



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“Diseño *in silico* de inhibidores de la CPY17A1 y su
síntesis dirigida a partir de diosgenina”**

Tesis para obtener el título de

Maestra en Ciencias Químicas

en el área de Química Orgánica

presenta:

Q.I. Berenice Rebolledo Galindo

Director de Tesis:

Dr. Jesús Sandoval Ramírez

Noviembre, 2020



Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica, LESQO-BUAP, bajo la dirección del Dr. Jesús Sandoval Ramírez y M. en C. Alan Carrasco Carballo. Agradezco a CONACYT (No. de Becario: 921336) por la beca otorgada para la realización de la presente tesis.

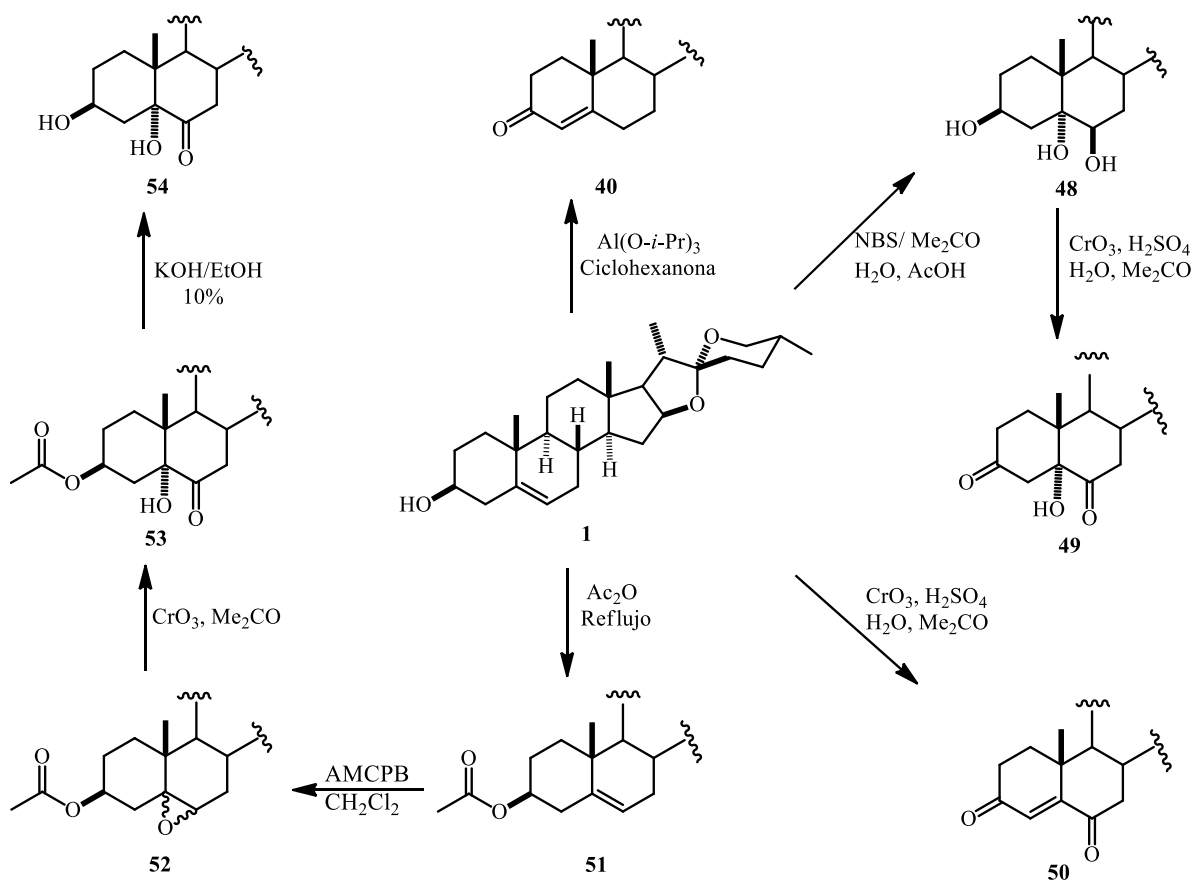


Parte este trabajo de tesis de investigación fue presentado en los siguientes congresos:

- XV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, con el cartel titulado: “Diseño, estudios de acoplamiento molecular y síntesis de derivados esteroidales inhibidores de la Cdc20”, el cual se llevó a cabo en Cuernavaca, Morelos de 8 al 12 de abril de 2019.
- 54° Congreso Mexicano de Química, con la ponencia titulada: “Análisis in silico y síntesis de derivados de diosgenina contra cáncer testicular y de próstata”, el cual se llevó a cabo en Puebla, Puebla del 30 de septiembre al 3 de octubre de 2019.
- 54° Congreso Mexicano de Química, con el cartel titulado “Diseño, estudio de acoplamiento molecular y síntesis de derivados de vespertilina como posibles inhibidores de CYP17A”, el cual se llevó a cabo en Puebla, Puebla del 30 de septiembre al 3 de octubre de 2019.
- Cuarto Simposio Iberoamericano en Química Orgánica (SIBEAQO-IV) con el cartel titulado “Análisis in silico y síntesis de derivados de diosgenina contra cáncer de andrógeno-dependiente”, el cual se llevó a cabo en Cuba del 4 al 8 de diciembre de 2019.

RESUMEN

En la primera etapa del presente trabajo de tesis se diseñó a ocho derivados de diosgenina con modificaciones en los anillos A y B y se les realizó estudios *in silico* de acoplamiento molecular y de predicción de las propiedades farmacocinéticas para predecir su viabilidad en sistemas vivos. En la segunda etapa se propusieron rutas de síntesis para la obtención de las diferentes moléculas propuestas (esquema A); el compuesto **40** se sintetizó mediante una reacción de oxidación tipo Oppenauer con isopropóxido de aluminio como catalizador, mientras que **48** se obtuvo a través de oxidación suave de diosgenina (**1**) con NBS en un medio ligeramente ácido. El compuesto **49** se obtuvo con la oxidación de **48** con el reactivo de Jones, dando paso al compuesto 5 α -hidroxi-3,6-diona.

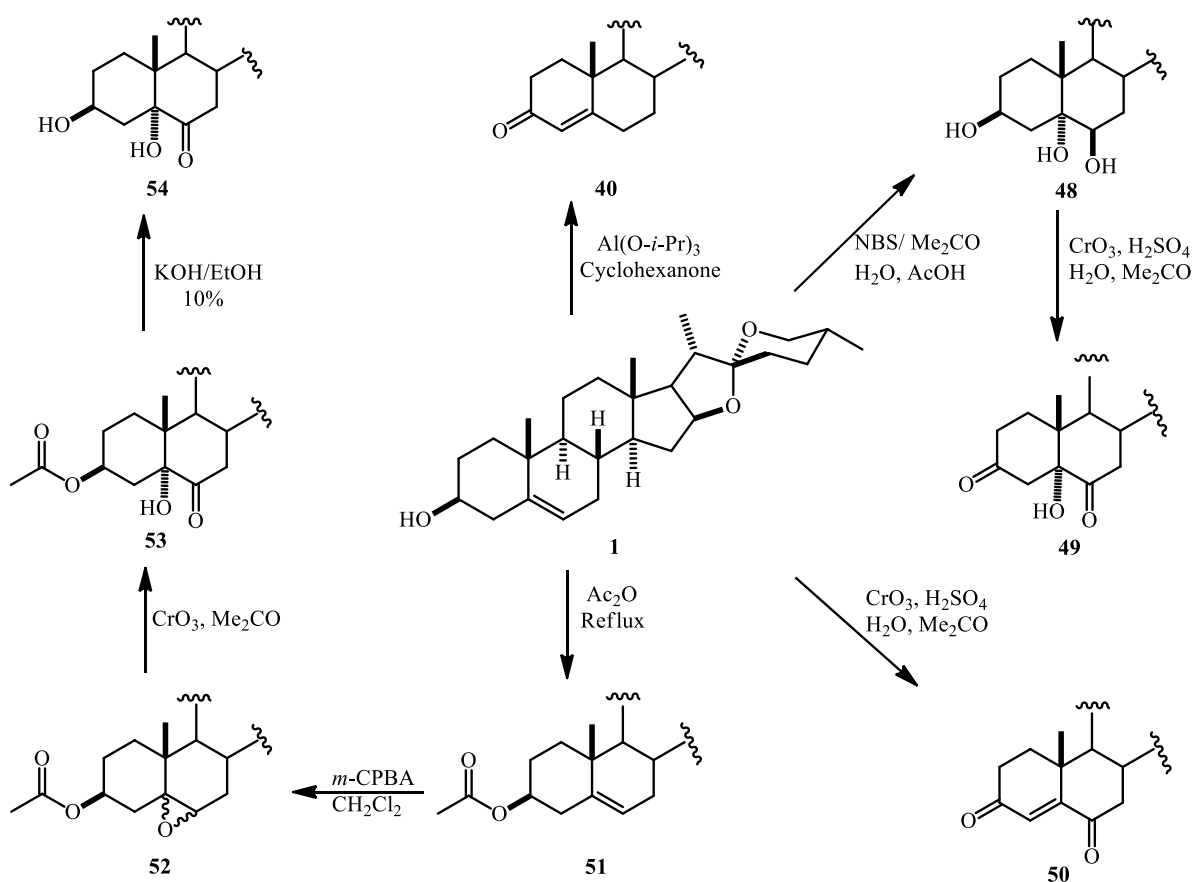


Esquema A. Rutas de síntesis para la obtención de derivados de diosgenina

Usando nuevamente la diosgenina como materia prima se realizó una oxidación con reactivo de Jones oxidando Δ^5 (doble enlace) y el grupo hidroxilo de la posición 3, dando paso a la molécula **50** la cual presenta un sistema 4-en-3,6-diona. El compuesto **51** tiene un grupo éster en el C-3 como resultado de una reacción de esterificación con Ac_2O , seguido de una reacción de epoxidación con AMCPB que condujo a una mezcla de estereoisómeros: epóxido α (**52a**) y epóxido β (**52b**). Esta mezcla se sometió a oxidación con cromo, donde la apertura del epóxido conduce a un grupo hidroxilo en posición 5 y un grupo carbonilo en posición 6, obteniéndose el compuesto **53**. Por último, el compuesto **53** fue expuesto a una reacción de desprotección en medio básico, donde el grupo acetato se perdió y se formó el producto **54**. Todos estos compuestos fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas.

ABSTRACT

In the first stage of this thesis work, eight diosgenin derivatives with modifications on rings A and B were designed and *in silico* studies of molecular coupling and prediction of pharmacokinetic properties were carried out to predict their viability in living systems. In the second stage, some synthesis routes were proposed to obtain the different proposed molecules (scheme A); compound **40** was synthesized by an Oppenauer-type oxidation reaction with aluminum isopropoxide as a catalyst, while **48** was obtained through mild oxidation of diosgenin (**1**) with NBS in a slightly acidic medium. Compound **49** was obtained from the oxidation of **48** with the Jones reagent, affording to the compound 5 α -hydroxy-3,6-dione.



Scheme A. Synthetic routes for obtaining diosgenin derivatives

Using diosgenin as raw material again, an oxidation with Jones reagent was carried out, oxidizing Δ^5 (double bond) and the hydroxyl group at position 3, giving way to molecule **50** which presents a 4-en-3,6-dione system. Compound **51** has an ester group at C-3 as a result of an esterification reaction with Ac_2O , followed by an epoxidation reaction with *m*-CPBA that led to a mixture of stereoisomers: α -epoxide (**52a**) and β -epoxide (**52b**). This mixture was subjected to oxidation with chromium, where the opening of the epoxide leads to a hydroxyl group in position 5 and a carbonyl group in position 6, obtaining compound **53**. Finally, compound **53** was exposed to a deprotection reaction in a basic medium, where the acetate group was lost and product **54** was formed. All these compounds were characterized by spectroscopic techniques.

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	6
ABREVIATURAS	10
INDICE DE ESQUEMAS	12
INDICE DE FIGURAS	13
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Cáncer	5
2.1.1 Cáncer de próstata	6
2.2 Generalidades de los esteroides	10
2.3 Acetato de Abiraterona: un fármaco contra CPRC.....	12
2.4 Estudios de acoplamiento molecular	14
2.5 Propiedades farmacocinéticas	15
2.6 Moléculas con actividad biológica	16
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo general.....	20
3.2 Objetivos particulares	20
4. DISCUSION DE RESULTADOS.....	21
4.1 Estudio de acoplamiento molecular con RA y la enzima CYP17A1	22
4.2 Predicciones farmacocinéticas: ADME	23
4.3 Síntesis química	25
4.3.1 Materia prima (1).....	26
4.3.2 Obtención de diosgenona (40)	31
4.3.3 Obtención de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (48).....	34
4.3.4 Síntesis de (25R)-5 α -espirostan-5-hidroxi-3,6-diona (49).....	39
4.3.5 Síntesis de (25R)-4-espirosten-3,6-diona (50).....	44
4.3.6 Síntesis de (25R)-acetato de diosgenina (51).....	50
4.3.7 Síntesis de acetato de (25R)-5,6-epoxi-espirostan-3-ilo (52)	54
4.3.8 Síntesis de acetato de (25R)-5 α -hidroxilaxogenina (53).....	58

4.3.9 Síntesis de (25R)-5 α -hidroxilaxogenina (54).....	63
5. <i>DESARROLLO EXPERIMENTAL</i>	67
5.1 Equipos, técnicas y materias primas utilizadas.....	67
5.1.1 Equipos y técnicas de identificación.	67
5.1.2 Técnicas de purificación.....	68
5.2 Diseño dirigido de moléculas esteroidales.....	68
5.2 Estudios computacionales.....	69
5.2.1 Estudio de acoplamiento molecular	69
5.2.2 Predicción de propiedades farmacocinéticas.....	70
5.3 Síntesis	71
5.3.1 Materia prima.....	71
5.3.2 Obtención de (25R)-4-espirosta-3-ona (40).....	72
5.3.3 Obtención de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (48).....	73
5.3.4 Síntesis de (25R)-5 α -espirosta-5-hidroxi-3,6-diona (49).....	74
5.3.5 Síntesis de (25R)-espirosta-4-en-3,6-diona (50).....	75
5.3.6 Obtención de acetato de (25R)-espirosta-5-en-3 β -ilo (51)	77
5.3.7 Obtención de mezcla de acetato de (25R)-5 α ,6 α -epoxi-espirostan-3 α -ilo (52a) y acetato de (25R)-5 β ,6 β -epoxi-espirostan-3 β -ilo (52b)	78
5.3.8 Obtención de acetato de (25R) 5 α -hidroxilaxogenina (53).....	79
5.3.9 Obtención de (25R)- 5 α -espirostan-3 β ,5-dihidroxi-6-ona (54)	81
6. <i>CONCLUSIONES</i>	83
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	84
<i>REFERENCIAS DE FIGURAS</i>	88

ABREVIATURAS

3-PyEt ₂	dietilpiridilborano
AA	Acetato de abiraterona
ADME	Administración, Distribución, Metabolismo y Excreción
RA	Receptor de andrógenos
CaP	Cáncer de próstata
COSY	Espectroscopia de Correlación
CPRC	Cáncer de próstata resistente a la castración
CYP17A1	Citocromo P450 17A1
DHEA	Dehidroepiandrosterona
HMBC	Correlación Heteronuclear a Múltiples Enlaces
HSQC	Correlación Heteronuclear Cuántica Única
IR	Infrarrojo
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.
LHRH	Hormona liberadora de hormona luteinizante
AMCPB	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
ppm	Partes por millón
PSA	Antígeno prostático específico
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
SN ₂	Sustitución Nucleofílica Bimolecular
Tf ₂ O	Anhídrido trifluorometansulfónico
TPA	Terapia de privación de andrógenos
δ	Desplazamiento químico

Δ	Doble enlace
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamiento
TMG	1,1,3,3-tetrametilguanidina

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Biosíntesis de hormonas esteroideas.....	8
Esquema 2. Síntesis de acetato de abiraterona (3).....	13
Esquema 3. Síntesis de acetato de abiraterona (3).....	13
Esquema 4. Ruta de síntesis de derivados de diosgenina (1)	26
Esquema 5. Obtención de diosgenona (40)	31
Esquema 6. Mecanismo de reacción para la síntesis de diosgenona (40)	32
Esquema 7. Espectro de RMN ¹³ C a 125 MHz de diosgenona (40); Error! Marcador no definido.	
Esquema 8. Síntesis de (25 <i>R</i>)-5α-espirostan-3β,5,6β-triol.....	34
Esquema 9. Oxidación de (41) con reactivo de Jones	39
Esquema 10. Mecanismo de reacción para la obtención del compuesto (42)	40
Esquema 11. Síntesis de (25 <i>R</i>)-4-espirosten-3,6-diona (43)	44
Esquema 12. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de (25 <i>R</i>)-4-espirosten-3,6-diona (43)	45
Esquema 13. Síntesis de acetato de diosgenina (44)	50
Esquema 14. Mecanismo de reacción para la formación de acetato de diosgenina (44)	50
Esquema 15. Epoxidación de acetato de diosgenina (44)	54
Esquema 16. Mecanismo de epoxidación de acetato de diosgenina (44).....	55
Esquema 17. Síntesis de acetato de (25 <i>R</i>)-5α-hidroxilaxogenina (46) con CrO ₃	58
Esquema 18. Reacción de desprotección para la obtención de (47).....	63
Esquema 19. Mecanismo de reacción de hidrólisis básica.....	63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de la incidencia de varios tipos cáncer en la población masculina mexicana, en 2018. Tomado de [1].	1
Figura 2. Opciones de terapias para el cáncer: cirugía (izquierda), radioterapia (en medio) y quimioterapia (derecha) [2, 4].	2
Figura 3. Cáncer de próstata dependiente de andrógenos [5].	2
Figura 4. Estructura de diosgenina (1), OSW-1(2) y acetato de abiraterona (3).	3
Figura 5. Células normales se convierten a células cancerosas [5].	5
Figura 6. Próstata con cáncer metastásico (izquierda) y próstata con cáncer localizado (derecha) [6].	7
Figura 7. Estructura del compuesto OSW-1 (2).	9
Figura 8. Ensayos in vitro e in vivo para evaluar la actividad antitumoral de sapogeninas. Tomado y modificado de [35].	10
Figura 9. Estructuras de distintos esteroides: Colesterol (4), estradiol (20), ácido cólico(22), vitamina D ₃ (23), brassinolida (24) y ergosterol (25).	11
Figura 10. Estructura de lanostano (26), pseudotigogenina (27) y yamogenina (28).	12
Figura 11. Relación estudio de acoplamiento molecular con la actividad antiproliferativa de derivados azaesteroidales en cáncer de próstata (IC ₅₀ =μg/mL, ΔG= kcal/mol).	15
Figura 12. Estructuras de esteroides oxigenados con actividad citotóxica.	17
Figura 13. Diosgenona (40) y otros compuestos aislados de Solanum nudum Dunal, con actividad antimalárica.	17
Figura 14. Estructura de 5α-colesta-3β, 5α, 6β-triol (43).	18
Figura 15. Estructuras de esteroides con función 4-en-3,6-diona en anillos A y B.	18
Figura 16. Derivados 5β-hidroxi-espirostan-6-ona con actividad anti-ecdisteroide.	19
Figura 17. Estructuras diseñadas derivadas de diosgenina (1).	21
Figura 18. Gráfico de las energías de acoplamiento de compuestos con el receptor de andrógenos.	22
Figura 19. Gráfico de las energías de acoplamiento de compuestos con la enzima CYP17A1.	23
Figura 20. Espectro de RMN de ¹ H a 500 MHz de diosgenina (1) en CDCl ₃ .	28
Figura 21. Espectro de RMN ¹³ C de diosgenina (1) a 125 MHz en CDCl ₃ .	29
Figura 22. Espectro de RMN HMBC de diosgenina (1) en CDCl ₃ .	30
Figura 23. Espectro de RMN ¹ H a 500 MHz (arriba) y de ¹³ C a 125 MHz (abajo) de diosgenona (40) en CDCl ₃ .	33
Figura 24. Comparación por RMN ¹ H de diosgenina (1) arriba y (25R)-5α-espirostan-3β,5,6β-triol (48) abajo.	35
Figura 25. Comparación de Espectro de RMN ¹³ C de diosgenina (1) en CDCl ₃ (arriba) y del compuesto 48 en CDCl ₃ /MeOD.	37
Figura 26 . Espectro RMN COSY de compuesto trihidroxilado (48) en CDCl ₃ .	38
Figura 27. Espectro RMN de ¹ H a 500 MHz (arriba) y de ¹³ C a 125 MHz (abajo) de (25R)-5α-espirostan-5-hidroxi-3,6-diona (49) en CDCl ₃ .	41

Figura 28. Espectro HSQC de 49 en CDCl ₃	43
Figura 29. Espectro de RMN ¹ H a 500 MHz (arriba) y de ¹³ C a 125 MHz (abajo) de (25 <i>R</i>)-4-espirosten-3,6-diona (50) en CDCl ₃	46
Figura 30. Espectro HMBC de 50 en CDCl ₃	48
Figura 31. Espectro HSQC de 50 en CDCl ₃	49
Figura 32. Espectro de ¹ H a 500 MHz (arriba) y de ¹³ C a 125 MHz (abajo) de acetato de diosgenina (51) en CDCl ₃	52
Figura 33. Espectro COSY de acetato de diosgenina (51) en CDCl ₃	53
Figura 34. Distribución espacial de los epóxidos α (arriba) y β (abajo). Estructuras obtenidas a través del software: Chem3D Pro12.0.2.1076.....	54
Figura 35. Espectro RMN de ¹ H a 500 MHz (arriba) y de ¹³ C a 125 MHz (abajo) del compuesto epoxidado (52) en CDCl ₃	56
Figura 36. Espectro RMN de ¹ H a 500 MHz de acetato de (25 <i>R</i>)-5 α -hidroxilaxogenina (53) en CDCl ₃	60
Figura 37. Espectro RMN de ¹³ C de acetato de (25 <i>R</i>)-5 α -hidroxilaxogenina (53) en CDCl ₃	61
Figura 38. Espectro HSQC de acetato de (25 <i>R</i>)-5 α -hidroxilaxogenina (53) en CDCl ₃	62
Figura 39. Espectro RMN de ¹ H a 500 MHz (arriba) y ¹³ C a 125 MHz (abajo) de (25 <i>R</i>)-5 α -hidroxilaxogenina (54) en CDCl ₃	65
Figura 40. Espectro RMN 2D COSY del compuesto 54 en CDCl ₃	66
Figura 41. Estructuras diseñadas a partir de diosgenina (1).....	69
Figura 42. Estructura de diosgenina (1).....	71
Figura 43. Estructura de (25 <i>R</i>)-4-espirosta-3-ona (40).....	72
Figura 44. Estructura de (25 <i>R</i>)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (48).....	73
Figura 45. Estructura de (25 <i>R</i>)-5 α -espirosta-5-hidroxi-3,6-diona (49).....	74
Figura 46. Estructura de (25 <i>R</i>)-espirosta-4-en-3,6-diona (50).....	75
Figura 47. Estructura de acetato de diosgenina (44).....	77
Figura 48. Mezcla de 52a y 52b	78
Figura 49. Estructura de acetato de (25 <i>R</i>) 5 α -hidroxilaxogenina (53).....	79
Figura 50. Estructura del compuesto 54	81

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una patología que ha tenido gran impacto en la sociedad actual, al ser una de las primeras causas de muerte en el mundo desde hace varias décadas, figurando un desafío para el sistema de salud y la economía [1]. En Estados Unidos, la *American Cancer Society* expone que el cáncer pulmonar y el cáncer de próstata (CaP) son las neoplasias más frecuentes en el sexo masculino, durante el año 2019 [2]. En México, el cáncer es la tercera causa de muerte en la población después de las enfermedades cardiovasculares y la diabetes, y en particular, en el año 2018 el CaP fue el de mayor incidencia en la población (figura 1) [3, 4].

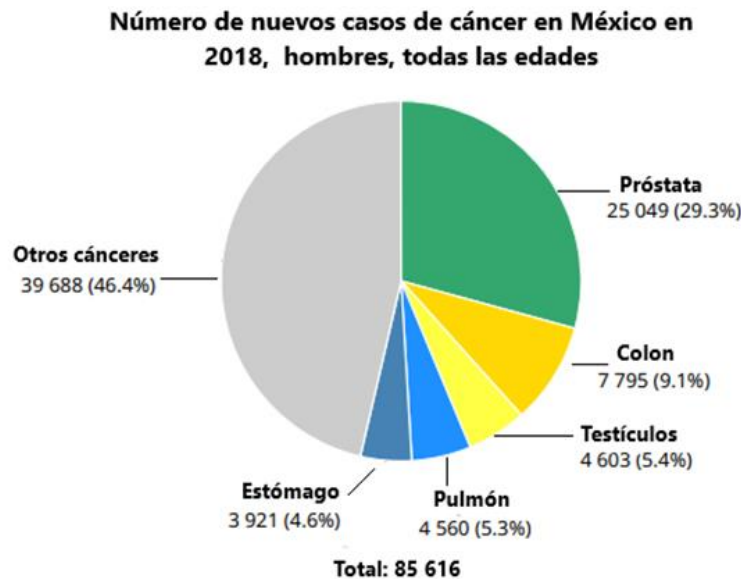


Figura 1. Gráfico de la incidencia de varios tipos de cáncer en la población masculina mexicana, en 2018. Tomado de [1].

Actualmente el cáncer cuenta con varios tratamientos (cirugía, radioterapia y quimioterapia, figura 2) no obstante, pueden presentar baja eficacia, efectos adversos y dependencia a una detección temprana; aunado a esto, la alta incidencia de la enfermedad conduce a la necesidad de la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas [5].



Figura 2. Opciones de terapias para el cáncer: cirugía (izquierda), radioterapia (en medio) y quimioterapia (derecha) [2, 4].

El CaP es una enfermedad que ha demostrado dependencia a las hormonas androgénicas (figura 3) de manera que, un tratamiento específico es la terapia de privación de andrógenos (TPA), pero en algunos casos el cáncer se vuelve resistente a esta terapia por lo que el tratamiento se vuelve ineficaz, generando que los pacientes desarrollen cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC), un tipo de cáncer más agresivo [6,7]; es por esto que se busca desarrollar otras maneras de disminuir los andrógenos producidos por la próstata y por las glándulas suprarrenales [8, 9]. Se descubrió que a través de la inhibición de la enzima CYP17A1 se puede disminuir los niveles de andrógenos [10]

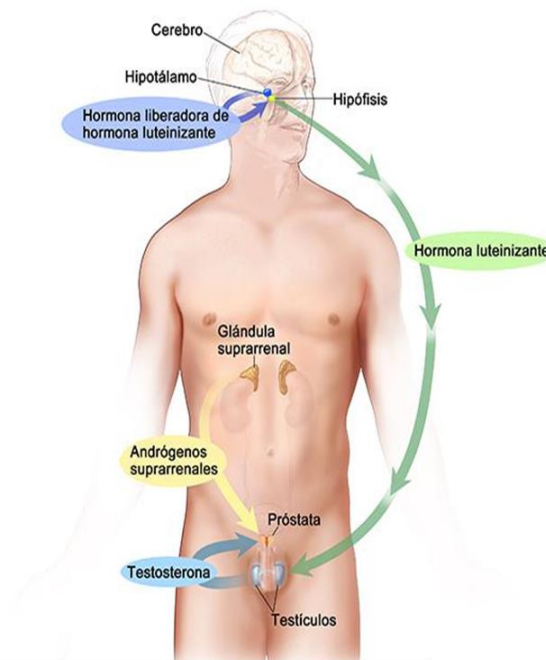


Figura 3. Cáncer de próstata dependiente de andrógenos [5].

Ante estos problemas con los tratamientos, los científicos buscan desarrollar nuevos procedimientos en contra de estas patologías, sin embargo, el desarrollo de fármacos es un proceso largo y costoso que anteriormente hacían uso de tiempos aún más prolongados debido a que sólo se empleaban métodos experimentales [11]; en la actualidad, el empleo de técnicas computacionales contribuyen a acelerar este proceso además de mejorar la comprensión de los mecanismos de acción de principios activos de fármacos, a mejorar sus propiedades o a desarrollar nuevos fármacos, pese a que el uso de éstas técnicas no pueden sustituir las pruebas biológicas, son herramientas que contribuyen a la optimización de tiempo y recursos [12, 13].

Los esteroides son metabolitos naturales responsables de numerosos efectos biológicos como antiinflamatorios, antimicrobianos, anticancerígenos, entre otros, y a causa de esto dichos metabolitos son empleados en la investigación para obtener derivados químicamente modificados con el propósito de mejorar su bioactividad [14, 15]. Esto se puede notar en algunos esteroides como diosgenina (**1**), OSW-1 (**2**) y el acetato de abiraterona (**3**); la diosgenina ha demostrado ser hipocolesterolémico, gastro y hepatoprotector, antioxidante, antiinflamatorio, antidiabético y anticancerígeno, además de ser empleada por empresas farmacéuticas para sintetizar fármacos esteroides [16, 18].

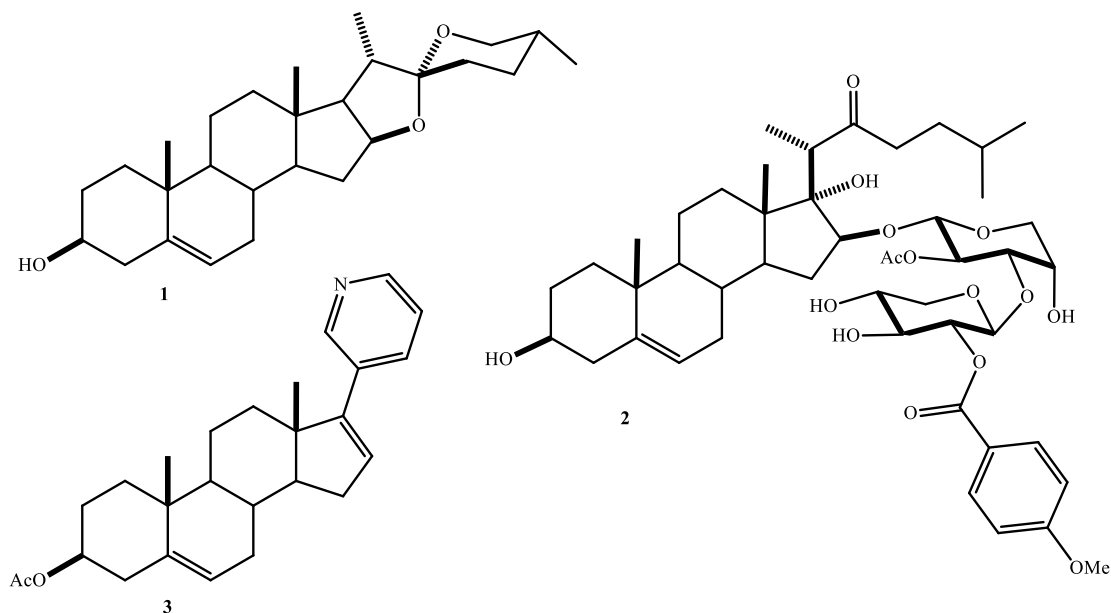


Figura 4. Estructura de diosgenina (1), OSW-1(2) y acetato de abiraterona (3).

El compuesto **2** ha demostrado alta citotoxicidad contra diversas líneas celulares tumorales como leucemia humana y cáncer pancreático, sin embargo, tiene la desventaja de presentar moderada o baja selectividad [17]. El acetato de abiraterona (**3**) es el fármaco utilizado para tratar el CPRC ya que detiene la biosíntesis de andrógenos fungiendo como inhibidor de la enzima CYP17A1 a pesar de que produce efectos secundarios como hipertensión, hipocalcemia e insuficiencia adrenocortical, por lo que el AA requiere ser monitoreado y tratado con medicamentos adicionales [18].

Debido a los efectos secundarios que producen algunos medicamentos, que el paciente no responde al tratamiento o a la necesidad de mejorar los medicamentos ya existentes en el mercado, es necesaria la búsqueda constante de nuevos compuestos biológicamente activos que mejoraran los resultados clínicos y prolonguen la supervivencia del paciente [7]. En este trabajo de tesis se presenta una búsqueda de compuestos posiblemente bioactivos contra el CaP, y mediante estudios de acoplamiento molecular de derivados esteroidales modificados en los anillos A y B, evaluando su posible afinidad con el receptor de andrógenos AR y con la enzima CYP17A1, a la par de la determinación teórica por comparación estructural de las propiedades farmacocinéticas a través del sitio web SwissADME (Administración, Distribución, Metabolismo y Excreción) [19]; esto en conjunto lleva a un diseño dirigido de candidatos a evaluación biológica para su síntesis y correcta caracterización.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades relacionadas en la que las células proliferan descontroladamente. De manera normal las células del cuerpo crecen y se dividen para formar nuevas células, y cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren; sin embargo, cuando se desarrolla cáncer el ciclo de las células normales se ve afectado y a medida que las células se vuelven anormales, las células dañadas sobreviven cuando deberían morir y continúan reproduciéndose, transmitiendo dicha falla genética a las nuevas generaciones. Esto puede provocar la formación de tumores ya que, las células adicionales tienen a formar cúmulos (figura 5). Muchos cánceres forman tumores malignos que se pueden extender a otros tejidos y propagarse a zonas sanas [20].

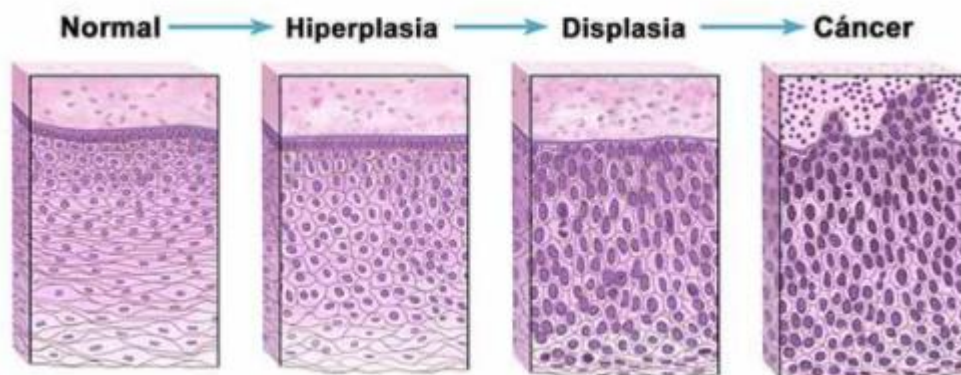


Figura 5. Células normales se convierten a células cancerosas [5].

Durante esta patología las células sufren aberraciones genéticas y cambios epigenéticos que permiten evadir los controles celulares y ambientales normales. Estas aberraciones conllevan a un comportamiento anormal en todas las células neoplásicas: desregulación de crecimiento, carencia de inhibición por contacto, inestabilidad genómica y propensión a la metástasis [21].

2.1.1 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es una de las enfermedades más importantes con la que se enfrenta la población masculina, ya que presenta una gran incidencia en hombres mayores de 60 años y es la segunda causa principal de muerte en los hombres de los Estados Unidos, después del cáncer de pulmón [22] y se estima que en 2020 habrá 191,930 casos nuevos de CaP y 33,330 muertes [23]. Esta patología se puede detectar mediante un análisis de sangre de antígeno prostático específico (PSA) [24]. La posibilidad de presentar un carcinoma clínico y latente aumenta con la edad y rara vez se diagnostica en hombres menores de 40 años; un estudio de validación confirma que un valor de PSA > 20 ng/mL se asocia con un mayor riesgo de muerte por cáncer de próstata [24]. Esta patología se produce cuando las células de la glándula prostática comienzan a reproducirse sin control; la mayoría de estos cánceres son adenocarcinomas, es decir, que se desarrollan a partir de las células glandulares [2]. Otros tipos de cáncer que se originan en la próstata son los carcinomas de células pequeñas, de células transicionales, tumores neuroendocrinos y sarcomas [2].

El curso de este cáncer se clasifica por estados clínicos en función de la extensión de la enfermedad, del estado hormonal y de la presencia o ausencia de metástasis detectable en radiografía o imagenología [7]. El desarrollo de esta enfermedad se debe a la señalización causada por las hormonas androgénicas, las cuales median su efecto a través del receptor de andrógenos (RA) que es un factor de transcripción que tiene la función de regular la expresión de cientos de genes, incluidas aquellas que se encargan del crecimiento y proliferación de las células tumorales [7]. Debido a la dependencia de este cáncer a los andrógenos, la terapia de privación de andrógenos (TPA) ha sido un tratamiento que se ha utilizado durante décadas, con la cual se busca la reducción de los niveles de hormonas androgénicas, evitando que estas hormonas estimulen el desarrollo del cáncer [24]. Se ha demostrado que este cáncer es frecuentemente inhibido por una eliminación a través de cirugía bilateral de los testículos (orquiectomía), debido a que en los testículos se produce la mayor cantidad de estas hormonas en el cuerpo [21]. También se puede contrarrestar la actividad androgénica por medio de la administración de fármacos, logrando disminuir los niveles de testosterona aún más que con cirugía [25]. Estos fármacos pueden ser derivados estrogénicos, antiandrógenos esteroideos y

no esteroideos, agonistas de hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y antagonistas LHRH [26].

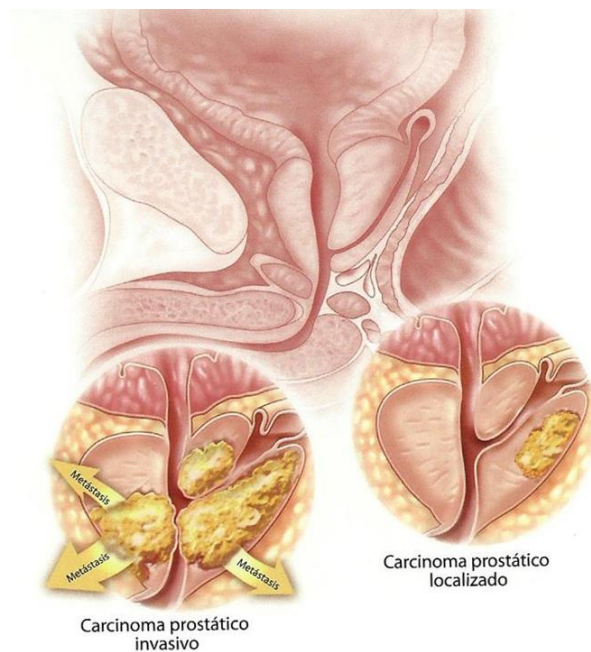
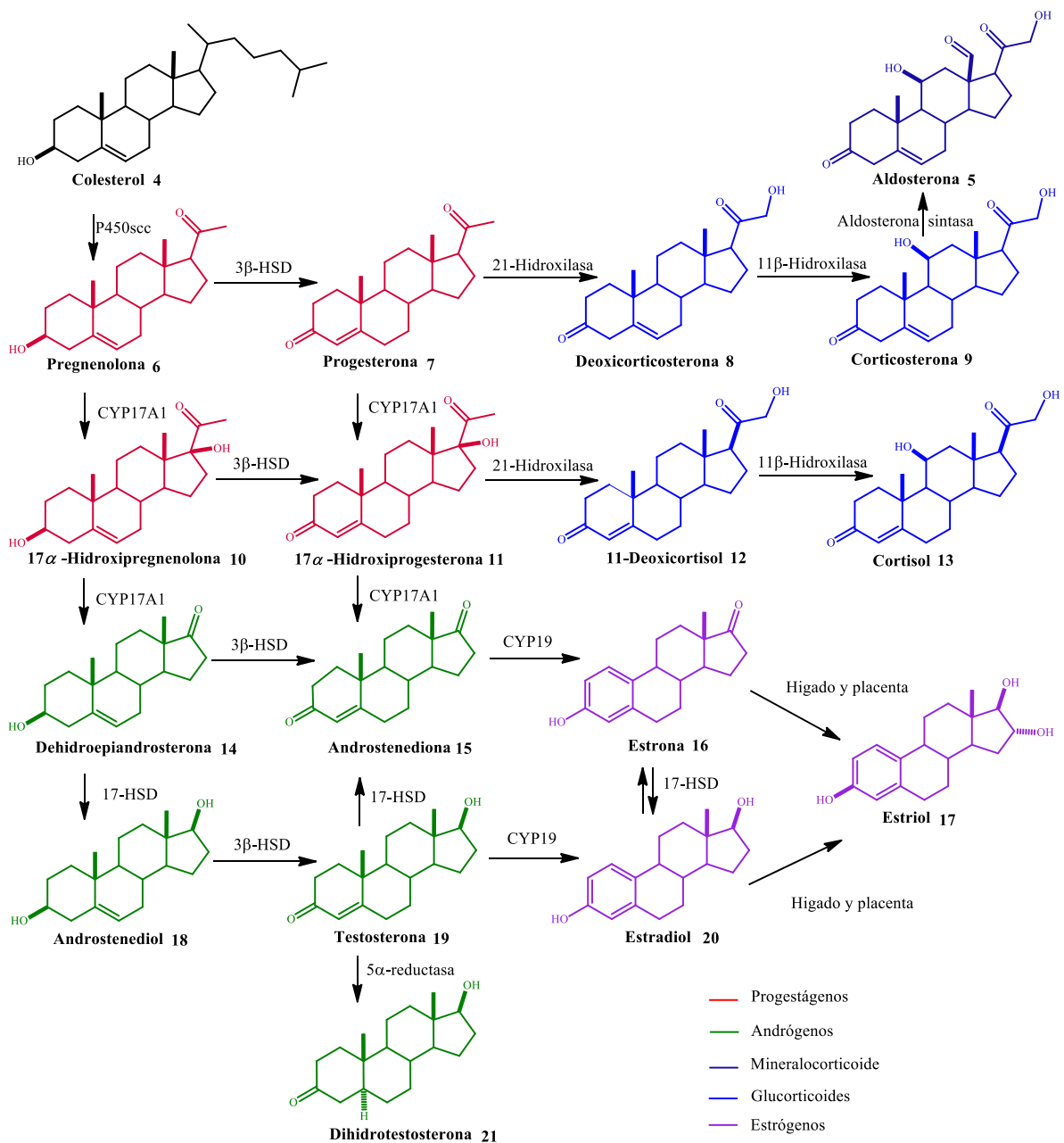


Figura 6. Próstata con cáncer metastásico (izquierda) y próstata con cáncer localizado (derecha) [6].

A pesar del uso de estas terapias, finalmente se vuelven ineficaces conforme el paciente desarrolla un tipo de cáncer más agresivo, denominado cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC) [6, 28]. Este tipo de cáncer es altamente sensible a niveles bajos de andrógenos presentes (producidos por glándulas suprarrenales), y si el cáncer no se trata en un periodo de 9 a 12 meses, el paciente normalmente fallece [6, 29]. Esto refleja la necesidad de desarrollar nuevos fármacos, con el objetivo de prolongar y mejorar la esperanza y calidad de vida del paciente.

Se han buscado otras formas de reducir la cantidad de andrógenos, como la inhibición de enzimas claves en la biosíntesis de estas hormonas, siendo el ejemplo más claro la CYP17A1 (17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa), que tiene la función de producir dehidroepiandrostenodiona, androstenodiona, androstenodiol, testosterona y dihidrotestosterona a partir de progestágenos,

por lo que se han desarrollado fármacos, como el acetato de abiraterona cuya función reside en inhibir dicha enzima, pero ha presentado efectos adversos en el paciente, lo que limita su uso y produce la necesidad de desarrollar nuevos fármacos que mejoren la calidad de vida del paciente [7, 29].



Esquema 1. Biosíntesis de hormonas esteroideas.

2.1.2 Esteroides como anticancerígenos

Los esteroides son productos naturales que se encuentran distribuidos en plantas, animales y hongos, estos han demostrado tener una buena actividad biológica, dentro de la que destaca su actividad como anticancerígenos [15, 30]. El compuesto OSW-1 (**2**) es una saponina que se extrae de los bulbos de planta *Ornithogalum saundersiae* y que ha mostrado tener actividad citotóxica 100 veces mayor que la del taxol [27, 30].

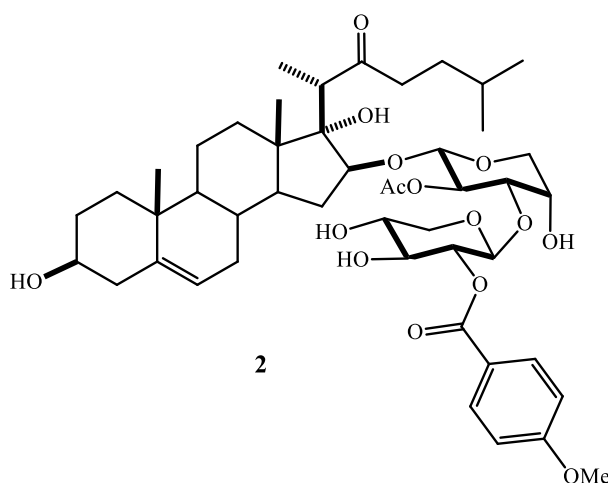


Figura 7. Estructura del compuesto OSW-1 (**2**).

La diosgenina (**1**) es otro esteroide con actividad anticancerígena, que se encuentra en diferentes plantas como la alholva o fenogreco (*Trigonella foenum graecum*), raíces de ñame silvestre (*Dioscorea villosa*), *Solanum incanum* Lloydia, *Costus speciosus*, *Solanum xanthocarpum*, *Dioscorea composita* y *Dioscorea mexicana* [15]. La diosgenina ha demostrado suprimir la proliferación e inducir la apoptosis en diferentes líneas de células tumorales, como leucemia humana K562, eritroleucemia humana, células de carcinoma de colon humano HCT-116, osteosarcoma humano 1547, mama y hepáticas[31, 32, 33, 34,35] revierte la resistencia a múltiples fármacos en células cancerosas y sensibiliza a estas a la quimioterapia [36]. Además, se emplea en el tratamiento de otras enfermedades como diabetes, hipercolesterolemia, dolencias gastrointestinales, inflamación intestinal, trastornos cerebrales, enfermedades alérgicas, síntomas menopáusicos y envejecimiento de la piel, además de proporcionar un efecto protector en enfermedades cardiovasculares (trombosis y arteriosclerosis) [37].

Se han evaluado extractos de plantas con gran cantidad de saponinas esteroidales, tanto en estudios *in vitro* e *in vivo* contra diferentes tipos de cáncer; en la figura 8 se presentan los resultados de estos ensayos [14].

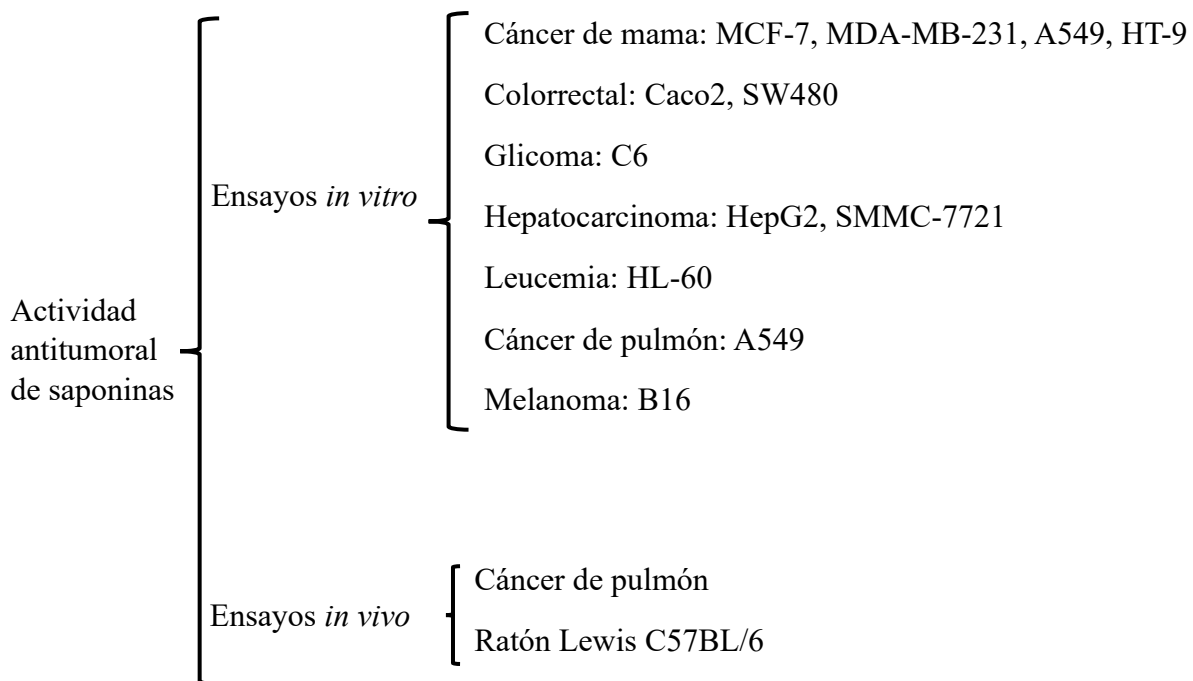
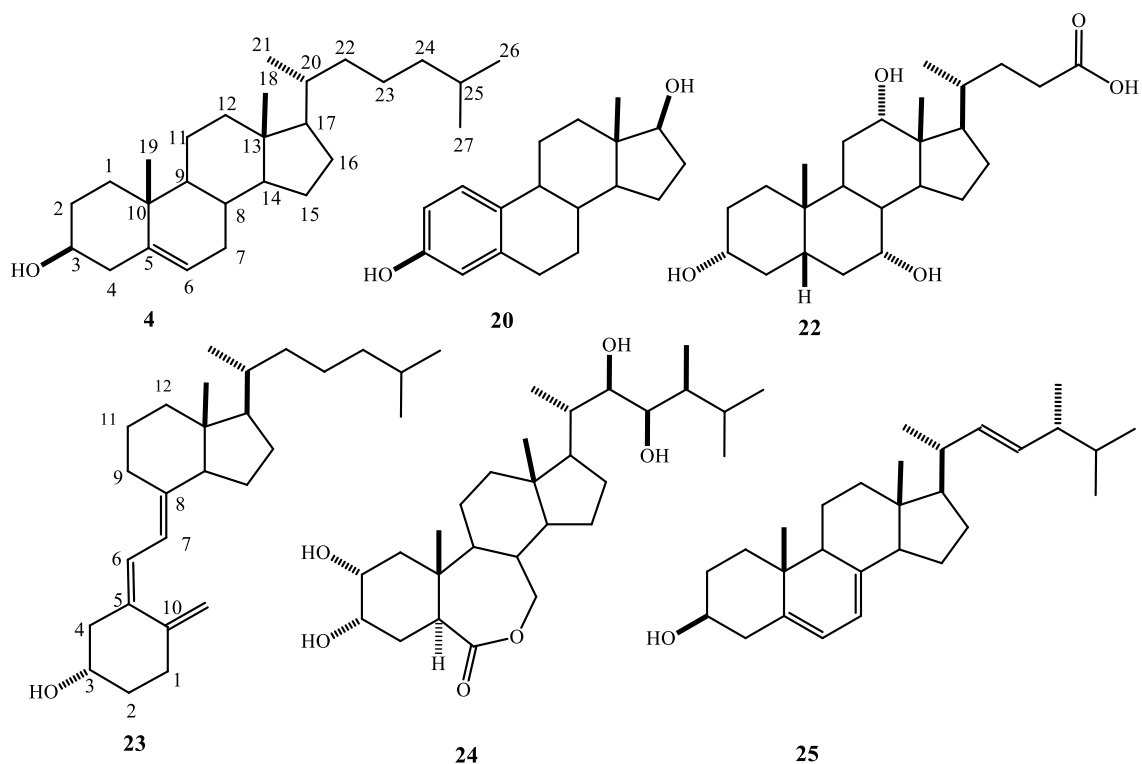


Figura 8. Ensayos *in vitro* e *in vivo* para evaluar la actividad antitumoral de saponinas. Tomado y modificado de [35].

2.2 Generalidades de los esteroides

Los esteroides son productos naturales con una amplia actividad biológica que se encuentran en animales, plantas, hongos y algas [15]. En el reino animal los esteroides están presentes en animales superiores, siendo el colesterol el principal esteroide que actúa como precursor de otros esteroides como hormonas esteroideas, ácidos biliares, vitamina D₃ y corticoesteroides [15]. En el reino vegetal se distribuyen ampliamente en plantas inferiores y superiores [38]. Los brasinoesteroides por ejemplo son hormonas de crecimiento vegetal y protegen a las plantas del estrés biótico y abiótico [38].

Estructuralmente se caracterizan por tener un sistema de cuatro anillos fusionados denominado ciclopenta[α]fenantreno, y éste puede sufrir una o más escisiones de enlaces además de ampliaciones o reducciones de los anillos. El sistema de numeración establecido la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) para estas estructuras se puede observar en la figura 9 en la estructura del colesterol (**4**), además que también se presentan algunas excepciones como en el caso de la vitamina D₃ (colecalfiferol) (**22**) [39].



*Figura 9. Estructuras de distintos esteroides: Colesterol (**4**), estradiol (**20**), ácido cólico(**22**), vitamina D₃(**23**), brassinolida (**24**) y ergosterol (**25**).*

Las sapogeninas son agliconas de saponinas y se pueden clasificar en tres subclases: colestánicas, furostánicas y espirostánicas, las cuales difieren en la cantidad de anillos que presentan en su estructura, por ejemplo, el lanostano (**26**) presenta cuatro anillos, (**27**) el pseudotigogenina muestra cinco anillos y la yamogenina (**28**) seis anillos (figura 10). En el caso

de las sapogeninas espirostánicas, presentan un carbono espiro que une a los dos últimos anillos [40].

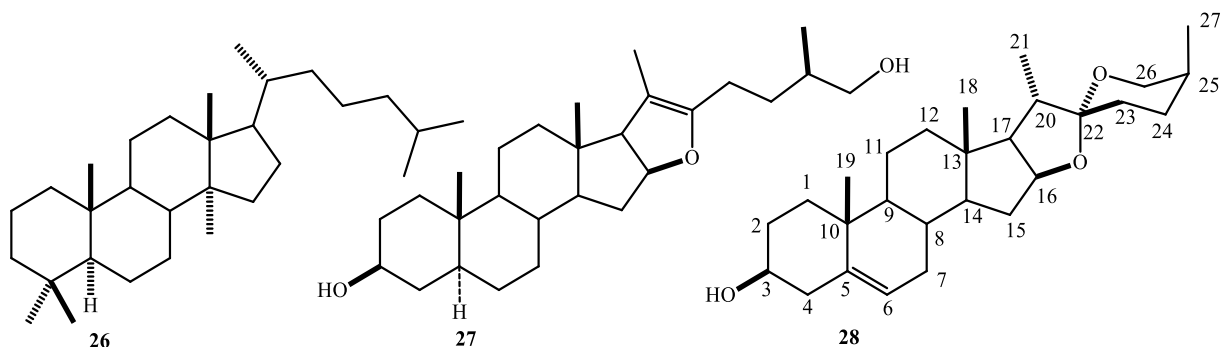
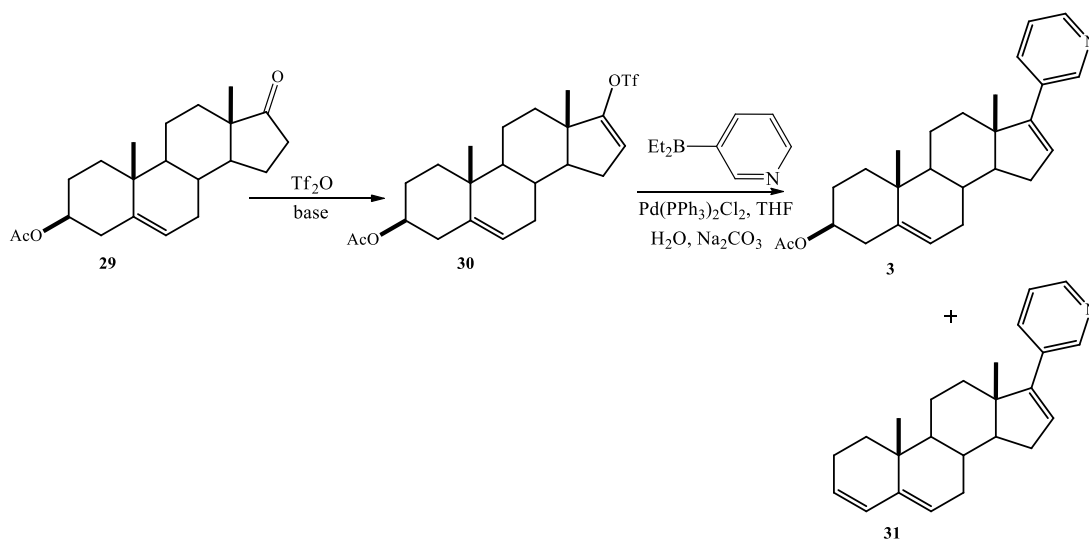


Figura 10. Estructura de lanostano (26), pseudotigogenina (27) y yamogenina (28).

2.3 Acetato de Abiraterona: un fármaco contra CPRC

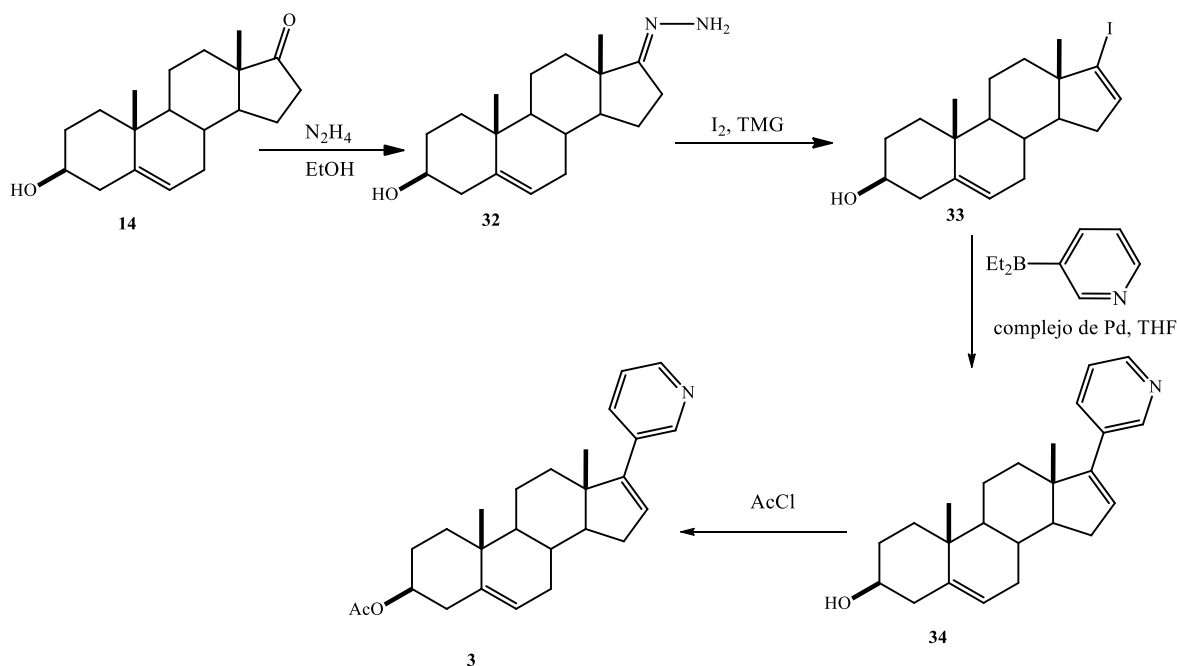
Referente al CPRC, el acetato de abiraterona (**3**) es un fármaco encargado de interrumpir el ciclo normal de la síntesis de hormonas androgénicas inhibiendo enzimas específicas como la CYP17A1, su efecto es comprobado ya que se disminuye la cantidad de PSA > 50% [41].

Por otro lado, respecto a la síntesis de este fármaco en la patente con número de publicación internacional: WO 2016/004910 A1 se reportan varias metodologías para la síntesis de AA, las cuales muestran múltiples desventajas como el uso de reactivos altamente corrosivos, tóxicos y de elevado precio. Una de las técnicas descritas en dicha patente es mediante la reacción de Suzuki de acoplamiento cruzado, donde a partir de acetato de dehidroepiandrosterona con anhídrido trifluorometansulfónico (Tf₂O) se forma el enol triflato (**30**) en cual con dietil 3-piridilborano (3-PyBEt₂) en presencia de Pd(PPh₃)₂Cl₂ en THF como disolvente, se genera, se genera el AA (**3**). En este paso puede ocurrir una reacción competitiva de eliminación, conduciendo a la formación de la impureza **31** (esquema 2) haciendo necesario el empleo de técnicas cromatográficas para la purificación del compuesto; esto en gran escala implica un obstáculo en el proceso de obtención del principio activo [42].



Esquema 2. Síntesis de acetato de abiraterona (3).

En la patente EP0721461B1 se presenta otra ruta de síntesis para el AA (esquema 3), donde a partir del esteroide dehidroepiandrosterona (14) con hidrazina en etanol, conduce al compuesto (32), que se convertirá más tarde en el haloderivado (33), el cual por medio de una reacción de Suzuki con dietil 3-piridilborano catalizado con un complejo de paladio produce a (34), finalmente mediante de una acetilación se obtiene el producto deseado (3) [43].



Esquema 3. Síntesis de acetato de abiraterona (3).

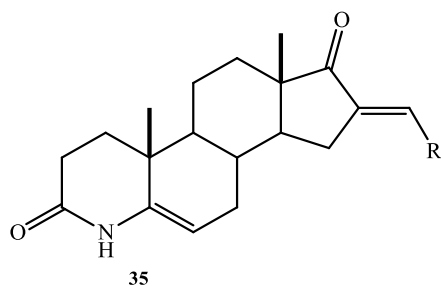
2.4 Estudios de acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular es una técnica de mecánica molecular empleada para predecir las energías y modos de interacción entre ligandos y proteínas, generando información importante para el desarrollo de nuevos compuestos químicos con posibles efectos biológicos. Estas herramientas computacionales o estudios *in silico*, surgen de la necesidad de acelerar y optimizar los tiempos de desarrollo de sustancias activas contra patologías que afectan a la sociedad actual, ya que el desarrollo de fármacos anteriormente era un proceso de investigación largo y complejo [44].

Los estudios *in silico* han ganado aprobación y se han convertido en una parte integral en la investigación, descubrimiento y optimización de nuevos fármacos, esta técnica proporciona un criterio de selección [45].

Estos estudios se basan en cálculos estimados de energía de unión entre receptores macromoleculares y moléculas pequeñas, gracias a las estructuras tridimensionales de rayos X de complejos de proteínas y ligandos, arrojando datos de interacciones entre la proteína y ligando, factores estéricos y modo de unión [46, 47].

Uno de los ejemplos del uso de esta técnica es la inhibición de proteínas relacionadas con la proliferación del cáncer de próstata, en donde a partir de compuestos 4-azaandrostenos se inhibió la enzima 5α -reductasa, además de presentar bajos niveles de toxicidad en células normales (figura 11). Los resultados de las simulaciones *in silico* de estos compuestos mostraron que estos derivados pueden inhibir potencialmente a la enzima 5β -reductasa, enzima homóloga a 5α -reductasa [29].



R= Ph	IC ₅₀ =22.63	ΔG= -9.62
R= PhCH ₃	IC ₅₀ =45.31	ΔG= -6.76
R= PhNO ₂	IC ₅₀ >100	ΔG= -2.61
R= tiofeno	IC ₅₀ =2.30	ΔG= -10.77

Figura 11. Relación estudio de acoplamiento molecular con la actividad antiproliferativa de derivados azaesteroidales en cáncer de próstata (IC₅₀=μg/mL, ΔG= kcal/mol).

2.5 Propiedades farmacocinéticas

Para que un fármaco produzca sus efectos terapéuticos debe alcanzar una concentración precisa en el medio que interactúa con los receptores, y esto depende de los siguientes procesos:

- *Absorción*, se refiere al ingreso del fármaco en el organismo, incluye los procesos de liberación de su forma farmacéutica, disolución y absorción.
- *Distribución* del fármaco para que llegue del lugar de absorción, a la circulación sistémica y desde ella a los tejidos. Para que el fármaco llegue a su lugar de acción debe atravesar diversas membranas para llegar a la sangre, y para pasar de ésta al líquido intersticial, al interior de las células e incluso de estructuras intracelulares.
- *Eliminación* del fármaco, ya sea por *metabolismo* principalmente hepático o por *excreción* del fármaco inalterado por orina, bilis, etc. [48].

El curso temporal de la cantidad de fármaco en el organismo depende del conjunto de estos procesos, por tal motivo, la cantidad de fármaco que hay en el organismo siempre es variante; la cantidad de los metabolitos dependerá de los procesos de formación y eliminación [48].

Durante el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos se evalúa su absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) con la finalidad de seleccionar que productos químicos sintetizar y probar, para identificar cuales presentan una mayor oportunidad de convertirse en un medicamento efectivo para los pacientes [19].

En su mayoría los fármacos evaluados en ensayos clínicos tienen una baja tasa de éxito debido a la falta de eficacia, pobres propiedades farmacocinéticas o presencia de toxicidad. Si bien las propiedades de unión de un nuevo medicamento con el objetivo terapéutico son cruciales, es importante asegurar que puede alcanzar el sitio objetivo en concentraciones suficientes para producir el efecto fisiológico. Por ello se han desarrollado métodos *in silico* que tienen la finalidad de predecir las propiedades ADME, a partir de su estructura molecular. Para esto los químicos medicinales y computacionales propusieron el término “similitud de fármacos” con la finalidad de filtrar moléculas con propiedades indeseables, a través de bibliotecas virtuales [49]. El filtro o las reglas más famosas de la similitud a fármacos es la “Regla de los cinco” propuesta por Lipinski y colaboradores, en donde se definen propiedades fisicoquímicas moleculares para compuestos activos por vía oral [50].

2.6 Moléculas con actividad biológica

La actividad biológica que presentan las moléculas depende de su estructura química, por esto se ha buscado realizar distintas modificaciones en moléculas concretas. En ocasiones el orden o disposición específica de los grupos funcionales en un conjunto de moléculas pueden conferirles actividad biológica, ya que esto conlleva a un acoplamiento específico con otros elementos, desencadenando una serie de reacciones.

Por ejemplo, se ha demostrado que algunos esteroides oxigenados procedentes del alga roja *Galazaura marginata*, presentan actividad citotóxica contra KB (carcinoma epidermoide oral humano) y células P-388 (leucemia linfocítica de ratón) (figura 12). Estas estructuras químicas presentan grupos funcionales similares, tanto en los anillos A y B del esteroide, así como una cadena lateral distinta [51].

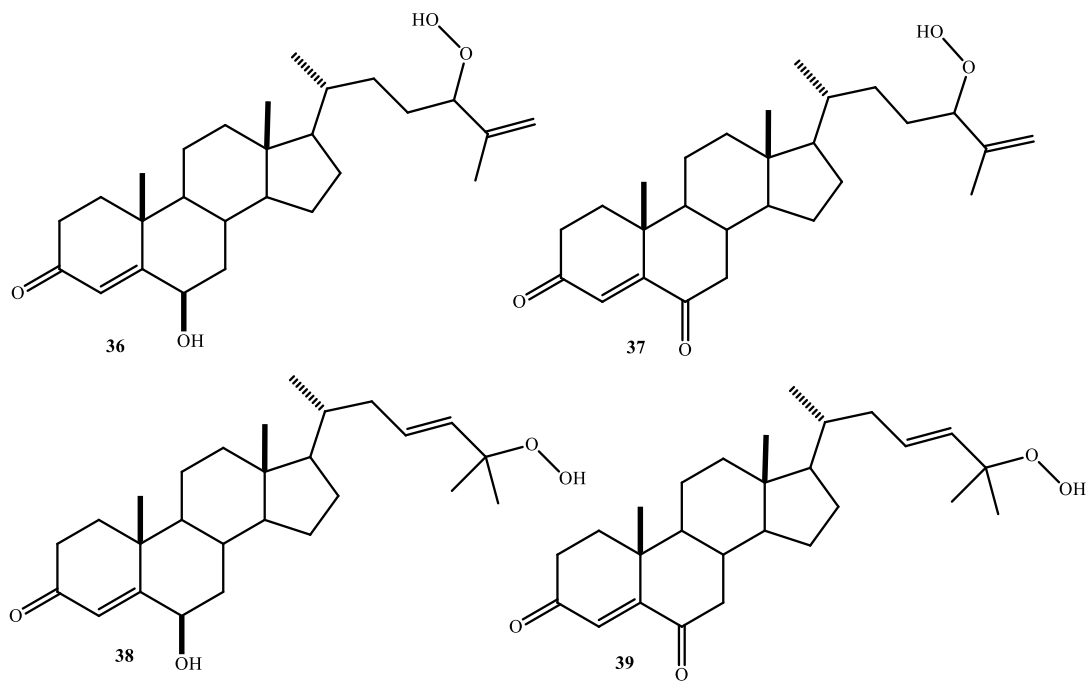


Figura 12. Estructuras de esteroides oxigenados con actividad citotóxica.

Otros estudios han comprobado que la presencia del sistema 4-en-3-ona en el anillo A de compuestos esteroideos (figura 13), puede conferirles a estas estructuras actividad como antimaláricos [52].

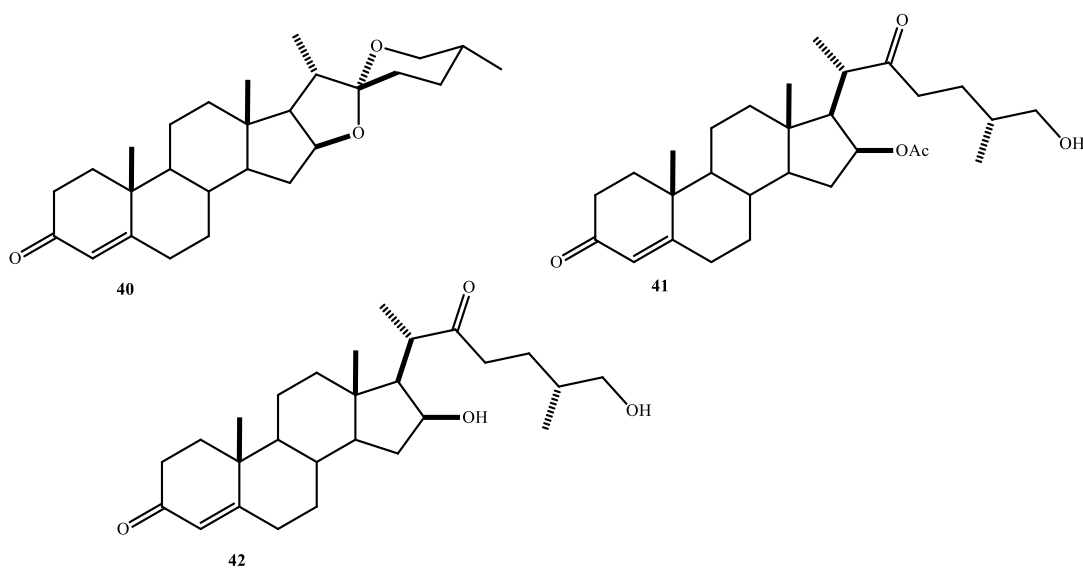


Figura 13. Diosgenona (40) y otros compuestos aislados de *Solanum nudum* Dunal, con actividad antimalárica.

Además, se ha demostrado mediante estudios *in vivo* el esteroide 5α -colesta- 3β , 5α , 6β -triol (**43**) que presenta una marcada actividad como hipocolesterolémico en ratones. El triol no solo disminuye los niveles de colesterol en sangre, sino que también normaliza las concentraciones de triglicéridos y fosfolípidos en suero [53].

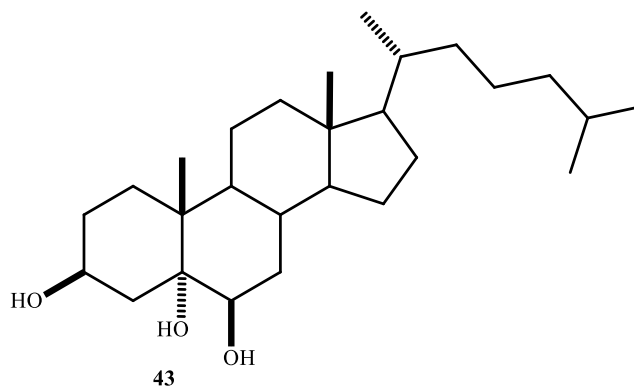


Figura 14. Estructura de 5α -colesta- 3β , 5α , 6β -triol (**43**).

De la misma manera, se observa que la presencia de la función 4-en-3,6-diona en esteroides con diferente cadena lateral (**44** y **45**) confiere actividad para inhibir la proliferación de la fibrosis hepática. [54]. Esto indica que las relaciones estructura-actividad son una base para la modificación racional de estructuras químicas

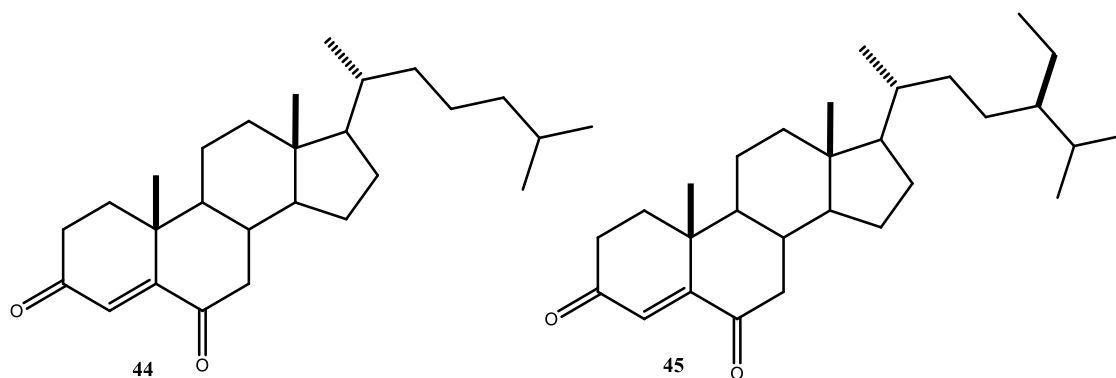


Figura 15. Estructuras de esteroides con función 4-en-3,6-diona en anillos A y B.

Un estudio reporta la síntesis de ocho nuevos compuestos 5β -hidroxi-espirostan-6-ona con funciones hidroxilo y amino en el anillo A, donde la selección de estos grupos funcionales busca favorecer la actividad anti-ecdisteroides de estos compuestos. El uso de espirostanos se debe a la similitud estructural con los ecdisteroides; por otra parte, la inserción de la función 2,3-

hidroxi-6-oxo puede favorecer la unión al receptor de ecdisteroide, y de esta manera comportarse como antagonista de estas hormonas. Los resultados de las evaluaciones con el mosquito *Aedes aegypti* revelaron que las moléculas (46) y (47) son las que presentan mayor efecto inhibitorio sobre el desarrollo de las larvas [55].

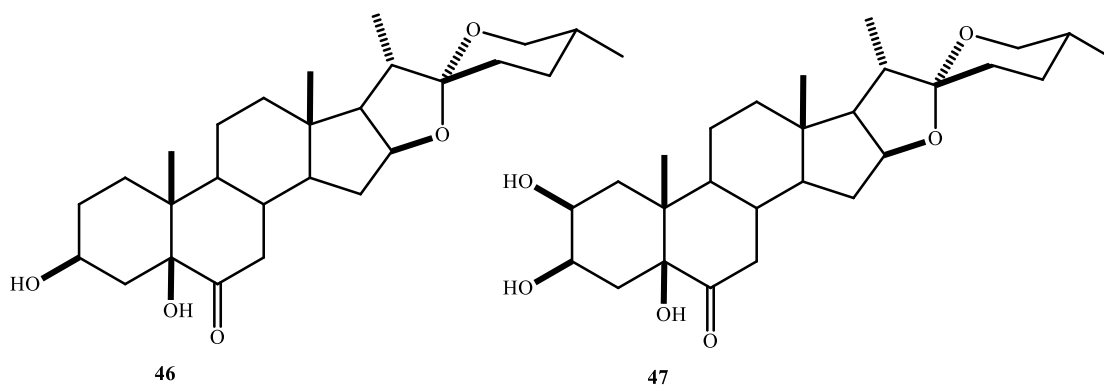


Figura 16. Derivados 5β-hidroxi-espirostan-6-ona con actividad anti-ecdisteroide.

La selección de grupos funcionales, así como la estereoquímica de estos en una molécula específica pueden incrementar o disminuir la relación estructura-actividad. En base a esto se pueden planificar la estructura química de algunos compuestos, con la finalidad de conferir actividad biológica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Diseñar y sintetizar derivados esteroidales mediante estudios *in silico* y a partir de sapogeninas esteroidales, para identificar posibles inhibidores de la enzima CYP17A1 relacionada con el cáncer de próstata.

3.2 Objetivos particulares

- Calcular energías de acoplamiento entre el RA, la enzima CYP17A1 y cada uno de los compuestos haciendo uso de estudios de acoplamiento molecular.
- Predecir propiedades farmacocinéticas de los compuestos diseñados mediante la plataforma SwissADME.
- Sintetizar estructuras esteroidales derivadas de sapogeninas esteroidales con modificaciones en los anillos A y B.
- Elucidar estructuralmente cada uno de los compuestos sintetizados mediante técnicas físicas y espectroscópicas.

4. DISCUSION DE RESULTADOS

Las modificaciones químicas que se realizaron en la diosgenina (**1**) buscan mimetizar grupos funcionales presentes en las hormonas androgénicas que se unen de manera natural al receptor de andrógenos y a la enzima CYP17A1. Estas modificaciones (figura 17) se llevaron a cabo en los anillos A y B de **1**.

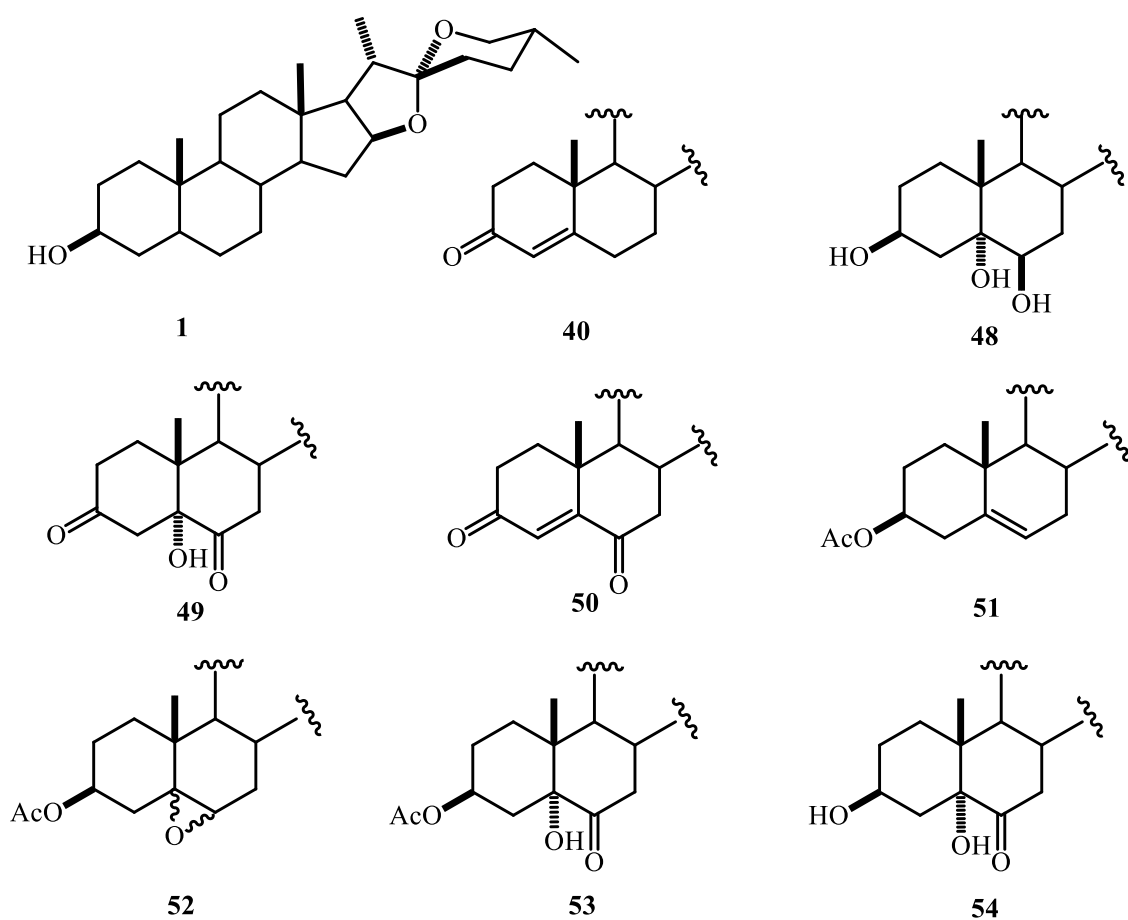


Figura 17. Estructuras diseñadas derivadas de diosgenina (**1**)

4.1 Estudio de acoplamiento molecular con RA y la enzima CYP17A1

Este estudio permite predecir si los compuestos propuestos pueden fungir como inhibidores de la enzima CYP17A1 o bloqueadores del receptor de andrógenos. Los resultados son expresados con base a la energía de acoplamiento (expresa el conjunto de fuerzas de atracción-repulsión) entre proteína-ligando.

Los resultados del estudio *in silico* indican que ninguno de los compuestos (**1, 40, 48-54**) tiene un efecto directo bloqueador importante sobre el receptor de andrógenos (figura 17), debido a que su energía de acoplamiento es menor a la mostrada por la dihidrotestosterona (DHT). El receptor de andrógenos muestra una alta selectividad a la DHT en comparación con estos derivados.

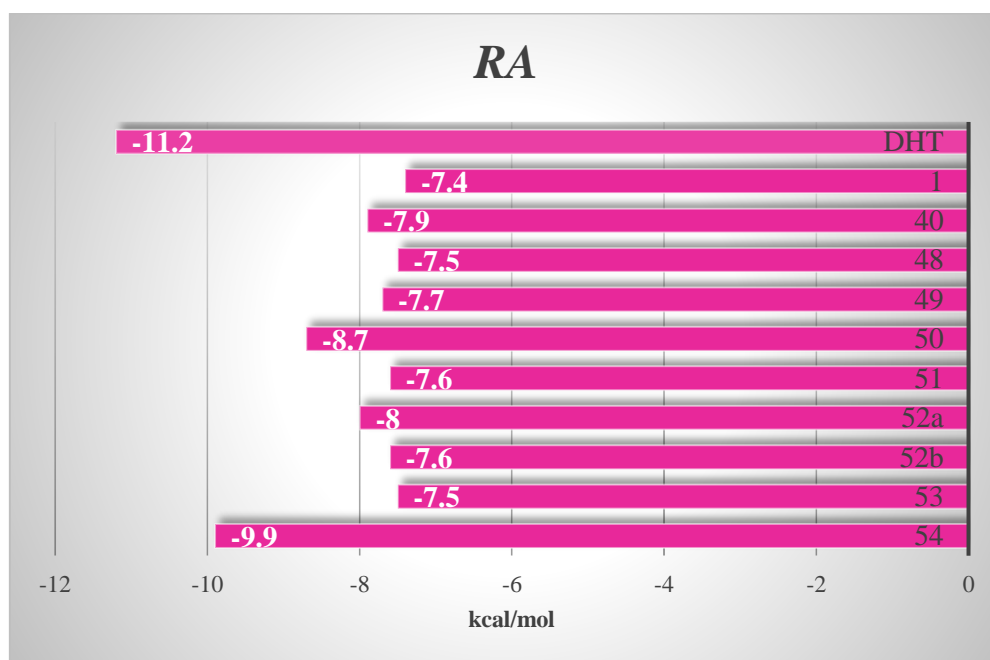


Figura 18. Gráfico de las energías de acoplamiento de compuestos con el receptor de andrógenos.

Contrario a esto, los resultados de la inhibición de la enzima CYP17A1 muestran que todos los compuestos presentan mayor energía de acoplamiento que los sustratos naturales de esta enzima (progesterona, pregnenolona, y sus respectivos compuestos 17 α -hidroxilados) y que la abiraterona, fármaco de referencia contra el cáncer de próstata.

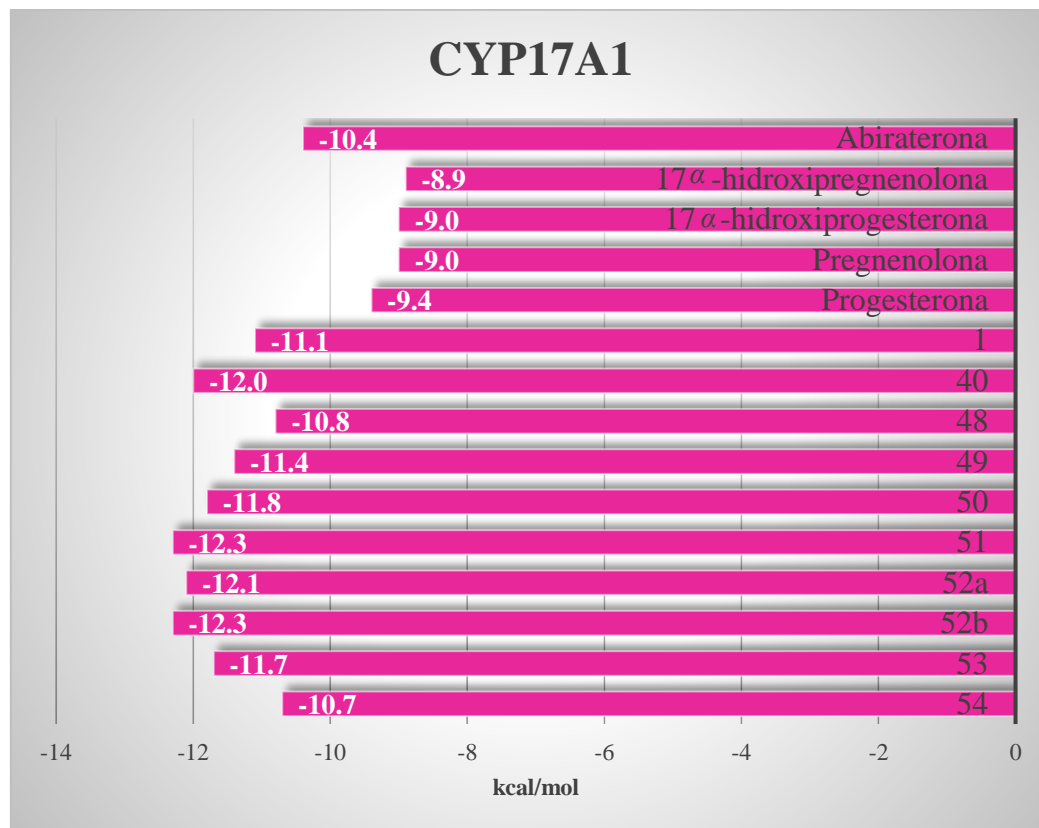


Figura 19. Gráfico de las energías de acoplamiento de compuestos con la enzima CYP17A1.

4.2 Predicciones farmacocinéticas: ADME

La predicción de los parámetros ADME se determinaron a través de la herramienta web SwissADME [19], donde se predice la farmacocinética, la similitud a fármacos y la química medicinal de las moléculas propuestas. En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos, donde se observó una alta absorción gastrointestinal por parte de todos los compuestos (**1**, **40**, **48-54**) además de que no inhiben enzimas CYP relacionadas con el metabolismo de fármacos, permitiendo predecir la capacidad de metabolizar y excretar los compuestos después de su acción farmacológica.

Con respecto a la similitud a fármacos se emplean las reglas de Lipinski, Ghose, Egan y Muegge haciendo referencia a la factibilidad de tener éxito como fármacos orales. Varias moléculas presentaron múltiples violaciones a estas reglas (**1**, **40**, **51**, **52a**, **52b** y **53**), tres más solo

presentan una única violación (**48**, **49** y **54**) y el compuesto **50** es el único que no muestra ninguna violación; ya que estos parámetros permiten determinar la probabilidad de ser un fármaco oral, la molécula con mayor probabilidad de ser administrada por esta vía es la molécula **50**.

Tabla 1. Viabilidad de compuestos 1, 40, 48-54 como posibles fármacos a partir de predicción de propiedades farmacocinéticas

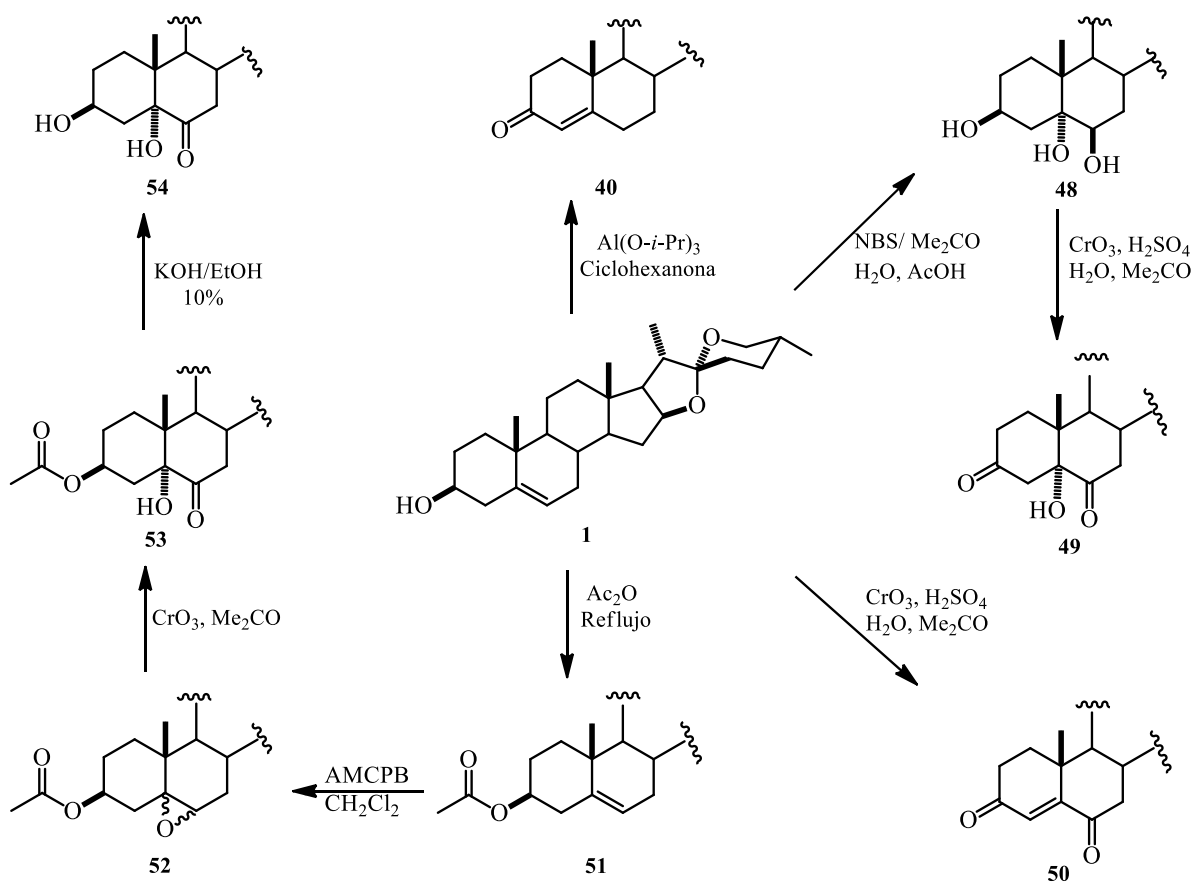
		Compuestos									
Actividad		1	40	48	49	50	51	52a	52b	53	54
Farmacocinética	Absorción gastrointestinal	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta
	Permeabilidad neuronal	Si	Si	No	Si	Si	No	No	Si	No	Si
	Sustrato de glicoproteínas	No	No	Si	Si	No	No	No	Si	Si	Si
	Inhibidor de CYP1A2, CYP2C19, CYPC9, CYP2D6 y CYP3A4	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
	Log Kp (cm/s) permeación de la piel	-4.8	-4.8	-6.1	-6.4	-5.5	-4.6	-4.1	-5.1	-5.9	-6.1
Similitud a fármacos	# Violaciones Lipinki	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0
	# Violaciones Ghose	2	1	1	1	0	3	3	2	3	1
	# Violaciones Egan	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	# Violaciones Muegge	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0
	Biodisponibilidad	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
Química medicinal	# Alertas Brenk	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
Viabilidad		No	No	Si	Si	Si	No	No	No	No	Si

El apartado de química medicinal refleja la detección de fragmentos problemáticos en la estructura, es decir, compuestos que sean inestables, reactivos o tóxicos, la molécula **1**, **51**, **52a** y **52b** son las que presentan violaciones a esta alerta.

Teniendo en cuenta estos datos los compuestos **1**, **40**, **51**, **52a**, **52b** y **53** son los que probablemente no tengan éxito al ser efectivos como fármacos, mientras que las moléculas **48**, **49**, **50** y **54** presentan una mejor oportunidad de convertirse en medicamentos efectivos.

4.3 Síntesis química

La obtención de muchas sustancias empleadas en la investigación científica se hace a partir de la semi-síntesis o síntesis parcial, un tipo de síntesis química que hace uso de productos naturales como materia prima para conducir a nuevos compuestos con propiedades químicas y biológicas distintas. En este trabajo se propone que, a partir de diosgenina (**1**) se realicen múltiples reacciones de oxidación (esquema 4) para la obtención de ocho compuestos distintos con grupos funcionales oxigenados: hidroxilo, éster, carbonilo, así como insaturaciones en los anillos A y B del esteroide, continuando con la caracterización de cada uno de los compuestos obtenidos.



Esquema 4. Ruta de síntesis de derivados de diosgenina (1).

4.3.1 Materia prima (1)

La materia prima empleada en la obtención de cada uno de los compuestos propuestos fue la diosgenina (1) conseguida de manera comercial con una pureza de 92% debido a esto fue necesaria su purificación para evitar la formación de productos secundarios, así como realizar su caracterización espectroscópica. En la figura 20 se presenta el espectro de RMN de ¹H a 500 MHz de diosgenina en donde se observa en 5.35 ppm a H-6, con una multiplicidad *ddd*; a menor frecuencia en 4.41 ppm se encuentra el H-16 presentando una multiplicidad *ddd* por el acoplamiento que presenta con H-15 y H-17 ($J_{16-17} = 8.7$ Hz, $J_{16-15ax} = 7.6$ Hz, $J_{16-15ec} = 6.4$ Hz). En 3.53 ppm se encuentran la señal de H-3 base de oxígeno como una señal múltiple y junto a

esta, en 3.47 ppm aparece la señal del protón diasterotópico H-26 ec que muestra una multiplicidad *ddd*, producto del acoplamiento geminal con el protón H-26 ($J_{26ec-26ax}=10.8$ Hz), el acoplamiento a tres enlaces con H-25 ($J_{26ec-25}=4.4$ Hz) y el acoplamiento 4J W con el H-24 ec ($J_{26ec-24ec}=2.1$ Hz); a frecuencias ligeramente menores encontramos la señal de H-26 ax en 3.38 ppm con una multiplicidad *dd*, pero debido a que las constantes de acoplamiento son iguales ($J_{gem}=J_{26ax-25}=10.8$ Hz) se observa como una señal triple.

En frecuencias menores en 2.27 ppm se encuentran ambos protones de C-4, los protones diasterotópicos H-7 se presentan en 1.98 y 1.48 ppm y los protones H-2 se localizan en 1.83 y 1.48 ppm; estas señales presentan una ligera desprotección por ser vecinos de grupos con mayor densidad electrónica. Por último, de 1.0 a 0.75 ppm aparecen las señales características de los metilos con posiciones 18, 19, 2 y 27.

Se elucidó el espectro de ^{13}C de (**1**) (figura 21) donde se presentan las señales más representativas. En 140.8 ppm y 121.5 ppm se encuentran las señales de C-5 y C-6 respectivamente que corresponden a carbonos con hibridación sp^2 . La señal del carbono espiroacetal C-22 se ubica en 109.6 ppm indicando la presencia del anillo F, enseguida en la región que comprende de 66.5 a 81.0 ppm se presentan varias señales de carbonos unidos a oxígeno (C-3, C-16 y C-26), los cuales fueron diferenciados con ayuda de experimentos 2D HSQC y HMBC. Las señales de los metilos característicos de los esteroides se encuentran en un rango de 14.5 a 20.0 ppm.

En el espectro de dos dimensiones HMBC representado en la figura 22 se aprecia la correlación que presentan los protones del metilo 27 con C-26, la señal de H-4 se correlaciona con C-3 y el H-17 se correlaciona con C-16. De la misma manera, las señales de C-5 y C-6 presentan relación con H-7.

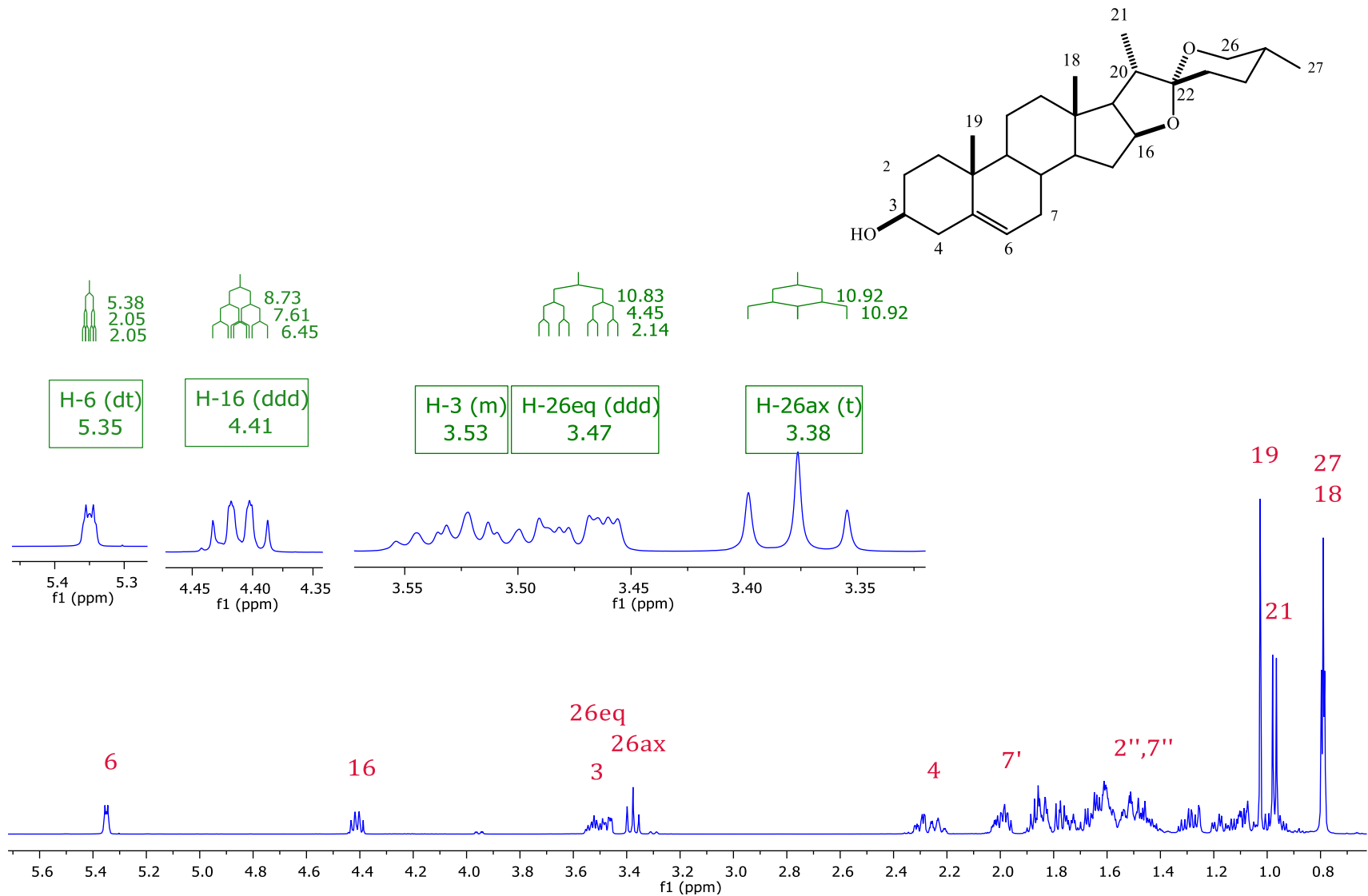


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz de diosgenina (1) en CDCl_3 .

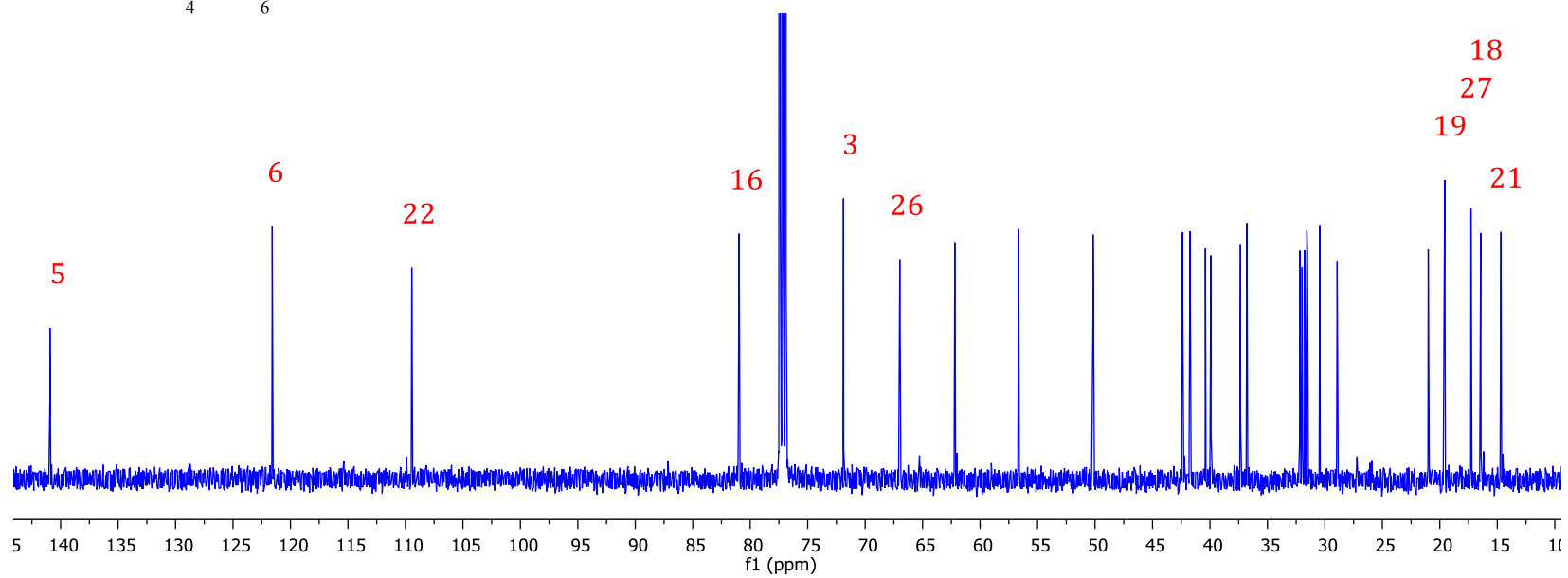
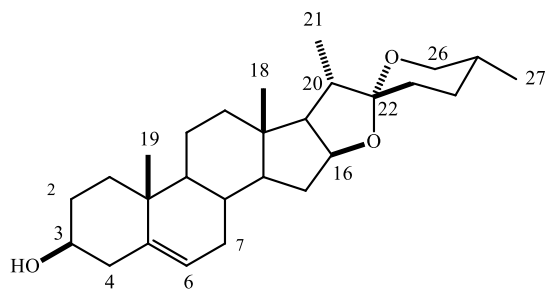


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C de diosgenina (1) a 125 MHz en CDCl_3 .

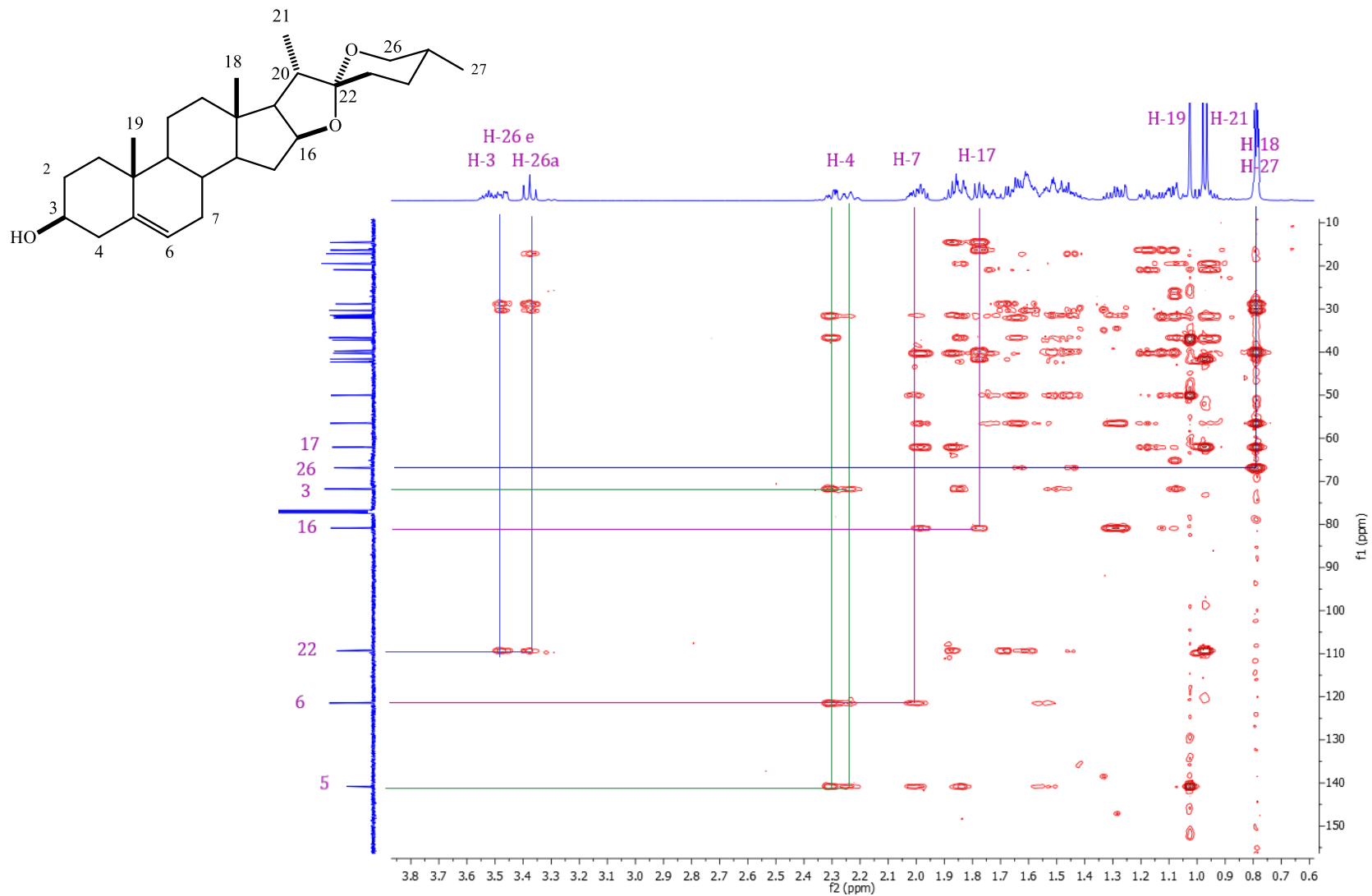
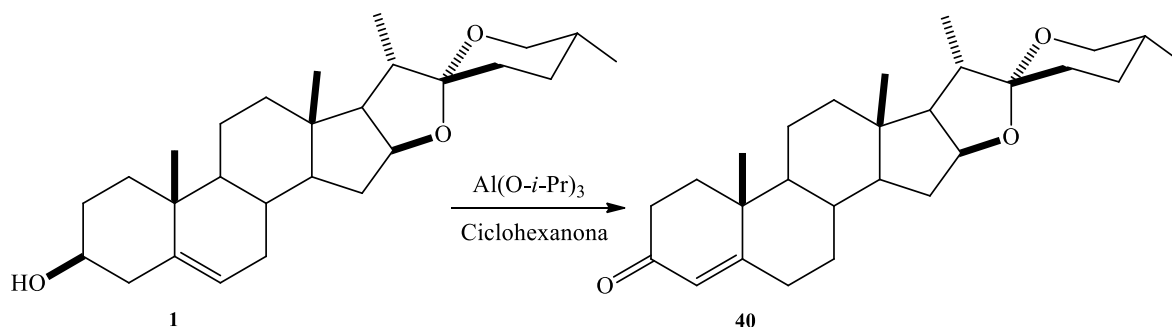


Figura 22. Espectro de RMN HMBC de diosgenina (1) en $CDCl_3$.

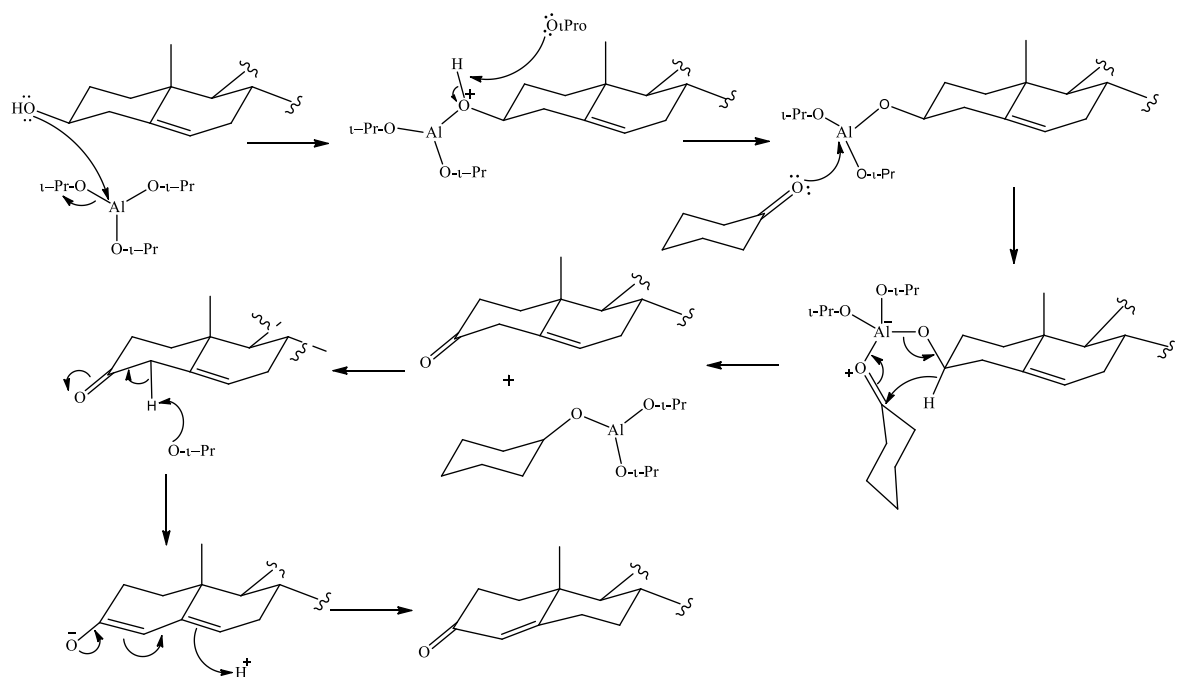
.3.2 Obtención de diosgenona (40)



Esquema 5. Obtención de diosgenona (40).

La oxidación de Oppenauer es una reacción de oxidación suave (en comparación con otros agentes oxidantes altamente tóxicos) utilizada ampliamente en la síntesis de esteroides y terpenos, en la cual se oxidan alcoholes secundarios a cetonas [56]. La síntesis de diosgenona se lleva a cabo mediante esta reacción haciendo uso de alcóxido de aluminio como catalizador, oxidando el alcohol de la posición 3 de diosgenina. El mecanismo de reacción se puede racionalizar de la siguiente manera: el alcohol desplaza uno de los componentes alcohólicos del alcóxido de aluminio para formar un nuevo alcóxido de aluminio, que más tarde formara un complejo con la ciclohexanona, la transferencia del hidruro ocurre a través de un estado de transición de seis miembros para dar una nueva cetona y alcóxido. El último paso es la conjugación del doble enlace con la cetona resultante.

En la figura 23 se muestra el espectro de ^1H de diosgenona donde se observa en 5.73 ppm una señal simple que corresponde a H-4, indicando el cambio de posición del doble enlace (en la materia prima se encuentra en posición 5); las señales de H-16, H-26 ec y H-26 ax no muestran algún cambio aparente comparado con diosgenina. La señal de H-3 ha desaparecido confirmando la reacción de oxidación en esta posición, mientras que los H-2 se desplazan a mayor frecuencia (de 1.48 y 1.83 ppm en diosgenina cambió a 2.41 ppm) dado que el grupo carbonilo del carbono vecino, creando un efecto de desprotección.



Esquema 6. Mecanismo de reacción para la síntesis de diosgenona (40).

Se observa un cambio significativo respecto al desplazamiento químico de H-6 ubicado en 2.31 ppm (antes localizado en 5.35 ppm en diosgenina) puesto que ha sufrido un cambio en su hibridación de sp^2 a sp^3 , además de ser hidrógenos enlazados a un carbono sp^3 que está unido a un carbono insaturado.

En el espectro de ^{13}C de diosgenona la señal de C-3 se ha desplazado a altas frecuencias (199.5 ppm) este gran cambio en el desplazamiento químico se debe al efecto de desprotección causado por la alta densidad del átomo de oxígeno que se encuentra enlazado directamente al átomo de carbono, así como el cambio en la hibridación que ha sufrido el átomo de carbono. Este desplazamiento confirma la presencia de un carbono carbonílico en esta posición. En frecuencias un poco más bajas se sitúan las señales de C-5 y C-4 en 171.1 y 123.8 ppm respectivamente, este cambio tan evidente en el desplazamiento se debe al cambio de hibridación y a que ahora forman parte de un sistema carbonilo α , β -insaturado. El resto de las señales no presentan un cambio significativo.

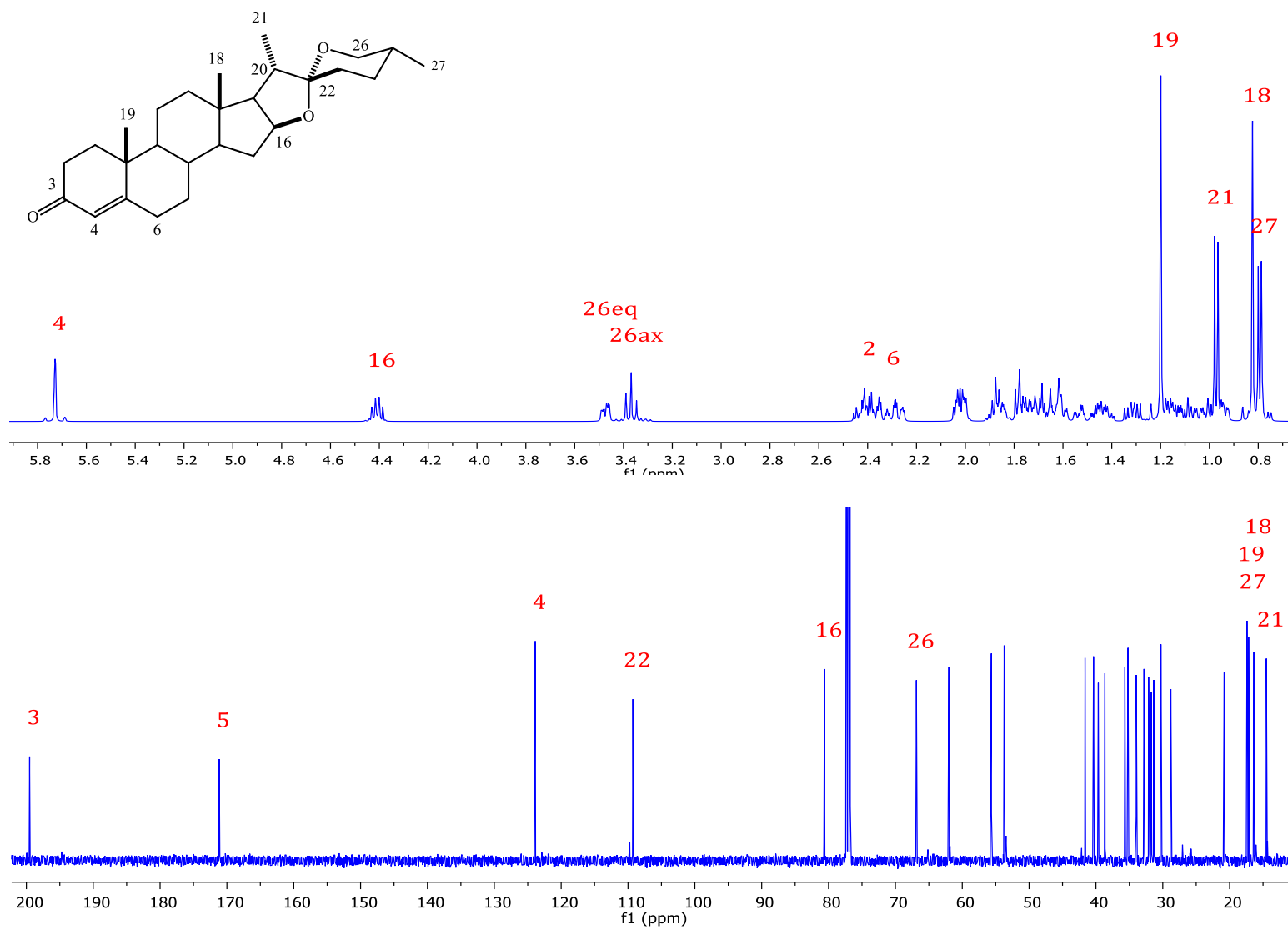
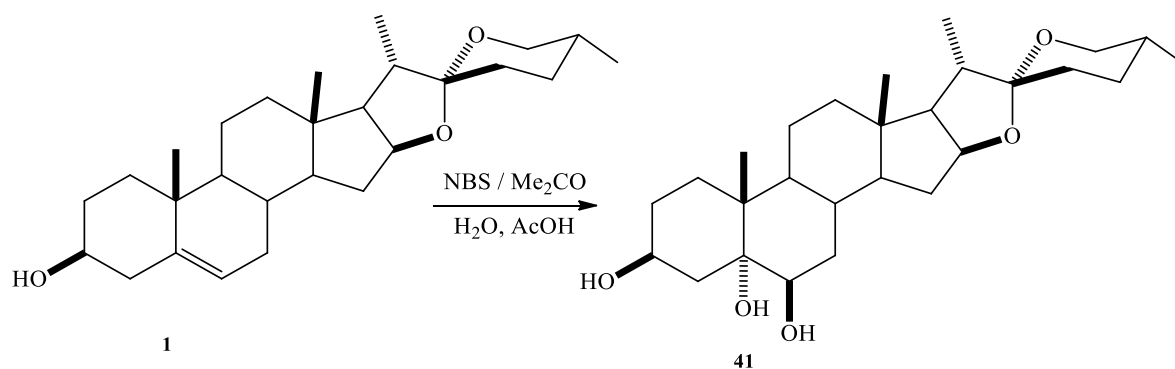


Figura 23. Espectro de RMN ^1H a 500 MHz (arriba) y de ^{13}C a 125 MHz (abajo) de diosgenona (40) en CDCl_3 .

4.3.3 Obtención de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (**48**)



Esquema 7. Síntesis de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (**48**).

Se ha encontrado que en esteroides Δ^5 con *N*-bromosuccinimida (NBS) en una mezcla de disolventes de acetona, agua y ácido acético (8:1:0.1) se produce una reacción de oxidación del enlace olefínico, dando lugar a compuestos *trans*-glicólicos 5 α ,6 β dihidroxílicos [57].

En el espectro de RMN de ¹H de **48** (en CDCl₃/MeOD) la señal de H-6 se ha desplazado a menor frecuencia en 3.47 ppm, en comparación con la señal de H-6 de la materia prima localizada en 5.35 ppm, producto del cambio de hibridación por la inserción del grupo hidroxilo, además de presentar un traslapamiento con la señal de H-26ec. El resto de las señales no presentan cambios significativos.

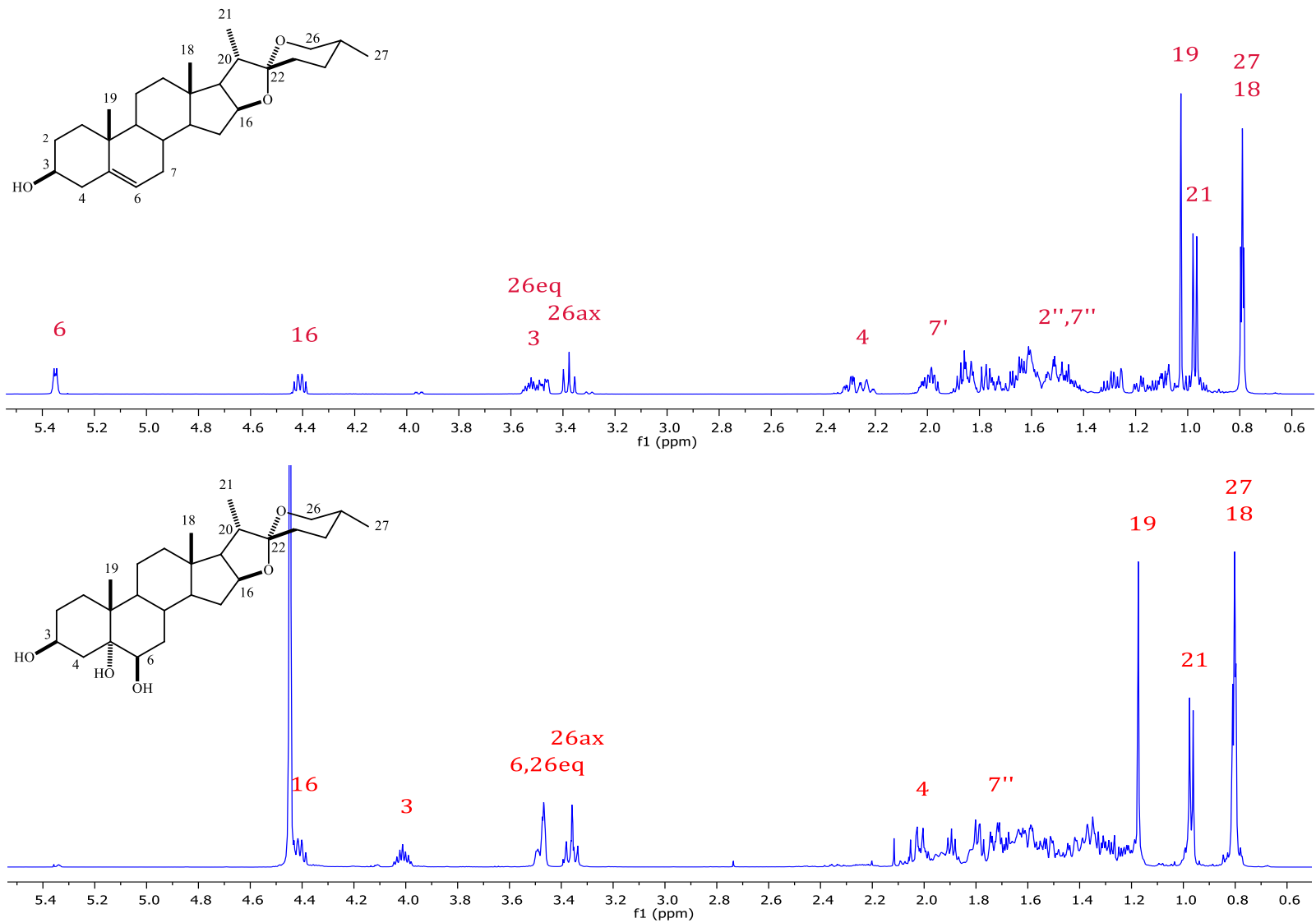


Figura 24. Comparación por RMN ^1H de diosgenina (1) arriba y (25R)-5 α -epirostan-3 β ,5,6 β -triol (48) abajo.

La figura 25 representa el espectro de ^{13}C del compuesto trihidroxilado, donde se aprecia un cambio en el desplazamiento de C-5 y C-6, al pasar de 140.8 y 121.5 ppm a 75.5 y 75.1 ppm respectivamente (en comparación con diosgenina); este cambio en el desplazamiento químico se debe a la pérdida del doble enlace en dichas posiciones además que los nuevos desplazamientos de estos carbonos corresponden a la región que comprende átomos de carbonos unidos a átomos electronegativos, en este caso, se comprueba la unión de los grupos hidroxilos en dichas posiciones. Estos experimentos se llevaron a cabo en una mezcla de disolventes $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ (2:1) debido a la baja solubilidad de **48** únicamente CDCl_3 de manera que, el adicionar un disolvente con mayor polaridad reafirma la presencia de grupos funcionales con mayor polaridad.

Para confirmar que las señales de H-4 y H-7 se hayan desplazado a frecuencias menores, se corroboró a través del espectro COSY (figura 26) donde se observan las correlaciones que presentan H-3 con H-4, así como de H-6 con H-7. Estas señales se ubican en la región que se asocia a protones unidos carbonos sp^3 con átomos más electronegativos.

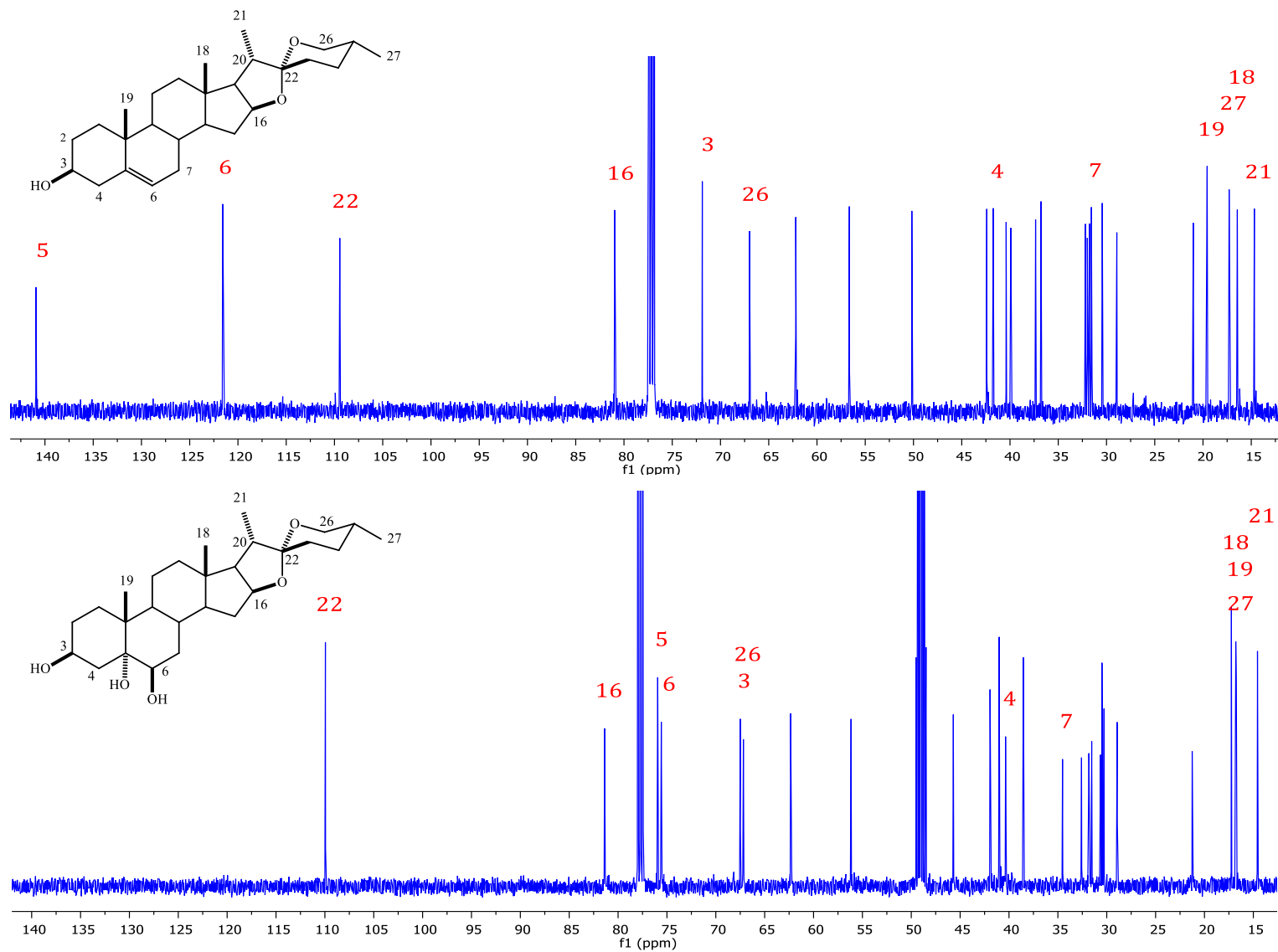


Figura 25. Comparación de Espectro de RMN ^{13}C de diosgenina (1) en CDCl_3 (arriba) y del compuesto 48 en $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$.

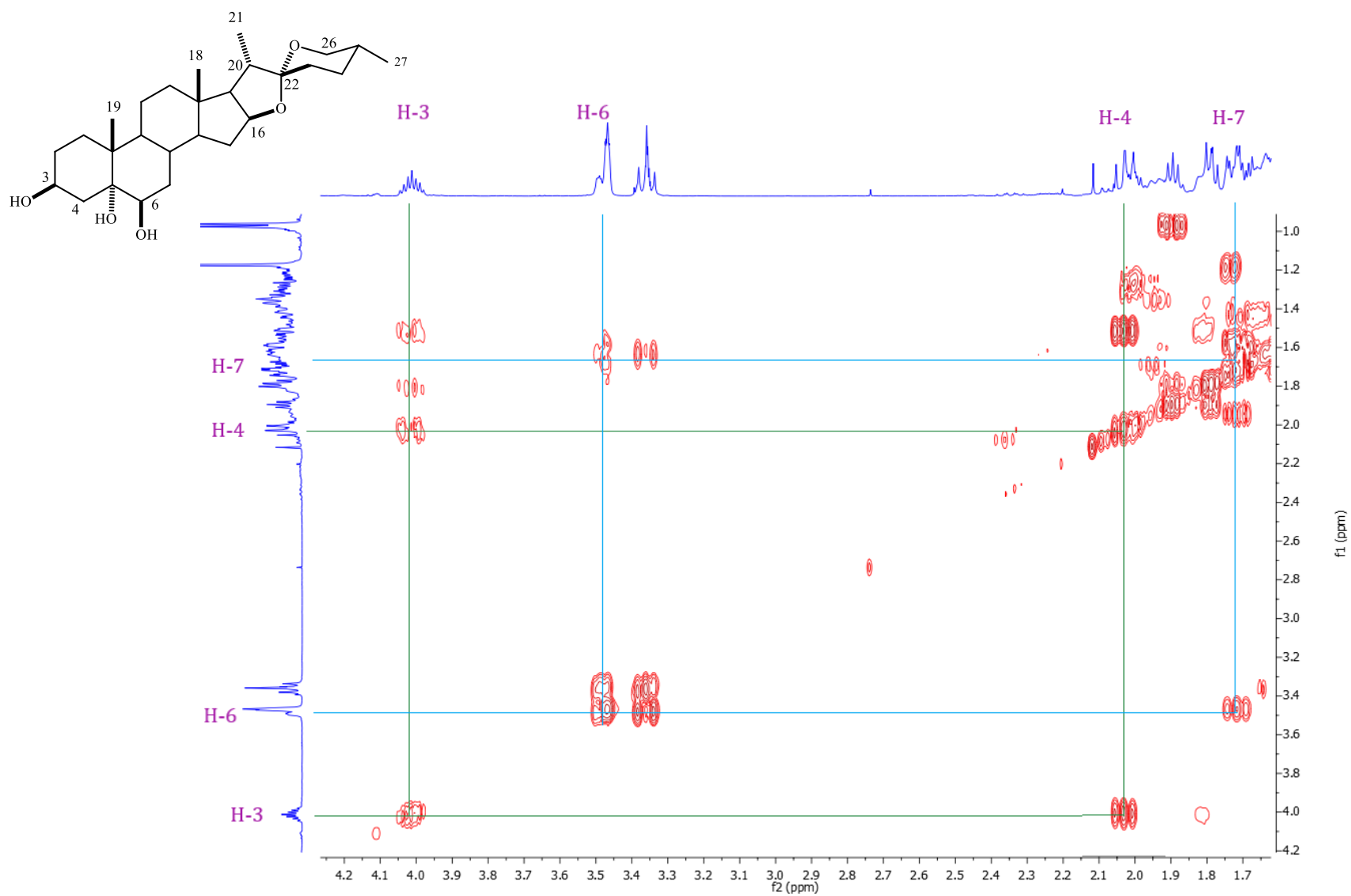
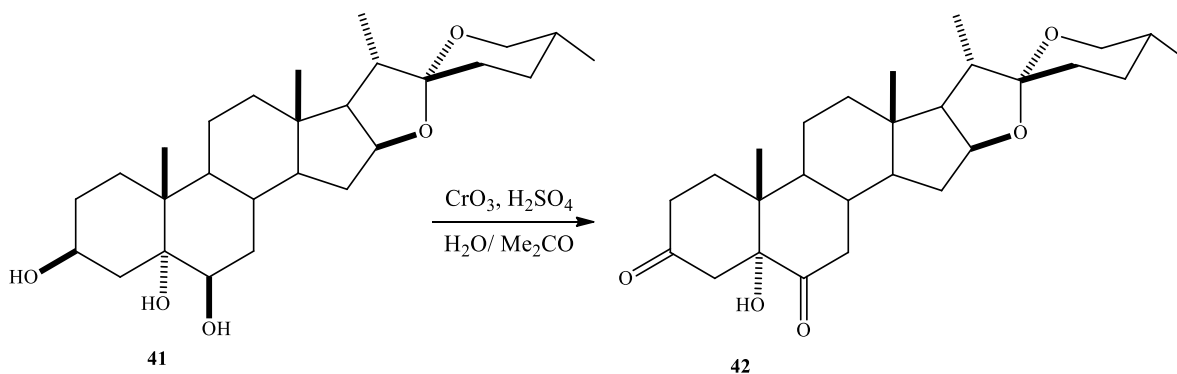


Figura 26 . Espectro RMN COSY de compuesto trihidroxilado (48) en $CDCl_3$.

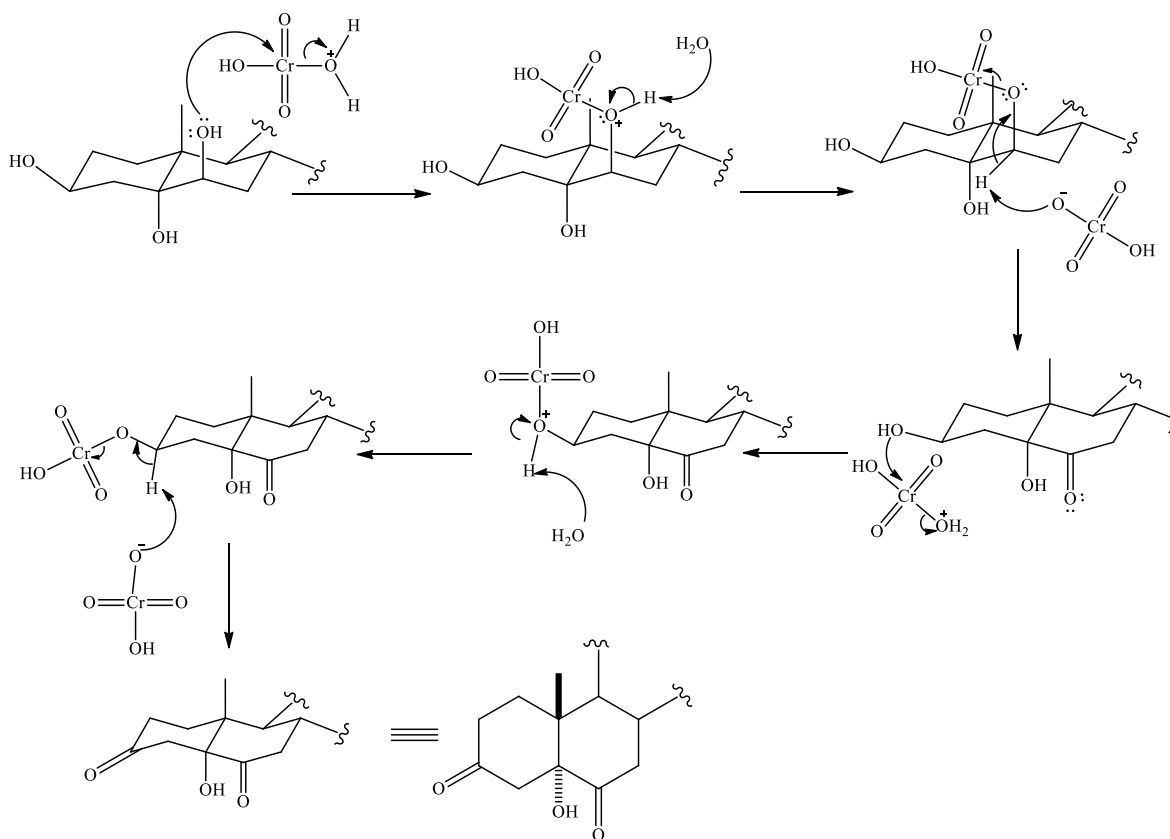
4.3.4 Síntesis de (25*R*)-5 α -espirostan-5-hidroxi-3,6-diona (**49**)



Esquema 8. Oxidación de (48) con reactivo de Jones.

El compuesto **49** se obtuvo a partir del compuesto trihidroxilado de diosgenina, el cual a través de una oxidación con reactivo de Jones se oxidan los alcoholes secundarios del esteroide. La mezcla de reacción se debe mantener a una temperatura de -10.0°C (por ser una reacción muy exotérmica) para la adición de la disolución de ácido crómico; el alcohol causa una reducción de los cationes Cr (VI) rojos a especies de cromo con aspecto verdoso.

En el mecanismo de reacción (esquema 10) por medio de una reacción de Sustitución Nucleofílica Bimolecular ($\text{S}_\text{N}2$) el alcohol forma un éster de ácido crómico desplazando a una molécula de agua como grupo saliente, a continuación, una base retira un protón del éster recién formado. Finalmente, un ion cromato ácido elimina un protón del cromato de alquilo dando paso al compuesto carbonílico y regenerando el ácido.



Esquema 9. Mecanismo de reacción para la obtención del compuesto (49).

En la figura 27 se presenta el espectro de protón, donde alrededor de 4.4 ppm se encuentra la señal del H-16; en 3.47 y 3.36 ppm se encuentran dos señales, asignados a los protones diastereotópicos 26 ec y 26 ax respectivamente. En 3.0 ppm se muestra una nueva señal simple del hidrógeno del grupo hidroxilo en posición 5; en 2.89 y 2.30 ppm se observan a los protones diastereotópicos H-7 y en 2.78 y 2.21 ppm aparecen las señales de los protones del C-4. Estos desplazamientos se corroboran a partir de los experimentos 2D del compuesto.

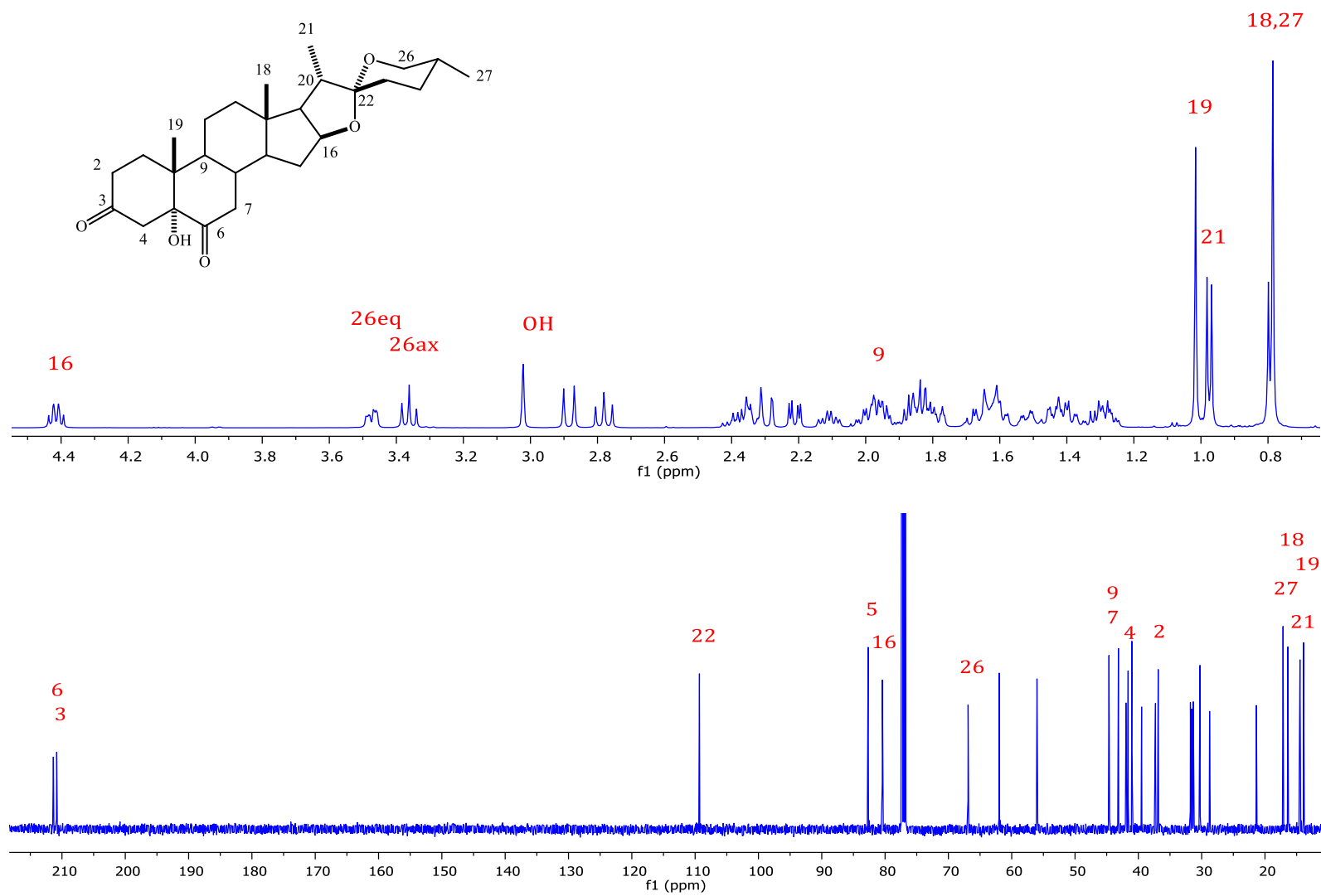


Figura 27. Espectro RMN de ^1H a 500 MHz (arriba) y de ^{13}C a 125 MHz (abajo) de (25R)-5 α -epirostan-5-hidroxi-3,6-diona (49) en CDCl_3

En el espectro de ^{13}C (figura 27) la señal de C-6 y C-3 se posicionan en frecuencias altas, producto de un cambio de hibridación por la reacción de oxidación de dichos carbonos, encontrándose ahora en 211.3 y 210.8 ppm respectivamente. El desplazamiento de la señal de C-5 a frecuencias menores en 82.7 ppm (en comparación con la materia prima donde se encontraba en 140.9 ppm), indica la pérdida de la insaturación y la formación del grupo hidroxilo. Del mismo modo, las señales de C-7 y C-2 sufren un ligero cambio en su desplazamiento a frecuencias bajas, puesto que están adyacentes a carbonos carbonílicos.

Para identificar las señales de los protones diastereotópicos H-4 se empleó el espectro de dos dimensiones HSQC. Estos protones se encuentran afectados por la densidad electrónica que presenta el carbonilo en C-3 aunado al efecto de desprotección del grupo hidroxilo en C-5 (figura 28) por lo que se espera que estén a frecuencias mayores, a pesar de esto uno de los protones de C-4 se encuentra ligeramente desplazado a frecuencias menores. Esto se corrobora con las correlaciones de C-4 con ambos protones; de igual forma se observan las correlaciones de C-7 y C-9 con sus respectivos protones y de los protones homotópicos de los metilos 18, 19, 21 y 27 correlacionados con sus respectivos protones.

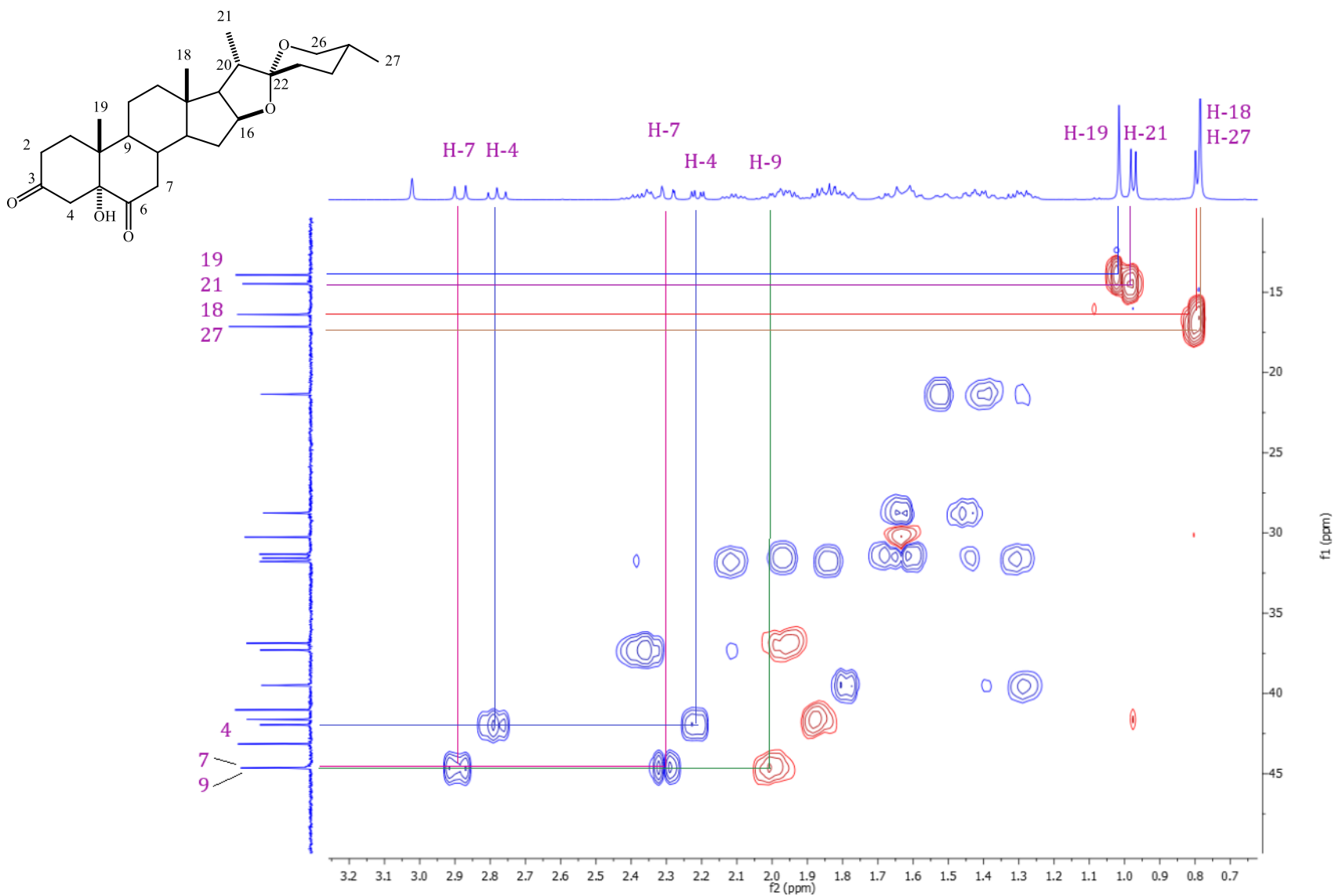
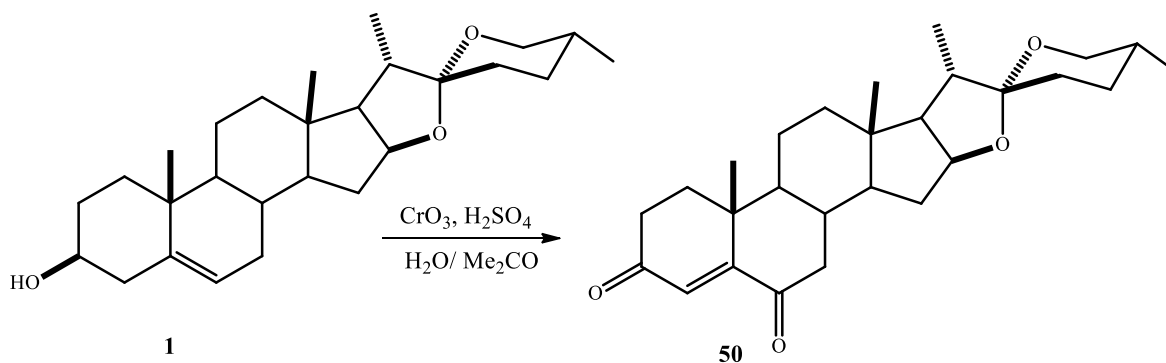


Figura 28. Espectro HSQC de **49** en CDCl_3 .

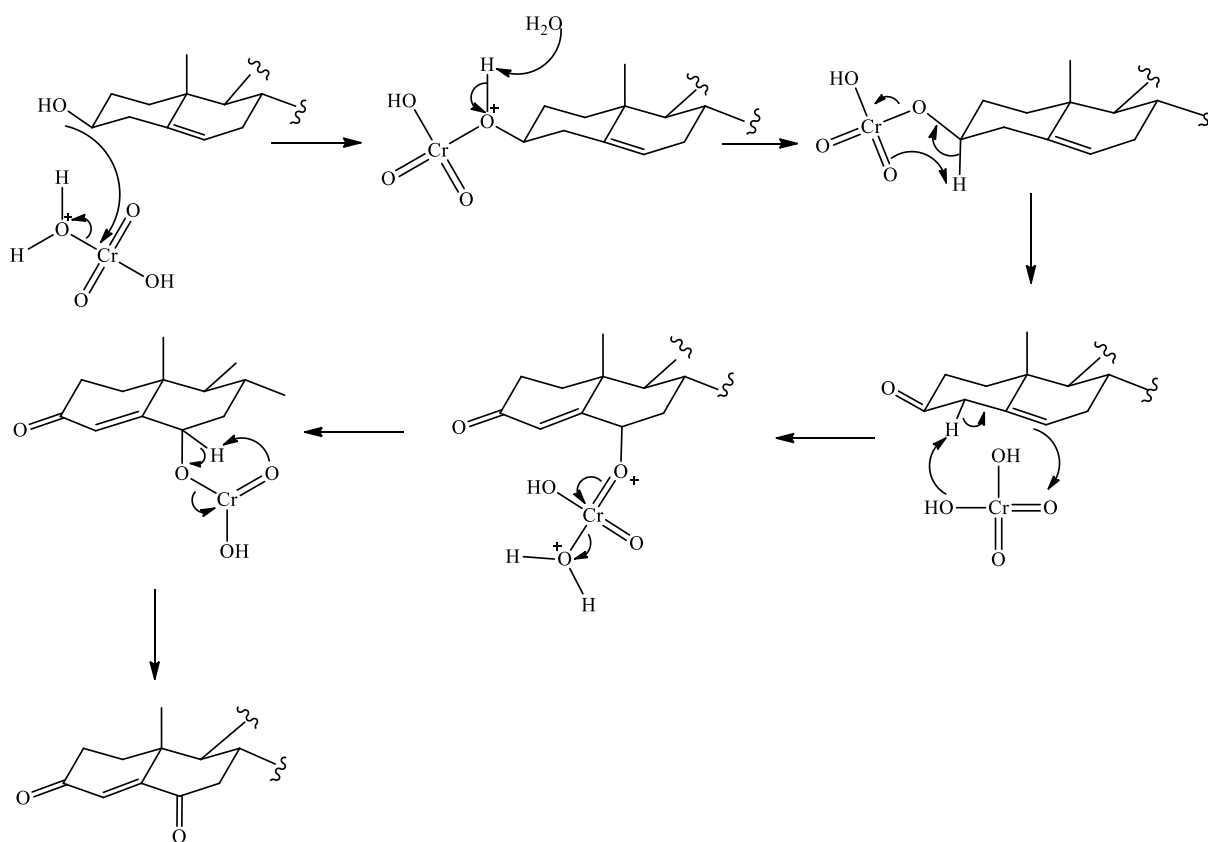
4.3.5 Síntesis de (25R)-4-espirosten-3,6-diona (**50**)



Esquema 10. Síntesis de (25R)-4-espirosten-3,6-diona (**50**).

Los compuestos esteroidales del tipo Δ^4 -3,6-dicetónicos han sido empleados en la síntesis química como intermediarios en la síntesis de otros esteroides, además de que se ha encontrado que dicha funcionalización puede proporcionar actividad biológica importante [58].

La conversión de Δ^5 -3 β -alcohol al compuesto (**50**) es por medio de una reacción de oxidación con reactivo de Jones. En esta reacción el grupo hidroxilo del esteroide realiza un ataque nucleofílico al ácido crómico protonado perdiendo una molécula de agua, dando paso al cromato de alquilo ácido que más tarde será desprotonado, inmediatamente se produce una transferencia electrónica a través de un estado de transición cíclico dando lugar al compuesto carbonílico en la posición 3. Subsecuentemente el ácido crómico abstrae el protón ácido α al carbonilo favoreciendo la formación de una cetona α - β insaturada, desplazando los electrones π del doble enlace en C-5 para formar un nuevo enlace con el oxígeno del ácido cromo, provocando la pérdida de una molécula de agua. Finalmente, a través de una reacción intramolecular, el oxígeno abstrae el protón de C-6 formando el grupo carbonilo en dicha posición.



Esquema 11. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de (25R)-4-epiandrosten-3,6-diona (50).

En el espectro de ¹H, se observa la pérdida de las señales de los protones H-3 y H-6 como resultado de la reacción de oxidación de estas posiciones. El H-4 se localiza en 6.18 ppm indicando la presencia de un doble enlace, los protones H-2 y H-7 se encuentran en la región de 2.0 a 2.8 ppm por la cercanía que presentan a los grupos carbonilo. La señal de H-2ax en 2.54 ppm presenta una multiplicidad *ddd* producto del acoplamiento que presenta con H-2ec, H-1ec y H-1ax, teniendo este último una constante de acoplamiento de 14.3 Hz lo cual concuerda con los acoplamientos entre dos protones axiales, mientras que la señal de H-2ec muestra una multiplicidad *dddd*, como resultado de un acoplamiento extra de tipo W con el H-4.

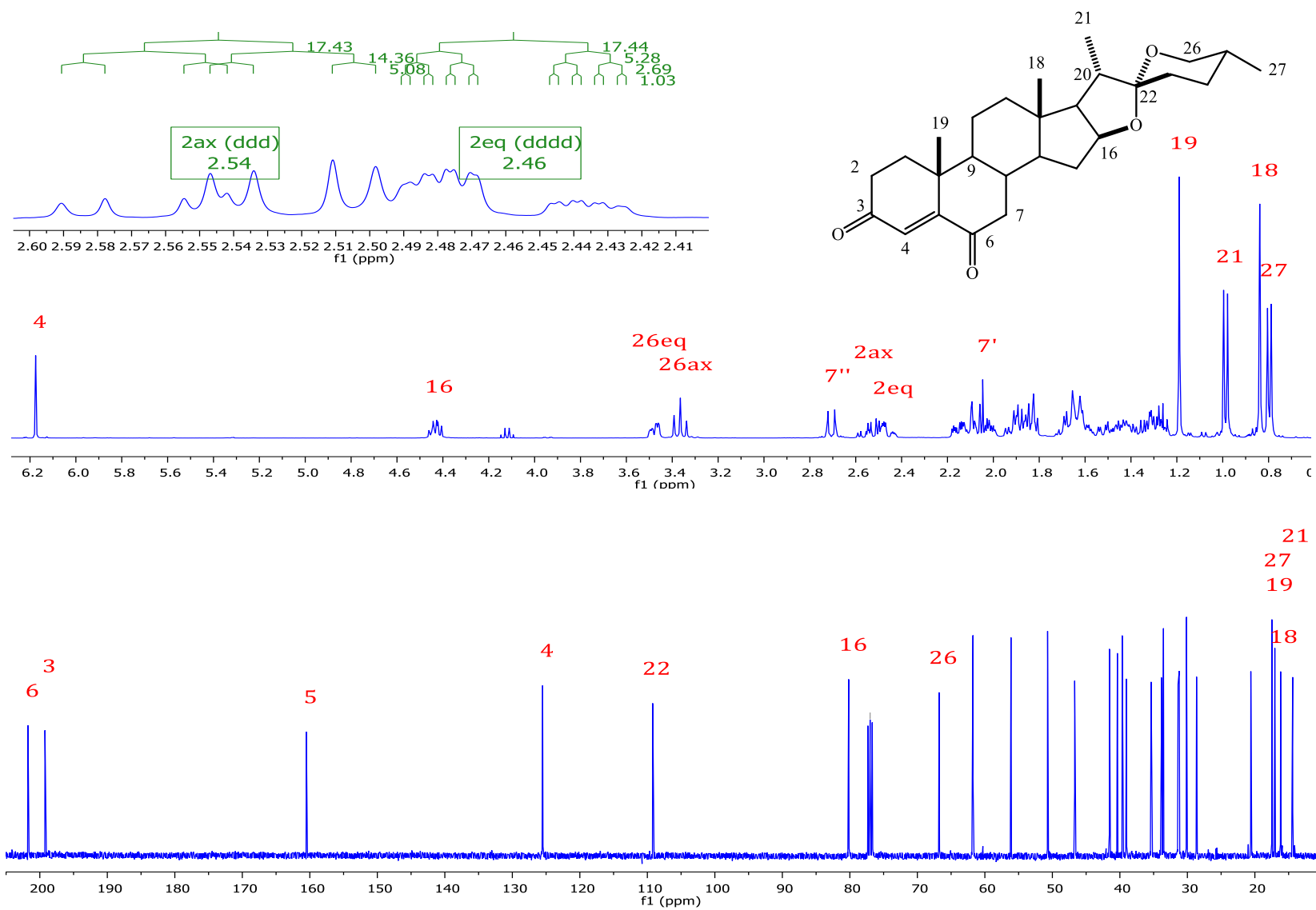


Figura 29. Espectro de RMN ¹H a 500 MHz (arriba) y de ¹³C a 125 MHz (abajo) de (25R)-4-epiosten-3,6-diona (50) en CDCl₃.

En la figura 31 se presenta el espectro de ^{13}C donde se las señales de C-3 y C-6 se localizan en un desplazamiento cercano a 200 ppm y debido a que ambos carbonos tienen un ambiente químico semejante, sus desplazamientos se encuentran muy cercanos uno del otro, no obstante, con ayuda del espectro HMBC es posible discernir entre ambos carbonos. Las señales de C-5 y C-6 se encuentran en un rango que comprende de 125 a 160 ppm consecuencia de la formación de una insaturación.

El espectro de dos dimensiones HMBC (figura 30) sitúa las correlaciones entre C-5 con H-4 y un protón de H-7, mismo que se correlaciona con la señal de C-6. Por otro lado, C-3 se correlaciona con ambos protones de 2 permitiendo identificar C-6 y C-3. Para verificar las señales de H-7 y H-2, se observaron las correlaciones del espectro de HSQC (figura 31).

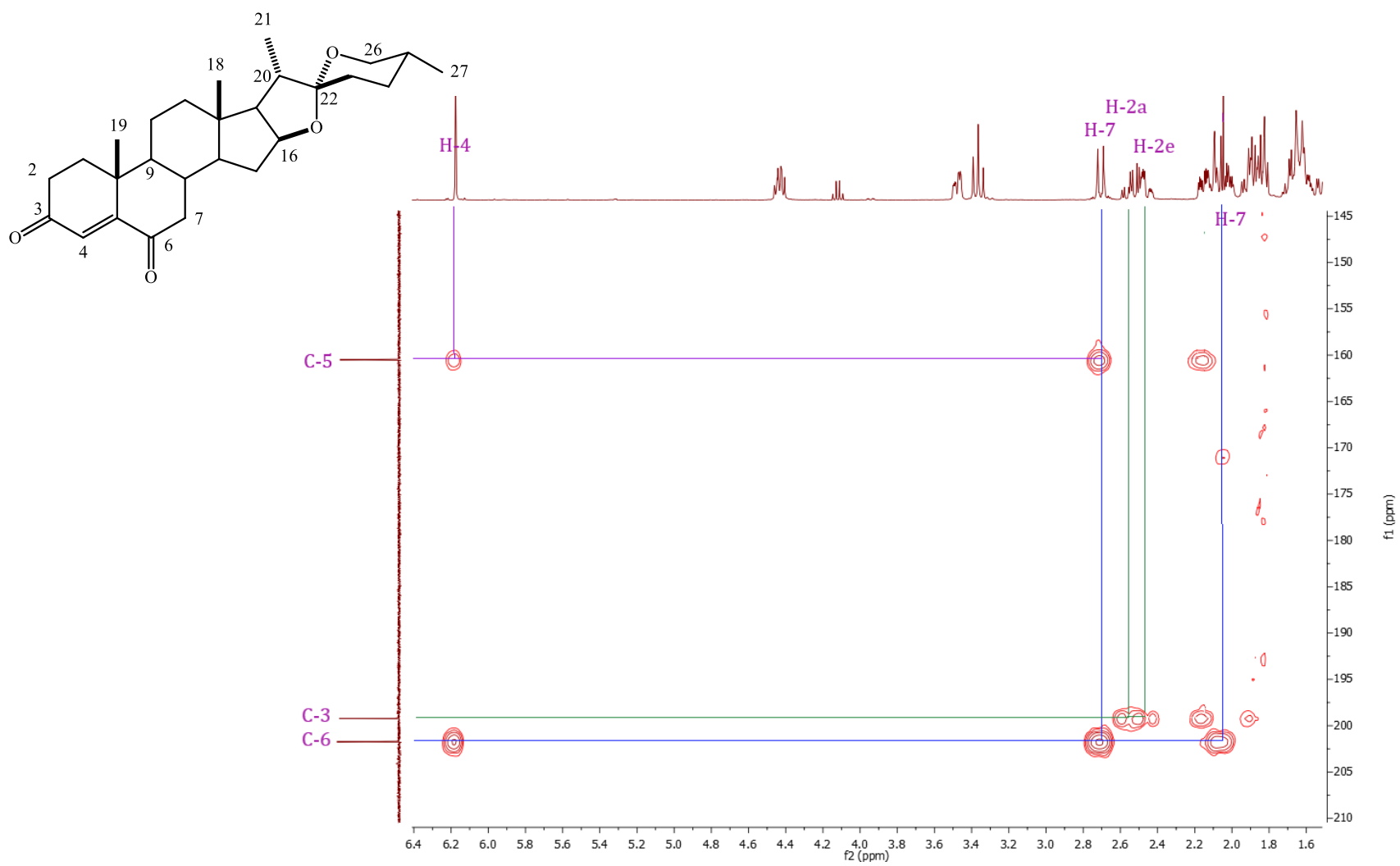


Figura 30. Espectro HMBC de 50 en $CDCl_3$.

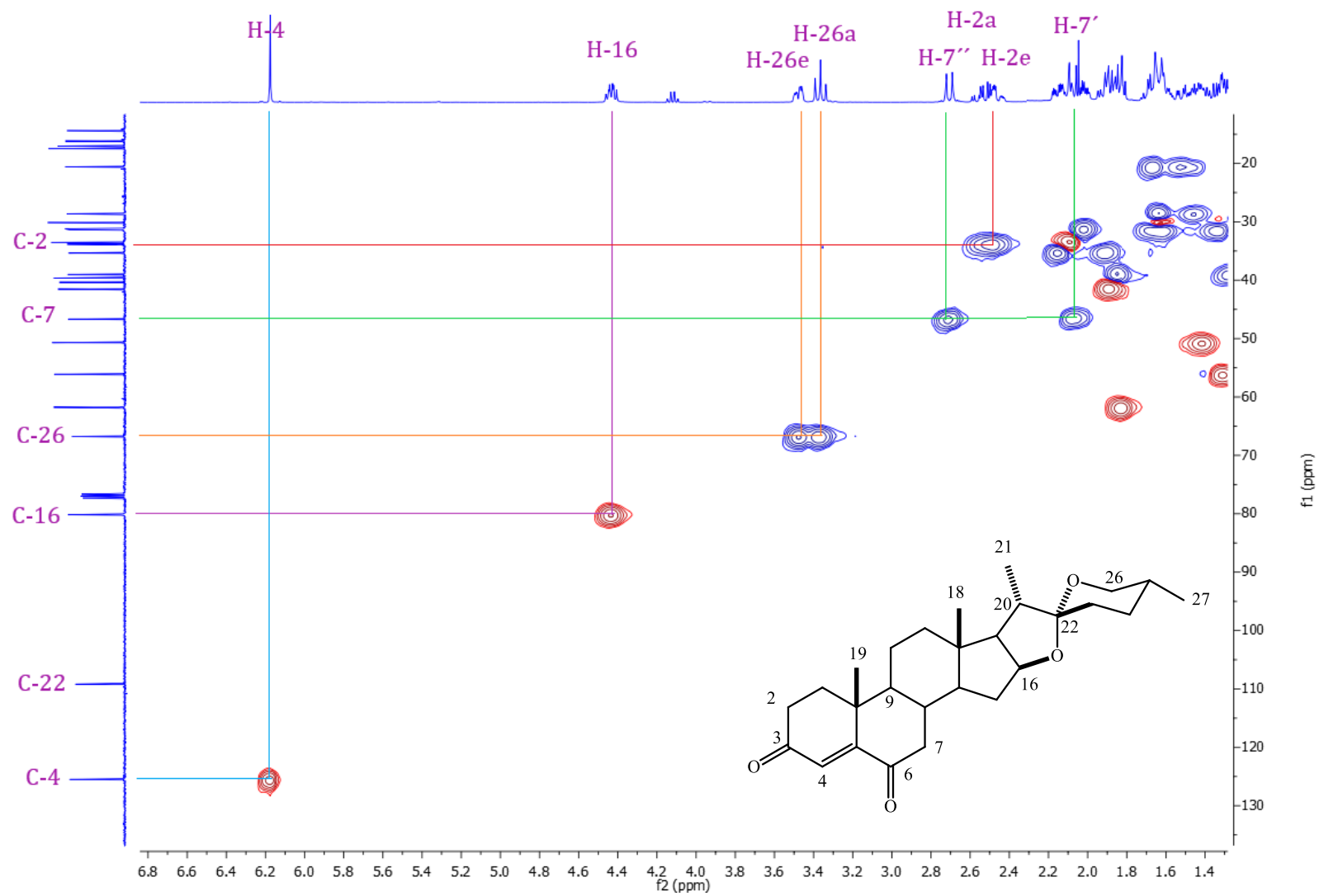
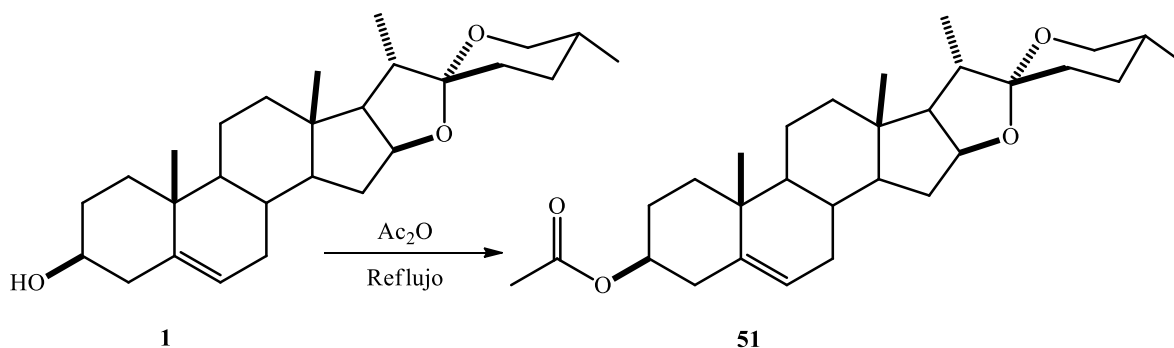


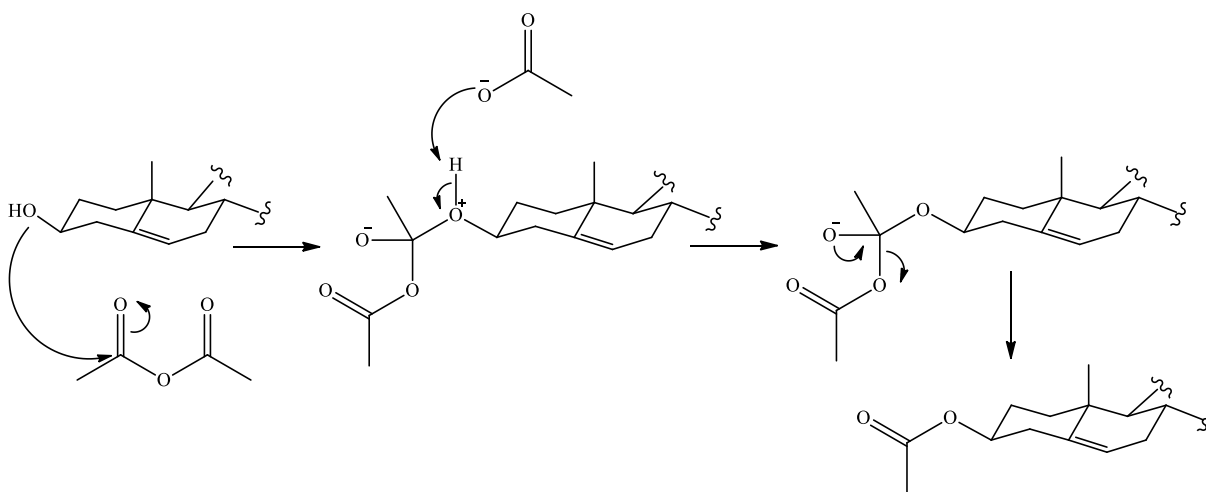
Figura 31. Espectro HSQC de **50** en CDCl_3 .

4.3.6 Síntesis de (25*R*)-acetato de diosgenina (**51**)



Esquema 12. Síntesis de acetato de diosgenina (51).

La acetilación de diosgenina se realizó a través de una reacción de esterificación, donde el grupo hidroxilo de la diosgenina ataca al carbono del grupo carbonilo del anhídrido acético y forma un intermediario tetraédrico, enseguida el intermediario tetraédrico expulsa al ion carboxilato, dando lugar al acetato de diosgenina, el producto de reacción se comprobó a través de caracterización espectroscópica.



Esquema 13. Mecanismo de reacción para la formación de acetato de diosgenina (51)

En la figura 32 se observa el espectro de RMN de ^1H de acetato de diosgenina (**51**) donde ambos protones de la posición 4 muestran un desplazamiento en 2.31 ppm, identificándose como dos señales traslapadas. Estos hidrógenos presentan un ligero desplazamiento a frecuencias mayores

de 0.4 ppm, por el efecto de desprotección el grupo éster de la posición 3, así como de la hibridación sp^2 de los carbonos 5 y 6.

Aparece una nueva señal simple en 2.02 ppm que representa a los protones magnéticamente equivalentes del metilo del acetato en C-3. El resto de las señales, no presentan un cambio considerable respecto al espectro de la materia prima diosgenina.

En el espectro de ^{13}C en 170.2 ppm se localiza el carbono carbonilo del grupo éster de la posición 3 del esteroide; a menor frecuencia en 139.6 y en 122.3 ppm se ubican los carbonos vinílicos C-5 y C-6. El último carbono cuaternario es el C-22 unido a dos oxígenos por lo que se encuentra en 109 ppm, esta señal es indicativo de la presencia del espiroacetal. En 80.6, 73.9 y 66.8 ppm encontramos a C-16, C-3 y C-26 respectivamente los cuales son base de oxígeno; en 20.8 ppm se observa el carbono del metilo del grupo éster.

En la figura 33 se presenta el espectro COSY donde se identifican las correlaciones de H-6 con H-7, y el H-3 con H-4.

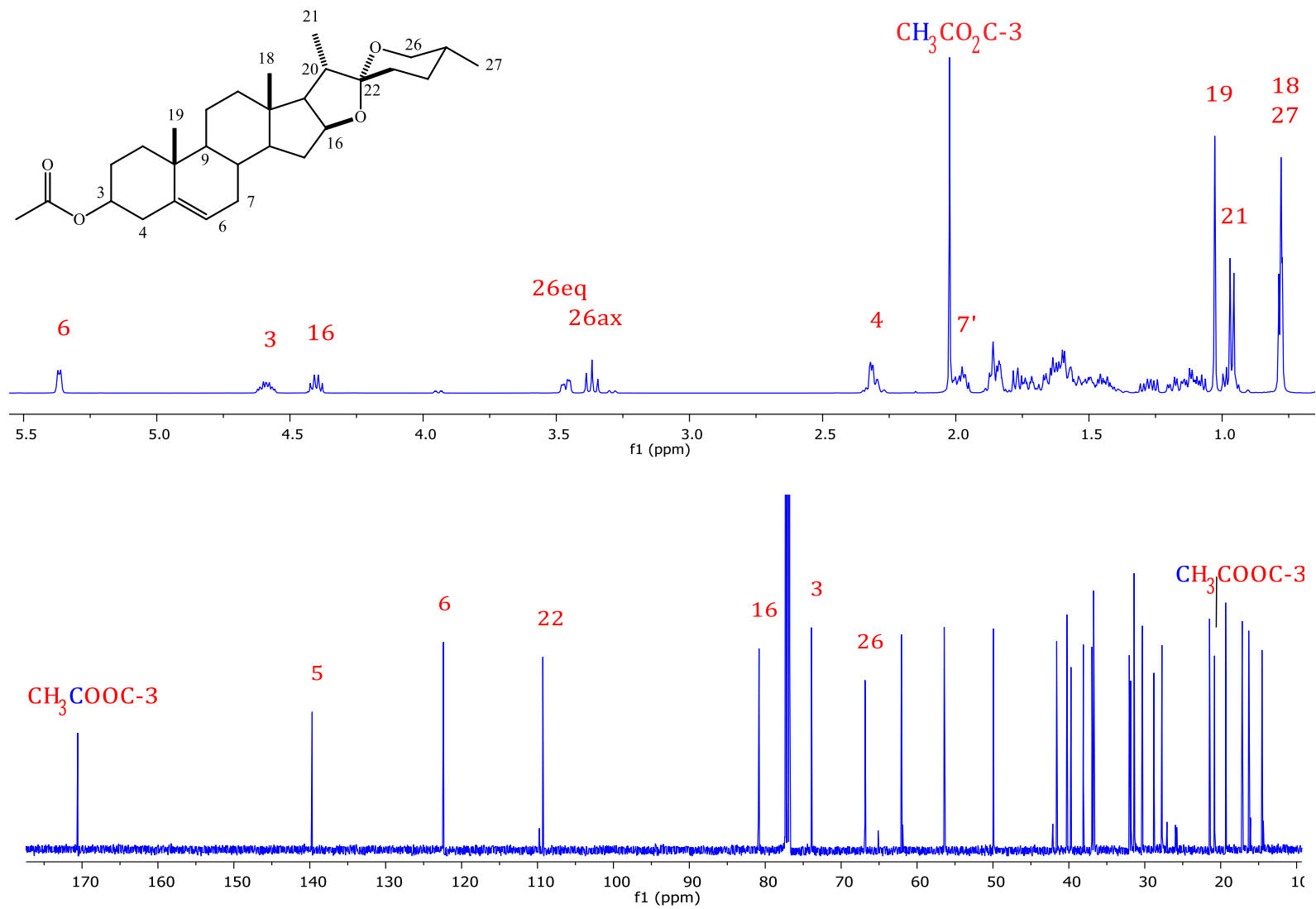


Figura 32. Espectro de ^1H a 500 MHz (arriba) y de ^{13}C a 125 MHz (abajo) de acetato de diosgenina (51) en CDCl_3 .

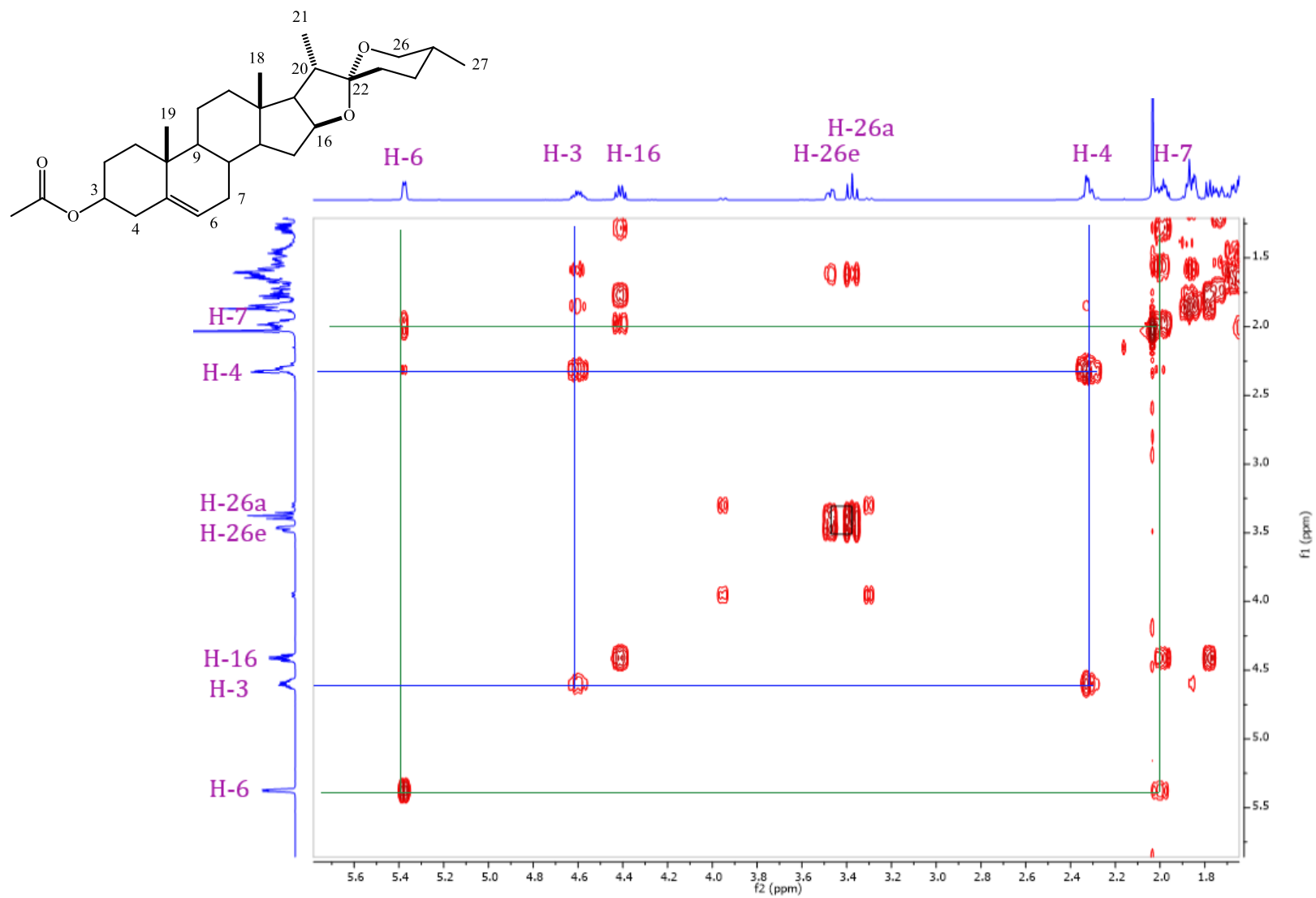
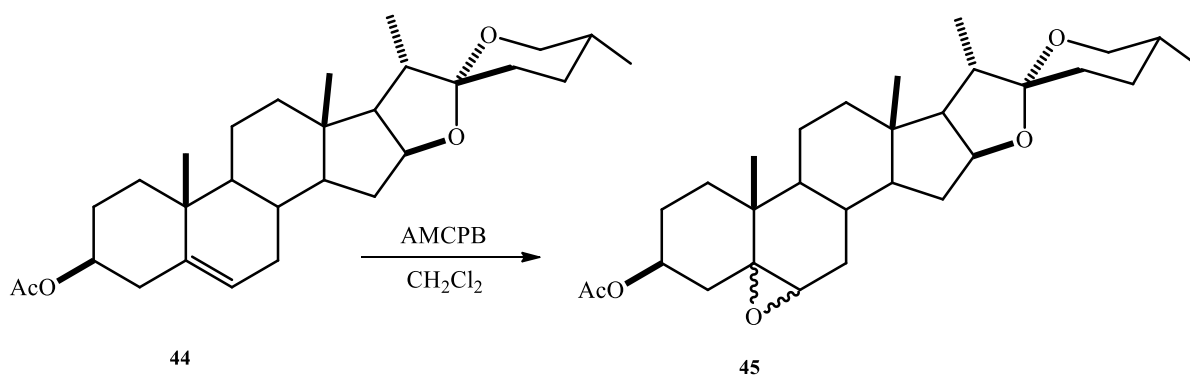


Figura 33. Espectro COSY de acetato de diosgenina (51) en $CDCl_3$.

4.3.7 Síntesis de acetato de (25*R*)-5,6-epoxi-espirostan-3-ilo (52)



Esquema 14. Epoxidación de acetato de diosgenina (52)

La epoxidación de diosgenina es una reacción no estereoselectiva que conduce a una mezcla de productos: epóxido α y epóxido β , donde el producto mayoritario es el epóxido α debido a la disposición espacial que presentan; en la figura 34 se muestran la disposición espacial de estos productos.

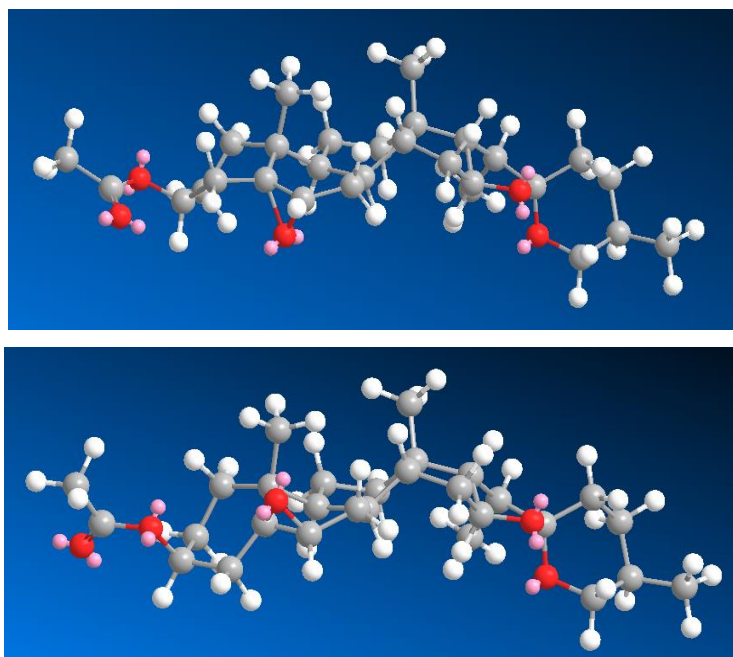
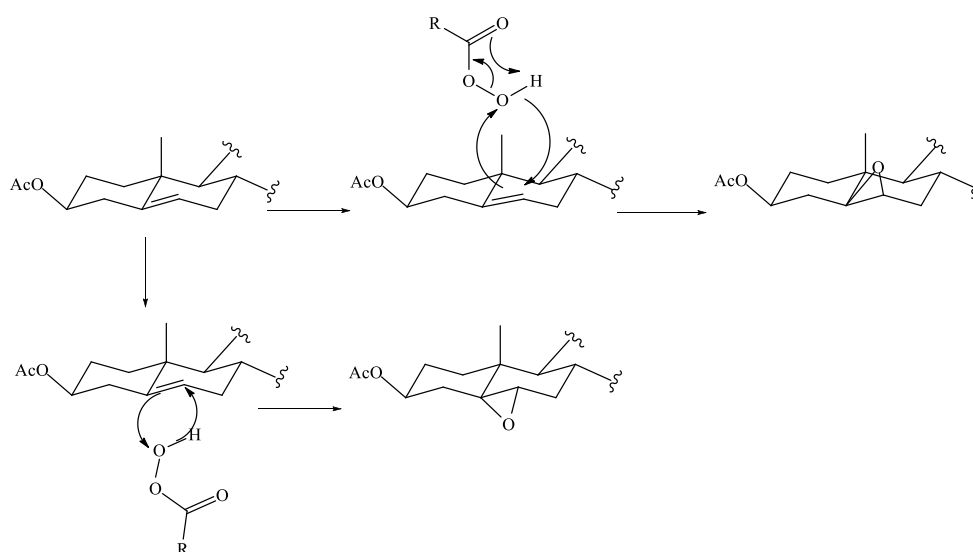


Figura 34. Distribución espacial de los epóxidos α (arriba) y β (abajo). Estructuras obtenidas a través del software: Chem3D Pro12.0.2.1076

En la imagen superior se observa el epóxido α en sentido contrario al metilo de la posición 19 del esteroide, reduciendo las interacciones espaciales que puedan producir, mientras que en la figura de abajo se observa el epóxido orientado hacia la misma cara del metilo en C-19, aumentando el impedimento estérico generado y es por eso por lo que el producto en orientación β tiene menor presencia como producto de reacción.

En el mecanismo de reacción, el peroxiácido realiza la transferencia de un oxígeno al alqueno, dando lugar a la formación del anillo de tres miembros. El mecanismo indica que es una reacción concertada. Esta reacción conduce a una mezcla de epóxidos alfa y beta, como resultado de un ataque por parte del peroxiácido ya sea en la parte superior o inferior del esteroide.



Esquema 15. Mecanismo de epoxidación de acetato de diosgenina (51).

En la figura 35 se observa el espectro de ^1H se presentan dos señales para algunas posiciones, indicando la presencia de ambos epóxidos. En 4.7 a 5.0 ppm se presentan las señales del H-3 desplazándose a frecuencias mayores por el efecto desprotector ejercido por el grupo éster. La señal de H-6 también presenta un desplazamiento a frecuencias mayores debido a que se enlazan a un C base de oxígeno por la formación del grupo epóxido. Alrededor de 2.0 ppm se observan dos señales simples que corresponden al grupo metilo del grupo éster de la posición 3 del esteroide. El resto de las señales no presentan un cambio significativo.

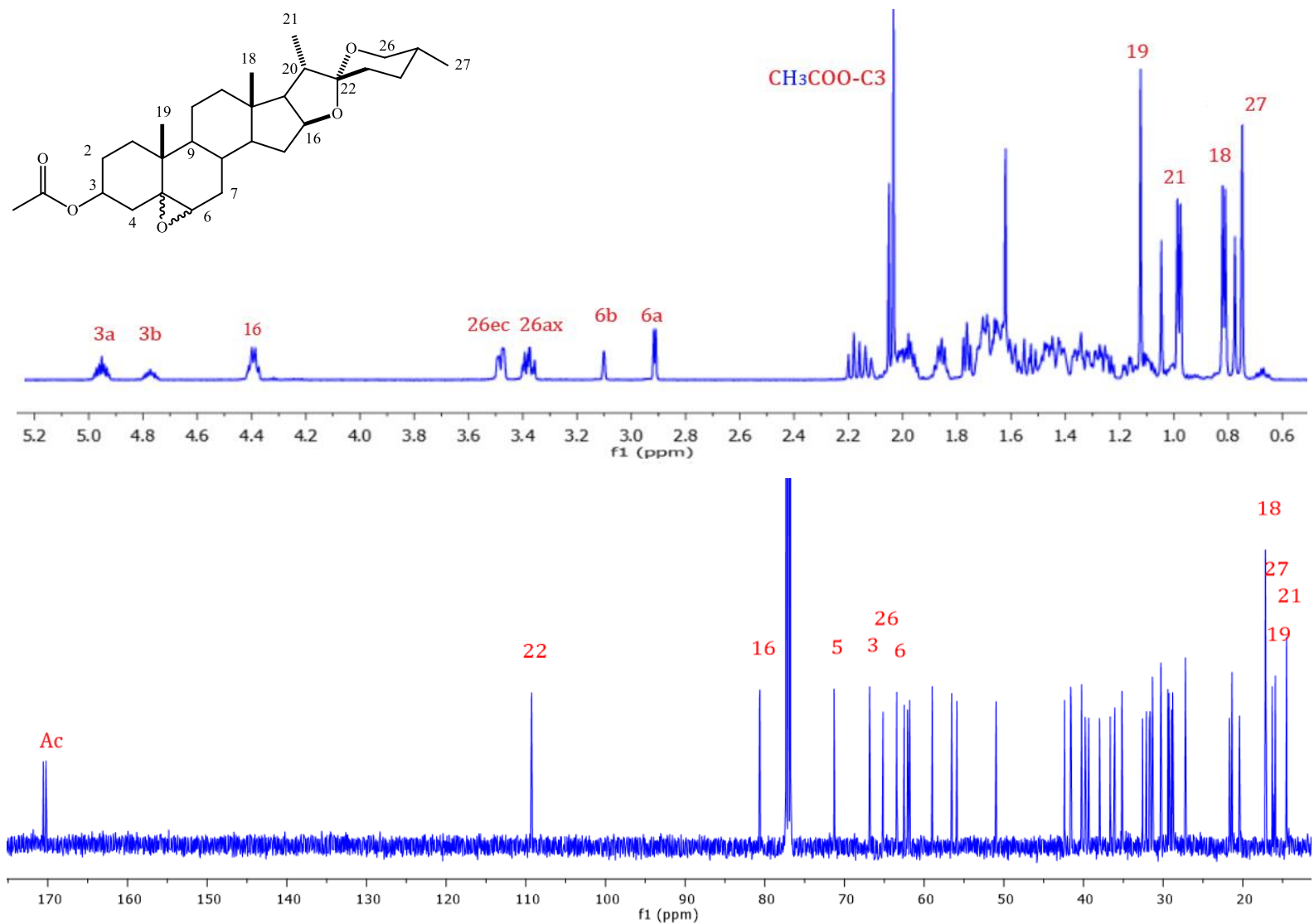
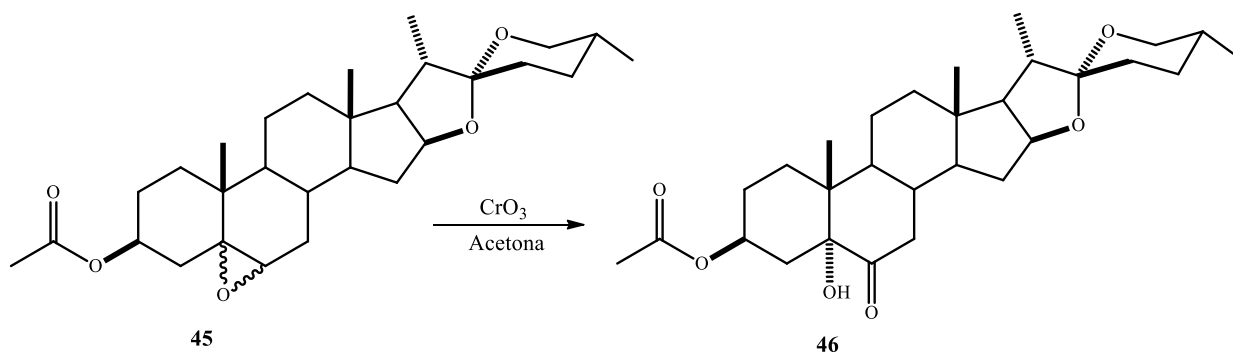


Figura 35. Espectro RMN de ^1H a 500 MHz (arriba) y de ^{13}C a 125 MHz (abajo) del compuesto epoxidado (52) en CDCl_3 .

En el espectro de ^{13}C del compuesto **52** (figura 35) se localiza en 170 ppm al C carbonilo del grupo éster unido a C-3, demostrando que durante la reacción no hubo afectación en esta posición. La señal de C-5 y C-6 se han desplazado a frecuencias menores por la disminución de la densidad electrónica por la pérdida del doble enlace, localizándose ahora en 63.4 y 71.3 ppm por la formación del grupo epóxido. El resto de las señales no presentan un cambio significativo en sus desplazamientos químicos.

4.3.8 Síntesis de acetato de (25*R*)-5 α -hidroxilaxogenina (**53**)



Esquema 16. Síntesis de acetato de (25*R*)-5 α -hidroxilaxogenina (**53**) con CrO₃.

La obtención de acetato de (25*R*)-5 α -hidroxilaxogenina (**53**) se realiza a partir del compuesto anteriormente sintetizado (**52a** y **52b**) disuelto en acetona y mezclado con trióxido de cromo disuelto en agua, con agitación constante durante 45 minutos y un ligero calentamiento (no mayor a 55°C) dando como resultado la ruptura del epóxido y la formación de un alcohol en la posición C-5 y un grupo carbonilo en C-6.

En la caracterización por medio de RMN de ¹H se observan dos señales para los protones diastereotópicos H-7; en 2.77 ppm se localiza la señal de H-7 ax como un *dd* con valores de constantes de acoplamiento muy cercanos ($J_{7ax-7ac} = 13.02$ Hz, $J_{7ax-8} = 11.64$ Hz), mientras que en 2.14 ppm se encuentra la señal de H-7 ec con una multiplicidad *dd*, producto de un acoplamiento geminal ($J_{7ec-7ax} = 13.01$ Hz) y un acoplamiento con H-8 pero como el ángulo generado entre éstos es menor, la constante de acoplamiento es de un valor más pequeño ($J_{7ec-8} = 4.09$ Hz). En 2.67 ppm se presenta una señal simple que corresponde al protón del grupo hidroxilo en posición 5. Los metilos del grupo éster se localizan como una señal simple en 2.14 ppm, los protones de H-4 se ubican en 1.93 y 1.83 ppm, estas señales no son posibles diferenciarlas puesto que se muestran traslapadas con otras señales y su multiplicidad se percibe como múltiple.

En el espectro de ¹³C se observa en 211.8 ppm la señal que corresponde al grupo carbonilo en posición 6 del esteroide, en 171.0 ppm se localiza el C carbonilo del grupo éster, mientras que

los carbonos base de oxígeno se encuentran en la región que comprende aproximadamente de 66.0 a 110.0 ppm (C-3, C-5, C-16, C-22 y C-26).

El espectro de dos dimensiones HSQC (figura 38) permite corroborar las señales de los protones diastereotópicos 7 que se acoplan a la señal que corresponde al C-7. Lo mismo sucede con ambos protones de la posición 4, acoplándose a la señal para C-4.

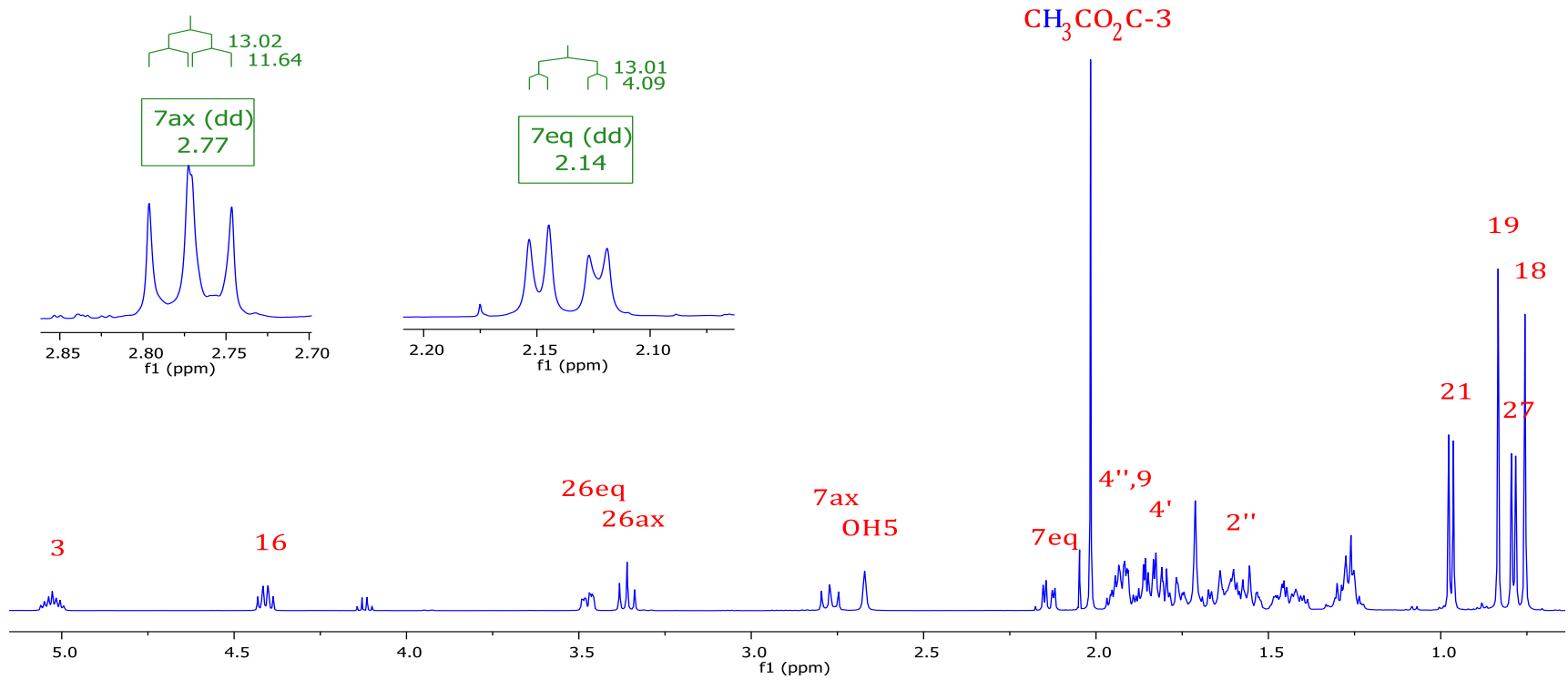
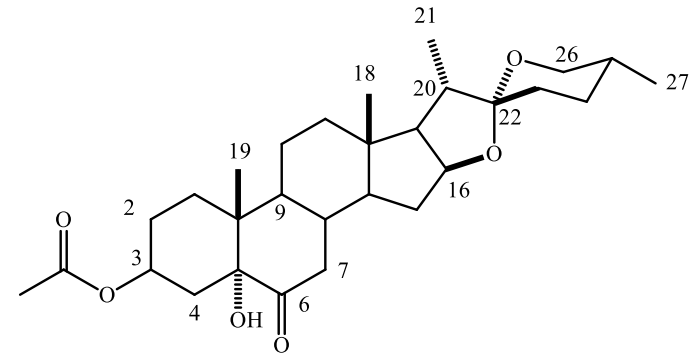


Figura 36. Espectro RMN de ^1H a 500 MHz de acetato de (25R)-5 α -hidroxilaxogenina (53) en CDCl_3 .

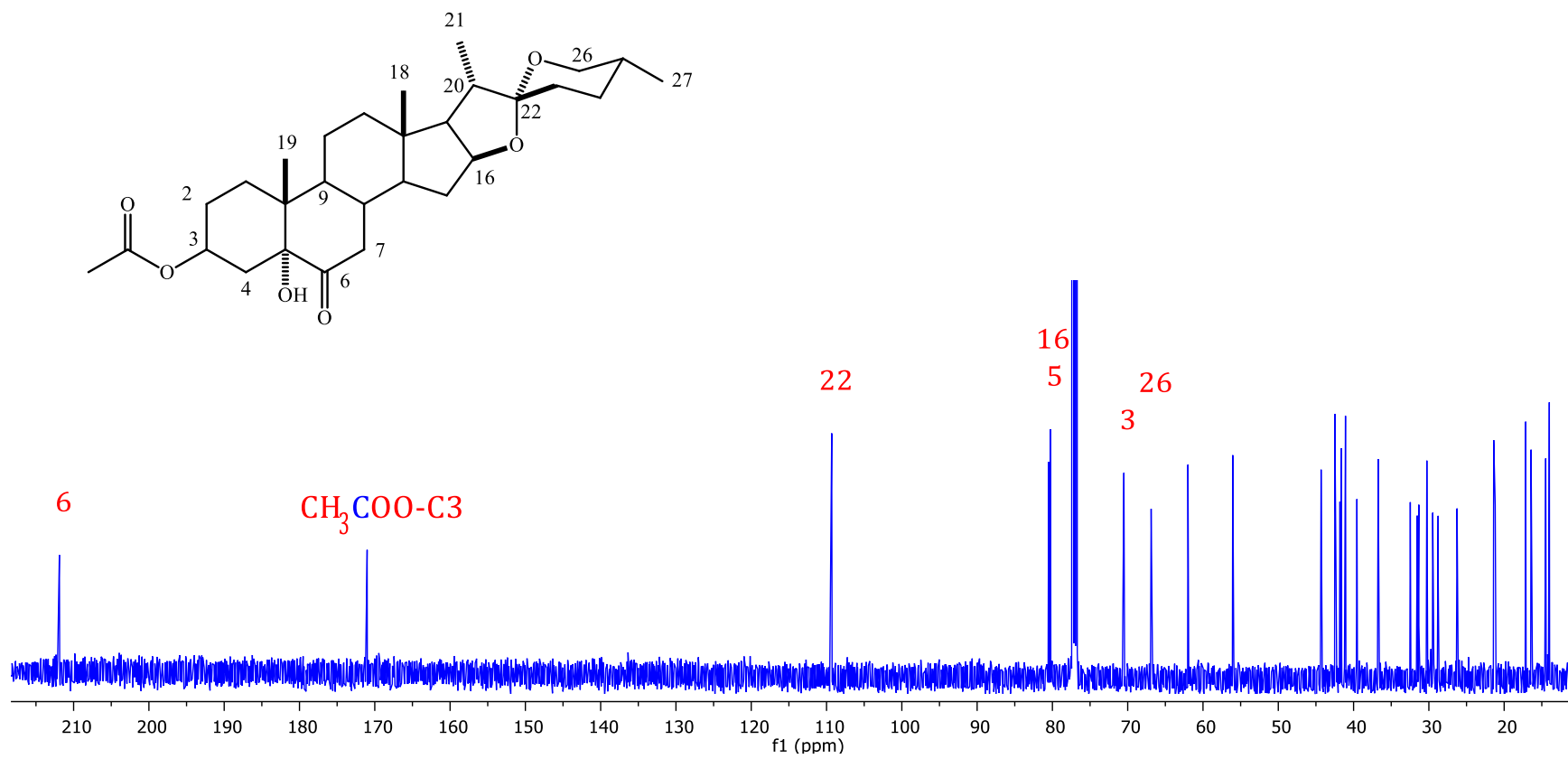


Figura 37. Espectro RMN de ¹³C de acetato de (25R)-5α-hidroxilaxogenina (53) en CDCl₃.

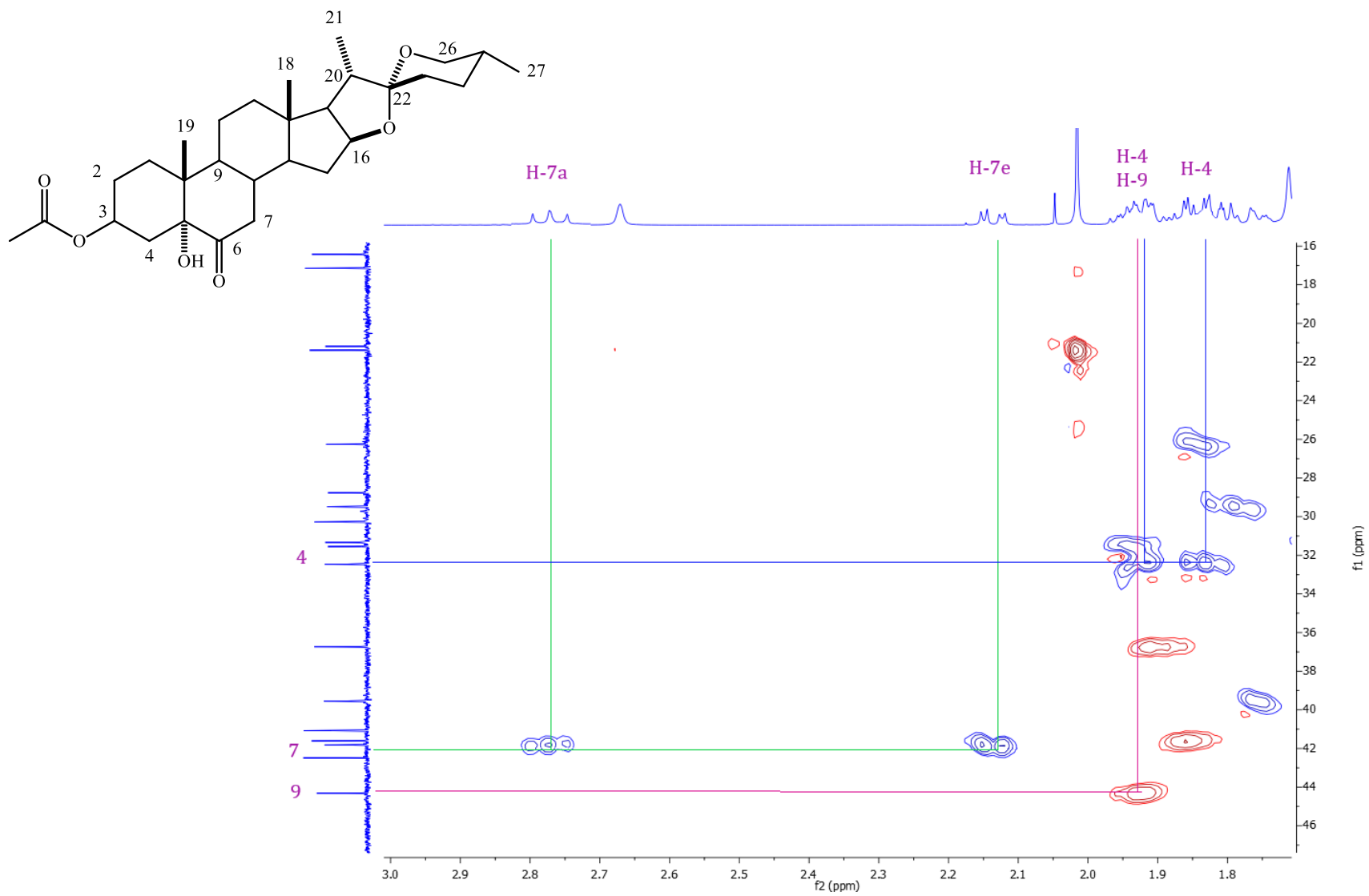
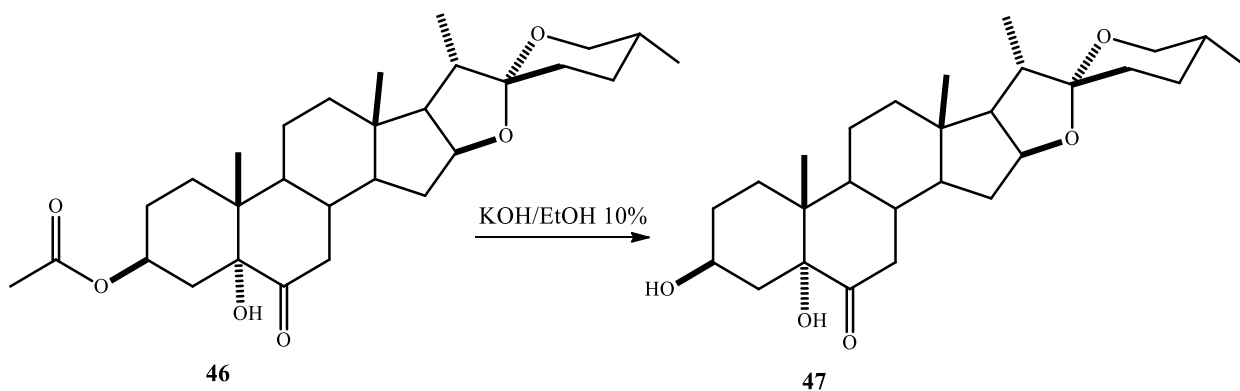


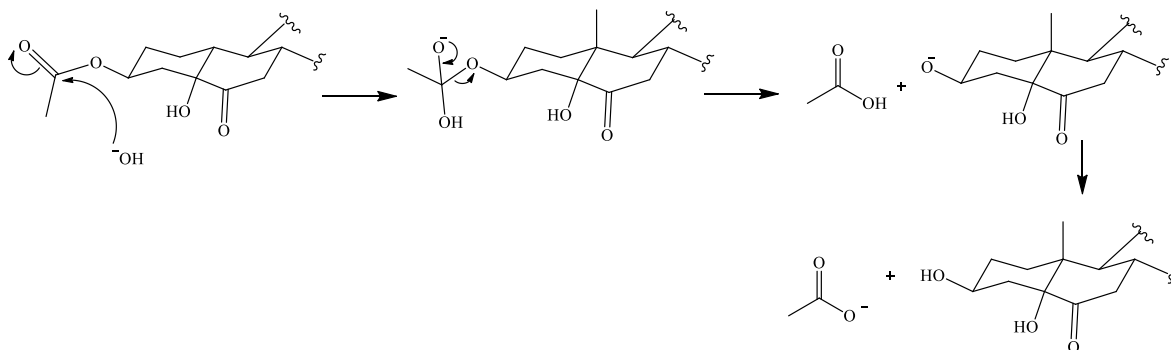
Figura 38. Espectro HSQC de acetato de (25R)-5α-hidroxilaxogenina (53) en CDCl₃.

4.3.9 Síntesis de (25R)-5 α -hidroxilaxogenina (54)



Esquema 17. Reacción de desprotección para la obtención de (54).

La obtención del compuesto **47**, es a causa de una reacción de hidrólisis en medio básico perdiendo el grupo éster y generando el grupo hidroxilo. En esta reacción el ion hidróxido de la base realiza un ataque nucleofílico al carbono carbonilo del grupo éster dando paso a un intermediario tetraédrico, el par electrónico del oxígeno regresa para formar nuevamente el doble enlace entre C-O, rompiendo el enlace del éster. Por último, hay un equilibrio ácido-base dando paso al producto final. El ion hidróxido aumenta la velocidad de colapso del intermediario tetraédrico porque en una disolución básica, el intermediario tetraédrico está cargado negativamente. El estado de transición para la expulsión del esteroide por un oxígeno cargado negativamente es más estable que un estado de transición con un oxígeno de carga neutra porque, en el primero, el oxígeno electronegativo no desarrolla una carga positiva parcial.



Esquema 18. Mecanismo de reacción de hidrólisis básica.

En el espectro de ^1H (figura 43) podemos observar a un cambio en las señales de los protones diastereotópicos H-7 por la cercanía que presenta al grupo carbonilo de la posición 6, la señal de 7_{ax} se encuentran en 2.74 ppm con una multiplicidad dd ($J_{7_{ax}-7_{ec}} = 13.06$ Hz, $J_{7_{ax}-8} = 11.71$ Hz), y la señal de 7_{ec} en 2.15 ppm tiene una multiplicidad dd ($J_{7_{ec}-7_{ax}} = 13.06$ Hz, $J_{7_{ec}-8} = 4.17$ Hz). La señal del protón del C-6 ha desaparecido por que ahora es un carbono cuaternario, los protones del metilo del éster de posición 3 también ha desaparecido debido a la pérdida de este grupo. La señal del protón 3 que antes se presentaba en 5.03 ppm en el espectro de **53** se ha desplazado a frecuencias menores en 3.97 ppm.

En el espectro de ^{13}C se puede observar solo una señal de carbono carbonílico que corresponde al C-6 en 211.8 ppm, la pérdida de la señal del carbonilo del grupo éster muestra la correcta desprotección del esteroide. La señal de C-3 sufrió un ligero desplazamiento a frecuencias menores como resultado de la pérdida del efecto desprotector que se ejercía por el grupo éster.

Se muestran las correlaciones en el espectro COSY (figura 45) que presentan H-3 con H-4 así como ambos protones 7 con la señal de H-8. Esto es útil para confirmar que las señales que aparecen en 2.74 y 2.16 ppm corresponden a los protones diastereotópicos de 7.

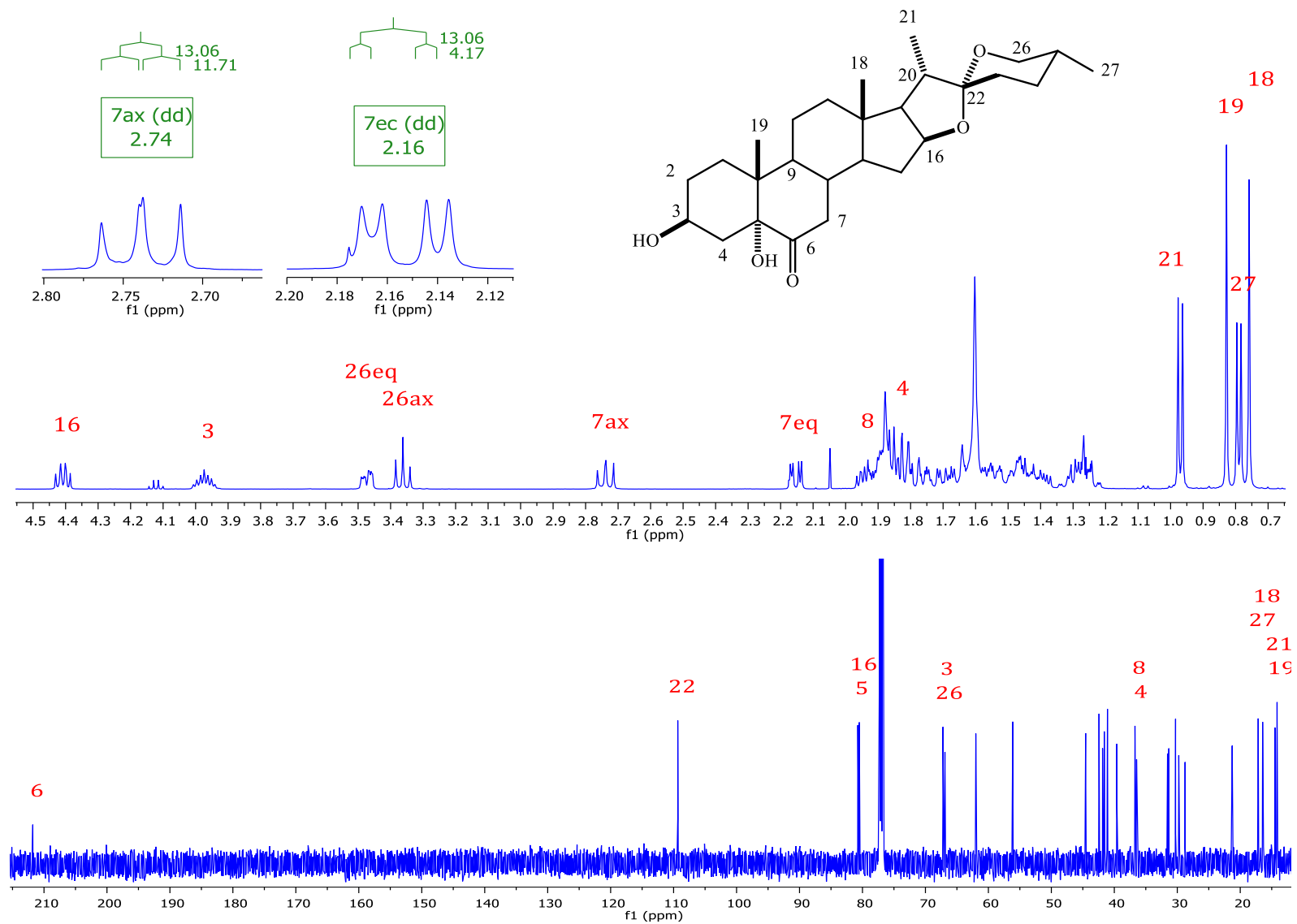


Figura 39. Espectro RMN de ^1H a 500 MHz (arriba) y ^{13}C a 125 MHz (abajo) de (25R)-5 α -hidroxilaxogenina (54) en CDCl_3 .

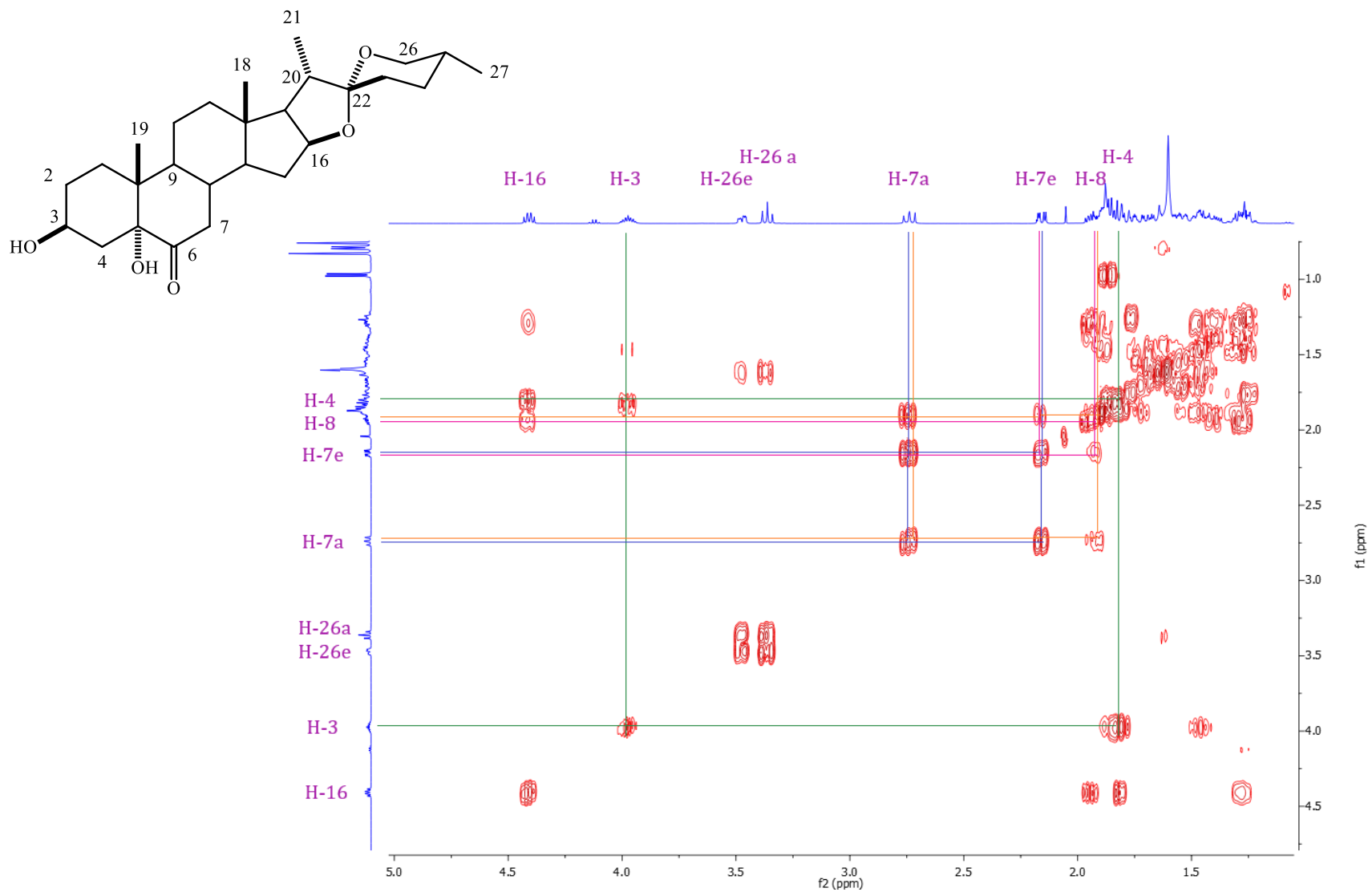


Figura 40. Espectro RMN 2D COSY del compuesto 54 en $CDCl_3$.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Equipos, técnicas y materias primas utilizadas

5.1.1 Equipos y técnicas de identificación.

Punto de fusión. El punto de fusión se midió en un equipo Melt Temp, con escala Celsius, empleando la técnica de capilar abierto y no fueron corregidos.

Rotación óptica. La rotación óptica se midió empleando un polarímetro compacto modular MCP100 con celda de 10 cm de longitud y una longitud de emisión de 589 nm (emisión del Na) a temperatura constante en 25°C, haciendo uso de disolución en cloroformo o metanol según la solubilidad.

Resonancia magnética nuclear. Los espectros de resonancia magnética nuclear se obtuvieron a través de un espectrómetro Bruker (500 MHz para espectros de ^1H y 125 MHz para espectros de ^{13}C) como disolvente se empleó cloroformo deuterado (CDCl_3) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. El desplazamiento químico se expresa en ppm (δ), las constantes de acoplamiento (J) en Hertz.

Espectroscopia infrarroja. Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrómetro Agilent Cary 630 FTIR, con interfases ATR con punta de diamante para sólidos y DIAL PATH para líquidos, expresando los resultados en número de onda (cm^{-1}).

5.1.2 Técnicas de purificación

Cromatografía en capa fina. Para la cromatografía en capa fina (CCF) se usaron placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor ALUGRAM Xtra SIL F254 de Macherey-Nagel, y como fase móvil sistemas de elución de hexano/acetato de etilo. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UV) o por calcinación de placas previamente impregnadas con ácido sulfúrico al 50%).

Cromatografía en columna. Para la purificación de los productos esteroidales se ejecutó la técnica de cromatografía en columna haciendo uso de columnas de vidrio empaquetadas con gel de sílice de 230-400 mallas MN Kieselgel 60 de Macherey-Nagel, Alemania, de acuerdo con la técnica “flash” utilizando un sistema de eluyente de hexano/acetato de etilo.

5.2 Diseño dirigido de moléculas esteroidales

El diseño de las distintas moléculas con posible actividad biológica contra el cáncer de próstata se hace a partir del esteroide diosgenina, la cual ha demostrado tener amplia actividad biológica.

Se diseñaron nueve compuestos que son producto de distintos tipos de oxidaciones en los anillos A y B del esteroide además de la inserción de dobles enlaces y esterificaciones; con estas modificaciones se busca mimetizar grupos funcionales presentes en las hormonas androgénicas que se unen de manera natural en el receptor de andrógenos y enzimas específicas para la producción de estas sustancias.

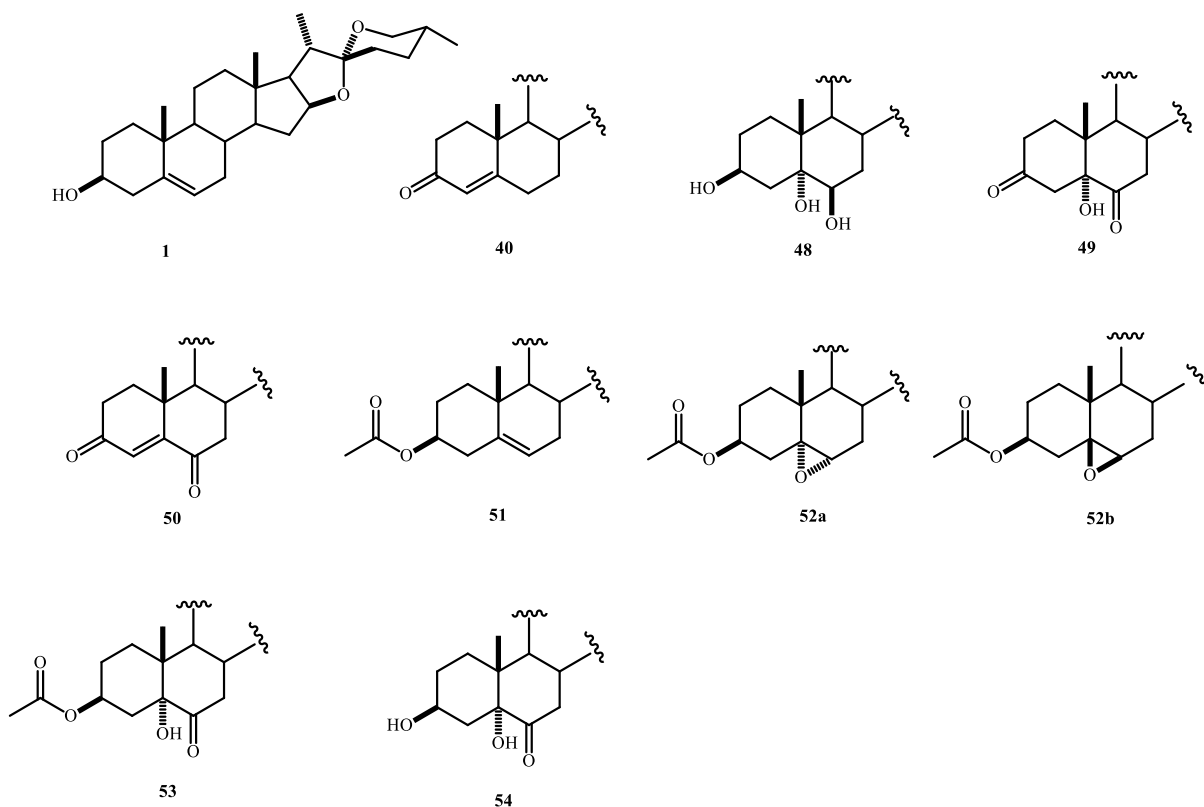


Figura 41. Estructuras diseñadas a partir de diosgenina (1)

5.2 Estudios computacionales

5.2.1 Estudio de acoplamiento molecular

Para los estudios de acoplamiento molecular se realizó una representación 3D y la minimización de energía de las moléculas diseñadas, así como de la materia prima a través del programa de modelado Chem3D; estos archivos se convirtieron a extensiones .sdf (Chem3D) y .pdb (Chimera). Por otra parte, las proteínas para el estudio de acoplamiento (6CHI, 2AMA) se obtuvieron de la base de datos PDB (Protein Data Bank) a la que por medio del programa Chimera, se eliminaron residuos de cristalización que presentaban las proteínas y que impiden un correcto acoplamiento.

Por medio del software AutoDock Tools 1.5.6 se convirtieron a la extensión del tipo .pdbqt para la realización del estudio de acoplamiento molecular entre cada enzima y los distintos sustratos; los datos arrojados por el estudio se expresan en unidades de energía de Gibbs (kcal/mol) criterio termodinámico que muestra la condición de equilibrio y espontaneidad de un sistema, expresando el conjunto de fuerzas de atracción-repulsión entre la proteína y su sustrato.

5.2.2 Predicción de propiedades farmacocinéticas

Este estudio se llevó a cabo mediante la plataforma web SwissADME, donde permite calcular y predecir parámetros ADME, propiedades farmacocinéticas, la naturaleza similar a la de un fármaco y la compatibilidad de la química medicinal. El desarrollo de fármacos implica la evaluación de estas propiedades, y con el uso de la tecnología el proceso de predicción de las propiedades farmacocinéticas se puede realizar de una manera temprana, además que muchas veces el acceso a las muestras físicas es limitado, por esto el empleo de estas plataformas pueden constituir alternativas válidas a los experimentos. [45]

En este trabajo de investigación se hizo uso de esta herramienta informática para predecir propiedades fisicoquímicas, farmacocinética, similitud con los fármacos y compatibilidad con la química medicinal, con la intención final de identificar aquellos con las mejores posibilidades de convertirse en un medicamento eficaz.

5.3 Síntesis

5.3.1 Materia prima

Los compuestos esteroidales se sintetizaron a partir de diosgenina y fueron caracterizados por métodos físicos y espectroscópicos, obteniendo los siguientes resultados:

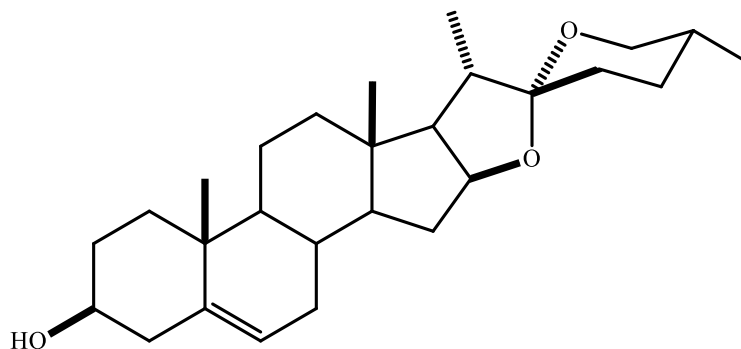


Figura 42. Estructura de diosgenina (1)

Caracterización

Fórmula molecular: $C_{27}H_{42}O_3$, P.M.= 414.62 uma, polvo amorfo, P. F.= 199-200 °C, $[\alpha]_D = -129^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$), IR: 3650 cm^{-1} O-H, 2869 cm^{-1} CH_3 , 1374 cm^{-1} C-O.

RMN 1H

δ : 5.35 (1H, *dt*, $J_{6-7} = 5.38$, $J_{6-4} = J_{6-8} = 2.05$ Hz, H-6), 4.41 (1H, *ddd*, $J_{16-17} = 8.7$ Hz, $J_{16-15ax} = 7.6$ Hz, $J_{16-15ec} = 6.4$ Hz, H-16), 3.52 (1H, *m*, H-3), 3.47 (1H, *ddd*, $J_{26ec-26ax} = 10.8$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.3$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.0$ Hz, H-26ec), 3.38 (1H, *dd*, $J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 10.8$ Hz, H-26ax), 1.02 (3H, *s*, CH_3 -19), 0.97 (3H, *d*, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH_3 -21), 0.79 (3H, *d*, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27), 0.79 (3H, *s*, CH_3 -18).

RMN ^{13}C

δ : 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 41.7 (C-4), 140.8 (C-5), 121.5 (C-6), 31.5 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.7 (C-10), 21.0 (C-11), 40.4 (C-12), 39.9 (C-13), 56.6 (C-14), 32.1 (C-15), 80.9 (C-16), 62.1 (C-17), 16.4 (C-18), 19.5 (C-19), 42.4 (C-20), 14.6 (C-21), 109.6 (C-22), 32.0 (C-23), 28.9 (C-24), 30.4 (C-25), 66.9 (C-26), 17.3 (C-27).

5.3.2 Obtención de (25R)-4-espirosta-3-ona (40)

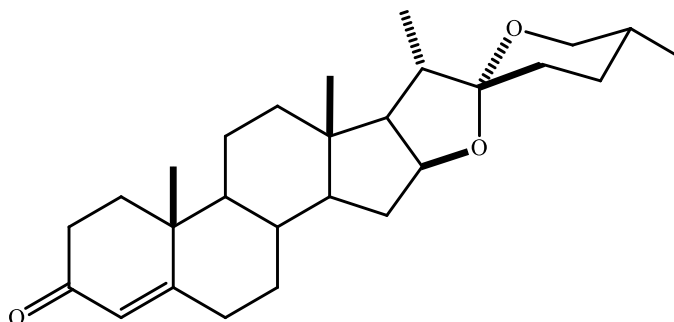


Figura 43. Estructura de (25R)-4-espirosta-3-ona (40)

A una disolución del esteroide **1** (1 g, 2.41 mmol) en ciclohexanona se adicionó triisopropóxido de aluminio (0.98 g, 4.82 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se colocó en reflujo hasta obtener una suspensión de color naranja claro. Se destiló el exceso de ciclohexanona y se disolvió el residuo con diclorometano y H₂O. La fase orgánica se separó, se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró hasta obtener un producto aceitoso, de color pardo, que se purificó mediante cromatografía en columna.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₇H₄₀O₃. P.M.= 413.31 uma P. F.= 186°C

RMN ¹H

δ: 5.73 (1H, *m*, H-4), 4.41 (1H, *ddd*, $J_{16-17} = 8.70$ Hz, $J_{16-15ax} = 7.55$ Hz, $J_{16-15ec} = 6.40$ Hz, H-16), 3.47 (1H, *ddd*, $J_{26ec-26ax} = 10.8$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.3$, $J_{26ec-24ec} = 2.0$ Hz, H-26ec), 3.37 (1H, *dd*, $J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 2.41 (2H, *m*, H-2), 2.34 (1H, *dddd*, $^2J = 16.8$ Hz, $J_{6ec-7ax} = 4.6$ Hz, $J_{6ec-7ec} = 3.1$ Hz, $J_{6ec-4} = 0.9$ Hz, H-6ec), 2.27 (1H, *ddd*, $^2J = 14.7$ Hz, $J_{6ax-7ax} = 4.3$ Hz, $J_{6ax-7ec} = 2.4$ Hz, H-6ax), 1.20 (3H, *s*, H-19), 0.97 (3H, *d*, $J_{21-20} = 6.9$ Hz, H-21), 0.82 (3H, *s*, H-18), 0.79 (3H, *d*, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, H-27).

RMN ¹³C

δ: 35.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.5 (C-3), 123.8 (C-4), 171.1 (C-5), 32.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.2 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.7 (C-15),

80.6 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 17.3 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2(C-25), 66.6 (C-26), 17.1 (C-27)

5.3.3 Obtención de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (48)

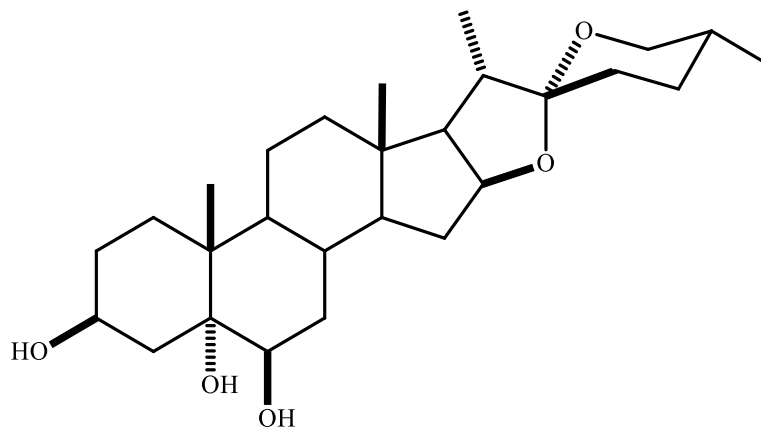


Figura 44. Estructura de (25R)-5 α -espirostan-3 β ,5,6 β -triol (48)

Una suspensión del esteroide **1** (1g, 0.414mmol) en acetona (40 mL) y agua (5 mL) fue tratada con *N*-bromosuccinimida (0.536 g, 0.035 mmol) y ácido acético (0.5 mL) con agitación a temperatura ambiente. En el transcurso de 45 minutos la mezcla se volvió amarilla, luego naranja y finalmente incolora. La mezcla de reacción se dejó toda la noche. El crudo de reacción se filtró y se evaporó el disolvente.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₇H₄₄O₅, P.M.= 448.64 uma, P.F.= 182-184°C, [α]_D = +52°, IR: 3468 (OH), 2947 (CH), 1243 (C-O) cm⁻¹

RMN ¹H

δ : 4.41 (1H, *m*, H-16), 4.01 (1H, *m*, H-3), 3.47 (2H, *m*, H-6, H-26ec), 3.36 (1H, *m*, 26ax), 1.17 (3H, *s*, CH₃-19), 0.97 (3H, *d*, J_{21-20} = 7.04 Hz, CH₃-21), 0.80 (3H, *s*, CH₃-18), 0.80 (3H, *d*, J_{27-25} = 6.46 Hz, CH₃-27).

RMN ¹³C

δ: 31.1 (C-1), 28.5 (C-2) 67.1 (C-3), 34.1 (C-4), 75.5 (C-5) 75.1 (C-6), 39.9 (C-7), 30.1 (C-8), 45.3 (C-9), 40.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.9 (C-12), 38.1 (C-13), 55.7 (C-14), 32.1 (C-15), 81.0 (C-16), 61.9 (C-17), 16.8 (C-18), 16.7 (C-19), 41.5 (C-20), 14.2 (C-21), 109.5 (C-22), 31.4 (C-23), 30.2 (C-24), 29.8 (C-25), 66.7 (C-26), 16.4 (C-27)

5.3.4 Síntesis de (25R)-5α-espirosta-5-hidroxi-3,6-diona (49)

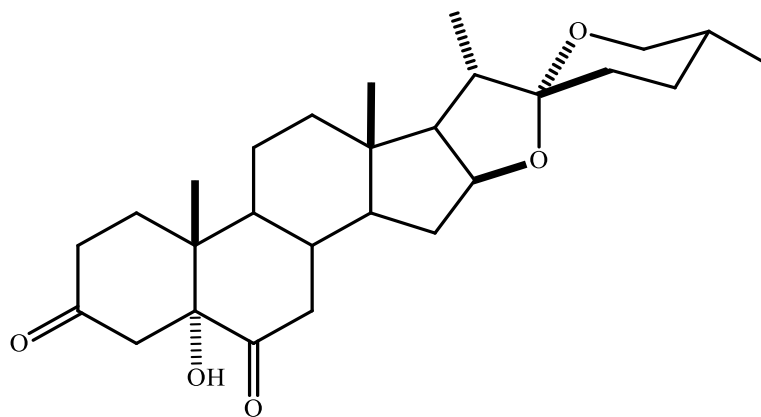


Figura 45. Estructura de (25R)-5α-espirosta-5-hidroxi-3,6-diona (49)

A una disolución del compuesto **48** (0.5 g, 1.205 mmol) en acetona (100 mL) se enfrió a -10°C, se trató con 2.3 mL de reactivo de Jones (ácido crómico) que se adicionó gota a gota con agitación constante. Para finalizar la reacción se agregaron unas gotas de isopropanol y se continuó agitando por un lapso de 3 horas. Se filtró y el producto bruto se neutralizó con una disolución saturada de NaHCO₃ y la fase orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 mL) y agua destilada (20 x 50 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se concentró a presión reducida.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₇H₄₀O₅, P.M.= 444.60 uma, IR=1685 (C=O) cm⁻¹

RMN ¹H

δ: 4.41 (1H, *ddd*, $J = 7.8, 6.3$ Hz, H-16), 3.47 (1H, *ddd*, $J = 10.8, 4.3, 2.0$ Hz, H-26_{ec}), 3.36 (1H, *dd*, $J = 10.9$ Hz, 1H, H-26_{ax}), 3.02 (1H, *d*, $J = 1.4$ Hz, 1H, OH-5), 2.89 (1H, *d*, $J = 15.8$ Hz, 4_{ax}), 2.78 (1H, *t*, $J_{7ax-7ec} = J_{7ax-8} = 12.3$ Hz, H-7_{ax}), 2.30 (1H, *dd*, $J_{4ec-4ax} = 15.8$ Hz, $J_{4ec-2ec} = 1.9$ Hz, H-4_{ec}), 2.21 (1H, *dd*, $J_{7ec-7ax} = 12.9$ Hz, $J_{7ec-8} = 4.2$ Hz, H-7_{ec}), 1.02 (3H, *s*, CH₃-19), 0.98 (3H, *d*, $J = 6.8$ Hz, CH₃-21), 0.79 (3H, *s*, CH₃-18), 0.78 (3H, *s*, CH₃-27)

RMN ¹³C

δ: 31.7 (C-1), 37.2 (C-2), 210.8 (C-3), 41.9 (C-4), 82.6 (C-5), 211.3 (C-6), 44.6 (C-7), 36.8 (C-8), 44.6 (C-9), 43.1 (C-10), 21.3 (C-11), 39.4 (C-12), 41.0 (C-13), 56.0 (C-14), 31.5 (C-15), 80.4 (C-16), 61.9 (C-17), 16.3 (C-18), 13.9 (C-19), 41.6 (C-20), 14.4 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

5.3.5 Síntesis de (25R)-espirosta-4-en-3,6-diona (50)

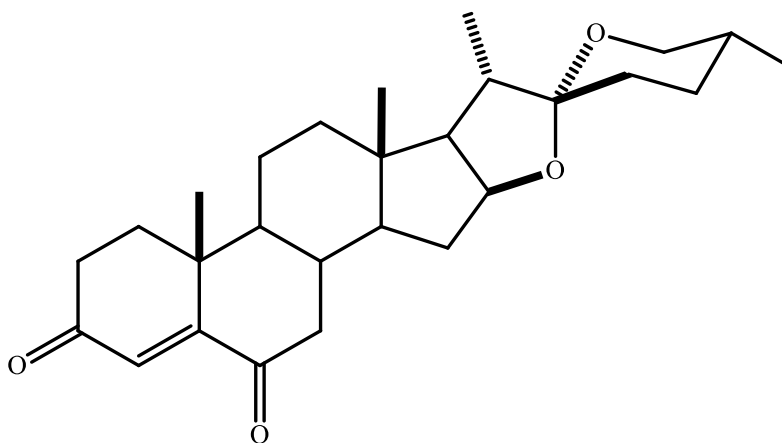


Figura 46. Estructura de (25R)-espirosta-4-en-3,6-diona (50)

Se disolvió 1.0 g, 2.41 mmol) diosgenina en CH₂Cl₂ (40 mL) y acetona (132 mL), esta disolución se enfrió a -10°C y se añadió gota a gota 10 mL de reactivo de Jones (ácido crómico) con agitación constante, la temperatura de la mezcla de reacción no debe exceder los -10°C. Para finalizar la reacción se añadieron unas gotas de isopropanol y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante 3 horas y se filtró por florisil. El producto bruto se neutralizó con una disolución saturada de NaHCO₃ y la fase orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 mL) y agua destilada (20 x 50 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna con un sistema Hexano/EtOAc (8:2) como eluyente. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 85%.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₇H₃₈O₄. P.M.= 426.59 uma. P.F.=193-194°C, [α]_D = -106.2 IR = 2949 (C-H), 1685 (C=O) cm⁻¹

RMN ¹H

δ: 6.18 (1H, *d*, J_{4-2ec} = 0.93 Hz, H-4), 4.42 (1H, *m*, H-16), 3.48 (1H, *ddd*, J_{gem} = 10.8 Hz, $J_{26ec-25}$ = 4.6, $J_{26ec-24}$ = 2.0 Hz, H-26ec), 3.36 (1H, *t*, J_{gem} = $J_{26ax-25}$ = 10.9 Hz, H-26ax), 2.54 (1H, *ddd*, J_{gem} = 17.4 Hz, $J_{2ax-1ax}$ = 14.4 Hz, $J_{2ax-1ec}$ = 5.1 Hz, H-2ax), 2.70 (1H, *m*, H-7''), 2.46 (1H, *dddd*, J_{gem} = 17.4 Hz, $J_{2ec-1ax}$ = 5.3 Hz, $J_{2ec-1ec}$ = 2.7 Hz, J_{2ec-4} = 1.0 Hz, H-2ec), 2.05 (1H, *t*, H-7'), 1.19 (3H, *s*, CH₃-19), 0.99 (3H, *d*, J_{21-20} = 6.8 Hz, CH₃-21), 0.84 (3H, *s*, CH₃-18), 0.80 (3H, *d*, J_{27-25} = 6.3 Hz, CH₃-27).

RMN ¹³C

δ: 39.0 (C-1), 33.8 (C-2), 199.2 (C-3), 125.5 (C-4), 160.5 (C-5), 201.7 (C-6), 33.5 (C-7), 35.3 (C-8), 50.7 (C-9), 39.6 (C-10), 20.5 (C-11), 40.3 (C-12), 41.5 (C-13), 56.1 (C-14), 31.3 (C-15), 80.1 (C-16), 61.7 (C-17), 17.4 (C-18), 16.1 (C-19), 46.6 (C-20), 14.3 (C-21), 109.2 (C-22), 31.2 (C-23), 28.6 (C-24), 30.1 (C-25), 66.7 (C-26), 17.0 (C-27).

5.3.6 Obtención de acetato de (25*R*)-espirosta-5-en-3β-ilo (51)

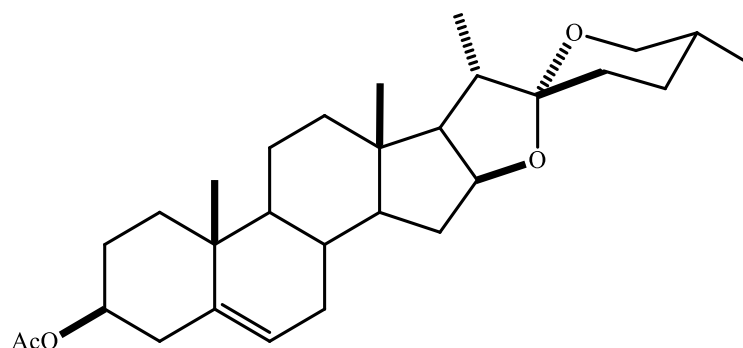


Figura 47. Estructura de acetato de diosgenina (44)

Una disolución de la sustancia **1** (2.0 g, 4.82 mmol) en 10 mL de anhídrido acético (106 mmol) se colocó en reflujo durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se adicionó agua fría (50 mL) para formar un precipitado blanco, el cual fue lavado con una disolución saturada de NaHCO₃ (2x25 mL) y posteriormente con agua destilada (2x25 mL). Se obtiene un sólido blanco con un rendimiento del 85%.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₉H₄₄O₄, P.M.= 456.66 uma, P.F = 194-196 °C, [α]_D = -122° (CHCl₃, c =1.0) IR: 2947 cm⁻¹ (CH), 1737 cm⁻¹ (AcO), 1243 cm⁻¹ (C-O).

RMN ¹H

δ: 5.37 (1H, *d*, $J_{6-7} = 5.2$ Hz, H-6), 4.60 (1H, *m*, H-3), 4.41 (1H, *m*, H-16), 3.47 (1H, *ddd*, $J_{gem} = 10.95$ Hz, $J_{26ec-25ax} = 4.48$ Hz $J_{26ec-24ec} = 2.06$ Hz, H-26ec), 3.37 (1H, *dd*, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.8$ Hz, H-26ax), 2.03 (3H, *s*, CH₃COO-3), 1.02 (3H, *s*, CH₃-19), 0.97 (3H, *d*, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH₃-21), 0.79 (3H, *d*, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH₃-27), 0.79 (3H, *s*, CH₃- 18).

RMN ¹³C

δ: 36.9 (C-1), 27.7 (C-2), 73.6 (C-3), 38.0 (C-4), 139.6 (C-5), 122.3 (C-6), 32.0 (C-7), 30.3 (C-8), 49.9 (C-9), 36.7 (C-10), 31.3 (C-11), 21.4 (C-12), 40.2 (C-13), 31.4 (C-14), 28.8 (C-15), 80.6 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 19.35 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 39.7 (C-23), 31.8 (C-24), 56.4 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.5 (CH₃COO-3), 20.8 (CH₃COO-3).

5.3.7 Obtención de mezcla de acetato de (25*R*)-5α,6α-epoxi-espirostan-3α-ilo (**52a**) y acetato de (25*R*)-5β,6β-epoxi-espirostan-3β-ilo (**52b**)

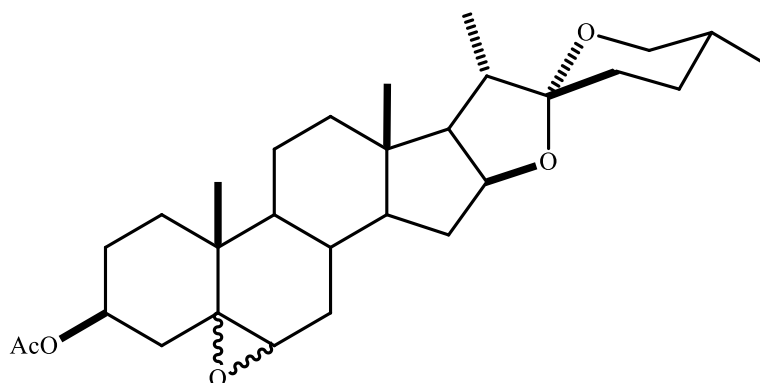


Figura 48. Mezcla de **52a** y **52b**.

Se preparó una disolución de acetato de diosgenina (500 mg, 1.1 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂, posteriormente se adicionaron 300 mg (1.7 mmol) de *m*-CPBA, la mezcla se efectuó a temperatura ambiente hasta la desaparición de la materia prima. La reacción fue monitoreada por CCF, posteriormente se extrajo con 25 mL de AcOEt y realizaron lavados con salmuera, disolución saturada de NaHCO₃ y agua, finalmente la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y evaporó el disolvente. Se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema 8:2 Hexano/AcOEt obteniendo un sólido blanco con un 90% de rendimiento

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₉H₄₄O₅. P.M.=472.66 uma. P.F.=194-196 °C. [α]_D = -111.3°
IR=2947 (C-H), 1737 (AcO), 1243 (C-O) cm⁻¹.

RMN ¹H

δ: 4.76 (1H, *m*, H-3), 4.38 (1H, *m*, H-16), 3.46 (1H, *m*, H-26_{ec}), 3.36 (1H, *m*, H-26_{ax}), 3.09 (1H, *m*, H-6), 2.02 (3H, *s*, CH₃CO₂-3), 1.12 (3H, *s*, CH₃-19), 0.96 (3H, *d*, *J*₂₁₋₂₀ = 7.1 Hz, CH₃-21), 0.79 (3H, *s*, CH₃-18), 0.73 (3H, *d*, *J*₂₇₋₂₅ = 6.8 Hz, CH₃-27).

RMN ¹³C

δ: 37.2 (C-1), 31.4 (C-2), 73.8 (C-3), 42.2 (C-4), 61.5 (C-5), 60.0 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 56.5 (C-14), 31.8 (C-15), 80.8 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 19.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.4 (CH₃C=O-3), 21.4 (CH₃COO-3).

5.3.8 Obtención de acetato de (25*R*) 5α-hidroxilaxogenina (53)

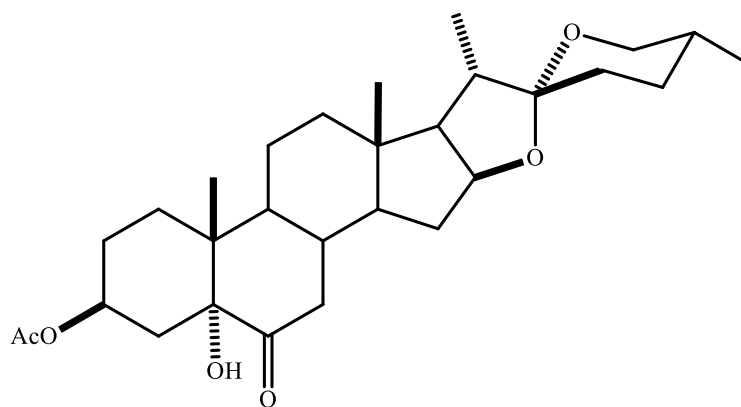


Figura 49. Estructura de acetato de (25*R*) 5α-hidroxilaxogenina (53).

En un matraz provisto de agitación magnética se colocaron 200 mg del compuesto **52** disolviéndolo en 1.5 mL de acetona, enseguida se adicionó 230 mg de CrO₃ previamente disueltos en 0.25 mL de agua y se colocó el matraz en condiciones de calentamiento, no excediendo los 55°C durante 40 minutos. La reacción fue monitoreada cada 30 minutos por CCF con un sistema 6:4 (hexano/AcOEt) y al comprobar la desaparición de la materia prima, fue

detenida después de 2 horas de reacción. El crudo de la reacción fue vertido en agua fría, formándose un precipitado que fue filtrado y recrystalizado en metanol. El crudo de reacción se purifica en CC utilizando como fase móvil un sistema 6:4 hexano/acetato de etilo, obteniendo rendimientos del 89 %.

Caracterización

Fórmula molecular: $C_{29}H_{42}O_5$. P.M.= 488.31 uma. P.F.=278-280 °C. $[\alpha]_D = +127.6$
IR:3384.103 (OH), 1703 AcO), 1236 (C-O) cm^{-1} .

RMN 1H

δ : 5.03 (1H, *m*, H-3), 4.41 (1H, *ddd*, $J_{16-15ec} = 6.3$ Hz, $J_{16-15ax} = 7.5$ Hz, $J_{16-17} = 8.5$ Hz, H-16), 3.47 (1H, *ddd*, $J_{26ec-26ax} = 10.9$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.3$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.0$ Hz, H-26ec), 3.36 (1H, *dd*, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.9$ Hz, H-26ax), 2.77 (1H, *dd*, $J = 13.0, 11.6$ Hz, H-7ax), 2.67 (1H, *s*, OH-5), 2.14 (1H, *dd*, $J = 13.0$ Hz, 4.1 Hz, H-7ec), 2.02 (3H, *s*, CH_3 -COOC-3), 0.97 (3H, *d*, $J_{21-20} = 6.9$ Hz, CH_3 -21), 0.83 (3H, *s*, CH_3 -19), 0.79 (3H, *d*, $J_{27-25} = 6.3$ Hz, CH_3 -27), 0.76 (3H, *s*, CH_3 -18).

RMN ^{13}C

δ : 29.4 (C-1), 26.2 (C-2), 70.7 (C-3), 32.3 (C-4), 80.1 (C-5), 212.0 (C-6), 41.7 (C-7), 36.7 (C-8), 44.2 (C-9), 42.4 (C-10), 21.1 (C-11), 39.5 (C-12), 41.0 (C-13), 56.0 (C-14), 31.5 (C-15), 80.4 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 13.9 (C-19), 41.5 (C-20), 14.4 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.0 (C-27), 171.1 (CH_3 \underline{C} OO-3), 21.3 (\underline{C} H3COO-3).

5.3.9 Obtención de (25*R*)-5 α -espirostan-3 β ,5-dihidroxi-6-ona (**54**)

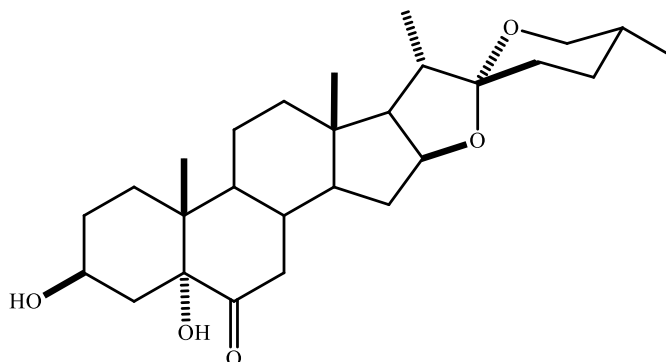


Figura 50. Estructura del compuesto **54**.

En un matraz provisto de agitación magnética se colocaron 1.26 g del compuesto **53** y 30 mL de una solución de KOH al 10 % en etanol; la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y fue monitoreada por CCF en un sistema 5:5 (hexano/AcOEt). La reacción se detuvo después de una hora aproximadamente, el crudo de la reacción fue recuperado con metanol. Posteriormente se evaporó el disolvente y se dejó secar en alto vacío para eliminar los residuos del disolvente utilizado. Se realizó cromatografía en columna para purificar el compuesto, utilizando como eluyente sistema 5:5 hexano/acetato de etilo, obteniendo un rendimiento de 83%.

Caracterización

Fórmula molecular: C₂₇H₄₂O₅. P.M.= 446.30 uma. P.F. =282-284 °C, [α]_D= -62.4° IR: 3513 (OH), 3316 (OH), 1686 (C=O), 1237 (C-O) cm⁻¹.

RMN ¹H

δ : 4.41 (1H, *m*, H-16), 3.97 (1H, *m*, H-3), 3.47 (1H, *ddd*, $J_{26ec-26ax} = 10.8$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.3$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.0$ Hz, H-26ec), 3.36 (1H, *dd*, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.9$ Hz, H-26ax), 2.74 (1H, *dd*, $J_{7ax-7ec} = 13.0$, $J_{7ax-8} = 11.7$ Hz, H-7ax), 2.16 (1H, *dd*, $J_{7ec-7ax} = 13.0$ Hz, $J_{7ec-8} = 11.7$ Hz, H-7ec), 0.97 (3H, *d*, $J_{21-21} = 6.8$ Hz, H-21), 0.83 (3H, *s*, H-19), 0.79 (3H, *d*, $J_{27-25} = 6.3$ Hz, H-27), 0.76 (3H, *s*, H-18).

RMN ¹³C

δ: 30.2 (C-1), 28.7 (C-2), 66.9 (C-3), 36.4 (C-4), 80.5 (C-5), 211.7 (C-6), 41.8 (C-7), 36.7 (C-8), 44.5 (C-9), 42.4 (C-10), 21.2 (C-11), 39.6 (C-12), 41.0 (C-13), 56.1 (C-14), 31.3 (C-15), 80.7 (C-16), 61.9 (C-17), 16.4 (C-18), 14.1 (C-19), 41.5 (C-20), 14.4 (C-21), 109.3 (C-22), 31.5 (C-23), 29.7 (C-24), 30.3 (C-25), 67.2 (C-26), 17.1 (C-27)

6. CONCLUSIONES

- Los resultados de los estudios de acoplamiento molecular demuestran que ninguno de los compuestos propuestos, bloquea el receptor de andrógenos, debido a que las energías de acoplamiento de sus ligandos naturales son mayores que los que presentan dichas moléculas, no obstante, si muestran mayor acoplamiento que los ligandos naturales de la enzima CYP17A1.
- La predicción de las propiedades farmacocinéticas arroja que los compuestos **1**, **40**, **51**, **52a**, **52b** y **53** son los que probablemente no tengan éxito al ser efectivos como fármacos, mientras que las moléculas **48**, **49**, **50** y **54** presentan una mejor oportunidad de convertirse en medicamentos efectivos.
- Se logró realizar la síntesis y caracterización de los compuestos propuestos.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Reynoso-Noverón, N.; Torres-Domínguez, J. A. *Rev. Latinoam. Med. Conducta*. **2017**, 8, 1.
- [2] American Cancer Society, “American Cancer Society,” **2019**. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2019/cancer-facts-and-figures-2019.pdf>. [Consultado: Abril-2020].
- [3] INEGI, “Características de las defunciones registradas en México durante 2018,” **2019**. <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia.html?id=5277>. Consultado: Abril-2020].
- [4] Secretaria de Salud and G. de México, “El cáncer en el mundo y México,” **2020**. <https://www.infocancer.org.mx/?c=conocer-el-cancer&a=estadisticas-mundiales-y-locales>. [Consultado: Abril-2020].
- [5] Gutierrez Ravelo, A.; Estévez, Braun, A. *Rev. R. Acad. Cienc. Exactas Fis. y Nat.* **2009**, 103, 409.
- [6] Shafi, A. A.; Yen, A. E.; Weigel, N. L. *Pharmacol. Ther.* **2013**, 140, 223.
- [7] Antonarkis, E. S.; Chandhasin, C.; Osbourne, E.; Luo, J.; Sadar, M. D.; Perabo, F. *Curr. Drug Targets*, **2016**, 17, 290.
- [8] Gomez, L.; Kovac, J. R.; Lamb, D. J. *Steroids*. **2015**, 95, 80.
- [9] Fernández-Cancio, M.; Camats, N.; Flück, C.; Zalewski, A.; Dick, B.; Frey, B. M.; Monné, R.; Torán, N.; Audi, L.; Pandey, A. *Pharmaceuticals*. **2018**, 11,37.
- [10] DeVore, N. M.; Scott, E. E. *Nature*. **2012**, 482, 116.
- [11] Saldívar-González, F.; Prieto-Martínez, F. D.; Medina-Franco, J. L. *Educ. Quim.* **2016**, 28, 51.
- [12] Mohs, R. C.; Greig, N. H. *Alzheimers. Dement.* **2017**, 3, 651

- [13] Prieto-Martínez, F.D.; Medina-Franco, J. L. *TIP Rev. Espec. Cienc. Quím. Biol.* **2018**, *21*, 124
- [14] T. Ntuli. *Cell Death Autophagy, Apoptosis and Necrosis*. University of South Africa, South Africa, **2015**.
- [15] Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 3ra ed. John Wiley & Sons: Chichester. **2009**.
- [16] Sethi, G.; Shanmugam, M. K.; Warriar, S.; Merarchi, M.; Arfuso, F.; Kumar, A. P.; Bishayee, A. *Nutrients*. **2018**, *10*, 1
- [17] Zhou, Y.; Garcia-Prieto, C.; Carney, D. A.; Xu, R.; Pelicano, H.; Kang, Y.; Yu, W.; Lou, C.; Kondo, S.; Liu, J.; Harris, D. M.; Estrov, Z.; Keating, M. J.; Jin, Z.; Huang, P. *J. Natl. Cancer Inst.* **2005**, *97*, 1781
- [18] Xiao, F.; Yang, M.; Xu, Y.; Vongsangnak, W. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **2015**, *13*, 520
- [19] Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. *Sci.* **2017**, *7*, 1.
- [20] N. C. Institute, “National Cancer Institute,” 2018. <https://www.cancer.gov>. [Consultado: Febrero-2020].
- [21] Boultonwood, J.; Carrie, Fidler. *Molecular Analysis of Cancer*. 1a ed. Humana Press: Totowa, New Jersey. **2002**.
- [22] Gamat, M.; McNeel, D. G. *Endocr.-Relat. Cancer*, **2017**, *24*, T297
- [23] American Cancer Society, “American Cancer Society,” **2019**.
- [24] Spahn, S.; Joniau, S.; Gontero, P.; Fieuws, S.; Marchioro, G.; Tombal, G.; Kneitz, B.; Chao-Yu, H.; Van Der Eeck, K.; Bader, P.; Frohneberg, D.; Tizzani, A.; Van Poppel, H. *Eur. Urol.* **2010**, *58*, 1
- [25] Huggins, C. *Ann. Surg.* **1942**, *115*, 1192.
- [26] Arroyo-Kuribreña, J. C.; Soto-Vega, E.; Muñoz-Pérez, M.; Contreras, J. M.; Varela-Cabrera, J. A. *Rev. Mex. Urol.* **2012**, *72*, 182.

- [27] Deng, L.; Wu, H.; Yu, B.; Jiangb, M.; Wu, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2781.
- [28] Shafi, A. A.; Yen, A. E.; Weigel, N. L. *Pharmacol. Ther.* **2013**, *140*, 223.
- [29] Brito, V.; Santos, A. O.; Almeida, P.; Silvestre, S. C. R. *Chim.* **2019**, *22*, 73.
- [30] Delgado, G.; Romo de Vivar, A. *Temas Selectos de Química de Productos Naturales*. 1^a ed. Instituto de Química: México. **2015**.
- [31] Wang, L.; Zhang, J.; Wan, L.; Zhoua, X.; Wanga, Z.; Wei, W. *Pharmacol. Ther.* **2004**, *55*, 79.
- [32] Shishodia, S.; Aggarwal, B. B. *Oncogene*. **2006**, *25*, 1463
- [33] Raju, J.; Bird, R. P. *Cancer Lett.* **2007**, *255*, 194.
- [34] Corbiere, C.; Liagre, B.; Bianchi, A.; Bordji, K.; Dauça, M.; Netter, P.; Beneytout, J. L. *Int. J. Oncol.* **2003**, *22*, 899.
- [35] Chun-Te, C.; Tzong-Der, W.; Shang-Jie, T.; Jen-Kun, L. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 5735
- [36] Li, F.; Fernandez, P. P.; Rajendran, P.; Hui, K. M.; Sethi, G. *Cancer Lett.* **2010**, *292*, 197.
- [37] Jesus, M.; Martins, A. P. J.; Gallardo, E.; Silvestre, S. *J. Anal. Methods Chem.* **2016**, *2016*, 1.
- [38] Shamsul, S.; Aqil, A. *Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone*; 1a ed. Springer. New York. **2011**.
- [39] G. P. Moss. *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1783.
- [40] Jastrzebska, I. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 353.
- [41] Nandha, R. *J. Postgrad. Med.* **2012**, *58*, 203.
- [42] Patente numero: WO 2016/004910 A1” **2016**.
- [43] Patente número: EP 0 721 461 B1.**1995**.
- [44] Velásquez, M.; Drosos, J.; Gueto, C.; Márquez, J.; Vivas-Reyes, R. *Rev. Colomb. Química.* **2013**, *42*, 1.

- [45] Reddy, A. S.; Pati, S. P.; Kumar, P. P.; Pradeep, H. N.; Sastry, G. N. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2007**, *8*, 329.
- [46] Nabuurs, S. B.; Wagener, M.; De Vlieg, J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6507.
- [47] O'Brien, S. E.; Brown, D. G.; Mills, J. E.; Phillips, C.; Morris, G. J. *Mol. Graph. Model.* **2005**, *24*, 186.
- [48] Flórez, J. *Farmacología Humana*. 5^a ed. Elsevier Masson: México, **2008**.
- [49] Pires, D. E. V.; Blundell, T. L.; Ascher, D. B. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 4066
- [50] Tian, S.; Wang, J.; Li, Y.; Li, D.; Xu, L.; Hou, T. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2015**, *86*, 2.
- [51] Sheu, J. H.; Huang, S. Y.; Wang, G. H.; Duh, C. Y. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 900.
- [52] Pabón, A.; Escobar, G.; Vargas, E.; Cruz, V.; Notario, R.; Blair, S.; Echeverri, F. *Molecules.* **2013**, *18*, 3356.
- [53] Witiak, D. T.; Parker, R. A.; Brann, D. R. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 496.
- [54] Badria, F. A.; A. Dawidar, A. A.; Houssen, W. E.; W. T. Shier, *Z. Naturforsch.* **2005**, *60*, 139.
- [55] Rivera, D. G.; León, F.; Coll, F.; Davison, G. P. *Steroids.* **2006**, *71*, 1.
- [56] Ooi, T.; Otsuka, H.; Miura, T.; Ichikawa, H.; Maruoka, K. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2669.
- [57] Dawidar, A. M.; Saleh, A. A.; Abdel-Malek, M. M. *Z. Naturforsch.* **1980**, *35b*, 102.
- [58] Sánchez-Sánchez, L.; Hernández-Linares, M. G.; Escobar, M. L.; López-Muñoz, H.; Zenteno, E.; Fernández-Herrera, M. A.; Guerrero-Luna, G.; Carrasco-Carballo, A.; Sandoval-Ramírez, J. *Molecules.* **2016**, *21*, 1.

REFERENCIAS DE FIGURAS

- [1] Internacional Agency for Reserch of Cancer, «Globocan 2018,» [En línea]. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>. [Último acceso: 2020].
- [2] ACB Salud, «ACB Salud,» [En línea]. https://www.abc.es/salud/abci-farmaco-muestra-eficaz-cancer-201209170000_noticia.html?ref=https:%2F%2Fwww.google.com%2F. [Último acceso: 18 06 2020].
- [3] MedImaging, [En línea]. <https://www.medimaging.es/medicina-nuclear/articulos/294779645/sobrevivientes-de-cancer-de-prostata-pueden-renunciar-a-la-radioterapia-postoperatoria.html>. [Último acceso: 18 06 2020].
- [4] Sanitaria 2000, «Redacción Médica,» [En línea]. <https://www.redaccionmedica.com/secciones/oncologia-medica/la-cirugia-no-aporta-beneficios-a-largo-plazo-en-cancer-de-prostata--3642>. [Último acceso: 18 06 2020].
- [5] Instituto Nacional del Cáncer, [En línea]. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata/hoja-informativa-terapia-hormonal>. [Último acceso: 21 06 2020].
- [6] I. U. Y. M. S. D. L. Rodríguez-Vela., «INSTITUTO UROLOGÍA Y MEDICINA SEXUAL,» 2020. [En línea]. <https://www.institutouroandrologico.com/servicios/enfermedades-prostata/>. [Último acceso: 15 MAYO 2020].