, 1H, H-9), 2.4 (m, 1H, H-3b), 2.6 (m, 1H, H-15a), 2.8 (m, 1H, H-6a), 6.6 (d, $J_{4,2} = 3.2$ Hz, 1H, H-4), 6.6 (dd, $J_{2,1} = 7$ Hz, $J_{2,4} = 3.3$ Hz, 1H, H-2), 7.09 (d, $J_{1,2} = 7.10$ Hz, 1H, H-1), 9.9 (s, 1H, H-16').

$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 15.1 (C-18), 19.9 (C-3c), 25.9 (C-11), 27.0(C-7), 28.1 (C-15), 29.3 (C-6), 29.7 (C-3b) 32.9 (C-12), 37.2 (C-8), 44.0 (C-9), 51.0 (C-13), 52.9 (C-14), 112.8 (C-2), 115.3 (C-4), 126.0 (C-1), 130.9 (C-10), 136.3 (C-16), 137.8 (C-5), 154.4 (C-3), 163.6 (C-17), 172.0 (C-3a), 188.7 (C-16')

Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]-2'aminopirimidin-3-ilo} (3)



Ruta 1: En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disuelven 200mg (0.62 mmol) de materia prima (6) en 5 mL CH₂Cl₂, se adiciona 152.14 mg (1.24 mmol) de DMAP, posteriormente se adicionan 0.15 mL (1.24 mmol) de ClCO(CH₂)₃COCl dejando reaccionar por 5 horas. Terminada la reacción se realiza la extracción con CH₂Cl₂ se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄ se filtra y se concentra a sequedad. Se purifica con un sistema (AcOEt:hexano 85:15) para dar **3** como un sólido blanco.

Rendimiento: 10%; $[\alpha]_D^{25}$ -56 (c .1, CHCl₃). p.f. 194°-197°C

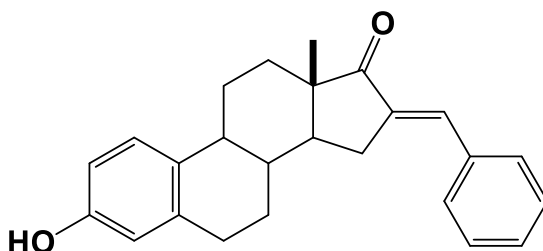
Ruta 2: En un matraz de fondo redondo se disuelven 100 mg (0.13 mmol) **9** en 4 mL de DMF anh., posteriormente se adicionan 32.54 mg (0.34 mmol) de K₂CO₃ y 45.38 mg (0.34mmol) de NH₂C(=NH)NH₂·HCl, se coloca a reflujo durante 2 horas, una vez reaccionada la materia prima, se deja alcanzar la temperatura ambiente y se añade 3 mL de H₂O y 3 mL de AcOEt en agitación por 15 min, posteriormente se extrae con AcOEt, se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL), y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄ y se concentra a sequedad. El crudo de reacción se purifica con sistema (hexano:AcOEt 9:1) para dar **3** como un sólido blanco.

Rendimiento:30%; $[\alpha]_D^{25}$ -56 (c 0.1, CHCl₃). p.f. 194°-197°C

^1H RMN (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.9 (s, 3H, CH_3 -18), 1.6 (m, 2H, H-12b), 1.7 (m, 2H, H-14), 2.1 (m, 1H, H-12a), 2.2 (m, 1H, H-3c), 2.3 (m, 1H, H-3b), 2.7 (m, 1H, H-15), 2.8 (m, 1H, H-6), 6.6 (d, $J_{4,2} = 3.3$ Hz, 1H, H-4), 6.6 (dd, $J_{2,1} = 6.9$ Hz, $J_{2,4} = 3.3$ Hz, 1H, H-2), 7.0 (d, $J_{1,2} = 7.01$ Hz, 1H, H-1), 8.0 (s, 1H, H-4').

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 17.2 (C-18), 21.2 (C-3c), 26.0 (C-11), 27.1 (C-7), 27.4 (C-15), 29.5 (C-6), 32.7 (C-12), 37.0 (C-3b), 37.5 (C-8), 44.3 (C-9), 46.4 (C-13), 54.7 (C-14), 113.0 (C-2), 115.6 (C-4), 123.4 (C-16), 126.4 (C-1), 131.4 (C-10), 138.0 (C-5), 152.5 (C-4'), 154.5 (C-3), 161.7 (C-2'), 171.5 (C-3a), 183.6 (C-17).

(E)-16-Benzilideno-3 β -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (10)



En un matraz de fondo redondo se disuelven 500 mg (1.84 mmol) de estrona (**1**) en 9 ml de EtOH, posteriormente se añade 2mL (19.58mmol) de benzaldehído, y 19 mL de una solución etanólica de KOH al 10%, se deja reaccionar por 1 hora.

Terminada la reacción se realiza la extracción con CH₂Cl₂ se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄ se filtra y se concentra a sequedad. Se purifica con un sistema (hexano:AcOEt 9:1) para dar **10** como un sólido blanco. Los datos espectroscópicos fueron comparados con los reportados en la literatura.

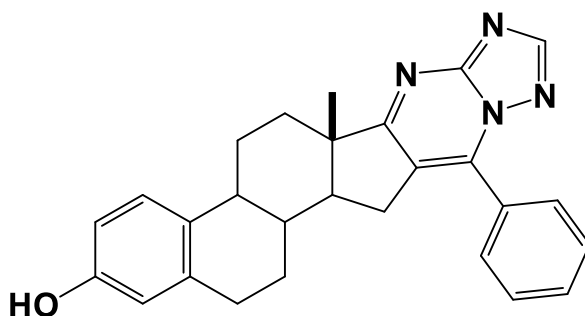
Rendimiento: 90%; $[\alpha]_D^{25} + 149.3$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 245-247°C

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ : 1.0 (s, 3H, CH₃-18), 2.6 (dd, $J_{15a-14} = 12.6$ Hz, $J_{gem} = 15.6$ Hz, 1H, H-15a), 2.9 (m, 1H, H-6), 3.0 (dd, $J_{15b-14} = 5.6$ Hz, $J_{gem} = 15.6$ Hz, 1H, H-15b), 4.2 (s, 1H, H-OH), 6.6 (d, $J_{4,2} = 2.7$ Hz, 1H, H-4), 6.7 (dd, $J_{2,1} = 8.5$ Hz, $J_{2,4} = 2.7$ Hz, 1H, H-2), 7.1 (d, $J_{1,2} = 8.5$ Hz, 1H, H-1), 7.4 (m, 4H, H-4', H-3', H-5', H-16'), 7.6 (m, 2H, H-2', H-6').

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ : 14.3 (C-18), 25.6 (C-11), 26.5 (C-7), 28.9 (C-15), 29.2 (C-6), 31.3 (C-12), 37.7 (C-8), 43.7 (C-9), 47.7 (C-13), 48.2 (C-14), 112.6 (C-2), 115.0 (C-4), 126.0 (C-1), 128.4 (C-3' y C-5'), 129.2 (C-4'), 130.1 (C-2' y C-6'), 130.6 (C-10), 133.5 (C-16'), 135.1 (C-1'), 135.6 (C-5), 137.4 (C-16), 154.3 (C-3), 210.8 (C-17).

HRMS-FAB: (m/z): Calculado para C₂₅H₂₇O₂ [M+H]⁺: 359.2011, encontrado 359.2037.

3-Hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina (11)



En un matraz de fondo redondo se disuelven 200mg (0.55mmol) de materia prima (**10**) en 6 mL de *n*-BuOH, posteriormente se añade 328.73mg (3.90 mmol) de 3-amino-1,2,4-triazolo, adicionando 0.48 mL (3.90 mmol) de *t*-BuOk, se lleva a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida; se diluyó con CH₂Cl₂ la solución se filtró a vacío y se concentra a sequedad. Se purifica por placa preparativa con un sistema (CH₂Cl₂:MeOH 100:1) obteniéndose **11** un sólido blanco. Los datos espectroscópicos fueron comparados con los reportados en la literatura.

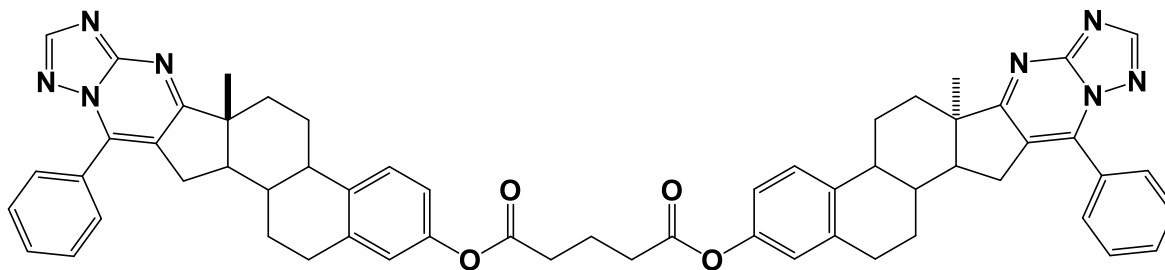
Rendimiento: 80 %; $[\alpha]_D^{25}$ -3.5 (*c* 0.5, CHCl₃); p.f. 195-197 °C

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ: 1.1 (s, 3H, CH₃-18), 2.73 (m, 2H, H-15), 2.79 (m, 2H, H-6), 3.17 (s, 1H, H – OH), 6.53 (d, *J*_{4,2} = 2.4 Hz, 1H, H-4), 6.61 (dd, *J*_{2,1} = 8.4 Hz, *J*_{2,4} = 2.4 Hz, 1H, H-2), 7.05 (d, *J*_{1,2} = 8.4 Hz, 1H, H-1), 7.51 (m, 3H, H-4'', H-3'', H-5''), 7.73 (m, 2H, H-2'').

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 17.2 (C-18), 25.9 (C-11), 27.1 (C-7), 28.7 (C-15), 29.1 (C-6), 32.8 (C-12), 37.7 (C-8), 43.8 (C-9), 46.8 (C-13), 54.8 (C-14), 112.9 (C-2), 115.2 (C-4), 123.0 (C-16), 125.9 (C-1), 128.5 (C-3'' y C-5''), 128.7 (C-1''), 129.4 (C-2'' y C-6''), 130.6 (C-10), 131.1 (C-4''), 137.3 (C-5), 142.9 (C-7'), 154.0 (C-2'), 154.5 (C-3), 155.4 (C-3a'), 181.2 (C-17).

HRMS-FAB: (*m/z*): Calculado para C₂₇H₂₇N₄O [M+H]⁺: 423. 2185, encontrado 423.2159.

Glutarato de bis{7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidin-3-ilo} (4)



En un matraz de fondo redondo se disuelven 150mg (0.33 mmol) de materia prima (**11**) en 5 mL CH_2Cl_2 , se adiciona 179.43 mg (1.46 mmol) de DMAP, posteriormente se adicionan 0.2 mL (1.46mmol) de $\text{ClCO}(\text{CH}_2)_3\text{COCl}$ dejando reaccionar por 5 horas. Terminada la reacción se neutraliza con 5mL de una solución saturada de NaHCO_3 , se realiza la extracción con CH_2Cl_2 y se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H_2O (2x10 mL) se seca con MgSO_4 se filtra y se concentra a sequedad. Se purifica por placa preparativa con un sistema (CH_2Cl_2 : MeOH 100:1) para dar **4** como un sólido blanco y **13** como un aceite ámbar

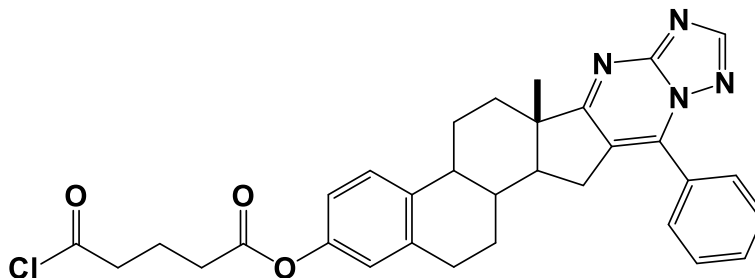
Rendimiento: 30%; $[\alpha]_D^{25} +177(c .1, \text{CHCl}_3)$; p.f. $194^\circ\text{-}196^\circ\text{C}$

^1H RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 1.2 (s, 3H, CH_3 -18), 1.8 (m, 1H, H-6b), 2.0 (m, 1H, H-14), 2.2 (m, 2H, H-3c), 2.4 (m, 1H, H-9), 2.5 (m, 1H, H-6b), 2.7 (m, 2H, H-3b), 2.9 (m, 2H, H-15), 6.8 (d, $J_{4,2} = 3.4$ Hz, 1H, H-4), 6.9 (d, $J_{2,1} = 7$ Hz, $J_{2,4} = 3.4$ Hz, 1H, H-2), 7.4 (d, $J_{1,2} = 7$ Hz, 1H, H-1) 7.6 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 7.8 (m, 2H, H-2'', H-6''), 8.4 (s, 1H, H-2').

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 17.5 (C-18), 20.0 (C-3c), 26.0 (C-11), 27.1 (C-7), 28.9 (C-15), 29.3 (C-6), 29.7 (C-12), 33.2 (C-3b), 37.4 (C-8), 44.2 (C-9), 46.9 (C-13), 54.9 (C-14), 118.8 (C-2), 121.6 (C-4), 122.6 (C-16), 126.3 (C-1), 128.5 (C-3'' Y C-5''), 129.1 (C-1''), 129.6 (C-2'' Y C-6''), 131.1 (C-4''), 137.2 (C-10), 137.8 (C-5), 142.9 (C-7'), 148.5 (C-3), 154.6 (C-2'), 155.8 (C-3a'), 171.7 (C-3a), 180.8 (C-17).

5-cloro-5-oxopentanoato-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-a]pirimidina

(13)



Rendimiento: 30%; $[\alpha]_D^{25} +146$ (c .5, CHCl₃).

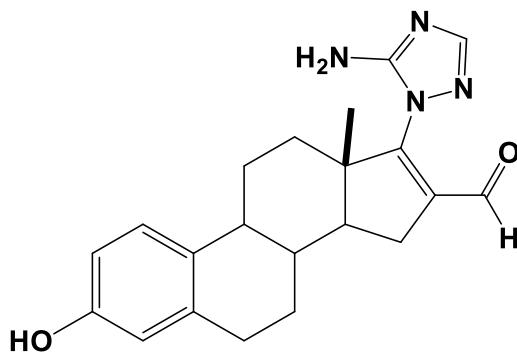
¹H RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 1.2 (s, 3H, CH₃-18), 1.5 (m, 1H, H-6b), 1.7 (m, 1H, H-8), 1.9 (m, 1H, H-14), 2.0 (m, 1H, H-3c), 2.4 (m, 1H, H-9), 2.5 (m, 2H, H-6b), 2.5 (m, 2H, H-12), 2.6 (m, 2H, H-3b) 2.8 (m, 2H, H-15a) 6.8 d, $J_{4,2}=3.4$ Hz., 1H, H-4), 6.8 (dd, $J_{2,1}=6.9$ Hz, $J_{2,4}=3.4$ Hz, 1H, H-2), 7.3 (d, $J_{1,2}=7$ Hz, 1H, H-1), 7.6 (m, 2H, H-3'', H-5'') 7.6 (m, 1H, H-4'') 7.8 (m, 2H, H-2'' y H-6'').

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 17.4 (C-18), 20.1 (C-3c), 25.9 (C-11), 27.1 (C-7), 29.3 (C-15), 29.7 (C-6), 33.0 (C-3b), 33.3 (C-12), 37.4 (C-8), 44.2 (C-3d), 46.8 (C-9), 51.7 (C-13), 54.9 (C-14), 118.8 (C-2), 121.6 (C-4), 122.6 (C-16), 126.3 (C-1), 128.7 (C-3'' y C-5''), 129.2 (C-1''), 129.6 (C-2'' y C-6''), 131.1 (C-4''), 137.3 (C-10), 137.7 (C-5), 142.9 (C-7'), 148.6 (C-3), 154.7 (C-2'), 155.8 (C-3a'), 171.8 (C-3a), 173.3 (C-3e), 180.7 (C-17).

17-{5'-Amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (14) y estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)

En un matraz de fondo redondo de 25 mL se disuelven 100mg (0.31mmol) de materia prima (7) en 2mL de DMF anh en sistema anhidro, después de 10 minutos, se añaden 525.82 mg (0.63mmol) de Cs₂CO₃ y 84.08 mg (0.63mmol) de 3-amino-1,2,4-triazolo, se purga el sistema, dejando reaccionar a 60°C durante 2hrs. Se deja enfriar y lentamente, en agitación, se agrega 1 mezcla de 30 mL de agua-hielo-NaCl, el precipitado se filtra a vacío, el crudo de reacción se lleva a un matraz de fondo redondo, y se adicionan 2 mL de CHCl₃, 2 mL de MeOH, y 4 gotas de HCl concentrado, se ajusta la reacción a 40°C dejando reaccionar por 4 horas. Terminada la reacción se neutraliza con 5 mL de una solución saturada de NaHCO₃. Se extrae con CH₂Cl₂ y se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL). Se purifica por columna con un sistema (CH₂Cl₂: MeOH 100:0.5) obteniéndose **14** como un aceite amarillo y **15** como un aceite amarillo pálido.

17-{5'-amino-[1,2,4]-triazol-il}-16-formilestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol (14)

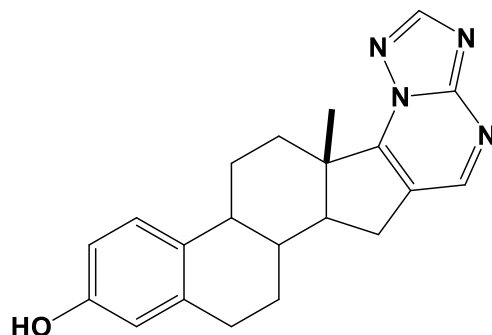


Rendimiento: 27%; $[\alpha]_D^{25} +29.6$ (c 0.1, CHCl₃).

¹H RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ: 0.9 (s, 3H, CH₃-18), 1.2 (s, 1H, H-6), 1.5 (m, 1H, H-15b), 1.6 (m, H, H-3), 1.9 (m, 1H, H-15a), 2.1 (m, 2H, H-11), 2.2 (m, 1H, H-9), 2.3 (m, 1H, H-12), 2.8 (m, 1H, H-6), 4.6 (s, 1H, H OH), 6.6 (d, $J_{4,2} = 3.3$ Hz, 1H, H-4), 6.6 (dd, $J_{2,1} = 6.6$ Hz, $J_{2,4} = 3.3$ Hz, 1H, H-2) 7.1 (d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, 1H, H-1) 8.0 (s, 1H, H-3'), 9.6 (s, 1H, H-16')

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 14.2 (C-18), 24.6 (C-7), 29.5 (C-6), 31.5 (C-15), 31.7 (C-12), 37.8 (C-8), 44.0 (C-9), 48.8 (C-13), 56.9 (C-14), 112.9 (C-2), 115.4 (C-4), 126.3 (C-1), 129.7 (C-16), 131.5 (C-10), 137.9 (C-5), 154.3 (C-17), 155.2 (C-3), 158.5 (C-5'), 163.0 (C-3') 211.3 (C-16').

Estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ol (15)

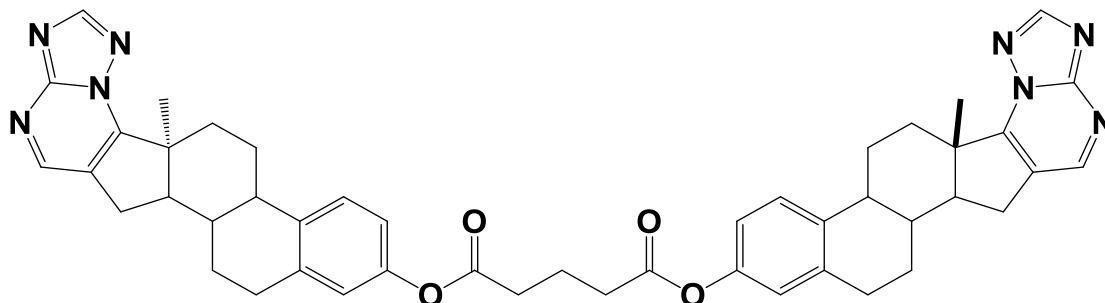


Rendimiento: 46%

^1H RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 1.1 (s, 3H, CH_3 -18), 1.2 (s, 1H, H-6b), 1.4 (m, 1H, H-7a), 1.6 (m, 2H, H-15), 1.7 (m, 2H, H-8), 1.9 (m, 1H, H-7b), 2.0 (H, 2H, H-12) 2.1 (m, 1H, H-14), 2.3 (m, 1H, H-9), 2.8 (m, 1H, H-6a), 3.0 (m, 1H, H-11), 6.5 (d, $J_{4,2} = 3.4\text{Hz}$, 1H, H-4), 6.5 (dd, $J_{2,1} = 6.88\text{ Hz}$, $J_{2,4} = 3.4\text{ Hz}$, 1H, H-2) 7.1 (d, $J_{1,2} = 7.3\text{ Hz}$, 1H, H-1) 8.7 (s, 1H, H-2'), 8.8 (s, 1H, H-5').

^{13}C RMN (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 15. 2 (C-18), 26.0 (C-11), 27.4 (C-7), 28.3 (C-15), 29.4 (C-6), 33.2 (C-12), 37.0 (C-8), 43.8 (C-9), 47.2 (C-13), 55.4 (C-14), 113.3 (C-2), 115.5 (C-4), 124.3 (C-16), 126.4 (C-1), 130.3 (C-10), 137.5 (C-5), 152.7 (C-5'), 155.6 (C-3a'), 155.7 (C-3), 156.6 (C-2'), 159.1 (C-17).

Glutarato de bis{estra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d]triazolo[1,5-b]pirimidin-3-ilo} (5)



En un matraz de fondo redondo de 25 mL se disuelven 50mg (0.14 mmol) de materia prima (**15**) en 5 mL CH₂Cl₂, se adiciona 35.26 mg (0.28 mmol) de DMAP, posteriormente se adicionan 0.1 mL (0.28mmol) de ClCO(CH₂)₃COCl dejando reaccionar por 5 horas. Terminada la reacción se neutraliza con 5mL de un solución saturada de NaHCO₃ se realiza la extracción con CH₂Cl₂ y se lava con una solución saturada de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL) se seca con MgSO₄ se filtra y se concentra a sequedad. Se purifica cromatografía en columna con un sistema (CH₂Cl₂:MeOH 100:0.5) para dar **16** como un aceite café.

Rendimiento: 23%; $[\alpha]_D^{25} +100.5(c\ 0.1, CHCl_3)$

¹H RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ : 1.2 (s, 3H, CH₃-18), 1.9 (m, 2H, H-12), 2.0 (m, 1H, H-3c), 2.2 (m, 1H, H-14), 2.4 (m, 1H, H-8), 2.4 (m, 1H, H-3b), 2.7 (H, 1H, H-15b) 2.9 (m, 1H, H-6), 6.8 (d, $J_{4,2} = 3.4\text{Hz}$, 1H, H-4), 6.9 (dd, $J_{2,1} = 6.88\text{ Hz}$, $J_{2,4} = 3.4\text{ Hz}$, 1H, H-2) 7.32 (d, $J_{1,2} = 7.3\text{ Hz}$, 1H, H-1) 8.52 (s, 1H, H-2'), 8.7 (s, 1H, H-5').

¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ : 15.1 (C-18), 20.1 (C-3c), 25.8 (C-11), 27.3 (C-7), 29.1 (C-15), 29.9 (C-6), 33.1 (C-3b), 33.5 (C-12), 44.2 (C-8), 47.5 (C-9), 51.8 (C-13), 56.0 (C-14), 119.0 (C-2), 121.8 (C-4), 123.8 (C-16), 126.3 (C-1), 129.9 (C-10), 136.7 (C-5), 147.6 (C-5') 150.8 (C-3), 155.2 (C-2'), 158.3 (C-17), 167.9 (C-3a') 173.5 (C-3a).

CAPITULO VI

CONCLUSIONES



- Se desarrolló la optimización de los rendimientos para la reacción Vilsmeier-Haack, encontrando las condiciones favorables para obtener el carbonílico- α,β -insaturado- β -clorado intermediario en la síntesis de compuestos con heterociclos de aminopirimidina sobre el anillo D del esteroide.
- Se obtuvo el carbonílico- α,β -insaturado intermediario en la síntesis de los compuestos esteroidales con heterociclos de triazolopirimidinas
- Formación de los dímeros con los compuestos antes obtenidos.
- Se propusieron 2 rutas sintéticas para la obtención de dímero esteroidal **3**, siendo la segunda ruta la que generó mejor rendimiento.
- Todos los productos obtenidos fueron purificados, caracterizados física y espectroscópicamente.
- Se generaron 8 nuevas estructuras derivadas de estrona.
- Se realizaron pruebas de actividad antiproliferativa de algunos compuestos obtenidos.