



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Químicas

**“Síntesis de derivados esteroidales de interés
biológico a partir de estrona”**

**Tesis que para obtener el título de:
Maestría en Ciencias Químicas**

Presenta

L.F Diana Clara Martínez López

Directora de Tesis
Dra. Sara Montiel Smith

Co- Director de Tesis
José Luis Vega Báez

El presente trabajo de tesis se realizó en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. Sara Montiel Smith y el Dr. José Luis Vega Báez, con el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT) a través de la beca nacional a nivel maestría con número (CVU/Becario) 1173762 y número de apoyo 816230.

Parte de los resultados obtenidos en este proyecto de tesis fueron presentados en:

- Diana Clara Martínez López, Sara Montiel Smith, José Luis Vega Báez. Síntesis de derivados esteroidales de interés biológico a partir de estrona. XXVII Simposio Interno del Posgrado en Ciencias Químicas BUAP. Puebla, Puebla, México del 7 al 10 de noviembre de 2022.
- Diana Clara Martínez López, Ensayos para la síntesis y estudios *in silico* de un derivado esterooidal de tipo pirimidínico de interés biológico, en Exposición de Carteles “La Mujer y la Niña en la Ciencia.” Facultad de Ciencias Químicas BUAP, Puebla, Puebla, México, 10 de febrero de 2023.
- Diana Clara Martínez López, Mónica Martínez Montiel, José Luis Vega Báez, Penélope Merino Montiel, Sara Montiel Smith. Síntesis de derivados esteroidales de interés biológico a partir de estrona. XVIII Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Monterrey, Nuevo León, México, 12 y 13 de octubre de 2023.
- Diana Clara Martínez López, Mónica Martínez Montiel, José Luis Vega Báez, Penélope Merino Montiel, Sara Montiel Smith. Síntesis de nuevos derivados esteroidales de tipo amino-alcohol de interés biológico. LatinXChem Twitter conference 2023. Póster, 16 y 17 de octubre de 2023.
- Diana Clara Martínez López, Sara Montiel Smith, José Luis Vega Báez. Síntesis de derivados esteroidales de tipo amino-alcohol y 1,2,3-triazol de interés biológico a partir de estrona. Ponencia XXVIII Simposio Interno del Posgrado en Ciencias Químicas BUAP. Puebla, Puebla, México del 13 al 16 de noviembre de 2023.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Dra. Sara Montiel Smith y Dr. José Luis Vega Báez por su guía y apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

A los miembros de la comisión revisora, por su dedicación a la lectura de mi manuscrito y sus valiosas contribuciones a esta tesis.

Dra. Blanca Iris Colín Lozano

Dra. Laura Leticia Romero Hernández

Dra. Roxana Martínez Pascual

Dra. Penélope Merino Montiel

A CONAHCYT por la beca otorgada con el número de apoyo 816230.

DEDICATORIAS

A mis papás, Adelfa López y Adolfo Martínez, por su amor infinito y su apoyo incondicional, por siempre guiarme en el camino a mis sueños y mis metas acompañándome en cada paso que doy, siendo mi soporte sin importar las circunstancias, gracias a ustedes porque sin ustedes no hubiera logrado lo que hasta el momento he sido capaz de alcanzar, merecen siempre lo mejor en la vida, todo mi amor y sobre todo, mi admiración.

A mi hermana Elizabeth, por cuidarme como lo hace, por quererme, apoyarme y darme ánimos cuando siento que las cosas no están yendo como deberían, agradezco que no me dejes sola en cada paso que doy y compartir tanto mis alegrías y tristezas.

A Ulises, a quien agradezco sus consejos en todo momento y por su apoyo incondicional como un hermano mayor.

A Aldo, por ser parte importante de mi vida, por apoyarme tanto en la vida académica, así como en lo personal, por esos casi 10 años de amistad y que sin importar el tiempo ni las circunstancias seguimos siendo amigos.

Al Dr Gustavo, gran amigo, sus palabras de aliento y sus consejos fueron parte fundamental en este camino, por enseñarme la fortaleza y resiliencia.

A mis amigas del laboratorio: Rosa, por guiarme en las buenas prácticas de laboratorio, darme consejos y estar ahí cuando lo necesito; Elvia, por animarme tanto en la práctica como en las clases, por esas risas y perspectivas de vida y a Mónica, por el apoyo dentro y fuera del laboratorio, a las tres por esas risas que siempre me regalaron y preocuparse en todo momento por mí.

INDICE	5
ABREVIATURAS Y SIGLAS	7
RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	12
ANTECEDENTES	17
2.1 Química Heterocíclica.....	17
2.1.1 Compuestos de tipo pirimidínicos.....	17
2.1.2 Derivados triazoles	22
2.1.3 Compuestos de tipo aminoalcohol.....	27
2.1.4 Cáncer	30
2.1.5 Estudios <i>in silico docking</i> molecular	36
OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo General	38
3.2 Objetivos Particulares.....	38
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
5.1 Ruta sintética A: Pirimidinas	39
5.1.1 Síntesis de pirimidinas esteroidales por reacción tipo <i>one-pot</i>	39
5.2 Ruta sintética B: Aminoalcoholes	43
5.2.1 Síntesis de 17 α -(N-1 α -feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6a).....	46
5.2.2 Síntesis de 17 α -(N-1 β -feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6b).....	48
5.2.3 Síntesis de 17 α -imidazolmetil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6c).....	52
5.2.4 Síntesis de 17 α -(bencilamino)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6d)	54
5.2.5 Síntesis de 17 α -(1,2,4-triazol-3-il)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6e)	57
5.2.6 Síntesis de 17 α -(2-aminofenil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6f)	60
5.2.7 Síntesis de 17 α -(4-fluoranilina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6h)...	63
5.2.8 Síntesis de 17 α -(4-fluorbencilamina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6i)	65

5.2.9 Ensayos para la síntesis de los compuestos 6j, 6k, 6g, 6l.....	67
5.3 Ruta sintética C: Síntesis de triazoles.....	71
5.3.1 17 α -(4-fenil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8a).....	71
5.3.2 17 α -(4-hidroximetil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8b).....	75
5.3.4 Ensayos con bromuro de propargilo y propargilamina.....	78
6.1 Métodos <i>in silico</i>	78
6.1.1 Predicción de perfiles farmacocinéticos	78
6.1.2 Análisis de propiedades biofarmacéuticas y farmacocinéticas.....	87
6.1.3 Análisis admetSAR.....	92
6.1.4 Análisis de datos con el programa PASS Online	97
6.1.5 Predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred	101
6.1.6 Análisis de datos con el programa SwissTarget.....	107
7.1 <i>Docking</i> molecular.....	110
DESARROLLO EXPERIMENTAL	119
Equipo y técnicas utilizadas para la síntesis	119
Técnicas utilizadas para el <i>docking</i> molecular.....	120
3- <i>O</i> -bencilestrone (2).....	121
(17 <i>S</i>)-espiro[3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17,2'-oxirano] (3)	122
17 α -(<i>N</i> -feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6a).....	123
17 α -(<i>N</i> -feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6b)	124
17 α -imidazolmetil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6c).....	125
17 α -(bencilamino)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6d)	126
17 α -(1,2,4-triazol-3-il)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6e).....	127
17 α -(2-aminofenil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6f).....	128
17 α -(4-fluoranilina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6h).....	129
17 α -(4-fluorobencilamina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6i).....	130
17 α -azidometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (7)	131
17 α -(4-fenil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8a).....	132
17 α -(4-hidroximetil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8b)	133

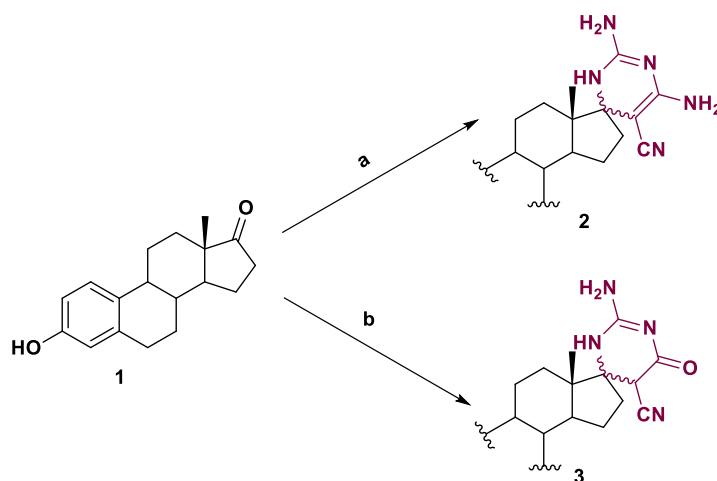
ABREVIATURAS Y SIGLAS

AcOEt	Acetato de etilo
MeCN	Acetonitrilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ASD	Androstenediona
Å	Ángstrom
BnBr	Bromuro de Bencilo
CuAAC	Cicloadición azida-alquino catalizada por cobre
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
CCF	Cromatografía en Capa Fina
δ	Desplazamiento químico
dd	Doble de doble
2D	Dos dimensiones
EtOH	Etanol
R.F.	Factor de retención
Hz	Hertz
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
Hex	Hexano
FSH	Hormona folículo estimulante
IR	Infrarrojo
IAs	Inhibidores de la aromatasa
m.p	Materia prima
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
mmol	Milimol
MD	Molecular Dinamic
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMF	<i>N</i> -Dimetil formamida
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón

QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship
MCR	Reacciones multicomponente
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
d	Señal doble
m	Señal múltiple
s	Señal simple
S _N 2	Sustitución Nucleofílica Bimolecular
t.a	Temperatura ambiente
TST	Testosterona
VS	Virtual Screening
<i>c</i>	Concentración
p.f	Punto de fusión
s	Simple

En el presente trabajo de tesis de maestría se describe la síntesis de nuevos derivados esteroidales con probable actividad antiproliferativa en diferentes dianas terapéuticas. Debido a la importancia de la química heterocíclica, se proponen dos rutas sintéticas a partir de estrona para la obtención de derivados esteroides conteniendo heterociclos pirimidínicos de tipo espiro y 1,2,3-triazoles en posición C-17, además de una tercera ruta para la obtención de derivados de tipo aminoalcohol con sustituyentes arilo y heterocíclicos.

En primer lugar, se presenta la metodología para la síntesis de compuestos de tipo pirimidínicos (ruta A) basada en la ruta establecida por Balalaie y colaboradores,¹ mediante una reacción tipo *one-pot* Knoevenagel/Michael/ciclocondensación con tres componentes importantes: malononitrilo, carbonato de guanidina y estrona **1**, para la obtención de **2**. Se presenta también la variante utilizando cianoacetato de metilo en lugar de malononitrilo para generar el compuesto análogo **3**. (Esquema 1)

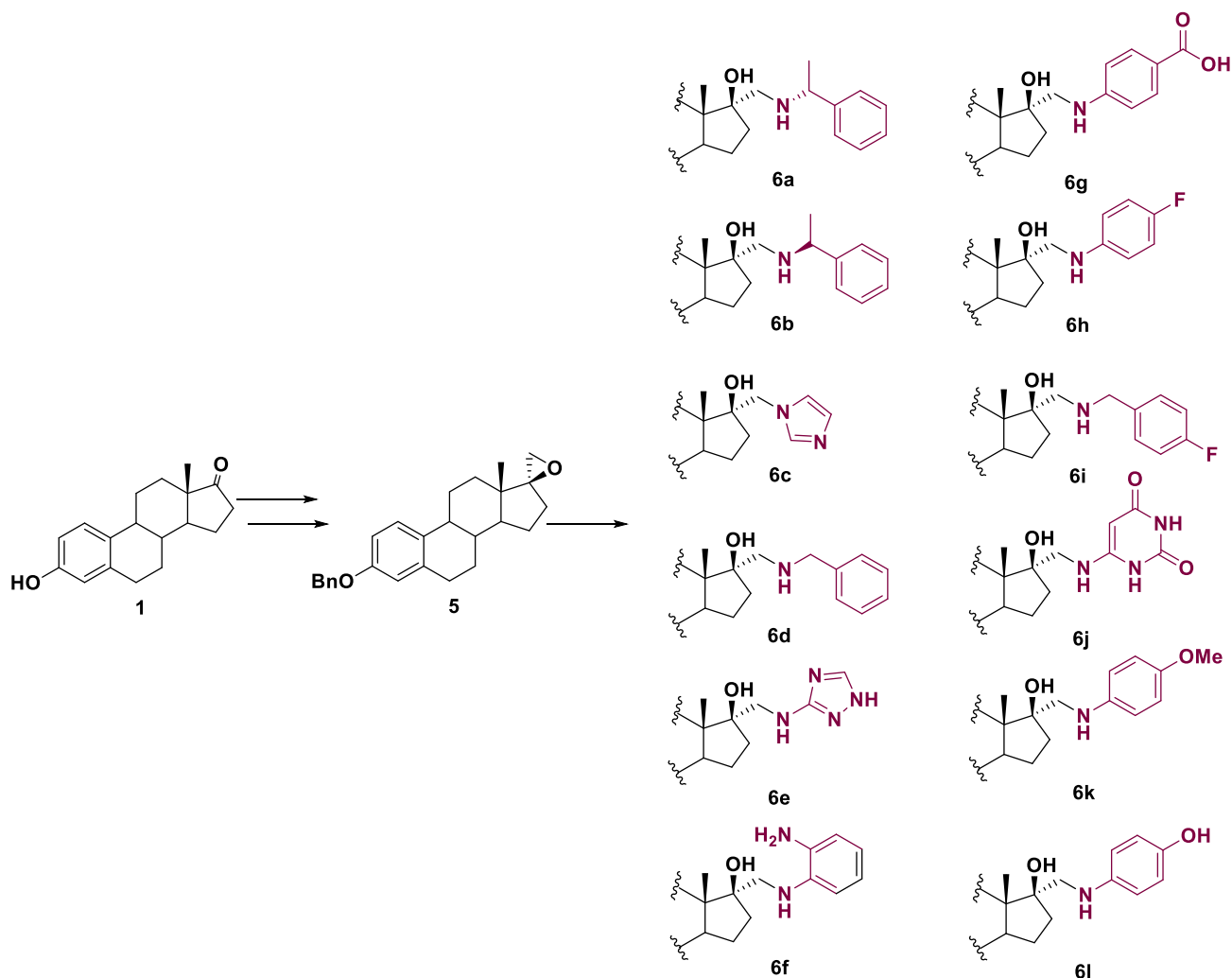


- a) Malononitrilo, Carbonato de Guanidina, MeOH, Reflujo
b) Cianoacetato de metilo, Carbonato de Guanidina, MeOH, Reflujo

Esquema 1. Síntesis de derivados esteroidales de tipo espiro-pirimidina y espiro-pirimidona, ruta A.

¹ Balalaie, S.; Moghimi, H.; Bararjanian, M.; Rominger, F.; Bijanzadeh, H.; Sheikahmadi, M. *J. Heterocyclic Chem.* **2013**, *50*, 1304-1312.

Por otro lado, se presenta la preparación de derivados nitrogenados a partir de la estrona **1** con modificación en el C-17, aplicando metodologías optimizadas por nuestro grupo de investigación.^{2,3} Inicialmente se obtuvo el oxirano **5** en C-17 de manera estereoselectiva, posteriormente, a través de la apertura del epóxido **5** se logró la unión de anillos de tipo triazol e imidazol, así como de otros sustituyentes nitrogenados con sustituyentes arilo ya que, de acuerdo con la literatura, los derivados de este tipo presentan buen potencial en su actividad antiproliferativa. De esa manera se ensayaron las metodologías óptimas para llevar a cabo la transformación a los compuestos **6a-6l** (Esquema 2) con diferentes aminas.

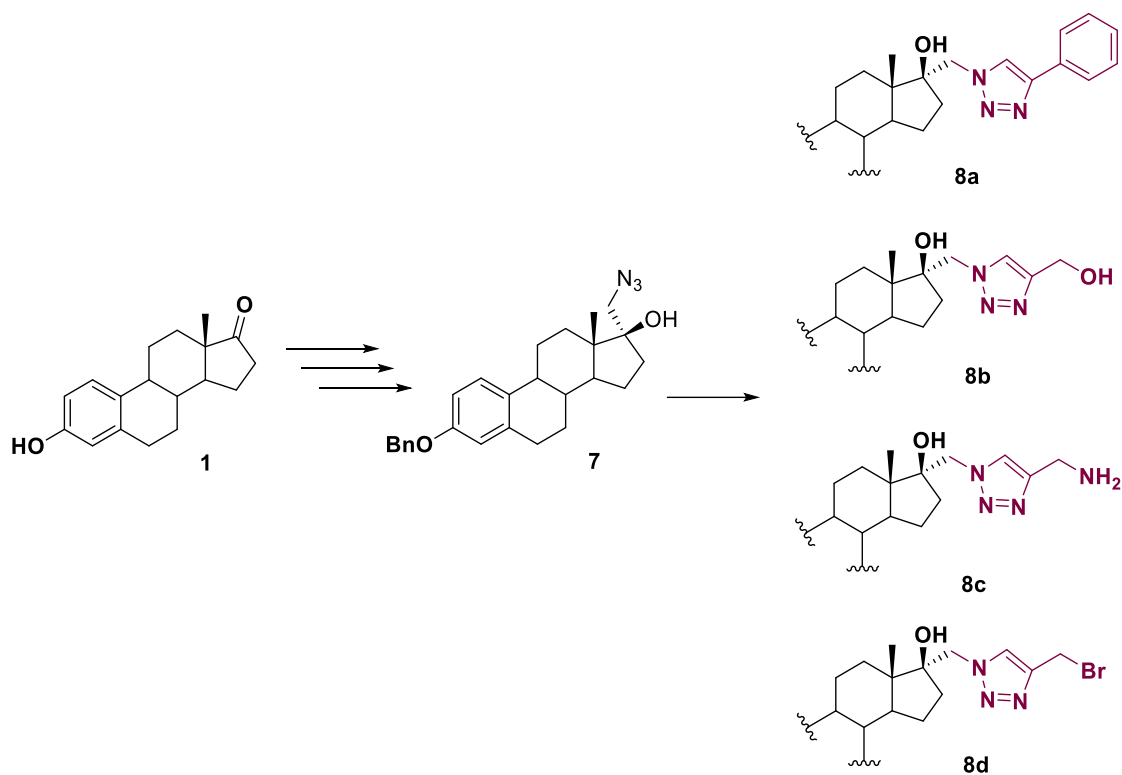


Esquema 2. Obtención de derivados de la estrona unidos a un fragmento nitrogenado.

² Romero, L.; Merino, P.; Meza, S; Vega, J.; López, Ó.; Padrón, J.; Montiel, S. *Eur. J. Med. Chem*, **2018**, *143*, 21-32.

³ Cobos, L.; Romero, L.; Mastranzo, E; Colín, B.; Puerta, A.; Padrón, J.; Merino, P.; Vega, J.; Montiel, S. *Steroids*, **2023**, *192*, 109173.

Finalmente se llevó a cabo la síntesis de derivados 1,2,3-triazoles esteroidales, por medio de una reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC), reacción perteneciente a la denominada química *click*. Partiendo de la azida de estrona **7** (ruta C), se logró obtener **8a** y **8b** con rendimientos moderados, no obstante, no se lograron encontrar las condiciones adecuadas para la síntesis de los compuestos **8c** y **8d**.



Esquema 3. Obtención de derivados de la estrona de tipo 1,2,3-triazol.

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo,⁴ siendo así un importante problema para la salud pública tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo.⁵ Se espera que el número de casos y muertes por cáncer crezca rápidamente a medida que las poblaciones crecen, envejecen y adoptan estilos de vida que aumentan el riesgo, así como los factores de origen ambiental que inducen el cáncer.⁶ De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es el término utilizado para designar un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo, siendo una característica definitoria el proceso llamado metástasis, el cual, se define como la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos.⁷ Es por ello que, un enigma para la medicina del cáncer, radica en su complejidad y variabilidad, en todos los niveles de consideración.⁸

Los tratamientos actuales contra el cáncer incluyen intervención quirúrgica, radiación y medicamentos quimioterapéuticos, que a menudo matan las células sanas y provocan toxicidad en los pacientes. Por lo tanto, los investigadores están buscando formas de poder eliminar sólo las células cancerosas.⁹ La quimioterapia contra el cáncer, que emplea fármacos anticancerígenos citotóxicos o citostáticos, se basa en la teoría de que las células que proliferan rápidamente suelen ser más sensibles a estos fármacos que las normales. Sin embargo, los graves efectos secundarios habitualmente identificados, algunos de los cuales ponen en peligro la vida, demuestran que la quimioterapia es una labor complicada. Por otra parte, se ha observado que las células cancerosas con frecuencia desarrollan resistencia a múltiples fármacos, lo que lleva a las quimioterapias ser no efectivas. De esta forma, se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos citotóxicos 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 lo tanto, pueden representar

⁴ Torre, L.; Siegel, R.; Ward, E.; Jemal, A. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2016**, *25*, 16-27.

⁵ Shoeb, M. *Bangladesh J. Pharmacol*, **2006**, *1*, 35-41.

⁶ Bray, F.; Ferlay, M.; Laversanne, D.; Brewster, C.; Mbalawa, G.; Kohler, B.; Piñeros, M.; Steliarova, E.; Swaminathan, R.; Antoni, S.; Soerjomataram, I.; Forman, D. *J. Cancer*, **2015**, *137*, 2060-2071.

⁷ Organización mundial de la Salud (OMS). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> .

Actualizado el 2 de febrero del 2022. Consultado el 16 de febrero de 2024, 08:30p.m.

⁸ Hanahan, D.; Weinberg, R. *Cell*, **2000**, *1*, 57-70.

⁹ Zaimy, M.; Saffarzadeh, N.; Mohammadi, A.; Pourghadamyari, H.; Izadi, P.; Sarli, A.; Moghaddam, L.; Paschepari, S.; Azizi, H.; Torkamandi, S.; Tavakkoly, B. *Cancer. Gene. Ther.*, **2017**, *24*, 233-243.

estructuras útiles para el descubrimiento, diseño y síntesis de nuevas moléculas. Dentro de las fuentes disponibles de metabolitos bioactivos estructuralmente encontramos a las plantas y los microorganismos, tales metabolitos son estructuralmente diversos y por tanto poseen propiedades anticancerígenas e incluso hoy en día, comprenden una gran parte de las moléculas anticancerígenas disponibles para uso clínico o desarrollo de fármacos.¹⁰

Los esteroides son derivados del sistema ciclopentano perhidrofenantreno y poseen tres anillos condensados en el sistema fenantreno. Es una clase diversificada de compuestos que se pueden dividir en una serie de compuestos derivados de las estructuras básicas típicas de los esteroides (Figura 1).

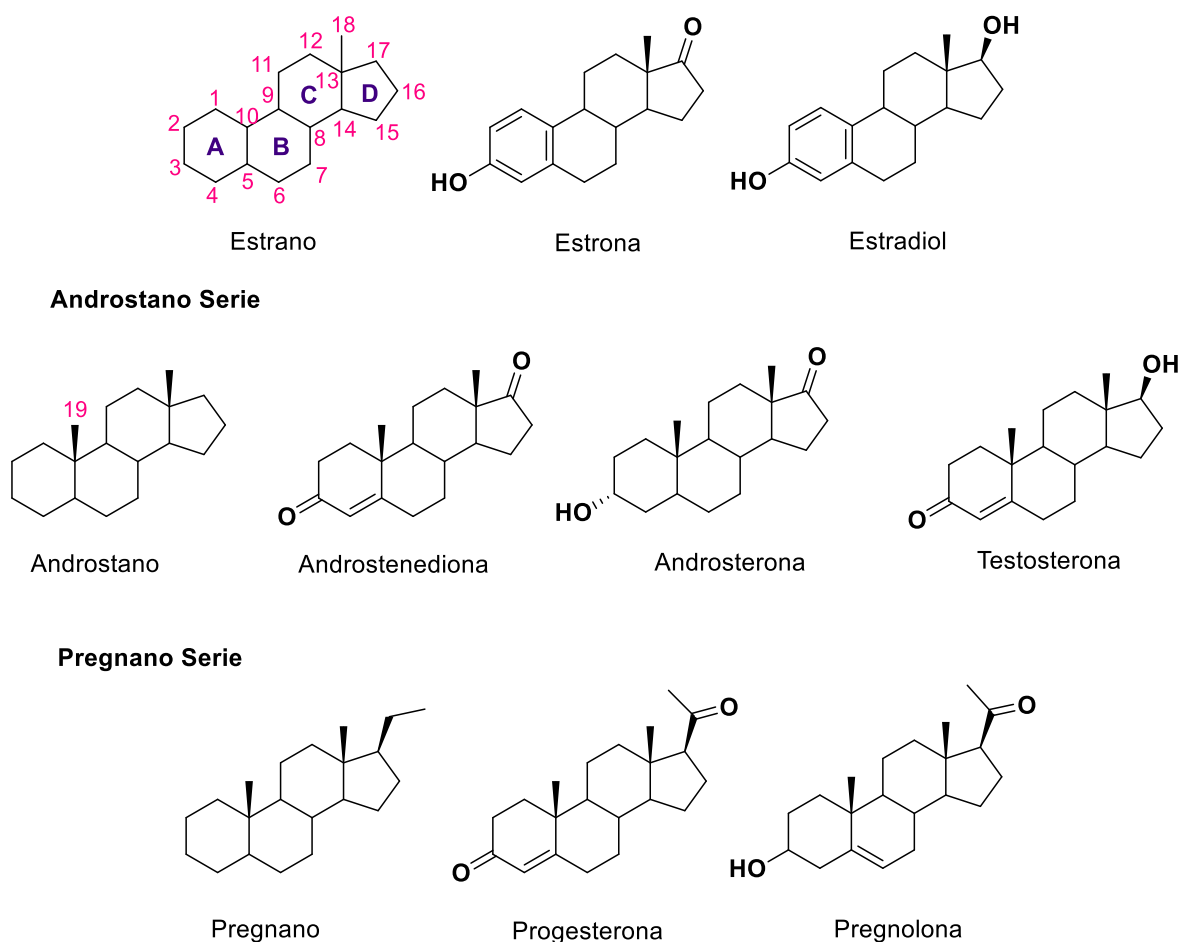


Figura 1. Series de compuestos de esteroides.

¹⁰ Salvador, A.; Calvalho, F.; Neves, A.; Silvestre, M.; Leitao, J.; Silva, M.; Sá e Melo, L. *Nat. Prod. Rep.*, **2013**, *30*, 324-325.

Los esteroides, son un grupo de moléculas biológicamente activas que se encuentran ampliamente en el reino vegetal y animal, desempeñando un papel importante en los sistemas biológicos.¹¹ Estos compuestos esteroidales son responsables de importantes funciones biológicas en las células: los derivados de las series estrano, androstano y pregnano muestran diversas actividades hormonales; los cardenólidos se utilizan para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca; y los ácidos biliares son esenciales para la digestión y absorción de lípidos. Los esteroides son componentes importantes de las membranas celulares, esenciales para su estabilidad, crecimiento y proliferación celular, además son los precursores de los ácidos biliares y los esteroides hormonales.¹²

Las moléculas pequeñas que contienen una estructura esteroide poseen una amplia gama de actividades farmacológicas (por ejemplo, antioxidante, neuroprotectora y antihipercolesterolemia), independientemente de sus estructuras químicas altamente conservadas y de su acción hormonal. (p. ej., glucocorticoides, mineralocorticoides y esteroides gonadales). Recientemente, algunos estudios han utilizado derivados naturales y sintéticos para desarrollar nuevos agentes preventivos o terapéuticos para aplicaciones clínicas en el tratamiento del cáncer,¹³ es por ello que pequeños cambios en las funcionalidades adjuntas al esqueleto de los esteroides pueden generar cambios drásticos en su actividad biológica, esto ha llevado a los químicos sintéticos a realizar modificaciones estructurales en los esteroides.¹⁴ Una modificación importante dentro de los compuestos esteroideos ha sido el reemplazo, la inserción de uno o más átomos de carbono o la incorporación de un heterociclo, lo cual modifica sus propiedades químicas y biológicas, desempeñando un papel crítico en la construcción de nuevos derivados activos para productos farmacéuticos. Varios esteroides con restos heterocíclicos (por ejemplo, con anillos de imidazol, pirazol, isoxazol, tiazol y oxazol) en C-17 han mostrado propiedades biológicas interesantes. Por otro lado, los triazoles esteroidales unidos a C-17 poseen actividad hacia líneas celulares de cáncer de mama y próstata.¹⁵ Así el 17 β -estradiol y los estrógenos estructuralmente relacionados poseen propiedades anticarcinógenas y neuroprotectoras.¹⁶ Abdel-

¹¹ Carrilho, Rui.; Pereira, M.; Moreno, M.; Takács, A.; Kollár, L. *Tetrahedron Lett*, **2013**, *54*, 2763–2765.

¹² Sedlacek, L. *Crit. Rev. Biotechnol*, **1988**, *7*, 187-236.

¹³ Dey, P.; Kundu, A.; Chakraborty, H.; Kar, B.; Choi, W.; Lee B.; Bhakta, T.; Atanasov, A.; Kim, H. *Int J Cancer*, **2019**, *145*, 1731-1744.

¹⁴ Nahar, L.; Sarker, S.; Turner, A. *Curr. Med. Chem*, **2007**, *14*, 1349-1370.

¹⁵ Marija N. S.; Andrea R. G.; Janos J. C.; Evgenija A. D.; Olivera K.; Vesna K.; Gordana B.; Katarina M.; Penov G., *Tetrahedron Lett*. **2009**, *50*, 4107–4109.

¹⁶ Eszter, T.; Zoltán, B.; Viktor, H.; Sándor, M.; László, K.; Rita. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4659–4663.

Galil *et al.* demostraron que los derivados heterocíclicos y esteroides sustituidos actúan como analgésicos, anticonvulsivantes y con actividad antimicrobiana. Por ejemplo, los derivados de cianopiridona y tiopiridina (Figura 2) mostraron actividad como agentes antimicrobianos y anticancerígenos.¹⁷ Además, las actividades androgénicas, anabólicas, y anti-inflamatorias de muchos derivados esteroides heterocíclicos han sido reportadas.

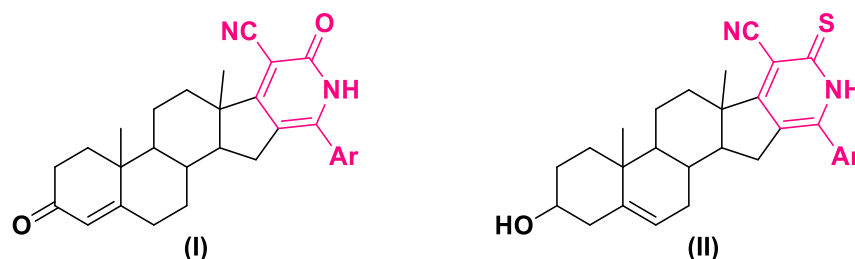


Figura 2. Nuevos compuestos heterocíclicos que contienen anillos de cianopiridona (I) y tiopiridina (II) fusionado al núcleo esteroidal.

Además, derivados esteroidales con sustituyentes que contienen nitrógeno en el anillo D ya se están utilizando en la práctica médica o están siendo sometidos a ensayos clínicos como medicamentos anticancerígenos, antifúngicos y antiparasitarios. Los avances en el desarrollo de estos derivados se deben en gran medida a los logros de la ciencia fundamental moderna, es decir, el descubrimiento de dianas moleculares para la lucha contra las patologías antes mencionadas. Actualmente se han desarrollado métodos de intervención farmacológica en enfermedades oncológicas de la próstata (inhibición de la 17α -hidroxilasa-17,20-liasa (CYP17) y de mama (inhibición de la aromatasas (CYP19), así como enfermedades infecciosas como la malaria (inhibición de la 24-esterol metiltransferasa (SMT). Así es como se han desarrollado farmacóforos de derivados esteroides que contienen los requisitos necesarios en su estructura para poseer actividad inhibitoria de CYP17 (Figura 3).¹⁸

De ahí la importancia del desarrollo y diseño de rutas químicas para la obtención de nuevos derivados esteroidales que permitan estudiar su posible actividad biológica.

¹⁷ Abdel-Galil, E. Amr.; Mohamed M. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4341–4352.

¹⁸ Stulov, S.; Misharin, A. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2013**, *48*, 1431–1472.

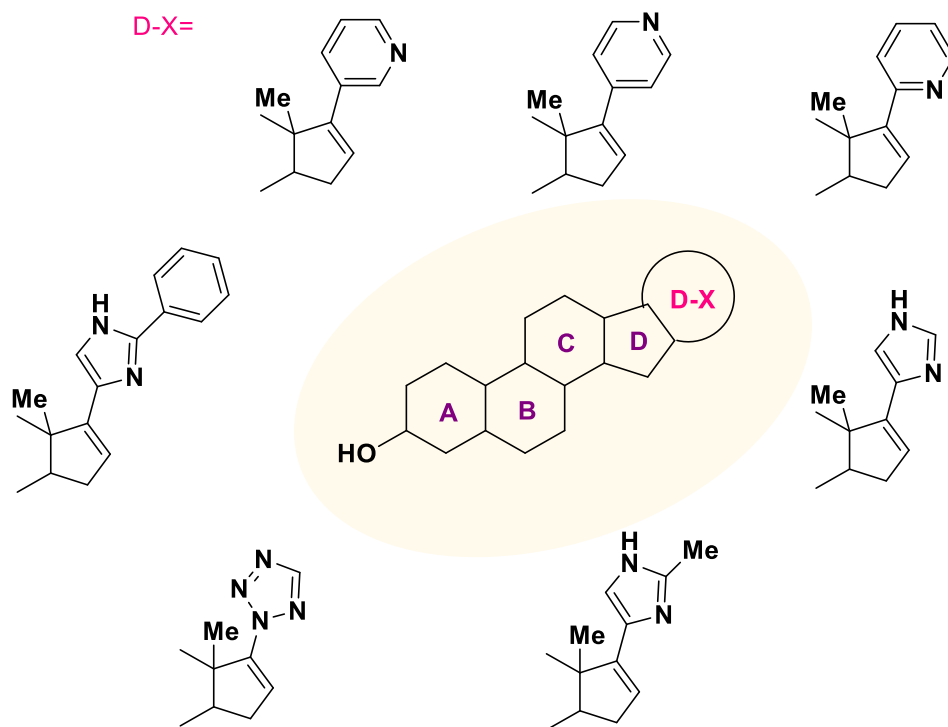


Figura 3. Derivados esteroideos con heterociclos unidos al C-17 del núcleo esteroideo que presentan inhibición en CYP17.

2.1 Química Heterocíclica

Los compuestos heterocíclicos, como uno de los compuestos orgánicos más importantes dentro de la química orgánica, están frecuentemente presentes en moléculas de interés para la química medicinal. Entre ellos, los heterociclos que contienen un átomo de nitrógeno son de gran importancia para las ciencias de la vida, debido a su abundancia en la naturaleza.¹⁹ Existen como subunidades en varios productos naturales, por ejemplo vitaminas, hormonas y antibióticos.²⁰ Por otra parte, la química heterocíclica es una de las fuentes más valiosas de compuestos novedosos con actividad biológica diversa, principalmente debido a la capacidad única de los compuestos resultantes para imitar la estructura de los péptidos y unirse de manera reversible a las proteínas.²¹ Para los químicos medicinales, la verdadera utilidad de las estructuras heterocíclicas es la capacidad de sintetizar una biblioteca basada en una estructura central y detectarla frente a una variedad de receptores diferentes, produciendo varios compuestos activos, de esa manera se pueden diseñar combinaciones casi ilimitadas de estructuras heterocíclicas fusionadas, lo que da como resultado estructuras novedosas con las más diversas propiedades físicas, químicas y biológicas.²² Así la mayoría de los fármacos pertenecen a la clase de compuestos heterocíclicos. Los compuestos heterocíclicos desempeñan un papel vital en el metabolismo de todas las células vivas, principalmente, compuestos heterocíclicos de cinco y seis miembros que tienen de uno a tres heteroátomos en su núcleo. Los compuestos pueden ser, por ejemplo, bases de pirimidina y purina del ADN, además, pueden ser sistemas heterocíclicos aislados, unidos o fusionados.²³

2.1.1 Compuestos de tipo pirimidínicos

La pirimidina es un anillo heterocíclico básico que contiene nitrógeno, fácilmente soluble en agua y su solución acuosa es débilmente básica. Los derivados de pirimidina: citosina, timina y uracilo son tres de las cinco nucleobases que componen el material genético,²⁴ los cuales desempeñan un papel importante en los proyectos de descubrimiento de fármacos, porque tienen una importancia farmacológica y química considerable. La pirimidina, que es una parte integral del

¹⁹ Majid, M.; Heravi, I.; Vahideh, Z., *RSC. Adv.* **2020**, *10*, 44247-44311.

²⁰ Ferreira, P.; Maia, H.; Monteiro, L. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4491-4493.

²¹ Kaushik, N; Kaushik, N.; Attri, P.; Kim, C.; Verma, A.; Choi, E. *Molecules*, **2013**, *18*, 6620-6662.

²² Franzén, R., *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 195-214.

²³ Saini, M.; Kumar, A.; Dwivedi, J.; Singh, R. *Int. J. Pharma. Sci. Res.*, **2013**, *4*, 66-77.

²⁴ Zhuang, J. *Chem Med Chem*, **2020**, *15*, 1875-1886.

ADN y el ARN y confiere diversas propiedades farmacológicas, tiene un amplio potencial biológico en el campo de la terapia con medicamentos, como terapias anticancerígenas, antivirales, antimicrobianas, antiinflamatorias, analgésicas, antioxidantes y antipalúdicas, algunos ejemplos se observan en la Figura 4.²⁵ Las pirimidinas sustituidas en posición 4, o 5 se encuentran biológicamente activas en compuestos naturales como el voriconazol y avitriptán.²⁶ Como ejemplo de fármacos que contienen pirimidinas dentro de su estructura se encuentran a los inhibidores de la tirosina quinasa, los cuales tienen capacidad para interactuar con varias enzimas de la misma proteína, así como con algunas de sus variables mutantes. Otros ejemplos son los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que aprovechan el mayor tiempo de residencia en EGFR mediante la alquilación de Cys797.²⁷

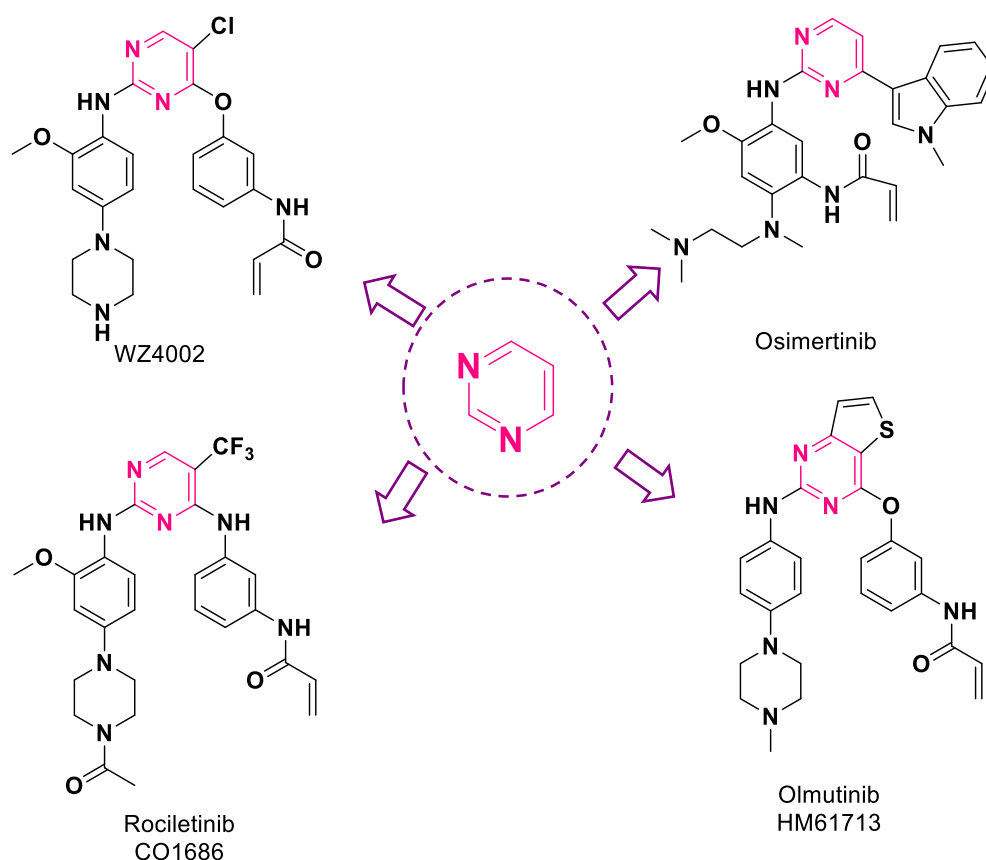


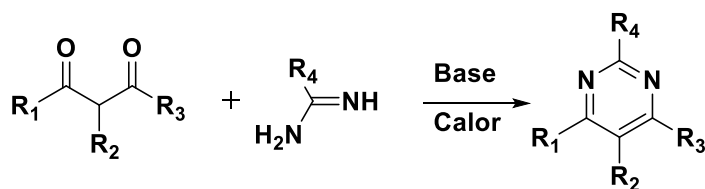
Figura 4. Estructuras de fármacos que contienen en su estructura un anillo de pirimidina.

²⁵ Marepu, N.; Yeturu, S., Pal, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2018**, *28*, 3302-3306.

²⁶ Gore, R., Rajput, A. *Drug Invention Today*, **2013**, *5*, 148-152.

²⁷ Ayati, A.; Moghimi, S.; Toolabi, M.; Foroumadi, A. *Eur. J. Med. Chem.*, **2021**, *211*, 113523-113542.

La subestructura de pirimidina se encuentra en productos naturales, productos farmacéuticos y materiales funcionales. La mayoría de las rutas para la síntesis de esta familia de azaheterociclos implican estrategias basadas en la condensación de aminas y compuestos carbonílicos.²⁸ La síntesis más favorecida para la obtención de las pirimidinas había sido la síntesis de Pinner, resultado de la condensación entre una urea o amidina y un derivado 1,3-dicarbonílico (Esquema 4), obteniendo una amplia variedad de pirimidinas sustituidas. Sin embargo, las condiciones de reacción drásticas, así como los bajos rendimientos, han incentivado el estudio de una amplia gama de estrategias para construir el anillo pirimidínico.²⁹



Esquema 4. Síntesis clásica de Pinner.

Es por ello, que el principal desafío del descubrimiento moderno de fármacos, es diseñar una secuencia de reacciones químicas altamente eficientes que proporcionen moléculas que contengan la máxima complejidad y diversidad estructural con bioactividad interesante en un número mínimo de pasos sintéticos. El método tradicional de aumentar las condiciones de reacción química como el uso de alta temperatura, ácidos o bases, muchas veces no da los resultados deseados. Estos métodos tradicionales suelen actuar de forma no selectiva, aumentando el número de reacciones secundarias que conducen a la formación de distintos productos y a la generación de una gran cantidad de residuos.³⁰

2.1.1.1 Compuestos de tipo pirimidínicos esteroidales

Durante las últimas décadas, los esteroides que llevan heterociclos fusionados al anillo A o D del esqueleto esteroide continúan atrayendo gran interés farmacéutico ya que muchos de estos heteroesteroides poseen actividades biológicas generalizadas.³¹ Siguiendo los modelos naturales de los últimos años, se ha informado que numerosas moléculas que poseen una fracción de pirimidina exhiben un amplio espectro de actividades biológicas como anticancerígenas,

²⁸ Movassagh, M., D. Hill, *M. J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14254-14255

²⁹ Cortés, P. M., Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, octubre **2021**

³⁰ Ivantsova, M.; Tokareva, M.; Mironov, M., *Chem. heterocycl. compounds.*, **2012**, 48, 584-600

³¹ Huang, L.; Zheng, Y.; Song, C.; Wang, Y.; Xie, Z.; Lai, Y.; Lu, Y.; Liu, H. *Steroids*, **2012**, 77, 367-374.

antivirales, antibacterianas, antioxidantes, ansiolíticas y antidepresivas. Además de esto, se han explorado los derivados de pirimidina para su uso como antagonistas de los receptores de histamina y adenosina, entre otros receptores y moduladores biológicos.³² Basándose en la importancia beneficiosa de estas estructuras híbridas, se ha centrado la atención en la síntesis de pirimidinas esteroidales para buscar nuevos compuestos antiproliferativos. Algunos derivados de estrona han presentado una notable actividad antiproliferativa con valores de GI₅₀ a nivel micromolar bajo (Figura 5).^{33,34}

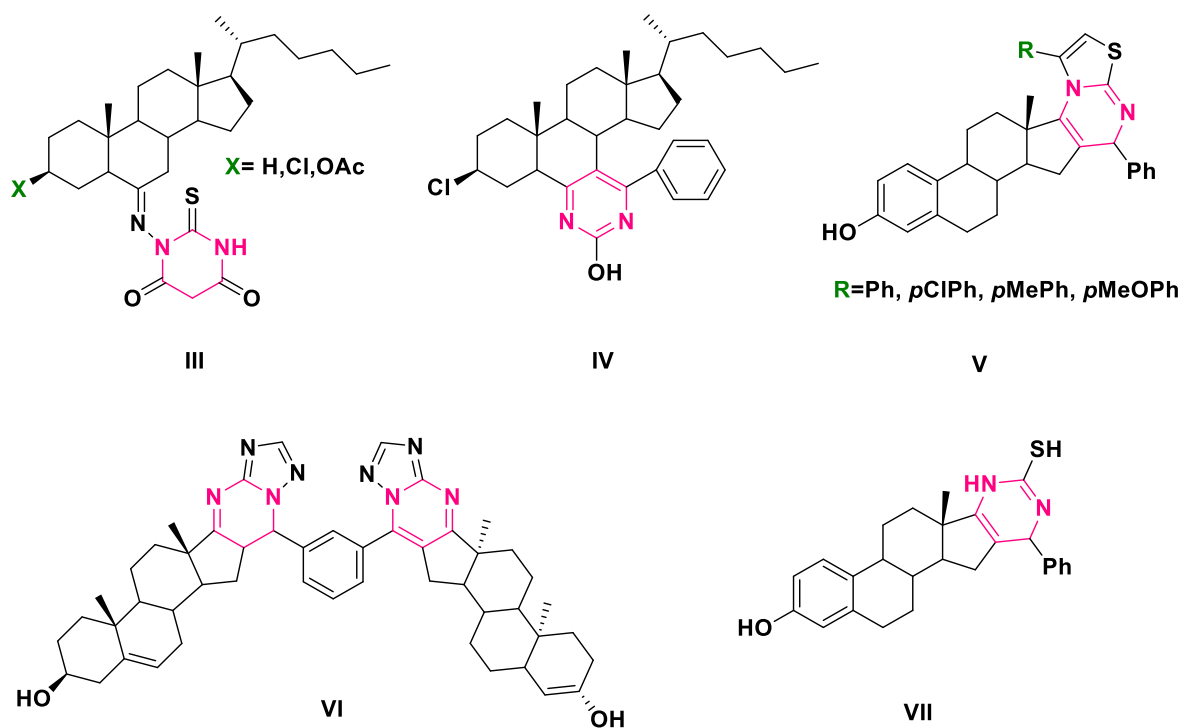


Figura 5. Pirimidinas esteroidales biológicamente activas.

³² Shamsuzzaman.; Mahmood, A.; Yaseen, Z.; Alam, K.; Hussain, A.; Ahmad, M. J. *Mol. Struct.*, **2013**, *1045*, 62-71.

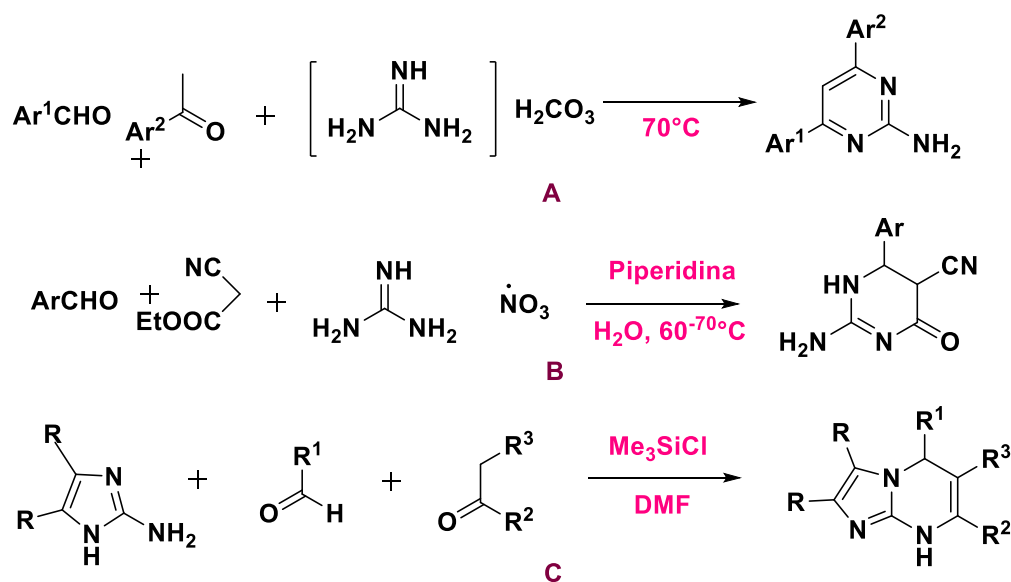
³³ Cortés, A.; Vega, J.; Romero, A.; Merino, P.; Meza, S.; Padrón, J.; Montiel, S. *Molecules.*, **2019**, *24*, 3676-3686.

³⁴ Arenas, A.; Mendez, L.; Merino, P.; Padrón, J.; Montiel, S.; Vega, J.; Meza, S. *Steroids*, **2016**, *116*, 13-19.

2.1.1.2 Reacciones de tipo *one-pot*

Las reacciones *one-pot* implican operaciones de varios pasos que se realizan en un solo recipiente de reacción. Para cada paso, se pueden cambiar las condiciones de reacción, como la temperatura, el tiempo, los reactivos, los catalizadores y disolventes. El proceso de reacción puede monitorearse y, si es necesario, se pueden aislar los intermediarios. Las reacciones de tipo *one-pot* reducen costos y son flexibles para su realización. La capacidad de cambio de las condiciones de reacción y la introducción de diferentes bloques de construcción han permitido la obtención de análogos con diversidad estructural,³⁵ mencionando además que existen otro tipos de reacciones que entran dentro de la clasificación de las que se realizan dentro de un mismo recipiente como las reacciones multicomponentes (MCR) que, a diferencia de las *one-pot*, estas no sufren variaciones en temperatura, ni adiciones, aislamientos o manipulaciones, a excepción del producto final.^{36,37}

De esa manera, las MCR han sido una gran herramienta y a partir de ello se ha formado una gran variedad de andamios orgánicos mediante rutas de reacciones de componentes múltiples. Ejemplo de ello se puede observar en el Esquema 5.²⁶



Esquema 5. Síntesis de compuestos de tipo pirimidínicos a partir de reacciones multicomponentes.

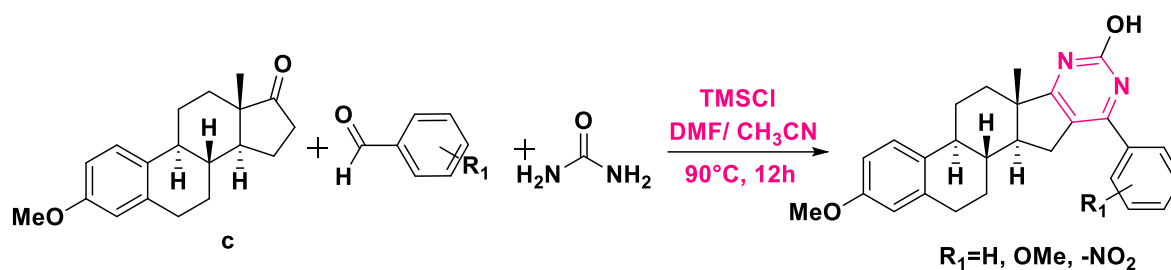
³⁵ Zhang, W.; Yi, W. *Pot, Atom, and Step Economy*, **2019**, 5-13.

³⁶ Angew, C. *Chem. Int.* **2000**, *39*, 3168-3210.

³⁷ Hayashi, Y. *Chem. Sci.* **2016**, *2*, 866-880.

En las reacciones de tipo multicomponente, cuando se utilizan materiales de partida polifuncionales que contienen varios centros de reacción se presentan varias cascadas tándem, esto aumenta la posibilidad de reacciones paralelas dando una mezcla de productos. En lo que respecta a los derivados esteroidales, Monier *et al.*, han reportado compuestos pirimidínicos con importante actividad biológica a partir de reacciones multicomponente.³⁸

La reacción de tipo Biginelli fue aplicada por Wand *et al.* para sintetizar una serie de esteroides-pirimidinas con buenos rendimientos. Por lo tanto, la reacción multicomponente en un solo recipiente de metilestrona (c) con aril aldehídos y urea en una mezcla de DMF/MeCN catalizada por TMSCl produjo una serie de pirimidinas esteroidales. La secuencia de reacción implicó la generación del producto Biginelli y la posterior aromatización y oxidación que dieron como resultado la construcción de un anillo heterocíclico fusionado al anillo-D del núcleo esteroideal (Esquema 6).³⁹



Esquema 6. Síntesis de un derivado esteroideal de tipo aminopirimidina por una reacción de tipo multicomponente.

No obstante el cambio de dirección de la cascada o una de las reacciones deseadas modificando alguna de las variables durante la reacción, resuelve el problema de la variedad molecular de productos.⁴⁰

2.1.2 Derivados triazoles

Los derivados de tipo 1,2,3-triazoles son otra clase importante de heterociclos que contienen nitrógeno en su estructura y que se han aplicado ampliamente como potentes conectores en el descubrimiento de fármacos debido a su conveniente síntesis mediante la llamada química *click*.⁴¹ El 1,2,3-triazol, que puede actuar como isómero de la amida, éster, ácido carboxílico y otros

³⁸ Monier, M.; El-Mekabaty, A.; Abdel-Latif D.; Doğru Mert, B.; Elattar, K.M. *Steroids*, **2019**, *154*, 1-51.

³⁹ Wang, C.; Xu, H.; Xie, Z.; Wang, X.; Zhang, Z.; Sun, Q., *Steroids*, **2010**, *75*, 1033-1038.

⁴⁰ Desenko, M.; Chebanov, V., *Chem. Heterocycl. Compd*, **2012**, *48*, 566-583.

⁴¹ Zhao, J.; Wu, Z.; Guo, J.; Huang, M.; You, Y.; Liu, H.; Huang, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *181*, 111520.

heterociclos, es un farmacóforo común en muchos fármacos.⁴² Dichos derivados poseen diversas propiedades farmacológicas, como actividades antituberculosas, antifúngicas, antitumorales y antibacterianas,^{43,44} que se atribuyen a que el 1,2,3-triazol puede ejercer diversas interacciones no covalentes que pueden mejorar la solubilidad y la capacidad de unión a objetivos bimoleculares. Por tanto, los derivados de 1,2,3-triazol desempeñan un papel intrigante en el desarrollo de nuevos fármacos.⁴⁵ La relación estructura-actividad se analiza para un mayor desarrollo racional de híbridos de 1,2,3-triazol con mayor potencia contra patógenos tanto sensibles como resistentes a los medicamentos.⁴⁶ El 1,2,3-triazol es un elemento privilegiado en el descubrimiento de nuevos agentes anticancerígenos y algunos de sus derivados ya se han aplicado en clínicas o en ensayos clínicos para luchar contra el cáncer. Las moléculas híbridas ocupan una posición importante en el control del cáncer y la hibridación de la estructura de 1,2,3-triazol con otros farmacóforos anticancerígenos puede proporcionar una terapia terapéutica valiosa, por ejemplo, algunos de los compuestos que contienen 1,2,3-triazol, como la cefatrizina y el carboxiamidotriazol (Figura 6), revelaron su potencial como fármacos anticancerígenos.⁴⁷

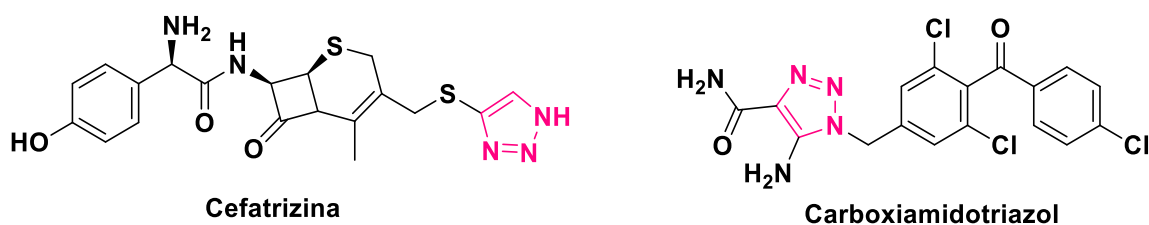


Figura 6. Estructuras anticancerígenas que contienen 1,2,3-triazol.

De igual manera, se reporta la existencia de fármacos que en su estructura contienen un anillo de triazol y que actúan como inhibidores de la aromatasas (Figura 7), los cuales son inicialmente reconocidos por la enzima aromatasas como sustratos alternativos y luego se transforman (a través de un mecanismo dependiente de NADPH) en intermediarios reactivos, que se unen irreversiblemente a la enzima para producir su inactivación.⁴⁸

⁴² Bonandi, E.; Christodoulou, M.; Fumagalli, G.; Perdicchia, D.; Rastelli, G.; Passarella, D. *Drug. Discov. Today*, **2017**, *22*, 1572-1581.

⁴³ Xu, J.; Fan, Y.; Zhou, J. *Heterocyclic Chem*, **2018**, *55*, 1854-1862.

⁴⁴ Gao, F.; Zhang, X.; Wang, T.; Xia, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *165*, 59-79.

⁴⁵ Gao, C.; Chang, L.; Xu, Z.; Yan, X.; Ding, C.; Zhao, F.; Wu, X.; Feng, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *163*, 404-412.

⁴⁶ Zhang, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 357-372.

⁴⁷ Xu, Z.; Zhao, S.; Liu, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *183*, 111700.

⁴⁸ Brueggemeier, B. *Semin. Reprod. Med.* **2004**, *1*, 31-43.

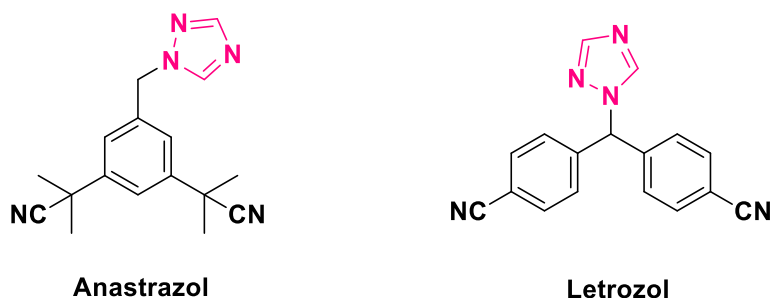


Figura 7. Fármacos con un anillo de triazol en su estructura.

Con estos antecedentes se han sintetizados diversos compuestos que contienen el anillo 1,2,3-triazol unido a otro tipo de derivados que presenten diversas actividades biológicas, como por ejemplo los presentados en la Figura 8 y que tienen importancia dentro de la química medicinal.⁴⁹

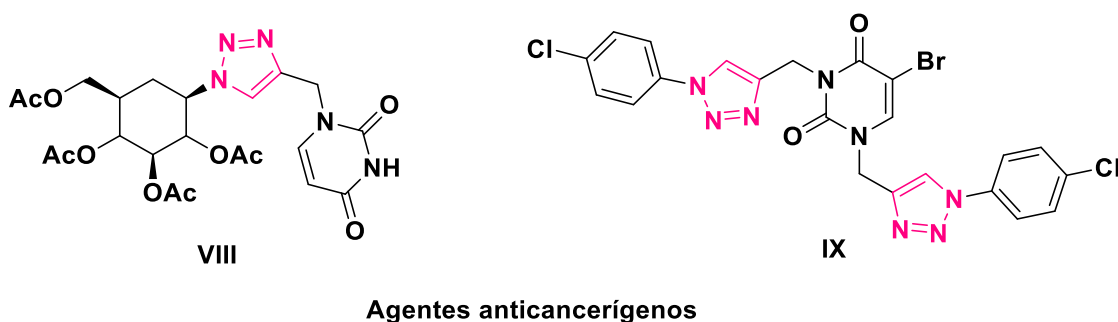


Figura 8. Estructuras derivadas de 1,2,3-triazol.

2.1.2.1 Compuestos esteroidales con fragmentos triazol

Las modificaciones estructurales de la estrona pueden conducir a agentes anticancerígenos de base de tipo esteroidal.⁵⁰ Los triazoles son unidades atractivas debido a su estabilidad frente a la degradación metabólica y a su capacidad para formar enlaces de hidrógeno. Además, estos heterociclos son excelentes miméticos de enlaces peptídicos. La cicloadición azida-alquino catalizada por Cu (I) (CuAAC) es un método sencillo y ampliamente aplicable para la introducción de un residuo triazol en productos naturales. Esta reacción regioselectiva se puede lograr con muchos compuestos como catalizadores de Cu (I) y diferentes disolventes y no se ve afectada por una variedad de grupos funcionales.⁵¹ Así, los triazoles formados por las reacciones *click* han mostrado una inhibición moderada o pronunciada del crecimiento celular *in vitro* en

⁴⁹ Halay, E.; Ay, E.; Şalva, E.; Ay, K.; Karayıldırım, T. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. **2017**, *36*, 598-619.

⁵⁰ Rahman, M.; Mohammad, Y.; Fazili, K.; Bhat, K.; Ara, T. *Steroids*, **2017**, *118*, 1-14.

⁵¹ Tornøe, C.; Sanderson, S.; Mottram, J.; Coombs, G.; Meldal, M. *J. Comb Chem.* **2004**, *6*, 12-24.

líneas celulares malignas humanas.⁵² Por ejemplo, se han estudiado derivados de diosgenina y de estradiol, formando híbridos con el 1,2,3-triazol (Figura 9) los cuales han exhibido actividad de amplio espectro contra líneas celulares cancerosas HBL-100, A-549, HT-29 y HCT-116, algunas de ellas más potentes que la diosgenina original.⁴⁵

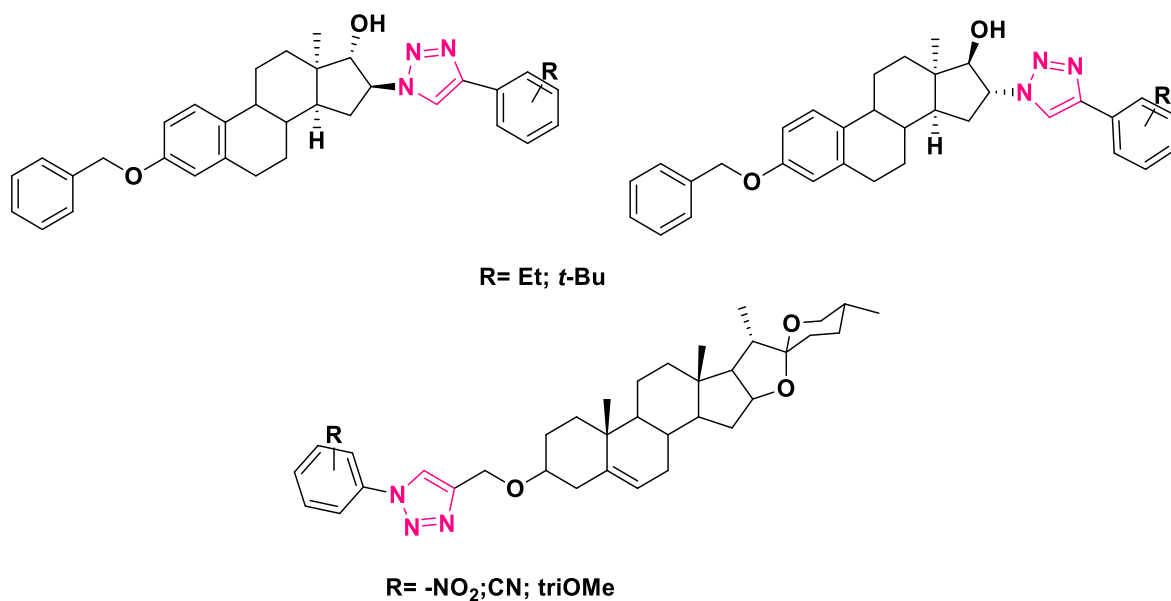


Figura 9. Estructuras químicas de híbridos de 1,2,3-triazol-esteroide.

2.1.2.2 Química *click* y condensación CuAAC

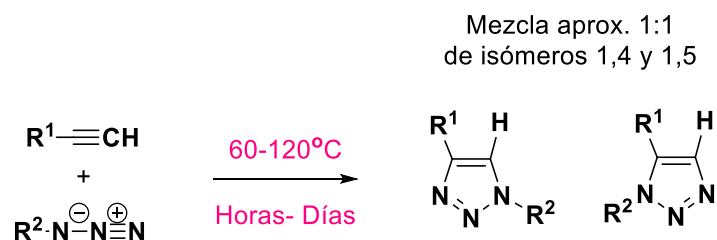
En 2001, Kolb, Finn y Sharpless definieron el concepto “verde” de química *click*, con el objetivo de unir dos bloques de construcción moleculares de una manera fácil, selectiva y de alto rendimiento de reacción en condiciones suaves, tolerantes al agua con pocos o ningún subproducto, para la síntesis rápida de nuevos compuestos a través de enlaces con heteroátomos (C-X-C).⁵³ La reacción *click* más utilizada que puede cumplir estas condiciones es por mucho la cicloadición azida-alquino catalizada por CuI (CuAAC).⁵⁴ De entre las muchas reacciones ensayadas, el proceso de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos se ha establecido como la reacción prototipo dentro de las clasificadas como *click*. Esta reacción es termodinámicamente favorable y fue descrita por primera vez por Huisgen en 1960, dicho proceso requiere elevadas

⁵² Mernyák, E.; Kovács, I.; Minorics, R.; Sere, P.; Czégány, D.; Sinka, I.; Wölfling, J.; Schneider, G.; Újfaludi, Z.; Boros, I.; Ocsóvszki, I.; Varga, M.; Zupkó, I. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, *150*, 123-134.

⁵³ Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.

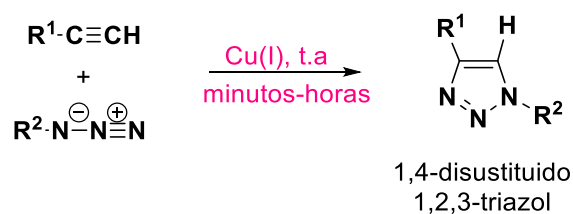
⁵⁴ Liang, L.; Astruc, D. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 2933-2945.

temperaturas, generalmente condiciones de reflujo en disolventes como tolueno o tetracloruro de carbono, y periodos de reacción prolongados comprendidos generalmente entre 12 y 60 horas (Esquema 7).⁵⁵



Esquema 7. Cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos bajo condiciones térmicas.

Fue una reacción catalizada la que inició el avance del concepto de química *click*. En 2002, los grupos de M. Meldal, así como de V. V. Fokin y K. B. Sharpless publicaron sus primeros informes sobre cicloadiciones de azida-alquino catalizadas por cobre que luego se hicieron triunfantes en la química. Las suaves condiciones de reacción, los altos rendimientos y la formación de sólo un regioisómero fueron decisivos para este gran éxito (Esquema 8). Mientras que las cicloadiciones térmicas de azida-alquino generalmente proporcionan mezclas de regioisómeros, las reacciones catalizadas por cobre sólo proporcionan los derivados de 1,2,3-triazol 1,4-disustituídos.^{56,57}



Esquema 8 Reacción catalizada por cobre con azidas y un alquino terminal.

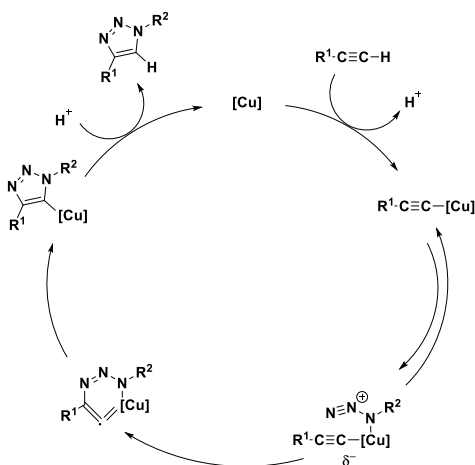
Sin embargo, aún no se ha dilucidado completamente el mecanismo de esta reacción; específicamente, no se ha establecido la identidad y nuclearidad de las especies de cobre involucradas en la catálisis. Se ha propuesto a partir de experimentos deductivos simples un mecanismo que requiere dos átomos de cobre dentro del complejo de cicloadición activo (Esquema 9).⁵⁸

⁵⁵ Díaz, D.; Finn, M.; Sharpless, B.; Fokin, V.; Hwaker, C. *An. Quim.*, **2008**, *104*, 173-180.

⁵⁶ Huisgen, R.; Knorr, L.; Möbius, G.; Szeimies, *Chem. Ber.*, **1965**, *98*, 4014-4021.

⁵⁷ Breugst, M.; Reissig, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2020**, *59*, 12293-12307.

⁵⁸ Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. *Science*, **2013**, *340*, 457-460.



Esquema 9. Primer compuesto propuesto para la CuAAC.

2.1.3 Compuestos de tipo aminoalcohol

En la naturaleza, los compuestos de tipo aminoalcohol forman parte de una gran variedad de sustancias bioactivas tales como los aminoácidos serina y treonina, compuestos lipídicos derivados de la esfingosina (Figura 10).⁵⁹ Los cuales exhiben un amplio espectro de actividades biológicas, de manera que se utilizan como ingredientes farmacéuticos activos (API).⁶⁰

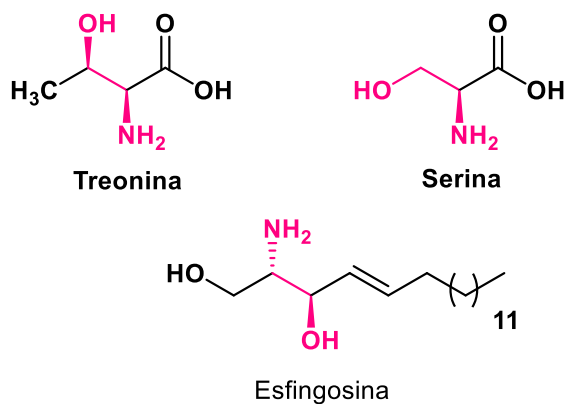


Figura 10. Compuestos con estructura de tipo aminoalcohol.

La funcionalidad β -aminoalcohol se encuentra en muchos compuestos biológicamente activos, siendo un farmacóforo importante, y en los β -aminoalcoholes *N*-sustituidos son componentes importantes en la preparación de productos químicos de valor agregado. El salbutamol y el

⁵⁹ Hannun, Y. A.; Linardic, C. M. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1154*, 223-236.

⁶⁰ Mardani, Z.; Kazemshoar, R.; Moeini, K.; Hajabbas F.; Carpenter, C.; Slawin, M.; Woollins, D. *RSC. Adv.* **2018**, *8*, 28810-28824.

propranolol están en la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud y representan los ejemplos más importantes de agentes terapéuticos que tienen esta característica estructural (Figura 11).⁶¹

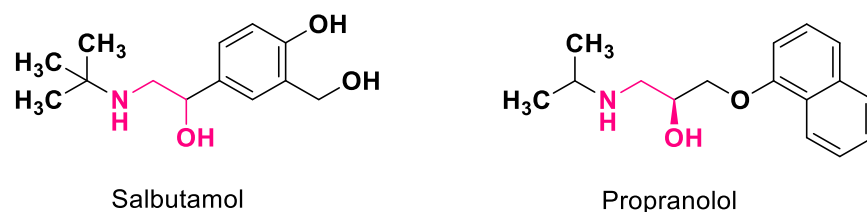


Figura 11. Ejemplos de agentes terapéuticos que contienen estructura aminoalcohol.

Por otra parte, los aminoalcoholes ópticamente activos son una clase muy importante de compuestos, tanto en la naturaleza como en el sector farmacéutico. Un gran número de sustancias farmacéuticas activas contienen la fracción aminoalcohol y presentan quiralidad.⁶² Bai. B *et al.* han sintetizado estructuras de tipo aminoalcohol, haciendo estudios de esos mismos compuestos de su actividad citotóxica contra cinco líneas celulares diferentes, que en comparación contra el cisplatino han mostrado buenos resultados (Figura 12).⁶³

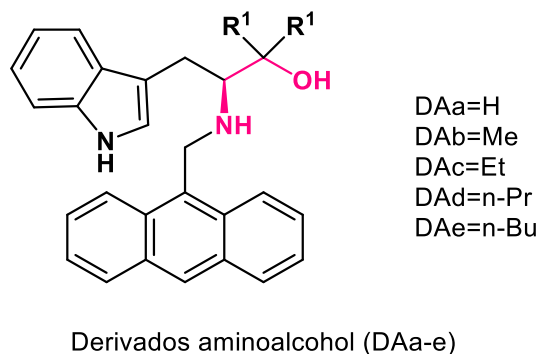


Figura 12. Estructuras de tipo aminoalcohol que exhiben actividad biológica importante.

Texeira *et al.* por otro lado sintetizaron β -aminoalcoholes derivados del eugenol, los cuales probaron contra dos líneas celulares de cáncer humano: células de adenocarcinoma gástrico (AGS) y células de adenocarcinoma de pulmón (A549). Los resultados demostraron que tres derivados de β -aminoalcohol tenían actividad anticancerígena (Figura 13) desencadenando la

⁶¹ Pereira, R.; Pinto, N.; Fernandez, M.; Vieira, T.; Rodriguez, A.; Pereira, D.; Souza, S.; Castanheira, E.; Fortes, G.; Sameiro, M. *Molecules*, **2021**, *26*, 6616.

⁶² Klingler, F. *Acc. Chem. Res.*, **2007**, *40*, 1367-1376.

⁶³ Bai, B.; Li, X.; Zhu, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2011**, *21*, 2302-2304.

apoptosis. Es importante destacar que las moléculas más potentes no mostraron una toxicidad apreciable hacia las células humanas no cancerosas.⁶⁴

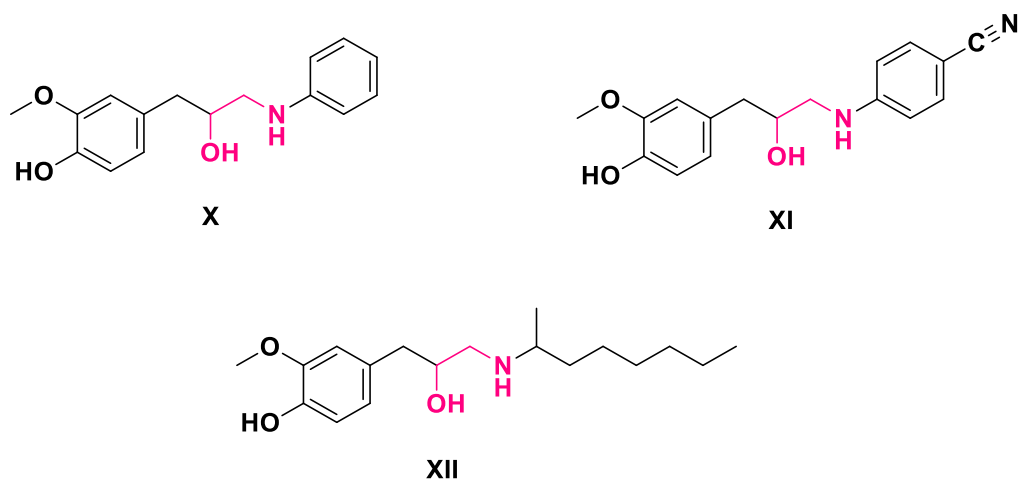


Figura 13. Derivados del eugenol β -aminoalcohol con actividad anticancerígena.

El método más práctico y ampliamente utilizado para la preparación de β -aminoalcoholes es, sin lugar a duda, la reacción de apertura de anillo de epóxidos con aminas.⁶⁵

2.1.3.1 Compuestos esteroidales con fragmentos de tipo aminoalcohol

Se han estudiado compuestos de bajo peso molecular que se basan en farmacóforos esteroideos sustituidos y representan una materia química novedosa. Todos los compuestos se derivan de amino esteroides con diferentes constituciones del núcleo,⁶⁶ los cuales se han estudiado por su actividad biológica, resultando no sólo en modificaciones en el anillo D, además, se han sintetizado derivados con grupos aminoalcohol en carbonos vecinales (Figura 14).⁶⁷

⁶⁴ Teixeira, C.; Pereira, R.; Pinto, N.; Coelho, C.; Fernandez, M.; Fortes, A.; Goncalves, M.; Pereira, D. *Int.J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 3759- 3774.

⁶⁵ Li, D.; Wang, J.; Yu, S.; Ye, S.; Zou, W.; Zhang, H.; Chen, J. *Chem. Commun.*, **2020**,*56*, 2256-2259.

⁶⁶ Krieg, R.; Jortzik, E.; Goetz, A.; Blandin, S.; Wittlin, S.; Elhabiri, M.; Rahbari, M.; Nuryyeva, S.; Voigt, K.; Dahse, H.; Brakhage, A.; Beckmann, S.; Quack, T.; Grevelding, C.; Pinkerton, A.; Burrows, S.; Charvet, D.; Becker, R., *Nat Commun.* **2017**, *17*, 14478-14490.

⁶⁷ Campbell, M.; Craig, R. *J.C.S. Perkin I*, **1979**, *13*, 2235-2248.

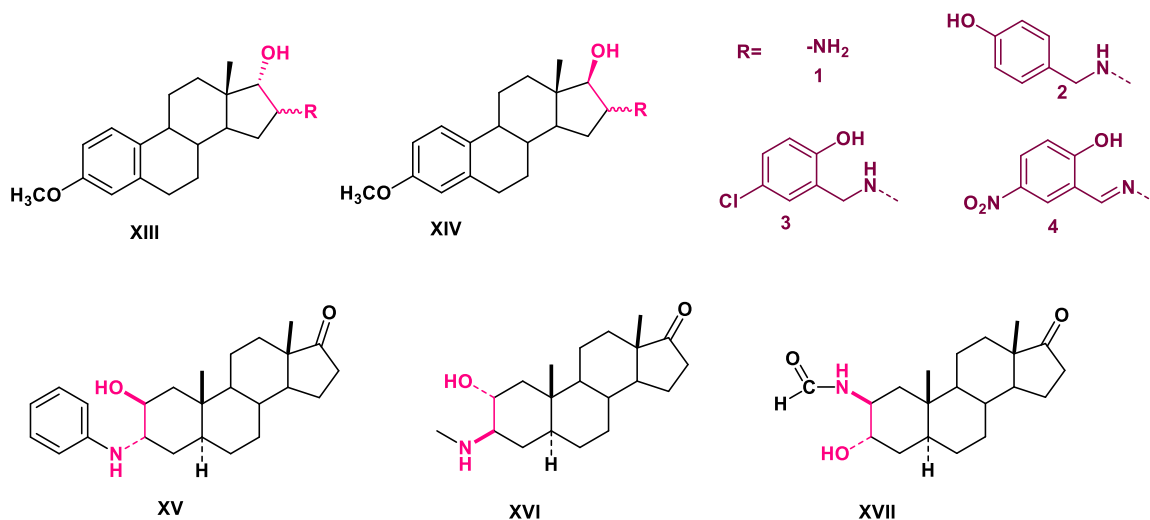


Figura 14. Derivados β -aminoalcohol esteroidales.

2.1.4 Cáncer

El cáncer es una de las enfermedades más temidas del siglo XX y se está extendiendo aún con más continuidad y creciente incidencia en el siglo XXI. La situación es tan alarmante que una de cada cuatro personas corre riesgo de padecer cáncer durante su vida.⁶⁸ El cáncer es una enfermedad multicelular, es decir, que puede surgir de cualquier tipo de célula y órgano con una etiología multifactorial, así, para los pacientes con cáncer, la quimioterapia es una opción de tratamiento. Desafortunadamente, el desarrollo de resistencia a los medicamentos en el tumor después del tratamiento es siempre un obstáculo importante para el tratamiento exitoso del cáncer. Por tanto, el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos que puedan superar la resistencia a los medicamentos, se convierte en una necesidad urgente para los pacientes con cáncer.⁶⁹ Durante las últimas dos décadas se ha adquirido un amplio conocimiento sobre la genética molecular del cáncer humano. Ahora, es evidente que el cáncer es esencialmente una enfermedad genética, que surge de mutaciones heredadas y/o adquiridas somáticamente en diferentes ubicaciones genéticas, y que la tumorigénesis es un proceso de varios pasos.⁷⁰ Los productos de los oncogenes y genes supresores tumorales modifican diferentes vías de señalamientos intracelulares fisiológicas, alterando los programas de proliferación, diferenciación, apoptosis,

⁶⁸ Roy, P.; Saikia, B. *Indian J. cancer*, **2016**, *53*, 441-442.

⁶⁹ Mervat, E.; Nasser, I.; Shayaa, Y.; Ahmed, A.; Deena, L.; Mahmoud, F.; Gamal, E. *Asian Pac. J. Cancer. Prev*, **2017**, *18*, 1937-1946.

⁷⁰ Pearson, Luijt, V., *J. Intern. Med.* **1998**, *243*, 413-417.

adhesión/movilidad, entre otros. En el cáncer como en otras enfermedades complejas, las alteraciones de las vías de señalización intracelulares de las células transformadas, se encuentran bajo el efecto de células del microambiente tisular o células localizadas a distancia, a través de señalamientos extracelulares. Los diferentes tipos de cáncer no corresponden a una sucesión fija de mutaciones específicas de varios genes, por el contrario, diferentes productos de la expresión de genes son modificados por alteraciones genéticas y epigenéticas progresivas.⁷¹ Los primeros se presentan ante alteraciones estructurales del genoma y los restantes, epigenéticos, por alteraciones de las enzimas o de los sustratos de las mismas. La carcinogénesis consta de tres etapas: iniciación, promoción y progresión. La última de estas etapas, progresión, es exclusiva de la transformación maligna e implica la capacidad de invadir tejidos vecinos o a distancia. Para que se lleve a cabo el proceso metastásico, se requiere de una serie de mecanismos: angiogénesis, degradación de matrices, migración celular, evasión de la respuesta inmune del hospedero y colonización metastásica.⁷²

2.1.4.1 Cáncer de mama y estrógenos

El cáncer de mama es el más comúnmente diagnosticado y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo.⁷³ Alrededor del 70% de los tumores de mama dependen de los estrógenos para su desarrollo y crecimiento.⁷⁴ Las hormonas esteroideas, estrógenos sexuales, exhiben un amplio espectro de funciones fisiológicas que van desde la regulación del ciclo menstrual y la reproducción, hasta la modulación de la densidad ósea, la función cerebral y la movilización del colesterol.⁷⁵ A pesar de las acciones fisiológicas normales y beneficiosas de los estrógenos endógenos en las mujeres, los niveles anormalmente altos de estrógeno se asocian con una mayor incidencia de ciertos tipos de cáncer, especialmente los de mama y endometrio.⁷⁶ Los estrógenos son sintetizados a partir de precursores androgénicos, a saber, testosterona (TST) y androstenediona (ASD). Las enzimas que intervienen en su conversión a estrógenos constituyen un grupo de aromatasas: el grupo enzimático de los citocromos p450 (CYP). Estas enzimas se encuentran en la granulosa del ovario, el tejido adiposo, los fibroblastos de la piel, la

⁷¹ Valdespino, V.; Valdespino, V.E., *GAMO*, **2011**, *10*, 359-365.

⁷² Martín, M.; Domingo, J. *Salud Publica Mex.* **2011**, *53*, 405-414.

⁷³ Varela, C.; Amaral, C.; Tavares, E.; Lopez, A.; Correia, G.; Carvalho, R.; Costa, S.; Roleira, F.; Teixeira, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 336-345.

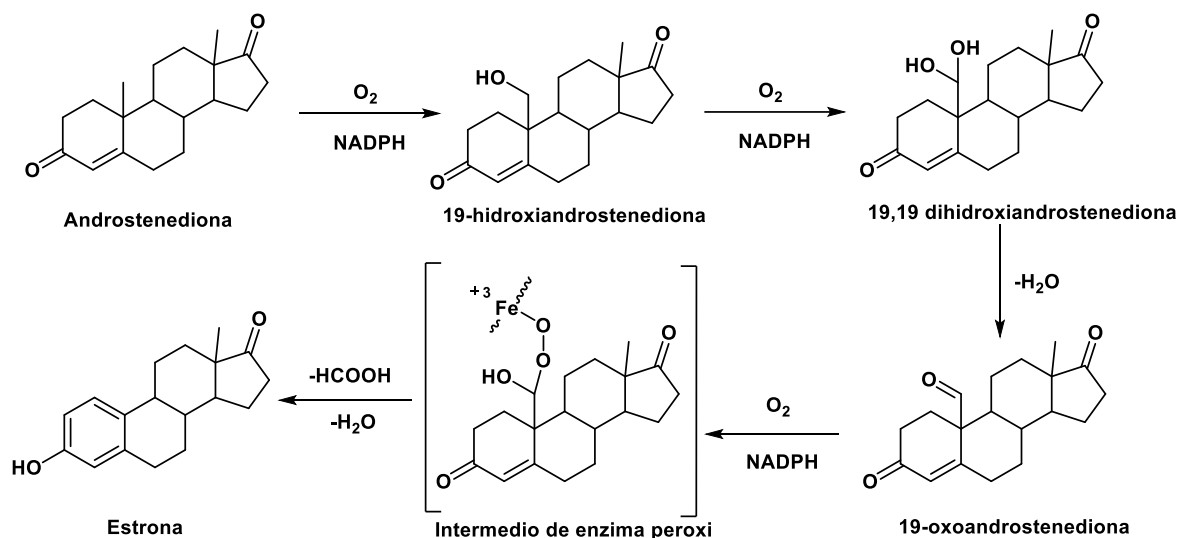
⁷⁴ W.R. Miller, *Br. J. Cancer*, **1996**, *73*, 415-417.

⁷⁵ Koos, R. *Endocrinology*, **2011**, *152*, 4481-4488.

⁷⁶ Liang, J., Yongfeng, S. *Annu. Rev. Physiol.* **2013**, *75*, 225-240.

placenta y el cerebro. El ovario es el sitio de mayor concentración y su síntesis es estimulada por la hormona folículo estimulante (FSH).⁷⁷ El complejo enzimático está unido al retículo endoplásmico de la célula y comprende dos proteínas principales. Una proteína es el citocromo P450arom, una hemoproteína que convierte los esteroides C-19 (andrógenos) en esteroides C-18 (estrógenos) que contienen un anillo fenólico. La segunda proteína es la NADPH-citocromo P450 reductasa, que transfiere equivalentes reductores al citocromo P450arom.⁷⁸ La aromatización de la androstenediona, el sustrato preferido, se produce mediante tres pasos de oxidación sucesivos, siendo los dos primeros las hidroxilaciones del grupo metilo C-19. El paso de oxidación final, cuyo mecanismo aún no se ha aclarado por completo, procede con la aromatización del anillo A del esteroide y la pérdida del átomo de carbono C-19 en forma de ácido fórmico (Esquema 10).⁷⁹

,46



Esquema 10. Conversión de la androstenediona a estrona por la aromatasa.

Los estrógenos se obtienen a partir de los andrógenos en la última reacción de la biosíntesis de esteroides, que es catalizada por la enzima aromatasa. Por lo tanto, los inhibidores de la aromatasa (IAs) reducen en gran medida la producción de estrógenos, ofreciendo así un valioso enfoque terapéutico para tratar los tumores de mama dependientes de estrógenos.⁸⁰ La aromatasa, una enzima de la superfamilia del citocromo P-450 y producto del gen CYP19, se expresa en varios

⁷⁷ Cópola, D.; Nader, J.; Aguirre, R. *Rev. Med. Uruguay*, **2005**, *21*, 15-22.

⁷⁸ Simpson, E.; Mahendroo, M.; Means, G. *Endocr. Rev*, **1994**, *15*, 342-355.

⁷⁹ Kellis, J.; Vickery, L. *J. Biol. Chem*, **1987**, *262*, 4413-4420.

⁸⁰ Jordan, V.; Brodie, A. *Steroids*, **2007**, *72*, 7-25.

tejidos, incluida la grasa subcutánea, el hígado, los músculos, el cerebro, los tejidos mamarios normales y el adenocarcinoma mamario.⁸¹ Se estima que el 75% de los cánceres de mama dan resultados positivos para el receptor de estrógeno (ER), el receptor de progesterona (PgR) o ambos, y la estimulación de estos receptores por estrógeno es un factor importante en el desarrollo y crecimiento del cáncer de mama. La privación de señalización estrogénica ha sido el pilar del tratamiento endocrino de la enfermedad ER-positiva y/o PgR-positiva.⁸² El receptor de estrógeno α (ER α) está estrechamente asociado con tumores hormonodependientes e independientes de hormonas, y también es esencial para el desarrollo de estos cánceres. Las funciones de ER α son bifacéticas; puede contribuir a la progresión del cáncer, así como a la inhibición del mismo. Por tanto, comprender ER α es vital para el tratamiento de aquellos cánceres que están estrechamente asociados con su expresión.⁸³

2.1.4.3 Aromatasa

La aromatasa es un miembro de la superfamilia de enzimas del citocromo P450. Es una proteína unida a la membrana que se localiza en el retículo endoplásmico. La aromatasa humana (CYP19A1) se encuentra en el cromosoma 15, banda q21.2 del genoma. Tiene una longitud de nucleótidos de aproximadamente 123 kb y comprende una región codificante del gen de 30 kb y una región reguladora de 93 kb.⁸⁴ La desregulación de la aromatasa, así como el aumento de los niveles de estrógeno, se ha implicado en muchos cánceres, incluido el de mama.⁸⁵ Además, la aromatasa también es conocida como estrógeno sintetasa o estrógeno sintasa, siendo entonces la enzima clave involucrada en la catálisis de los esteroides androgénicos a estrógenos a través del proceso de aromatización. Las hormonas esteroidales estrogénicas desempeñan un papel vital en muchos procesos fisiológicos clave, incluido el crecimiento, la osificación, la diferenciación, el desarrollo neurológico y reproductivo, por lo que la enzima se expresa en diversos tejidos, incluidos la piel, el endometrio, los huesos, el cerebro, los ovarios, los testículos, la placenta, la mama y tejido adiposo. El mantenimiento de los niveles de estrógeno es dinámico y depende de la edad reproductiva.⁸⁶ En las mujeres premenopáusicas, el 17 β -estradiol, el estrógeno más

⁸¹ Ison, L.; Bulun, S. J. *Am. Acad. Dermatol.*, **2001**, *45*, 116-124.

⁸² Altundag, K.; Ibrahim, N. *The Oncologist*, **2006**, *11*, 553-562.

⁸³ Yanfang, L.; Hong, M.; Jing, Y. *Oncotargets and ther.*, **2020**, *13*, 2183-2191.

⁸⁴ Chen, S. *Front. Biosci.*, **1998**, *3*, d922- d933.

⁸⁵ Manna, P.; Molehin, D.; Ahmed, A. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, **2016**, *144*, 487-527.

⁸⁶ Simpson, E. *Fertil. Steril.* **2002**, *77*, S6-S10.

potente sintetizado en los ovarios, actúa como hormona circulante y ejerce su efecto sobre órganos diana distantes de forma endocrina. Sin embargo, en las mujeres posmenopáusicas, al cese de la función ovárica, los estrógenos circulantes disminuyen y los estrógenos se sintetizan predominantemente en los tejidos adiposos y otros tejidos extragonadales como el cerebro, los huesos, la mama y la piel, que tienen la maquinaria para metabolizar los sustratos andrógenos disponibles.⁸⁷ El efecto del estrógeno genómico está modulado por su capacidad para unirse a los receptores nucleares de estrógeno (ER), que son de dos tipos, ER α y ER β , codificados por dos genes diferentes, ESR1 y ESR2, respectivamente. Mientras que el efecto no genómico del estrógeno implica el uso de ER unidos a la membrana, que constituyen entre el 10 y el 15 % de los receptores de estrógeno y otras moléculas de transducción de señales.⁸⁸ En consecuencia, se puede suponer que la privación de estrógenos puede prevenir la formación de estos cánceres o puede dar lugar a la regresión de los tumores producidos. El objetivo de esta supresión es la inhibición de la enzima aromatasa responsable de la ciclación y estructuración de los estrógenos. Estos procesos se construyen mecánicamente inhibiendo el último paso, en el que se forma el anillo aromático en la estructura del esteroide durante la biosíntesis.⁸⁹ La historia investigada del cáncer de mama sugiere que muchos tumores ocurren y se desarrollan a través de mecanismos dependientes de estrógenos.⁹⁰ Haciendo así a la aromatasa, el papel clave en la biosíntesis de estrógenos, que convierte a esta enzima en un candidato prometedor para el desarrollo de fármacos que se utilizarán en el tratamiento de tumores de origen endocrino.⁹¹

2.1.4.3 Agentes anticancerígenos derivados de esteroides

La mayoría de los tumores de mama y próstata dependen de hormonas, lo que hace posible utilizar terapia hormonal en pacientes con estos tumores. El diseño de medicamentos endocrinos eficaces que bloqueen el crecimiento de tumores y que no tengan efectos secundarios graves es un desafío, por lo tanto, los esteroides sintéticos son fármacos terapéuticos prometedores para el tratamiento de enfermedades como el cáncer de mama y de próstata hormonodependiente.⁹² Esta es la razón por la que el desarrollo de nuevas clases de agentes que inhiben eficazmente el

⁸⁷ Burger, H.; Hale, G.; Robertson, D.; Dennerstein, L. *Hum. Reprod. Update*, **2007**, *13*, 559-565.

⁸⁸ Nadal, A.; Roper, A.; Fuentes E.; Soria, B. *Trends. Pharmacol. Sci.* **2001**, *22*, 597-599.

⁸⁹ Sahin, Z.; Ertas, M.; Berk, B.; Biltekin, N.; Yurttas, L.; Demirayak, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *18*, 30024-30052.

⁹⁰ Henderson, I., Canellos, G. N. *Engl. J. Med.* **1980**, *302*, 78-90.

⁹¹ Miller, W. *Semin Oncol*, **2003**, *30*, 3-11.

⁹² Scherbakov, A.; Komkov, A.; Komendantova, A.; Yastrebova, M.; Andreeva, O.; Shirinian, V.; Hajra, A.; Zavarzin, I.; Volkova, Y. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, 979-993.

crecimiento de tumores ER α positivos y que no tengan efectos secundarios graves es un desafío importante. Los esteroides sintéticos abarcan una amplia gama de compuestos con diversas actividades anticancerígenas específicas, por ejemplo, inhibidores de la aromatasas como formestano y exemestano,⁹³ agentes antiproliferativos como el 2-metoxiestradiol,⁹⁴ inhibidores de la señalización de andrógenos como la galaterona y abiraterona⁹⁵ el compuesto SERM PSK3471, el inhibidor de la sulfatasa esteroide EMATE y el degradador selectivo del receptor de estrógeno (SERD) fulvestrant (Figura 15).⁹⁶

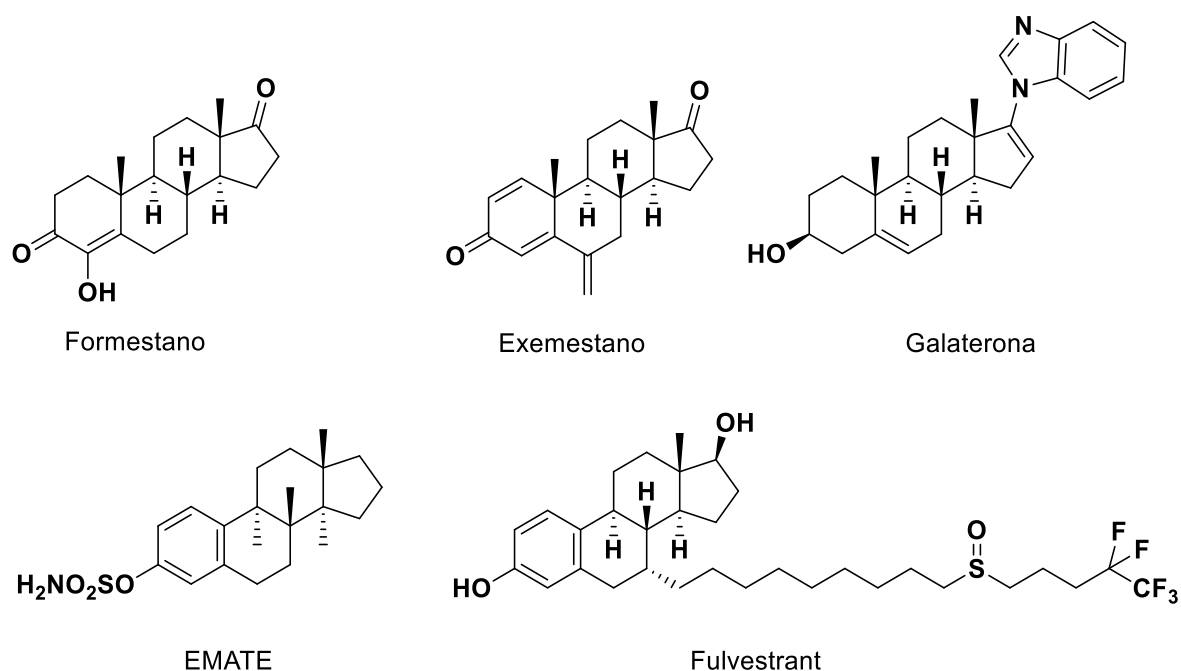


Figura 15. Compuestos derivados esteroides anticancerígenos.

Por estas razones, en varios laboratorios se han diseñado y sintetizado varios inhibidores esteroides de la aromatasas, basados en la estructura del sustrato natural androstenediona. El exemestano y el bien establecido formestano.⁹⁷

⁹³ Carlini, P.; Frassoldati, A.; De Marco, S.; Casali, A.; Ruggeri, E.; Nardi, M.; Papaldo, P.; Fabi, A.; Paoloni, F.; Cognetti, F. *Ann Oncol.* **2001**, *12*, 1539-1543.

⁹⁴ Lakhani, N.; Sarkar, M.; Venitz, J.; Figg, W. *Pharmacotherapy.* **2003**, *23*, 165-172.

⁹⁵ Bryce, A.; Ryan, C. *Clin Pharmacol Ther.* **2012**, *91*, 101-108.

⁹⁶ Nathan, M.; Schmid, P. *Oncol Ther.* **2017**, *5*, 17-29.

⁹⁷ Margarida, M.; Cepa, E.; Tavares, S.; Correia, S.; Roleira, F.; Teixeira, N., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6379-6385.

2.1.5 Estudios *in silico docking* molecular

La urgencia de encontrar nuevos fármacos está aumentando el interés en el uso de estudios *in silico* para explorar la interacción de los compuestos con los receptores diana. Con este enfoque, las moléculas pequeñas (diseñadas o recuperadas de bases de datos) se prueban con simulación molecular asistida por computadora para explorar su eficacia. Es decir, los complejos ligando-proteína se construyen y evalúan mediante cribado virtual (VS), dinámica molecular (MD) y simulaciones de acoplamiento con los datos de las propiedades físicas, químicas y farmacológicas de dichas moléculas. Además, la aplicación de la relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR), la relación estructura-actividad cuantitativa multiobjetivo (mt-QSAR) y el efecto biológico-estructura cuantitativa multitarea (mtk-QSBER) se pueden mejorar mediante el análisis de componentes principales y flujos de trabajo sistemáticos.⁹⁸

Es así como se han desarrollado métodos computacionales *in silico* y se han aplicado ampliamente al desarrollo de hipótesis farmacológicas, así como de diversas pruebas. Estos métodos *in silico* incluyen bases de datos, relaciones cuantitativas estructura-actividad, búsqueda de similitudes, farmacóforos, modelos de homología y otros modelos moleculares, aprendizaje automático, minería de datos, herramientas de análisis de redes y herramientas de análisis de datos que utilizan una computadora. Dichos métodos han tenido un uso frecuente en el descubrimiento y optimización de nuevas moléculas con afinidad a un objetivo: la clarificación de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad, así como la caracterización fisicoquímica.⁹⁹ Las bases de datos de diferentes compuestos, incluyendo las que contienen información de actividad biológica, forman parte muy importante del descubrimiento y desarrollo de fármacos, pueden contener información de hasta millones de estructuras con datos de actividad biológica y son parte de lo que se denomina *big data*.¹⁰⁰

Varios métodos de puntuación computacional para la predicción de interacciones ligando-proteína se ha aplicado al acoplamiento o crecimiento de *novο* en el sitio de unión terapéutico con proteínas. Sin embargo, la unión a la proteína diana, es sólo parte del proceso de descubrimiento de fármacos que requiere moléculas que son fácilmente sintetizables con propiedades moleculares favorables o lo que se ha denominado “similitud de fármacos”. Los

⁹⁸ Cach, T.; Tanaca, M.; Trujillo, J.; González, D.; Quintana, J.; González, I.; Correa, J., *Curr Med Chem*, **2016**, *29*, 3360-3373.

⁹⁹ Ekins, S.; Mestres, J.; Testa, B., *Br J Pharmacol*, **2007**, *152*, 21-37.

¹⁰⁰ Lusher, S.; McGuire, R.; Schaik R.; Nicholson, D.; Vlieg, J. *Drug. Discov. Today*, **2014**, *19*, 854-868.

estudios de similitud de fármacos son un claro intento de comprender las propiedades químicas que hacen que las moléculas tengan éxito o costosas fallas clínicas. Del mismo modo la contribución de las propiedades moleculares que influyen en ADME se reconocen junto con la potencia terapéutica como claves determinantes de si una molécula puede ser exitosamente desarrollada como un fármaco.¹⁰¹ De esta manera, la minería eficiente de datos de estas colecciones requiere de métodos informáticos que forman parte de lo que se llama «quimioinformática».¹⁰² El siguiente paso es encontrar compuestos que tengan propiedades farmacéuticas atractivas, incluyendo baja toxicidad, solubilidad acuosa adecuada para administrarse por vía oral, entre otras propiedades farmacocinéticas.¹⁰³

¹⁰¹ Balakin, K.; Ivanenkov, Y.; Savchuk, N.; Ekins, S., *Curr. Drug. Discov. Technol*, **2005**, 2, 99-113.

¹⁰² Medina, J.; Fernández, E.; Naveja, J. *Edu. Quim.* **2015**, 26, 180-186.

¹⁰³ Saldívar, F.; Prieto, F.; Medina, F. *Edu. Quim.* **2017**, 28, 51-58.

3.1 Objetivo General

Diseñar rutas de síntesis para obtener nuevos derivados esteroideos conteniendo *N*-heterociclos de tipo pirimidina, 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos, así como con fragmentos de tipo aminoalcohol sobre el anillo D.

3.2 Objetivos Particulares

- Sintetizar a partir de estrona nuevos derivados esteroideos tipo pirimidínicos, triazoles, y con fragmentos de tipo aminoalcohol, sobre el anillo D en C-17.
- Caracterizar los productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos como resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectroscopía de infrarrojo (IR), rotación óptica y punto de fusión para los compuestos sólidos.
- Proponer los mecanismos de reacción mediante el cual se lleva a cabo la obtención de los diferentes compuestos.
- Realizar el estudio *in silico* de los compuestos obtenidos, para predecir la probable actividad biológica frente a diferentes dianas.
- Realizar el *docking* molecular de los derivados obtenidos.

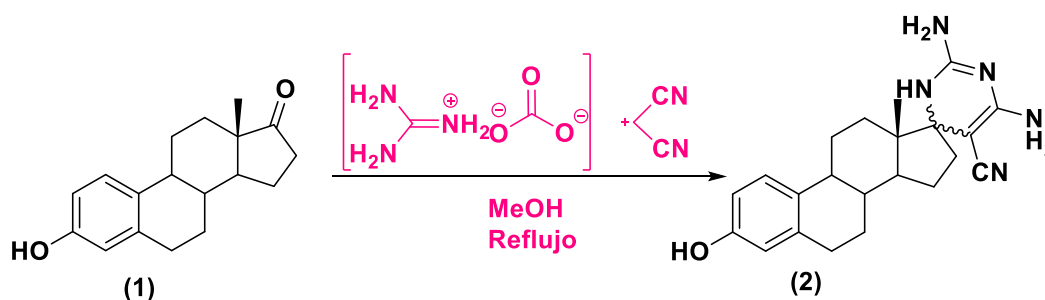
DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Debido a la importancia química, biológica y medicinal de los derivados esteroidales y de acuerdo con los antecedentes antes mencionados, se han diseñados 3 rutas sintéticas diferentes para la obtención de diversos derivados esteroidales de tipo heterocíclicos.

5.1 Ruta sintética A: Pirimidinas

5.1.1 Síntesis de pirimidinas esteroidales por reacción tipo *one-pot*

Para la síntesis del derivado pirimidínico esteroide, se planteó la ruta sintética establecida por Balalaie *et al*¹ mediante una reacción *one-pot* multicomponente, utilizando tres componentes importantes, malononitrilo, carbonato de guanidina, y la estrona como la correspondiente cetona, cual sigue una transformación tipo domino Knoevenagel/Michael/ciclocondensación. (Esquema 11).



Esquema 11. Obtención del derivado espiro-pirimidina esteroide por medio de una reacción tipo dominó.

De esta manera, al tener las condiciones establecidas para la síntesis de la pirimidina esteroide, se realizó un primer ensayo bajo las condiciones descritas a 1 equivalente de cetona, adicionando todos los reactivos a un mismo tiempo y a una misma temperatura, sin embargo, la reacción no procedió, por lo que se optó por realizar modificaciones a las condiciones establecidas, se cambió el orden de adición de los reactivos bajo la propuesta de la importancia de la formación del carbanión formado entre el malononitrilo y el carbonato de guanidina, por lo que ambos reactivos se adicionaron inicialmente al mismo tiempo, a reflujo en agitación y después de 20 minutos en reflujo se adicionó la cetona manteniendo las condiciones, se observó que hubo cambio durante su monitoreo, sin embargo se observaron diferentes productos formados, proponiendo que la temperatura constante tras la formación del carbanión lo modificaba generando este resultado, por lo que se varió la temperatura tras la reacción entre el malononitrilo y la guanidina por 20

minutos a temperatura ambiente, observando una reducción de formación de productos,. Finalmente, variando el tiempo de agitación entre la formación del carbanión y la adición de la cetona, obteniendo resultados favorables en el ensayo 5 como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de orden de adición de reactivos ensayadas para la ruta A reacción de tipo *one-pot*, donde G: Guanidina, M: Malononitrilo, E: Estrona.

Ensayo	1		2		3		4		5	
	Orden de adición de reactivos	T. en que se adiciona el reactivo	Orden de adición de reactivos	T. en que se adiciona el reactivo	Orden de adición de reactivos	T. en que se adiciona el reactivo	Orden de adición de reactivos	T. en que se adiciona el reactivo	Orden de adición de reactivos	T. en que se adiciona el reactivo
Reactivos	Se adiciona la G, M y E todo al mismo tiempo	A reflujo en agitación	1) G y M	A reflujo en agitación	1) G y M	A reflujo en agitación 20 min	1) G y M	A reflujo en agitación	1) G y M	A reflujo en agitación 40 min
			Se deja en agitación por 20 minutos a reflujo		Se deja en agitación por 20 min a t.a		Se deja en agitación por 40 minutos a reflujo		Se deja en agitación por 40 min a t.a	
			2) E	Reflujo	2) E	Reflujo	2) E	Reflujo	2) E	Reflujo
Reacción	No		Sí		Sí		Sí		Sí	

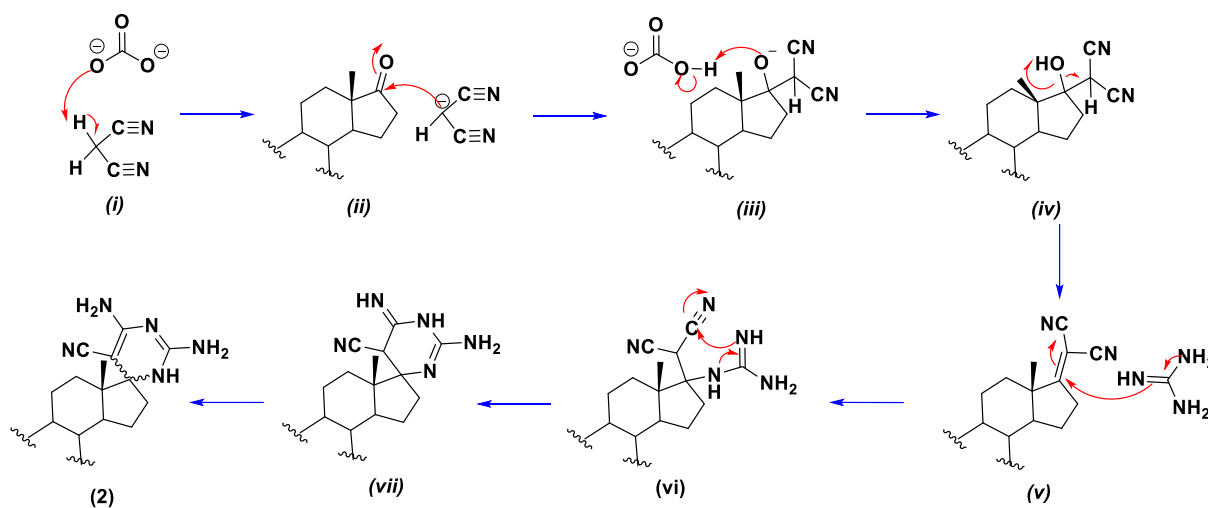
Posteriormente, se modificaron otras condiciones de reacción para la obtención del compuesto deseado, variando primero los equivalentes de cada reactivo, así como el tiempo de reacción después de la adición de la estrona, haciendo un estudio para la identificación de los intermediarios que se generaron en la ruta de síntesis. No obstante, no se logró obtener muestra suficiente que permitiera la adecuada caracterización de los compuestos obtenidos, algunos se observaron por RMN del crudo de reacción que mostraba la formación tentativa de la pirimidina y la transformación de la estrona. Los reactivos y condiciones variaron de acuerdo con la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de reacción en equivalentes y tiempo ensayadas para la ruta A para la obtención del compuesto 2 en reacción de tipo *one-pot*.

Ensayo	Equivalentes de reactivo			Tiempo de reacción (Horas)	Reacción	Observaciones
	Carbonato de Guanidina	Malononitrilo	Estrona			
1	1	2	1	3	No	Se mantuvo la M.P
				6	Si	Formación de 4 productos y M.P
				24		Formación de 3 productos y M.P
2	1.4	2.2	1	3	Si	Formación de 4 productos y M.P
				6		Formación de 3 productos y M.P

				24		Formación de 3 productos y M.P
				3		Formación de 4 productos y M.P
3	2.5	2.5	1	6	Si	Formación de 3 productos y M.P
				24		Formación de 3 productos y M.P
				48		Formación de 2 productos y M.P
				72		Formación de 2 productos y M.P

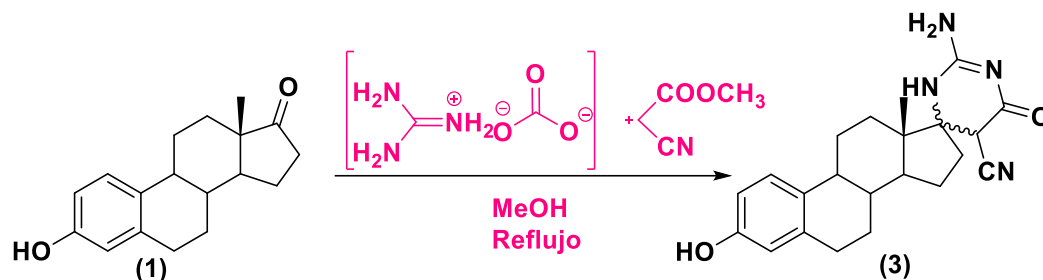
En los diferentes ensayos, se observó que en las primeras horas de reacción existió la formación de 4 productos, y que el comportamiento a través de las horas, incluso al incrementar los equivalentes continuó siendo el mismo, disminuyendo la formación de productos hasta llegar a las 72 horas, en donde se observaron dos diferentes productos, por lo cual se propuso que los productos que se apreciaron en placa pudieran ser por los intermediarios formados durante la reacción química proponiendo el mecanismo de reacción que se muestra en el Esquema 12.



Esquema 12. Mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto **2**.

Así se describe la propuesta del posible mecanismo de reacción para la formación del derivado spiropirimidina mediante el carbonato de guanidinio, como fuente de guanidina libre y metanol a reflujo. El medio básico generado se utilizó para formar el carbanión del malononitrilo, el cual realiza una adición nucleofílica al carbono del carbonilo generando el intermediario *iv* a través de una condensación de Knoevenagel, el intermediario formado actúa como aceptor de Michael. Existe una asistencia electrónica por parte de la guanidina la cual ataca al carbono electrofílico formando al intermediario *vi*, posteriormente se lleva a cabo la ciclocondensación intramolecular

(intermediario *vii*). Finalmente se lleva a cabo una tautomerización obteniendo las espiro aminopirimidinas **2**. Por lo que se estima que los intermediarios *i*, *iv*, *v* y **2** son los que se observaron en la CCF. Por otra parte, para la reacción variando el malononitrilo por el cianoacetato se obtuvieron resultados semejantes a la primera propuesta. Se ensayó la reacción mostrada en el Esquema 13 para la formación del compuesto **3**.



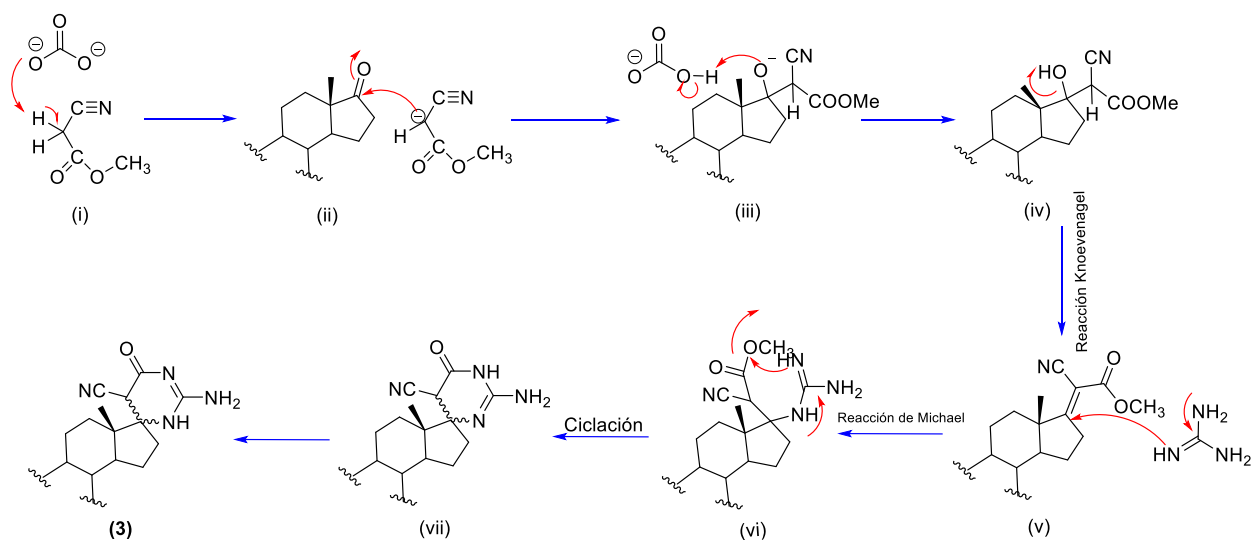
Esquema 13. Obtención del derivado espiro-pirimidona esteroideal por medio de una reacción tipo dominó.

Tomando como antecedente el comportamiento del orden de adición de la primera reacción, se decidió mantener ese orden y esos tiempos, registrando el comportamiento de la reacción por CCF, observando la formación de los productos, se pensó que la reacción avanzó favorablemente, pero sin poder encontrar las condiciones adecuadas de purificación para su caracterización, registrando los cambios como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de reacción en equivalentes y tiempo ensayadas para la ruta A para la obtención del compuesto 3 en reacción de tipo *one-pot*.

Ensayo	Equivalentes de reactivo			Tiempo de reacción (Horas)	Reacción	Observaciones
	Carbonato de Guanidina	Cianoacetato de metilo	Estrona			
1	1	2	1	3	No	Se mantuvo la M.P
				6	Si	Formación de 3 productos y M.P
				24		Formación de 3 productos y M.P
2	1.4	2.2	1	3	Si	Formación de 3 productos y M.P
				6		Formación de 3 productos y M.P
				24		Formación de 2 productos y M.P
3	2.5	2.5	1	3	Si	Formación de 3 productos y M.P
				6		Formación de 3 productos y M.P
				24		Formación de 3 productos y M.P
				48		Formación de 2 productos y M.P
				72		Formación de 2 productos y M.P

Se mantiene la propuesta del mecanismo de reacción, con una condensación *one-pot* Knoevenagel/Michael/ciclocondensación intercambiando el malononitrilo por el cianoacetato de metilo como se muestra en el Esquema 14.

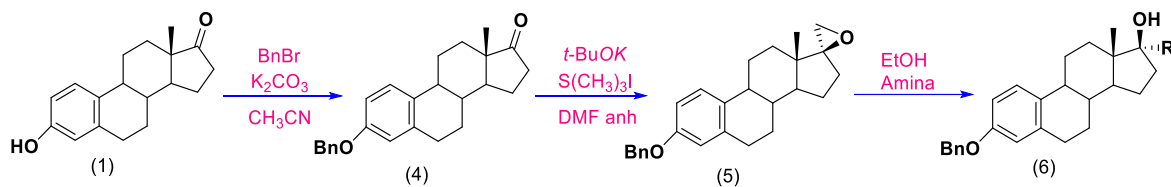


Esquema 14. Mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto **3**.

Se hicieron diferentes ensayos para la adecuada purificación de ambos compuestos pirimidínicos, como la modificación del tipo de cromatografía a utilizar, intercambiando entre columna cromatográfica o en placa preparativa, además variando la fase móvil, haciendo pruebas con sistemas entre MeOH, AcOEt, CHCl₃ probando además con la basificación del sistema con Et₃N, también se llevó a cabo la variación de la fase estacionaria utilizando alúmina, gel de sílice y gel de sílice basificada con NH₄OH y Et₃N, sin embargo tras estos cambios de fases y condiciones no fue posible la adecuada purificación para la obtención de los compuestos de interés.

5.2 Ruta sintética B: Aminoalcoholes

Como segunda propuesta se presenta la preparación de derivados de la estrona con modificación en el C-17 obteniendo compuestos nitrogenados unidos al esteroide y un grupo -OH a partir de la estrona **1** como se muestra en el Esquema 15.



Esquema 15. Ruta sintética para la obtención de los derivados **6**.

Como primer paso, se llevó a cabo la protección del $-\text{OH}$ aromático presente en el C-3, con el grupo bencilo. Debido a la acidez del $-\text{H}$ del anillo fenólico, el uso K_2CO_3 como base resulta conveniente, para la formación del fenolato, reaccionando posteriormente por una $\text{S}_{\text{N}}2$ sobre el BnBr obteniendo la estrona bencilada **4**, siendo una reacción de protección limpia y de rendimiento cuantitativo.

Posteriormente, se llevó a cabo la formación del epóxido **5** por una reacción de Corey Chaykovsky, la cual consiste en un ataque nucleofílico por un iluro de azufre, que se forma *in situ* mediante la reacción del $t\text{-BuOK}$ y $\text{S}(\text{CH}_3)_3\text{I}$, sobre un carbonilo, seguido de una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular del oxígeno aniónico sobre el carbono que sostiene el catión sulfonio, reacción ampliamente estudiada y utilizada por nuestro grupo de investigación,² así obteniendo de manera estereoselectiva el derivado **5**. Finalmente, a través de la apertura del epóxido con diferentes aminas se obtuvieron los distintos derivados **6**, disolviendo el derivado **3** en EtOH y utilizando como nucleófilo las diferentes aminas. Estas reacciones se llevaron a cabo por una reacción tipo $\text{S}_{\text{N}}2$, con la propuesta de ser una reacción regioselectiva sobre el carbono menos impedido, obteniendo derivados adecuadamente sustituidos con la amina correspondiente. Se propusieron aminas que tuvieran arilos en su estructura, ya que de acuerdo con la literatura revisada, algunos trabajos de investigación reportan mejor potencial de actividad biológica, por mencionar alguno, Haverkate *et al.* al trabajar con derivados de tipo tienopiridinas agregaron estructuras arilo, que, en comparación con los que no se encontraban sustituidos, demostraron excelentes valores de IC_{50} en células cancerosas, mencionando ser resultados favorables a la actividad antiproliferativa.¹⁰⁴ Las aminas ensayadas se presentan en la Figura 16.

¹⁰⁴ Haverkate, N.A., Leung, E., Pilkington, L.I., Barker, D. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2020-2036.

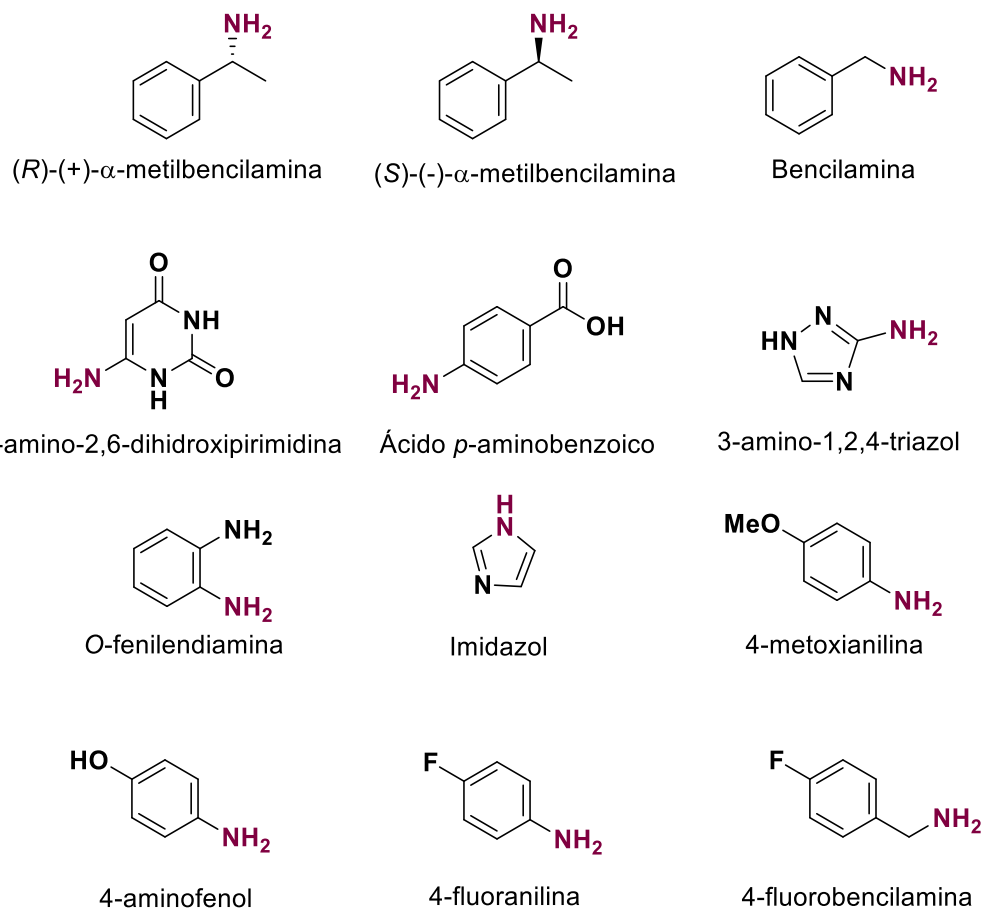
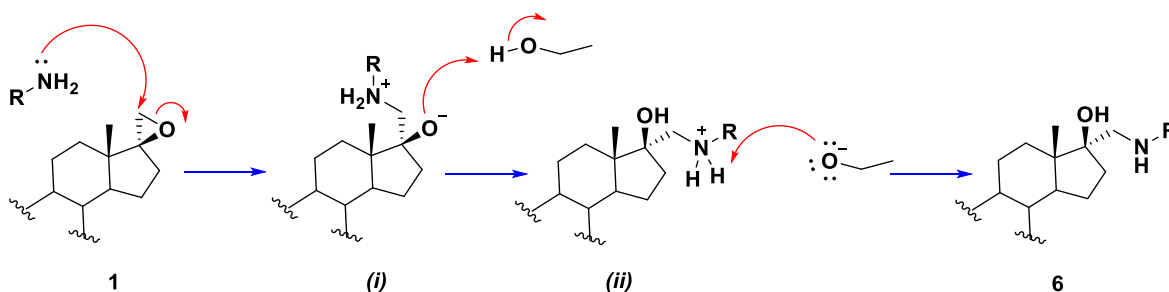


Figura 16. Aminas propuestas para la obtención de derivados de la ruta sintética B.

De manera general se propone el mecanismo de reacción con una apertura de tipo S_N2 en medio básico, realizando la amina un ataque nucleofílico al carbono C-19, el cual resulta un excelente electrófilo debido a la tensión torsional y angular provocada por el anillo de tres miembros. Esquema 16.



Esquema 16. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de los derivados 6.

5.2.1 Síntesis de 17 α -(N-1 α -feniletíl)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6a)

En la revisión bibliográfica se habla de un exceso de amina para la formación de aminoalcoholes, por lo que ante el diferente comportamiento de la molécula se decidió iniciar con cada una de las aminas propuestas con un equivalente e ir estudiando el comportamiento de la reacción. La primera amina estudiada fue la (*R*)-(+)-(α)-metilbencilamina. Como disolvente se utilizó etanol previamente destilado, iniciando la reacción con un equivalente de amina, a reflujo y realizando diferentes ensayos como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Ensayos realizados para la obtención de 6a.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Reacción y rendimiento
Etanol	1.50	12	Sin reacción
	3	12	Sin reacción
	3	18	Reacciona
	7	18	Reacciona obteniendo un 12% de rendimiento
	7	28	Reacciona obteniendo un 25% de rendimiento
	Exceso	28	Reacciona obteniendo un 26% de rendimiento

En su caracterización, se observaron cambios significativos en el espectro de RMN de ^1H , ya que el desplazamiento de los protones diastereotópicos del grupo metileno del oxirano del compuesto **3** se encuentran en 2.98 y 2.66 ppm (Figura 17), mientras que para el compuesto **6a** se encuentran en 2.76 y 2.37 ppm (Figura 18). Además, se puede ver una nueva señal múltiple en 3.76 ppm perteneciente al H-20 que se encuentra unido al C quiral 20, haciendo ver la apertura del anillo del oxirano.

Oxirano de la Estrona

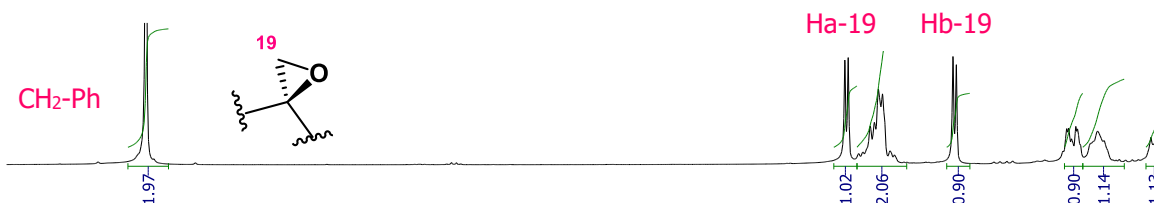


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **3**.

Compuesto 6a

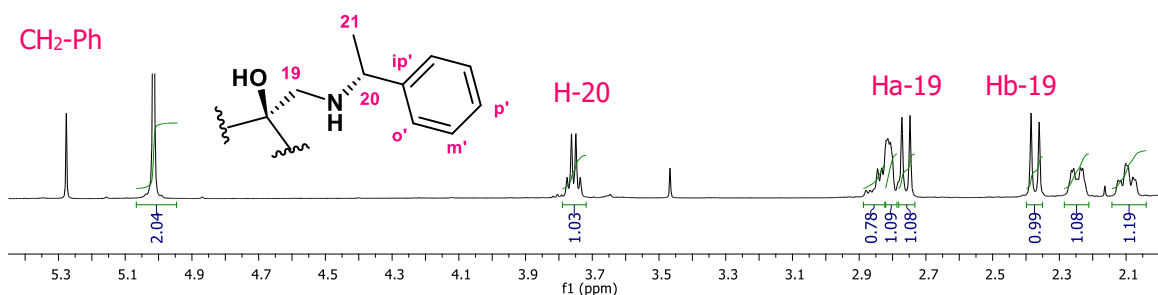
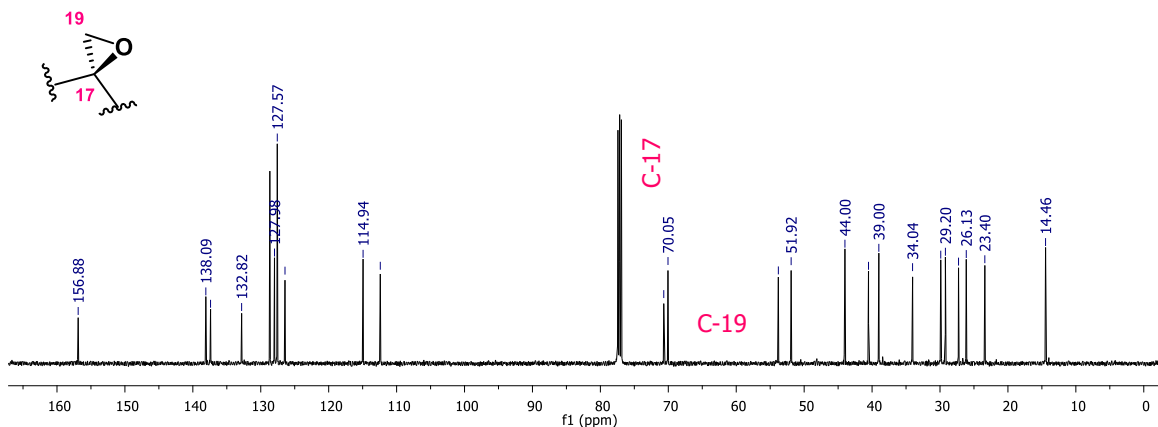


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6a**.

En el espectro de RMN ^{13}C se observan dos cambios importantes debido a la apertura del ciclo (Figura 19), de manera general, en los aminoalcoholes, el desplazamiento del C-17 cambia ligeramente hacia altas frecuencias, en el oxirano se observa en 70.67 ppm, mientras que, en el aminoalcohol, en 81.29 ppm, siendo que el ambiente químico entorno a dicho carbono no cambia significativamente. El segundo cambio importante se puede ver en el desplazamiento del C-19, que en el oxirano pertenece al carbono espiro, mientras que en los aminoalcoholes pertenece al carbono que une a la amina, en el oxirano C-19 tiene un desplazamiento de 53.80 ppm, mientras que en **6a** se encuentra a 54.20 ppm, en tanto que también se aprecian las nuevas señales pertenecientes al sustituyente del $-\text{NH}$, como el C-20 que se encuentra a 59.19 ppm, el C-21 en 24.49 ppm, y finalmente los nuevos carbonos aromáticos ubicados a altas frecuencias.

Oxirano de la Estrona



Compuesto 6a

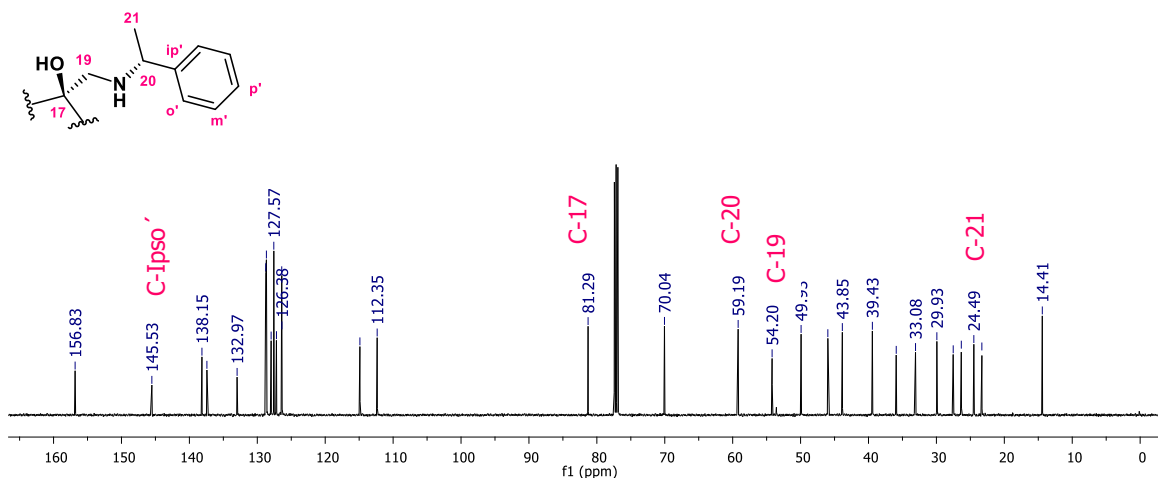


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto 3 y 6a.

5.2.2 Síntesis de 17 α -(N-1 β -feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6b)

Para la síntesis del compuesto **6b** se decidió que debido al cambio únicamente de la posición del metilo de la amina a utilizar, se ensayarían de manera semejante a la síntesis del compuesto **6a**, sin probar el exceso apreciando que existió un cambio notable en el rendimiento obtenido, incrementando en un 10%. Tabla 5.

Tabla 5. Ensayos realizados para la obtención de **6b**.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Etanol	1.50	12	Sin reacción
	3	12	Sin reacción
	3	18	Se observa reacción
	7	18	Reacciona obteniendo un 22% de rendimiento
	7	28	Reacciona obteniendo un 36% de rendimiento

Para su caracterización, se obtuvo un espectro similar al compuesto **6a**, ya que la amina utilizada es enantiómero de la primera amina. El desplazamiento de los protones de la apertura correspondiente a los del C-19 del oxirano se desplazan a frecuencias semejantes al compuesto **6a**, los protones correspondientes a C-19, H-19a y H-19b, se desplazan a 2.77 ppm y 2.37 ppm respectivamente, a su vez el H-20 se encuentra en 3.82 ppm (Figura 20).

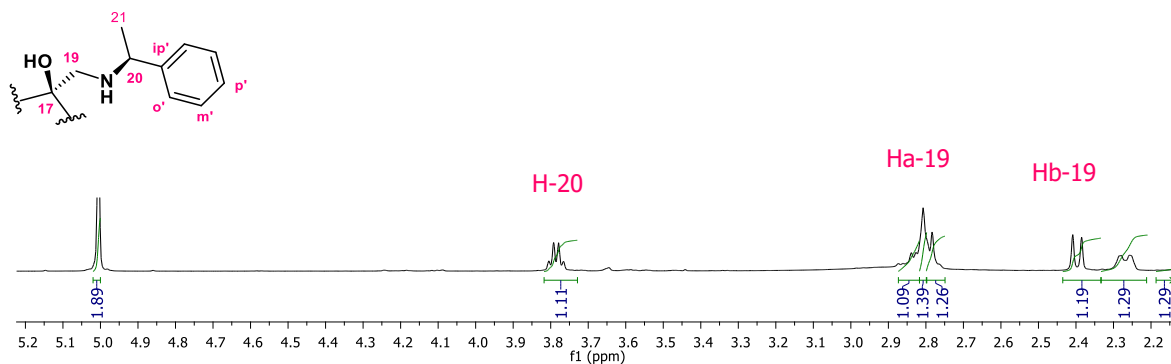


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6b**.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 21) se observan las nuevas señales de los carbonos pertenecientes al sustituyente de la amina, el desplazamiento para C-19 se encuentra en 53.75 ppm mientras que para el C-17 se encuentra en 81.43 ppm, el C-21 se encuentra desplazado en 24.41 ppm, apreciando las nuevas señales para los aromáticos.

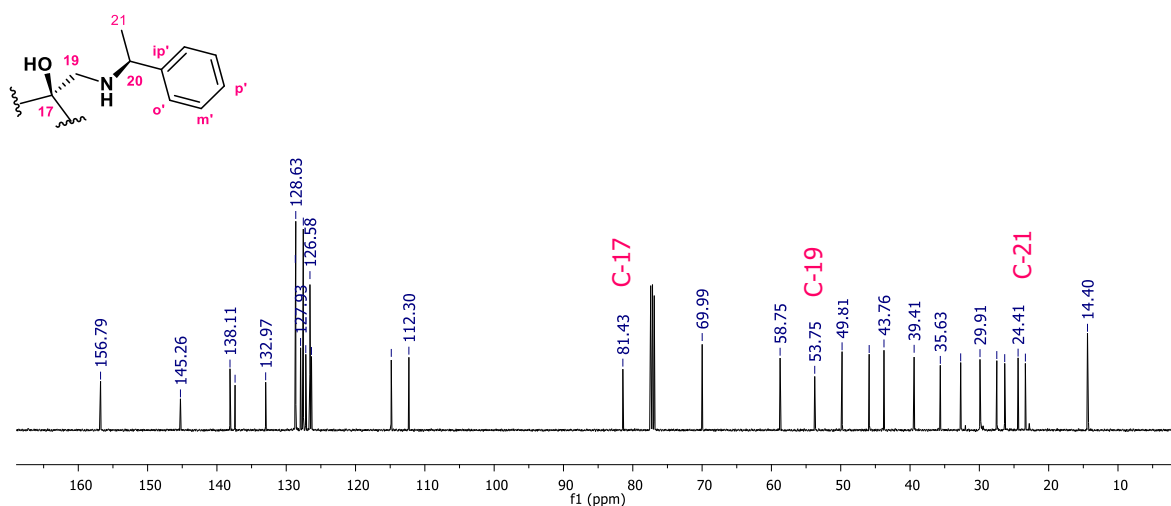


Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6b**.

Para la determinación de las señales de los C-19 y C-20, fue de gran ayuda el análisis del experimento HMBC, en el cual se puede observar la correlación heteronuclear a 2 o 3 enlaces de distancia de estos carbonos con los protones cercanos, haciendo una comparación con el HMBC del compuesto **6a** (Figura 22), los desplazamientos son semejantes y la asignación no cambia. En el caso del C-19 se correlaciona con los protones H-20, H-16a y H-16b, mientras que el C-20 se correlaciona con los protones H-19a, H-19b, H-21, así como los correspondientes aromáticos Ho' del anillo de R.

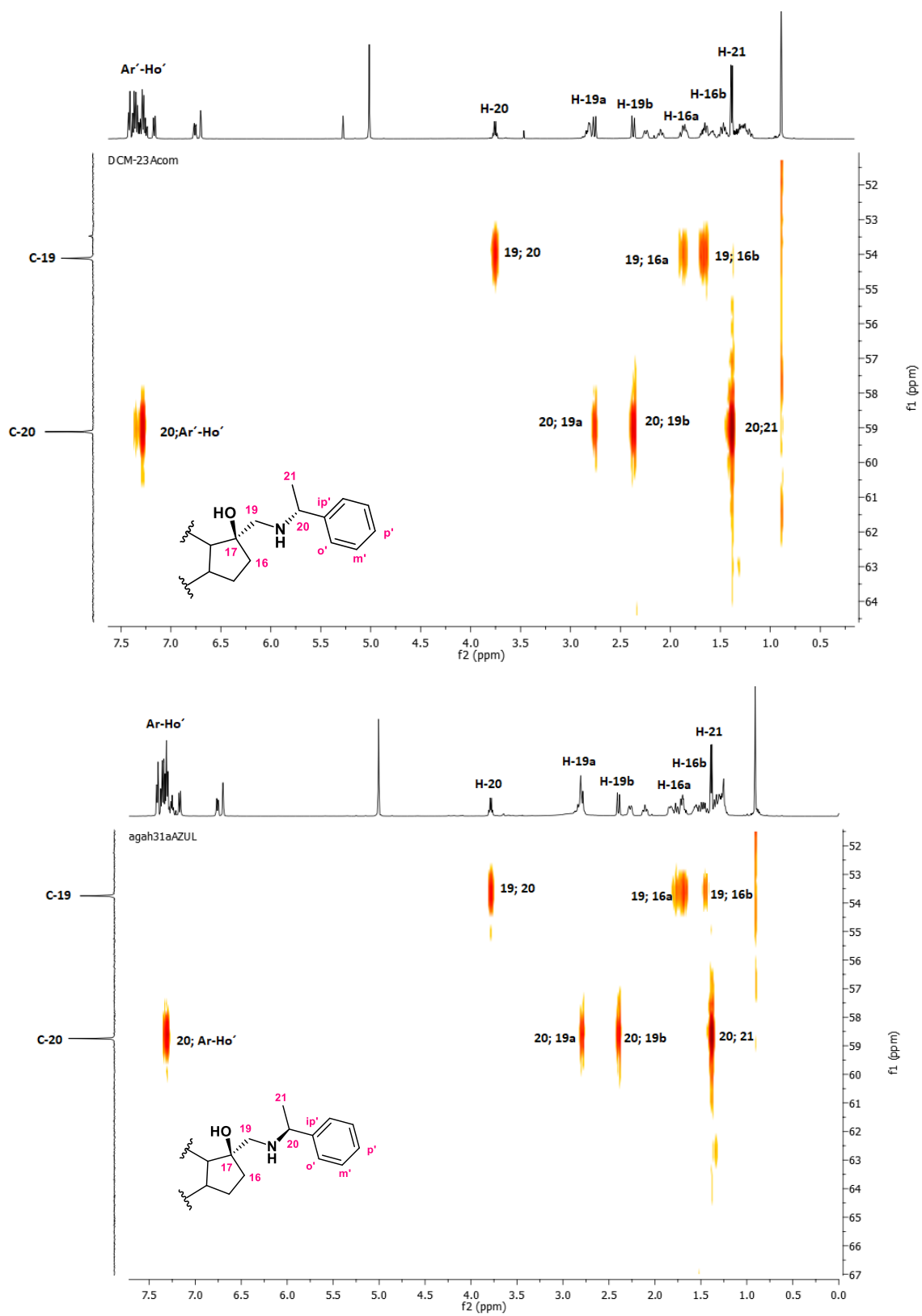
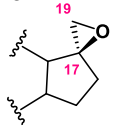
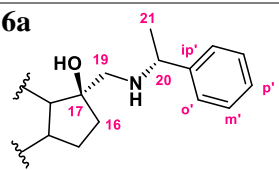
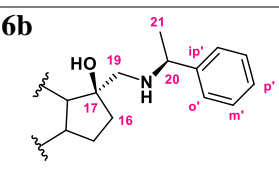


Figura 22. Fragmento del espectro HMBC del compuesto 6a y 6b.

Haciendo una comparación encontramos los cambios más significativos en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de desplazamientos de C-17, C-19 y H-19 de **6a** y **6b** con la materia prima.

Compuesto	RMN ¹ H		RMN ¹³ C	
	H-19a	H-19b	C-17	C-19
Oxirano 	2.98	2.66	70.67	53.80
6a 	2.76	2.37	81.29	54.20
6b 	2.77	2.37	81.43	53.75

De ambos compuestos se obtuvieron los espectros IR (Figura 23) para identificar los principales grupos funcionales, las señales debidas a la vibración de tensión de los enlace -NH y -OH fueron indicativas para la formación del producto. Además, se observaron los sobretonos que suelen verse para los aromáticos, las señales de flexión para -NH en 1606 cm⁻¹ y una señal de tensión en 1249 cm⁻¹ para el enlace C-O.

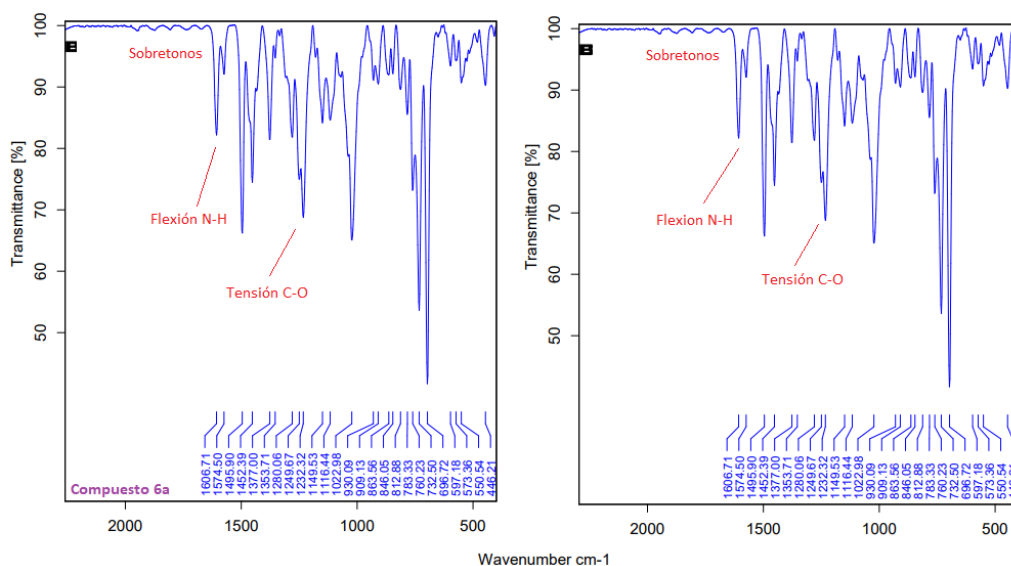


Figura 23 Segmentos de los espectros de IR de los derivados **6a** y **6b**.

5.2.3 Síntesis de 17 α -imidazolmetil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (**6c**)

Con el antecedente de los ensayos anteriores del comportamiento del oxirano de la estrona en el ambiente químico para obtener **6a** y **6b**, se optó por iniciar con un exceso de equivalentes de la amina usados para la obtención de **6c**, variando de igual manera el tiempo con las observaciones registradas en la Tabla 7.

Tabla 7. Ensayos realizados para la obtención de **6c**.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Etanol	6	12	Reacciona con m.p
	6	24	Reacciona con m.p
	6	36	Reacciona con m.p
	7	24	Reacciona y en CCF se observa menor concentración de m.p
	7	36	En CCF se observaba el consumo total del M.P sin embargo al purificar se obtuvo un 87 %

Se observan cambios significativos en el espectro de RMN de ^1H de **6c** (Figura 24). Se aprecia que el desplazamiento de los protones diastereotópicos del grupo metileno del oxirano del compuesto **3** se encuentran en 2.98 y 2.66 ppm mientras que para el compuesto **6c** esos protones diastereotópicos se encuentran en 4.13 y 3.87 ppm, además hacia altas frecuencias podemos encontrar 3 nuevas señales correspondientes a los protones del ciclo del imidazol, encontrando el H-5' en 7.67 ppm, H-2' en 7.07 ppm y finalmente H-3' en 6.93 ppm, como se muestra a continuación (Figura 24).

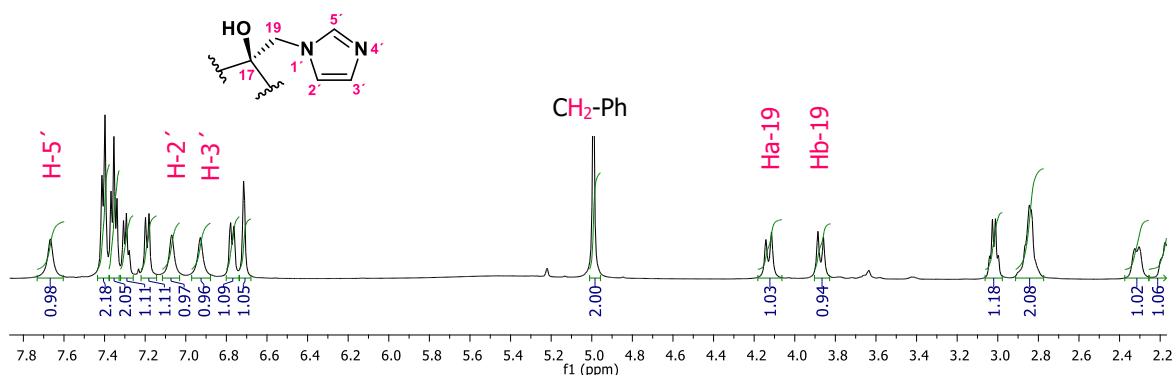


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6c**.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 25) se observan las nuevas señales de los carbonos pertenecientes al anillo del imidazol a altas frecuencias, C-5' en 138.43 ppm, C-3' en 127.1 ppm, y C-2' en 121.37 ppm, además el desplazamiento para C-19 se encuentra en 53.6 ppm mientras que para el C-17 se encuentra en 82.44 ppm.

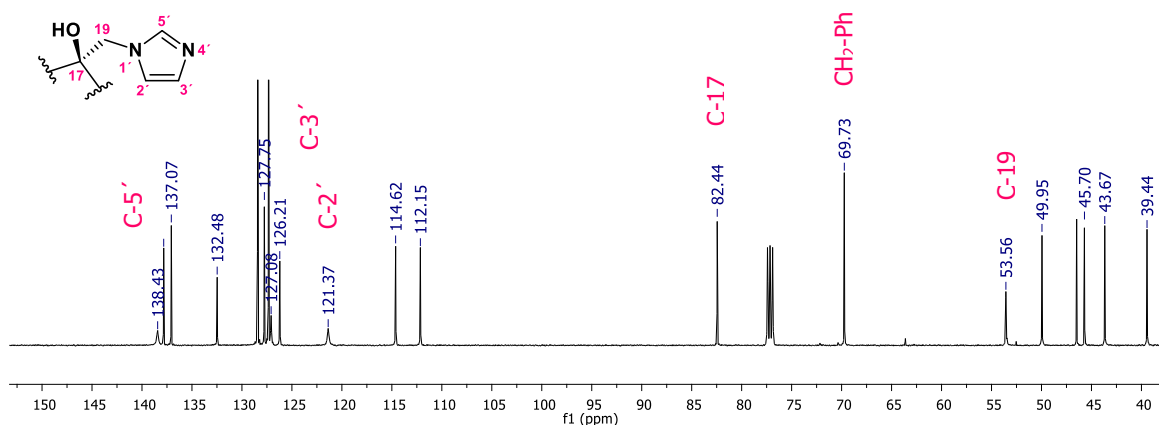


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6b**.

La asignación correcta de C-5' y C-2' se realizó con ayuda del experimento HMBC (Figura 26) observando los acoplamientos con los H-19. Por otro lado, podemos observar la correlación que existe entre C-2' con H-19a y H-19b, al igual que C-5' se encuentra con H-19a y H-19b, teniendo una correlación similar debido al ser carbonos similares.

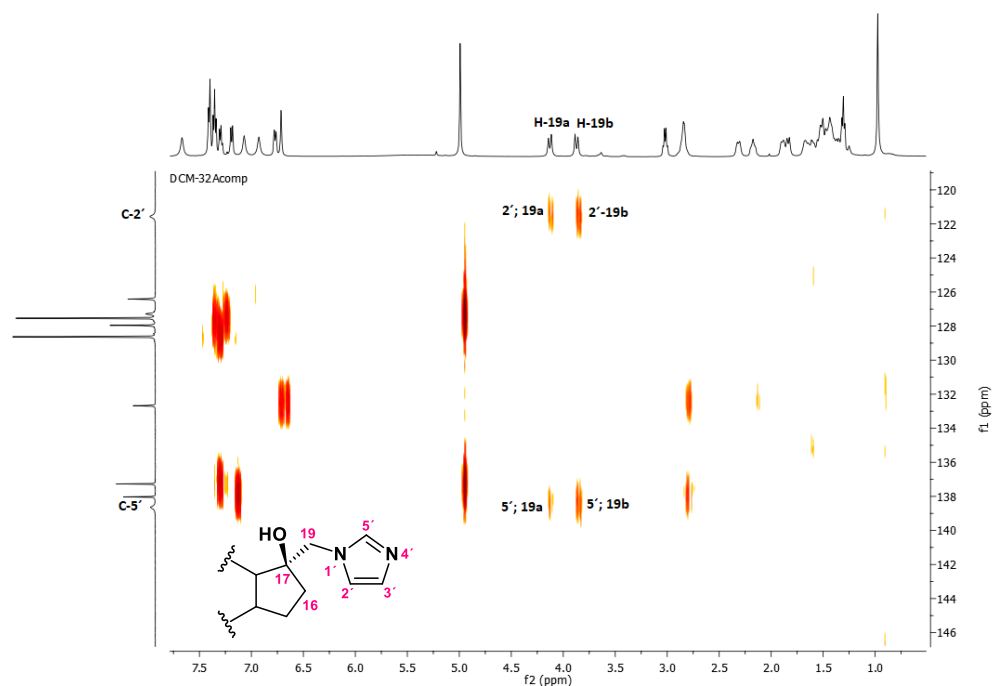


Figura 26. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **6c**.

En el espectro de IR, (Figura 27) se identificaron las señales importantes del compuesto, entre ellas la de los carbonos aromáticos en 3031 cm^{-1} , las señales de CH-sp^3 en 2925 cm^{-1} y 2868 cm^{-1} , en 1606 cm^{-1} la señal de flexión característica del $-\text{NH}$, en 1280 cm^{-1} la señal para C-N cíclico y finalmente en 1231 cm^{-1} la señal de tensión para C-O.

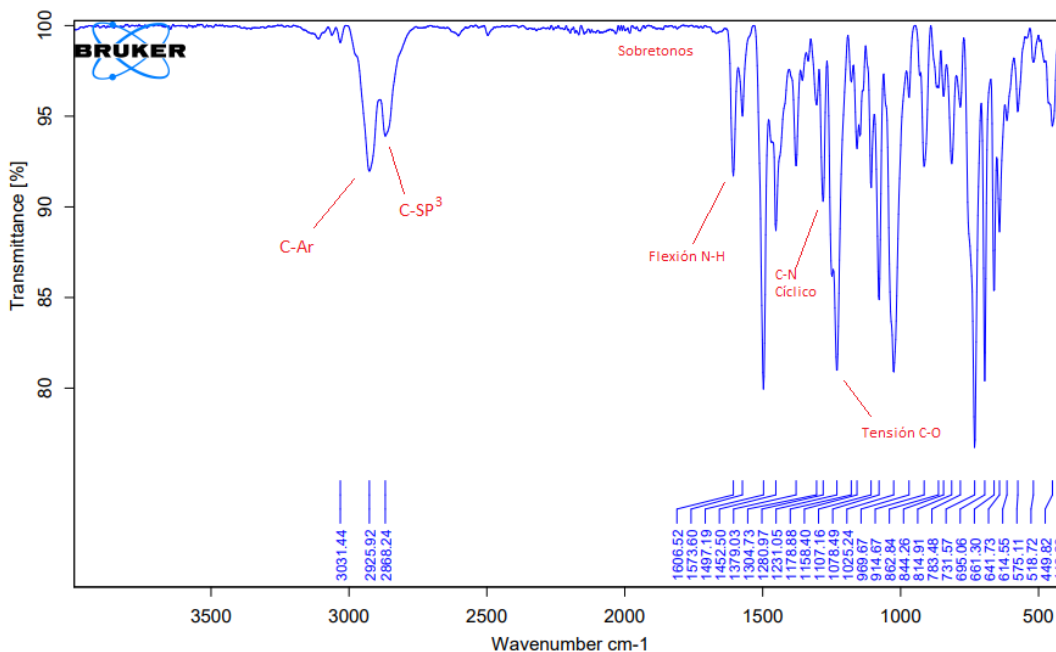


Figura 27 Espectro de IR del compuesto 6c.

5.2.4 Síntesis de 17α -(bencilamino)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien- 17β -ol (6d)

Para la síntesis de **6d** no se variaron de más los equivalentes de bencilamina considerando que dicha amina no se encuentra impedida y que se espera tenga mejor reacción, iniciando con 2 equivalentes de esta, variando tiempo y llegando hasta 4 equivalentes a 36 horas de reacción con un comportamiento como se observa en la Tabla 8.

Tabla 8. Ensayos realizados para la obtención de **6d**.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Etanol	2	12	Reacciona pero aún con m.p
	2	24	Reacciona pero aún con m.p
	4	24	Reacciona pero aún con m.p
	4	32	Reacciona y en CCF se observa menor concentración de m.p

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **6d** (Figura 28), se observan las señales simples de los protones pertenecientes a $\text{CH}_2\text{-Ph}$ y $\text{CH}_2\text{-NH-}$ en 5.02 y 3.85 ppm respectivamente, a diferencia de los 3 compuestos previamente descritos, se observa que los protones de la apertura del oxirano no se desplazaron significativamente, H-19a se encuentra en 2.94 ppm y H-19b en 2.56 ppm. A frecuencias altas también se aprecian las nuevas señales pertenecientes al grupo bencilo de la amina, encontrando como señales múltiples Ar'-Hm' en 7.36 ppm, Ar'-Ho' en 7.33 ppm, finalmente Ar'-Hp' en 7.26 ppm, las demás señales corresponden al esqueleto del esteroide.

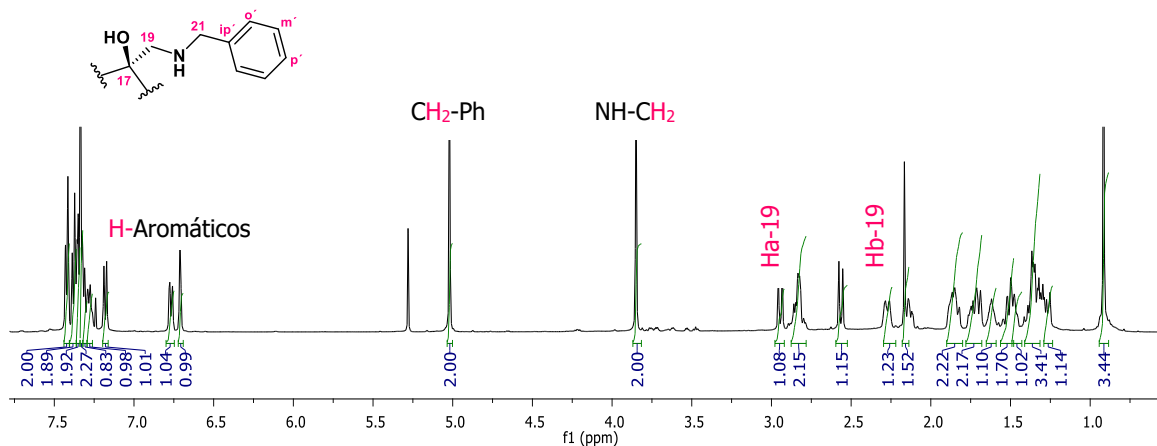


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6d**.

En el espectro de RMN ^{13}C que se observa en la Figura 29 del compuesto **6d**, permitió identificar nuevas señales pertenecientes a los carbonos del bencilo del radical de la amina, se encuentra al C-*ipso*' en 139.90 ppm, C-*o*' en 127.94 ppm, C-*m*' en 127.72 ppm, así como la evidencia del C-19 en 54.44 ppm, el desplazamiento también del C-21 que en el oxirano de la estrona se encontraba en 53.80 ppm y ahora se encuentra en 55.39 ppm, de la misma forma el C-17 se ve en 81.33 ppm.

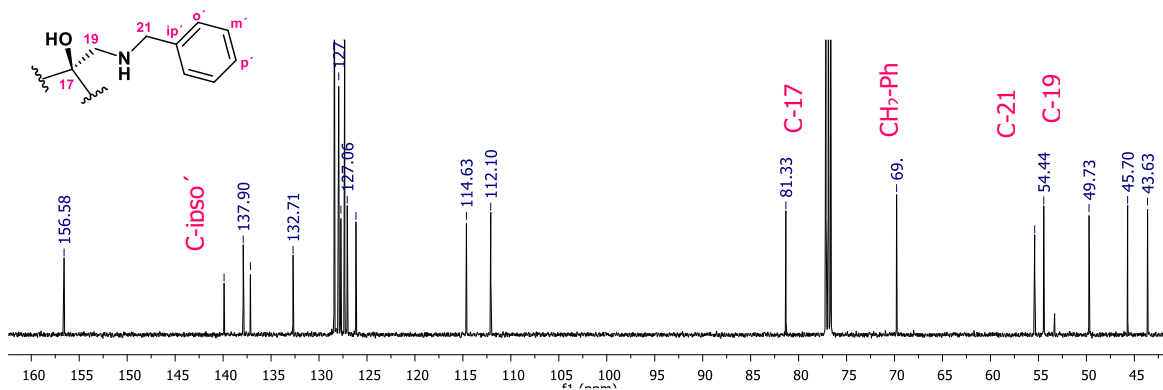


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6d**.

Dichas asignaciones se corroboran con la ayuda del experimento HMBC (Figura 30), donde se observa que el C-19 unido al N, correlaciona con los H de 21, así como con H-de 16, a su vez, se aprecia que C-21 se correlaciona con los protones pertenecientes a los H-o' del bencilo, así como a los protones de 19.

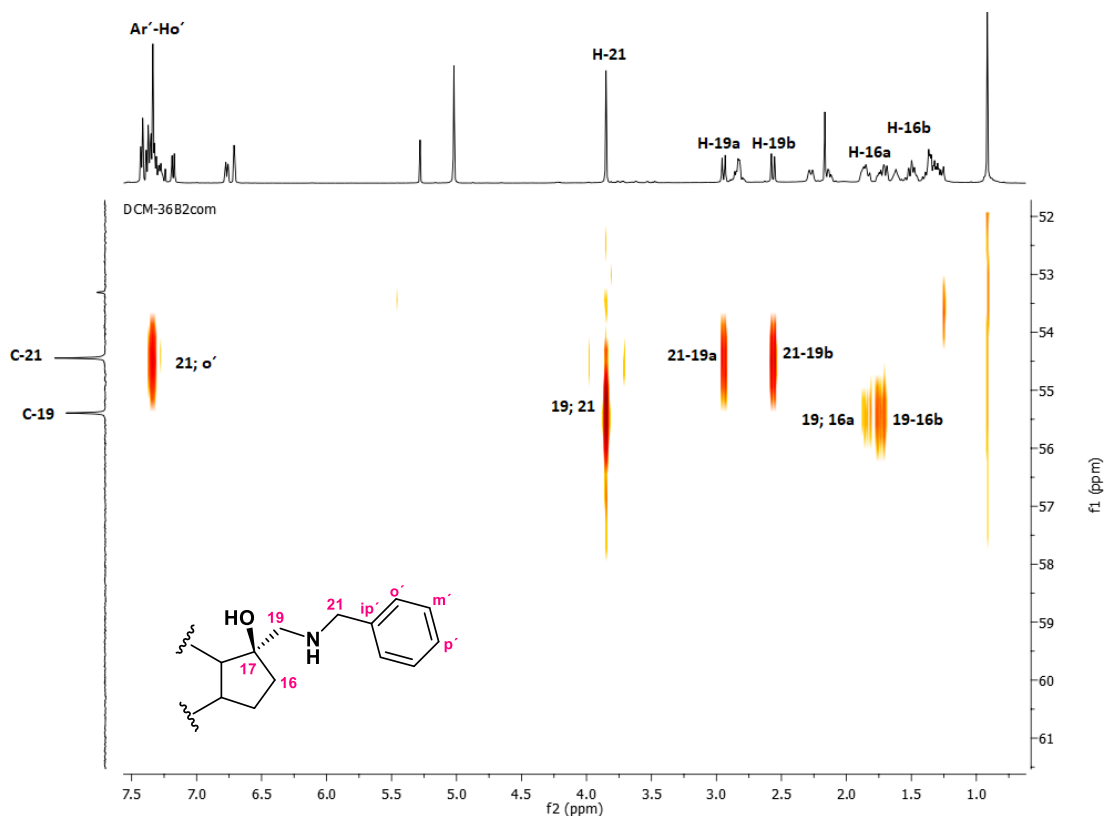


Figura 30. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **6d**.

En el espectro IR se pueden observar señales de tensión y flexión debidas al enlace -NH en 3288 cm^{-1} y 1611 cm^{-1} también se pueden apreciar las señales pertenecientes a los carbonos aromáticos y los CH- sp^3 en 3027 cm^{-1} y valores menores a 3000 cm^{-1} , también se encuentra la señal que corresponden a las vibraciones de tensión del alcohol terciario C-O en 1277 cm^{-1} . (Figura 31)

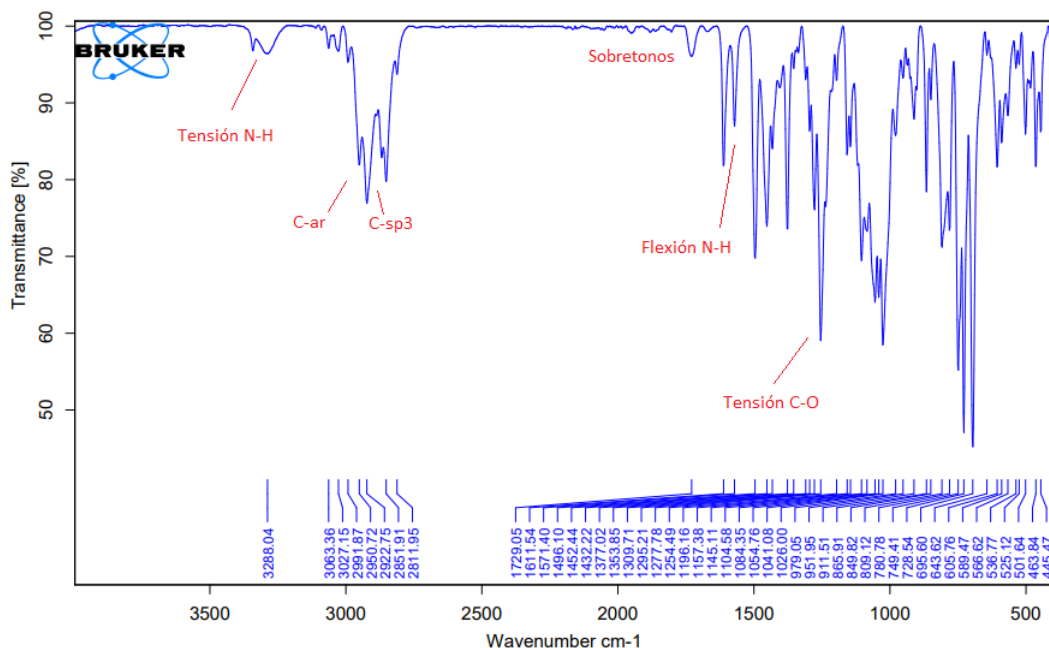


Figura 31. Espectro de IR del compuesto **6d**.

5.2.5 Síntesis de 17 α -(1,2,4-triazol-3-il)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (**6e**)

Para la síntesis del derivado **6e**, se planteó hacer un primer ensayo con las condiciones inicialmente descritas, sin embargo, no hubo transformación, por lo que se decidió aumentar el número de equivalentes de amina y el tiempo de reacción, tras 7 equivalentes de 3-amino-1,2,4-triazol y 24 horas de reacción tampoco se observó cambio en la materia prima, por lo que se optó realizar ensayos con metanol, igualando el número de equivalentes de amina a 7 y llegando a un tiempo de reacción de 36 horas, no hubo transformación. Finalmente se decidió utilizar un exceso de amina y 36 horas de reacción donde se observó la transformación de la materia prima, tras aumentar las horas de reacción se observó su degradación por lo que se establecieron 36 horas como las horas necesarias para la obtención del compuesto deseado con un rendimiento del 32%, las variaciones de las condiciones de reacción se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Ensayos realizados para la obtención de 6e.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Metanol	4	12	No reacciona
	4	36	No reacciona
	7	24	No reacciona
	7	36	No reacciona
Etanol	4	12	No reacciona
	4	24	No reacciona
	7	12	No reacciona
	7	24	No reacciona
	10	12	Se observa un cambio con 4% de rendimiento
	10	24	Se observa un cambio con 4% de rendimiento
	10	36	Se observa un cambio con 19% de rendimiento
	Exceso	36	Se observa cambio considerablemente en CCF, y se obtiene un 32% de rendimiento

La caracterización del compuesto obtenido comenzó con el espectro de RMN ^1H , en principio se observan como señales múltiples los protones pertenecientes a H-19, en 4.09 ppm y 3.98 ppm, a altas frecuencias en 7.79 ppm se encuentra una señal simple característica de un triazol perteneciente a H-5' (Figura 32).

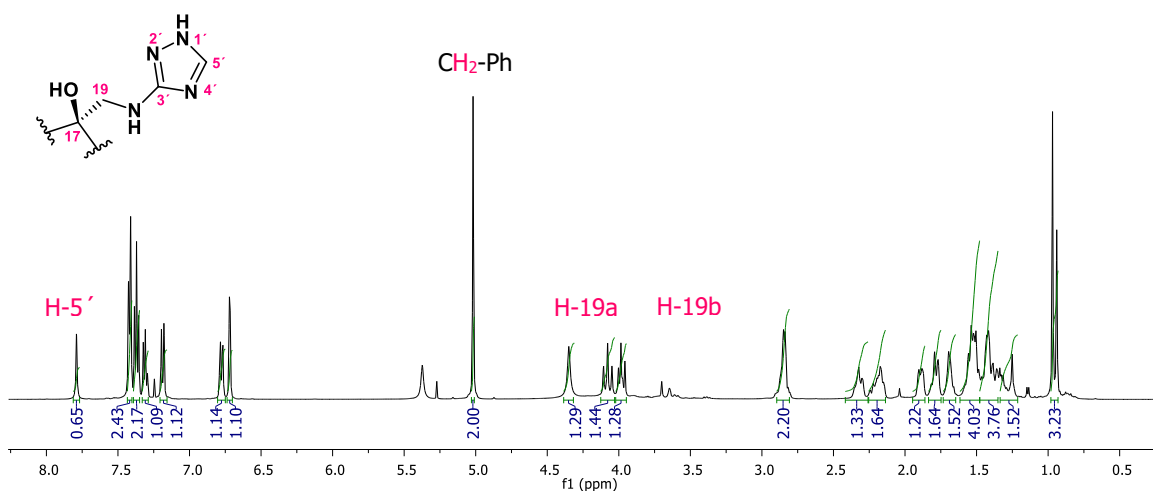


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto 6e.

Por otra parte, en el espectro de RMN ^{13}C que se observa en la Figura 33 del compuesto **6e**, se identifican nuevas señales que se forman en los carbonos del triazol, localizando C-3' en 163.07 ppm, en cuanto a C-5' en 143.74 ppm, mientras que los C-17 y C-19 se encuentran en 82.73 y 55.63 ppm respectivamente.

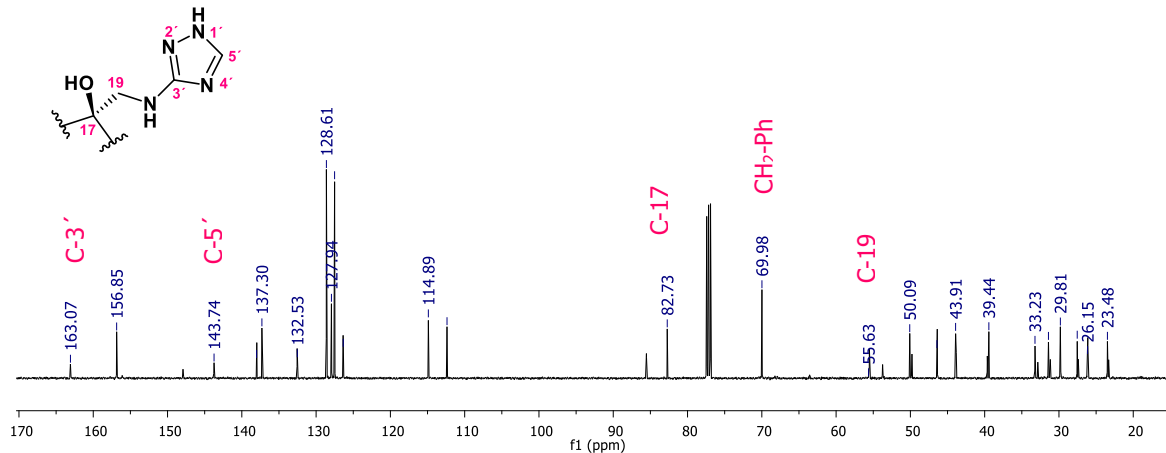


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6e**.

Debido a las señales pequeñas que se encuentran fue de utilidad utilizar el espectro HMBC (Figura 34) donde se observa la correlación que existe entre los C-16, C-17, C-5' con los protones H-19a y H-19b.

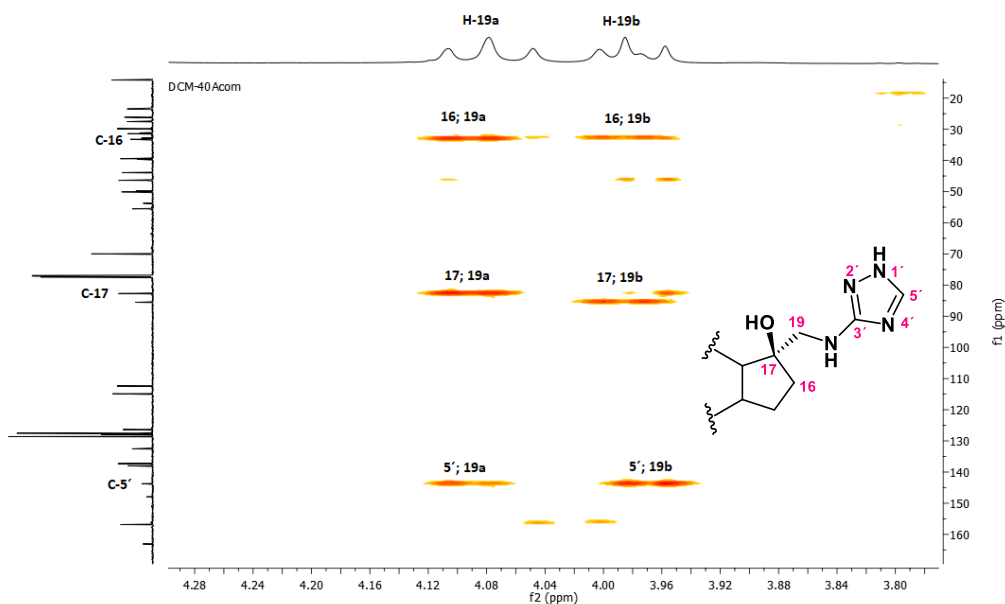


Figura 34. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **6e**.

Finalmente, en el espectro de IR (Figura 35) se pueden observar las señales de tensión y flexión para el -NH en 3400cm^{-1} y 1608cm^{-1} , los carbonos CH- sp^3 en 2865cm^{-1} , una señal característica de C-N para heterociclos en 1280cm^{-1} y la señal de vibración de tensión para C-O de -OH en 1232cm^{-1} .

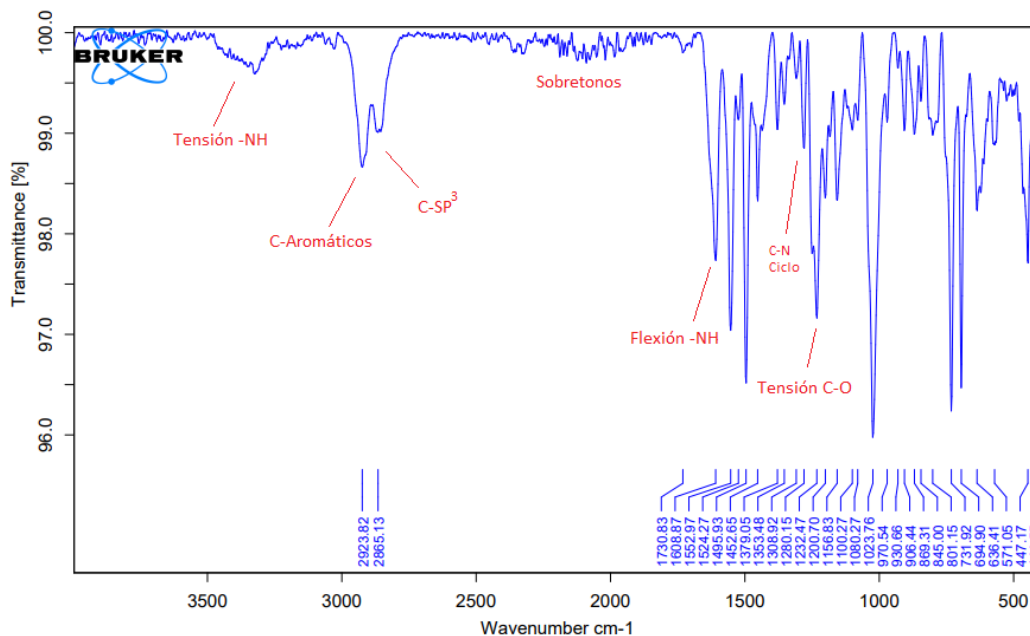


Figura 35 Espectro de IR del compuesto 6e.

5.2.6 Síntesis de 17α -(2-aminofenil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6f)

Para la síntesis de **6f** se utilizó como amina *O*-fenilenediamina. Debido a su estructura se decidió utilizar en inicio 3 equivalentes realizando 2 ensayos más para obtener buenos rendimientos, encontrando los siguientes resultados (Tabla 10).

Tabla 10. Ensayos realizados para la obtención de **6f**.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Etanol	3	12	Reacciona aún con m.p.
	3	24	Reacciona aún con m.p.
	3	36	Reacciona con m.p se obtiene un 43%
	6	24	Reacciona y en CCF se observa menor concentración de m.p
	6	36	En CCF se observaba mínimamente m.p, al purificar se obtuvo un 53 %

Una vez que se purificó el compuesto obtenido, se procedió a realizar su caracterización. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 36) se identifican claramente los protones H-19a y H-19b como señales dobles que se encuentran en 3.27 y 3.12 ppm respectivamente, a su vez encontramos las nuevas señales pertenecientes a los protones del nuevo aromático H-3', en 6.83 ppm, H-5' en 6.73 ppm, H-6' en 6.71 ppm y finalmente H-4' en 6.70 ppm haciendo visible la unión del nuevo ciclo.

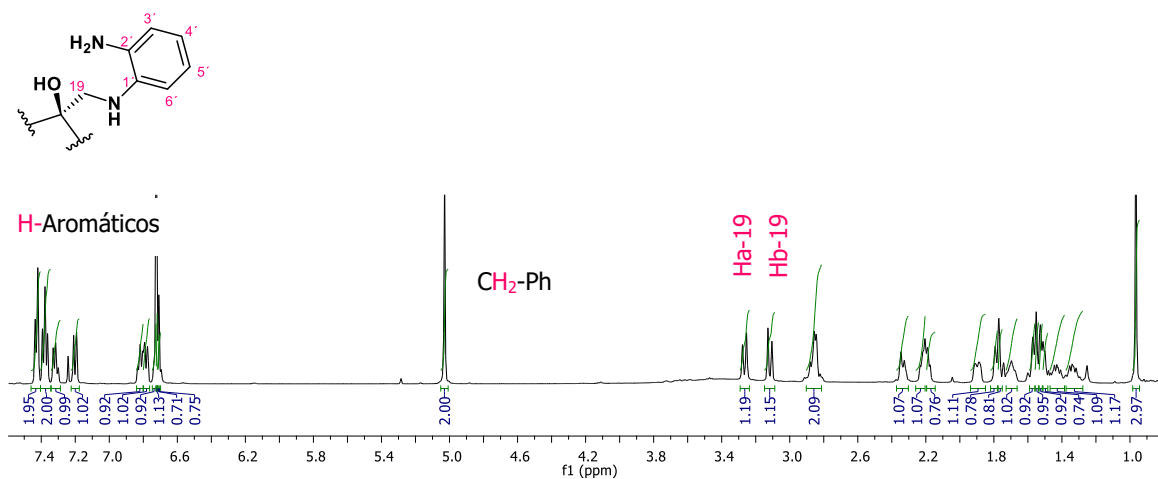


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto 6f.

Para el caso de RMN ^{13}C (Figura 37) se observan nuevamente las cuatro señales de carbonos aromáticos C-1' en 137.40 ppm, el C-2' en 135.06 ppm, en 120.62 ppm se encuentra el C-3', el C-4' se encuentra en 119.29 ppm, C-5' en 116.48 ppm y el C-6' en 112.56 ppm, de ahí el desplazamiento de los carbonos característicos se encuentran el C-17 en 83.05 ppm y el C-19 en 50.17 ppm que evidencia el cambio del oxirano de la estrona.

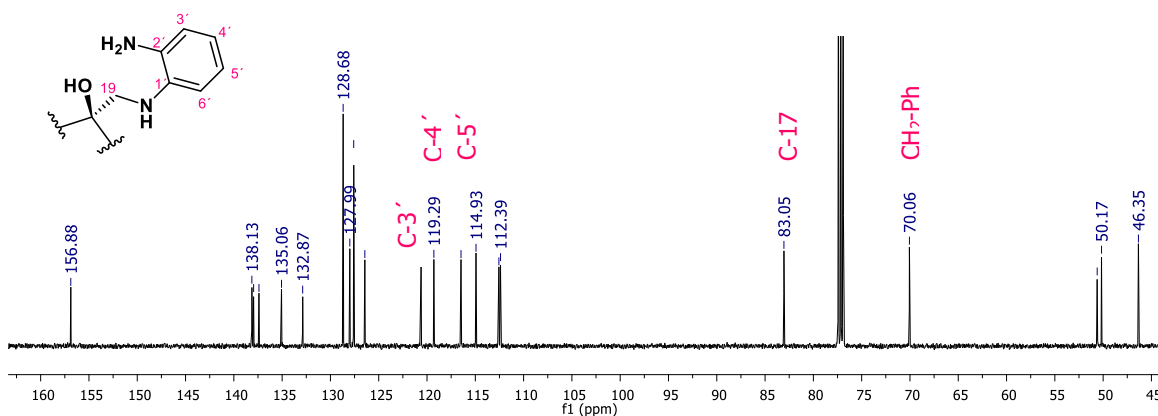


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto 6f.

En el espectro 2D HMBC (Figura 38) se puede corroborar la correlación de los H-19 con el C-16, el C-13, el C-17 y finalmente con el C-1' que pertenece al ciclo unido de la amina utilizada, a su vez las correlaciones de los C-7, C-8, C-4, C-10 y C-5 con los protones H-6.

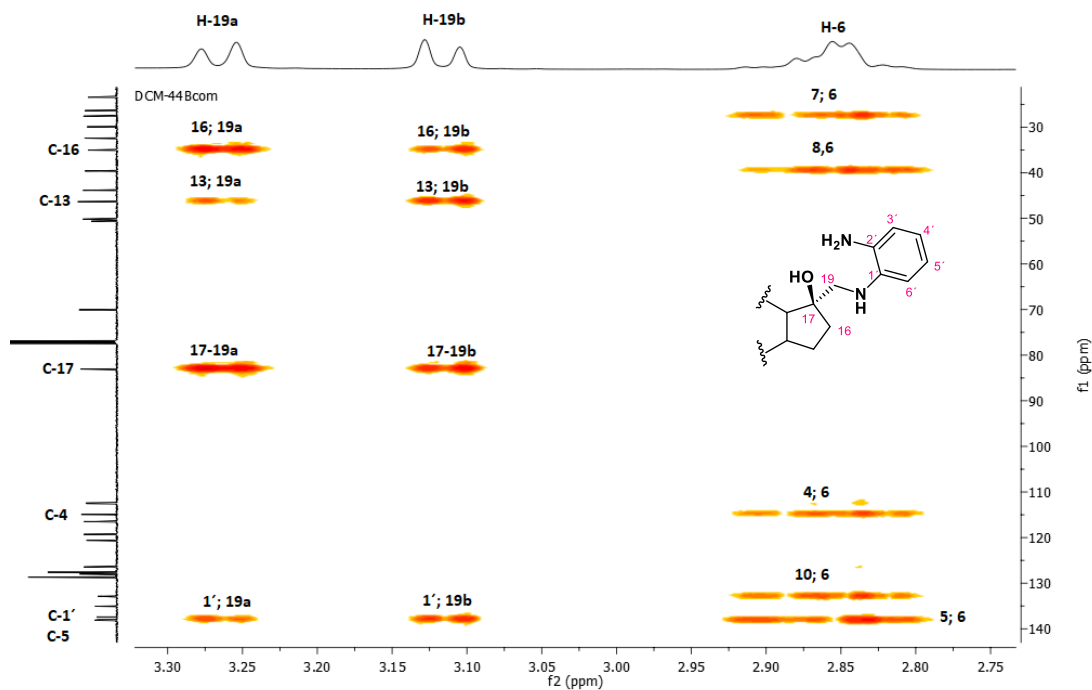


Figura 38. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **6f**.

En el espectro de IR (Figura 39) se pudieron detectar las bandas de tensión y flexión de -NH en 3501 cm^{-1} , 3358 cm^{-1} y 1639 cm^{-1} respectivamente, y una banda de tensión en 1250 cm^{-1} para C-O del -OH .

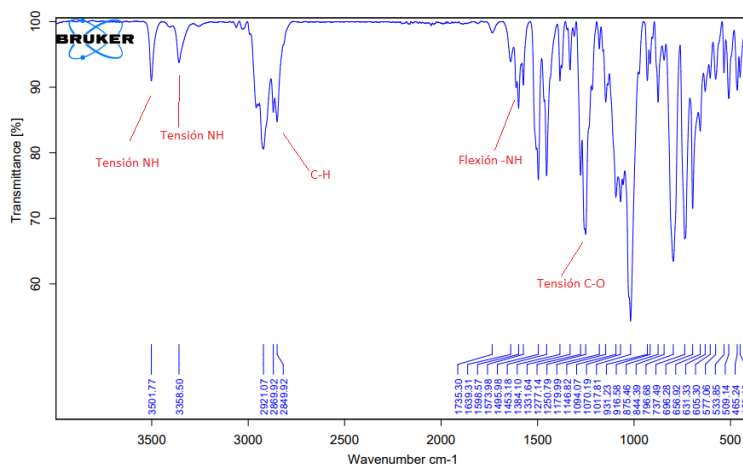


Figura 39 Espectro de IR del compuesto **6f**.

5.2.7 Síntesis de 17 α -(4-fluoranilina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (**6h**)

Para la síntesis de este derivado se inició con el uso de 3 equivalentes de 4-fluoranilina, aumentando a 6, y posteriormente se recurrió al exceso de reactivo sin observar cambios significativos entre los 6 equivalentes y el exceso, decidiendo tomar en consideración los 6 equivalentes para obtener el compuesto deseado. Una vez purificado se llevó a cabo la caracterización iniciando con su RMN de ^1H , donde se puede observar que hay un efecto por el F debido a que el ^{19}F tiene una abundancia isotópica de 100% y tiene un $I=1/2$. Entre los primeros desplazamientos encontramos que los protones pertenecientes a C-19 se desplazan Ha a 3.25 ppm y Hb a 3.11 ppm así también se encuentran las señales de los nuevos protones aromáticos correspondientes al R de la amina en 6.89 Ar-H3' y Ar-H5' en frecuencias más bajas 6.61 Ar-H2', Ar-H6' (Figura 40).

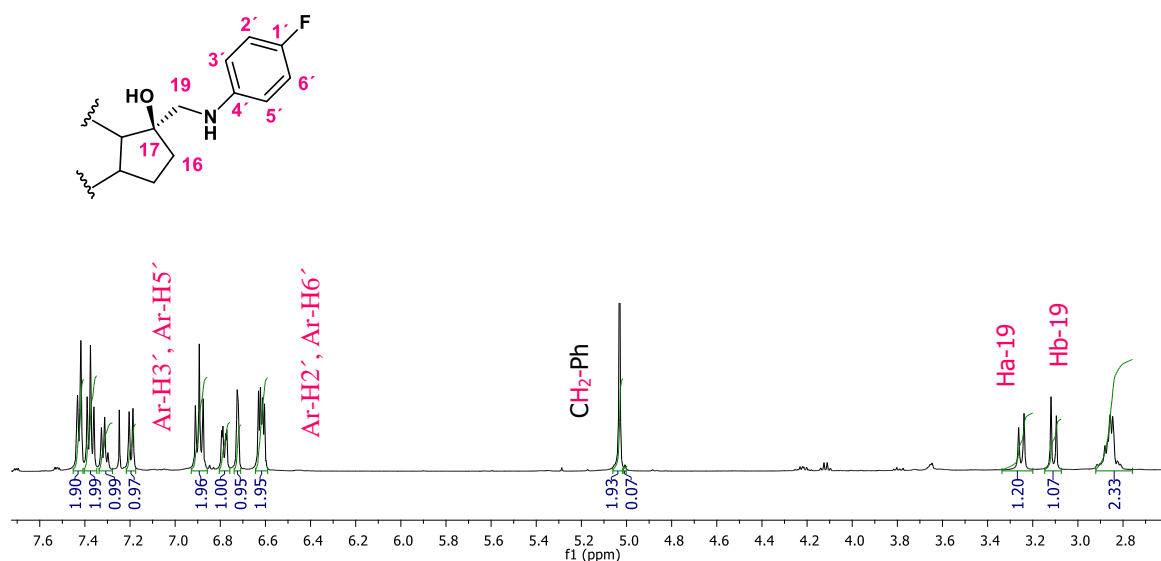


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6h**.

Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se observan las señales pertenecientes al anillo aromático que contiene el F, las cuales aparecen como un doblete debido al acoplamiento C- ^{19}F , por lo tanto, se observa en principio, que el C-17 se desplaza a 83.24 ppm, C-19 a 51.44 ppm y a más altas frecuencias observamos que para C-1' se encuentra como una señal doble en 157.05 y 155.18 ppm, en C-orto (C-2' y C-6') se visualiza una señal doble en 114.32 y 114.27 ppm, para la posición meta se encuentra la señal doble (C-3' y C-5') en 115.86 y 115.69 ppm, y en posición para se encuentra la señal doble en 145.50 ppm. (Figura 41).

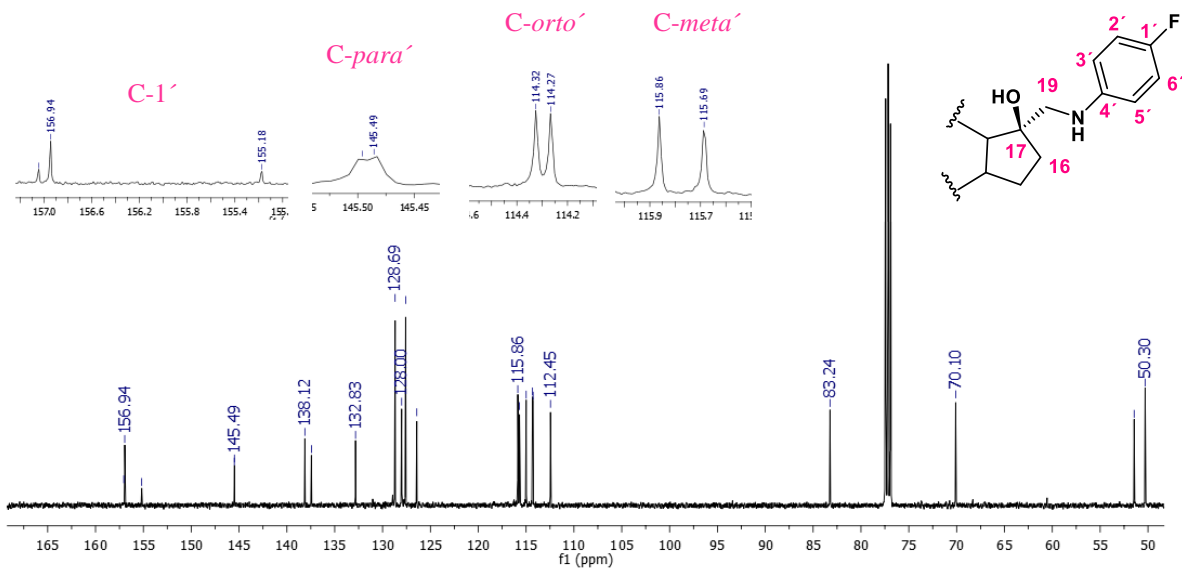


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6h**.

Con ayuda del espectro HMBC, se puede ver la correlación de los protones de 19 con diferentes carbonos como C-16, C-13, C-17 y con C-4 que es el carbono que une a la amina con el nuevo ciclo aromático unido al F (Figura 42).

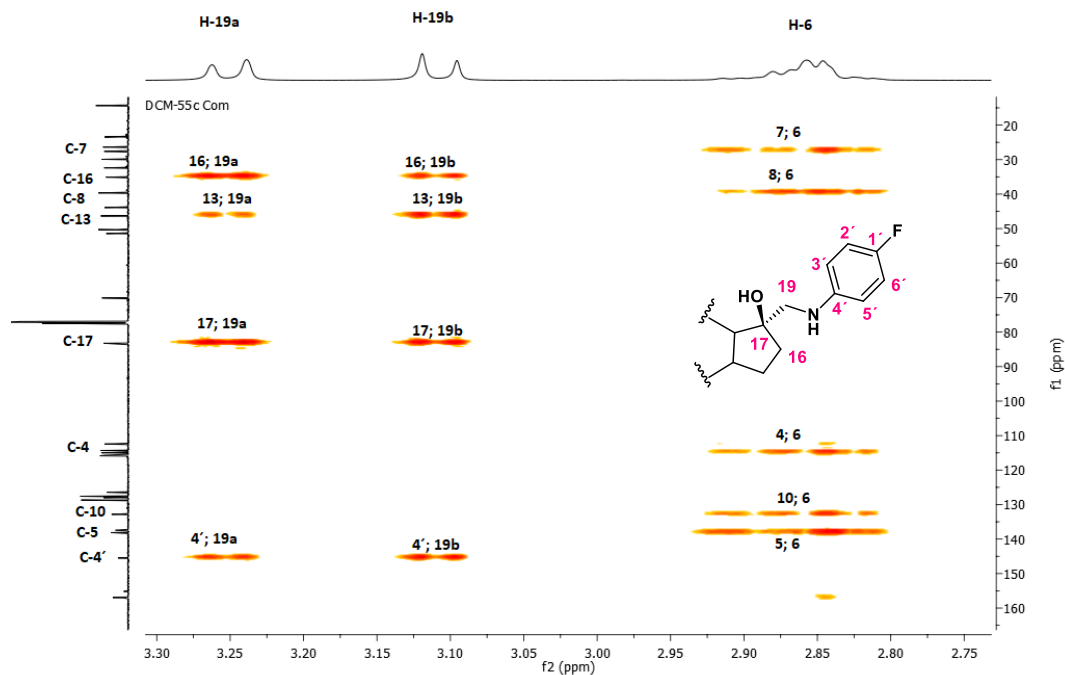


Figura 42. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **6h**.

Para completar la caracterización del compuesto se obtuvo el espectro de IR (Figura 43) donde se pueden observar las señales de tensión y de flexión correspondientes a la amina, en 3561.88 cm^{-1} y 1611.60 cm^{-1} respectivamente, una señal de tensión en 1249.40 cm^{-1} para C-O del grupo hidroxilo y para el Ar-C-F se encuentra una señal en 1214.57 cm^{-1} .

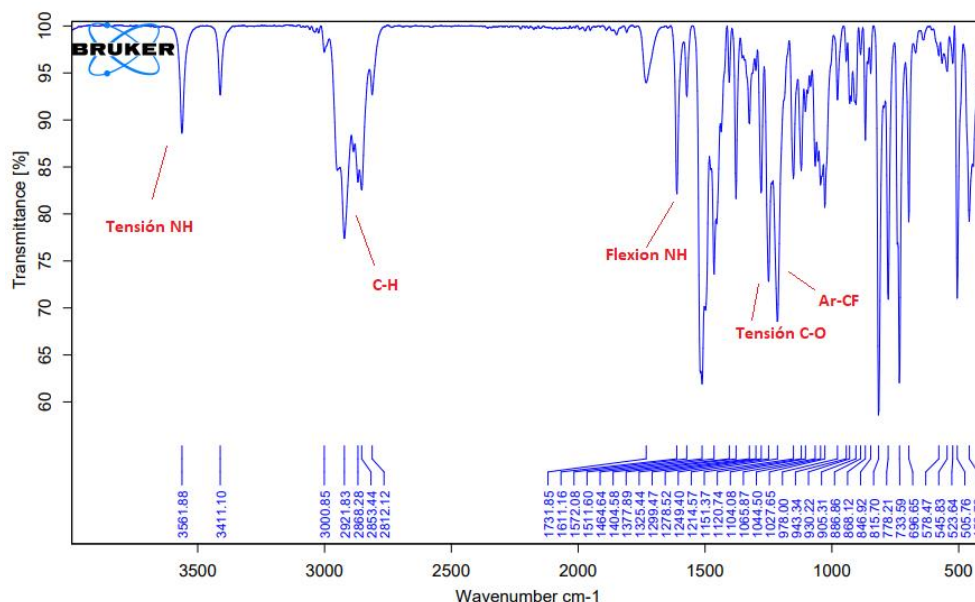


Figura 43. Espectro de IR del compuesto 6h.

5.2.8 Síntesis de 17 α -(4-fluorbencilamina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6i)

Para la síntesis del compuesto 6i se inició con un ensayo de únicamente 6 equivalentes, debido al experimento previamente realizado, al incrementar los equivalentes no se observó un cambio significativo por lo que se decidió mantener dichas condiciones. En el espectro RMN de ^1H (Figura 44), debido al acoplamiento del ^{19}F , se ve un espectro como el siguiente donde entre las principales transformaciones podemos ver los desplazamientos de los H-19 que pertenecen al carbono unido a la amina, H-19a se desplaza en 2.90 ppm y H-19b en 2.53 ppm. Además, se encuentra una nueva señal en 3.76 ppm perteneciente al metileno C-20, en la zona de los aromáticos se pueden encontrar los protones al anillo unido al F, en 7.32 – 7.21 ppm, H-3' y H-5' y en 7.0 ppm se encuentran H-2' y H-6'.

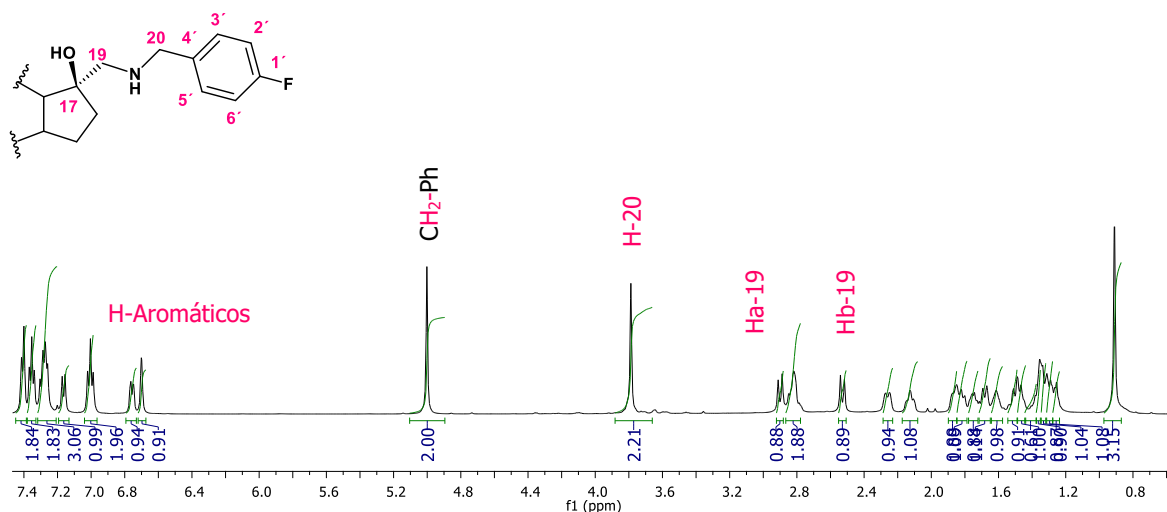


Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **6i**.

En el espectro de ^{13}C las señales pertenecientes al anillo aromático unido al F, se obtienen como señales dobles, por lo tanto, se observa que en 163.03 - 161.08 ppm se encuentra la señal para C-1', la posición *meta* al F se encuentra, 129.67 y 129.61 ppm, y en posición *orto* a F se encuentran las señales en 115.45 y 115.28 ppm, y en posición *para* 135.98 y 135.96 ppm. También se encuentra la señal de C-17 a 81.60 ppm, mientras que el C-19 en 55.51 ppm y finalmente la señal nueva de C-20 en 53.86 ppm. (Figura 45).

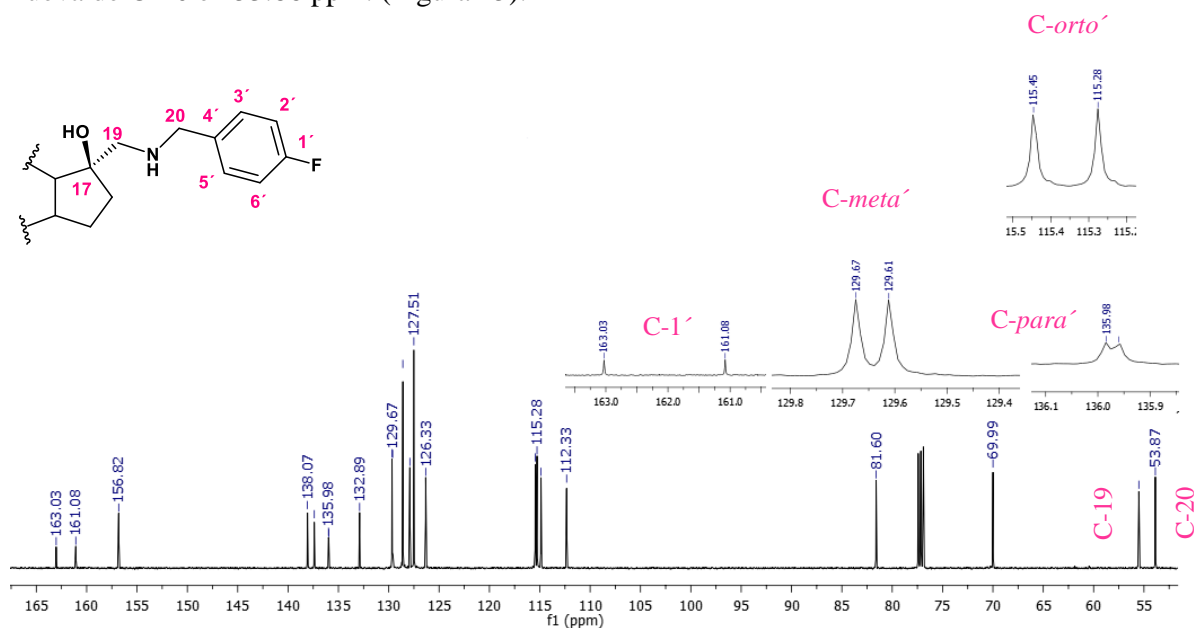


Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **6i**.

Corroborando las asignaciones en el experimento HMBC se observa la correlación de los protones de H-19 con los C-16, C-13, C-20 y C-17 (Figura 46).

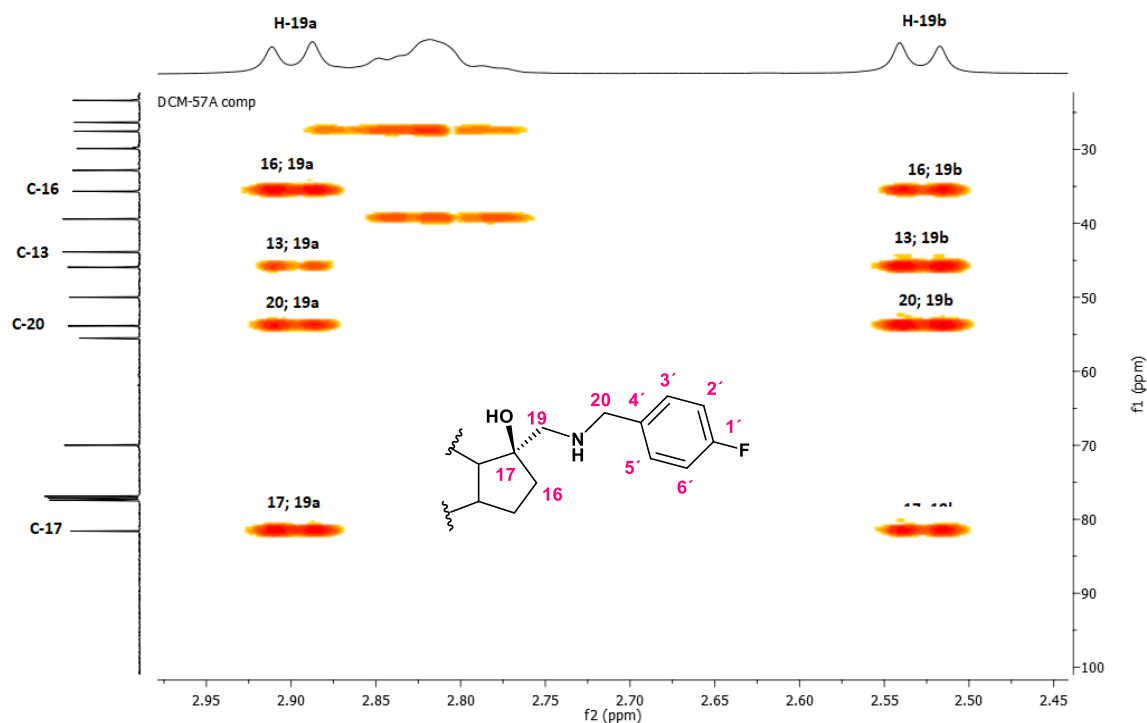
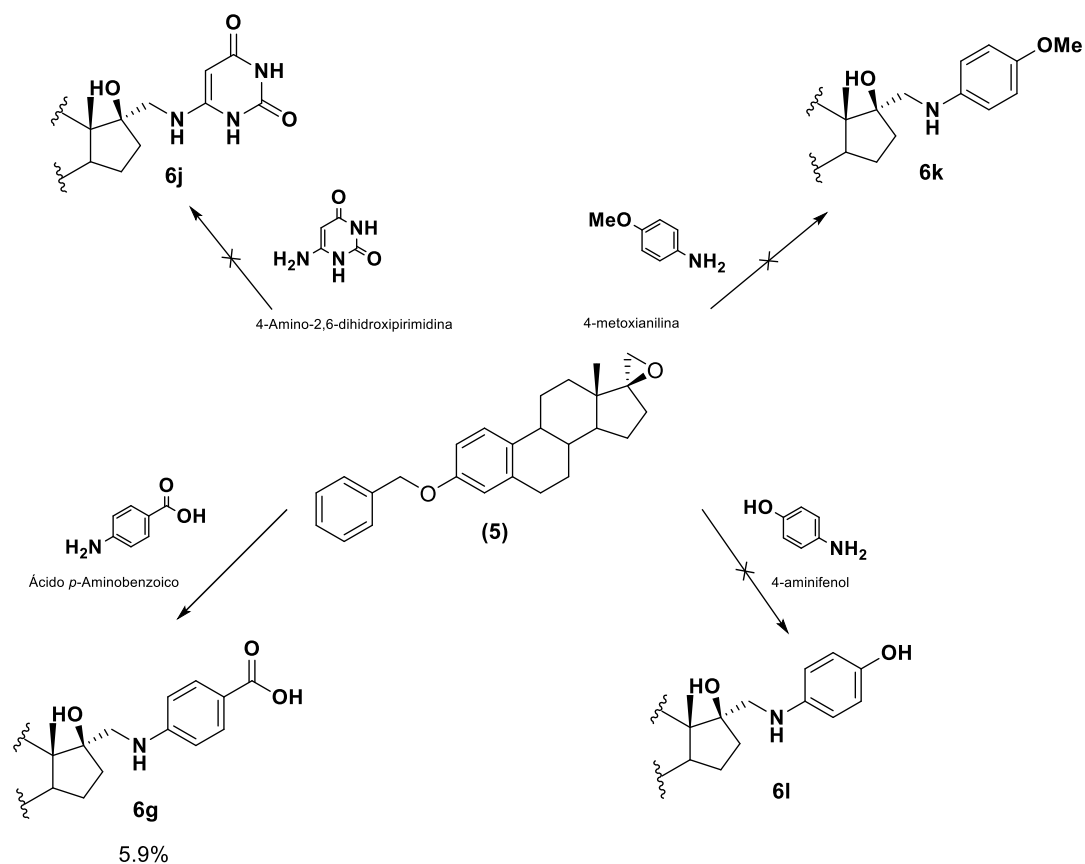


Figura 46. Fragmento del espectro HMBC del compuesto 6i.

5.2.9 Ensayos para la síntesis de los compuestos 6j, 6k, 6g, 6l

De las aminas propuestas para su síntesis, la 4-amino-2,6-dihidroxipirimidina, 4-metoxianilina y el 4-aminofenol se ensayaron con exceso de amina, cambiando el disolvente de etanol a metanol pero no hubo reacción, para el ácido *p*-aminobenzoico, se obtuvo un compuesto de bajo rendimiento en mezcla y sin poder elucidar su estructura, ya que en el espectro de RMN de ^1H no se pueden ver las señales pertenecientes al protón ácido, en el RMN ^{13}C tampoco se ve la señal del carbono del carbonilo; sin embargo si se puede apreciar que existió la apertura del oxirano por el desplazamiento de los protones que corresponden a H-19. La síntesis con las aminas que se ensayaron y que presentaron dificultad para abrir el oxirano se presentan en el esquema 17.



Esquema 17. Ensayos de aminas sin reaccionar y obtenidos en mezcla.

En el espectro de RMN de ^1H de **6g**, se observa que los protones correspondientes a los protones diastereotópicos H-19a y H-19b se observan en 3.43 y 3.32 ppm respectivamente, como se ve en la Figura 47.

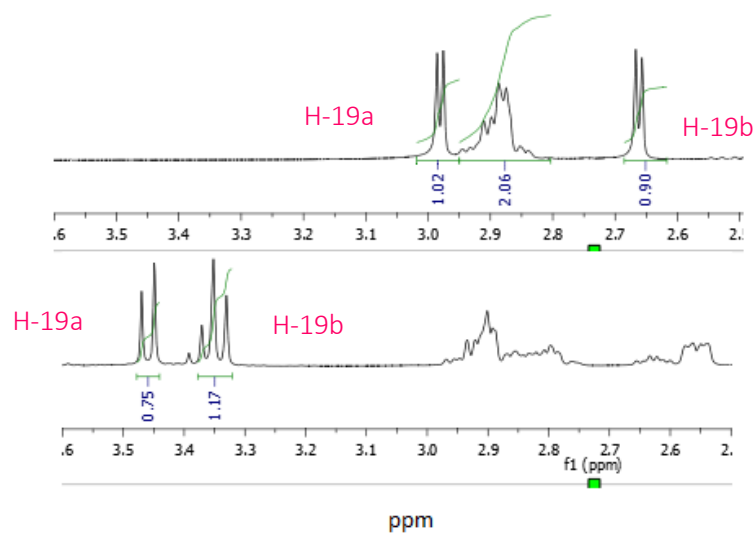


Figura 47. Fragmento del espectro RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **3** y de **6g**.

Debido al bajo rendimiento en los ensayos realizados fue complicada su completa caracterización.

5.2.9.1 Ensayos con 4-amino-2,6-dihidroxipirimidina para obtener el derivado 6j

Para esta amina se ensayaron las condiciones de reacción que se presentan en la tabla 11 sin obtener cambio por CCF, se inició variando los equivalentes de reactivo y posteriormente de disolvente.

Tabla 11. Ensayos realizados para la obtención de **6j**.

Disolvente	Equivalentes de amina	Tiempo en horas	Observaciones
Metanol	2	12	
	2	36	
	4	24	
	4	36	
Etanol	4	12	
	4	24	Sin reacción
	8	12	
	8	24	
	Exceso	12	
	Exceso	24	
	Exceso	36	
	Exceso	48	

Se propone que debido al efecto de resonancia que existe dentro de la molécula el par electrónico tiene baja nucleofiliidad por lo que no se logró sintetizar el compuesto **6j**, aun así, se planteó la idea de que, por tal motivo, utilizando un disolvente como metanol, pudiera ocurrir que se sintetizara un compuesto con este nucleófilo, sin embargo, no se obtuvo reacción de ningún tipo.

5.2.9.2 Ensayos con 4-metoxianilina y 4-aminofenol para obtener el derivado 6k y 6l

Para la síntesis de estos compuestos se optó por realizar ensayos donde se utilizó un exceso de amina y un máximo de 48 horas de reacción; sin embargo, no se logró purificar lo que se observó en CCF y se piensa que el O en el caso del 4-aminofenol no permitió el adecuado ataque nucleofílico por parte de la amina. En el caso de la 4-metoxianilina se obtuvo una transformación con R.F. similar al de la amina sin hacer posible una adecuada purificación. No se hizo cambio

más allá de metanol y etanol por la fuente de H que se necesitan para la formación del nuevo alcohol (Tabla 12).

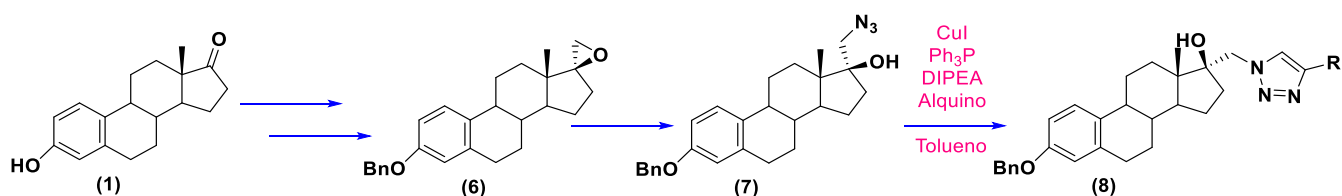
Tabla 12. Ensayos realizados para la obtención de **6k** y **6l**.

Disolvente	Equivalentes de 4-aminofenol	Tiempos en horas	Reacción	Equivalentes de 4-metoxianilina	Tiempos en horas	Observaciones
Metanol	2	12	Sin reacción	2	12	Sin reacción
		36			36	
	4	12		4	12	
		36			36	
	8	12		8	12	
		36			36	
	Exceso	24	Exceso	12		
		48		36		
Etanol	4	12	Sin reacción	4	12	Sin reacción
		36			36	
	8	12		8	12	
		36			36	
		12			12	
	Exceso	36		Exceso	36	
		48		48	Se observa transformación en CCF.	

La síntesis de derivados esteroidales de tipo aminoalcohol en C-17, son de interés debido a que se han reportado estructuras de tipo aminoalcohol más bien vecinales bajo distintas rutas. El menor uso de pasos en la síntesis de diversos compuestos es de gran importancia ya que eso se traduce en eficacia al reducir costos y tiempos de reacción, obtención así mayoritariamente los compuestos propuestos. De la ruta propuesta, se encontró que de acuerdo con la naturaleza del compuesto nitrogenado propuesto dependerá la reacción de la misma con el oxirano, se observa que en situaciones la reacción no se lleva a cabo y en otras se obtienen rendimientos de hasta el 87%, considerando el disolvente a utilizar, en este caso el etanol, puede influir dentro de la formación de los aminoalcoholes, al ser el etanol un disolvente polar, tiene la capacidad de solvatar especies neutras polares, además de competir con las aminas como un nucleófilo generando una reacción de solvólisis justificando de esta manera el hecho de que se utilice exceso de aminas en la reacción, además de obtener el medio básico requerido para la reacción.

5.3 Ruta sintética C: Síntesis de triazoles

Para la siguiente propuesta de síntesis se optó por la formación de triazoles a partir de la azida de la estrona, por medio de una cicloadición azida-alquino catalizada por cobre CuAAC, utilizando como materia prima azida de la estrona **7** que se obtuvo a partir del oxirano **6** por la ruta ya indicada en el esquema 15. Teniendo el epóxido **6** se utilizó NaN₃ que en presencia de H₃BO₃ abrió el epóxido a través de una reacción de tipo S_N2 de manera regioselectiva sobre el carbono menos impedido del epóxido obteniendo un único producto, con un rendimiento del 95%. Finalmente, por medio de una cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC) usando yoduro de cobre como fuente de Cu, Ph₃P, DIPEA en tolueno se logró obtener **8a** y **8b** con rendimientos moderados, no obstante, para los compuestos **8c** y **8d** no se lograron encontrar las condiciones adecuadas para su síntesis (Esquema 18).



Esquema 18. Síntesis para la obtención de los derivados **8**.

Se utilizaron la propargilamina, el alcohol propargílico, fenilacetileno y el bromuro de propargilo para la formación del nuevo heterociclo.

5.3.1 17 α -(4-fenil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (**8a**)

Para la obtención del compuesto **8a**, como alquino terminal, se utilizó fenilacetileno y la azida de la estrona, para la formación de un nuevo triazol. Se utilizó CuI como la fuente de Cu que de acuerdo con la literatura es parte fundamental para la formación del complejo acetiluro de Cu. Así la coordinación del Cu reduce considerablemente el pKa del alquino permitiendo la fácil extracción de su protón generando un metalociclo que conduce a la formación del ciclo. Una vez purificado el compuesto, los espectros de RMN de ¹H muestran un cambio en el desplazamiento de los protones diastereotópicos H-19 del grupo metileno unido a la azida hacia frecuencias más altas, pasando de 3.50 y 3.18 ppm a 4.59 y 4.42 ppm respectivamente (Figura 48).

Azida de la estrona

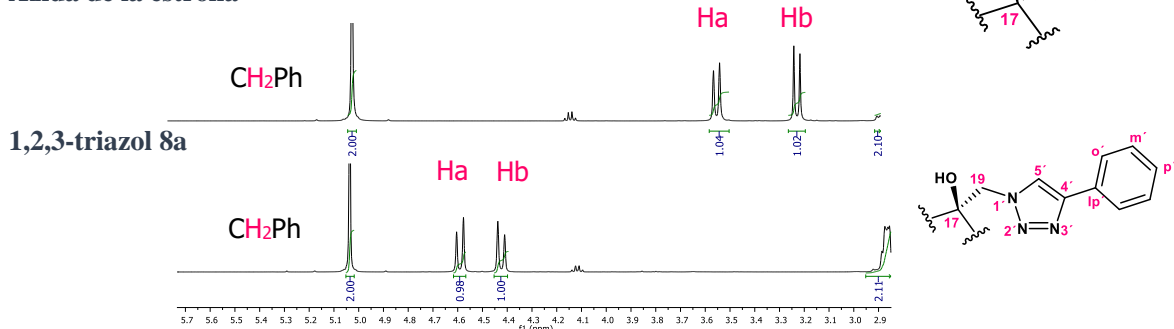


Figura 48. Fragmento del espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **7** y **8a**.

Se encontró, además, una nueva señal simple a frecuencias altas en 8.06 ppm perteneciente al H del anillo del triazol H-5', además de encontrar las nuevas señales de H aromáticos correspondientes al nuevo fenilo a frecuencias altas, Ar'-Ho' en 7.85 ppm, Ar'-Hp' en 7.41 ppm y en 7.38 ppm los Ar'-Hm' (Figura 49).

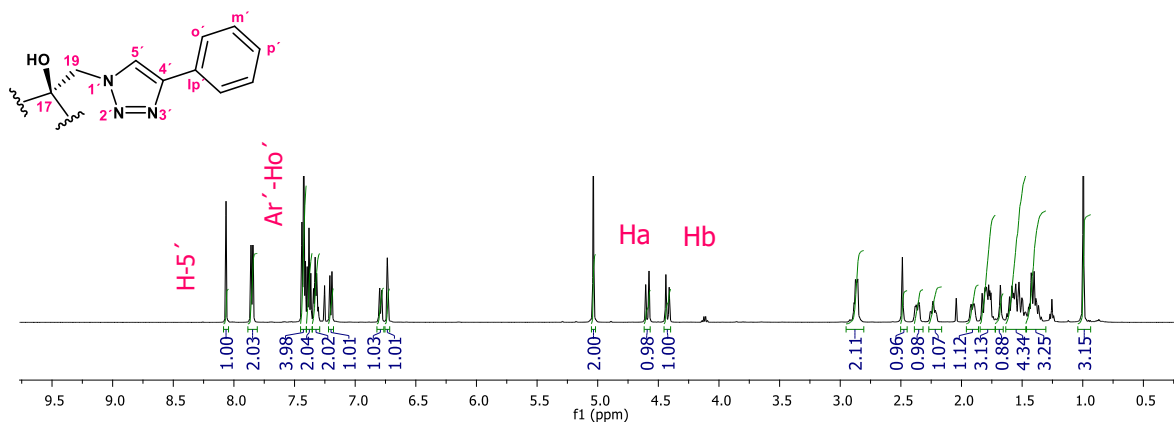
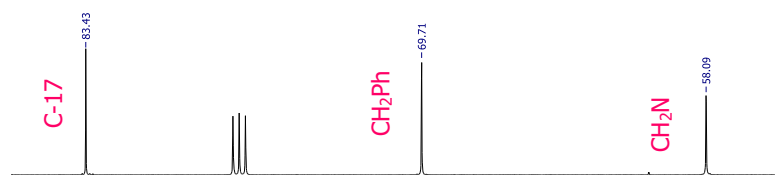


Figura 49. Fragmento del espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **8a**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **8a** (Figura 50) se observa el ligero desplazamiento a frecuencias bajas del C-19, que en la azida corresponde al C del metileno unido a la azida y que se encuentra en 58.09 ppm, en cuanto al compuesto **8a** corresponde al carbono unido directamente al N del nuevo triazol formado que se encuentra a 56.64 ppm, el C-17 se encuentra en 83.38 ppm no siendo significativo el desplazamiento ya que en la azida de la estrona se encuentra en 83.43 ppm.

Azida de la estrona



1,2,3-triazol 8a

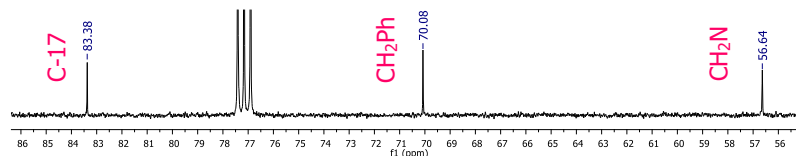


Figura 50. Fragmento de los espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **7** y **8a**.

A su vez encontramos en la zona de los aromáticos los nuevos carbonos del fenilo, en 130.81 ppm se encuentra el Ar-C ipso ' , en 128.98 ppm los Ar-C m' , en 128.22 ppm el Ar-C p' y finalmente los Ar-C o' en 125.79 ppm. También se encuentran los C pertenecientes al anillo del triazol, el C-4' en 147.65 ppm y el C-5' a 122.08 ppm (Figura 51).

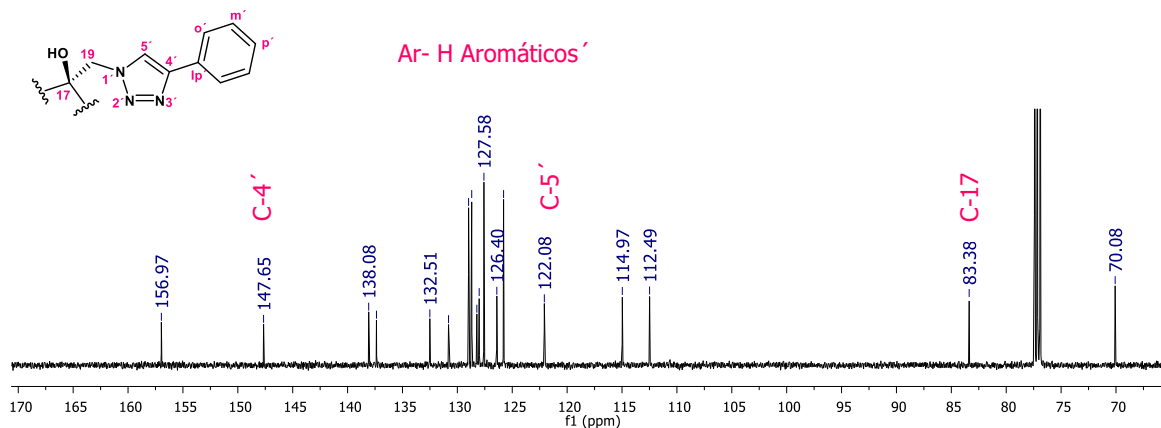


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **8a**.

En el experimento HMBC (Figura 52) se muestra una zona del espectro en donde se puede apreciar el acoplamiento de los hidrógenos del metileno H-19 con los carbonos C-16, C-13, C-17, C-5' debido a su proximidad, confirmando la asignación de dichos carbonos.

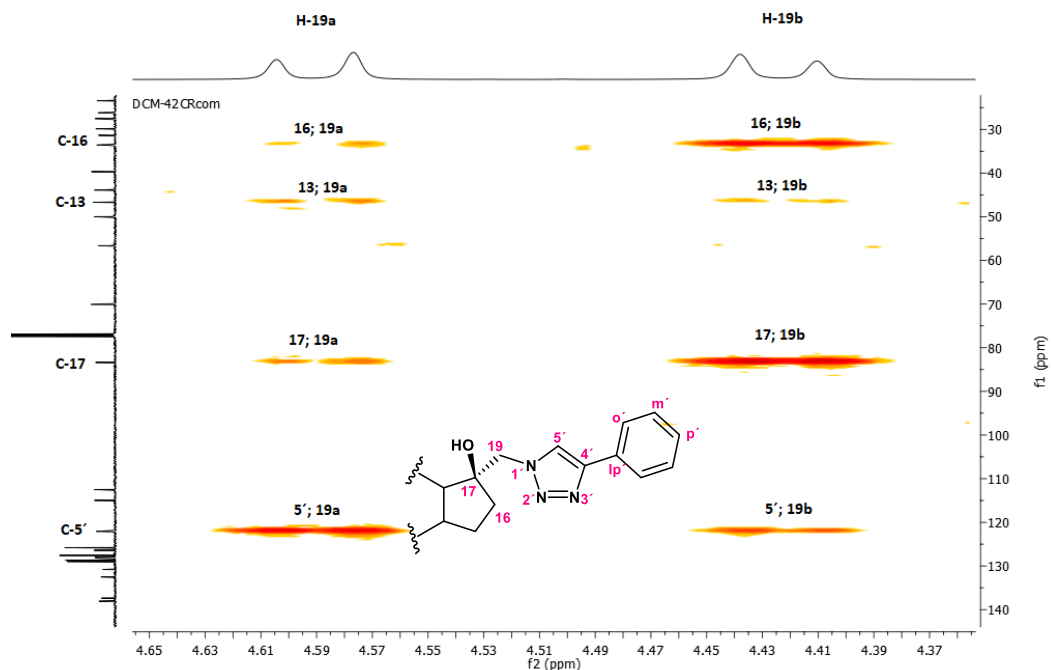


Figura 52. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **8a**.

En el espectro de IR (Figura 53) se encuentra una señal de las vibraciones de tensión en 3352 cm^{-1} para el -OH , las señales características de C-Ar en 3163 cm^{-1} y los CH-sp^3 , también la señal de flexión del -NH en 1606 cm^{-1} y en 1288 cm^{-1} para el C-N del heterociclo del triazol formado.

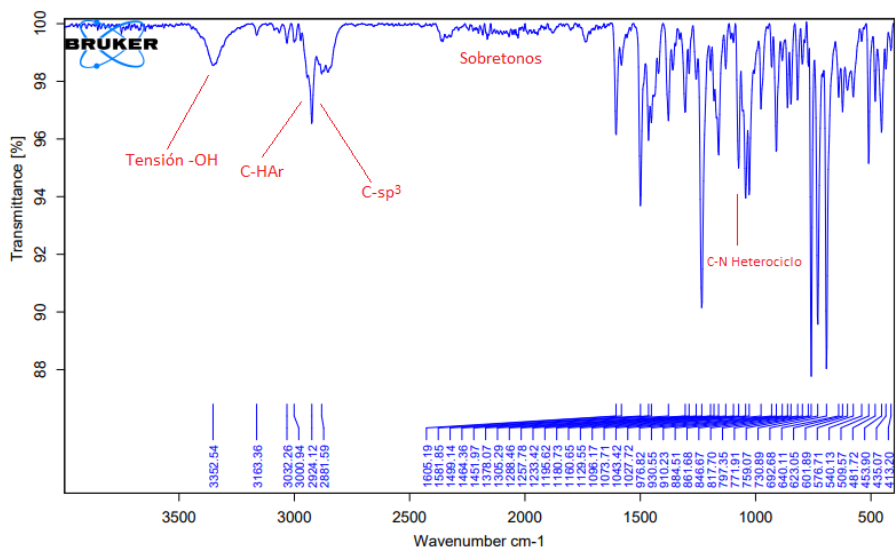


Figura 53 Espectro de IR del compuesto **8a**.

5.3.2 17 α -(4-hidroximetil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8b)

Para la obtención del compuesto **8b** como alquino terminal se utilizó el alcohol propargílico, utilizando CuI, Ph₃P y DIPEA. En los espectros de RMN de ¹H de la materia prima y del producto se muestran un cambio en el desplazamiento de los protones diastereotópicos del grupo metileno unido a la azida hacia frecuencias más altas, pasando de 3.50 y 3.18 ppm a 4.55 y 4.36 ppm respectivamente, de igual manera en 4.76 ppm se encuentran como una señal simple los H-20 (Figura 54).

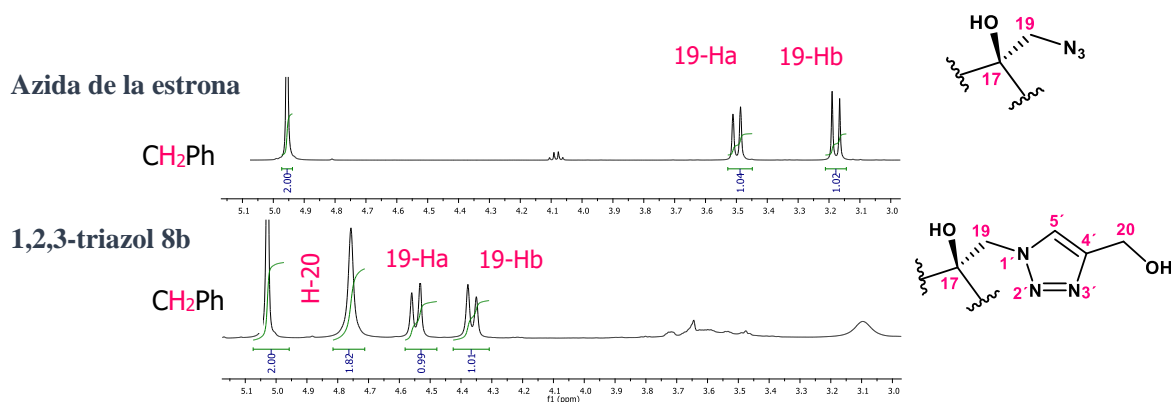


Figura 54. Fragmento del espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **7** y **8b**.

Se encuentra una nueva señal frecuencias altas 7.77 ppm perteneciente al ¹H del anillo del triazol (Figura 55).

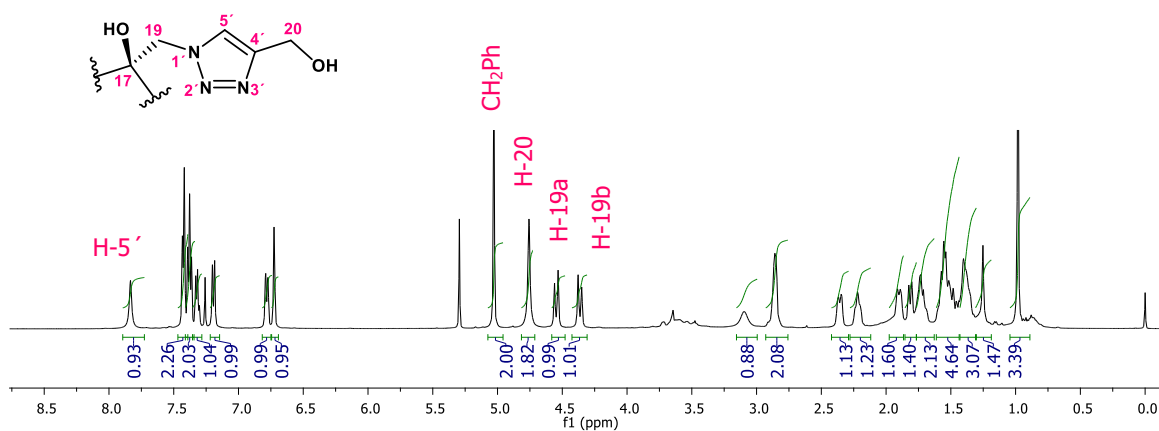
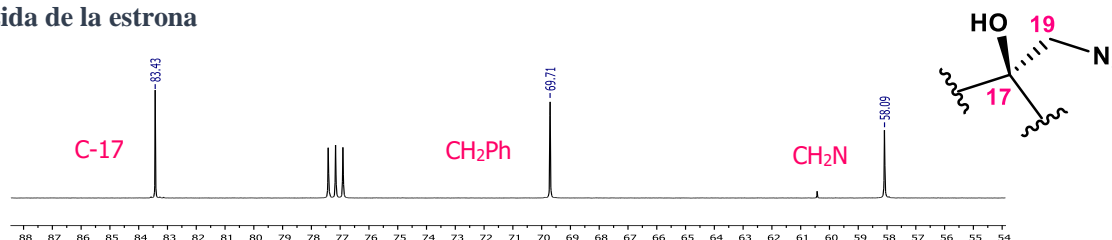


Figura 55. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **8b**.

En la figura 56 se observa el espectro de ^{13}C del compuesto **8b** en comparación con la azida de la estrona donde se observa el desplazamiento de los carbonos más característicos, comenzando con el C-17 que tiene un cambio pequeño a 83.17 ppm, el C-19 se desplazó a frecuencias bajas hacia 56.68 ppm y se aprecia una nueva señal en 56.41 ppm del metileno correspondiente al C-20.

Azida de la estrona



1,2,3-triazol 8b

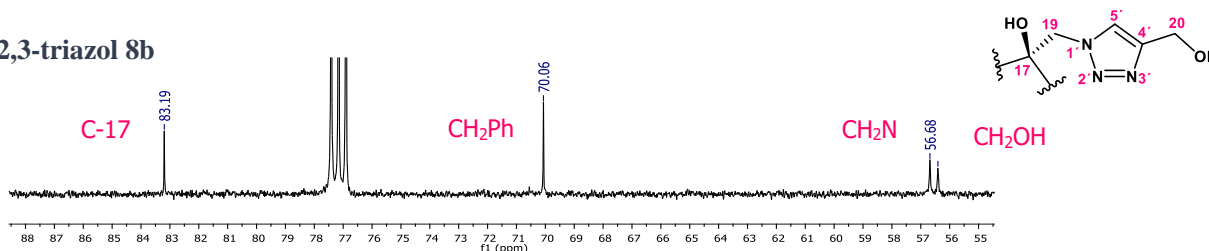


Figura 56. Fragmento de los espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **7** y **8b**.

Y en la región de los aromáticos se encuentra el C-4' desplazado a 138.76 ppm, mientras que el C-5' se encuentra en 124.52 ppm los cuales forman parte del triazol (Figura 57).

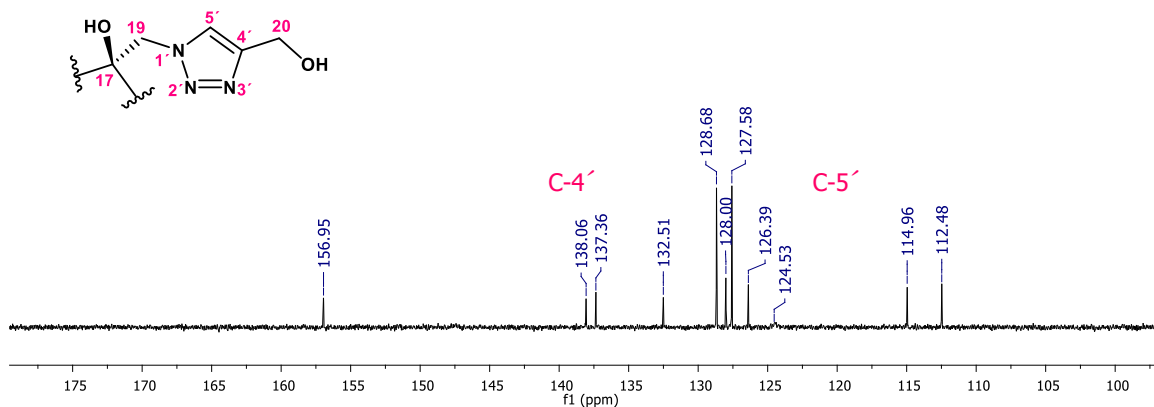


Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **8b**.

En el espectro HMBC del compuesto se puede ver la correlación existente entre el C-5' y el H-20 y con H-19a, mientras que el H-19b correlaciona con el C-16 y C-17 confirmando la asignación de dichas señales (Figura 58).

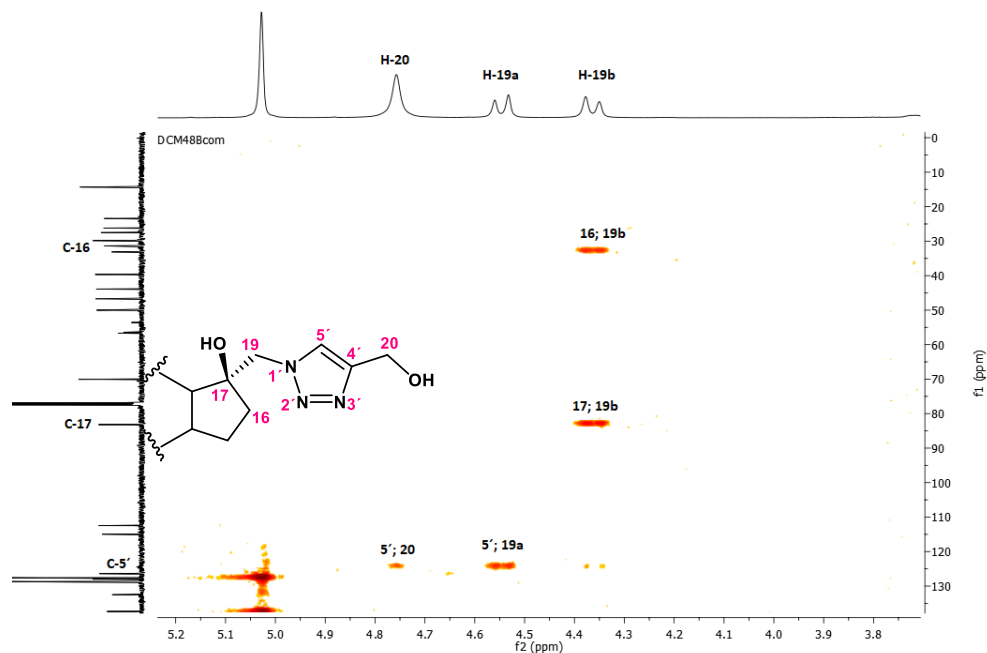


Figura 58. Fragmento del espectro HMBC del compuesto **8b**.

En el espectro de IR de **8b** se encuentran las señales de las vibraciones de tensión para el -OH en 3414cm^{-1} , en 3221cm^{-1} para el -NH, además se observan las bandas de los aromáticos y los CH-Sp^3 . También una señal para las vibraciones de flexión para -NH y en 1205cm^{-1} se encuentra la banda para C-N del heterociclo del triazol y finalmente en 1282cm^{-1} la señal de tensión C-O (Figura 59).

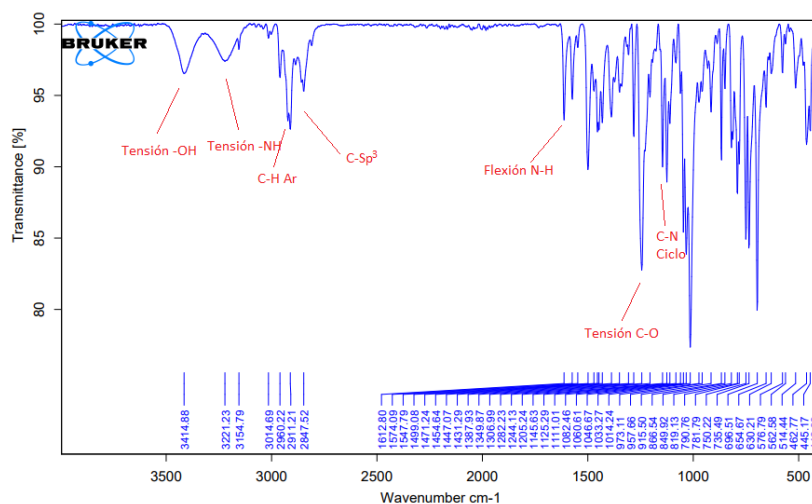


Figura 59. Espectro de IR del compuesto **8b**.

5.3.4 Ensayos con bromuro de propargilo y propargilamina

En ambos casos resultó complicado el monitoreo de la reacción por CCF debido a que no se podían observar las transformaciones concretas, incluso al realizar CCF con los reactivos y en diferentes sistemas, tales como Hex:AcOEt, CH₂Cl₂:MeOH, CHCl₃:AcOEt;MeOH por lo que incluso al cambiar las condiciones de reacción se hacía complicada la visualización de algún cambio. Es importante mencionar que dentro de la literatura se describe como mejores alquinos terminales a los propargil alcoholes, debido a que en su estructura contienen el grupo –OH, cual puede formar complejos de coordinación más estables con el catalizador de cobre, facilitando la activación del alquino, además de aumentar la reactividad del alquino terminal a la azida logrando reacciones más rápidas y en mayor rendimiento. Por otro lado, se considera que debido a que en la reacción participa un alquino, se tiene la propiedad de ser un atractor electrónico, y debido a la electronegatividad del bromo, cause interferencia en la activación del mismo alquino, evitando la formación del complejo para la formación del triazol.

6.1 Métodos *in silico*

Como se menciona, la importancia de los métodos *in silico* radica en varios aspectos, entre ellos el hecho de que ayuda a reducir el tiempo, el costo de estudio y experimentación *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*; de moléculas con posible actividad biológica. Es por ello por lo que la investigación farmacéutica ha incorporado con éxito una gran cantidad de métodos de modelado molecular, dentro de una variedad de programas de descubrimiento de fármacos, para estudiar sistemas biológicos y químicos complejos. La integración de estrategias computacionales y experimentales ha sido de gran valor en la identificación y desarrollo de nuevos compuestos prometedores.¹⁰⁵ Por lo anterior se presentan los resultados obtenidos de los programas computacionales de los compuestos propuestos para su síntesis.

6.1.1 Predicción de perfiles farmacocinéticos

Las predicciones de actividad molecular se trataron con la herramienta en línea Molinspiration y se calculó su puntuación de bioactividad y propiedades fisicoquímicas. La predicción con los ligandos se calculó utilizando varios parámetros como LogP, TPSA, nAtoms, MW, nON, nOHNH, nViolaciones, nRotb y volumen. El trabajo se basó en el concepto clave de la "La regla de los cinco de Lipinsky", que establece ciertos estándares de interpretación.

¹⁰⁵ Ferreira, L.; Dos Santos, R.; Andricopulo, G., Andricopulo, A. *Molecules*, **2015**, *20*, 13384-13421.

Log P: Se refiere al coeficiente de partición octanol-agua logP que se utiliza en estudios de relación estructura-actividad (QSAR) y en el diseño racional de fármacos como medida de hidrofobicidad molecular, siendo esta la que afecta la absorción de fármacos, la biodisponibilidad, las interacciones hidrófobas entre fármacos y receptores, el metabolismo de las moléculas y su toxicidad. El método de predicción logP desarrollado en Molinspiration se basa en contribuciones grupales. Así, con ayuda de este parámetro se calcula la permeabilidad, considerando el tamaño de la molécula, es decir, entre mayor sea el tamaño, resulta más difícil este proceso. La molécula no debe ser mayor a 5, teniendo como ideal un valor de 2-3, siendo óptimo para su actividad, una molécula con alto valor de logP representa mayor afinidad por la membrana lipídica mientras que un valor menor, significa mayor afinidad a la fase acuosa.

PM / MW: Hablando del tamaño de las moléculas, el peso molecular es de gran importancia justo por la permeabilidad que esta pueda tener por la influencia del tamaño, ya que, a mayor tamaño, la dificultad de movimiento es mayor, con valores ideales entre 160 y 480, no mayor a 500. Es importante mencionar que los productos naturales suelen tener valores altos junto con el logP.

nON: Hace referencia al número de aceptores de puentes hidrógeno, y el valor ideal es menor o igual a 10. Demasiados grupos aceptores de enlaces hidrógeno también dificultan la permeabilidad a través de la bicapa de la membrana. La suma de nitrógenos y oxígenos es una medida aproximada de la capacidad de aceptación de enlaces hidrógeno, existiendo mucha variación en la capacidad aceptora, por ejemplo, el nitrógeno de pirrol y de una piridina cuentan igualmente como aceptores en la suma de estos átomos, sin embargo el nitrógeno de una piridina es mejor aceptor que el de un pirrol.¹⁰⁶

nOHNH: Hace referencia al número de donadores de puentes de hidrógeno que es expresado en la suma de OH y NH que debe ser menor o igual a 5.

nViolaciones: Se refiere al número de violaciones a la regla de Lipinski, que indica si las moléculas ensayadas tendrán problemas de permeabilidad o de absorción por difusión pasiva. Es importante destacar que, debido al gran tamaño de los productos naturales, estos no suelen ir por mecanismos de transporte tales como la permeabilidad o difusión pasiva, si no por el contrario, suelen utilizar transportadores de membrana, las cuales son especiales para sustancias de gran tamaño o insolubles en lípidos y que, por sus características no pueden difundirse pasivamente a través de la membrana. Estos transportadores de membrana, se diferencian de los canales de

¹⁰⁶ Lipinski, A., Lombardo, F., Domiy, B., Feener, P. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **1997**, 23, 4-25.

membrana (que son proteínas que permiten el paso de sustancias de un lado al otro de la célula) en que disponen de un sitio de unión para el soluto a transportar, una vez que el soluto se une se experimenta un cambio conformacional que le permite hacer la transferencia del mismo.¹⁰⁷

TPSA: Habla sobre el valor total del área de la superficie polar, este es un muy buen descriptor que caracteriza la absorción del fármaco, incluida la absorción intestinal, la biodisponibilidad, la permeabilidad en células Caco-2 y la penetración de la barrera hematoencefálica. El valor total debe ser inferior a 160 angstroms.

nRotb: Este parámetro topológico hace referencia a una medida de flexibilidad molecular. Se ha demostrado que es un muy buen descriptor de la biodisponibilidad oral de fármacos. El enlace giratorio se define como cualquier enlace simple sin anillo, unido a un átomo pesado no terminal (es decir, no de hidrógeno). Los enlaces amida C-N no se consideran debido a su alta barrera de energía rotacional, siendo ideal número menor a 10.

Para cada una de las familias propuestas para su síntesis se han elegido fármacos que ya se encuentran comercialmente disponibles y que tengan la particularidad de la estructura de los derivados propuestos. En el caso de las pirimidinas se ha tomado como referencia el exemestano y el formestano considerando la base esteroidea. Primero describiendo brevemente a estos dos fármacos, el exemestano es un inactivador esteroidea irreversible por vía oral de la enzima aromatasa indicado como tratamiento adyuvante en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama en etapa temprana con receptor de estrógeno positivo.^{108,109} La absorción de exemestano es rápida después de la administración oral, con concentraciones plasmáticas máximas alcanzadas dentro de las 2 horas con una dosis única de 25 mg. El fármaco se une en un 90% a las proteínas plasmáticas y se distribuye ampliamente en los tejidos. El exemestano sufre un metabolismo extenso, principalmente a través del citocromo P4503A4, así como a través de aldocetorreductasas, a metabolitos que son inactivos o tienen menos actividad que el fármaco original. El exemestano se excreta principalmente por la orina y las heces y tiene una vida media de eliminación terminal media de 24 horas.^{103,110}

Por otra parte, el formestano (4-hidroxiandrostenediona), es un inhibidor de la aromatasa que reduce significativamente los niveles plasmáticos de estrógeno y ha demostrado actividad antitumoral en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama. El formestano se absorbe

¹⁰⁷ Stillwell, W. *Membrane Transport. An introduction to biological membranes*, 2013, 19, 305-337.

¹⁰⁸ Deeks, E.; Scott, J. *Drugs*, 2009, 69, 889-918.

¹⁰⁹ Wang, X.; Chen, S. *Cancer Res*, 2006, 66, 10281-10286.

¹¹⁰ Lonning, P.; Geisler, J.; Krag, L. *J. Clin. Oncol*, 2005, 23, 5126-5137.

lentamente en la circulación desde un depósito del fármaco que se forma después de la inyección intramuscular.¹¹¹ Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan de 1 a 2 días después de la inyección y las concentraciones en estado estacionario se alcanzan después de la tercera o cuarta dosis. La concentración sérica media después de una dosis intramuscular única de 250 mg es de 2.4 µg/L, en comparación con 4.5 µg/L en estado estacionario durante inyecciones quincenales de 250 mg de formestano. Las concentraciones de formestano en el tejido mamario maligno superan las del tejido mamario normal (≈2 veces) y en plasma (>5 veces). El formestano se metaboliza rápida y ampliamente; el principal metabolito después de la administración oral es el conjugado glucurónico del fármaco original, metabolito que es formado en las reacciones de fase II del metabolismo donde se conjuga el ácido glucurónico con la sustancia endógena para facilitar su excreción. Actualmente se desconoce el metabolismo después de la administración intramuscular. La eliminación plasmática del formestano intramuscular es bifásica: la vida media de eliminación inicial ($t_{1/2}$) es de 2 a 4 días y la $t_{1/2}$ terminal es de hasta 10 días, siendo datos ya bien conocidos.^{106,112}

Para la familia de los aminoalcoholes también se ha tomado como base el exemestano y el formestano, agregando la daunorrubicina que aunque se trata de un fármaco que se utiliza principalmente en leucemia linfoblástica aguda y leucemia mieloide aguda inhibiendo la síntesis de ADN y ARN,¹¹³ contiene este grupo funcional y se podría conocer la interacción con la aromatasa al tener como base la estructura esteroideal. Una inyección intravenosa en bolo de daunorrubicina produce altas concentraciones plasmáticas, que caen rápidamente debido a la rápida y extensa distribución en los tejidos. Del 50 al 85% de la daunorrubicina plasmática está unida a proteínas. La daunorrubicina se metaboliza rápidamente en el metabolito hidrófilo 13-hidroxi, doxorubicinol y en las agliconas doxorubicinona y 7-desoxidoxorubicinona. El metabolismo a doxorubicinol se produce mediante aldocetorreductasas citoplasmáticas dependientes de NADPH, presentes en todas las células, pero particularmente en los glóbulos rojos y en las células del hígado y el riñón. La daunorrubicina y sus catabolitos se excretan principalmente en la bilis, más del 50% se elimina durante el primer tránsito por el hígado. Se ha estimado que la excreción fecal acumulada durante 7 días es del 25 al 45%.¹¹⁴

¹¹¹ Wiseman, K.; Goa, L. *Drugs & Aging*, **1996**, *9*, 292–306.

¹¹² Bajetta, E.; Zilembo, N.; Buzzoni, R. *Br J Cancer*, **1994**, *70*: 145-15.

¹¹³ Portugal, J.; Martin, B.; Vaquerol, A.; Ferrer, N.; Villamarín, S.; Priebe, W. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1-8.

¹¹⁴ Speth, P.; Hoesel, Q.; Haanen, C. *Clin. Pharmacokinet*, **1988**, *15*, 15-31.

Y finalmente para la familia de los triazoles, el análisis se realizó en comparación con el del anastrozol, el cual es un inhibidor de la aromatasas no esteroideo de tercera generación, potente y selectivo para la enzima. Se administra por vía oral, es bien tolerado y proporciona una supresión casi completa de estrógenos tanto por vía sistémica como intratumoral. El anastrozol es eficaz en el tratamiento del cáncer de mama avanzado y, en dosis de 1 mg una vez al día, aumenta significativamente el tiempo de supervivencia.¹¹⁵ La absorción de anastrozol es rápida, alcanzándose las concentraciones plasmáticas máximas normalmente dentro de las 2 horas siguientes a su administración (en ayunas). El anastrozol se elimina lentamente con una vida media de eliminación plasmática de 40 a 50 horas.¹¹⁶

6.1.1.1 Predicción de perfiles farmacocinéticos de compuestos pirimidínicos

Se realizaron las predicciones por las diferentes rutas propuestas, iniciando con aquellos compuestos que son de tipo pirimidínico, **2** y **3** (Figura 60).

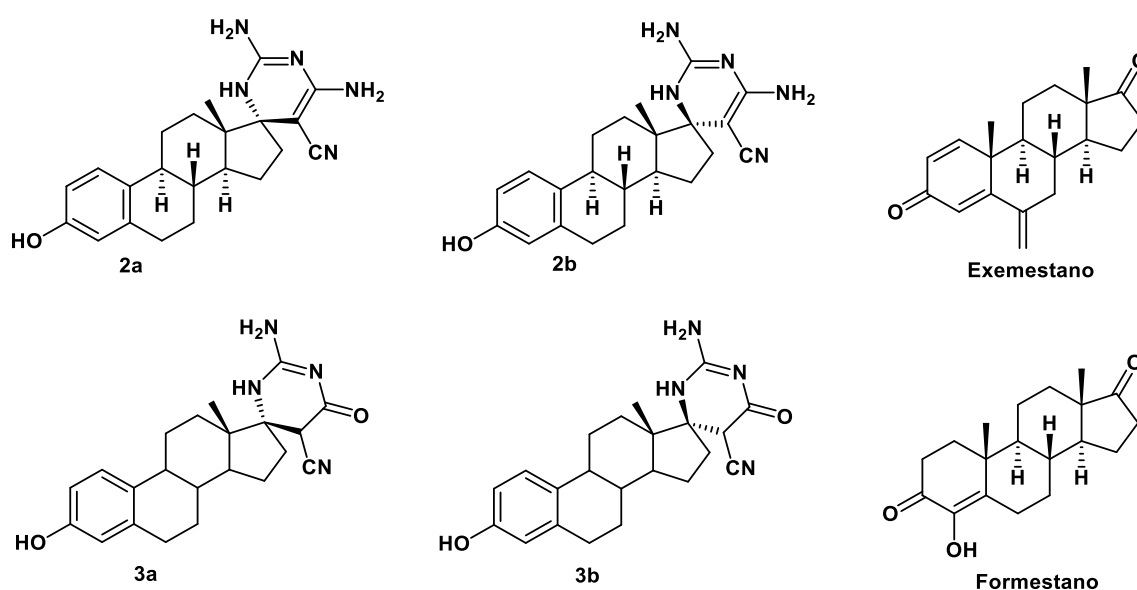


Figura. 60 Compuestos evaluados en Molinspiration de la familia pirimidínica.

El análisis se comenzó calculando los valores de logP, cuyo valor ideal es entre 0.4 y 5, siendo el promedio 2.52. Un valor cercano a este indica que existe un buen paso en la barrera plasmática, así como en la barrera hematoencefálica. Tanto el exemestano como el formestano tienen un

¹¹⁵ Tralists, Group, *Br. J. Cancer*, **2001**, 85, 317-324.

¹¹⁶ Plourde, P.; Dyroff, M.; Dukes, M. *Breast Cancer Res Treat* **1994**; 30, 103-111.

valor adecuado. Dentro de los compuestos propuestos los valores de **3a** y **3b** son mejores que los de **2a** y **2b**; sin embargo, los 4 entran dentro del parámetro establecido. Es importante tener en consideración que los productos naturales no suelen siempre cumplir con este parámetro debido a la naturaleza de sus estructuras. En cuanto al peso molecular, todos cumplen con tener valores menores a 500, cumpliendo con esta regla, aunque los productos naturales suelen también ser la excepción, eso nos hace notar que los valores de logP y MW tienen buenos resultados. Los valores para nOH (el número de aceptores de puente hidrógeno), aunque elevados, son aceptables entrando en el rango de <10, notando que en el exemestano y formestano se encuentran en 2 y 3 respectivamente, a su vez para **3a** y **3b** se observa que los valores a nOHNH son aceptables con 4; **2a** y **2b** presentan un valor de 6, siendo la primera violación de acuerdo con la regla de los 5. Finalmente se observa que el valor total del área de la superficie polar (TPSA) está en un rango entre 100 y 120 Å para todos los compuestos, lo que significaría que, en forma farmacéutica, la vía oral sería una buena opción, ya que los valores ideales para esta vía van de 100 a 140 Å. Se debe mencionar también que estos compuestos no serían capaces de atravesar la barrera hematoencefálica debido a que los valores ideales van de 60 a 90 Å. En cuanto los enlaces rotatables se encontró que tanto en los compuestos propuestos como en los de referencia no hay ninguno. (Tabla 13).

Tabla 13. Cálculos de Propiedades moleculares de los derivados esteroidales pirimidínicos (**2a-3b**) con los fármacos de referencia exemestano y formestano, empleando el programa Molinspiration.

Criterio Compuesto	LogP <5	PM <500	nON <10	nOHNH <5	#Violaciones <2	TPSA 140	Enlaces rotables <10
2a	1.82	377.49	6	6	1	120.46	0
2b	1.82	377.49	6	6	1	120.46	0
3a	2.58	378.48	6	4	0	111.5	0
3b	2.58	378.48	6	4	0	111.5	0
Exemestano	3.35	296.41	2	0	0	34.14	0
Formestano	2.73	302.41	3	1	0	54.37	0

6.1.1.2 Predicción de perfiles farmacocinéticos de derivados aminoalcoholes

Los compuestos diseñados para su síntesis en la familia de los aminoalcoholes son del **6a** al **6l** (Figura 61), destacando que para **6e** no se logró su total purificación, el compuesto **6g** es el que se propone que se obtuvo durante la síntesis, y que los compuestos **6j-6l** no se pudieron sintetizar. Para la evaluación se usó como referencia el exemestano, el formestano y la daunorrubicina, la

cual forma parte de la familia las antraciclinas. Tomando en cuenta que estos compuestos son productos naturales, es posible que los valores de logP y MW no cumplan con los valores de la regla de Lipinski.

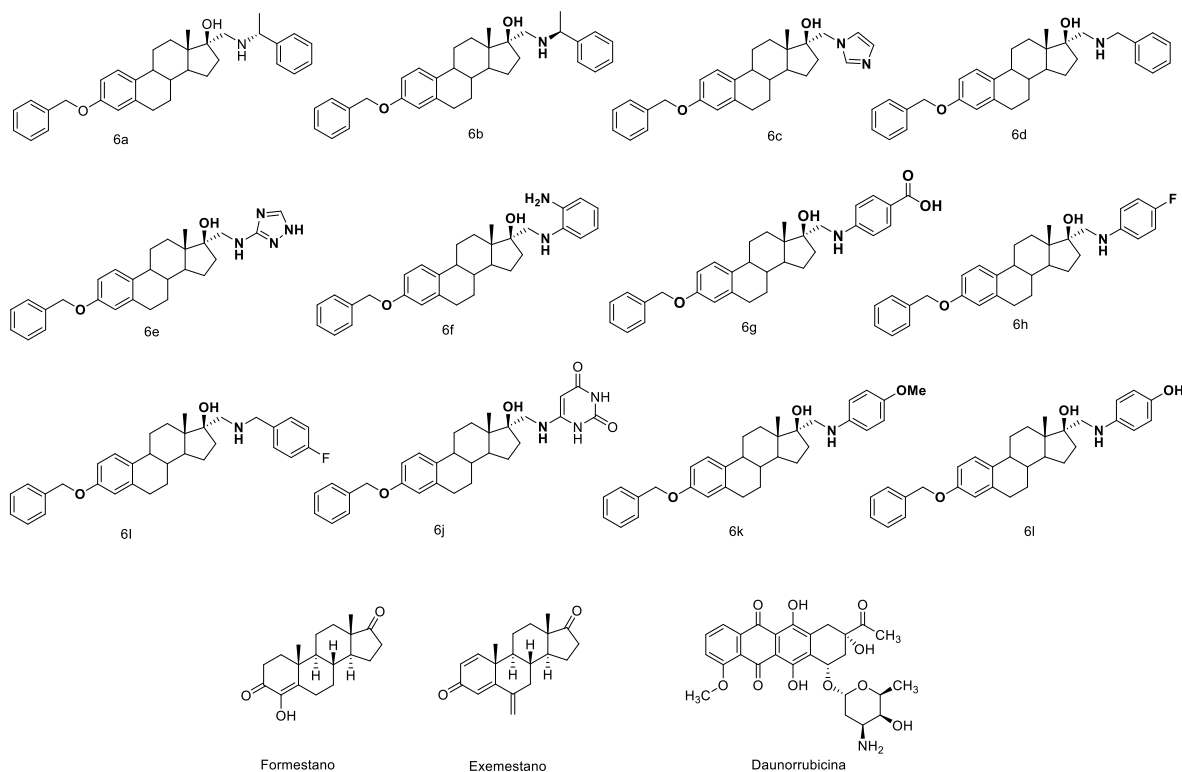


Figura 61. Compuestos evaluados en Molinspiration de la familia aminoalcohol.

Comenzando con el análisis arrojado por el programa Molinspiration, para los compuestos **6e** y **6j** se obtuvieron valores aceptables de 4.89 y 4.62, respectivamente; para el resto de los compuestos se tiene un valor de entre 5 y 8, esto no significa que vaya a existir alguna bioacumulación de los compuestos en los lípidos, sino que la absorción resultaría más lenta, aunque de forma completa. Así cuando se habla de fármacos que provienen de productos naturales, se habla de una mayor cantidad de molécula bioactiva para poder dar la capacidad de absorción y que pueda cumplir el efecto deseado. Para el siguiente parámetro que es el MW los compuestos **6g** y **6j** arrojaron un valor mayor a 500, para nON se observa que todos los derivados arrojan valores favorables, sin embargo, se observa que en el caso de la referencia daunorrubicina tiene una violación con un valor a 11. Para nOHNH se arrojaron valores favorables excepto para la daunorrubicina. El valor total del área de la superficie polar (TPSA) que debe ser menor a 140

y que expresa la suma de todos los átomos polares presentes en la molécula, encontramos que todos tienen un rango entre 40 y 110 Å, lo que significaría que la forma farmacéutica más adecuada para el compuesto **6j** sería la vía oral, ya que los valores ideales para esta vía van de 100 a 140 Å, por otra parte, valores menores a 60 serían capaces de atravesar la barrera hematoencefálica debido a que los valores ideales van de 60 a 90 Å, considerando nuevamente que nuestro fármaco sufre una violación en este parámetro. En cuanto los enlaces rotables, que hacen referencia a una medida de la flexibilidad molecular, se encontró que tanto en los compuestos de referencia como en los propuestos tienen valores aceptables. En primera instancia nuestro compuesto de referencia indica que tiene problemas en cuanto a la permeabilidad, y el tener problemas en el TPSA significa que le resultar difícil para difundir libremente en la barrera hematoencefálica provocando efectos no deseados; al proponer moléculas que contengan diferentes grupos funcionales estas podrían ser mejores candidatos para el tratamiento, reduciendo los efectos secundarios (Tabla 14).

Tabla 14. Cálculos de propiedades moleculares de los derivados esteroideos de tipo aminoalcohol (**6a-3l**) con los fármacos de referencia exemestano, formestano y daunorrubicina empleando el programa Molinspiration.

Compuesto Criterio	LogP <5	MW <500	nON <10	nOHNH <5	#Violaciones <2	TPSA 140	Enlaces rotables <10
6a	7.37	495.71	3	2	1	41.49	7
6b	7.37	495.71	3	2	1	41.49	7
6c	5.31	442.6	4	1	1	47.29	5
6d	6.82	481.68	3	2	1	41.49	7
6e	4.89	458.61	6	3	0	83.06	6
6f	6.55	482.67	4	4	1	67.51	6
6g	7.02	511.66	5	3	2	78.79	7
6h	7.28	485.64	3	2	1	41.49	6
6i	6.98	499.67	3	2	1	41.49	7
6j	4.62	501.63	7	4	1	107.261	6
6k	7.17	497.68	4	2	1	50.72	7
6l	6.63	483.65	4	3	1	61.72	6
Exemestano	3.35	296.41	2	0	0	34.14	0
Formestano	2.73	302.41	3	1	0	54.37	0
Daunorrubicina	0.9	527.53	11	6	3	185.85	4

6.1.1.3 Predicción de perfiles farmacocinéticos de derivados triazoles

La familia de los triazoles fue comparada con el exemestano, formestano y con el anastrozol, este último debido a que en su estructura encontramos un anillo de tipo triazol que nos puede servir como referencia. Esta familia propuesta va del derivado **8a** al **8d** recalcando que los compuestos **8c** y **8d** no fueron posibles obtenerlos bajo los ensayos propuestos (Figura 62).

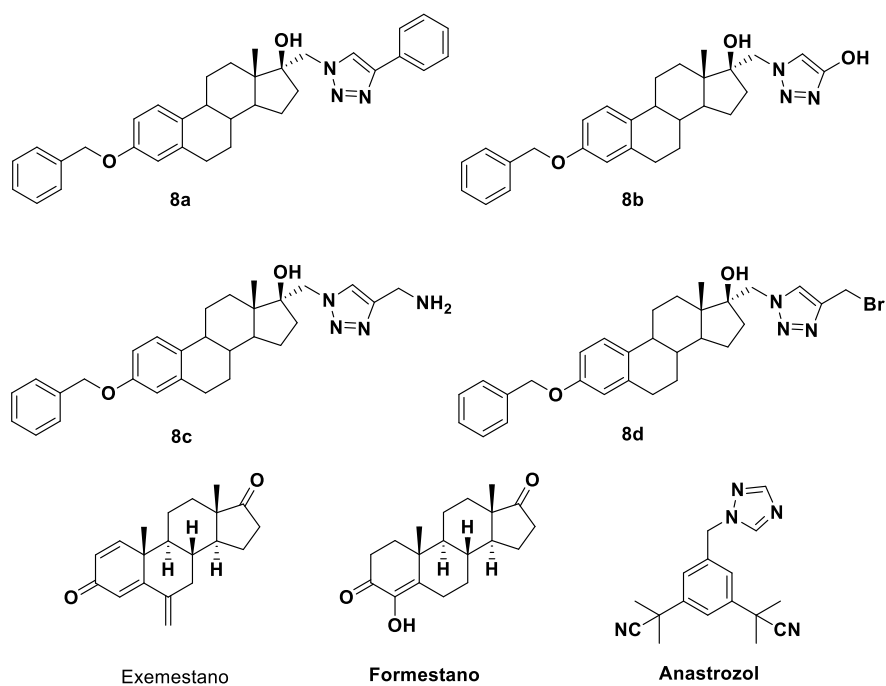


Figura 62. Compuestos evaluados en Molinspiration de la familia triazol.

Iniciando con el análisis se encontró que en el parámetro logP los derivados **8a** y **8d** violan esta regla, lo que resultaría una absorción más lenta. Se debe destacar que, al tratarse de un producto natural, este parámetro no suele cumplirse; con respecto a los compuestos de uso clínico de referencia presentan un valor cerca del promedio, indicando que tienen buena difusión. Para su MW, de la misma manera que logP, **8a** y **8d** no obtienen un buen resultado, resaltando la relación existente con el primer parámetro, en tanto que **8b** y **8c** a pesar de tener altos valores se encuentran dentro del rango aceptable. Para el número de aceptores de puentes hidrógeno, el valor menor o igual a 10 es ideal, concluyendo que todos los derivados resultaron aceptables, al igual que los donares de puente hidrógeno. De manera importante cabe destacar que TPSA arroja bajos resultados, lo que indica que dichos compuestos presentan libre difusión por la barrera hematoencefálica, es decir menor probabilidad de causar efectos no deseados. Finalmente, el

parámetro de número de enlaces rotables también arroja valores dentro del rango aceptable, siendo así únicamente los compuestos **8a** y **8d** quienes presentan violaciones, pero éstas no son contempladas debido a lo mencionado anteriormente (Tabla 15).

Tabla 15. Cálculos de Propiedades moleculares de los derivados esteroideos de tipo triazol (**8a-8d**) con los fármacos de referencia exemestano, formestano y anastrozol empleando el programa Molinspiration.

Compuesto Criterio	LogP <5	MW <500	nON <10	nOHNH <5	#Violaciones <2	TPSA 140	Enlaces rotables <10
8a	6.84	519.69	5	1	2	60.18	6
8b	4.75	473.62	6	2	0	80.41	6
8c	4.59	472.63	6	3	0	86.2	6
8d	6.12	536.51	5	1	2	60.18	6
Exemestano	3.35	296.41	2	0	0	34.14	0
Formestano	2.73	302.41	3	1	0	54.37	0
Anastrozol	2.85	293.37	5	0	0	78.3	4

6.1.2 Análisis de propiedades biofarmacéuticas y farmacocinéticas

Para el cálculo de las propiedades biofarmacéuticas y farmacocinéticas se utilizaron diferentes softwares tales como SwissADME. Dicha herramienta permite calcular parámetros fisicoquímicos y farmacocinéticos, similares a fármacos relacionados, clave para una o varias moléculas. Esta herramienta incorpora modelos predictivos rápidos y de acceso libre que muestran significado estadístico, poder predictivo, interpretación intuitiva y una traducción sencilla al diseño molecular. Estos modelos han sido adaptados de enfoques reconocidos publicados o de métodos originales internos, especialmente desarrollados y evaluados exhaustivamente.¹¹⁷ Estos cálculos se han complementado con el programa admetSAR, el cual fue desarrollado como una fuente integral y una herramienta gratuita para la predicción de propiedades químicas ADMET la cual contiene 27 modelos predictivos. Desde su primer lanzamiento en 2012, admetSAR se ha utilizado ampliamente en los campos químico y farmacéutico con una actualización en admetSAR 2.0. Se centra en la extensión y optimización de los modelos existentes con una mejora significativa en la cantidad y calidad de los datos ahora

¹¹⁷ Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 42717-42730.

con 47 modelos disponibles para el descubrimiento de fármacos o la evaluación de riesgos ambientales.¹¹⁸

La identificación e interpretación de estos parámetros conocidos como ADME, implican la utilización y manejo de conceptos básicos de farmacéutica para comprender las características de los diferentes compuestos propuestos, como el logP que en SwissADME arroja un consenso del valor, ya que todos los modelos sufren de un sobreajuste y, a pesar de estar ensayados en miles de medidas experimentales de octanol/agua, su precisión depende claramente de la estructura. Actualmente, proporcionan predicciones log Po/w tal cual a partir de metodologías lo más diversas posible, estas predicciones pretenden ser menos propensas a sesgos de sobreajuste. También encontramos valores de solubilidad, ya que tener una molécula soluble facilita enormemente muchas actividades de desarrollo de fármacos, principalmente la facilidad de manipulación y formulación. Para los proyectos de descubrimiento dirigidos a la administración oral, la solubilidad es una propiedad importante que influye en la absorción. Además, un fármaco destinado a uso parenteral debe ser altamente soluble en agua para suministrar una cantidad suficiente de ingrediente activo en el pequeño volumen de dicha dosis farmacéutica, SwissADME proporciona diferentes valores que, para este trabajo, se consideraron: la solubilidad por el método ESOL, que indica la estimación de la solubilidad acuosa directamente de la estructura molecular donde valores <-6 suelen ser poco solubles o insolubles y <-4 moderadamente solubles <-2 muy solubles y <0 altamente solubles; la absorción intestinal; la cuantificación de la permeabilidad y el transporte de la barrera hematoencefálica (BBB/BHE). La BHE regula estrictamente el intercambio de sustancias entre la sangre y el parénquima cerebral. De este modo, la permeabilidad de la BHE a estas sustancias se mantiene en un nivel muy bajo. Esto es bueno para proteger el sistema nervioso central (SNC).¹¹⁹ Por otro lado también nos arroja la biodisponibilidad de la molécula, así como las alertas PAINS (Pan-Assay INterference compounds), que es un indicador de fragmentos moleculares que pueden causar falsos positivos.

¹¹⁸ Yang, H.; Lou, C.; Sun, L.; Li, J.; Cai, Y.; Wang, Z.; Li, W.; Liu, G. *Bioinformatics*, **2019**, *35*, 1067–1069.

¹¹⁹ Fu, B.; Zhao, Z.; Zhu, D. *Methods. Mol. Biol.* **2021**, *2367*, 105–122.

6.1.2.1 Análisis SwissADME para los compuestos de tipo pirimidínicos

Iniciando con los valores de logP, se observa que tanto los compuestos propuestos como los de referencia se encuentran dentro del rango establecido, indicando que presentan una buena lipofilidad y buena predicción para atravesar la membrana plasmática; por otro lado, se presentan los resultados alojados para la solubilidad, en esa se observa que los valores influyen en la solubilidad en agua, lo que es importante cuando se lleve a cabo una posible formulación del principio activo. Tanto los compuestos de referencia como los derivados presentan alta absorción intestinal, sin embargo, no tienen valores aceptables para la BBB, lo que significa que los compuestos de referencia si tienen permeabilidad en la barrera hematoencefálica, pero no los derivados **2-3**. En cuanto a la biodisponibilidad tanto los compuestos de referencia como los derivados pirimidínicos se tienen valores de 0.55, lo que indica el grado y la velocidad con la que el fármaco llega a su sitio de acción. Finalmente, ninguno de los compuestos presenta alertas PAINS. (Tabla16).

Tabla 16. Cálculos de propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas de los derivados esteroidales pirimidínicos (**2a-3b**) con los fármacos de referencia exemestano y formestano, empleando el programa SwissADME.

Compuesto	LogP	Solubilidad	Absorción intestinal	BBB	Biodisponibilidad	Alerta PAINS
2a	2.14	4.10e-02 mg/mL ; 1.09e-04 mol/L Soluble	Alta	No	0.55	0
2b	2.18	4.10e-02 mg/mL ; 1.09e-04 mol/L Soluble	Alta	No	0.55	0
3a	2.19	3.40e-02 mg/mL ; 8.99e-05 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	No	0.55	0
3b	2.21	3.40e-02 mg/mL ; 8.99e-05 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	No	0.55	0
Exemestano	3.51	7.25e-02 mg/mL ; 2.44e-04 mol/L Soluble	Alta	Si	0.55	0
Formestano	3.09	1.34e-01 mg/mL ; 4.44e-04 mol/L Soluble	Alta	Si	0.55	0

6.1.2.2 Análisis SwissADME Para los compuestos de tipo aminoalcohol

Iniciando con logP se puede observar que únicamente los compuestos **6c**, **6e** y **6j** presentan un buen valor junto con los fármacos de referencia, así entonces el resto de los compuestos presentan un valor mayor a 5, incluso hablando de compuestos que presentan grupos funcionales que ayudan a este parámetro, no olvidando que además los derivados se tratan de productos naturales.

Por otro lado, encontramos que tienen una solubilidad moderada de acuerdo con los valores que se presentan. Para la absorción intestinal, los derivados **6h** y **6i**, así como la daunorrubicina, presentan baja probabilidad de absorción, no así para el resto de los compuestos. Los compuestos de referencia y el compuesto **6c** tienen la característica que pueden permear la barrera hematoencefálica, y en cuanto a la biodisponibilidad se refiere, se observa que el único que cuenta con valor bajo es la daunorrubicina. Finalmente se encontró una alerta PAINS en el derivado **6k**, de acuerdo con los resultados, es generada por el grupo –OMe perteneciente a la 4-metoxianilina, importante de identificar debido a la interferencia que podría causar al llevar la molécula a ensayos posteriores, debido a que es una alerta de tipo estructural que identifica fragmentos inestables, tóxicos o con una farmacocinética deficiente (Tabla 17).

Tabla 17. Cálculos de propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas de los derivados esteroideos de tipo aminoalcohol (**6a-6l**) con los fármacos de referencia exemestano, formestano, daunorrubicina empleando el programa SwissADME.

Compuesto	LogP	Solubilidad	Absorción intestinal	BBB	Biodisponibilidad	Alerta PAINS
6a	6.26	2.93e-05 mg/mL ; 5.92e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
6b	6.26	2.93e-05 mg/mL ; 5.92e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
6c	4.8	4.98e-04 mg/mL ; 1.12e-06 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	Si	0.55	0
6d	5.95	6.08e-05 mg/mL ; 1.26e-07 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
6e	4.44	2.91e-04 mg/mL ; 6.34e-07 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
6f	5.48	5.71e-05 mg/mL ; 1.18e-07 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
6g	5.34	3.60e-05 mg/mL ; 7.03e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.56	0
6h	6.34	1.78e-05 mg/mL ; 3.66e-08 mol/L Poco Soluble	Baja	No	0.55	0
6i	6.28	4.32e-05 mg/mL ; 8.65e-08 mol/L Poco Soluble	Baja	No	0.55	0
6j	4.23	8.44e-04 mg/mL ; 1.68e-06 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	No	0.55	0
6k	5.99	2.21e-05 mg/mL ; 4.43e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	1

6l	5.58	3.50e-05 mg/mL ; 7.23e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.55	0
Exemestano	3.51	7.25e-02 mg/mL ; 2.44e-04 mol/L Soluble	Alta	Si	0.55	0
Formestano	3.09	1.34e-01 mg/mL ; 4.44e-04 mol/L Soluble	Alta	Si	0.55	0
Daunorrubicina	1.18	3.08e-02 mg/mL ; 5.85e-05 mol/L Moderadamente Soluble	Baja	No	0.17	0

6.1.2.3 Análisis SwissADME Para los compuestos de tipo triazol

De acuerdo con los datos arrojados por el software se observa que los compuestos **8a** y **8d** presentan un valor mayor a 5, en cuanto a la solubilidad este valor se encuentra moderado para estos compuestos. En todos los casos se encontró que la absorción intestinal es alta, y en cuanto a la biodisponibilidad tanto el compuesto **8a** y **8d** presentan un valor bajo, notando que ninguno de los compuestos presenta alerta PAINS (Tabla 18).

Tabla 18. Cálculos de propiedades fisicoquímicos, farmacocinéticos de los derivados esteroideos de tipo triazol (**8a-8d**) con los fármacos de referencia exemestano, formestano, anastrozol empleando el programa SwissADME

Compuesto	LogP	Solubilidad	Absorción Intestinal	BBB	Biodisponibilidad	Alertas PAINS
8a	5.86	2.85e-05 mg/mL ; 5.49e-08 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.17	0
8b	4.05	2.29e-03 mg/mL ; 4.83e-06 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	No	0.55	0
8c	3.94	3.37e-03 mg/mL ; 7.14e-06 mol/L Moderadamente Soluble	Alta	No	0.55	0
8d	5.13	1.31e-04 mg/mL ; 2.43e-07 mol/L Poco Soluble	Alta	No	0.17	0
Exemestano	3.51	7.25e-02 mg/mL ; 2.44e-04 mol/L Soluble	Alta	si	0.55	0
Formestano	3.09	1.34e-01 mg/mL ; 4.44e-04 mol/L Soluble	Alta	si	0.55	0
Anastrozol	2.35	2.65e-01 mg/mL ; 9.04e-04 mol/L Soluble	Alta	si	0.55	0

6.1.3 Análisis admetSAR

El software admetSAR permite calcular las propiedades farmacocinéticas de compuestos bioactivos y determinar su comportamiento en el organismo, así como su toxicidad.¹²⁰ Este programa establece una probabilidad en aspectos como absorción en intestino humano y la permeabilidad en Caco-2 de gran importancia dado que representa la permeabilidad gastrointestinal, ya que, entre los factores que determinan la absorción de un compuesto se encuentran la permeabilidad y las características de su transporte a través de la mucosa intestinal. La entidad encargada de la administración de alimentos y drogas norteamericana (Food and Drug Administration / FDA) reconoce que, la determinación *in vitro* de la permeabilidad usando modelos basados en monocapas de células Caco-2 puede ayudar a predecir la absorción *in vivo* de un fármaco.¹²¹ AdmetSAR también arroja datos sobre la probabilidad del compuesto a ser sustrato o no de la glicoproteína P, proteína que funciona como transportador de eflujo disminuyendo las concentraciones intracelulares de diversas sustancias, teniendo así un papel clave en la distribución tisular de los fármacos, limitando su paso al compartimiento intracelular y a determinados tejidos, especialmente al sistema nervioso central, además de funcionar como una barrera biológica al expulsar toxinas y xenobióticos de las células, desempeñando cierta importancia en la absorción y eliminación de fármacos. Debido a que la glicoproteína P limita la entrada a diversos fármacos al organismo impidiendo llegar a la célula, puede asociarse a la ineficacia de los tratamientos farmacológicos que pueden ser sustratos de esta proteína. La resistencia oncológica a múltiples agentes antineoplásicos es una de las mayores causas del fallo en el tratamiento a pacientes con cáncer, siendo varios mecanismos de resistencia observados, uno consiste en la disminución de concentración intracelular de fármaco por la sobreexpresión de la glicoproteína-P o bien una disminución en la acumulación intracelular.^{122,123} El software también arroja probabilidades en cuanto a metabolismo se trata, las enzimas citocromo P450 son las principales responsables del metabolismo de la mayoría de los fármacos antineoplásicos. Estas enzimas catalizan reacciones de fase I de biotransformación de xenobióticos, generalmente introduciendo o exponiendo un grupo funcional hidrofílico en el fármaco. Las familias de enzimas P450 involucradas en el metabolismo de los xenobióticos son primordialmente CYP1,

¹²⁰ Cheng, F.; Li, W.; Zhou, Y.; Shen, J.; Wu, Z.; Liu, G.; Lee, P.; Tang, Y. *Chem. Inf. Model.*, **2012**, 52, 3099-3105.

¹²¹ Castillo, R.; Chiriboga, C.; Fontanilla, M. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* **2006**, 35, 177-191.

¹²² Ruiz, M.; Souviron, A.; Martínez, M. *An. Med. Interna.* **2001**, 19, 477-485.

¹²³ Schaiquevich, P.; Hermida, M.; Rubio, M. *Rev. Farm.* **2006**, 148, 50-61.

CYP2, CYP3 y CYP4, siendo la subfamilia CYP3A la más abundante,¹²⁴ de ahí la importancia de saber si los derivados pueden ser sustrato de la isoforma CYP3A4. Al indicar que pueden ser inhibidores, se interpreta que estos compuestos tienen la capacidad de detener la oxidación de esteroides, ácidos grasos, xenobióticos, así como la síntesis y degradación de hormonas, como resultado indicando que estos compuestos si tendrían interacciones fármaco-fármaco, significando que en una duplicación terapéutica, esta interacción (en general las estructuras de tipo esteroideal tienen un carácter inhibitorio) podría reducir los efectos de uno o de ambos fármacos, también podría haber una implicación de que alguno de los dos fármacos llegue a concentraciones tóxicas debido a que no se esté metabolizando, cabe mencionar que de acuerdo con diversos estudios, se ha observado que muchos fármacos que actúan sobre la glicoproteína-P, suelen ser sustratos del CYP3A4, considerando que muchas células expresan a ambas proteínas, se ha sugerido que la expresión conjunta de ambas proteínas en hígado o el intestino puede ejercer un papel sinérgico de protección del organismo frente a agentes exógenos.¹²⁵ Otro resultado que arroja el programa es acerca de la toxicidad que es evaluada con la prueba AMES, la cual indica la capacidad o el potencial mutagénico del compuesto. Se evalúa si existe la probabilidad de ser carcinogénico, y finalmente si existe el peligro o amenaza a las abejas melíferas, siendo este punto de gran importancia debido al papel que juegan en nuestra biodiversidad.

6.1.3.1 Análisis admetSAR para los compuestos de tipo pirimidínicos

Iniciando con la absorción en el intestino humano, todos los compuestos presentan probabilidad de absorción; en cuanto a permeabilidad se observa que en comparación con el exemestano y el formestano los derivados propuestos no presentan una adecuada permeabilidad. Los derivados tienen probabilidad de ser sustrato de la glicoproteína P, indicando entonces que necesitará de un transportador. Todos los compuestos presentan probabilidad de ser sustratos de la isoforma 3A4 y no presentan potencial carcinogénico. Finalmente, no representan una clase de peligro potencial para las abejas melíferas. (Tabla 19).

¹²⁴ Quiñones, L.; Rosero, M.; Roco, A.; Moreno, I.; Sasso, J.; Varela, N.; Cáceres, D. Saavedra, I. *Rev. Med. Chile*, **2008**, *136*, 1327-1335.

¹²⁵ Peralta, G., Sánchez, M., Echeverría, S., Valdizán, M., Armijo, J. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2008**, *3*, 150-159.

Tabla 19: Probabilidades de propiedades metabólicas para los compuestos de tipo pirimidínicos en comparación con el exemestano y formestano., con el programa admetSAR.

Modelo	Probabilidad					
	2a	2b	3a	3b	Exemestano	Formestano
Absorción						
Absorción en intestino humano	Positivo 0.9906	Positivo 0.9906	Positivo 0.9943	Positivo 0.9943	Positivo 1.000	Positivo 0.9971
Permeabilidad Caco-2	Negativo 0.5661	Negativo 0.5661	Negativo 0.6093	Negativo 0.6093	Positivo 0.7211	Positivo 0.8727
No sustrato de glicoproteína P	Positivo 0.6445	Positivo 0.6445	Positivo 0.6734	Positivo 0.6734	Negativo 0.773	Negativo 0.9454
Metabolismo						
CYP450 3A4 No sustrato	Positivo 0.7278	Positivo 0.7278	Positivo 0.7473	Positivo 0.7473	Positivo 0.7354	Positivo 0.6035
No tóxico AMES	Negativo 0.7700	Negativo 0.7700	Negativo 0.7300	Negativo 0.7300	Negativo 0.8470	Negativo 0.89000
No carcinogénico	Negativo 0.8900	Negativo 0.8900	Negativo 0.8700	Negativo 0.8700	Negativo 0.9800	Negativo 1.0000
Toxicidad en abejas melíferas	Negativo 0.7624	Negativo 0.7624	Negativo 0.7290	Negativo 0.7290	Negativo 0.8005	Negativo 0.8499

6.1.3.2 Análisis admetSAR para los compuestos de tipo aminoalcohol

Como se puede observar en la Tabla 20, todos los compuestos tienen una alta probabilidad de absorción en el intestino humano; sin embargo, se presenta diversidad en la probabilidad de permeabilidad en las células Caco-2. Los compuestos **6a-6d**, así como el exemestano y el formestano presentan una probabilidad positiva, mientras que la daunorrubicina y los derivados **6e-6f** presentan una probabilidad negativa. Para la probabilidad de ser sustrato de la glicoproteína P, el derivado **6g** y los compuestos de referencia presentan una probabilidad negativa, mientras que el resto de los derivados tienen probabilidad positiva de presentar esta característica. Entrando al metabolismo de los derivados y la probabilidad de ser sustrato de CYP50 3A4, los derivados aminoalcoholes, así como los fármacos de referencia presentan esta probabilidad, destacando que los compuestos **6a-6d** se presenta un valor moderado. En la probabilidad de ser carcinogénico resulta negativa para todos los compuestos. Finalmente, ninguno de los derivados presenta probabilidad de toxicidad para las abejas melíferas.

Tabla 20: Probabilidades de propiedades metabólicas para los compuestos de tipo aminoalcohol en comparación con E: Exemestano, F: Formestano, D: Daunorrubicina con el programa admetSAR.

Modelo	Probabilidad														
	6a	6b	6c	6d	6e	6f	6g	6h	6i	6j	6k	6l	E	F	D
Absorción															
Absorción en intestino humano	Positivo 0.9906	Positivo 0.9906	Positivo 0.9906	Positivo 0.9946	Positivo 0.9827	Positivo 0.9859	Positivo 0.9511	Positivo 0.9882	Positivo 0.9939	Positivo 0.9511	Positivo 0.9766	Positivo 0.9830	Positivo 1.000	Positivo 0.9971	Positivo 0.7316
Permeabilidad Caco-2	Positivo 0.5190	Positivo 0.5190	Positivo 0.5190	Positivo 0.5355	Negativo 0.7749	Negativo 0.7689	Negativo 0.8389	Negativo 0.7698	Positivo 0.7897	Negativo 0.8308	Negativo 0.7423	Negativo 0.7947	Positivo 0.7211	Positivo 0.8727	Negativo 0.8305
No sustrato de glicoproteína P	Positivo 0.8134	Positivo 0.8134	Positivo 0.8134	Positivo 0.8704	Positivo 0.5522	Positivo 0.6144	Negativo 0.5239	Positivo 0.5727	Positivo 0.6019	Positivo 0.5379	Positivo 0.5231	Positivo 0.5164	Negativo 0.773	Negativo 0.9454	Positivo 0.9533
Metabolismo															
CYP450 3A4 No sustrato	Positivo 0.5786	Positivo 0.5786	Positivo 0.5786	Positivo 0.5667	Positivo 0.7413	Positivo 0.7196	Positivo 0.7353	Positivo 0.7484	Positivo 0.7497	Positivo 0.7639	Positivo 0.7410	Positivo 0.7455	Positivo 0.7354	Positivo 0.6035	Positivo 0.6453
No tóxico AMES	Negativo 0.8561	Negativo 0.8561	Negativo 0.8561	Negativo 0.8512	Negativo 0.8091	Negativo 0.6691	Negativo 0.7919	Negativo 0.7410	Negativo 0.7791	Negativo 0.7991	Negativo 0.7310	Negativo 0.7610	Negativo 0.8470	Negativo 0.89000	Positivo 1.0000
No carcinogénico	Negativo 0.9104	Negativo 0.9104	Negativo 0.9104	Negativo 0.9060	Negativo 0.7500	Negativo 0.7300	Negativo 0.8400	Negativo 0.6749	Negativo 0.7338	Negativo 0.8500	Negativo 0.7500	Negativo 0.7700	Negativo 0.9800	Negativo 1.0000	Negativo 0.9400
Toxicidad en abejas melíferas	Negativo 0.5227	Negativo 0.5227	Negativo 0.5227	Negativo 0.5107	Negativo 0.7757	Negativo 0.7354	Negativo 0.8065	Negativo 0.8037	Negativo 0.7373	Negativo 0.7550	Negativo 0.8238	Negativo 0.7988	Negativo 0.8005	Negativo 0.8499	Negativo 0.6604

6.1.3.3 Análisis admetSAR para los compuestos de tipo triazol

La evaluación para los compuestos de tipo triazol arrojaron los valores mostrados en la Tabla 21. Para todos los compuestos resultaron valores positivos a la probabilidad de absorción en el intestino humano, mientras que para la permeabilidad de las células Caco-2 únicamente el exemestano y el formestano arrojaron valores positivos, el resto de los derivados arrojaron valores negativos incluyendo al anastrozol. En cuanto a la probabilidad de ser sustrato de la glicoproteína P, los fármacos de referencia resultaron negativos, mientras que el resto de los derivados resultaron positivos. En su metabolismo se observa que tienen probabilidad de ser sustrato de CYP50 3A4 siguiendo los resultados de los fármacos de referencia, por otra parte, en los estudios AMES resultaron ser negativos, así como la probabilidad de ser carcinogénicos, Finalmente ninguno de los compuestos tuvo probabilidad de ser tóxicos para las abejas melíferas.

Tabla 21: Probabilidades de propiedades metabólicas para los compuestos de tipo triazol en comparación con el exemestano, formestano y anastrozol con el programa admetSAR.

Modelo	Probabilidad						
	8a	8b	8c	8d	Exemestano	Formestano	Anastrozol
Absorción							
Absorción en intestino humano	Positivo 1.0000	Positivo 0.9943	Positivo 0.9954	Positivo 1.000	Positivo 1.000	Positivo 0.9971	Positivo 0.9841
Permeabilidad Caco-2	Negativo 0.8212	Negativo 0.7873	Negativo 0.7997	Negativo 0.7811	Positivo 0.7211	Positivo 0.8727	Negativo 0.5837
No sustrato de glicoproteína P	Positivo 0.5144	Positivo 0.5108	Positivo 0.5767	Positivo 0.5325	Negativo 0.7730	Negativo 0.9454	Negativo 0.7383
Metabolismo							
CYP450 3A4 No sustrato	Positivo 0.7412	Positivo 0.7443	Positivo 0.7341	Positivo 0.7396	Positivo 0.7354	Positivo 0.6035	Positivo 0.5844
No tóxico AMES	Negativo 0.7137	Negativo 0.7891	Negativo 0.7991	Negativo 0.7791	Negativo 0.8470	Negativo 0.89000	Negativo 0.6200
No carcinogénico	Negativo 0.7900	Negativo 0.8000	Negativo 0.7800	Negativo 0.7710	Negativo 0.9800	Negativo 1.0000	Negativo 0.6900
Toxicidad en abejas melíferas	Negativo 0.7244	Negativo 0.7977	Negativo 0.7927	Negativo 0.7733	Negativo 0.8005	Negativo 0.8499	Negativo 0.7361

6.1.4 Análisis de datos con el programa PASS Online

PASS Online es un programa en línea que estima la actividad biológica de compuestos bioactivos creando un perfil de actividad sobre múltiples blancos terapéuticos, basándose en la relación que hay en estructura actividad (SAR) de otras moléculas ya registradas en su base de datos. El software indica dos valores probabilidad de actividad (P_a) y probabilidad de inactividad (P_i), con un 95% de probabilidad de precisión.¹²⁶ Su interpretación se rige bajo los siguientes valores:

Si $P_a > 0.7$: Indica que la molécula que se está analizando puede presentar actividad biológica, significa entonces que existen agentes farmacéuticos similares en su base de datos que son análogos a ese compuesto activo.

Si $0.5 < P_a < 0.7$: Indica que el compuesto bioactivo no es muy conocido y por lo tanto no será análogo a algún agente farmacéutico conocido.

Si $P_a < 0.5$ Indica que la molécula analizada no comparte alguna similitud con agentes farmacéuticos en su base de datos. Interpretándose que el compuesto es una nueva clase de molécula para actividades biológicas que se deseen analizar.¹²⁷

Para comenzar el adecuado filtrado de la información, inicialmente se buscaron que los compuestos presentaran actividad biológica y que fueran análogos en los existentes en la base de datos, obteniendo aquellos que tuvieran valores mayores a 0.3, y que esos mismos valores a la vez fueran, $P_a > P_i$, posteriormente se filtraron a aquellos que estuvieran relacionados a actividad anticancerígena y problemas relacionados a estrógenos, tomando en cuenta las actividades que se mostraron en los resultados de los compuestos base y 6 actividades relacionadas, incluyendo la de inhibidor de la aromatasa.

6.1.4.1 Análisis de datos con el programa PASS Online para los derivados propuestos en las 3 rutas

Los resultados arrojaron que, para la actividad inhibitoria de la aromatasa, moléculas similares a **6c** y **8a** existen en gran medida dentro de la base de datos, proporcionándonos una probabilidad de actividad favorable para **6c**, mientras que para **8a** presenta una actividad moderada, en comparación de nuestros fármacos de referencia; sin embargo, se consideraron los valores obtenidos en el resto de los compuestos propuestos debido al blanco objetivo. Se encontraron valores $P_a >$ que, aunque es un valor mínimo no significa que no presenten actividad, más bien

¹²⁶ Varnek, A.; Tropsha, A. *RSC Publishing*, 2008, 38, 182-216.

¹²⁷ Way2Drug.com 2011, versión 2.0 (<https://www.way2drug.com/passonline/definition.php>) consultado el 15 de marzo de 2024, 2:12 pm

que dentro de la base de datos no se cuentan con estructuras similares para establecerse una comparación. Para la inhibición de la testosterona 17 β -deshidrogenasa (NADP+) los compuestos de referencia presentan buenos valores de Pa, y en comparación a los compuestos del trabajo, los de tipo pirimidínicos **3**, presentan valores aceptables. Se consideró esta actividad debido a que es una potencial diana terapéutica en los tumores en los que su regulación se encuentra alterada ya que dicha enzima se expresa en varios tejidos, incluida la mama con la capacidad de reducir la estrona (E1) a estradiol (E2), provocando un aumento en la concentración de la hormona así generando mayor efecto proliferativo^{128,129} Tabla 22.

Tabla 22: Actividades biológicas relacionadas con el cáncer para los compuestos con valor mayor a 0.3 por el programa PASS Online.

Actividad	Compuesto	Pa	Pi
Inhibidor de la aromatasa	Exemestano	0.937	0.001
	Anastrozol	0.601	0.003
	Formestano	0.732	0.002
	6c	0.869	0.001
	8a	0.440	0.004
	6a	0.098	0.018
	6b	0.098	0.018
	6d	0.157	0.011
	6e	0.155	0.011
	6f	0.211	0.008
	6g	0.100	0.017
Inhibidor de la testosterona 17β-deshidrogenasa (NADP+)	6h	0.206	0.009
	6i	0.155	0.011
	Exemestano	0.917	0.005
	Formestano	0.970	0.002
	Anastrozol	0.387	0.193
	3a	0.727	0.046
	3b	0.727	0.046
	6g	0.797	0.026
6j	0.748	0.039	
6d	0.650	0.072	
6l	0.570	0.102	

¹²⁸ Lin, H. *Steroids*, **2004**, *69*, 795-801.

¹²⁹ Haynes, B., *Clin Cancer Res*, **2010**, *16*, 1790-801.

6a	0.546	0.024
6b	0.546	0.024
6f	0.480	0.141
6k	0.480	0.141
6i	0.434	0.165
6h	0.434	0.165

Otra de las actividades consideradas fue la inhibición de la ovulación debido a que se encuentra relacionada a la producción de hormonas, encontrando a los fármacos de referencias con un alto valor de Pa. En el caso de nuestros compuestos pertenecientes a la familia de los aminoalcoholes (**6d-6f**) presentan buen valor de Pa, prediciendo que podrían presentar esta actividad. En cuanto a la familia de las pirimidinas (**2-3**) y los triazoles (**8a-8d**), se encuentran valores moderados. Con respecto a la actividad antineoplásica, que se considera como actividad que impide la multiplicación de las células, los cuatro fármacos considerados presentan Pa favorables, encontrando que **8a** presenta mejor valor en la base de datos y que podría ser dirigido hacia esa actividad (Tabla 23).

Tabla 23: Actividades biológicas relacionadas con el cáncer para los compuestos con valor mayor a 0.3 por el programa PASSOnline.

Actividad	Compuesto	Pa	Pi
Inhibidor de la ovulación	Exemestano	0.856	0.002
	Formestano	0.883	0.002
	3a	0.607	0.016
	3b	0.607	0.016
	6d	0.756	0.004
	6k	0.739	0.004
	6f	0.732	0.005
	6l	0.726	0.005
	6a	0.711	0.005
	6b	0.711	0.005
	6c	0.651	0.009
	6i	0.643	0.010
	6h	0.637	0.011
	6g	0.629	0.012
	6e	0.595	0.019
	8a	0.610	0.015
8b	0.566	0.027	

	8c	0.550	0.033
	8d	0.543	0.036
Antineoplásico	Daunorrubicina	0.964	0.004
	Exemestano	0.916	0.005
	Formestano	0.830	0.009
	Anastrozol	0.534	0.061
	2a	0.364	0.119
	2b	0.364	0.119
	6f	0.456	0.085
	6e	0.357	0.122
	6k	0.350	0.125
	6l	0.337	0.132
	8d	0.521	0.065
	8a	0.398	0.105
	8c	0.307	0.148
	8d (Cáncer de mama)	0.313	0.051

Finalmente se consideró la inhibición de la prostaglandina-E2 9-reductasa y la inhibición de la síntesis de esteroides por el papel que juegan en el proceso de cáncer, de acuerdo con los valores arrojados por el programa el formestano y exemestano presentan valores favorables, mientras que la familia de los aminoalcoholes presenta valores cercanos a 0.5. En el caso las pirimidinas y los triazoles, **6g** presenta un valor de 0.858 para la inhibición de la PGE2, valor cercano al formestano, mientras que **6a** y **6b** mostraron un valor de con 0.553 valor moderado cercano al formestano (Tabla 24).

Tabla 24: Actividades biológicas relacionadas con el cáncer para los compuestos con valor mayor a 0.3 por el programa PASSOnline.

Actividad	Compuesto	Pa	Pi
Inhibidor de la prostaglandina-E2 9-reductasa	Formestano	0.860	0.007
	Exemestano	0.773	0.011
	3a	0.422	0.051
	3b	0.422	0.051
	6g	0.858	0.007
	6l	0.723	0.014
	6d	0.664	0.019
	6f	0.624	0.023
	6c	0.601	0.025

6a	0.548	0.032
6b	0.548	0.032
6h	0.485	0.041
6j	0.456	0.046
6i	0.411	0.053
6e	0.396	0.056
8a	0.595	0.026
8b	0.510	0.037
8c	0.358	0.063
8d	0.355	0.063
Formestano	0.574	0.003
Anastrozol	0.481	0.005
3a	0.482	0.005
3b	0.482	0.005
6a	0.553	0.003
6b	0.553	0.003
6l	0.526	0.004
6d	0.511	0.004
6f	0.499	0.004
6i	0.499	0.004
6h	0.490	0.005
6c	0.413	0.010
6k	0.409	0.010
6g	0.384	0.014
6e	0.354	0.021
6j	0.332	0.029
8a	0.359	0.020
8b	0.331	0.030
8c	0.321	0.034
8d	0.303	0.044

Inhibidor de la síntesis de esteroides

Estos resultados fueron complementados con las predicciones del programa CLC-Pred.

6.1.5 Predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred

Las líneas celulares cancerosas tradicionalmente sirven como modelos importantes para la investigación oncológica, el descubrimiento de fármacos contra el cáncer y los estudios preclínicos. La alteración somática primaria generalmente se conserva en una línea celular cancerosa; así las líneas celulares cancerosas suelen ser capaces de formar tumores *in vivo*. Además, estas líneas celulares cancerosas demuestran características farmacológicas similares a

las del tumor primario de origen. Por ejemplo, las líneas celulares cancerosas que expresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) mutante muestran sensibilidad al tratamiento con erlotinib, similar al tumor del que derivan.^{130,131} A pesar del progreso en la tecnología de detección basada en células, la detección experimental *in vivo* de candidatos a fármacos contra el cáncer a través de docenas de millones de compuestos químicos naturales y sintéticos es bastante costosa y requiere mucho tiempo. Por tal motivo se propusieron diferentes herramientas *in vitro* e *in silico* para reducir el coste de dicho cribado y revelar posibles mecanismos de inhibición del crecimiento y destrucción de células tumorales, tomando en cuenta la importancia de la predicción en bases de datos como CLC-Pred.¹³² CLC-Pred es un servicio web para la predicción *in silico* del efecto citotóxico de compuestos químicos y naturales en líneas celulares cancerosas y no transformadas basado en una fórmula estructural. CLC-Pred proporciona una predicción de la citotoxicidad de un compuesto para evaluar la relevancia de la inclusión de la sustancia en el cribado experimental.

6.1.5.1 Análisis de predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred para los compuestos de tipo pirimidínicos

Debido al interés en el que se enfoca este trabajo resulta de interés complementar estos resultados por las predicciones de CLC-Pred. Estas predicciones nos proporcionan la citotoxicidad de los compuestos en varias líneas celulares cancerígenas; que posteriormente, se pueden evaluar en el cribado experimental. Se presentan los resultados arrojados principalmente en los tejidos de mama debido a que es el enfoque dado, no sin dejar de mencionar que existieron tejidos donde los compuestos presentaban buena probabilidad de actividad como, por ejemplo, en tejido pulmonar, en sangre y cerebro por mencionar algunas. Se comenzó por los compuestos de tipo pirimidínicos los cuales fueron comparados con fármacos de uso clínico como el exemestano y el formestano que son de base esteroidal, Pa representa la probabilidad de "estar activo", y estima la posibilidad de que el compuesto estudiado pertenezca a la subclase de compuestos activos (se asemeja a las estructuras de las moléculas que son las más típicas en un subconjunto de "activos") Mientras que Pi indica la probabilidad "de estar inactivo" y estima la probabilidad de que el

¹³⁰ Gazdar, A.; Girard, L.; Lockwood, W.; Lam, W.; Minna, J. *J Natl Cancer*, **2010**, *102*, 1310-1321.

¹³¹ Settleman, J. *Nat Rev Cancer*, **2010**, *10*, 241-53.

¹³² Lagunin, A.; Dubovskaja, V.; Rudik, A.; Pogodin, P.; Druzhilovskiy, D.; Gloriovova, T., *PLoS ONE*, **2018**, *13*, 1-13.

compuesto estudiado pertenezca a la subclase de compuestos inactivos, que se asemeje a las estructuras de las moléculas que son las más típicas en un subconjunto de "inactivos".

Los resultados de la Tabla 25 indican que, en el tejido de mama, los compuestos de referencia presentan probabilidad de ser activo en carcinomas, con valores que van de 0.376 a 0.520, siendo el mejor valor para el carcinoma de mama, en DU-4475. Para los compuestos propuestos se arrojó un valor máximo de 0.395 siendo el blanco el adenocarcinoma de mama, mostrando mejores resultados para la línea celular MDA-MB-453.

Tabla 25: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroideos 2-3, en comparación con el exemestano y formestano en líneas de células cancerosas en tejido mamario.

Tejido	Blanco	Linea Celular	Compuesto	Pa	Pi	
			Compuestos en uso clínico			
Mama	Carcinoma de mama	DU-4475	Exemestano	0.52	0.019	
			Formestano	0.471	0.049	
		HCC1937	Exemestano	0.386	0.121	
			Formestano	0.404	0.095	
		MCF7	Exemestano	0.324	0.191	
		Carcinoma acantolítico de células escamosas	HCC1806	Exemestano	0.376	0.028
	Adenocarcinoma de mama	Compuestos propuestos de tipo pirimidínico				
		MDA-MB-453	2a	0.392	0.112	
			2b	0.392	0.112	
			3a	0.395	0.107	
			3b	0.395	0.107	
		MDA-MB-231	2a	0.321	0.076	
			2b	0.321	0.076	
3a			0.358	0.063		
3b	0.358		0.063			

6.1.5.2 Análisis de predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred para los compuestos de tipo aminoalcohol

Para los fármacos de referencia, los blancos en tejido de mama resultaron con buenos valores de Pa en el carcinoma de mama; sin embargo, quien presenta mejor probabilidad de actividad resultó ser la daunirubicina con un valor de 0.69 en la línea celular MCF7 seguido del exemestano con un valor de 0.52 en la línea DU-4475. Para los aminoalcoholes, los compuestos que presentaron

valores altos en estos tejidos fueron **6a** y **6b** en el adenocarcinoma de mama en la línea celular MDA-MB-231 (Tabla 26).

Tabla 26: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroideos **6**, en comparación con el exemestano y formestano en líneas de células cancerosas en tejido mamario.

Tejido	Blanco	Línea Celular	Compuesto	Pa	Pi	
Compuestos en uso clínico						
Mama	Carcinoma de mama	DU-4475	Exemestano	0.52	0.019	
			Formestano	0.471	0.049	
		HCC1937	Exemestano	0.386	0.121	
			Formestano	0.404	0.095	
		MCF7	Exemestano	0.324	0.191	
			Daunorrubicina	0.69	0.028	
	Carcinoma acantolítico de células escamosas	HCC1806	Exemestano	0.376	0.028	
	Compuestos propuestos de tipo aminoalcohol					
	Mama	Adenocarcinoma de mama	MDA-MB-231	6a	0.393	0.052
				6b	0.393	0.052
6c				0.36	0.062	
6d				0.466	0.034	
6f				0.344	0.067	
6g				0.341	0.068	
MDA-MB-453			6h	0.368	0.06	
			6i	0.426	0.043	
			6a	0.376	0.145	
			6b	0.376	0.145	
			6d	0.348	0.209	
			6f	0.334	0.239	
			6g	0.375	0.149	
			6h	0.37	0.161	
6i	0.368	0.164				

6.1.5.3 Análisis de predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred para los compuestos de tipo triazol

En los resultados obtenidos para la familia de triazoles, se encontró que la mejor probabilidad de actividad fue para el anastrozol en tejido mamario para el carcinoma inflamatorio de mama con un valor de 0.589, al igual que para el carcinoma ductal de mama con un valor de 0.572. Para los

derivados propuestos se arrojaron valores cercanos a 0.4 lo que indica que son probablemente activos en el adenocarcinoma de mama (Tabla 27).

Tabla 27: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroideos **8** en comparación con el exemestano formestano y anastrozol en líneas de células cancerosas en tejido mamario.

Tejido	Blanco	Linea Celular	Compuesto	Pa	Pi	
Compuestos en uso clínico						
Mama	Carcinoma de mama	DU-4475	Exemestano	0.52	0.019	
			Formestano	0.471	0.049	
		HCC1937	Exemestano	0.386	0.121	
			Formestano	0.404	0.095	
		MCF7	Exemestano	0.324	0.191	
		Carcinoma acantolítico de células escamosas	HCC1806	Exemestano	0.376	0.028
	Carcinoma inflamatorio de mama	SUM149PT	Anastrozol	0.589	0.003	
	Carcinoma ductual de mama	BT-549	Anastrozol	0.572	0.014	
	Compuestos de tipo triazol					
	Adenocarcinoma de mama	MDA-MB-231	8a	0.474	0.033	
8b			0.481	0.031		
8c			0.483	0.031		
8d			0.426	0.043		

6.1.5.4 Análisis de predicciones de citotoxicidad por CLC-Pred para tejidos ováricos y valores de importancia.

Por otra parte, también se ha considerado importante conocer los valores a diferentes tejidos donde intervienen mecanismos relacionados a los estrógenos y hormonas tales como en tejido ovárico, encontrando que dentro de las tres familias de compuestos propuestos, el derivado **6c** es el que arroja un mejor resultado con 0.403 para tejido ovárico en adenocarcinoma de ovario, mientras que para la familia de los triazoles no resultaron valores favorables, pues se obtuvieron valores menores a 0.3 (Tablas 28, 29 y 30).

Tabla 28: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroidales **2-3** en comparación con el exemestano y formestano en líneas de células cancerosas en tejido ovárico.

Tejido	Blanco	Linea Celular	Compuesto	Pa	Pi
			Compuestos en uso clínico		
Ovario	Carcinoma de ovario resistente al cisplatino	A2780cisR	Exemestano	0.606	0.109
			Formestano	0.822	0.024
	Compuestos de tipo pirimidínico				
	Adenocarcinoma de ovario	IGROV-1	2a	0.348	0.048
2b			0.348	0.048	

Tabla 29: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroidales **6** en comparación con el exemestano y formestano en líneas de células cancerosas en tejido ovárico.

Tejido	Blanco	Linea Celular	Compuesto	Pa	Pi
			Compuestos en uso clínico		
Ovario	Carcinoma de ovario resistente al cisplatino	A2780cisR	Exemestano	0.606	0.109
			Formestano	0.822	0.024
	Compuestos de tipo aminoalcohol				
	Carcinoma de ovario	OVCAR-3	6c	0.403	0.031
SK-OV-3			6f	0.328	0.071
6h			0.334	0.068	

Tabla 30: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroidales **8** en comparación con el exemestano, formestano y anastrozol en líneas de células cancerosas en tejido ovárico.

Tejido	Blanco	Linea Celular	Compuesto	Pa	Pi
			Compuestos en uso clínico		
Ovario	Carcinoma de ovario resistente al cisplatino	A2780cisR	Exemestano	0.606	0.109
			Formestano	0.822	0.024
	Adenocarcinoma de Ovario	OVCAR-4	Anastrozol	0.624	0.012
			OVCAR-5	0.611	0.012
Compuestos de tipo triazol			No se presentaron valores Pa mayor a 0.3		

Es importante destacar que en otro tipo de tejidos se arrojaron resultados favorables como se muestra a en la Tabla 31, encontrando valores importantes como 0.504 para el compuesto **6c** en una línea celular cerebral, también observando buenos resultados para el carcinoma de próstata, un tipo de cáncer asociado a estrógenos.

Tabla 31: Predicción del efecto citotóxico de los compuestos esteroideos **2-6**-en comparación con el exemestano formestano, anastrozol y daunorrubicina en líneas de células cancerosas de diferentes tejidos.

Tejido	Blanco	Línea Celular	Compuesto	Pa	Pi
Compuestos en uso clínico					
Ovario	Carcinoma de ovario resistente al cisplatino	A2780cisR	Exemestano	0.606	0.109
			Formestano	0.822	0.024
Colón	Adenocarcinoma colorrectal	COLO-205	Anastrozol	0.704	0.005
Útero	Sarcoma del cuerpo uterino	MES-SA	Daunorrubicina	0.937	0.002
Compuestos pirimidínicos					
Piel	Melanoma	A2058	2a	0.449	0.031
			2b	0.449	0.031
Riñón	Carcinoma renal	SN12C	3a	0.429	0.024
			3b	0.429	0.024
Compuestos Aminoalcohol					
Sangre	Mieloma de células plasmáticas	U-266	6a	0.457	0.015
			6b	0.457	0.015
Cerebro	Glioblastoma	SF-539	6c	0.504	0.012
			6e	0.341	0.072
Próstata	Carcinoma de próstata	PC-3	6f	0.398	0.052
			6g	0.404	0.05
			6h	0.437	0.042

6.1.6 Análisis de datos con el programa SwissTarget

SwissTarget es un sitio web de libre acceso que permite estimar los blancos macromoleculares más probables de una molécula pequeña, asumida como bioactiva. La predicción se basa en una combinación de similitud 2D y 3D con una biblioteca de 370,000 moléculas activas conocidas en más de 3000 proteínas de tres especies diferentes.¹³³

El objetivo de realizar la predicción con el programa Swiss Target es conocer la probabilidad de afinidad de nuestros compuestos con los blancos involucrados a procesos relacionados con estrógenos, teniendo como base las predicciones obtenidas para nuestros fármacos de referencia obteniendo como resultados arrojados los presentados en la Tabla 32 y 33.

¹³³ Swiss Institute of Bioinformatics SwissTargetPrediction, <http://swisstargetprediction.ch/>. Consultada el 15 marzo de 2024

Tabla 32: Predicción de dianas terapéuticas obtenidas por Swiss Target Prediction del exemestano.

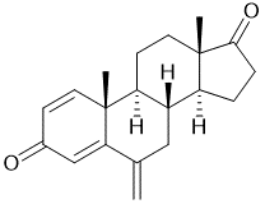
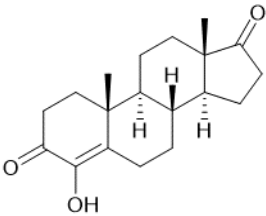
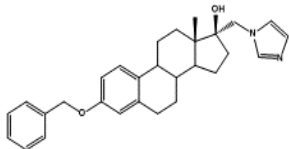
Compuesto	Blanco/Target
Exemestano 	Citocromo P450 19A1
	Proteína fijadora de andrógenos específica de los testículos
	Esteroides 5-alfa-reductasa 1
	Esteroides 5-alfa-reductasa 2
	Receptor de andrógenos
	Globulina fijadora de corticosteroides
	Estradiol 17 beta-deshidrogenasa 3
	Citocromo P450 17A1
	Receptor de mineralocorticoides
	Receptor de glucocorticoides
	Receptor de progesterona
	Proteína fijadora de ácidos grasos, hígado (por homología)
Receptor beta de estrógeno	

Tabla 33: Predicción de dianas terapéuticas obtenidas por Swiss Target Prediction del formestano.

Compuesto	Blanco/Target
	Citocromo P450 19A1
	Proteína fijadora de andrógenos específica de los testículos
	Receptor de andrógenos (por homología)
	Receptor de glucocorticoides
	Receptor de progesterona
	Receptor opioide sigma
	Receptor beta de estrógeno
	Citocromo P450 17A1
	Globulina fijadora de corticosteroides
	11-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa 1
	11-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa 2

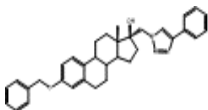
Los compuestos que obtuvieron mejores resultados como inhibidores de la aromatasa se presentan los siguientes resultados (Tabla 34).

Tabla 34: Predicción de dianas terapéuticas obtenidas por Swiss Target Prediction del compuesto **6c**.

Compuesto 6c	Blanco/Target
	Esteril-sulfatasa
	11-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa 2
	Receptor de andrógenos
	Receptor de glucocorticoides
	Anhidrasa carbónica XII, XIV
	Receptor de estrógeno alfa

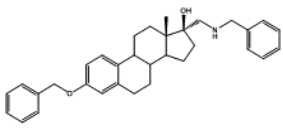
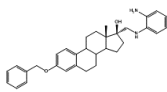
Mientras que para el compuesto **8a** se encontró en su predicción solo hay probabilidad de unión a la proteína Tirosina fosfatasa 1B (Tabla 35).

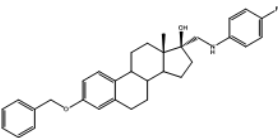
Tabla 35: Predicción de dianas terapéuticas obtenidas por Swiss Target Prediction del compuesto **8a**.

Compuesto 8a	Blanco/Target
	Proteína-tirosina fosfatasa 1B

Se tomaron en consideración compuestos tales como **6d**, **6f** y **6h** debido a que en las predicciones por PASS Online tuvieron un valor moderado en comparación con el resto de los compuestos propuestos, pero se observa que los blancos varían ampliamente sin la selectividad de blancos referentes a procesos estrogénicos como se aprecia en la Tabla 36.

Tabla 36: Predicción de dianas terapéuticas obtenidas por Swiss Target Prediction de los compuestos **6d**, **6f**, **6h**.

Compuesto	Blanco/Target
6d 	acetilcolinesterasa
	Receptor adrenérgico alfa-2
	Glucocorticoide receptor
	Receptor de estrógeno alfa
	Proteína de unión de andrógenos Específico de testículo
	Receptor opioide sigma
6f 	Histona desacetilasa 3
	Receptor de estrógeno alfa
	Gamma-secretasa

<p>6h</p> 	Acetilcolinesterasa
	Proteína-tirosina de células T fosfatasa
	Acetilcolinesterasa
	Receptor de serotonina 5-HT2A
	Receptor de Vasopresina V1A
	Receptor Kappa Opiode

7.1 Docking molecular

Con el fin de conocer las posibles interacciones que podrían existir entre los compuestos propuestos y el posible receptor elegido, se realizó un análisis de energías de enlace que existen entre el ligando y receptor, haciendo mención que la herramienta de acoplamiento molecular se le conoce como una técnica computacional utilizada para el desarrollo de nuevos fármacos.

Se seleccionó como receptor a la aromatasa y para los ligandos, se seleccionaron a aquellos compuestos que en PASS Online presentaron resultados probablemente favorables, tomando en consideración a aquellos que tienen un valor de Pa mayor a 0.2 que, aunque son resultados bajos, no predicen mala actividad, si no que en la base de datos no se cuentan estructuras parecidas, además también se consideraron aquellos compuestos que fueron posible sintetizar. La validación del modelo de la enzima de la aromatasa se llevó a cabo mediante la unión de la androstenediona (ASD) como el ligando cristalográfico y a su vez con la testosterona (TST) utilizando el pocket propio de la aromatasa, obteniendo un valor de RMSD de 0.527 y una energía de unión de -7.4566 Kcal/mol para la androstenediona. En el caso de la TST se obtuvo un valor de RMSD 0.669 y una energía de unión de -7.63387 Kcal/mol. Se observó que la estructura compleja de la ASD, está rodeada desde su cara a por grandes cadenas laterales hidrofóbicas W224, F221, F134, I133, V370 y M374 que moldean la hendidura del sitio activo, por su parte la TST se une con su oxígeno 17 β -hidroxilo recibiendo un enlace de hidrógeno (2,7 Å) de la amida principal -NH de M374. El protón 17 β -hidroxilo posiblemente se orienta hacia el oxígeno del carbonilo principal de M374, lo que constituiría un enlace de hidrógeno largo.

La superposición de las estructuras cristalinas de los complejos ASD y TST sugiere que las estructuras son idénticas dentro de los límites de los errores consideradas para cada una. Tales interacciones indican que son la base molecular de la especificidad a inhibidores de la aromatasa.¹³⁴ (Figura 63 y 64)

¹³⁴ Ghosh, D.; Egbuta, C.; Lo, J. J. *Steroid Biochem Mol. Biol*, **2018**, *181*, 11-19.

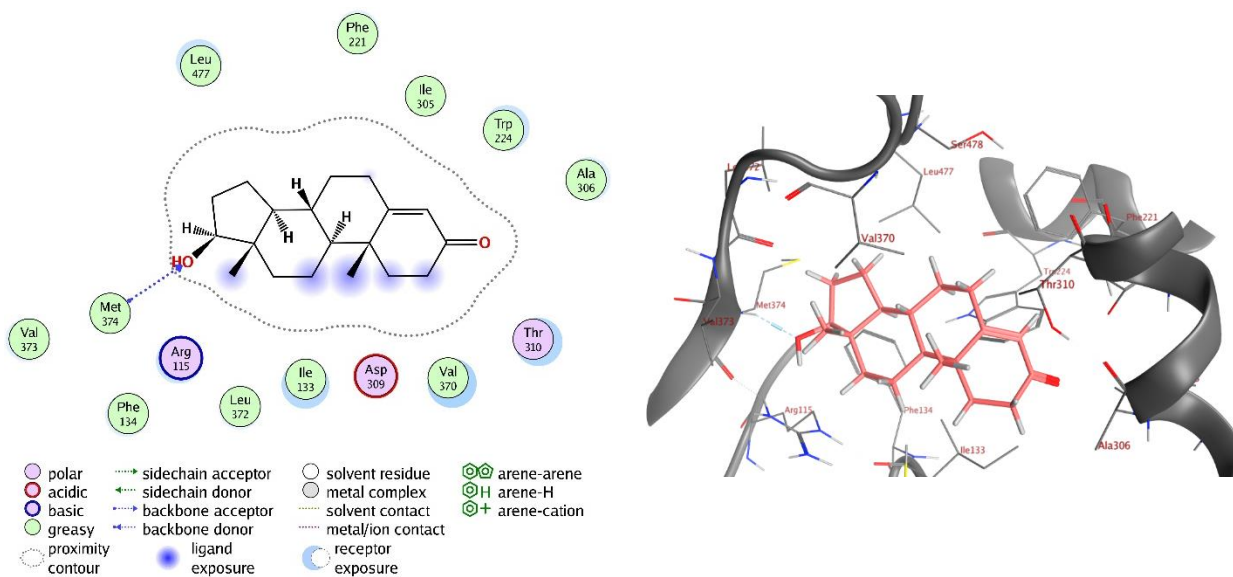


Figura 63. Representación del modelo de validación en 2D y 3D de la testosterona en interacción con la aromatasa (**5JL6**).

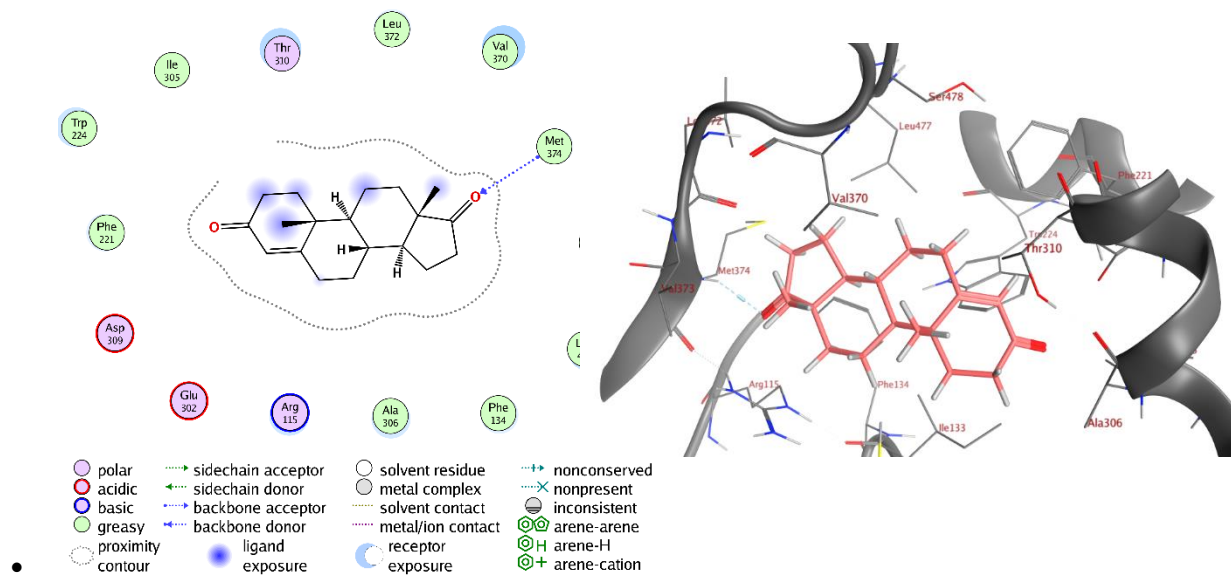


Figura 64. Representación del modelo de validación en 2D y 3D de la androstenediona en interacción con la aromatasa (**5JL6**).

Los compuestos con resultados favorables para la probabilidad de inhibición de la aromatasa resultaron ser, para la familia de los aminoalcoholes, el compuesto **6c**, mientras que, para la familia de los triazoles, el compuesto **8a**. Para determinar el modelo de unión de los compuestos mencionados así como de **6a-6h** y **8b** se sometieron al modelo de acoplamiento *in silico* con ayuda del programa MOE, dicho programa permite la realización del *docking* molecular, y arroja

de acuerdo con los datos que se necesiten, un número de poses de unión de cada uno de los compuestos seleccionados y el receptor, realizando así un cribado de los resultados obtenidos para seleccionar aquellas poses cuyo valor de unión de energía y RMSD sean favorables, de esta manera eligiendo la pose con mejores valores. Se debe destacar que de acuerdo con la literatura revisada se esperaba que los anillos aromáticos para actuaran como aceptores de enlaces de hidrógeno, ya que son interacciones fundamentales entre proteína-ligando de acuerdo con datos experimentales y teóricos.¹³⁵ Para el compuesto **6c** se observó que se forma una interacción del tipo H-areno con el aminoácido Val373 mientras que con el aminoácido Met374 se forma una interacción de tipo hidrofílica, debido a las interacciones de enlaces de hidrógeno. Se debe mencionar que dicho residuo es clave para el reconocimiento del ligando para llevar a cabo su actividad de tipo inhibitoria. (Figura 65)

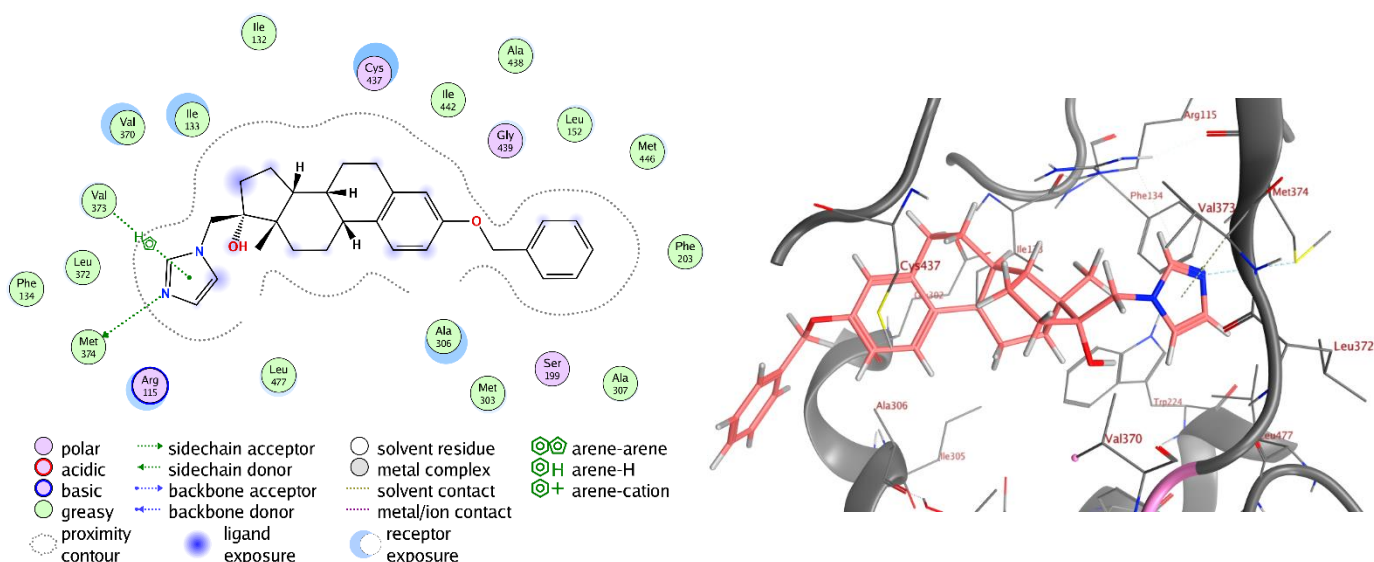


Figura 65. Representación 2D y 3D del compuesto **6c** en interacción con la estructura cristalina de la aromatasa (**5JL6**) generada con el programa MOE.

Para el compuesto **8a**, se observaron buenas e importantes interacciones con los restos de aminoácidos, iniciando con la más importante Met374, se observó una interacción hidrofoba con el protón 17 β -hidroxilo, de igual manera se observó una interacción del tipo H-areno con el triazol del derivado, y finalmente una interacción por puente H con Leu372. (Figura 66)

¹³⁵ Egli, M. and Sarkhel, S, *Acc. Chem. Res.*, **2006**, *40*, 197-205.

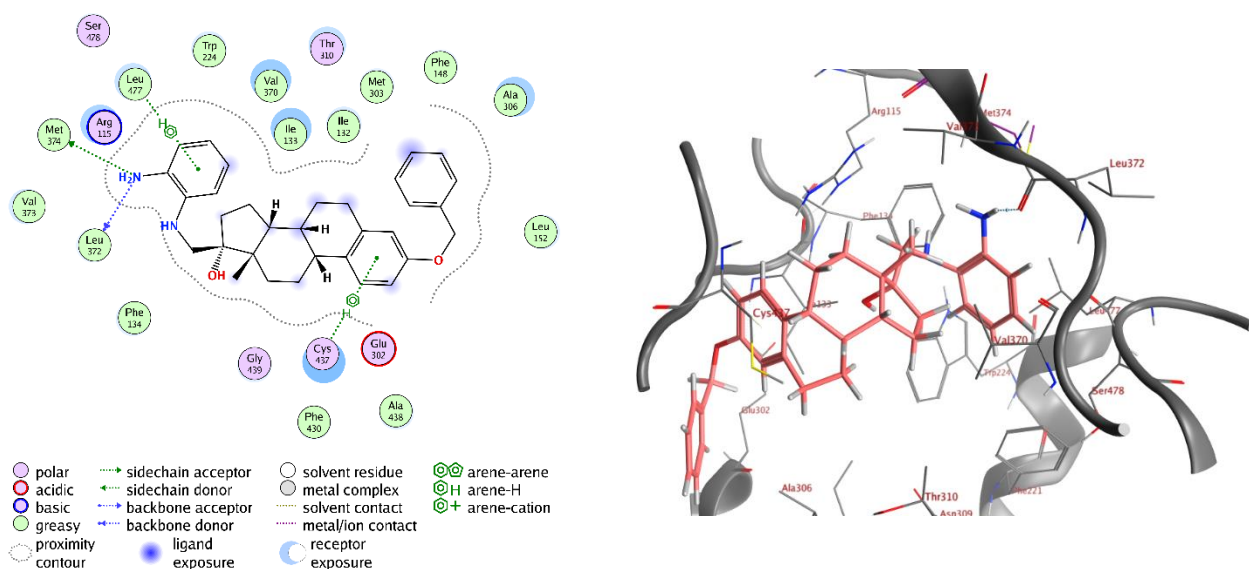


Figura 69. Interacciones en 2D y 3D del compuesto **6f** interaccionando con la estructura cristalina de la aromatasa (**5JL6**) generada con el programa MOE.

Finalmente, para el compuesto **6g** se observaron interacciones con el anillo unido a la nueva amina, de tipo H-areno con Met374 y Val 373. (Figura 70)

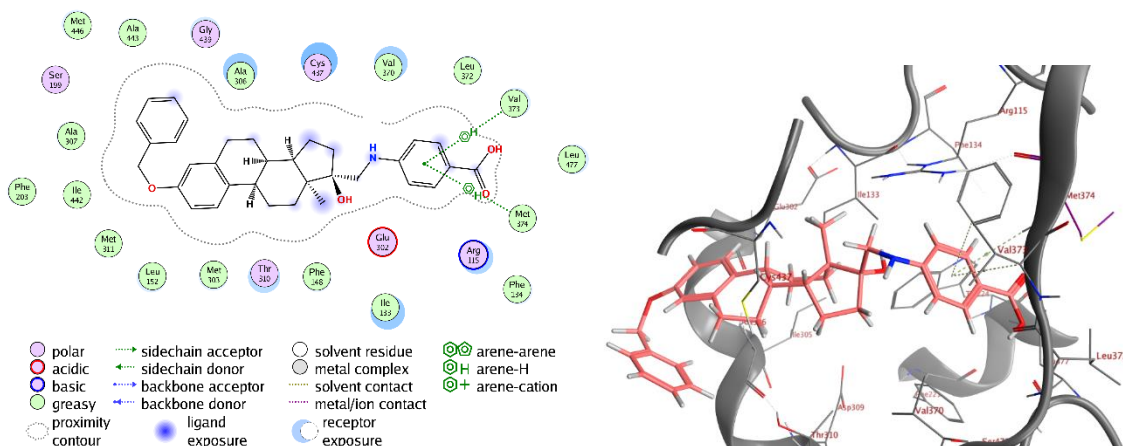
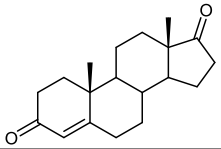
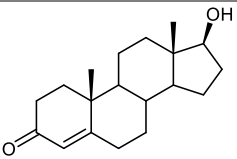
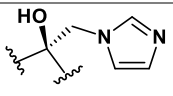
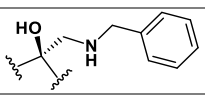
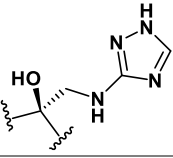
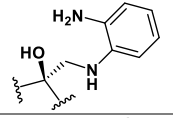
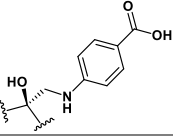
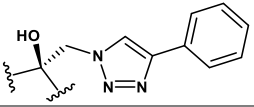


Figura 70. Representación 2D y 3D del compuesto **6g** en interacción con la estructura cristalina de la aromatasa (**5JL6**) generada con el programa MOE.

De las interacciones observadas, Met374 juega un papel importante para la actividad inhibitoria, sin esta interacción, a pesar de encontrar poses con una buena energía, la acción inhibitoria no daría se daría lugar. Cada uno de los compuestos presenta dicha interacción con la modificación realizada a la estrona exceptuando el compuesto **6d**, cual presenta esta interacción en el anillo

del grupo protector en C-3. Las energías de acoplamiento son valores dados para cada compuesto, energías que predicen qué tan favorable es la interacción entre la enzima y el ligando. Por lo tanto, valores menores de acoplamiento (menor energía) indican una mejor afinidad, los resultados arrojaron que para **6c** se tiene el valor más favorable seguido por el compuesto **6e** como se observa en la Tabla 37.

Tabla 37: Energías de acoplamiento proteína-ligando dados por MOE.

Ligando	Sustituyente	Energías de acoplamiento
ASD		-7.4566
TST		-7.6338
6c		-9.1277
6d		-8.24792
6e		-9.0106
6f		-8.3184
6g		-8.2359
8a		-7.3539

Los valores obtenidos sugieren que **6c** y **6f** presentan las mejores energías de acoplamiento y por lo tanto presentan potencial como inhibidores de la aromatasa.

CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo la síntesis de una nueva familia de derivados esteroidales de tipo aminoalcohol, a partir de estrona, con buenos y moderados rendimientos.
- Se llevó a cabo la síntesis de nuevos derivados esteroidales de tipo triazol, a partir de estrona, mediante la cicloadición azida-alquino catalizada por CuI (CuAAC) con rendimientos moderadamente buenos.
- Cada uno de los compuestos sintetizados fueron caracterizados con ayuda de métodos espectroscópicos y físicos como RMN, IR, punto de fusión y rotación óptica, siendo de ayuda para corroborar las estructuras obtenidas.
- Los valores farmacocinéticos obtenidos por Molinspiration arrojaron que ninguno de los compuestos propuestos sufre más de dos violaciones, resultados prometedores para su síntesis.
- El programa SwissADME arroja resultados favorables de biodisponibilidad para los compuestos propuestos, haciendo énfasis que los valores obtenidos para los derivados **8a** y **8d** se asemejan más a la daunorrubicina.
- De acuerdo con los datos obtenidos se estima que los compuestos obtenidos tienen probable actividad biológica.
- Por medio de programas de libre acceso como PassOnline se predijo que los compuestos propuestos **6c** y **8a** presentan alta probabilidad de actividad inhibitoria de la aromatasa, Compuestos con tal actividad como el exemestano y formestano son utilizados para el tratamiento del cáncer de mama.
- Mediante el programa CLC-Pred se predijo la selectividad *in silico* de los compuestos sintetizados en líneas celulares cancerígenas de mama resultando mayormente favorables

para la familia de los triazoles, de manera que también resultan moléculas bioactivas anticancerígenas para tejido ovárico y con resultados favorables para útero y próstata.

- Los estudios de acoplamiento molecular, *docking*, con la proteína elegida PDB **5JL6** con los derivados elegidos por PASSOnline como ligandos, arrojaron resultados prometedores debido a sus interacciones precisas con el residuo clave Met374, cual se asocia a la actividad inhibitoria de la aromatasa.
- Los estudios de *docking* con los compuestos que presentan valores Pa> en la actividad inhibitoria de la aromatasa arrojan interacciones importantes en el acoplamiento, no descartando su potencial actividad inhibitoria.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Equipo y técnicas utilizadas para la síntesis

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.

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.

Espectroscopía Infrarrojo

Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos utilizando un espectrómetro de Reflectancia Total Atenuada (ATR), modelo ALPHA II Platinum, marca Bruker. Los espectros fueron medidos (32 scans/muestra) en el rango de 4000-400 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} ubicado en el Laboratorio de Química de Coordinación y Organometálica del Centro de Química del Instituto de Química de la BUAP.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN se registraron en un instrumento Bruker Ascend y Bruker Avance-500 (500.13 MHz para los espectros de ^1H y 125.77 MHz para los espectros de ^{13}C). Los desplazamientos químicos se reportan en ppm (δ) y los espectros fueron referenciados de acuerdo con los valores de las señales residuales de cada disolvente. Los valores de las constantes de

acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz). Las señales ^1H y ^{13}C se asignaron utilizando experimentos de RMN 1D y 2D (COSY, HSQC y HMBC).

Rotación óptica y puntos de fusión

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Autopol III serie #35598, empleando cloroformo y metanol grado analítico según la muestra. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo de punto de fusión PRENDO FP-420 y no fueron corregidos.

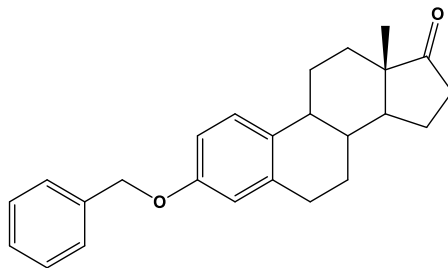
Técnicas utilizadas para el *docking* molecular

La estructura cristalina de la enzima aromatasas fue obtenida de la página de libre acceso Protein Data Bank (<https://rcsb.org/>) mediante el código **5JL6** con su ligando cocrystalizado Androstenediona a una resolución de 3.0 Å realizando el ensayo de acoplamiento molecular con el software Molecular Operating Environment (<https://chemcomp.com/MOE v2020.0901>).

Para la preparación de la proteína, inicialmente, se eliminan las moléculas que no juegan un papel importante en las interacciones químicas como el H_2O y el grupo Hemo, Posteriormente se selecciona la cadena proteica de mayor calidad siendo la cadena A. Los átomos de hidrógeno, las cargas y la minimización de energía se ajustaron a un campo de fuerza AMBER10:EHT Y R-fiel de solvatación. Para la preparación de los ligandos se realizaron las estructuras 2D de cada derivado en el software ChemDraw Professional ver.16.0 para Windows. La ionización y minimización de energía necesarias para llevar a cabo las interacciones a manera de que arrojen valores precisos, se llevaron a cabo con el campo de fuerza AMBER10:EHT.

Se utilizó el método Triangle Matcher para la elección de la mejor pose, calculándose las puntuaciones con la función London dG. El sitio de unión es determinado utilizando el ligando cristalográfico. Se generaron 100 repeticiones con 100 poses para la unión del ligando cristalográfico con la diana molecular. Los parámetros utilizados para seleccionar la mejor pose obtenida fueron: selección de las interacciones más importantes incluyendo aquellas donde se encuentran los aminoácidos implicados en la actividad inhibitoria de la enzima, que posea la menor energía de unión (ΔG), y que se superponga con el ligando cristalográfico.

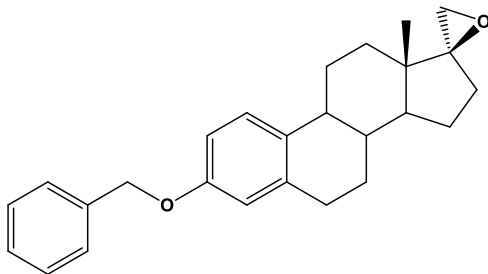
3-*O*-bencilestrona (**2**)



En un matraz de fondo redondo se disuelve estrona (0.5 g, 1.84 mmol) en CH₃CN anhidro (15 mL) se le añadió BnBr (0.38 g, 2.25 mmol) y K₂CO₃ (0.38 g, 2.75 mmol) bajo atmosfera de argón. La mezcla se agitó a reflujo durante 8 horas. El producto se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. La cromatografía en columna (20:1 Hexano-AcOEt) permitió obtener el compuesto **2** como un sólido blanco, con rendimiento cuantitativo. Los datos obtenidos fueron comparados con la literatura.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7.45 – 7.37 (m, 4H, Ar-Hm), 7.34 – 7.31 (m, 1H, Ar-Hp), 7.20 (d, 1H, *J*_{1,2}=8.5 Hz, H-1), 6.80 (dd, 1H, *J*_{2,1}=8.5 Hz, *J*_{2,4}=2.8 Hz, H-2), 6.70 (d, 1H, *J*_{2,4}=2.8 Hz, H-4), 5.04(s, 2H, CH₂Ph), 2.90 (m, 2H, H-6), 2.50 (m, 1H, H-16a), 2.15 (m, 1H, H-16b), 1.26 (m, 1H, H-7b), 0.92 (s, 3H, H-18) ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 221.22 (C-Carbonilo), 156.95 (C-3), 137.92 (C-5), 137.32 (Ar-Cipso), 132.41 (C-10), 128.68 (x2) (Ar-Cm), 128.01(Ar-Cp), 127.57 (x2) (Ar-Co), 126.49 (C-1), 114.97 (C-4), 112.46 (C-2), 70.03 (CH₂Ph), 50.48 (14) 44.08 (C-13), 38.43(C-8), 36.00 (C-12), 31.66 (C-6), 29.78(16), 26.65 (C-7), 26.01 (C-11), 21.70 (C-15), 13.96 (C-18).

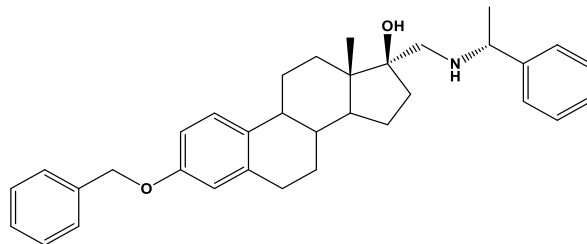
(17*S*)-espiro[3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17,2'-oxirano] (**3**)



En un matraz de fondo redondo se disuelve **2** (0.69 g, 1.91 mmol) en DMF anhidro (16 mL) bajo atmósfera de argón, se añadieron SMe_3I (0.63 g, 3.09 mmol) y *t*BuOK (0.47 g, 4.24 mmol). La reacción se agitó a 0 °C por 10 min y posteriormente se colocó a temperatura ambiente por 45 min. Después de este tiempo se añadió agua fría y el producto se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna (19:1 hexano-AcOEt) para obtener el compuesto **3** en forma de cristales blancos con un 98% de rendimiento. Los datos obtenidos fueron comparados con la literatura.

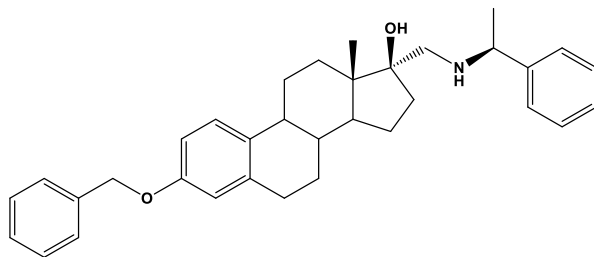
RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (m, 2H, Ar-Ho), 7.39 (m, 2H, Ar-Hm), 7.34 (m, 1H, Ar-Hp), 7.21 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz, H-1), 6.80 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8.5$ Hz, $J_{2,4} = 2.7$ Hz, H-2), 6.74 (d, 1H, $J_{4,2} = 2.7$ Hz, H-4), 5.05 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 2.98 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 5.1$ Hz, CH_{2a} oxirano), 2.89 (m, 2H, H-6), 2.66 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 5.1$ Hz, CH_{2b} oxirano), 2.31 (m, 1H, H-11a), 2.24 (m, 1H, H-9), 2.05 (m, 1H, H-16a), 1.96 (m, 1H, H-7a), 1.88 (m, 1H, H-16b), 1.84 (m, 1H, H-15a), 1.55 (m, 1H, H-12a), 1.53 (m, 1H, H-8), 1.52 (m, 1H, H-15b), 1.52 (m, 1H, H-14), 1.45 (m, 1H, H-11b), 1.38 (m, 1H, H-7b), 1.28 (m, 1H, H-12b), 0.94 (s, 3H, H-18). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) δ 156.88 (C-3), 138.09 (C-5), 137.39 (Ar-Cipso), 132.82 (C-10), 128.67 (x2) (Ar-Cm), 127.98 (Ar-Cp), 127.57 (x2) (Ar-Co), 126.43 (C-1), 114.94 (C-4), 112.40 (C-2), 70.67 (C-17), 70.05 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 53.80 ($\text{CH}_2\text{-Oxirano}$), 51.92 (C-14), 44.00 (C-9), 40.53 (C-13), 39.00 (C-8), 34.04 (C-12), 29.89 (C-6), 29.20 (C-16), 27.27 (C-7), 26.13 (C-11), 23.40 (C-15), 14.46 (C-18)

17 α -(*N*-feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6a)



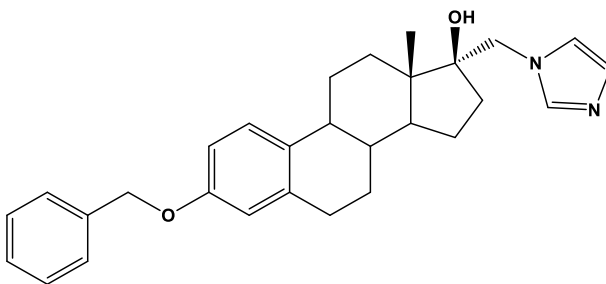
En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.15 g, 0.41 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió (*R*)-(+)- α -metilbencilamina (0.16 mL, 1.24 mmol) a reflujo en agitación por 28 horas. Terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3 \times 15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3 \times 20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.5 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6a** como un aceite amarillo pálido, con un rendimiento del 25.26%. $[\alpha]_D^{25} = +16.20$ (c.1.0, CHCl₃) IR (cm⁻¹) = 3029 (C-Ar), 2096 (CH-sp³), 1606 (-NH), 1249 (C-O) ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (m, 2H, Ar-Hm), 7.38 (m, 2H, Ar-Ho), 7.34 (m, 2H, Ar-m $\hat{}$), 7.31 (m, 1H, Ar-p), 7.28 (m, 2H, Ar $\hat{}$ -Ho $\hat{}$), 7.26 – 7.23 (m, 1H-Ar $\hat{}$ -Hp $\hat{}$), 7.17 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.76 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8.6$, $J_{2,4} = 2.5$ Hz, H-2), 6.70 (d, 1H, $J_{4,2} = 2.3$ Hz, H-4), 5.01 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.76 (m, 1H, H-20), 2.89 – 2.82 (m, 1H, H-6a), 2.76 (d, $J_{gem} = 12.2$ Hz, 1H, CH_{2a}-NH), 2.37 (d, $J_{gem} = 12.2$ Hz, 1H, CH_{2b}-NH), 2.29 – 2.21 (m, 1H, H-11a), 2.09 (m, 1H, H-9), 1.87 (m, 1H, H-16a), 1.86 – 1.81 (m, 1H, H-7a), 1.68 (m, 1H, H-16b), 1.65 (m, 1H, H-12a), 1.59 (m, 1H, H-15a), 1.54 – 1.48 (m, 1H, H-11b), 1.47 (m, 1H, H-8), 1.38 (d, 3H, H-21), 1.36 – 1.17 (m, 5H, H-15b, H-14, H-7b, H-6b, H-12b), 0.89 (s, 3H, H-18). ¹³CRMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.83 (C-3), 145.53 (Ar $\hat{}$ -Cipso $\hat{}$) 138.15 (C-5), 137.42 (Ar-Cipso), 132.97 (C-10), 128.75 (x2) (Ar-Cm), 128.66 (x2) (Ar $\hat{}$ -Cm $\hat{}$), 127.96 (Ar-Cp), 127.57 (x2) (Ar-Co), 127.18 (Ar $\hat{}$ -Cp $\hat{}$), 126.40 (x2) (Ar $\hat{}$ -Co $\hat{}$), 126.38 (C-1), 114.89 (C-4), 112.35 (C-2), 81.29 (C-17), 70.04 (CH₂-Ph), 59.19 (C-20), 54.20 (C-19), 49.93 (C-14), 45.99 (C-13), 43.85 (C-9), 39.43 (C-8), 35.92 (C-16), 33.08 (C-12), 29.93 (C-6), 27.53 (C-7), 26.34 (C-11), 24.49 (C-21), 23.31 (C-15), 14.41 (C-18).

17 α -(*N*-feniletil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6b)



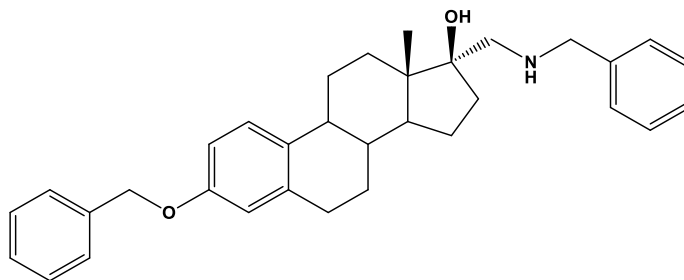
En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.15 g, 0.41 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió (*S*)-(-)- α -metilbencilamina (0.16 mL, 1.24 mmol) a reflujo en agitación por 28 horas. Terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3 \times 15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3 \times 20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6b** como un compuesto aceite amarillo pálido con un rendimiento del 36%. $[\alpha]_D^{25} = -6.40$ (c.1.0, CHCl₃) IR(cm⁻¹) = 3029 (C-Ar), 2096 (CH-sp³), 1606 (-NH), 1249 (C-O) ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (m, 2H, Ar-Hm), 7.37 (m, 2H, Ar-Ho), 7.34 (m, 2H, Ar'-Hm'), 7.31 (m, 2H, Ar'-Ho'), 7.29 (m, 1H, Ar'p'), 7.26 (m, 1H, Ar'-Hp'), 7.17 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.75 (dd, 1H, $J_{2,1} = 9.2$ Hz, H-2), 6.70 (s, 1H, H-4), 5.01 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.82 – 3.73 (m, 1H, H-20), 2.84 (m, 1H, H-6a), 2.77 (d, $J_{gem} = 9.2$ Hz, 1H, CH_{2a}-NH), 2.37 (d, $J_{gem} = 26.7, 10.9$ Hz, 1H, CH_{2b}-NH), 2.33 – 2.21 (m, 1H, H-11), 2.19 – 2.02 (m, 1H, H-9), 1.83 (m, 1H, H-16a), 1.79 – 1.74 (m, 1H, H-7a), 1.69 (m, 1H, H-12a), 1.60 – 1.53 (m, 1H, H-12b), 1.53 – 1.43 (m, 1H, H-15a), 1.47 (m, 1H, H-8), 1.38 (d 3H, H-21), 1.35 – 1.25 (m, 5H, H-15b, H-14, H-7b, H-16b, H-6b), 0.90 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.79 (C-3), 145.26 (Ar'-Cipso'), 138.11 (C-5), 137.38 (Ar-Cips), 132.97 (C-10), 128.69 (x2) (Ar-Cm), 128.63 (x2) (Ar'-Cm'), 127.93 (x2) (Ar-Cp), 127.54 (x2) (Ar-Co), 127.18 (x2) (Ar-Cp'), 126.58 (Ar'-Co'), 126.36 (C-1), 114.84 (C-4), 112.30 (C-2), 81.43 (C-17), 69.99 (CH₂-Ph), 58.75 (C-20), 53.75 (C-19), 49.81 (C-14), 45.90 (C-13), 43.76 (C-9), 39.41 (C-8), 35.63 (C-16), 32.69 (C-12), 29.91 (C-6), 27.48 (C-7), 26.34 (C-11), 24.41 (C-21), 23.36 (C-15), 14.40 (C-18).

17 α -imidazolmetil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6c)



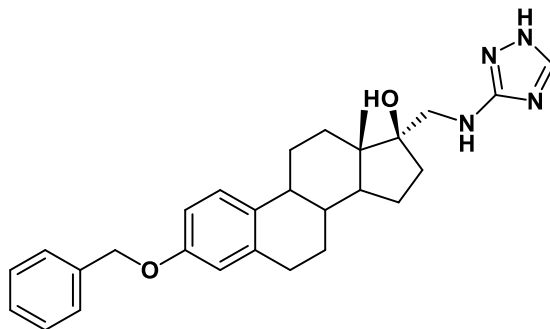
En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.13 g, 0.36 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió imidazol (0.15 g, 2.16 mmol) a reflujo en agitación por 36 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6c** como un compuesto sólido blanco, con un rendimiento del 88% [α]_D²⁵ = +46.18 (c.1.0, CHCl₃) p.f= 185° IR(cm⁻¹) = 3031 (C-Ar), 2925 (CH-sp³), 1280 (-NH), 1231 (C-O). ¹H RMN(500 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (s, 1H, H-5'), 7.40 (m, 2H, Ar-Hm), 7.35 (m, 2H, Ar-Ho), 7.29 (m, 1H, Ar-Hp), 7.19 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.6 Hz, H-1), 7.07 (s, 1H, H-2'), 6.93 (s, 1H, H-3'), 6.76 (d, 1H, *J*_{2,1} = 10.6 Hz, H-2), 6.72 (s, 1H, H-4), 4.99 (s, 2H, CH₂-Ph), 4.13 (d, 1H, *J*_{gem} = 13.7 Hz, CH_{2a}-N), 3.87 (d, 1H, *J*_{gem} = 13.9 Hz, CH_{2b}-N), 3.02 (m, 1H, H-9), 2.84 (d, 2H, H-6), 2.31 (d, 1H, H-11a), 1.86 (m, 2H, H-7a, H-11b), 1.63 (m, 1H, H-7b), 1.51 (d, 2H, H-12a, H-14), 1.44 (s, 3H, H-12b), 1.29 (m, 2H, H-16b), 0.97 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.59 (C-3), 138.43 (C-5'), 137.83 (C-5), 137.07 (Ar-Cipso), 132.48 (C-10), 128.43 (x2) (Ar-C-m), 127.75 (Ar-Cp), 127.33 (x2) (Ar-Co), 127.08 (C-3'), 126.21 (C-1), 121.37 (C-2'), 114.62 (C-4), 112.15 (C-2), 82.44 (C-17), 69.73 (CH₂-Ph), 53.56 (C-19), 49.95 (C-14), 45.70 (C-9), 43.67 (C-13), 39.44 (C-8), 31.88 (C-12), 31.01 (C-6), 29.66 (C-16), 27.37 (C-7), 26.04 (C-11), 23.09 (C-15), 14.40 (C-18).

17 α -(bencilamino)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (**6d**)



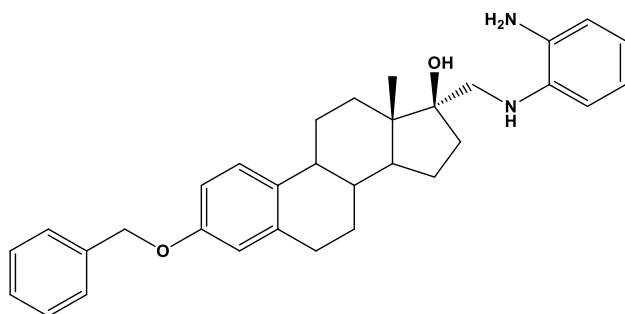
En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.13 g, 0.36 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió bencilamina (0.16 mL, 1.44 mmol) a reflujo en agitación por 32 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6d** como un compuesto sólido amarillo con un rendimiento del 73%. $[\alpha]_D^{25} = +0.90$ (c.1.0, CHCl₃) $p.f. = 110^\circ$ IR (cm⁻¹) = 3288 (-NH), 3063 (C-Ar), 2999 (CH-sp³), 1611 (-NH), 1277 (C-O). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (m, 2H, Ar-Ho), 7.37 (m, 2H, Ar-Hm), 7.36 – 7.34 (m, 2H, Ar-Hm'), 7.33 (m, 2H, Ar-Ho'), 7.30 (m, 1H, Ar-Hp), 7.29 – 7.26 (m, 1H, Ar-Hp'), 7.18 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.77 (d, 1H, $J_{2,1} = 8.5$ Hz, H-2), 6.71 (s, 1H, H-4), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.85 (s, 2H, CH₂-Ph-21), 2.94 (d, $J_{gem} = 12.0$ Hz, 1H, CH_{2a}-N), 2.88 – 2.78 (m, 2H, H-6), 2.56 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, CH_{2b}-N), 2.30 – 2.22 (m, 1H, H-11a), 2.15 (d, 1H, H-9), 1.85 (m, 2H, H-7a, H-16a), 1.78 – 1.68 (m, 2H, H-16b, H-15a), 1.65 – 1.59 (m, 1H, 12a), 1.56 – 1.48 (m, 2H, H-8, H-15b), 1.49 – 1.43 (m, 1H, H-14), 1.35 (m, 2H, H-11b, H-7b), 1.29 – 1.24 (m, 1H, H-12b), 0.93 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.58 (C-3), 139.90 (Ar-Cipso'), 137.90 (C-5), 137.15 Ar-(Cipso), 132.71 (C-6), 128.41 (x2) (Ar-Cm), 127.94 (x2) (Ar-Co'), 127.72 (x2) (Ar-Cm'), 127.32 (C-p), 127.06 (x2) (Ar-Co), 127.05 (Ar-Cp'), 126.15 (C-1), 114.63 (C-4), 112.10 (C-2), 81.33 (C-17), 69.79 (CH₂-Ph), 55.39 (C-19), 54.44 (C-21), 49.73 (C-13), 45.70 (C-14), 43.63 (C-9), 39.19 (C-8), 35.49 (C-16), 32.66 (C-6), 29.69 (C-12), 27.30 (C-7), 26.11 (C-11), 23.14 (C-15), 14.15 (C-18).

17 α -(1,2,4-triazol-3-il)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6e)



En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.15 g, 0.36 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió 3-amino-1,2,4-triazol en exceso a reflujo en agitación por 36 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L), cambiando al sistema (10: 0.1 CH₂Cl₂-MeOH x1L) finalmente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6e** como un compuesto sólido blanco con un rendimiento de 32%. $[\alpha]_D^{25} = +13.80$ (c.1.0, MeOH) IR(cm⁻¹) = 3400 (-NH), 2923 (CH-sp³), 1608 (C-N), 1232 (C-O) ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (s, 1H, H-5'), 7.42 (m, 2H, Ar-Ho), 7.37 (m, 2H, Ar-Hm), 7.31 (m, 1H, Ar-Hp), 7.19 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.78 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8.5$, $J_{2,4} = 2.3$ Hz, H-2), 6.72 (d, 1H, $J_{4,2} = 1.9$ Hz, H-4), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 4.09 (m, 1H, $J_{gem} = 24.5$, 10.6 Hz, CH_{2a}-NH), 3.98 (m, 1H, $J_{gem} = 13.9$, 8.6 Hz, CH_{2b}-NH), 2.90 – 2.81 (m, 2H, H-12), 2.30 (m, 2H, H-9, H-11a), 1.92 – 1.87 (m, 1H, H-7a), 1.79 (m, 1H, H-6a), 1.73 – 1.65 (m, 2H, H-16a, H-15a), 1.60 – 1.48 (m, 4H, H-14, H-8, H-16b, H-11b), 1.41 (m, 3H, H-6b, H-15b), 1.34 – 1.22 (m, 1H, H-7b), 0.98 – 0.93 (m, 3H, H-18). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 163.07 (C-3'), 156.85 (C-3), 143.74 (C-5'), 138.02 (C-5), 137.30 (Ar-Cipso), 132.53 (C-10), 128.61 (x2) (Ar-Cm), 127.94 (Ar-Cp), 127.51 (x2)(Ar-Co), 126.34 (C-1), 114.89 (C-4), 112.38 (C-2), 82.73 (C-17), 69.98 (CH₂-Ph), 55.63 (C-19), 50.09 (C-14), 46.42 (C-13), 43.91 (C-9), 39.44 (C-8), 33.23 (C-16), 31.41(C-6), 29.81 (C-12), 27.54 (C-7), 26.15 (C-11), 23.48 (C-15), 14.18 (C-18).

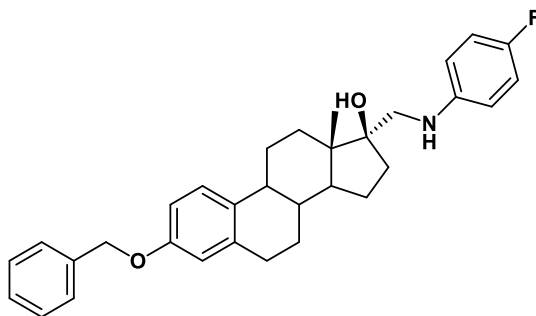
17 α -(2-aminofenil)aminometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6f)



En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.13 g, 0.36 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió *O*-fenilenediamina (0.24 g, 2.16 mmol) a reflujo en agitación por 36 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente la materia prima sin reaccionar con un sistema (19:1 Hexano-AcOEt) posteriormente cambiando a un sistema (1:1 Hex-AcOEt) para obtener el compuesto **6d** como un compuesto sólido café con un rendimiento de 53% $[\alpha]_D^{25} = -11.79$ (c.1.0, CHCl₃) $p.f. = 208^\circ$ IR (cm⁻¹) = 3501-3358 (-NH), 2921 (CH-sp³), 1250 (C-O)

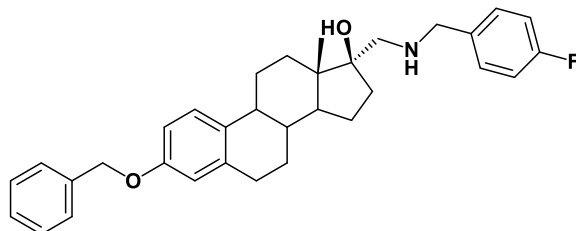
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (m, 2H, Ar-Ho), 7.38 (m, 2H, Ar-Hm), 7.32 (m, 1H, Ar-Hp), 7.20 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.82 (dd, 1H, $J_{2,1} = 7.2$ Hz, H-3'), 6.78 (d, 1H, H-2), 6.73 (d, 1H, H-5'), 6.72 – 6.72 (m, 1H, H-4), 6.71 (s, 1H, H-6'), 6.70 (d, 1H, H-4'), 5.03 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.27 (d, 1H, $J_{gem} = 11.7$ Hz, CH_{2a}-N), 3.12 (d, 1H, $J_{gem} = 11.7$ Hz, CH_{2b}-N), 2.86 (m, 2H, H-6), 2.37 – 2.30 (m, 1H, H-11a), 2.22 (d, 1H, H-9), 2.18 (d, 1H, H-16a), 1.90 (d, 1H, H-7a), 1.79 (m, 1H, H-12a), 1.76 (d, 1H, H-16b), 1.69 (d, 1H, H-15a), 1.57 (d, 1H, H-11b), 1.54 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-8), 1.50 (m, 1H, H-14), 1.43 (m, 1H, H-15b), 1.38 – 1.28 (m, 1H, H-7b), 0.97 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.88 (C-3), 138.13 (C-5), 137.95 (Ar-Cipso), 137.40 (C-1'), 135.06 (C-2'), 132.87 (C-10), 128.68 (x2) (Ar-Cm), 127.99 (Ar-Cp), 127.59 (x2) (Ar-Co), 126.44 (C-1), 120.62 (C-3'), 119.29 (C-4'), 116.48 (C-5'), 114.93 (C-4), 112.56 (C-6'), 112.39 (C-2), 83.05 (C-17), 70.06 (CH₂-Ph), 50.61 (C-19), 50.17 (C-14), 46.35 (C-13), 43.86 (C-9), 39.62 (C-8), 35.04 (C-16), 32.42 (C-12), 29.92 (C-6), 27.58 (C-7), 26.37 (C-11), 23.45 (C-15), 14.38. (C-18).

17 α -(4-fluoranilina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6h)



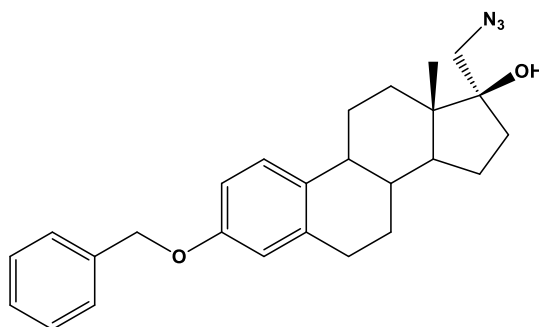
En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.10 g, 0.27 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió 4-fluoranilina(0.19 mL, 1.66 mmol) a reflujo en agitación por 32 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6i** como un compuesto sólido amarillo, con un rendimiento de 9% IR(cm⁻¹) = 3561 (-NH), 2921 (C-H), 1611 (-NH), 1249 (C-O), 1214 (Ar-CF). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (m, 2H, Ar-Ho), 7.38 (m, 2H, Ar-Hm), 7.30 (m, 1H, Ar-Hp), 7.20 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.6 Hz, H-1), 6.93 – 6.86 (m, 2H, *J*_{3',5'} = 1.8 Hz Ar-H3', Ar-H5'), 6.78 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 8.5, *J*_{2,4} = 2.6 Hz, H-2), 6.72 (d, 1H, *J*_{4,2} = 2.4 Hz, H-4), 6.64 – 6.59 (m, 2H, *J*_{2',6'} = 2.6 Hz Ar-H2', Ar-H6'), 5.03 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.25 (d, 1H, *J*_{gem} = 11.8 Hz, CH_{2a}-NH), 3.11 (d, *J*_{gem} = 11.8 Hz, CH_{2b}-NH), 2.85(m, 2H.H-6), 2.37 – 2.30 (m, 1H, H-11a), 2.21 (m, 1H, H-9), 2.14 (m, 1H,H-16a), 1.90 (m, 1H, H-7a), 1.76 (m, 1H, H-12a), 1.73 (m, 1H, H-16a), 1.71 (m, 1H, H-15a), 1.53 (m, 1H, H-12a), 1.52 (d, 1H, H-11b), 1.49 (m, 1H, H-8), 1.42 – 1.37 (m, 1H, H-15b), 1.36 – 1.33 (m, 1H, 7b), 0.98 – 0.94 (m, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 157.05 (Ar-C1'), 156.94 (C-3), 155.18 (Ar-C1'), 145.50 (Ar-C4'), 145.49 (Ar-C4'), 138.12 (C-5), 137.44 (Ar-Cipso), 132.83 (C-10), 128.69 (Ar-Cm), 128.00 (Ar-Cp), 127.59 (Ar-Co), 126.42 (C-1), 115.86 (Ar-C3'), 115.69 (Ar-C5'), 114.99 (C-4), 114.32 (Ar-C2'), 114.27 (Ar-C6'), 112.45 (C-2), 83.24 (C-17), 70.10 (CH₂-Ph), 51.44 (C-19), 50.30 (C-14), 46.33 (C-13), 43.90 (C-9), 39.66 (C-8), 35.10 (C-16), 32.40 (C-12), 29.92 (C-6), 27.61 (C-7), 26.38 (C-11), 23.45 (C-15), 14.35 (C-18).

17 α -(4-fluorobencilamina)metil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (6i)



En un matraz de fondo redondo se disuelve **3** (0.10 g, 0.27 mmol) en 5 mL de EtOH bajo atmósfera de argón a reflujo, luego de 30 minutos se añadió 4-fluorobencilamina (0.19 mL, 1.66 mmol) a reflujo en agitación por 32 horas, terminada la reacción se evapora el EtOH a sequedad, se extrajo con AcOEt (3×15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3×20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, bajando inicialmente con CH₂Cl₂ (1L) y posteriormente cambiando a un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto **6i** como un compuesto sólido amarillo con un rendimiento de 60%. ¹H RMN(500 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (m, 2H, Ar-Ho), 7.35 (m, 2H, Ar-Hm), 7.32 – 7.21 (m, 3H, Ar-Hp, H-3', H-5'), 7.16 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.5 Hz, H-1), 7.00 (m, 2H, *J*_{H,H} = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.76 (m, 1H, *J*_{2,1} = 8.3 Hz, H-2), 6.70 (s, 1H, H-4), 5.00 (s, 2H, CH₂-Ph), 3.76 (m, 2H, H-20), 2.90 (d, 1H, *J*_{gem} = 11.9 Hz, 1H, CH_{2a}NH, H-19), 2.82 (m, 2H, H-6), 2.53 (d, *J*_{gem} = 11.9 Hz, CH_{2b}-NH H-19), 2.26 (m, 1H, H-11a), 2.13 (m, 1H, H-9), 1.90 – 1.85 (m, 1H, H-7a), 1.81 (m, 1H, *J*_{H,H} = 10.2 Hz, H-16a), 1.78 – 1.72 (m, 1H, 16b), 1.72 – 1.65 (m, 1H, H-12a), 1.60 (m, 1H, H-15a), 1.54 – 1.49 (m, 1H, H-11b), 1.47 (s, 1H, H-8), 1.35 (m, 1H, H-15b), 1.33 (m, 1H, H-14), 1.30 (d, 1H, H-12b), 1.26 (m, 1H, H-7b), 0.91 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 163.03 (C-1'), 161.08 (C-1'), 156.82 (C-3), 138.07 (C-5), 137.39 (Ar-Cipso), 135.98 (C-4'), 135.96 (C-4'), 132.89 (C-10), 129.67 (C-3'), 129.61 (C-5'), 128.60 (x2) (Ar-Cm), 127.90 (Ar-Cp), 127.51 (C-o), 126.33 (C-1), 115.45 (C-2'), 115.28 (C-6'), 114.88 (C-4), 112.33 (C-2), 81.60 (C-17), 69.99 (CH₂-Ph), 55.51 (C-19), 53.87 (C-20), 49.99 (C-14), 45.92 (C-13), 43.85 (C-9), 39.42 (C-8), 35.65 (C-16), 32.83 (C-12), 29.88 (C-6), 27.53 (C-7), 26.33 (C-11), 23.35 (C-15), 14.36 (C-18).

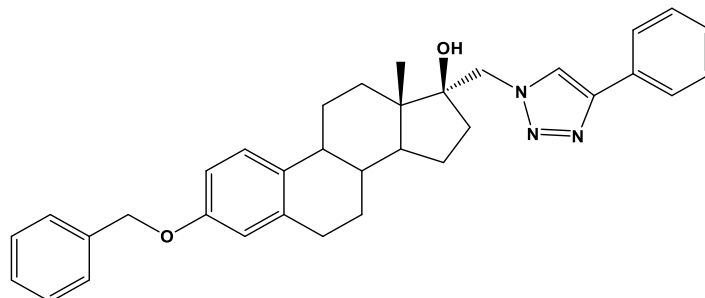
17 α -azidometil-3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (7)



En un matraz de fondo redondo se disuelve oxirano de la estrona (1,50 g, 4,01 mmol) en DMF anhidro (25 mL) se añadió NaN_3 (2,60 g, 40,08 mmol) y H_3BO_3 (1,04 g, 16,91 mmol) bajo atmósferas de argón. La mezcla se calentó a reflujo durante 3 h, se vertió en agua y se extrajo con AcOEt (4 x 25 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (3 x 25 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta sequedad. La cromatografía en columna (19:1 Hexano-AcOEt) dando el compuesto **7** como cristales blancos. Los valores obtenidos se compararon con la literatura.

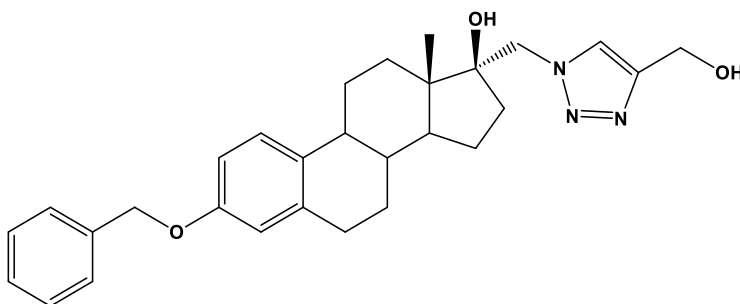
RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (m, 2H, Ar-Ho), 7.41 (m, 2H, Ar-Hm), 7.35 (m, 1H, Ar-Hp), 7.22 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.82 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8.6$ Hz, $J_{2,4} = 2.6$ Hz, H-2), 6.75 (d, 1H, $J_{4,2} = 2.6$ Hz, H-4), 5.06 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.62 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, $\text{CH}_{2\text{a}}\text{N}_3$), 3.32 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, $\text{CH}_{2\text{b}}\text{N}_3$), 2.89 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.35 (m, 1H, H-11a), 2.19 (m, 1H, H-9), 2.08 (ddd, 1H, $J_{\text{H,H}} = 15.8$ Hz, $J_{\text{H,H}} = 9.2$ Hz, $J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-16a), 1.91 (m, 1H, H-7a), 1.78 (dt, 1H, $J_{\text{H,H}} = 12.5$ Hz, $J_{\text{H,H}} = 3.1$ Hz, H-12a), 1.74 (m, 1H, H-16b), 1.72 (m, 1H, H-15a), 1.55 (m, 1H, H-11b), 1.53 (m, 1H, H-8), 1.45 (m, 1H, H-15b), 1.42 (m, 1H, H-12b), 1.38 (m, 1H, H-14), 1.35 (m, 1H, H-7b), 0.95 (s, 3H, H-18). ^{13}C RMN(125 MHz, CDCl_3) δ 156.63 (C-3), 137.77 (C-5), 137.15 (Ar-Cipso), 132.44 (C-10), 128.45 (x2) (Ar-Cm), 127.76 (Ar-Cp), 127.36 (x2) (Ar-Co), 126.21 (C-1), 114.67 (C-4), 112.15 (C-2), 83.43 (C-17), 69.71($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 58.09 (C-19), 50.05 (C-14), 46.06 (C-13), 43.54 (C-9), 39.25 (C-8), 34.46 (C-16), 31.76 (C-12), 29.64 (C-6), 27.35 (C-7), 26.03 (C-11), 23.15 (C-15), 14.01 (C-1).

17 α -(4-fenil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8a)



En un matraz de fondo redondo se disuelve azida de la estrona protegida (0.13 g, 0.33mmol) en 10 mL de tolueno, posteriormente se añadió Ph₃P (0.016mg, 0.06 mmol), CuI (0.006 mg, 0.03 mmol) DIPEA (0.17 mL, 0.96 mmol) y fenilacetileno (0.04 mL, 0.40 mmol) en agitación a reflujo por 10 horas, lo obtenido se evapora a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna con un sistema (10: 0.2 CH₂Cl₂-MeOH) para obtener el compuesto 8a como un sólido blanco con un rendimiento de 47%. $[\alpha]_D^{25} = +16.22$ (c.1.0, CHCl₃) IR(cm⁻¹) = 3352 (-OH), 3163 (C-Ar), 2924 (CH-sp³), 1288 (C-N, Heterociclo) ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (s, 1H, Ar'-H5'), 7.85 (d, 2H, Ar- Ho'), 7.44 (s, 1H, Ar-Hp), 7.42 (m, 2H, Ar- Hm), 7.41 (s, 1H, Ar'-Hp'), 7.38 (m, 2H, Ar'-Hm'), 7.32 (m, 2H, Ar-Ho), 7.20 (d, 1H $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.79 (m, 1H, $J_{2,1} = 8.5$, H-2), 6.74 (d, 1H, H-4), 5.04 (s, 2H, CH₂-Ph), 4.59 (d, 1H, $J_{gem} = 13.8$ Hz, CH_{2a}-NH), 4.42 (d, 1H, $J_{gem} = 13.8$ Hz, CH_{2b}-NH), 2.95 – 2.81 (m, 2H, H6), 2.36 (m, 1H, H-11a), 2.27 – 2.16 (m, 1H, H-9), 1.96 – 1.86 (m, 1H, H-7a), 1.82 (m, 1H, H-12a), 1.80 (m, 1H, H-16a), 1.76 (m, 1H, H-15a), 1.56 (m, 1H, H-11b), 1.53 (s, 1H, H-12b), 1.51 – 1.48 (m, 1H, H-12b), 1.42 (d, 1H, H-16b), 1.39 (m, 1H, H-7b), 1.00 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 156.97 (C-3), 147.65 (C-4'), 138.08 (C-5), 137.37 (Ar-Cipso), 132.51 (C-2), 130.81 (Ar-CIp'), 128.98 (x2) (Ar-Cm'), 128.69 (x2) (Ar-Cm), 128.22 (Ar-Cp'), 128.01 (Ar-Cp), 127.58 (x2) (Ar- Co), 126.40 (C-1), 125.79 (x2) (Ar-Co'), 122.08 (C-5'), 114.97 (C-4), 112.49 (C-2), 83.38 (C-17), 70.08 (CH₂-Ph), 56.64 (C-19), 49.98 (C-14), 46.69 (C-13), 43.90 (C-9), 39.68 (C-8), 33.57 (C-16), 31.35 (C-12), 29.85 (C-6), 27.51 (C-7), 26.20 (C-11), 23.43 (C-15), 14.21 (C-18)

17 α -(4-hidroxiometil-1,2,3-triazol-1-il)metil- 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (8b)



En un matraz de fondo redondo se disuelve azida de la estrona protegida (0.12 g, 0.30mmol) en 10 mL de tolueno, posteriormente se añadió Ph_3P (0.015mg, 0.06 mmol), CuI (0.006 mg, 0.03 mmol) DIPEA (0.15 mL, 0.96 mmol) y alcohol propargílico (0.04 mL, 0.32 mmol) en agitación a reflujo por 24 horas, lo obtenido se evapora a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna con un sistema (10: 0.2 CH_2Cl_2 - MeOH) para obtener el compuesto 8a como un sólido blanco, con un rendimiento de 46% $[\alpha]_D^{25} = +17.40$ (c.1.0, CHCl_3) $\text{IR}(\text{cm}^{-1}) = 3414$ (-OH), 3014 (C-Ar), 2911 (CH-sp^3), 1205 (C-N, Heterociclo), 1282 (C-O) $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.83 (s, 1H, H-5'), 7.41 (m, 2H, Ar-Ho), 7.37 (m, 2H, Ar-Hm), 7.32 (m, 1H, Ar-Hp), 7.19 (d, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, H-1), 6.77 (m, 1H, $J_{2,1} = 10.0$ Hz, H-2), 6.73 (m, 1H, H-4), 5.03 (s, 2H, CH_2 -Ph), 4.76 (s, 2H, CH_2 -OH), 4.55 (d, 1H, $J_{gem} = 13.7$ Hz, CH_{2a} -NH), 4.36 (d, 1H, $J_{gem} = 13.7$ Hz, CH_{2b} -NH), 2.87 (m, 2H, H-6), 2.36 (m, 1H, H-11a), 2.21 (m, 1H, H-9) 1.90 (m, 1H, H-7a), 1.81 (m, 1H, H-12a), 1.74 (m, 1H, H-15a), 1.72 (m, 1H, H-16a), 1.57 (m, 1H, H-14), 1.55 (m, 1H, H-11b), 1.53 (m, 1H, H-8), 1.48 (m, 1H, H-12b), 1.47 – 1.41 (m, 1H, H-15b), 1.39 (m, 2H, H-7b, H-16b), 0.98 (s, 3H, H-18). $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 156.95 (C-3), 138.76 (C-4'), 138.06 (C-5), 137.36 (Ar-Cipso), 132.51 (C-10), 128.68 (x2) (Ar-Cm), 128.00 (Ar-Cp), 127.58 (x2) (Ar-Co), 126.39 (C-1), 124.53 (C-5'), 114.96 (C-4), 112.48 (C-2), 83.19 (C-17), 70.06 (CH_2 -Ph), 56.68 (C-19), 56.41 (C-20), 50.02 (C-14), 46.71 (C-13), 43.88 (C-9), 39.67 (C-8), 33.11 (C-16), 31.36 (C-12), 29.84 (C-6), 27.52 (C-7), 26.21 (C-11), 23.42 (C-15), 14.31 (C-18).