



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

"SINTESIS DE 16 β -METIL-17 α -PROPIOXI-1,4,6-PREGNATRIEN-3,20-DIONA COMO UN ANTIANDROGENO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
NORMA MARQUEZ GONZALEZ



MEXICO, D. F.

267209

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: POZAS HORCASITAS ROCIO

VOCAL: BRATOEFF TITEFF EUGENE ATHANAS

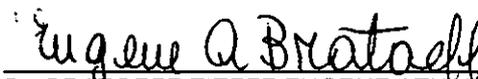
SECRETARIO: MENDEZ STIVALET JOSE MANUEL

1er SUPLENTE: ACOSTA HUERTA ALEJANDRINA

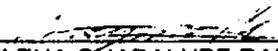
2o. SUPLENTE: LEON CEDEÑO FERNANDO

Sitio donde se desarrolló el tema: Departamento de Farmacia de la División de Estudios de Posgrado. Facultad de Química. UNAM.

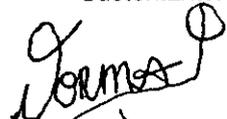
Asesor de tema de tesis. ...


Dr. BRATOEFF TITEFF EUGENE ATHANAS

Supervisor técnico:


M. en C. ELENA GUADALUPE RAMIREZ LOPEZ

Sustentante:


NORMA MARQUEZ GONZALEZ

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS, por permitirme estar viviendo este momento rodeada de personas a quienes amo tanto.

A la UNAM, por permitirme formar parte de ella; primero en la PREPA 9 y después en la Facultad de QUIMICA.

A todos los profesores de la carrera por transmitir sus conocimientos y experiencias.

Al Dr. Eugene Bratoeff., por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

A la M. en C. Elenita Ramírez L., por su ayuda que me brindo asesorandome en este trabajo; además de que siempre mostró una sonrisa en los momentos difíciles.

Al M. en C. César Flores O., por su trabajo en la evaluación farmacológica de todos los compuestos.

Al USAI por su apoyo a la investigación.

DEDICATORIAS.

A mi padre Gabriel Márquez C., por su trabajo, esfuerzo, constancia y amor; por ser un ejemplo de honestidad, por sus palabras de aliento, por su apoyo, por sus ganas de seguir adelante, por ser mi papá; te amo.

A mi madre Lucrecia González A., por su confianza, entrega y cuidados; por estar siempre con nosotros, por su apoyo, por su cariño, por preocuparse por su familia, por sus desvelos, por ser la mejor mamá.

A la memoria de mi abuelita Esperanza Arroyo P., por que ella reflejó la existencia de mis otros abuelos; por luchar siempre y no darse por vencida nunca, por su entrega, por vivir siempre con nosotros, por su cariño..... te extraño.

A mis hermanos; Gaby, Israel y Dora, por que a pesar de tener gustos diferentes logramos pasar buenos ratos, por la unión que existe entre nosotros, por apoyarme siempre, por confiar en mi; los quiero. (A Koko por su fidelidad y cariño).

A mi prima Irene; por su apoyo que nos ha brindado tanto a mí como a mi familia, por su confianza. por ser una persona sencilla.

A las niñas Katya, Liz, Karlita y Gris; por llevar a la casa alegría, por su cariño, por su inocencia y travesuras.

A mi tía Meye; por sus rezos, por su apoyo, por su cariño, por preocuparse por nosotros, por ser una persona bondadosa y por tener un alma tan transparente.

A mi tía Mary, por estar siempre con nosotros, por su interés y cariño, por alegrarnos los domingos.

A las familias:

Águilar Sánchez.
García Sánchez.
González Márquez.
Guzmán Morales.
Jiménez Álvarez.
Márquez Almanza
Márquez Trejo.
Martínez Márquez.
Morales Galindo.
Morales Ireta.
Sánchez González.

Por su apoyo e interés.

A mis amigos del grupo 9; que sin importar el tiempo que pasa nos seguimos buscando, en especial a Paty H., Sandra, Olga, Anibal, Ale, Eli, Gabriel, Mayela. Liz, y Adrián.

A mis amigas de siempre; Claudia, Alicia, Ivonne y Miriam, por su confianza, por su cariño, por compartir una de mis mejores etapas en la prepa.

A Paty M., por los momentos que hemos compartido, por su confianza, por escucharme, por ser mi amiga.

A todas mis compañeras del laboratorio 125, que de una u otra manera me ayudaron en la realización de este trabajo; Goya, Norma V., Katya, Norma, Diana, Magali, Mary, Rosy y la Sra. Lupita.

A Carmen, Lucía y Dario; por ayudarme en muchos detalles de este trabajo.

Con todo cariño a Hugo, por que en tan poco tiempo he aprendido con él mucho de lo que desconocía, por su apoyo y ayuda incondicional, por su interés que siempre muestra, por compartir lo más valioso que tenemos... la vida.

A todas aquellas personas que no conozco, pero con su poesía, música e ideas han trascendido a través del tiempo.

ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1. ESTEROIDES.....	6
2.1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTEROIDES.....	6
2.1.2. EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS ESTEROIDES.....	8
2.2. ANDRÓGENOS.....	10
2.2.1. FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA GENITAL MASCULINO.....	10
2.2.2. SÍNTESIS DE TESTOSTERONA (XV).....	10
2.2.3. FUNCIÓN DE LA TESTOSTERONA (XV).....	11
2.2.4. PARTICIPACIÓN DE LOS ANDRÓGENOS EN PROCESOS FARMACOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS.....	12
2.2.5. MECANISMO DE ACCIÓN.....	12
2.2.6. CONSECUENCIAS QUE REPERCUTEN EN LA CARENCIA DE LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA.....	14
2.2.7. PAPEL DE LOS ANDRÓGENOS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	17
2.2.8. TRATAMIENTO PARA EL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	17
2.2.9. PAPEL DE LOS ANDRÓGENOS EN LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA.....	18
2.2.10. TRATAMIENTO PARA LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA.....	19
2.3. ANTIANDRÓGENOS.....	19
2.3.1. SÍNTESIS DE ANTIANDRÓGENOS.....	19
2.3.2. FUNCIÓN BIOLÓGICA Y FARMACOLÓGICA DE LOS ANTIANDRÓGENOS.....	21
2.3.3. CARACTERÍSTICAS QUE DEBEN CUMPLIR LOS ANTIANDRÓGENOS PARA SU USO TERAPÉUTICO.....	22
2.3.4. USO TERAPÉUTICO DE LOS ANTIANDRÓGENOS.....	22
2.3.5. CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE LOS ANTIANDRÓGENOS.....	22
2.3.6. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIANDRÓGENOS SEGÚN EL SITIO DE ACCIÓN.....	25
3. OBJETIVOS.....	29

4. METODOLOGÍA Y RESULTADOS.....	31
4.1. METODOLOGÍA Y RESULTADOS OBTENIDOS DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.....	32
4.2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA.....	44
5. DISCUSIÓN	47
5.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS QUÍMICOS.....	47
5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS BIOLÓGICOS.....	57
6. CONCLUSIONES.....	59
7. APÉNDICE.....	60
8. ABREVIACIONES.....	83
9. BIBLIOGRAFÍA.....	85

1. INTRODUCCIÓN.

Hoy en día, se sabe que patologías tales como el cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna, representan unas de las enfermedades con mayor frecuencia en hombres con edad promedio de 55 años.

Se sabe poco sobre las causas del cáncer de próstata. Por lo general se habla de tres factores principales: edad, raza y sistema endocrino. A esta triada puede añadirse un cuarto factor; las influencias ambientales.¹ El carcinoma de próstata es el tipo más frecuente de cáncer en varones (seguido de cerca por el cáncer de pulmón) y la tercera causa de muerte por cáncer. Se estima que cada año se detectan 100,000 nuevos casos de los que aproximadamente un tercio tienen una evolución fatal.²

Esta enfermedad surge cuando las células del tejido empiezan a multiplicarse sin ningún control y de manera progresiva hasta llegar a la formación de un tumor; si este tumor no invade los tejidos vecinos y queda circunscrito, generalmente es un tumor benigno. Sin embargo, si el tumor invade tanto los tejidos vecinos como los que se encuentran a distancia (metástasis) entonces se trata de un tumor maligno.

En cuanto a la hiperplasia prostática benigna (hiperplasia nodular o hipertrofia), se caracteriza por la formación de nódulos voluminosos bastante bien delimitados en la región periuretral de la próstata. Cuando alcanzan el tamaño suficiente, los nódulos comprimen y estrechan el conducto uretral y causan una obstrucción parcial, a veces prácticamente completa, de la uretra.^{3,4}

Para darnos una idea del alto grado de incidencia de estas patologías podemos mencionar, que estudios estadísticos nos indican que existe una elevada tasa de casos diagnosticados en años recientes y que se han llegado a practicar alrededor de 200,000 prostatectomías anuales en USA.⁵

Se ha comprobado por los estudios de Huggins y Hodges,⁶ que la extensión metastásica del cáncer de próstata se puede detener o retrasar durante cierto tiempo mediante castración, administración de estrógenos o ambos. Esto hizo sospechar lógicamente que los andrógenos desempeñarían un papel causal.

Por otra parte aunque no se conoce la causa de la hiperplasia prostática benigna, los datos disponibles sugieren que en su aparición participan los andrógenos y estrógenos.⁷

Como bien se conoce, la testosterona (XV) (página 8), principal andrógeno en el plasma de los varones, se sintetiza en los testículos, los ovarios y la corteza suprarrenal.⁸ En la circulación, la testosterona actúa como una prehormona, ya que esta se convierte de forma irreversible a 5α -dihidrotestosterona (DHT) (XIX) (página 14) por acción de una enzima localizada en la membrana celular y dependiente de NADPH llamada 5α -reductasa.⁹ (ver Esquema C página 14).

Considerando que la dihidrotestosterona es la forma activa de la testosterona, ya que es ella la que se une con mayor afinidad y de manera irreversible al receptor androgénico y tomando en cuenta que al disminuir la concentración de DHT puede ayudar considerablemente a controlar la evolución del cáncer de próstata y el desarrollo de hiperplasia prostática benigna, así es como surgen nuevas estrategias terapéuticas para buscar nuevos compuestos sintéticos que sean capaces de actuar con el receptor androgénico.

Con ello se sugiere que el bloque de andrógenos puede ser el arma terapéutica en algunas enfermedades provocadas por andrógenos, como el cáncer de próstata, el hirsutismo, el acné patológico, la seborrea, la alopecia androgénica, la pubertad precoz y la hiperplasia prostática benigna.^{5,10,11,12}

En las últimas décadas se han llevado a cabo diversos estudios encaminados a analizar la inhibición selectiva de varios antiandrógenos sobre la espermatogénesis por lo que el interés en los agentes antiandrogénicos se ha aumentado. Desafortunadamente, los compuestos que existen son agentes que presentan efectos colaterales adversos.

Dentro de la terapia para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna así como para el cáncer de próstata se encuentran la cirugía y la radiación, estos son métodos comunes de tratamiento; sin embargo una de sus repercusiones es el desequilibrio emocional en el paciente además de que produce efectos secundarios como incontinencia, lesión intestinal e impotencia sexual, además de los propios de la radiación.¹³

En la actualidad, se dispone de compuestos sintéticos para inhibir la síntesis de testosterona (XV) (página 8) a nivel de la hipófisis (agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina; GnRH) y los testículos (Ketoconazol (XXXVI) (página 24), Liarazol), para evitar la conversión de testosterona en dihidrotestosterona (XIX) (página 14) en tejidos extraglandulares (Finasteride (XXXI) (página 23)), así como para bloquear la unión de los andrógenos a su receptor (Flutamida (XXXII) (página 24), Acetato de Ciproterona (XXVII) (página 23)).¹⁰

El acetato de ciproterona constituye un potente antagonista androgénico, que se encuentra ampliamente distribuido en el mercado debido a que se utiliza en el tratamiento de diversas patologías, entre ellas pueden mencionarse: acné, calvicie con patrón masculino, hirsutismo y síndromes virilizantes (Neri, 1976; Newmann, 1982; Newmann y Töpert, 1986). También se ha intentado usar en el tratamiento de la pubertad temprana (Kavli y col., 1976) e hiperplasia y carcinomas prostáticos (Namer, 1988), así como para inhibir el libido en varones con desviaciones graves de conducta sexual (Laschet y col., 1967).

Sin embargo pese al gran uso terapéutico que se le da a este fármaco, presenta efectos secundarios progestacionales no deseados; es por ello que continua existiendo un gran interés en desarrollar nuevos fármacos que puedan competir en cuanto a actividad farmacológica con el acetato de ciproterona (XXVII) (página 23) y que además presenten el mínimo de efectos progestacionales posibles.

Por el análisis de la relación estructura-actividad biológica de los antiandrógenos esteroidales (acetato de ciproterona y sus derivados) se ha concluido que su actividad se debe a la estructura casi plana de la molécula, a la presencia del grupo 1α - 2α -ciclometileno en C-1 y C-2. (un doble enlace entre estos dos átomos de carbono presenta casi el mismo efecto), los dobles enlaces entre los carbonos C-4 y C-5 y los carbonos C-6 y C-7, al sustituyente electronegativo en C-6 y al grupo α -acetoxi en C-17, así como los dos grupos cetónicos en C-3 y C-20.¹⁴

Tomando en cuenta lo dicho anteriormente, el equipo de trabajo del Dr. Bratoeff, ha sintetizado una gran diversidad de compuestos antiandrogénicos cuyo esqueleto base pertenece al núcleo del pregnano (IV) (página 7). Todo esto nos condujo a proponer en el presente trabajo de tesis, sintetizar un derivado del pregnano que reúna las características moleculares antes descritas; sin contar con la presencia de un sustituyente electronegativo en C-6 pero adicionando un grupo metilo en C-16. Este compuesto se evaluará farmacológicamente como inhibidor de la enzima 5α -reductasa así de esta manera se podrá determinar su actividad antiandrogénica.

Para llegar a obtener el compuesto de interés se siguió una ruta de síntesis secuencial con un total de 7 pasos, empleando como materia prima el acetato de 16-dehidropregnenolona (XXXVII) (página 30) a la cual se le hicieron las siguientes modificaciones en su estructura molecular:

- a) Introducción de un grupo metilo en el carbono C-16.
- b) Formación de un grupo carbonílico en el carbono C-3.
- c) Introducción de dobles ligaduras en los carbonos C-1, C-4 y C-6.
- d) Introducción de un grupo éster en el carbono C-17.

De esta manera se llegó al compuesto de interés: **16 β -metil-17 α -propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20 diona (XLIV)** (página 30).

Como este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, su estructura se caracterizó mediante sus propiedades físicas (p.f.) y datos espectroscópicos (UV, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y EMIE).

2. ANTECEDENTES.

2.1. ESTEROIDES.

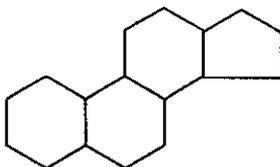
Los esteroides son un grupo de compuestos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, se les puede encontrar tanto en materiales vegetales como animales.

La estructura de los esteroides se caracteriza por tener generalmente en su esqueleto base un policiclo llamado núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno (I) (página 6). El grupo alcohol, el grupo ceto y los dobles enlaces son comunes, pero resulta raro que cuenten con los enlaces de ésteres.¹⁵

Figura 1.

Esqueleto base de los esteroides.

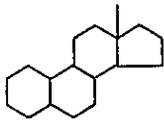
Núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno (I).



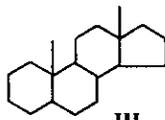
2.1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTEROIDES.

Los esteroides se clasifican considerando su estructura química, básicamente se toma en cuenta la cadena que se presenta en la posición del carbono C-17 (ver Esquema A página 7).

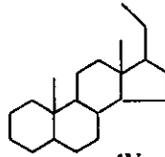
Esquema A.
Clasificación de los Esteroides.



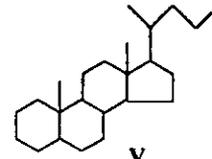
II
Estrano.



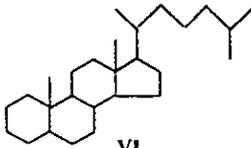
III
Androstano.



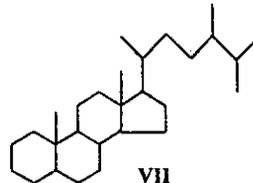
IV
Pregnano.



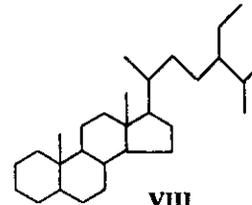
V
Colano.



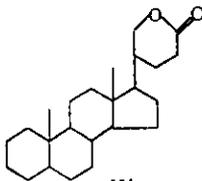
VI
Colestano.



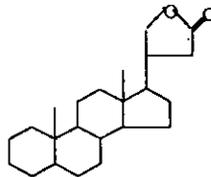
VII
Ergostano.



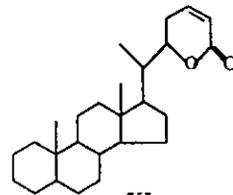
VIII
Estigmastano.



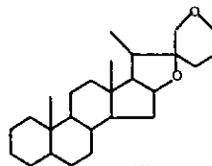
IX
Bufanólido.



X
Cardanólido.



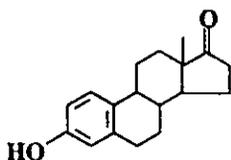
XI
Witanólidos



XII
Espirostano.

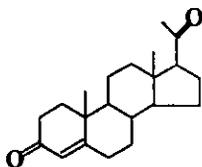
2.1.2. EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS ESTEROIDES.

Los efectos fisiológicos de los esteroides varían considerablemente de unos compuestos a otros y van de la actividad de las vitaminas a la de las hormonas sexuales. En la siguiente lista se dan las estructuras, los nombres y las propiedades fisiológicas de algunos de ellos:¹⁶



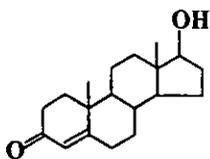
XIII
Estrona.

La estrona es la hormona estrogénica de la mujer.



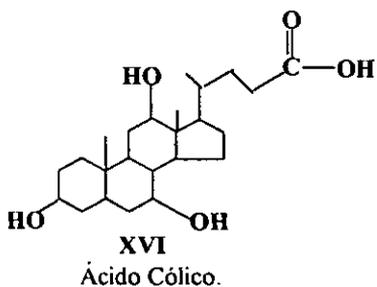
XIV
Progesterona.

La progesterona es llamada hormona del embarazo femenino, la segrega el cuerpo amarillo (corpus luteum).

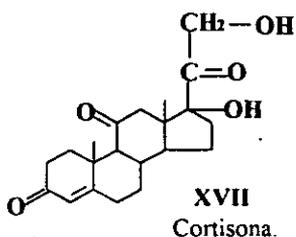


XV
Testosterona.

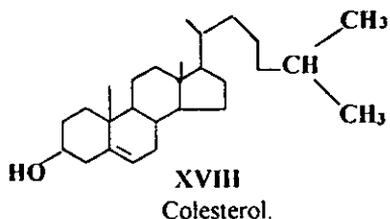
La testosterona es la hormona sexual masculina, regula el desarrollo de los órganos reproductores y las características sexuales secundarias.



El ácido cólico se encuentra en la bilis, en la forma de su sal de sodio. Esta u otras sales están estrechamente relacionadas, son las sales biliares, que actúan en los procesos de digestión.



La cortisona es una de las veintiocho hormonas adreno-corticales, no sólo es importante para el control del metabolismo de los carbohidratos, sino que, además resulta eficiente para aliviar los síntomas de la artritis reumática.



El colesterol es un alcohol esteroidal o estero. Se encuentra en casi todos los tejidos de los vertebrados y es el principal constituyente de los cálculos o piedras biliares. El organismo lo necesita como materia prima para producir otros esteroides.

2.2. ANDRÓGENOS.

Los andrógenos pertenecen al grupo de las hormonas esteroideas y derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno (I) (página 6),^{17,18} y específicamente pertenecen al grupo del hidrocarburo androstano (III) (página 7).

A los andrógenos también se les conoce como hormonas sexuales masculinas, y ellas son las que controlan la masculinización. De estas la testosterona (XV) (página 8) es la más importante.

2.2.1. FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA GENITAL MASCULINO.

El testículo está formado por los túbulos seminíferos y las células de Leydig (llamadas también células intersticiales). Los túbulos seminíferos están constituidos por varias capas de células denominadas espermatogonias, espermatocitos y espermátides, transformándose estos últimos en espermatozoides o gametos sexuales masculinos.⁸

En cuanto a las células de Leydig, se encuentran diseminadas en el tejido conjuntivo entre los túbulos seminíferos enrollados, dichas células son las encargadas de producir a la testosterona.⁸

2.2.2. SÍNTESIS DE TESTOSTERONA (XV).

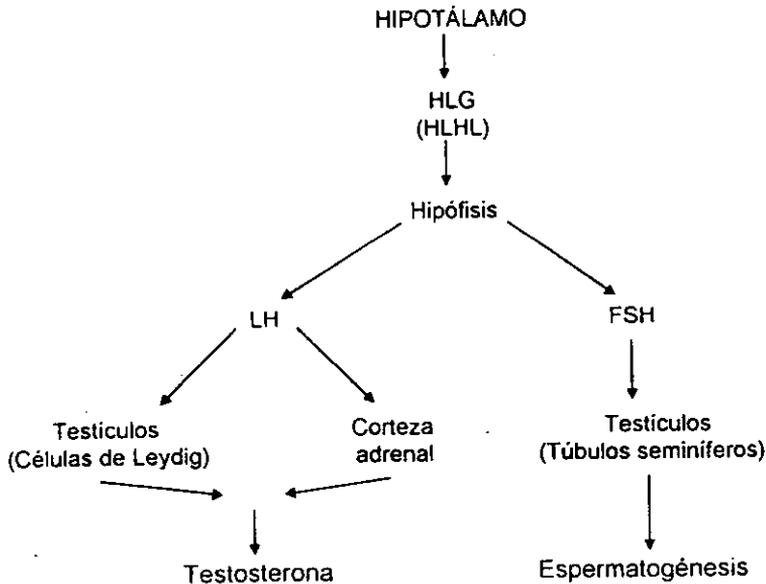
En el momento de la pubertad masculina, el factor liberador de la gonadotropina (GnRF) estimula a la adenohipófisis para que libere la hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH) que son conocidas en conjunto como gonadotropinas.¹⁰

En los varones, la LH estimula a los testículos para que secreten andrógenos mientras que la FSH promueve la espermatogénesis (ver **Esquema B** página 11).¹³

2.2.3. FUNCIÓN DE LA TESTOSTERONA (XV).

A nivel molecular la acción primaria de la testosterona (XV) (página 8) consiste en aumentar la síntesis protéica en los tejidos "blanco", específicamente próstata y vesículas seminales. Su principal función es producir el desarrollo normal de los órganos reproductores masculinos y mantener las características masculinas secundarias. La testosterona es también efectiva para mantener la espermatogénesis. Las características masculinas secundarias que se desarrollan en su presencia son: voz grave, crecimiento y patrón del pelo facial y corporal así como el desarrollo del músculo esquelético. Inhibe el desarrollo y función de la glándula mamaria y estimula la libido.¹⁶

ESQUEMA B SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE TESTOSTERONA (XV) EN EL ORGANISMO



2.2.4. PARTICIPACIÓN DE LOS ANDRÓGENOS EN PROCESOS FARMACOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS:

Se han descrito diversas acciones en las que participan los andrógenos, de carácter farmacológico así como bioquímico o metabólico. Dentro de las primeras podemos mencionar las siguientes: acción en el sexo masculino (desarrollo y mantenimiento de órganos y caracteres sexuales secundarios),^{18,20} acciones sobre el sexo femenino (dosis elevadas de testosterona (XV) (página 8) produce fenómenos de virilización),²¹ acción sobre el carcinoma de mama (los andrógenos provocan una acentuada mejoría sintomática con desaparición del dolor).^{22,23}

En cuanto a las acciones metabólicas, involucran las siguientes: metabolismo orgánico (los andrógenos promueven anabolismo proteico),²⁴ metabolismo de lípidos (los andrógenos disminuyen la concentración de triglicéridos y en menor grado de colesterol sanguíneo),²⁵ sobre el sistema óseo (el papel de los andrógenos se debe a una recalcificación ósea).²⁶

2.2.5. MECANISMO DE ACCIÓN.

La testosterona es el principal andrógeno y está considerada como una prehormona. El mecanismo de acción que sigue la testosterona para convertirse en dihidro-testosterona (5 α -dihidrotestosterona o DHT) (XIX) es el siguiente: (ver Esquema C página 14):

1.- Entrada de la testosterona en la célula "blanco", al parecer por difusión pasiva.^{16,27}

2.- Transformación de la prehormona a DHT en el retículo endoplásmico o en la membrana nuclear. Esta formación, es biológicamente irreversible, esta catalizada

por una enzima que se encuentra fija a la membrana, la 5 α -reductasa, que requiere NADPH.^{9,16,27}

3.- Unión de la DHT (XIX) (página 14) a receptores intracelulares proteínicos específicos, para formar un complejo hormona-receptor.^{16,27}

4.- Este complejo penetra al núcleo celular y se une a la cromatina.^{16,27}

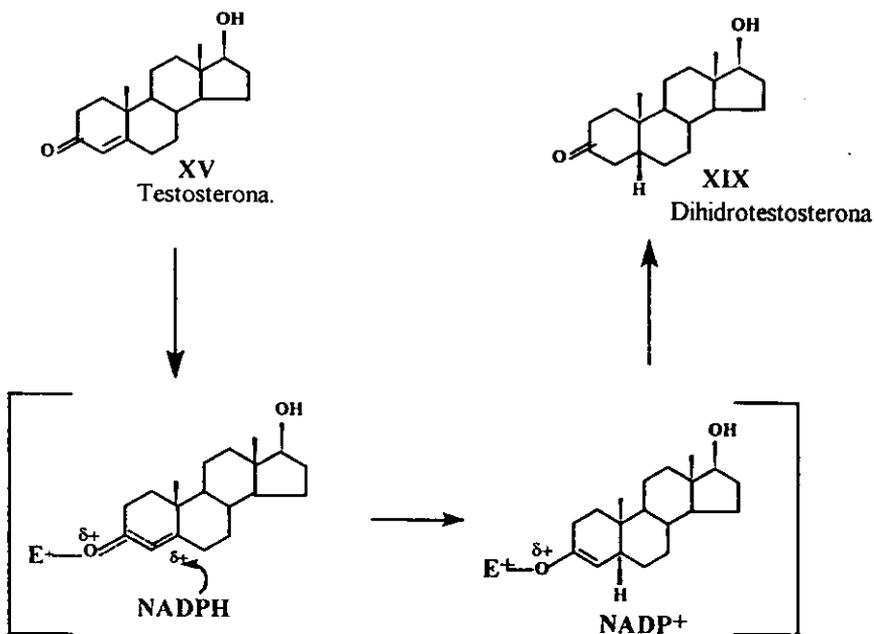
5.- Se produce entonces una estimulación de la síntesis del ácido ribonucleico (RNA), tanto el mensajero como el ribosómico.^{10,16,27,28}

6.- Como consecuencia, se produce un aumento de la síntesis protéica y de enzimas intracelulares, las cuales son responsables de las acciones andrógenicas.⁸

Es importante resaltar que el receptor hormonal que une al esteroide activo, en este caso la DHT (página 14), es específico, no sólo para el esteroide sino también para el tejido determinado. Así por ejemplo: el útero tiene receptores para estrógenos, pero no para la progesterona (XIV) (página 8), testosterona (XV) (página 8) o glucocorticoides. El timo y el tejido fibroblástico tienen receptores para glucocorticoides, pero no para hormonas sexuales. La próstata y las vesículas seminales contienen receptores solamente para los andrógenos.²⁹

Esquema C.

Mecanismo por el cual la Testosterona (XV) es convertida a DHT (XIX).



2.2.6. CONSECUENCIAS QUE REPERCUTEN EN LA CARENCIA DE LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA.

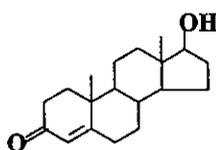
Existen varones que genéticamente carecen de la enzima 5 α -reductasa, a este padecimiento se le conoce como pseudohermafroditismo masculino, esto fue observado primeramente en la República Dominicana.⁹

En este trastorno, el varón genotípico secreta cantidades normales de testosterona (XV) (página 8), pero esta hormona no se convierte en DHT (XIX) (página 14), y por lo tanto no hay desarrollo de los genitales externos masculinos. Después de la pubertad estos varones manifiestan tres características: no desarrollan la próstata, no aparece acné y no adquieren el patrón típico masculino.^{9,30}

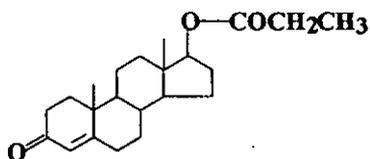
En un principio se creía que esto ocurría por la deficiencia total de la enzima 5 α -reductasa, pero estudios recientes establecen que la deficiencia genética es atribuible a la pérdida solamente de una isoenzima (designada tipo II), la cual predomina en la próstata; la otra isoenzima (designada tipo I) se localiza en la región no genital, en hígado y en la piel.³⁰

Es importante mencionar que el tratamiento con andrógenos se utiliza de manera primaria en varones con deficiencia de los mismos, para el desarrollo o la conservación de los caracteres sexuales secundarios. El tratamiento a largo plazo regularmente causa desarrollo masculino completo, siempre y cuando el tratamiento se inicie en etapas tempranas de la vida. Cuando la restitución de andrógenos se inicia en etapas tardías (después de los 25 años de edad), el grado de virilización que se logra es variable, pero puede ser casi normal.

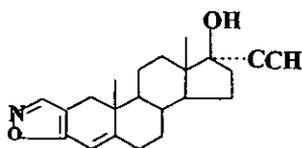
Figura 2. Ejemplos de algunos Andr6genos Utilizados en la Terap6utica.



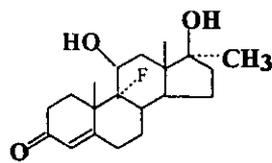
XV
Testosterona.



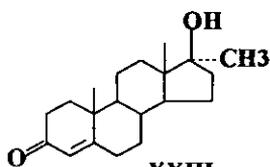
XX
Propionato de Testosterona.



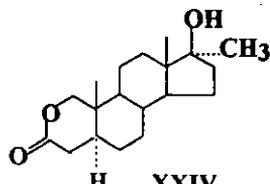
XXI
Danazol.



XXII
Fluoximesterona.
(Halostin)



XXIII
Metiltestosterona.



XXIV
Oxandrolona.

Los efectos colaterales de los andr6genos incluyen: virilizaci3n (en mujeres y ni6os), feminizaci3n (varones y ni6os) y toxicidad (todos los usuarios), dependiendo del medicamento, dosis y duraci3n del tratamiento.¹

2.2.7. PAPEL DE LOS ANDRÓGENOS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA.

El desarrollo de la próstata está regido por la testosterona (XV) (página 8).¹⁹ Cuando se lleva a cabo la castración se produce atrofia prostática y disminución sustancial de la altura del epitelio glandular, como consecuencia los andrógenos son los que se encargan de reparar dichos desórdenes.³¹

El cáncer de próstata se origina generalmente en el lóbulo posterior del órgano adyacente al recto, y cuando provoca metástasis invade otros órganos alejados como los huesos y ganglios linfáticos.¹⁹

Las células del carcinoma prostático, al igual que las células glandulares prostáticas normales, dependen en su desarrollo y procuración de la secreción de testosterona (cáncer hormonodependiente).³

Aún no se conoce bien el papel del sistema endocrino en la inducción del cáncer de próstata, pero se ha comprobado que la extensión metastásica del cáncer de próstata se puede detener o retrasar durante cierto tiempo mediante castración, administración de estrógenos o ambos.³

2.2.8. TRATAMIENTO PARA CÁNCER DE PRÓSTATA.

El tratamiento que se aplica a pacientes que presentan cáncer de próstata incluye: cirugía, radioterapia y hormonoterapia.^{1,3}

La cirugía y la radioterapia son el tratamiento ideal de los pacientes con enfermedad localizada. En este grupo, del 50 al 80% de los pacientes continúan con vida después de 10 años.³

El tratamiento hormonal es muy importante en el carcinoma metastásico avanzado. Como las células tumorales prostáticas dependen de los andrógenos para su mantenimiento, la intención de estas manipulaciones endocrinas es privar a las células tumorales de testosterona (XV) (página 8).³²

2.2.9. PAPEL DE LOS ANDRÓGENOS EN LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA.

Como ya se mencionó, esta patología se caracteriza por el agrandamiento anormal de la próstata. Y aunque las cifras de incidencia varían ligeramente, un estudio cuidadoso de la próstata nos muestra, que en un grupo no seleccionado de autopsias, la existencia de hiperplasia prostática benigna se da en el 20% aproximadamente de los hombres de 40 años, cifra que asciende al 70% a los 60 años y al 90% a la edad de 80 años.³³

Esto hace pensar y proponer que la hiperplasia prostática benigna no es una verdadera enfermedad, sino un proceso normal del envejecimiento.

Gran parte de los datos relativos que se tienen al sugerir que en la aparición de dicha patología participan los andrógenos y estrógenos, se han obtenido de experimentos en perros, ya que esta es la única especie animal que desarrolla una hiperplasia prostática benigna en el envejecimiento igual que el hombre.³

Se había dicho que la hiperplasia prostática benigna fuera uno de los posibles precursores del cáncer de próstata, pero la mayoría de los expertos no piensan que esta lesión benigna tenga ninguna relación con el desarrollo del cáncer.

La única relación que se pudiera encontrar en tales patologías, sería que son muy frecuentes en hombres de edad avanzada.

2.2.10. TRATAMIENTO PARA LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA.

Como ya se ha mencionado, dentro del tratamiento para la hiperplasia prostática benigna destaca la cirugía, esta resulta una experiencia traumática para el paciente y es entonces donde entra el papel importante de los antiandrógenos. Actualmente por su gran demanda en el mercado el producto sintético llamado Finasteride (Proscar) (XXXI) (página 23) es el que se utiliza en la terapéutica de esta enfermedad.

2.3. ANTIANDRÓGENOS.

Los antiandrógenos son sustancias sintéticas, la mayoría de ellas derivados esteroidales.³⁴ Estas sustancias bloquean la síntesis de los andrógenos o las acciones de estos últimos.

2.3.1. SÍNTESIS DE ANTIANDRÓGENOS.

Básicamente existen dos métodos de sintetizar un esteroide con características antiandrógenas estos son:¹⁴

a) Tomando como esqueleto base la molécula de testosterona (XV)(página 8) y efectuar en ella diversas modificaciones estructurales; de manera que se obtenga un antagonista. Así el nuevo compuesto sintetizado tendrá la capacidad de unirse al receptor androgénico bloqueando la formación del complejo andrógeno-receptor (ver Figura 3 página 20).

b) Modificando la molécula de la progesterona (XIV) (página 8), esta no puede ser utilizada como tal, pues presenta severos efectos progestacionales. Al considerar a la progesterona antiandrogénico natural, se esperaría que sus

análogos sintéticos presentaran la misma actividad biológica (ver **Figura 4** página 20).

Figura 3. Ejemplo de algunos Antiandrógenos derivados de la Testosterona (XV).

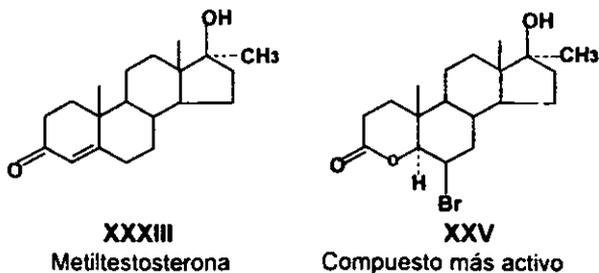
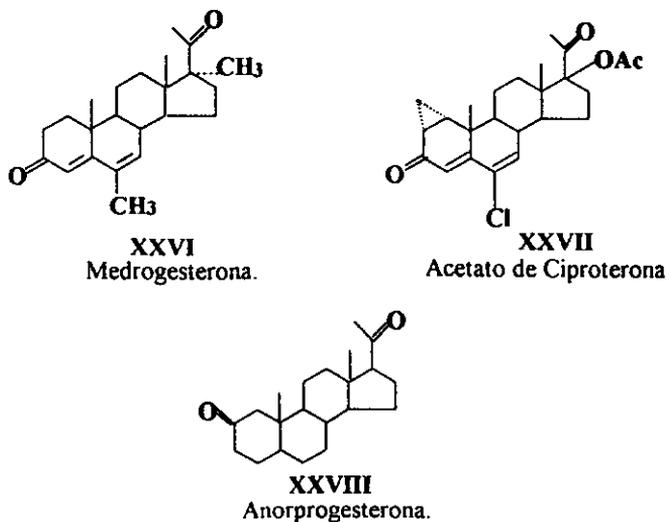
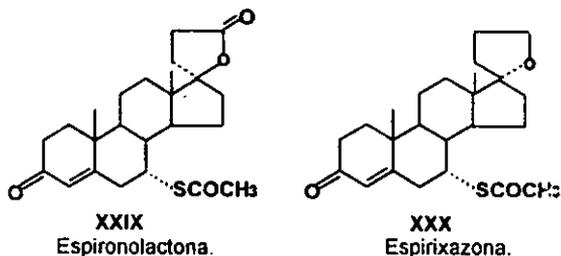


Figura 4. Ejemplo de algunos Antiandrógenos derivados de la Progesterona (XIV).



Además de los antiandrógenos ya mencionados se conocen otro grupo de estos cuya síntesis no deriva de la progesterona (XIV) (página 8), ni de la testosterona (XV) (página 8); tal es el caso de la espironolactona (XXIX) y espirixazona (XXX) que poseen características similares al acetato de ciproterona (XXVII) (página 23) (ver Figura 5 página 21).

Figura 5. Antiandrógenos no derivados de la Progesterona (XIV) ni de la Testosterona (XV).



2.3.2. FUNCIÓN BIOLÓGICA Y FARMACOLÓGICA DE LOS ANTIANDRÓGENOS.

El efecto antiandrogénico involucra las siguientes funciones:⁵

- El antiandrógeno puede interferir con el receptor androgénico.
- Puede interferir con el transporte del andrógeno.
- Puede inhibir la enzima 5 α -reductasa y a los α -adrenoreceptores.
- Puede inhibir la síntesis de Testosterona (XV) (página 8).

2.3.3. CARACTERÍSTICAS QUE DEBEN CUMPLIR LOS ANTIANDRÓGENOS PARA SU USO TERAPÉUTICO.

Para que se puedan utilizar los antiandrógenos en la terapia, deben tener:³⁴

- a) Una baja o nula toxicidad.
- b) Presentar elevada actividad antiandrogénica.
- c) Presentar baja actividad hormonal.
- d) No disminuir el líbido.

2.3.4. USO TERAPÉUTICO DE LOS ANTIANDRÓGENOS.

Los antiandrógenos se emplean en el tratamiento de la hiperplasia y carcinoma de la próstata, acné, calvicie con patrón masculino, síndromes virilizantes en mujeres y pubertad temprana en varones, así como en la inhibición del impulso sexual en varones con tendencia a cometer delitos sexuales.^{5,10}

Actualmente el uso de antiandrógenos en la terapéutica médica de las patologías humanas presenta diversos inconvenientes, debido a los efectos colaterales y a la baja actividad.

2.3.5. CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE LOS ANTIANDRÓGENOS.

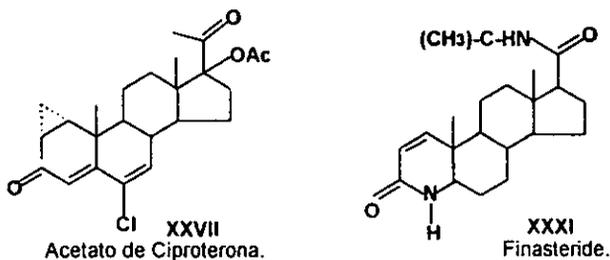
Los antiandrógenos se clasifican en dos grupos: Esteroidales y No Esteroidales (ver Figura 6 y figura 7) (páginas 23 y 24 respectivamente).³⁵

- a) Los antiandrógenos de tipo Esteroidal son compuestos que presentan como esqueleto base el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno (I) (página 6), tienen las siguientes ventajas: actúan específicamente con el receptor

androgénico, son de mayor interés terapéutico y la relación costo-eficacia es la mejor opción.

Como desventajas se aprecian las siguientes: reducen la concentración de testosterona (XV) (página 8) como consecuencia la actividad enzimática de 5 α -reductasa y reducen el tamaño de los órganos sexuales.

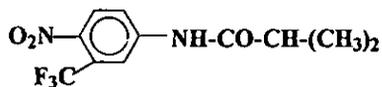
Figura 6. Dentro del grupo de los Antiandrógenos Esteroidales más estudiados se encuentran los siguientes.



b) Los antiandrógenos no esteroidales presentan también algunas ventajas: tienen afinidad por el receptor debido a su estructura química con geometría semejante y reducen en un 25 a 30% el tamaño de la próstata.

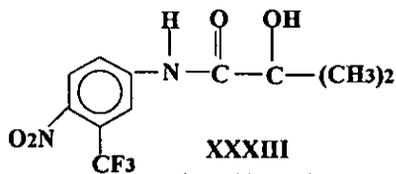
Como desventajas se han observado las siguientes: actúan sobre la óxido-nitroso sintetasa, que estimula la erección y ocasiona efectos adversos (metahemoglobinemia e insuficiencia hepática).

Figura 7. Dentro del grupo de Antiandrógenos de tipo No Esteroidal, los más estudiados son los siguientes.



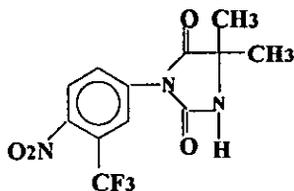
XXXII

Flutamida (Eulexin).



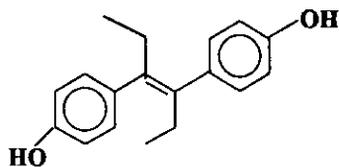
XXXIII

Hidroxi flutamida.



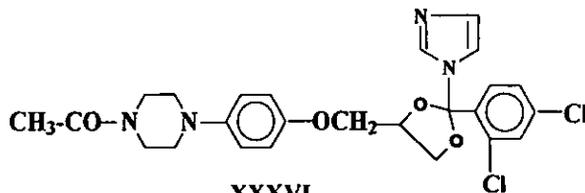
XXXIV

Anandron.



XXXV

Dietilestilbestrol.



XXXVI

Ketoconazol.

2.3.6. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIANDRÓGENOS SEGÚN EL SITIO DE ACCIÓN.

Los antiandrógenos pueden llevar a cabo su acción farmacológica actuando como: Inhibidores de la síntesis de andrógenos, inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y como antagonistas de los receptores de andrógenos.¹⁰

- **Inhibidores de la síntesis de andrógenos:** los compuestos más eficaces para bloquear la síntesis de testosterona (XV) (página 8) son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) misma o un antagonista como la leuprolida o gonadorelina. Cuando esos compuestos se administran de manera continua, las concentraciones plasmáticas de hormona luteinizante y testosterona muestran declinación, de modo que la consecuencia neta es la inducción de castración farmacológica. Este tipo de tratamientos proporciona una alternativa médica a la castración para producir privación de andrógenos en varones con cáncer prostático que no pueden tolerar el *dietilestilbestrol* (XXXV) (página 24).

Los antimicóticos de la clase del imidazol, como el *ketoconazol* (XXXVI) (página 24) y *liarazol*, tienen, como efecto secundario la capacidad para bloquear las enzimas citocromo P450, que participan en la biosíntesis de hormonas esteroideas (Feldman, 1986). Este efecto secundario se ha convertido en una ventaja terapéutica para inducir privación de andrógenos en pacientes seleccionados con cáncer de próstata (Mahler y col., 1993). La utilidad de esos medicamentos queda limitada por efectos adversos gastrointestinales, duración de acción breve, y bloqueo de la biosíntesis de glucocorticoides suprarrenales.

La *espironolactona* (XXIX) (página 21), es un antagonista de la aldosterona, actúa como un inhibidor débil de la unión de los andrógenos a su receptor, bloquea de manera primaria la biosíntesis de andrógenos, en algunas mujeres con hirsutismo, el

medicamento disminuye la tasa de crecimiento y el diámetro medio de pelo facial (Dorrington-Ware y col., 1985). Dado que tiende a causar metrorragia, la *espirolactona* (XXIX) (página 21) por lo general se administra junto con un anticonceptivo oral (Helfer y col., 1988). En estudios relacionados con la eficacia, la espirolactona es menos útil para disminuir las puntuaciones de hirsutismo que la *flutamida* (XXXII) (página 24) (Cusan y col., 1994).

- **Inhibidores de la enzima 5 α -reductasa:** la conversión de testosterona (XV) (página 8) en DHT (XIX) (página 14) es esencial para algunos efectos andrógenicos, la inhibición de la enzima 5 α -reductasa debe bloquear de modo selectivo el efecto de los andrógenos en tejidos (próstata, folículos pilosos), en los cuales la producción continua de DHT es esencial.

El *azaesteroide finasteride* (XXXI) (página 23) es un inhibidor competitivo, activo por vía oral, que bloquea de modo preferencial a la isoenzima 5 α -reductasa II, pero también inhibe a la isoenzima I (Rittmaster, 1994). El fármaco suscita un decremento profundo de la concentración plasmática de DHT (Vermeulen y col., 1989), y en la próstata (McConnell y col., 1992), pero no causan un cambio de las cifras plasmáticas de testosterona u hormona luteinizante.

En varones con hiperplasia prostática benigna, el medicamento *finasteride* origina disminución constante del tamaño de la próstata y 33% de los varones tratados con este compuesto, presentaron mejorías del flujo urinario y reducción de los síntomas; así esto proporciona una alternativa a la intervención quirúrgica en varones con manifestaciones de la enfermedad (Stonere, 1992). El fármaco *finasteride* se encuentra en estudio para la terapéutica de la calvicie con patrón masculino, y se están investigando otros inhibidores de la 5 α -reductasa, entre ellos fármacos específicos para la isoenzima 5 α -reductasa I.

- **Antagonistas de los receptores de andrógenos:** existen en la actualidad varios medicamentos que actúan como antagonistas específicos de la unión de los andrógenos a su receptor. Podemos hacer referencia a los siguientes compuestos:

Acetato de ciproterona (XXVII) (página 23). Este compuesto deriva de la progesterona (XIV) (página 8), posee varias propiedades, entre ellas: es un potente antagonista de andrógenos, presenta actividad progestacional y disminuye la secreción de gonadotropinas (Neri, 1976; Neumann, 1982; Neumann y Töpert, 1986).

El *acetato de ciproterona*, compite con la DHT (XIX) (página 14) por la unión al receptor de andrógeno (Brown y col., 1981). La administración de 100 mg/día de acetato de ciproterona en varones jóvenes normales, causa decremento de 50% de las concentraciones plasmáticas de LH y FSH, y disminución de 75% de la testosterona (XV) (página 8) plasmática; las acciones del medicamento dependen tanto de inhibición de la producción de testosterona como de interferencia en el efecto andrógeno.

El *acetato de ciproterona* se ha utilizado en el tratamiento de algunas patologías entre ellas podemos mencionar: acné, calvicie con patrón masculino, hirsutismo y síndromes virilizantes (Neri, 1976; Neumann, 1982; Neumann y Töpert, 1986). También se ha intentado usar en el tratamiento de la pubertad temprana (Kauli y col., 1976) e hiperplasia y carcinomas prostáticos (Namer, 1988), así como para inhibir el libido en varones con desviaciones graves de la conducta sexual (Laschet y col., 1976).

Flutamida (XXXII) (página 24). Este fármaco es un antiandrógeno no esteroide desprovisto de otra actividad hormonal; quizás actúa después de su conversión in vivo en *2-hidroxi-flutamida (XXXIII)* (página 24), que es un potente inhibidor competitivo de la unión de DHT al receptor de andrógenos (Neri, 1976). La flutamida se aplica en el

tratamiento del cáncer prostático, por lo general, con bloqueo de GnRH, o con estrógenos (Geller y col., 1988).

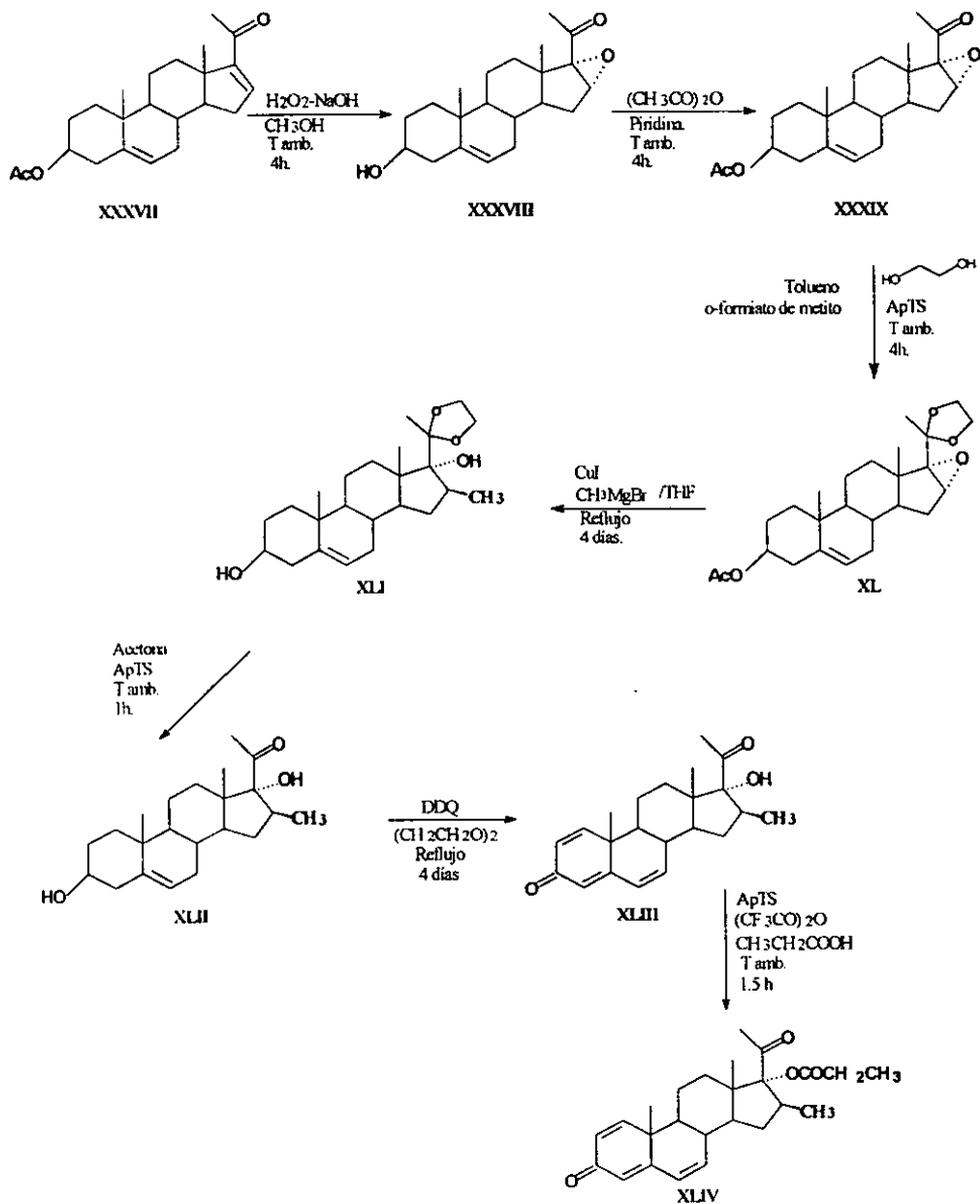
La *flutamida* también se ha utilizado en experimentos en combinación con un anticonceptivo oral en el tratamiento de hirsutismo en mujeres (Cusan y col., 1994). Si la flutamida cruza la placenta, se esperaría que produjera pseudohermafroditismo masculino, como sucede con el acetato de ciproterona (XXVII) (página 23) ; la hepatotoxicidad, incluso causa insuficiencia hepática progresiva, es por esto que se limita su utilidad (Dankoff, 1992; Wysowski y col., 1993). En la terapéutica del carcinoma de próstata metastásico, la *flutamida* (XXXII) (página 24) debe proporcionarse junto con un antagonista de la GnRH, como la leuprolida.

3. OBJETIVOS.

Considerando la relación que existe entre la estructura química-actividad biológica de los antiandrógenos de tipo esteroidal y tomando como modelo molecular al compuesto acetato de ciproterona³⁶ (XXVII) (página 23) se plantean los siguientes objetivos del presente trabajo de tesis.

- Sintetizar un homólogo del acetato de ciproterona, introduciendo en ésta molécula un grupo metilo en C-16 β -orientado, un grupo éster en C-17 α -orientado, un grupo carbonilo en C-3; así como la introducción de dobles ligaduras en C-1, C-4 y C-6, creando con estas dos últimas modificaciones un sistema trien conjugado para obtener de esta manera un nuevo compuesto: **16 β -metil-17 α -propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona (XLIV)** (página 30).
- Probar la actividad antiandrogénica de los compuestos obtenidos, mediante el ensayo biológico de la inhibición de la enzima 5 α -reductasa.
- Aislar, purificar y caracterizar todos los compuestos obtenidos mediante sus propiedades físicas (pf) y espectroscópicas (UV, IR, RMN ¹H).
- Incluir los datos espectroscópicos de RMN ¹³C y EMIE para los dos últimos compuestos (XLIII y XLIV).

Figura 8. Ruta de Síntesis.



4. METODOLOGÍA Y RESULTADOS.

Para poder cumplir los objetivos planteados, el presente trabajo de tesis se dividió en dos partes:

En la primera parte se trata todo lo referente a la síntesis química del compuesto XLIV (página 30) así como la caracterización física y espectroscópica tanto de los intermediarios como del compuesto final (ver **Figura 8** Ruta de síntesis) (página 30).

En la segunda parte se hace referencia a la evaluación biológica de la inhibición de la enzima 5 α -reductasa frente a todos los compuestos obtenidos en la síntesis.

Los puntos de fusión (pf) de los compuestos obtenidos se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. La pureza de los productos y el curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina utilizando como soporte o fase adsorbente gel de sílice 60 F254 Merck, utilizando como revelador una solución de CoCl₂ al 1% en H₂SO₄ 2N y/o lámpara UV $\lambda = 254\text{nm}$. Los productos finales se purificaron por medio de una columna cromatográfica utilizando como adsorbente gel de sílice 60 Merck y una mezcla de elución adecuada para cada caso.

Los equipos empleados en los diversos estudios fueron: Para la técnica de Espectrofotometría de Absorción al Ultravioleta (UV) se empleó un equipo Perkin Elmer 200s. En cuanto a la Espectrofotometría de Absorción de Infrarrojo (IR) se utilizó un equipo Perkin Elmer 549B; utilizando la técnica de pastilla KBr. Para la Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN ¹H) y de Carbono 13 (RMN ¹³C) equipos Varian, Gemini 200 y VRX-300s, utilizando CDCl₃ como disolvente; los desplazamientos están dados en ppm referidos al TMS o DMSO como referencia interna. Finalmente para la Espectrometría de Masas (EM) se empleó un espectrómetro de masas HP 5985-B CG/MS mediante la técnica de impacto electrónico.

4.1. METODOLOGÍA Y RESULTADOS OBTENIDOS DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.

Tabla 1. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 3β-acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. XXXVII.³⁷

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	181-183
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₃₂ O ₃
Peso molecular (uma)	356.44
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
UV (nm)	
λ max. 238	<u>CO</u> α,β insaturado en C-20
IR(cm⁻¹)	
2945.27	-C-H sp ₃
1729.76	<u>CO</u> de éster en C-3
1661.20	<u>CO</u> α,β insaturada en C-20
1583.90	<u>CC</u> conjugado en C-16
1372.77	-CH ₃
1247.26	-C-O-C- de CH ₃ -COO- en C-3
1037.03	-C-O-C- de CH ₃ -COO- en C-3
RMN ¹H (ppm)	
0.920 (s,3H)	-CH ₃ en C-18
1.059 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
2.037 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
2.265 (s, 3H)	-CH ₃ de CH ₃ COO- en C-3
4.600 (m, 1H)	<u>H</u> en C-3
5.400(d, 1H)	C= <u>CH</u> en C-6
6.700 (t, 1H)	C= <u>CH</u> en C-16

A) Síntesis de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona. XXXVIII.^{38,39}

En un matraz bola de 100ml se disolvió 1g (2.8×10^{-3} mol) de XXXVII con metanol caliente (66ml), después se agregó hidróxido de sodio 4N (2ml, 8×10^{-3} mol) y peróxido de hidrógeno al 30% (4ml, 0.135 mol). La mezcla de reacción resultante se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante un período de 4h. Se monitoreo el curso de la reacción por CCF (SiO₂; n-hexano/AcOEt 7:3) y una vez terminado el tiempo de reacción, se eliminó el exceso de metanol, dando lugar al compuesto XXXVIII, el cual precipitó en forma de cristales blancos, estos se lavaron con suficiente agua destilada hasta que se llegó a un pH neutro. Finalmente el producto se dejó secar al vacío, obteniendo 0.9100g (98.2%) de XXXVIII con pf 192-194 °C.

Tabla 2. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona. XXXVIII

Propiedad medida	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	192-194
Fórmula molecular	C ₂₁ H ₃₀ O ₃
Peso molecular (uma)	330.40
Valor espectroscópico obtenido	Asignación
IR (cm⁻¹)	
3370.92	-OH en C-3
2937.35	-CH ₃ y -CH ₂ -
1692.00	<u>CO</u> en C-20
1632.59	<u>CC</u> en C-5
1375.92	-CH ₃
1056.28	C-O en C-3
RMN ¹H (ppm)	

1.023 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18
1.049 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
2.034 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
3.217 (s, 1H)	<u>H</u> en C-16
3.500 (m, 1H)	<u>H</u> en C-3
3.685 (s, 1H)	-OH en C-3
5.340 (d, 1H)	C=CH en C-6

B) Síntesis de 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona. XXXIX.⁴⁰

En un matraz bola de 50ml se disolvió 1g (2.7×10^{-3} mol) de XXXVIII con 5ml de piridina (0.061 mol) y 10 ml (0.10 mol) de Ac₂O; la mezcla de reacción resultante se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 4h. El avance de la reacción se siguió por CCF (SiO₂; n-hexano/AcOEt 7:3); una vez terminado el tiempo de reacción se vertió la mezcla de reacción a un vaso de precipitados que contenía hielo y 100 ml de H₂O, se agitó durante 30 minutos, provocando bajo estas condiciones la precipitación del producto XXXIX. Después se filtró, se lavó con agua destilada hasta pH neutro, finalmente se dejó secar al vacío, obteniendo 1.0143g (90.0%) de XXXIX con pf 164-166 °C.

Tabla 3. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona. XXXIX.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	164-166
Fórmula molecular.	C ₂₃ H ₃₂ O ₄
Peso molecular (uma)	372.44

Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
IR (cm ⁻¹)	
2942.65	-CH ₃ y -CH ₂ -
1731.92	<u>CO</u> de CH ₃ COO- en C-3
1697.93	<u>CO</u> de cetona en C-20
1245.00	C-O-C de CH ₃ COO- en C-3
1032.03	C-O-C de CH ₃ COO- en C-3
852.31	epóxido en C-16 α -C-17 α
RMN ¹ H (ppm)	
0.965 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18
0.979 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
1.962 (s, 6H)	-CH ₃ en C-21 y -CH ₃ COO- en C-3
3.418 (s, 1H)	<u>H</u> en C-16
4.500 (m, 1H)	<u>H</u> en C-3
5.250 (d, 1H)	C= <u>CH</u> en C-6

C) Síntesis de 3 β -acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-etilendioxi-5-pregнено. XL.⁴¹

En un matraz bola de 50ml se colocó 1g (2.7×10^{-3} mol) de XXXIX, se disolvió en 6ml de tolueno seco, se agregó 20mg (0.02g, 1.16×10^{-4} mol) de ApTS, 3ml (0.053 mol) de etilenglicol, 3.5ml (0.031 mol) de ortoformiato de trimetilo; la mezcla de reacción dada se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 6h. bajo condiciones anhidras. Se monitoreo el curso de la reacción por CCF (SiO₂, n-hexano/AcOEt 7:3). Una vez terminada la reacción, se neutralizó con 0.040g (4.86×10^{-4} mol) de acetato de sodio anhidro. El producto XL, se extrajo 4 veces con 50ml de cloroformo cada una. La fase orgánica se lavó con agua destilada hasta pH neutro, se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evaporó a sequedad. Obteniendo de esta

manera un sólido amarillento que al recristalizarse de metanol produjo 0.9900g (88.5%) del producto XL puro en forma de cristales blancos con pf 196-199 °C.

Tabla 4. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno. XL.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	196-199
Fórmula molecular.	C ₂₅ H ₃₆ O ₅
Peso molecular (uma)	416.48
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
IR (cm⁻¹)	
2941.89	-CH ₃ y -CH ₂ -
1719.36	<u>CO</u> de éster en C-3
1248.00	C-O-C de CH ₃ COO- en C-3
1033.63	C-O-C de CH ₃ COO- en C-3
RMN ¹H (ppm)	
0.997 (s, 3H)	- <u>CH</u> ₃ en C-18
1.044 (s, 3H)	- <u>CH</u> ₃ en C-19
1.443 (s, 3H)	- <u>CH</u> ₃ en C-21
2.039 (s, 3H)	- <u>CH</u> ₃ -COO- en C-3
3.390 (s, 1H)	- <u>H</u> en C-16
3.954 (s, 4H)	-O- <u>CH</u> ₂ - <u>CH</u> ₂ -O- en C-20
4.520 (m, 1H)	- <u>H</u> en C-3
5.370 (d, 1H)	C= <u>CH</u> en C-6

D) Síntesis de 3 β ,17 α -dihidroxi-20-etilendioxi-16 β -metil-5-pregнено. XLI.⁴²

En un matraz bola de 50ml se colocó 1g (2.40×10^{-3} mol) de **XL** y 400mg (0.40g, 2.10×10^{-3} mol) de yoduro de cobre, se agregó una solución de bromuro de metil magnesio 1M en THF (11ml, 0.011 mol). La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo por 4 días, manteniendo una atmósfera de nitrógeno. Una vez terminado el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar, se neutralizó con solución saturada de cloruro de amonio (20ml) y hielo contenida en un embudo de separación. Posteriormente la fase acuosa se extrajo 3 veces con cloroformo y las fases orgánicas resultantes se juntaron y lavaron con agua hasta eliminar las sales de magnesio precipitadas. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro se evaporó el disolvente a presión reducida obteniéndose un producto amarillento que al recrystalizarse de metanol produjo 0.6100g (65%) de **XLI** puro como agujas blancas con pf 164-166 °C.

Tabla 5. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 3 β ,17 α -dihidroxi-20-etilendioxi-16 β -metil-5-pregнено. XLI.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	164-166
Fórmula molecular	$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$
Peso molecular (uma)	390.48
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
IR(cm^{-1})	
3450.22	-OH en C-3 y C-17
2935.00	-CH ₃ y -CH ₂ -
2897.01	-CH ₃ y -CH ₂ -
RMN ¹H (ppm)	
0.878 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18

0.988 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
1.174 (d, 3H)	-CH ₃ en C-16
1.378 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
2.230 (s, 1H)	-OH en C-17
3.500 (m, 1H)	-H en C-3
3.700 (s, 1H)	-OH en C-3
3.950 (m, 4H)	-O-CH ₂ -CH ₂ -O- en C-20
5.350 (d, 1H)	C=CH en C-6

E) Síntesis de 3β,17α-dihidroxi-16β-metil-5-pregnen-20-ona. XLII.⁴²

En un matraz bola de 50ml se colocó 1g (2.56×10^{-3} mol) de **XLI**, se disolvió en 40ml de acetona y se agregó 500mg ($0.5g, 2.9 \times 10^{-3}$ mol) de ApTS como catalizador; dicha mezcla de reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 1h. Se siguió el curso de la reacción por CCF (SiO₂, n-hexano/AcOEt 7:3). Al finalizar el tiempo de reacción se evaporó el disolvente casi a sequedad, la mezcla de reacción se vertió a un vaso de precipitados que contenía hielo y 100ml de agua precipitando de esta manera el producto **XLII**, después se filtró y se lavó con agua destilada hasta pH neutro, finalmente se dejó secar al vacío, obteniendo un sólido verdoso que al recristalizarse de metanol produjo 0.6600g (75%) de **XLII** puro en forma de cristales blancos nacarados con pf 221-223 °C.

Tabla 6. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 3β,17α-dihidroxi-16β-metil-5-pregnen-20-ona. XLII.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	221-223
Fórmula molecular.	C ₂₂ H ₃₄ O ₃

Peso molecular (uma)	346.44
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
IR (cm ⁻¹)	
3400.22	-OH en C-17
3342.28	-OH en C-3
2928.27	-CH ₃ y -CH ₂ -
1690.00	<u>CO</u> en C-20
1052.64	C-O en C-3
RMN ¹ H (ppm)	
0.800 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18
0.970 (d, 3H)	-CH ₃ en C-16
1.200 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
2.100 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
3.420 (s, 1H)	-OH en C-3
3.500 (m, 1H)	-H en C-3
3.900 (s, 1H)	-OH en C-17
5.300 (d, 1H)	C=CH en C-6

F) Síntesis de 17 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIII.^{42,43}

En un matraz bola de 50ml se preparó una solución de 1g (2.88×10^{-3} mol) de XLII, 2.2g (9.69×10^{-3} mol) de DDQ y 36ml de dioxano seco. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 días. Ocurrido esto, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró para eliminar la hidroquinona (forma reducida del DDQ), después el filtrado se vertió a un vaso de precipitados el cual contenía 100ml (0.075 mol) de NaOH al 3% así como 100 ml de cloroformo, se agitó durante 5 minutos. Posteriormente se realizaron 3 extracciones de la fase orgánica con NaOH al 3% y 3 más con una solución saturada de NaCl. La fase orgánica se seco con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida, dando lugar a un sólido amarillento que purificándolo por medio de

CC (silica gel 60; n-hexano/AcOEt 8:2), se obtuvieron 0.6400g (65%) puros de LXIII, como cristales blancos con pf de 197-199 °C.

Tabla 7. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 17 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. LXIII.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	197-199
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₂₈ O ₃
Peso molecular (uma)	340.40
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
UV (nm)	
λ max. 255, 300	Dieno y trieno conjugado
IR (cm⁻¹)	
3389.27	-OH en C-17
2944.59	-CH ₃ y -CH ₂ -
1707.17	<u>CO</u> en C-20
1651.13	<u>CO</u> en C-3
1599.86	dobles ligaduras alifáticas conjugadas en C-1, C-4 y C-6
1456.68	-CH ₃ y -CH ₂ -
RMN ¹H (ppm)	
1.000 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18
1.200 (d, 3H)	-CH ₃ en C-16
1.300 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
2.300 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
6.000 (d, 1H)	-C=CH en C-7
6.200 (s, 1H)	-C=CH en C-4
6.300 (d, 1H)	-C=CH en C-2

6.350 (d, 1H)	-C=CH en C-6
7.050 (d, 1H)	-C=CH en C-1
RMN ¹³C (ppm)	
217.369	<u>C</u> O en C-20
186.129	<u>C</u> O en C-3
78.069	<u>C</u> -OH en C-17
49.275	- <u>C</u> H ₃ en C-16
EMIE (m/z)	
340	M+
322	M-H ₂ O
307	322-CH ₃
292	322-CH ₃ , CH ₃
279 (100% Ab. rel.) (pb)	322-(CH ₃ C=O) ⁺
43	(CH ₃ C=O) ⁺

G) Síntesis de 16β-metil-17α-propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

En un matraz bola de 15ml y bajo condiciones anhidras se colocó 200mg (5.87×10^{-4} mol) de XLIII, se disolvió en el volumen mínimo necesario de cloroformo, se adicionaron 10mg (0.01g, 5.8×10^{-5} mol) de ApTS seco, 1.2ml (8.48×10^{-3} mol) de anhídrido trifluoroacético y 0.192ml (2.546×10^{-3} mol) de ácido propiónico. La mezcla de reacción dada, se agitó durante 1.5h y se mantuvo a temperatura ambiente; siguiendo el desarrollo de la reacción por CCF (SiO₂; n-hexano/AcOEt 7:3). Una vez transformada toda la materia prima, el residuo de reacción se disolvió con CHCl₃ (100ml) y se vertió a un vaso de precipitados que contenía agua con hielo, se fueron adicionando cristales de NaHCO₃ hasta que el pH de la fase acuosa fuera neutro. Se separó la fase orgánica de la acuosa, secando la primera con Na₂SO₄ anhidro y evaporando el disolvente. Obteniéndose un producto oleoso que cuando se purificó por

CC (sílica gel 60; n-hexano/AcOEt 8:2, UV=254nm) produjo 163mg (0.1630g, 4.11×10^{-4} mol) (70%) de XLIV puro en forma de cristales beige nacarados con pf de 218-221 °C.

Tabla 8. Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto 16β-metil-17α-propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20- diona. XLIV.

Propiedad medida.	Valor encontrado o calculado.
Punto de fusión (°C)	218-221
Fórmula molecular	C ₂₅ H ₃₂ O ₄
Peso molecular (uma)	396.46
Valor espectroscópico obtenido.	Asignación.
UV (nm)	
λ max. 255,298.	Dieno y trieno conjugado
IR (cm⁻¹)	
2952.66	-CH ₃ y -CH ₂ -
1725.74	<u>CO</u> de éster sobre C-17
1707.68	<u>CO</u> de cetona en C-20
1652.71	<u>CO</u> de cetona en C-3
1604.68	<u>CC</u> sistema dieno conjugado de C-4, C-5, C-6 y C-7
1457.48	-CH ₃ y -CH ₂ -
1378.33	-CH ₃
1202.53	C-O de éster de CH ₃ -CH ₂ -COO- en C-17
1186.90	C-O de éster de CH ₃ -CH ₂ -COO- en C-17
RMN ¹H (ppm)	
1.100 (s, 3H)	-CH ₃ en C-18
1.150 (t, 3H)	-CH ₃ de éster en C-17
1.280 (d, 3H)	-CH ₃ en C-16

1.350 (s, 3H)	-CH ₃ en C-19
2.150 (s, 3H)	-CH ₃ en C-21
2.300 (m, 2H)	-CH ₂ de éster en C-17
6.050 (s, 1H)	C=CH en C-7
6.250 (s, 1H)	C=CH en C-4
6.300 (d, 1H)	C=CH en C-2
6.350 (d, 1H)	C=CH en C-6
7.100 (d, 1H)	C=CH en C-1
RMN ¹³C (ppm)	
212.007	C=O en C-20
186.230	C=O en C-3
173.463	C=O de éster en C-17
83.934	C, C-17
47.741	-CH ₃ en C-16
28.799	-CH ₃ en C-21
27.669	-CH ₂ de éster en C-17
8.863	-CH ₃ de éster en C-17
EMIE (m/z)	
396	M+
322	M-CH ₃ -CH ₂ -COO-
307	322-CH ₃
292 (100% Ab. rel.) (pb)	322-CH ₃ , -CH ₃
279	322-(CH ₃ -C=O) ⁺
264	307-(CH ₃ -C=O) ⁺
57	(CH ₃ -CH ₂ -C=O) ⁺
43	(CH ₃ -C=O) ⁺

4.2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA.

El ensayo para evaluar la actividad biológica, consistió en determinar la actividad de la enzima 5 α -reductasa en presencia de los productos finales así como de los intermediarios incluyendo la materia prima (XXXVII) (página 30). Este ensayo biológico se realizó en la ENEP Iztacala por el M. en C. César Flores. A continuación se menciona la técnica empleada.

• Obtención del Extracto Concentrado de Proteínas.

Se emplearon dos ratas macho de la cepa wistar con un peso corporal de 250g, sacrificándolas por desnucamiento. Inmediatamente, fueron extraídos los testículos. Este órgano se homogeneizó, utilizando una solución de KCl 0.17M. El extracto obtenido se filtró y se centrifugó a 15,000rpm durante 30 minutos. El sobrenadante se recuperó y se saturó al 50% con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en frío, el precipitado formado se dializó en contra de 1L de buffer Tris-HCl 50mM, pH 7.3 durante 24 horas. El dializado obtenido se centrifugó a 10,000rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se utilizó como extracto concentrado de proteínas para realizar el ensayo enzimático. Todas las operaciones se llevaron a cabo a una temperatura de 4 °C.

La proteína del extracto se determinó por el método de Bradford, utilizando albúmina sérica de bovino para construir la curva estándar. Este método involucra la unión del colorante azul brillante de coomassie G-250 a la proteína. La unión del colorante a la proteína provoca un desplazamiento en la longitud de absorción máxima de 465nm (rojo) a 595nm (azul).⁴⁴

- **Cuantificación de la Actividad de la Enzima 5 α -reductasa.**

La cuantificación de la actividad de la enzima 5 α -reductasa, se realizó incubando 100 μ g de proteína del extracto concentrado obtenido, en un medio de reacción que contenía: 500 μ M de testosterona, 500 μ M del producto a evaluar, buffer Tris-HCl 100 mM, pH = 7 y NADPH 100 μ M. Se incubó durante 30 minutos a 37 °C con agitación y se determinó la actividad antiandrogénica, midiendo la variación de la absorbancia del NADPH a 340nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 2. A esta longitud de onda el NADPH absorbe pero no el NADP⁺, por lo que los cambios en la oxidación pueden ser medidos.⁴⁶ Se trabajaron al menos cuatro replicas por tratamiento, a una sola concentración (500 μ M).

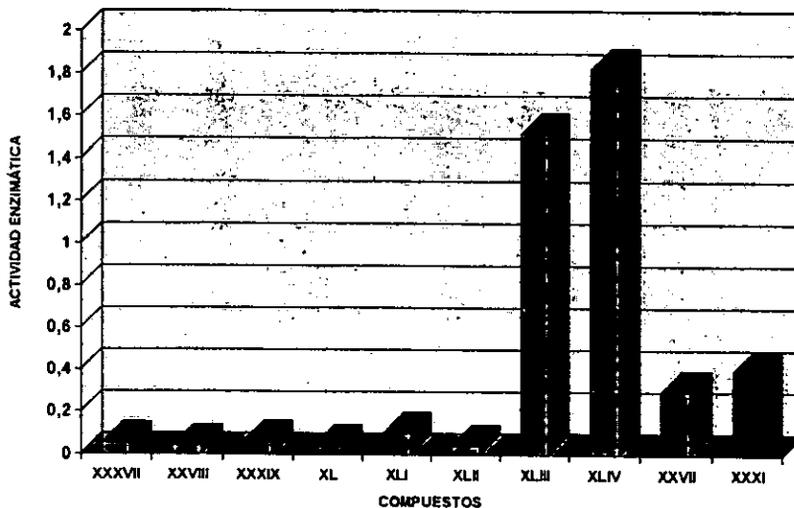
Para poder tener controles de referencia y comparar estos con los derivados sintetizados se evaluaron también el acetato de ciproterona (**XXVII**) (página 23) que es el antiandrógeno esteroidal de elección en el mercado, así como el inhibidor de la enzima 5 α -reductasa el azaesteroide Finasteride (Proscar) (**XXXI**) (página 23), los cuales mostraron 0.3 y 0.4 unidades de actividad enzimática respectivamente. Cabe mencionar nuevamente, que la actividad enzimática obtenida es medida indirectamente a través de la cuantificación de la absorbancia del NADPH presente en cada muestra. Con base a esto, se obtuvo la actividad enzimática para cada compuesto, (ver **Tabla 9** y **Figura 9** página 46).

Tabla 9. Actividad in-vitro de los compuestos XXXVII - XLIV sobre la enzima 5 α -reductasa.

COMPUESTO	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA
XXVII	0.3
XXXI	0.4
XXXVII	0.05
XXXVIII	0.04
XXXIX	0.06
XL	0.04
XLI	0.1
XLII	0.04
XLIII	1.52
XLIV	1.82

FIGURA 9

EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS INTERMEDIARIOS Y COMPUESTOS FINALES.



5. DISCUSIÓN.

Dado que en este trabajo se presentan dos tipos de resultados, los referentes a la síntesis química y los obtenidos en el ensayo biológico, la discusión se hará por separado.

5.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS QUÍMICOS.

La ruta de síntesis que se siguió es tal como se presenta en la **Figura 8** (página 30).

3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. XXXVII.

Este compuesto puede también ser nombrado como acetato de 16-dehidropregnenolona (16-DPA) y constituye la materia prima; dicho esteroide presenta las funcionalidades químicas necesarias para ser transformada en el compuesto deseado. Como primer paso la materia prima se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, tal como se presentan en la **Tabla 1** (página 32).

El compuesto citado, en su absorción al UV (**Figura 10**) (página 60) presenta la existencia del cromóforo conjugado con λ_{max} de 238nm, que corresponde al grupo cetona α, β , insaturada en C-16-en-20-ona.

En cuanto a su espectro de IR (**Figura 11**) (página 61) se encuentran dos absorciones en la zona de los carbonilos en 1729.76cm^{-1} y 1661.20cm^{-1} correspondientes al carbonilo del grupo acetoxi en C-3 y de la cetona α, β insaturada en C-20 respectivamente. También se observan señales correspondientes a metilos y metilenos en 2945.27 y 1372.77cm^{-1} . Las señales en 1247.26 y 1037.03cm^{-1} representan la interacción C-O del éster en C-3.

En tanto a la RMN ^1H (Figura 12) (página 62), presenta las siguientes señales: dos singuletes en 0.920 y 1.059 ppm que integran para 3 protones cada uno, correspondientes a los protones de los metilos angulares en C-18 y C-19 respectivamente, así como dos señales simples en 2.037 y 2.265 ppm que integran para 3 protones cada una pertenecientes al metilo en C-21 y al metilo del grupo acetato sobre C-3 respectivamente, así como una señal múltiple que integra para un protón en 4.60ppm correspondiente al protón base del acetoxi en C-3. En la zona de protones vinílicos se presenta un doblete en 5.40ppm que integra para un protón, se debe al protón vinílico en C-6, el cual esta acoplado a cada uno de los protones vecinos en C-7. Por último la señal triple en 6.70 ppm que integra para un protón, se asignó al protón vinílico en C-16 que se encuentra acoplado a los dos protones vecinos en C-15.

16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona. XXXVIII.

El primer paso de la síntesis involucró la formación de un epóxido en C-16 y C-17. Dicha epoxidación se realizó con peróxido de hidrógeno en medio básico, produciéndose una adición nucleofílica del anión hidroperóxido sobre la doble ligadura en C-16 y C-17 mediante un mecanismo tipo Michael. El compuesto deseado se obtuvo con un rendimiento del 98.2% y se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas como las muestra la **Tabla 2** (página 33).

El espectro de IR (Figura 13) (página 63) de este compuesto presenta una banda muy intensa en 1692.00cm^{-1} que corresponde a la frecuencia de absorción del grupo carbonilo en C-20. Como se cuenta con un medio básico de reacción, se produjo la hidrólisis simultánea del grupo acetoxi en C-3 se confirma con la ausencia de la señal del carbonilo del éster en 1729.76cm^{-1} así como de la aparición de una señal intensa en 3370.92cm^{-1} que corresponde al alcohol en C-3. También se puede observar la presencia de señales en 2937.35cm^{-1} y 1375.92cm^{-1} correspondientes a grupos metilos y metilenos. La señal en 1632.59cm^{-1} se asignó a la insaturación en C-5

y finalmente la señal en 1056.28cm^{-1} corresponde al enlace C-O del grupo alcohol en C-3.

El análisis del espectro de RMN ^1H (Figura 14) (página 64), indica la desaparición de la señal triple en 6.70ppm correspondiente al protón vinílico en C-16 y la aparición de una señal simple en 3.217ppm que integra para un protón, base del epóxido en ese mismo carbono. La señal múltiple de 3.50ppm que integra para un protón se asignó al protón en C-3 y las señales simples en 1.023 y 1.049ppm que integran para 3 protones cada una, corresponden a los metilos angulares en C-18 y C-19 respectivamente. También se observa una señal simple que integra para 3 protones en 2.034ppm que corresponde al metilo en C-20, así como la señal doble en 5.34ppm que integra para un protón asignado al protón vinílico en C-6. Finalmente se observa una señal en 3.685ppm que integra para un protón y se asignó al protón del alcohol en C-3.

3 β -acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-5-pregnen-20-ona. XXXIX.

El siguiente paso de la síntesis consistió en proteger el alcohol libre en C-3 del compuesto XXXVIII con un grupo acetoxi. Esto se realizó mediante el método convencional de acetilación que emplea una mezcla de anhídrido acético y piridina formando de esta manera el electrófilo acetilpiridinio considerado como la especie acetilante. El compuesto acetilado se obtuvo con un rendimiento del 90.0% y se caracterizó por medio de sus constantes físicas y espectroscópicas enlistadas en la Tabla 3 (página 34).

El espectro de IR (Figura 15) (página 65) indica la presencia de una señal en 1731.92cm^{-1} asignada al carbonilo del acetoxi en C-3 y la ausencia de la señal en 3370.92cm^{-1} que correspondía al alcohol libre en la misma posición confirmando de esta manera la acetilación. La señal en 1697.93cm^{-1} corresponde al carbonilo en C-20. Y las señales en 1245.00 y 1032.03cm^{-1} son características del éster en C-3. Finalmente la señal en 2942.65cm^{-1} se debe a los grupos metilos y metilenos.

Con respecto al espectro de RMN ^1H (Figura 16) (página 66) mostró dos señales simples en 0.965 y 0.979ppm que integran para 3 protones cada una de ellas correspondientes a los metilos angulares C-18 y C-19 respectivamente. El singulete en 1.962ppm que integra para 6 protones se asignó al metilo del grupo acetoxi en C-3 y al metilo en C-21 alfa a la cetona en C-20. El protón en C-16 esta representado por una señal simple que integra para un protón en 3.418ppm y el protón en C-3 se ve como una señal múltiple desplazado a campo bajo en 4.50ppm. Finalmente, la señal doble en 5.25ppm que integra para un protón se asignó al protón vinílico en C-6 acoplado a dos protones vecinos en C-7.

3 β -acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno.XL.

El paso siguiente en la síntesis implicó la protección del carbonilo en C-20 mediante la formación de su cetal, debido a que el próximo paso involucra la apertura del epóxido mediante un reactivo organometálico de Grignard el bromuro de metilmagnesio para introducir el grupo metilo en posición C-16 β .

Esta reacción de protección se efectuó empleando etilenglicol, ortoformiato de trimetilo, tolueno como disolvente y ácido p-toluensulfónico como catalizador para dar lugar a la formación del dioxolano. El compuesto resultante se obtuvo con 88.5% de rendimiento y se identificó como XL por medio de sus propiedades físicas y espectroscópicas las cuales se mencionan en la Tabla 4. (página 36).

El análisis del espectro de IR (Figura 17) (página 67) refleja la desaparición de la señal correspondiente al carbonilo cetónico en C-20 en 1697.93cm^{-1} , mostrando únicamente la banda del carbonilo del acetoxi en C-3 en 1719.36cm^{-1} . Además de que se siguen conservando las señales referentes a los metilos y metilenos en 2941.89cm^{-1} y las características del éster en C-3 en 1248.00 y 1033.63cm^{-1} que representan la unión C-O.

El espectro de RMN ^1H (Figura 18) (página 68) muestra dos singuletes en 0.997 y 1.044ppm que integran para 3 protones cada una, correspondientes a los metilos angulares C-18 y C-19 respectivamente. De igual manera se observa un singulete en 1.443ppm que integra para 3 protones asignado al metilo C-21, esta señal se ha desplazado a campo alto con respecto al compuesto XXXIX debido a la falta del carbonilo en C-20 que lo protegía. El desplazamiento químico de 2.039ppm que integra para 3 protones pertenecientes al metilo del acetoxi sobre C-3 y en 3.390ppm otra señal simple que integra para un protón en C-16. Se registra además, un singulete en 3.954ppm que integra para 4 protones asignado al dioxolano en C-20. En 4.520ppm se observa una señal múltiple que integra para un protón en C-3 que se encuentra acoplado a cuatro protones vecinos situados en C-2 y C-4 y finalmente en 5.370ppm una señal doble que integra para un protón corresponde al protón vinílico en C-6.

3 β ,17 α -dihidroxi-20-etilendioxi-16 β -metil-5-pregнено. XLI.

El paso siguiente que se llevó a cabo fue la apertura del anillo del oxirano de LX mediante un mecanismo de adición nucleofílica, empleando bromuro de metilmagnesio en tetrahidrofurano y yoduro de cobre como catalizador, todo ello con la finalidad de introducir un grupo β metilo en C-16 del esteroide, así como la generación simultánea del oxhidrilo α en C-17. Esta reacción produjo el compuesto XLI con 65% de rendimiento y se caracterizó por medio de sus propiedades físicas y espectroscópicas, mostradas en la **Tabla 5** (página 37).

El espectro de IR (Figura 19) (página 69) de este compuesto muestra una banda ancha en la zona de 3450.22cm^{-1} que corresponde al oxhidrilo en C-17, generado por la apertura del epóxido en C-16-C-17, en esta misma señal se observa una inflexión que se debe al oxhidrilo en C-3 que se presenta como resultado del ataque del acetato por el reactivo de Grignard; es por ello que esta banda fue asignada a los dos

oxhidrilos. Así mismo se observan señales en 2935.00 y 2897.01cm^{-1} características de metilos y metilenos.

El espectro de RMN ^1H (Figura 20) (página 70) presenta dos singuletes en 0.878 y en 0.988ppm , ambas señales integran para 3 protones, correspondientes a los metilos angulares C-18 y C-19 respectivamente; un doblete en 1.174ppm que integra para 3 protones, asignada al metilo en C-16. La señal simple en 1.378ppm integra para 3 protones se refiere al metilo C-21 alfa al carbonilo que soporta a la entidad etilendioxi. En 2.230ppm se ubica una señal simple que integra para un protón asignada al protón del oxhidrilo sobre C-17 y en 3.50ppm una señal múltiple que integra para un protón que se encuentra situado en C-3. Una señal simple en 3.70ppm que integra para un protón, del oxhidrilo en C-3; el multiplete en 3.950ppm que integra para los cuatro protones del grupo etilendioxi en C-20 y finalmente el doblete en 5.350ppm que integra para un protón se debe al protón vinílico en C-6 acoplado a los dos protones en C-7.

$3\beta,17\alpha$ -dihidroxi- 16β -metil-5-pregnen-20-ona. XLII.

Aquí lo que se logró fue regenerar el grupo carbonilo sobre C-20 utilizando un medio ácido de reacción disolviendo el compuesto XLI en acetona y agregando ácido p-toluensulfónico; esta reacción produjo un dihidroxi compuesto que se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas mostradas en la **Tabla 6.** (página 38).

El espectro de IR (Figura 21) (página 71) presenta las dos bandas en la zona de alcoholes en 3400.22 y 3342.28cm^{-1} indicativas a los oxhidrilos en C-17 y C-3 respectivamente. Así mismo se aprecian señales en 2928.27cm^{-1} que indican la presencia de grupos metilos y metilenos; en 1052.64cm^{-1} la interacción C-O en C-3 y

en 1690.0cm^{-1} una señal muy intensa corresponde al carbonilo regenerado en C-20 con lo cual se corrobora la reacción de hidrólisis del cetal.

La RMN ^1H (Figura 22) (página 72) también corrobora la regeneración del grupo carbonilo en C-20 ya que la señal múltiple en 3.950ppm que integra para los cuatro protones del grupo etilendioxi en C-20 ha desaparecido; la señal simple en 0.800ppm que integra para 3 protones y la señal doble en 0.970ppm que integra de igual manera que la anterior se deben a los metilos C-18 y C-16 respectivamente. Las señales simples que integran para 3 protones cada una en 1.20 y 2.10ppm corresponden a los metilos C-19 y C-21 alfa al carbonilo. Cabe mencionar que este último valor se desplazó a campo más bajo (mayores ppm) como es de esperarse para un protón sobre el átomo de carbono alfa al carbonilo. En 3.42ppm se ubica una señal simple que integra para un hidrógeno, asignada al protón del oxhidrilo en C-3, la otra señal simple indicativa del protón de -OH en C-17 se encuentra en 3.90ppm. Se aprecia una señal múltiple en 3.50ppm que integra para un protón en C-3 el cual se encuentra acoplado con los protones vecinos en C-2 y C-4. Por último se distingue una señal doble en 5.30ppm que es debida al protón vinílico en C-6 acoplado a los protones en C-7.

17 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIII.

En este paso de la síntesis se llevó a cabo la oxidación del grupo oxhidrilo en C-3 y además la introducción de dobles ligaduras en C-1, C-4 y C-6; todo esto se logró a través de la deshidrogenación con DDQ. El método empleado permitió disminuir un paso adicional de síntesis, ya que se evitó oxidar primero el sistema 3-ol a través de una oxidación de Oppenauer. Así de esta forma se obtuvo el producto deseado con 65.0% de rendimiento y cuya estructura se elucidó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, las cuales se mencionan en la **Tabla 7** (página 40).

Debido a que este compuesto presenta un grupo cromóforo 1,4,6-trien-3-ona, se determinó la presencia de éste por medio de un máximo de absorbancia a 255 y 300nm (256 y 304nm datos teóricos referidos al dieno y trieno conjugado respectivamente) (Figura 23) (página 73).

Este compuesto en su espectro de IR (Figura 24) (página 74) presenta una banda en 3389.27cm^{-1} correspondiente al oxhidrilo en C-17. Se comprueba la oxidación del grupo oxhidrilo en C-3, pues la señal en 3342.28cm^{-1} perteneciente al alcohol en C-3 desapareció y en su lugar se observa una señal en 1651.13cm^{-1} perteneciente al carbonilo en la misma posición. En la misma zona de carbonilos, en 1707.17cm^{-1} una señal debida al carbonilo en C-20 α , β -insaturado. La señal de 1599.86cm^{-1} se asignó a las dobles ligaduras alifáticas conjugadas; por último las bandas 2944.59 y 1456.68cm^{-1} son indicativas de los metilos y metilenos presentes en el esteroide.

El espectro de RMN¹H (Figura 25) (página 75) nuevamente confirma la generación de la entidad 1,4,6-trien-3-ona al apreciarse que la señal simple en 3.42ppm que integraba para el protón del oxhidrilo en C-3 desapareció, observándose en la zona de los protones vinílicos cinco señales: una simple que integra para un protón en 6.20ppm que sin duda corresponde al protón vinílico C-4 alfa al carbonilo en C-3, las cuatro señales restantes cuya multiplicidad es doble y su integración es de un protón son las que aparecen en 7.05ppm, se asignó al protón en C-1, en 6.35, 6.30 y 6.0ppm corresponden a los protones situados en C-6, C-2 y C-7 respectivamente. Las señales restantes son debidas a los metilos presentes en la molécula esteroideal, se aprecia una señal simple que integra para 3 protones en 2.3ppm que corresponde al metilo C-21, otras dos señales simples en 1.3 y 1.0ppm se asignaron a los metilos angulares C-19 y C-18 respectivamente. Finalmente una señal doble en 1.2ppm corresponde al metilo en C-16.

La RMN ¹³C (Figura 26) (página 76) para XLIII también confirma la presencia de la entidad 1,4,6-trien-3-ona; ya que en la zona de los carbonilos además de apreciarse

la señal en 217.369ppm indicativa del carbonilo en C-20 se observa otra señal en 186.129ppm asignada al carbonilo en C-3 generado por la oxidación. En 78.069ppm una señal perteneciente al carbono 17 que es el que sostiene al grupo oxhidrilo. Finalmente la señal 49.275ppm se asignó al carbono del metilo en C-16.

La EMIE (**Figura 27**) (página 77) muestra un ion molecular de 340 correspondiente al peso molecular de **XLIII**. También se observa un pico en 322 dado por la deshidratación del alcohol en C-17. Los picos siguientes situados en 307 y 292 se produjeron por la pérdida de 15 y 30 unidades respectivamente del fragmento m/z 322. El pico de 279 y que además constituye el pico base, se debe a la pérdida de $(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})^+$ o 43 unidades del fragmento 322. Finalmente el pico en 43 corresponde al fragmento $(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})^+$.

16 β -metil-17 α -propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

La esterificación del grupo oxhidrilo en C-17 del compuesto **XLIII** se llevó a cabo con ácido propiónico dando origen a un nuevo compuesto no reportado en la literatura, cuya estructura se elucidó por sus propiedades físicas y espectroscópicas mostradas en la **Tabla 8** (página 42). El rendimiento de ésta reacción fue del 70.0%.

Debido a que éste nuevo compuesto presenta un grupo cromóforo 1,4,6-trien-3-ona, se determinó la presencia de éste por medio de un máximo de absorbanza a 255 y 300nm (256 y 304nm datos teóricos referidos al dieno y trieno conjugado respectivamente) (**Figura 28**) (página 78).

El espectro de IR (**Figura 29**) (página 79) comprueba la esterificación del oxhidrilo en C-17, ya que la banda en 3389.27cm^{-1} desapareció, observando una señal nueva en 1725.74cm^{-1} asignada al carbonilo del éster propiónico, asimismo se observan dos señales más en la zona de carbonilos una en 1707.68 y otra en 1652.71cm^{-1} referentes al grupo cetona en C-20 y C-3 respectivamente. En 1604.68cm^{-1}

la señal se asignó a la interacción C-C en el sistema dieno conjugado de C-4 a C-7. Las señales en 2952.66, 1457.48 y 1378.33cm⁻¹ se deben a la presencia de metilos y metilenos en la estructura base del esteroide. Finalmente las bandas en 1202.53 y 1186.90cm⁻¹ fueron asignadas a la interacción C-O del éster en C-17.

El espectro de RMN ¹H (Figura 30) (página 80) reafirma la formación del éster propiónico, ya que en 1.15ppm se ve la aparición de una señal triple nueva que integra para 3 protones, correspondientes al metilo del grupo propionato en C-17, además, en 2.30ppm se ve una señal múltiple que integra para 2 protones debida al metileno del mismo grupo. Las señales simples en 1.10 y 1.35ppm que integran para 3 protones cada una, corresponden a los metilos angulares C-18 y C-19 respectivamente. En 1.28ppm una señal doble que integra para 3 protones se asignó al metilo en C-16. En 2.15ppm una señal simple que integra para 3 protones corresponden al metilo C-21. Los protones vinílicos se observan en: 6.05, 6.25, 6.30, 6.35 y 7.10ppm los cuales integran para un protón en C-7, C-4, C-2, C-6 y C-1 respectivamente.

La RMN ¹³C (Figura 31) (página 81) una vez más corrobora la formación del éster en C-17, ya que en la zona de los carbonilos además de las señales en 212.007 y 186.230ppm atribuidas a los carbonilos en C-20 y C-3 respectivamente ; se observa una señal más situada en 173.463ppm debida al carbonilo del éster propiónico. Por otro lado en la región de los carbonos metílicos y metilénicos también se aprecia la aparición de dos señales nuevas en 8.863 y 27.669ppm correspondientes al carbono metílico y metilénico del éster propiónico. El carbono 17 se encuentra en 83.934ppm, las señales que se conservan son en 47.741 y en 28.799ppm que corresponden al carbono del metilo en C-16 y al del metilo C-21.

La EMIE (Figura 32) (página 82) muestra un ion molecular pequeño de 396 que corresponde al peso molecular de XLIV. El pico siguiente en 322 se produjo por la falta de 74 unidades que se deben a la pérdida de ácido propiónico, el siguiente pico en 307 se debe a la pérdida de la entidad -CH₃ del fragmento 322. El pico en 292 que

constituye el pico base se atribuye a la pérdida de 30 unidades del fragmento 322 ó a la pérdida de 15 unidades del fragmento 307. Los dos picos siguientes en 279 y 264 se produjeron por la pérdida de $(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})^+$ del fragmento 322 y 307 respectivamente. El pico de 57 está dado por el fragmento $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}=\text{O})^+$ y el de 43 por la entidad $(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})^+$.

5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS BIOLÓGICOS.

Existe una gran diversidad de inhibidores de la enzima 5α -reductasa, que efectúan un bloqueo completo del andrógeno, lo cual parece ser una de las mejores opciones para el tratamiento del cáncer de próstata y de la hiperplasia prostática benigna en vez de la cirugía.

Se sabe que algunos compuestos no esteroideos actúan inhibiendo a la enzima 5α -reductasa^{46,47}, la mayoría de los antiandrogénos de interés terapéutico pertenecen a la serie esteroidal⁴⁸, específicamente los derivados de la progesterona **XIV** (página 8) así como el acetato de ciproterona⁴⁹ **XVII** (página 23) y el Proscar⁵⁰ **XXXI** (página 23). Es por ello que se tomaron como referencia estos dos compuestos.

Para realizar el ensayo in-vitro de la actividad inhibitoria de la enzima 5α -reductasa frente al compuesto final, a los intermediarios obtenidos y a los controles empleados, se utilizó extracto de testículos de ratas wistar por ser el principal sitio de biosíntesis de testosterona y andrógenos relacionados, valorando la actividad de inhibición de la enzima 5α -reductasa como índice de actividad antiandrogénica potencial.

Se ha indicado anteriormente con base en estudios (de derivados de la serie del pregnano (**IV**) (página 7)) que ha realizado el equipo de trabajo del Dr. E. Bratoeff¹¹, que la actividad antiandrogénica se ve incrementada en la molécula de la progesterona **XIV** (página 8) cuando a ésta se le introduce un átomo de halógeno en C-6, una

función éster o un grupo oxhidrilo en C-17 y un grupo metilo en C-16 (éste es un factor muy importante).

Se conoce que la reducción enzimática del grupo carbonilo en C-20 baja de forma considerable la actividad antiandrogénica del esteroide y para evitar dicha reducción se han diseñado técnicas de síntesis para incorporar grupos voluminosos en C-16 y C-17 impidiendo de esta manera el acercamiento de la enzima al grupo carbonilo en C-20.

El producto nuevo **XLIV** así como los intermediarios **XXXVII**, **XXXVIII**, **XXXIX**, **XL**, **XLI**, **XLII**, **XLIII**, se evaluaron in-vitro como inhibidores de la enzima 5α -reductasa. Como se había mencionado todos los compuestos se compararon con el acetato de ciproterona **XXVII** y con el nuevo fármaco del mercado Proscar (Finasteride) **XXXI**. Los resultados obtenidos del ensayo biológico se encuentran reportados en la **Tabla 9**, así como en la **Figura 9** (página 46).

Como se esperaba, los compuestos intermediarios **XXXVII** - **XLII** no mostraron actividad antiandrogénica apreciable, esto puede deberse a que carecen del átomo de halógeno en C-6, del sistema conjugado y además de que ninguno de ellos presenta un grupo metilo en C-16. El intermediario **XLIII** que carece del átomo de halógeno en C-6 pero que posee un sistema 1,4,6-trien-3-ona y además presenta un β -metilo en C-16, mostró una actividad más alta que el acetato de ciproterona y el Proscar superando a este último hasta en un 300%.

El compuesto nuevo **XLIV** tampoco presenta un grupo halógeno en C-6, pero si posee el sistema trien conjugado, el β -metilo en C-16 y además el alcohol en C-17 que presentaba **XLIII** se encuentra esterificado, dadas estas modificaciones éste producto superó en la actividad antiandrogénica en un 20% al compuesto **XLIII**.

6. CONCLUSIONES.

- Un nuevo inhibidor de la enzima 5 α -reductasa derivado de la serie del pregnano (IV): **16 β -metil-17 α -propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona XLIV** se logró sintetizar como posible fármaco potencial para el tratamiento de padecimientos como el cáncer de próstata mediado por andrógenos y de la hiperplasia prostática benigna.
- Como dicho compuesto es nuevo, se caracterizó mediante sus propiedades físicas (pf) y espectroscópicas(UV, IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y EMIE).
- Los intermediarios **XXXVII-XLII** no mostraron actividad inhibitoria hacia la enzima 5 α -reductasa.
- El compuesto **XLIII**, mostró una potente actividad inhibitoria sobre la enzima 5 α -reductasa, superando a los dos controles empleados el acetato de ciproterona **XXVII** y al Proscar (Finasteride) **XXXI**. Teniendo esto como antecedente el compuesto **XLIII** puede ser empleado como materia prima para obtener diversos productos con elevada actividad antiandrogénica.

7. APÉNDICE.

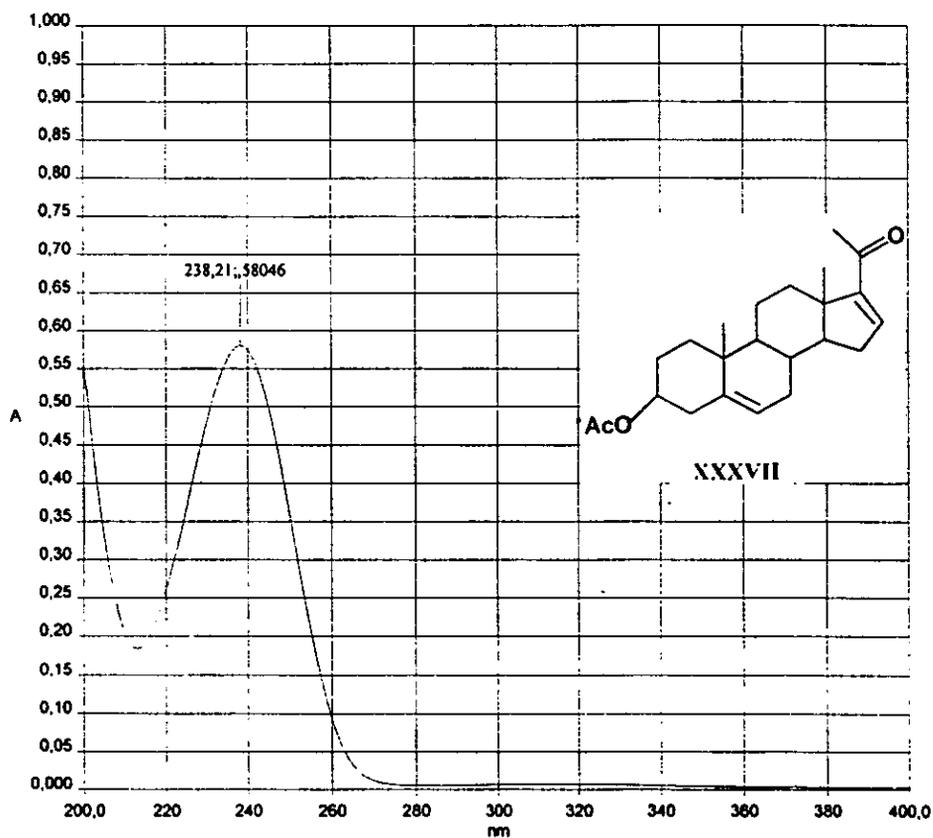


Figura 10. Espectro de UV de 3β-acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. XXXVII.

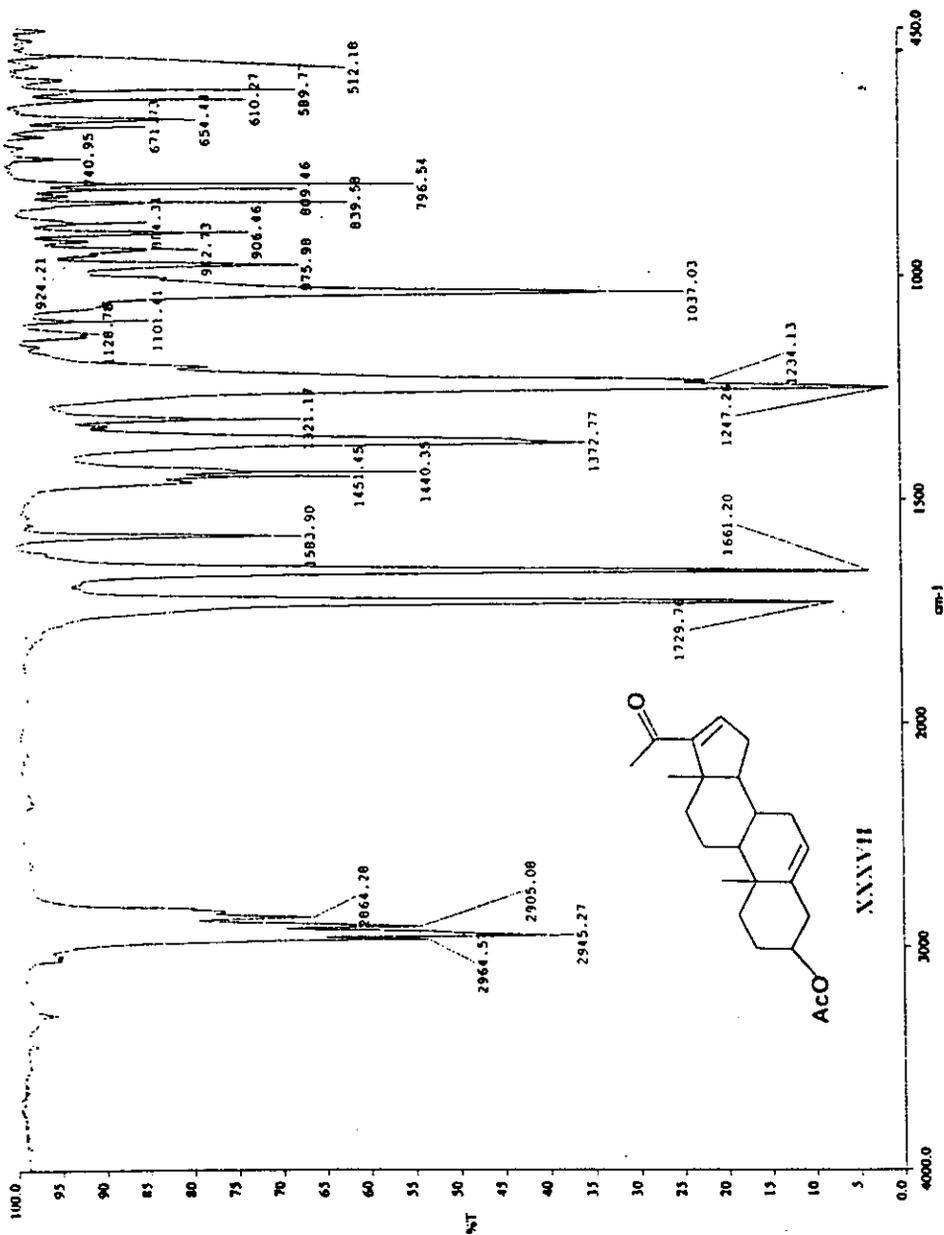


Figura 11. Espectro de IR de 3β-acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. XXXVII.

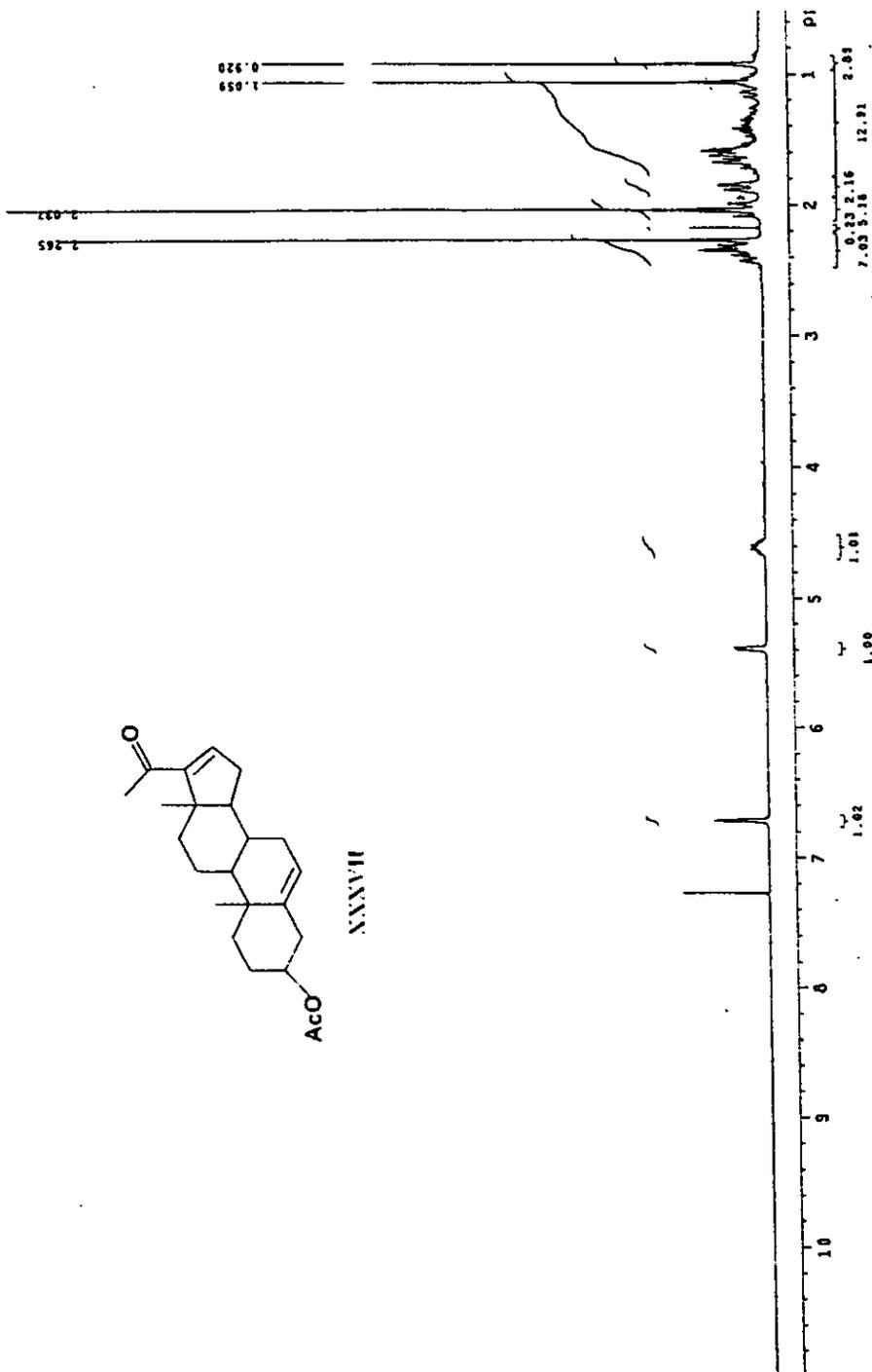


Figura 12. Espectro de RMN ^1H de 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona. XXXVII.

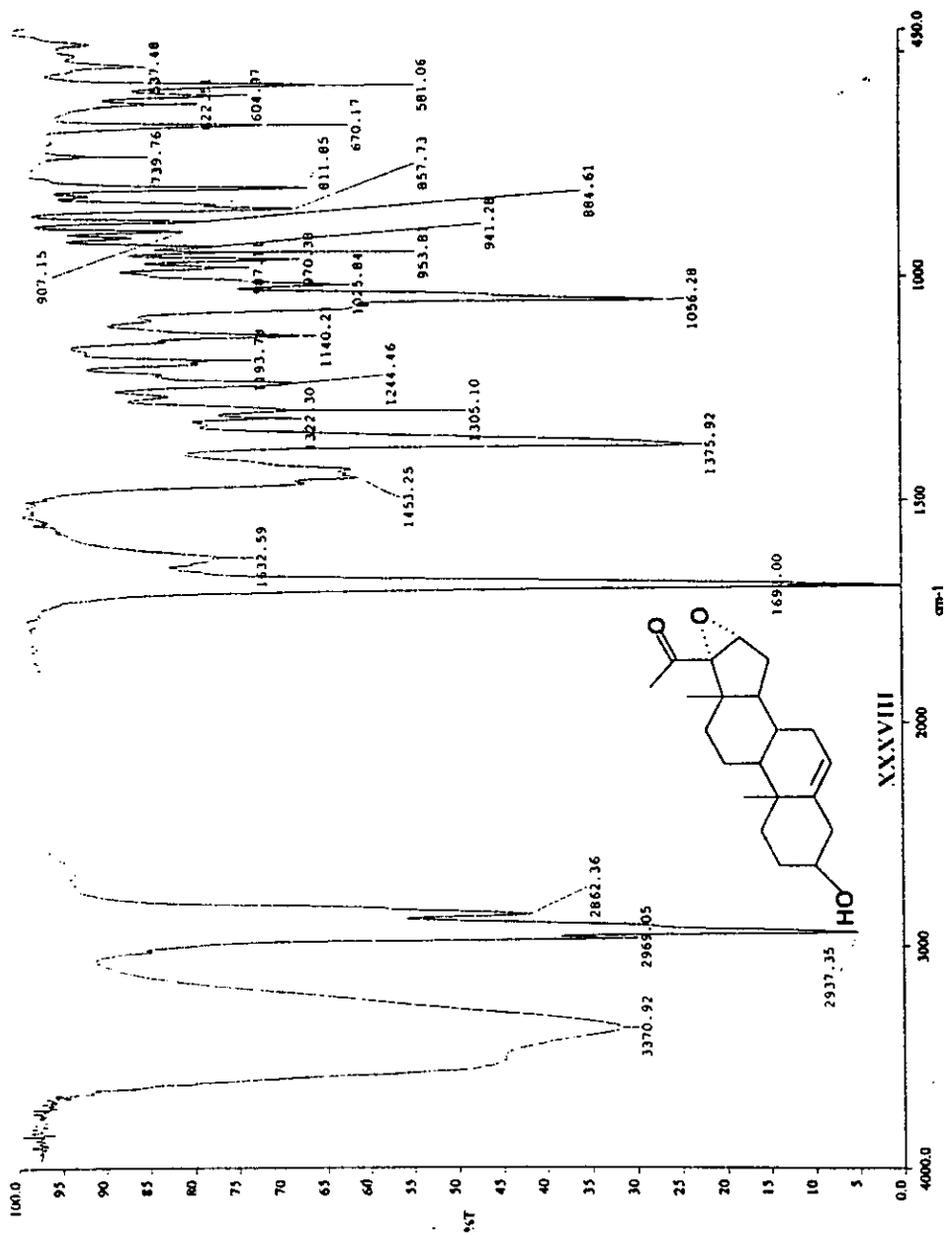


Figura 13. Espectro de IR de 16 α , 17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona. XXXVIII.

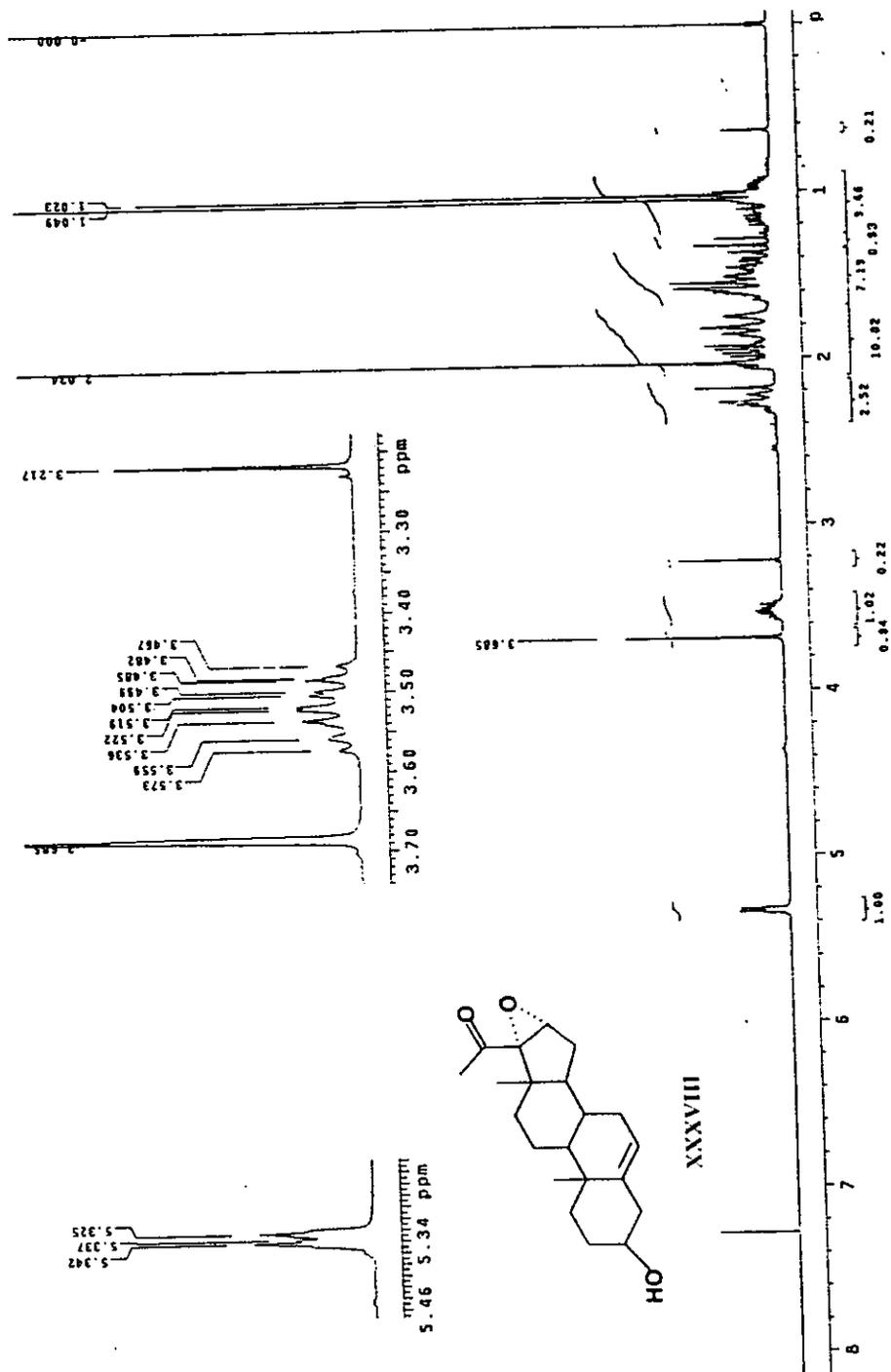


Figura 14. Espectro de RMN ^1H de 16 α ,17 α -epoxi-3 β -hidroxi-5-pregnen-20-ona. XXXVIII.

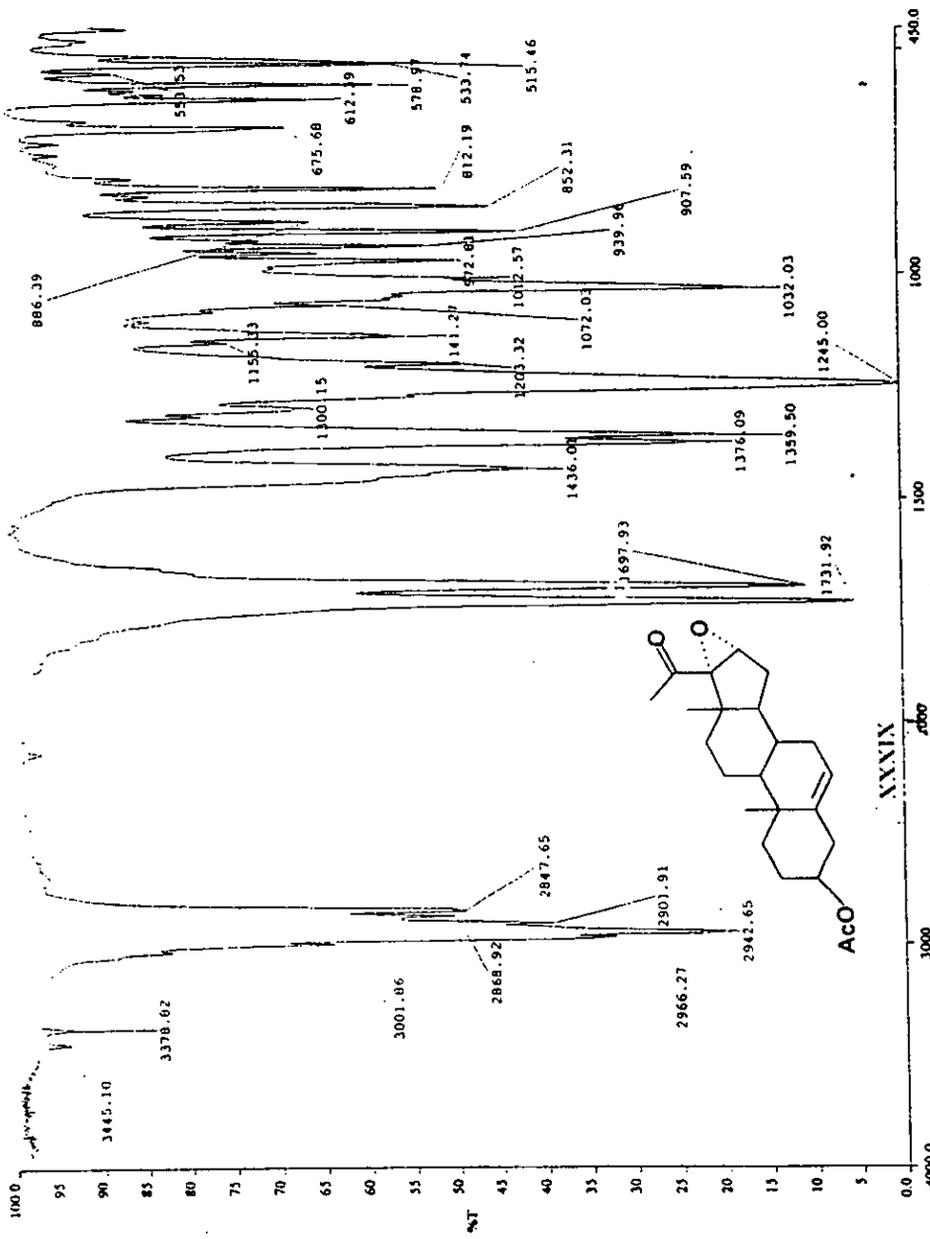


Figura 15. Espectro de IR de 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona. XXXIX.

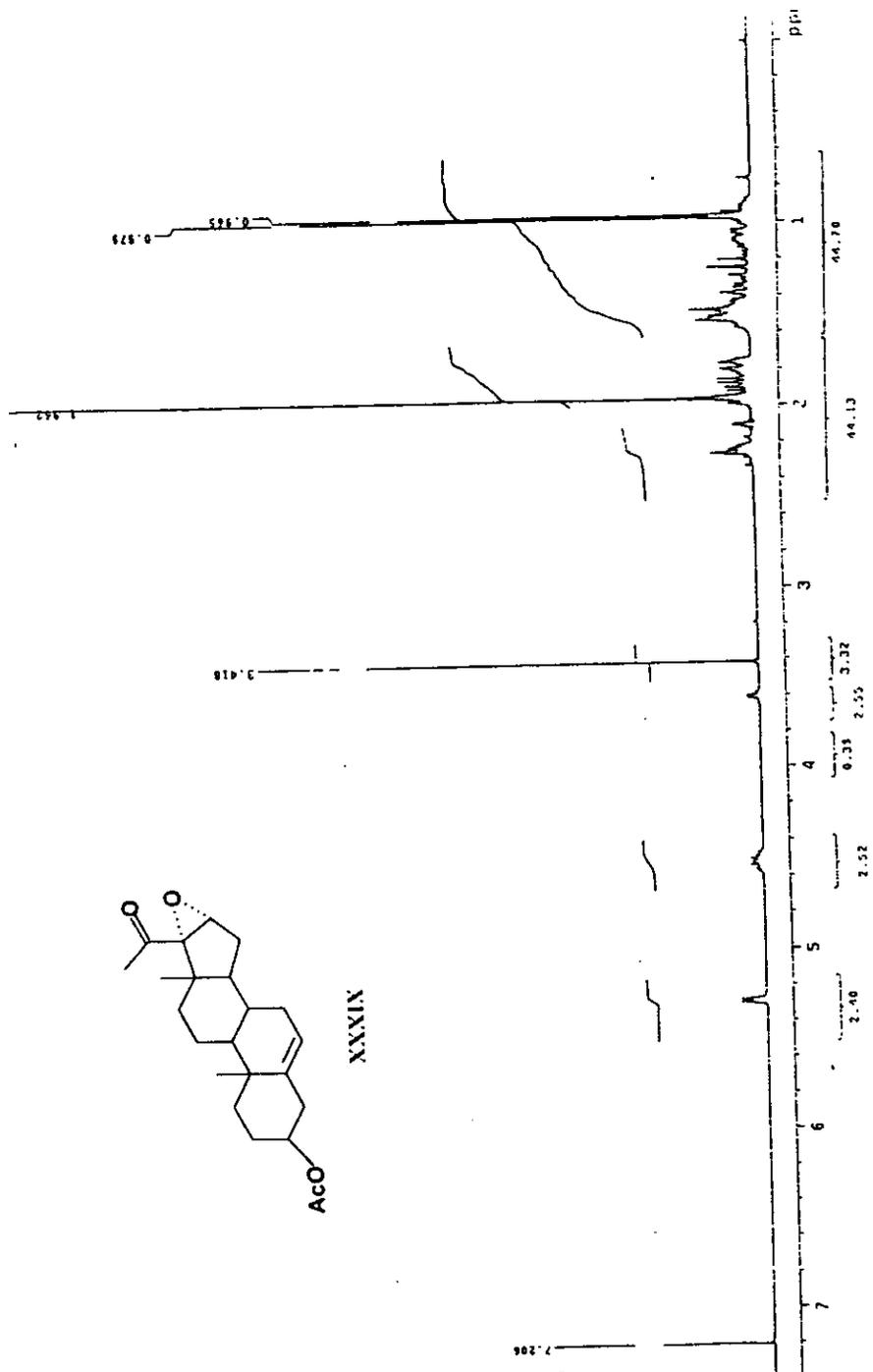


Figura 16. Espectro de RMN 1H de 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-5-pregnen-20-ona. XXXIX

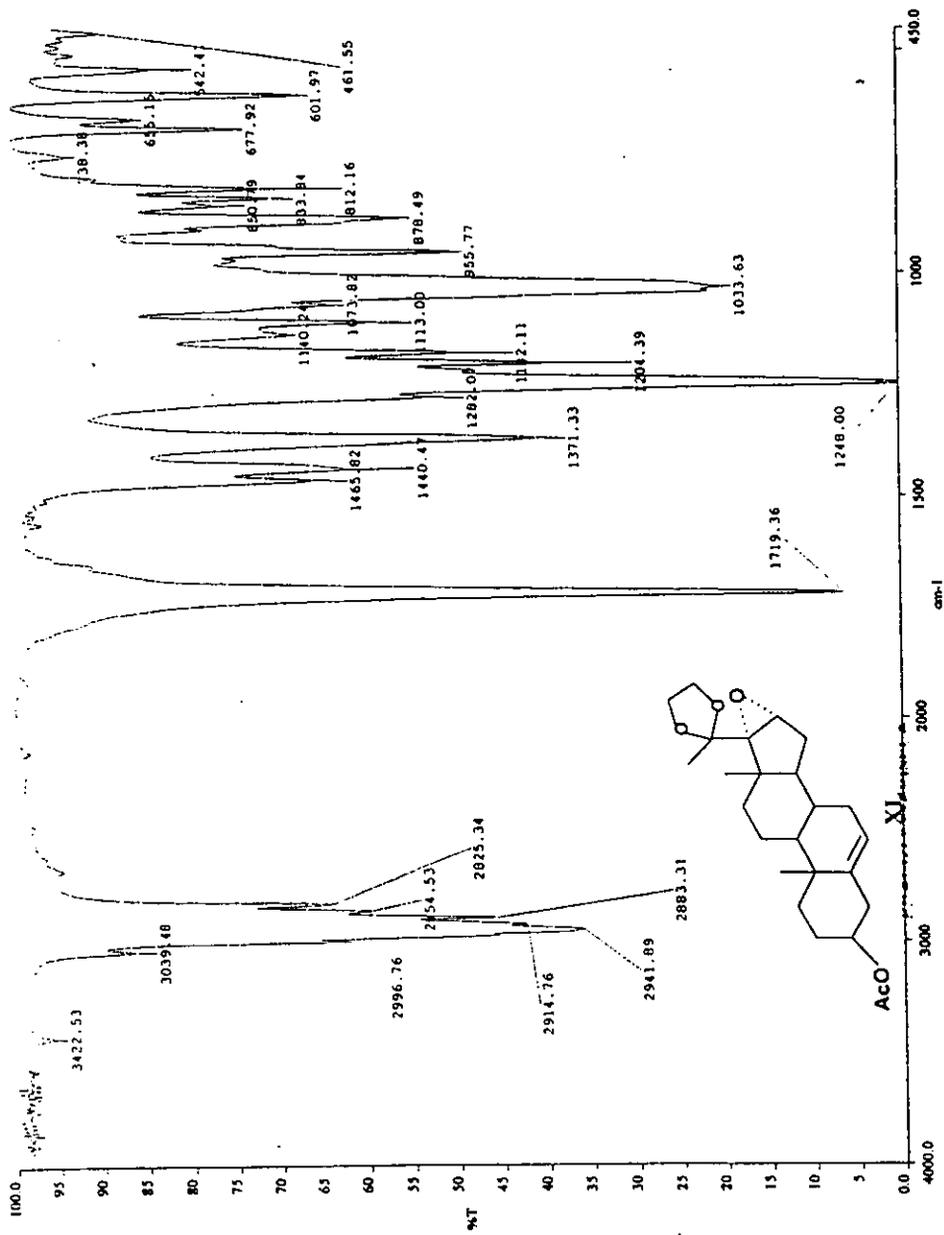


Figura 17. Espectro de IR de 3β-acetoxi-16α,17α-epoxi-20-etilendioksi-5-pregneno. XL.

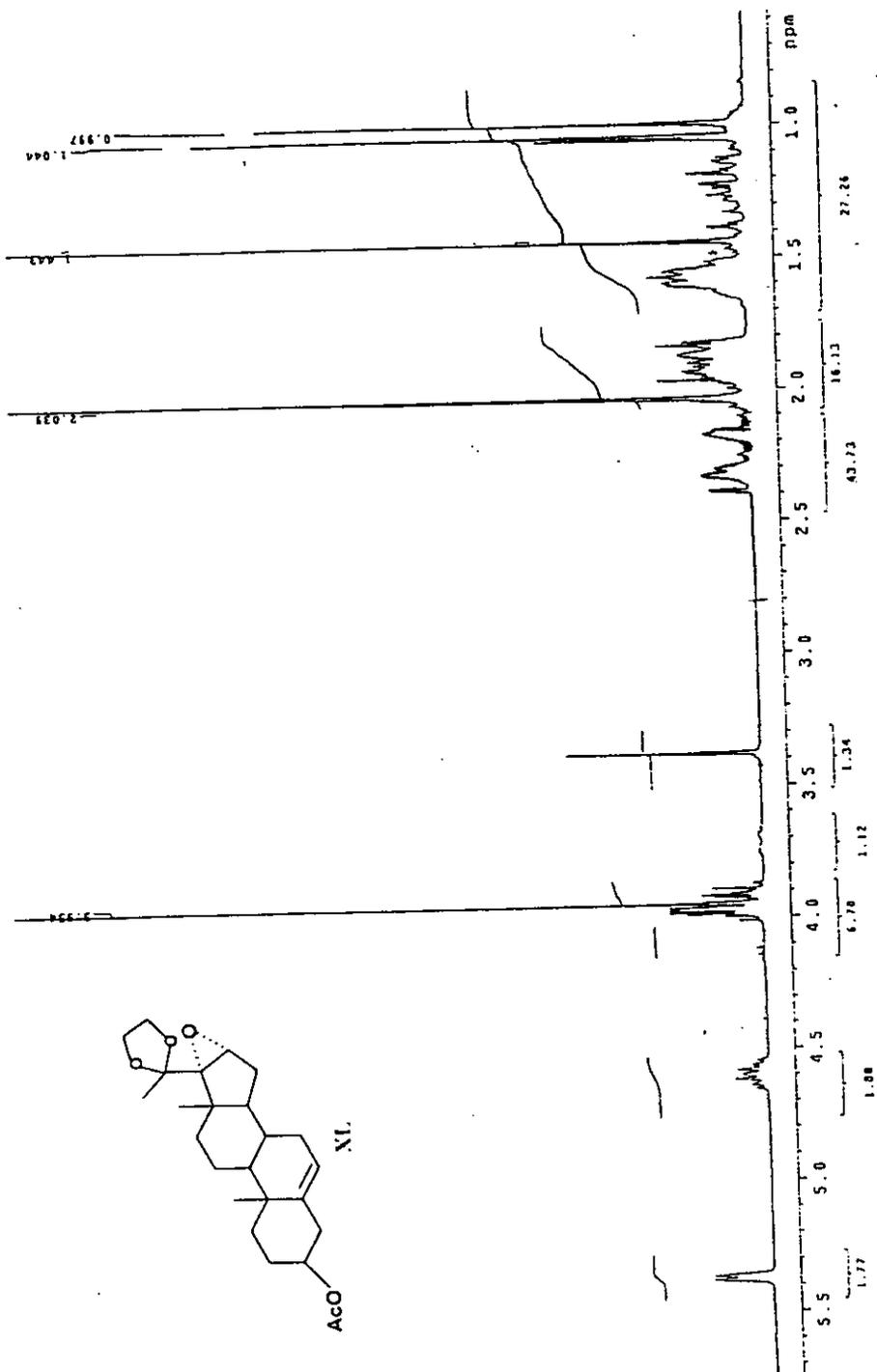


Figura 18. Espectro de RMN ^1H de 3 β -acetoxi-16 α ,17 α -epoxi-20-etilendioxi-5-pregneno. XI.

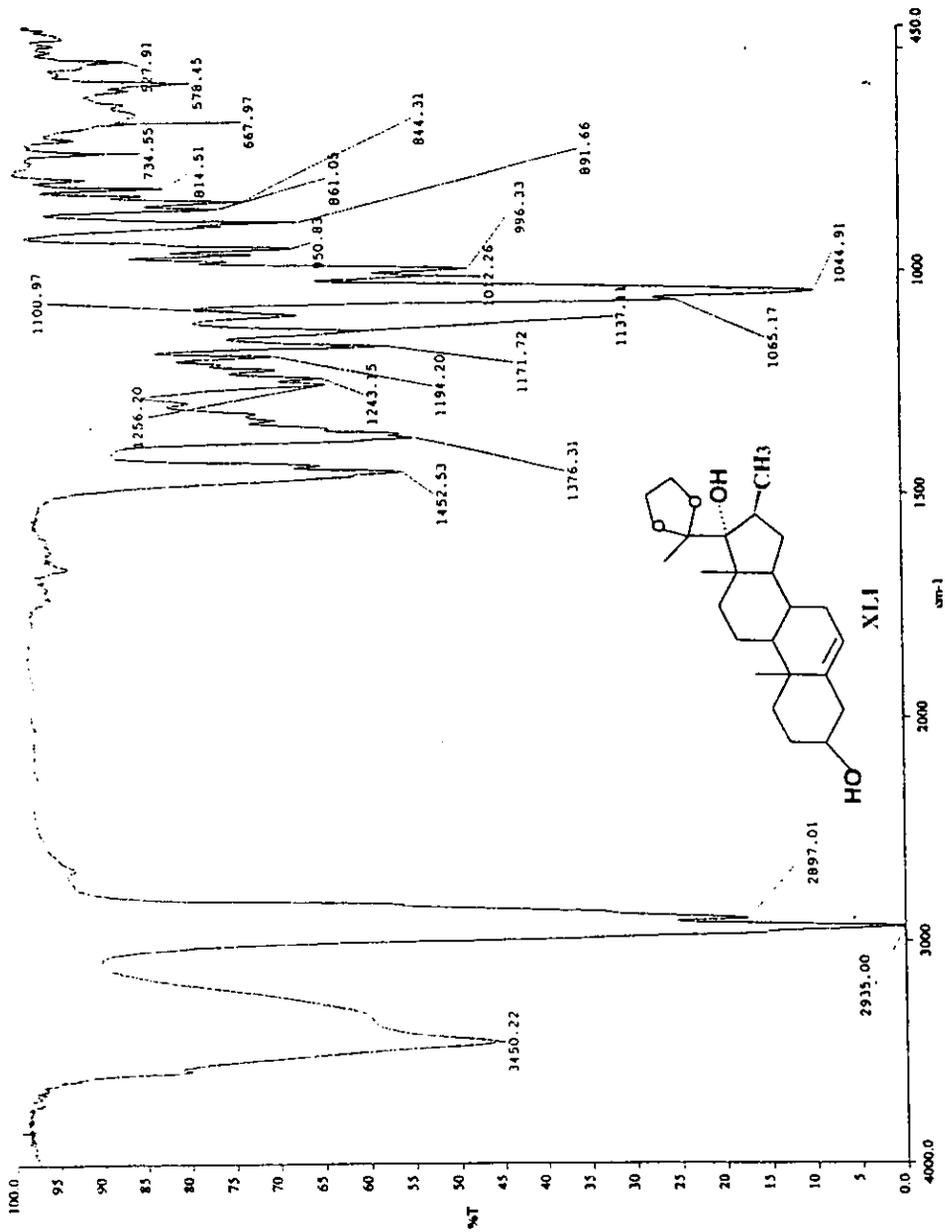


Figura 19. Espectro de IR de 3β,17α-dihidroxi-20-etilendioxi-16β-metil-5-pregneno. XLI.

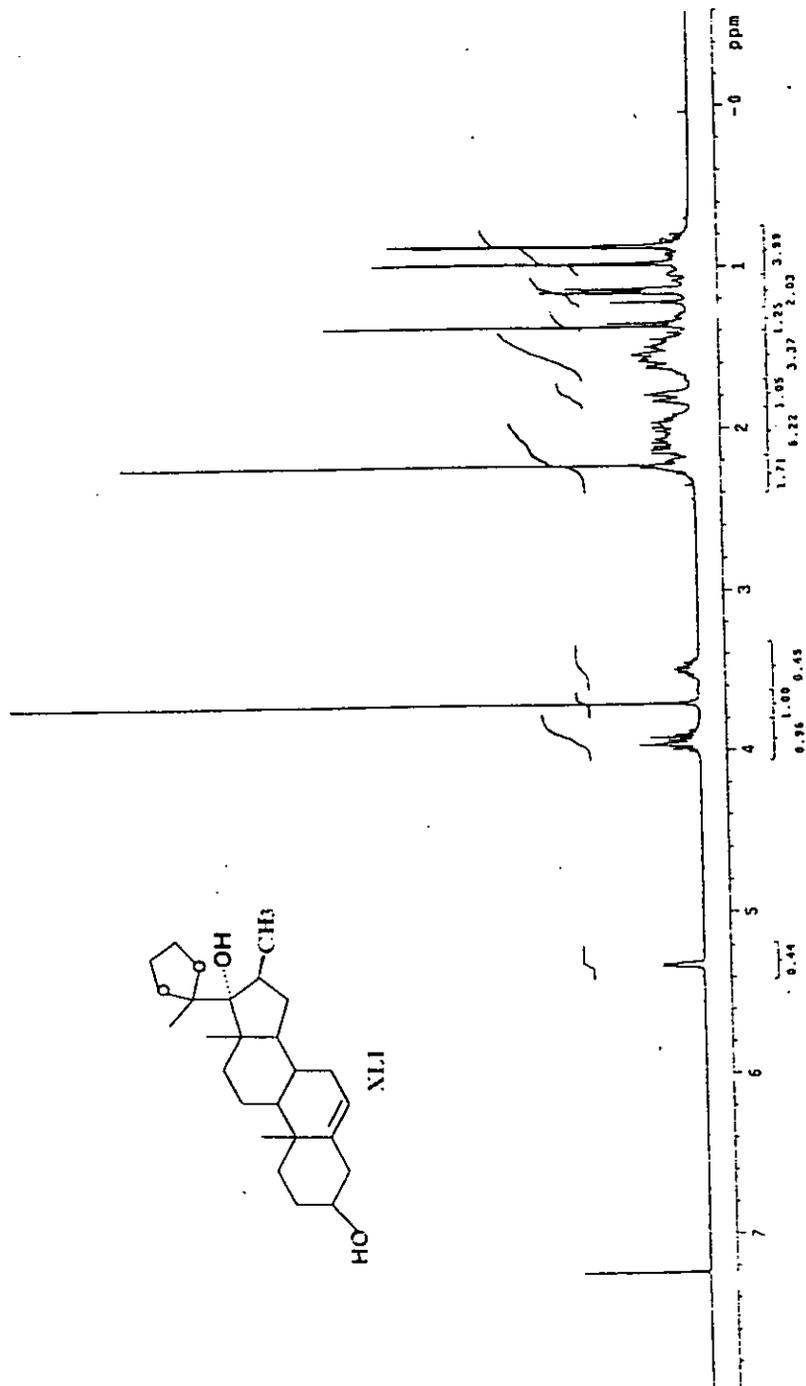


Figura 20. Espectro de RMN ¹H de 3β, 17α-dihidroxi-20-etilendioxi-16β-metil-5-pregнено. XXI.

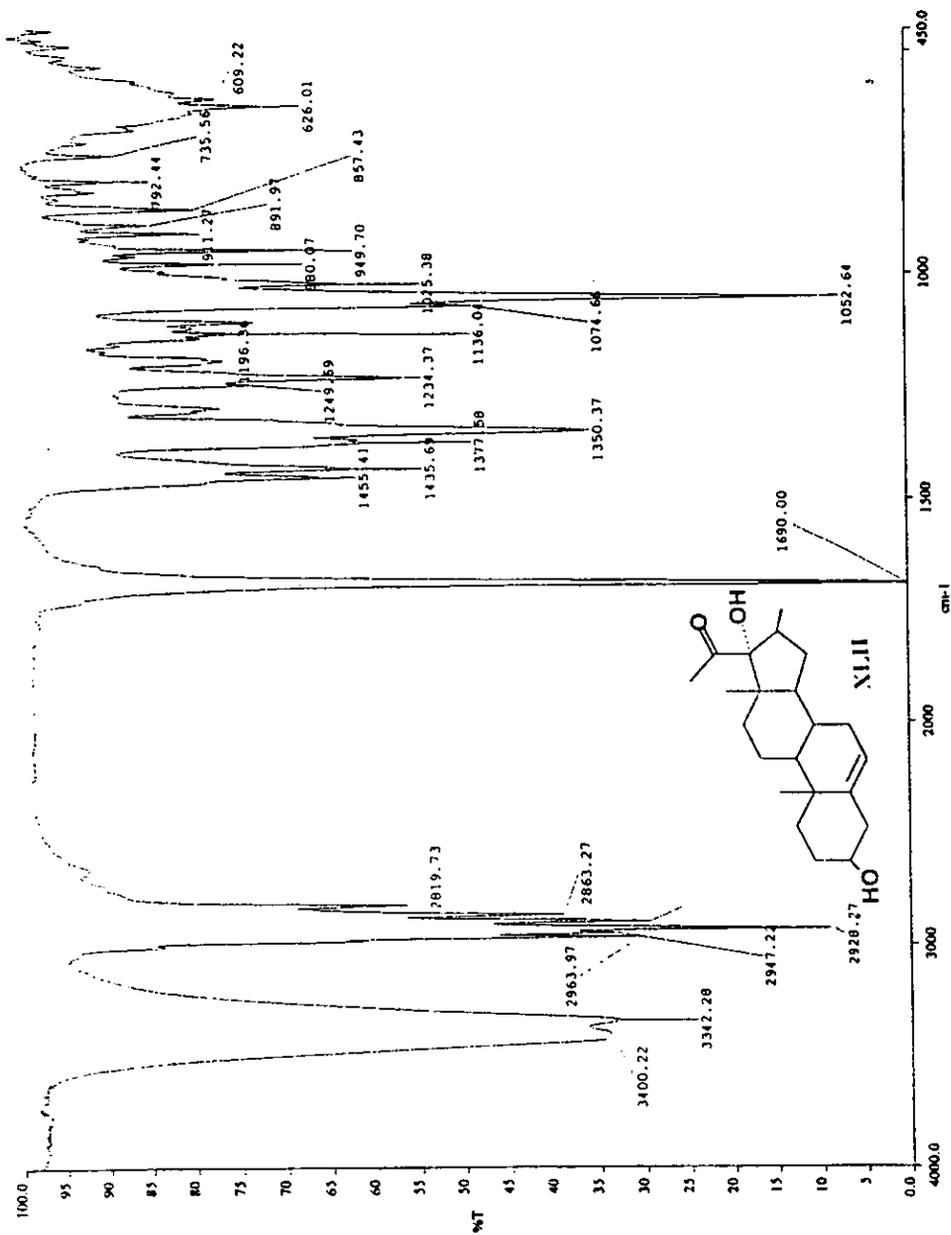


Figura 21. Espectro de IR de 3 β , 17 α -dihidroxi-16 β -metil-5-pregnen-20-ona. XIII.

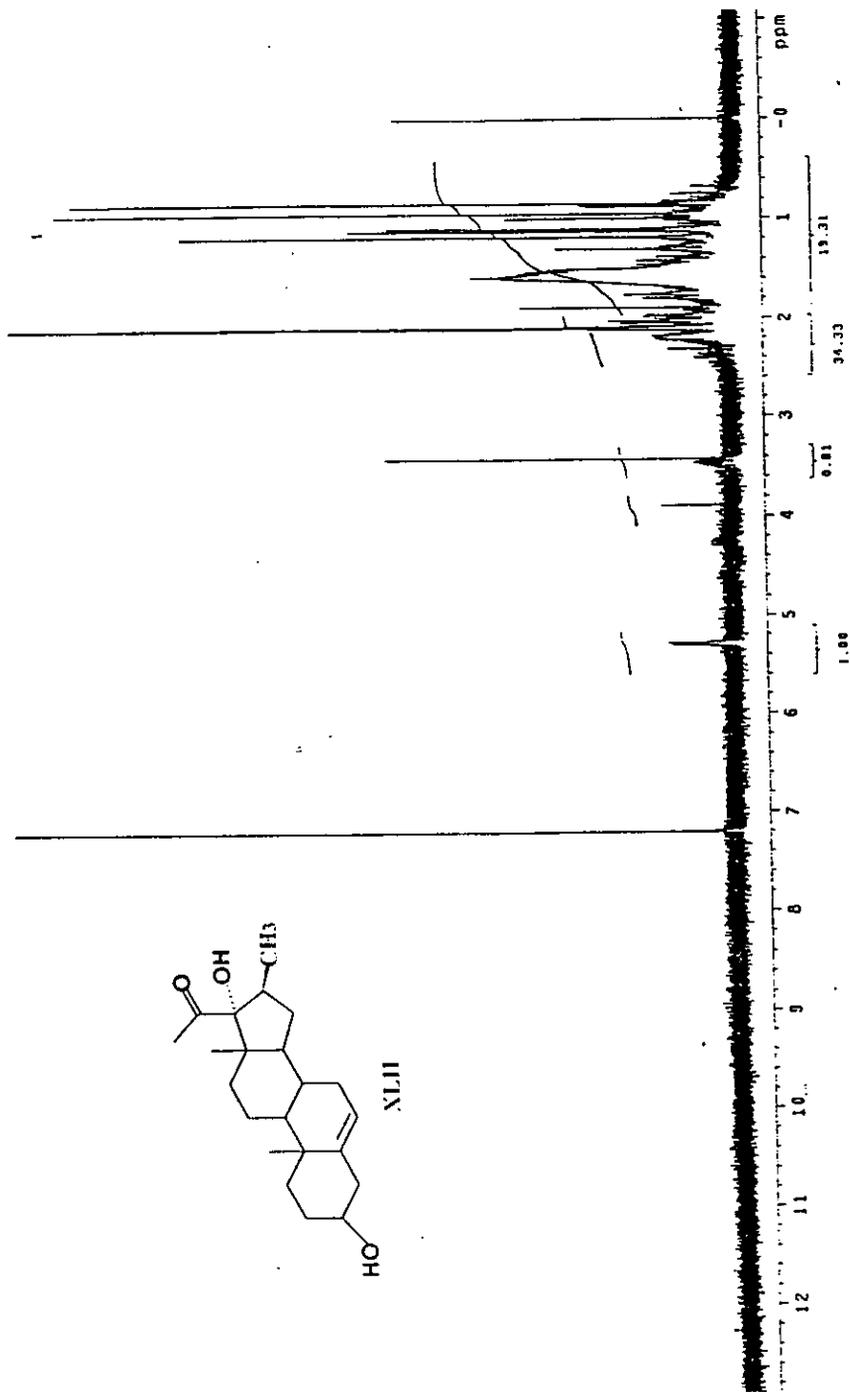
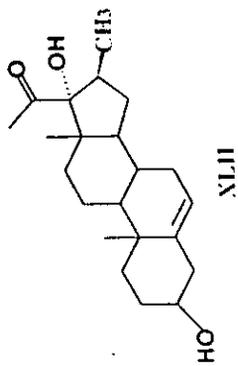


Figura 22. Espectro de RMN ^1H de 3β , 17α -dihidroxi-16 β -metil-5-pregnen-20-ona. XLII.

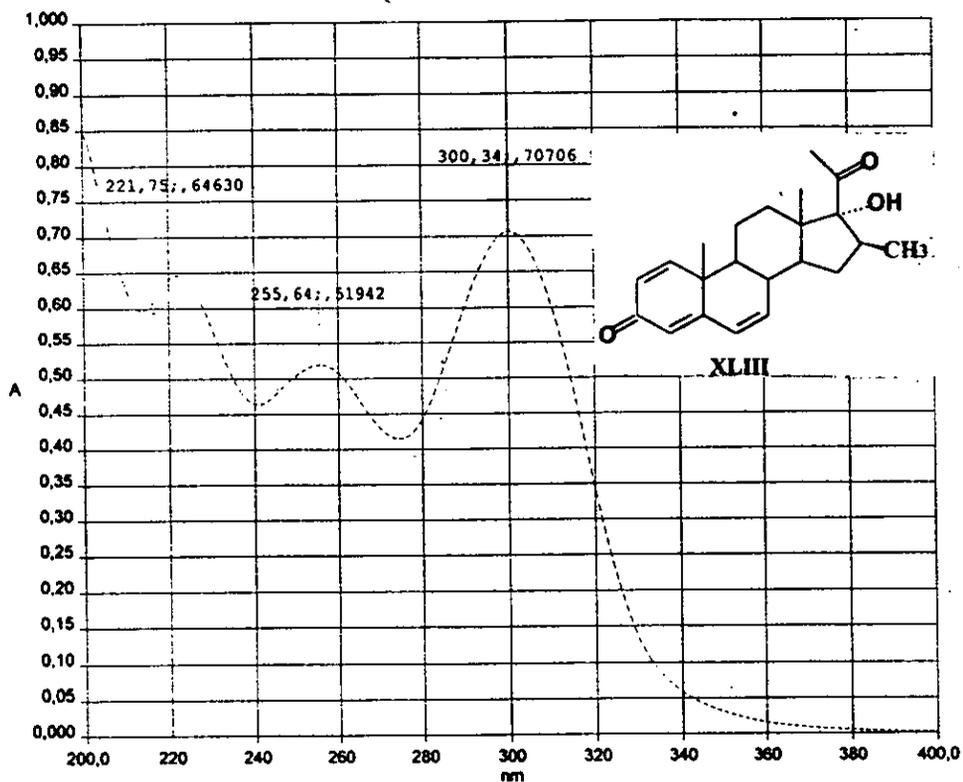


Figura 23. Espectro de UV de 16 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIII.

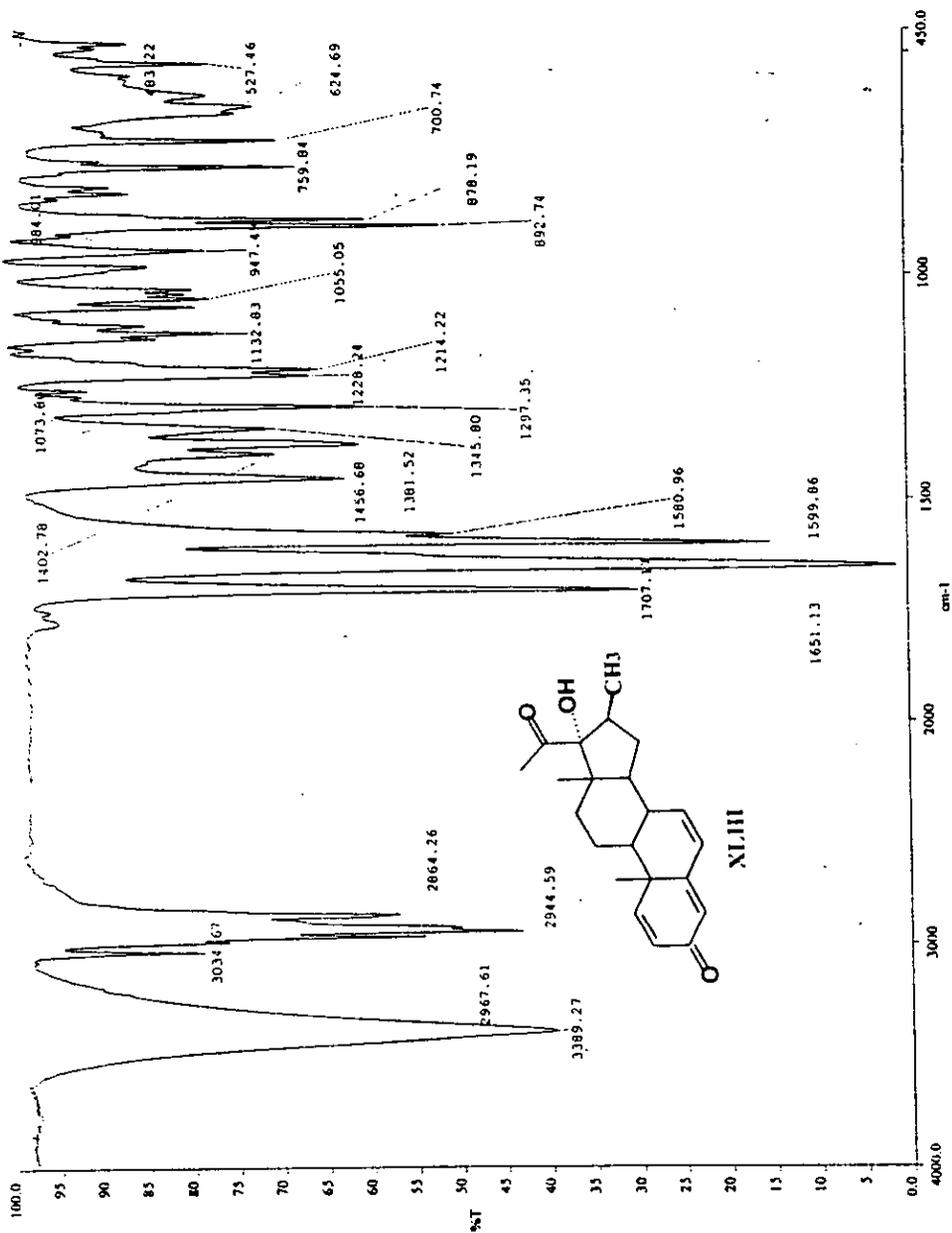


Figura 24. Espectro de IR de 17α-hidroxi-16β-metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIII.

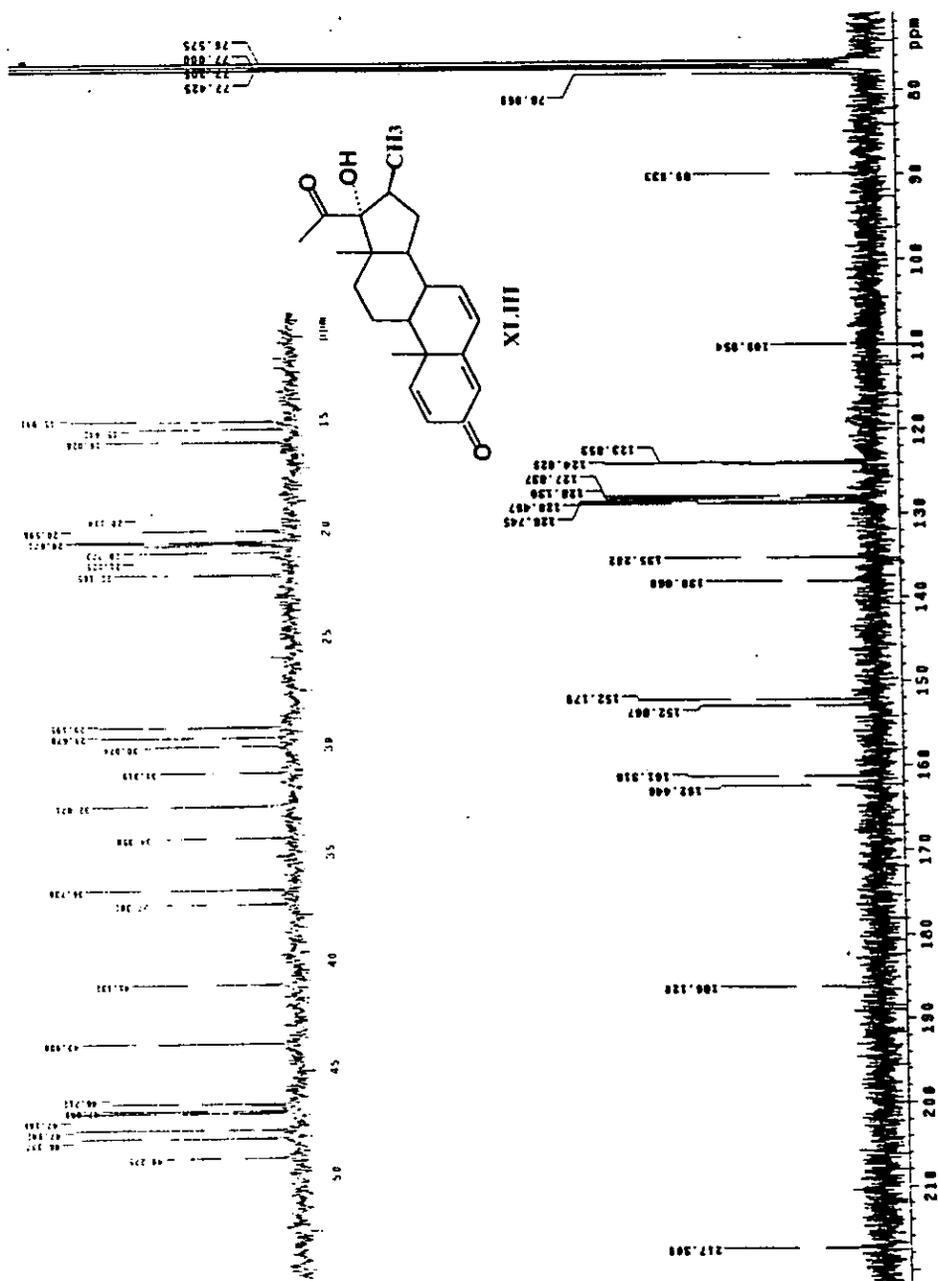


Figura 26. Espectro de RMN ¹³C de 17 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XI.III.

Date: 06/11/98 20:28:53

C:\GCO\DATA\07912_1

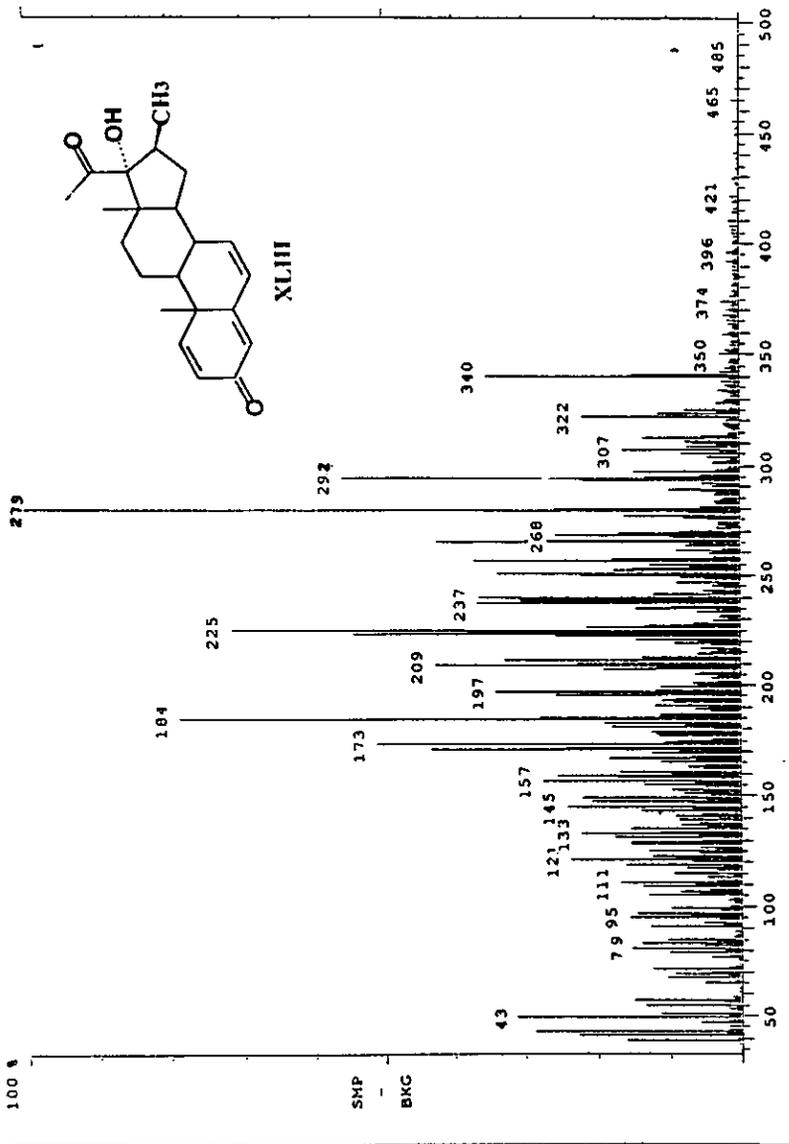
Background Subtract

Comment: USAI, FQ, UNAM. Ins. directa (DEP). Meta.: TM-1

Average of: 30 to 34 Minus: 56 to 60

100%

100% = 169852



Defier June 11th, 1998 8:43pm OCG Data System, Fincleyer 1M7

Figura 27. Espectro de EMIE de 17 α -hidroxi-16 β -meil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIII.

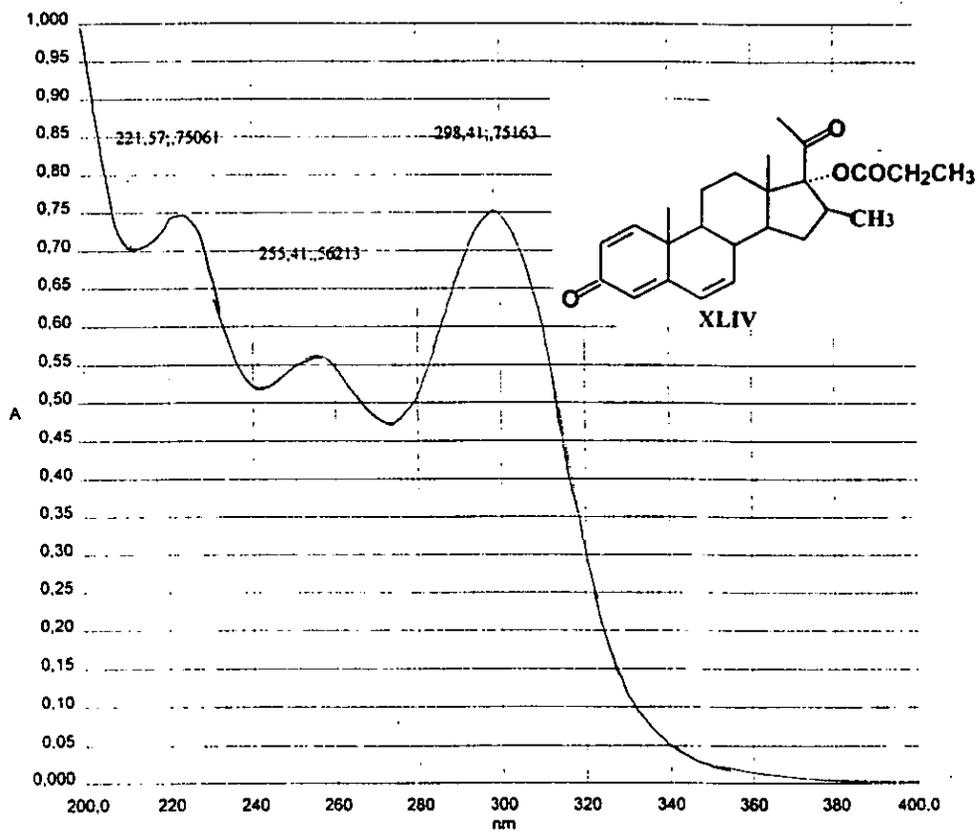


Figura 28. Espectro de UV de 16 β -metil-17 α -propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

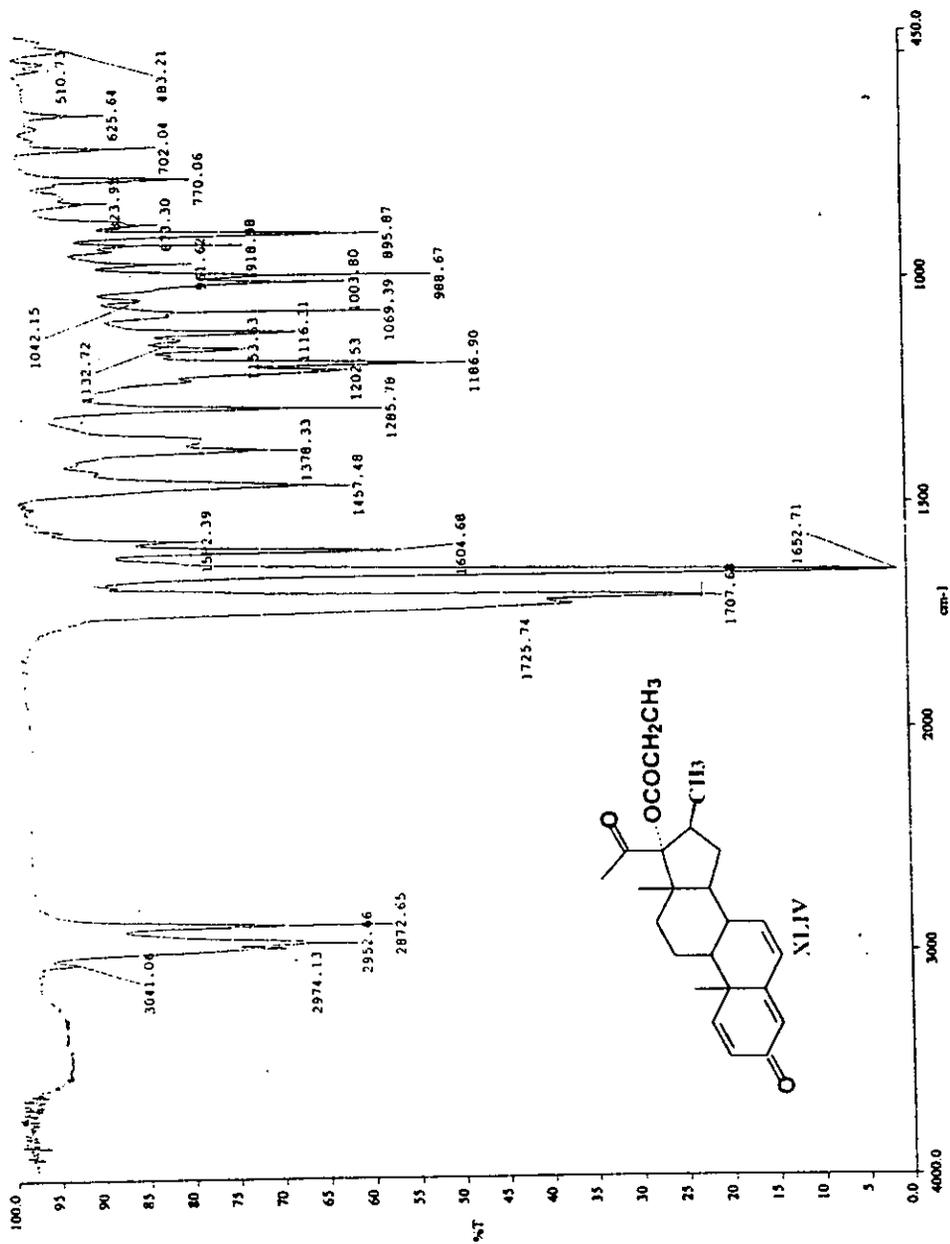


Figura 29. Espectro de IR de 16β-metil-17α-propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

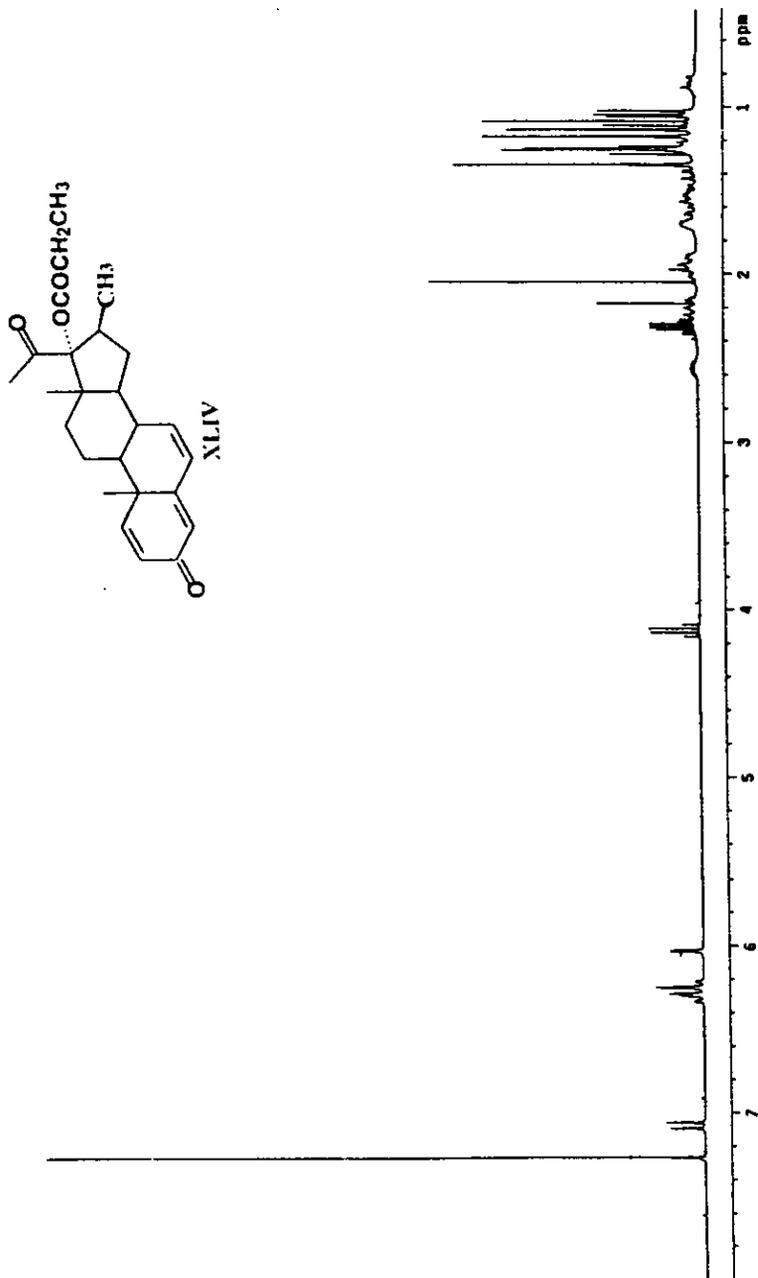


Figura 30. Espectro de RMN ¹H de 16β-metil-17α-propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

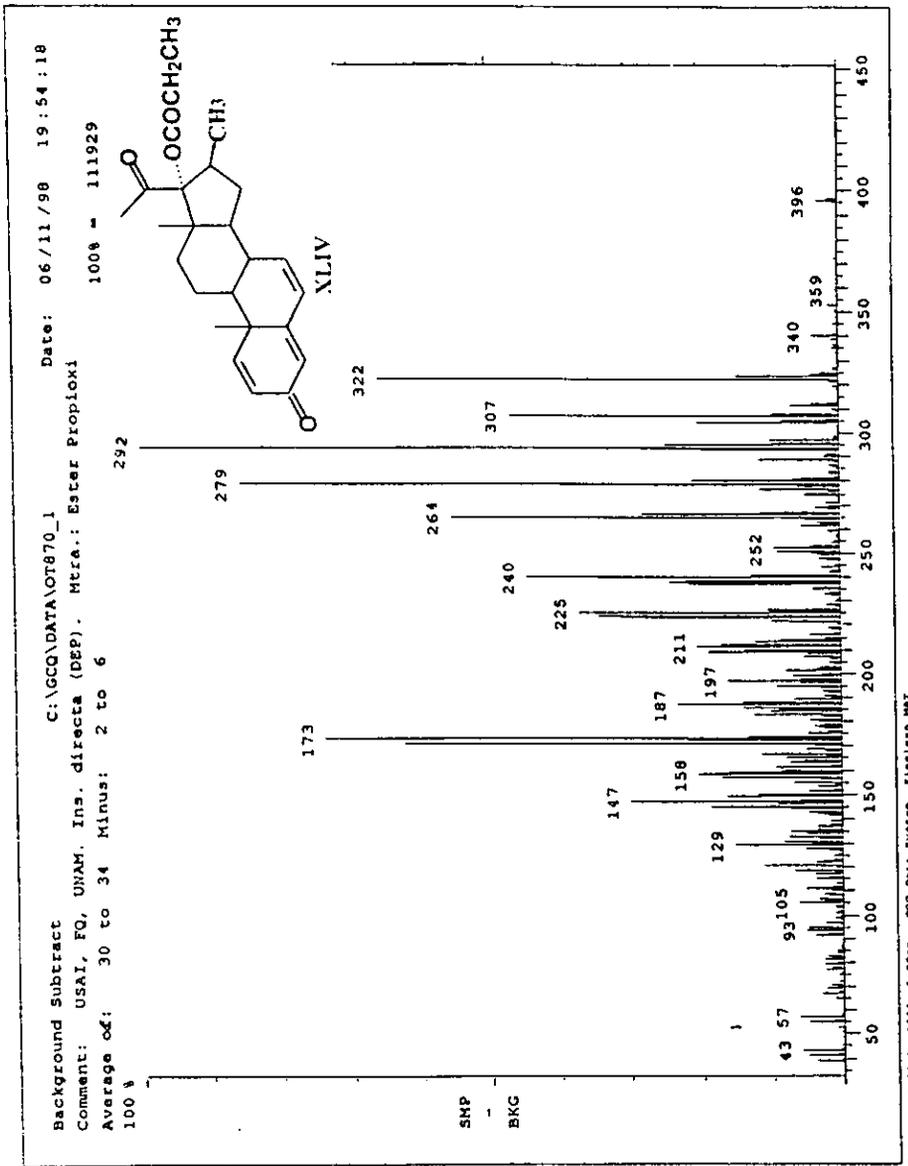


Figura 32. Espectro de EMIE de 16β-metil-17α-propioxi-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona. XLIV.

8. ABREVIACIONES.

Ab. rel.	Absorbancia relativa
AcOEt	Acetato de etilo
ApTS	Acido p-Toluensulfónico
°C	Grados centígrados
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
(CF ₃ CO) ₂	Anhidrido trifluoroacético
CHCl ₃	Cloroformo
(CH ₃ CO) ₂	Anhidrido acético
CH ₃ CH ₂ COOH	Acido propiónico
CoCl ₂	Cloruro de cobalto
CuI	Yoduro de cobre
CH ₃ MgBr	Bromuro de metil magnesio
(CH ₂ CH ₂ O) ₂	Dioxano
d	Señal doble en RMN ¹ H
DDQ	Dicloro diciano benzoquinona
DMSO	Dimetil sulfóxido
DPA	Acetato de 16-dehidropregnenolona
EMIE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
ENEP	Escuela Nacional de Estudios Profesionales
FSH	Hormona Estimulante del Folículo
g	Gramos
GnRH	Hormona Liberadora de Gonadotropina
h	Horas
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HLG	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
HLHL	Hormona Liberadora de Hormona Luteinizante
IR	Espectrometría de Absorción al Infrarrojo
KCl	Cloruro de potasio
L	Litros
λ max.	Longitud de onda de máxima absorción
LH	Hormona Luteinizante
μM	Micromolar
μg	Microgramos
M ⁺	Ion Molecular
M	Molar
mM	Milimolar
m	Señal múltiple en RMN ¹ H
mg	Miligramos
ml	Mililitros

m/z	Relación masa/carga
N	Normalidad
NADPH	Nicotin Adenin Dinucleótido Fosfato en su forma reducida
NADP ⁺	Nicotin Adenin Dinucleótido Fosfato en su forma oxidada
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amonio
NaOH	Hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄ anh.	Sulfato de sodio anhidro
pb	Pico base
ppm	Partes por millón
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
s	Señal simple en RMN ¹ H
SiO ₂	Oxido de silicio (Silice)
t	Señal triple en RMN ¹ H
T amb.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidro furano
TMS	Tetra metil silano
UV	Espectrofotometría de Absorción al Ultravioleta
uma	Unidad de Masa Atómica

9. BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Catalona, W.J., and Scott, W.W.: Carcinoma of the prostate. In Walsh, P.C., et al. (eds): Campbell's Urology. Fifth edition. Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.1463. 1986.
- 2.- Silverberg, E., and Lubera, J.: Cancer statistics. 39:3, 1989.
- 3.- Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar y Stanley L. Robbins.: Patología Estructural y Funcional. 4a. edición., Vol II., Edit. Interamericana. McGraw-Hill. Madrid. pp. 1173-1176. 1990.
- 4.- Hoocker, C.W. Reproduction in the male. In Ruch, T.C. and Patton, H. D. Physiology and Biophysics. 19th Ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia. p. 1205. 1965.
- 5.- Bratoeff E., Flores G., Ramírez E. y Valencia N. The pharmacology of the antiandrogens. *Chimica. OGGI. Italia.* pp. 67-69. 1997.
- 6.- Huggins, C., and Hodges, C.V.: Studies of prostatic cancer. The effect of castration, of estrogen, and of androgen injections on serum phosphatase in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.* 1:203. 1941.
- 7.- Wilson, J.D.: The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Am. J. Med.* 68: 745. 1980.
- 8.- Litter M. *Farmacología Experimental y Clínica.* 6a edición. Edit. "El Ateneo". Argentina. pp. 1218-1233. 1980.
- 9.- Brian W. Metcalf, Mark A. Levy and Dennis A. Holt. Inhibitors of steroid 5 α -reductase in benign prostatic hyperplasia, male pattern baldness and acne. *Science*, 10. pp. 492-495. 1989.
- 10.- Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 9a. edición, Vol. II. Edit. McGraw-Hill-Interamericana. México. pp. 1531-1546. 199
- 11.- Bratoeff E., Flores G., Ramírez E., Flores C., Calderón D., et al. Síntesis de Nuevos inhibidores de 5 α -reductasa. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* Vol. 28. N°6. México. pp. 13-19. 1997.
- 12.- Ervin E. Jones. Androgenic Effects of Oral Contraceptives Implications for Patient Compliance. *The American Journal of Medicine.* Vol. 98. pp. 116-119. 1996.

- 13.- Valencia, N., Síntesis de derivados del pregnano con un grupo fenilo en configuración β -en C-16 como antiandrógenos potenciales para el tratamiento del cáncer de prostata. Tesis de Maestría de la Facultad de Química UNAM. 1997.
- 14.- Martínez, A., 17-alfa-hidroxi-16-beta-metil-4,6-pregnadien-3,20-diona como un intermediario en la síntesis de andrógenos. Tesis de Licenciatura de la Facultad de Química UNAM. 1997.
- 15.- Holum, J.R., Principios de Fisicoquímica, Química Orgánica y Bioquímica. Edit. Limusa. México. pp. 511-515. 1996.
- 16.- Orten, J.M. y Neuhaus, O.W. Bioquímica Humana. 10a. edición, Edit. Médica Panamericana, Argentina. pp. 644-648. 1984.
- 17.- Fieser, L.F. and Fieser, M. Steroids. Reinhold Publishing Corporation, New York. 1959.
- 18.- Klyne, W. Química de los Esteroides. Trad. Cast. Compañía. Edit. Continental, México. 1970.
- 19.- Keele, C.A. and Neil, E. Samson Wright's Applied Physiology. 11th Ed. Oxford University Press, London. 1965.
- 20.- Paulsen, C.A. The testes. In Williams, R.H. Textbook of Endocrinology. 5th Ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia, p. 323. 1974.
- 21.- Carter, A.C., Cohen, E.J. and Shorr, E. The use of androgens in women. In Harris, R.S. and Thimann, K.V. Vitamins and Hormones. Academic Press, Inc., New York. pp. 5,317. 1947.
- 22.- Adair, F.E., Mellors, R.G., Farrow, J.H., et al. The use of estrogens and androgens in advanced mammary cancer. Clinical and laboratory study on hundred and five female patients. J.A.M.A. pp.140,1193. 1949.
- 23.- Lewinson, E.F., Trimble, F.H. and Ganelin, R.S. Advanced mammary cancer treated with sex hormones. J.A.M.A. pp. 162,1429. 1956.
- 24.- Schwarting, G. and Neth, R. Uber anabole Wirkstoffe. Klinische and Stoffchseluntersuchungen mit einem neuen anabol wikenwen Steroid. Schweiz. Med. Wchnschr. pp. 90,1092. 1960.

- 25.- Sach, B.A. and Wolfman, L. Effect of oxandrolone on plasma lipids and lipoproteins of patients with disorders of lipids metabolism. *Metabolism*. pp. 17,400. 1968.
- 26.- Albright, F. The effect of hormones on osteogenesis in man. In Pincus, G. *Recent Progress in Hormone Research*. Academic Press Inc., New York. pp. 1,293. 1947.
- 27.- Wilson, J.D. Recent studies on the mechanism of action of testosterone. *New England J. Med.* pp. 287,1284. 1972.
- 28.- O'Malley, B.W. Mechanism of action of steroid hormones. *New England J. Med.* pp. 284,370. 1971.
- 29.- Goldstein, A., y col. *Farmacología*. Edit. Limusa, México. pp. 79-83. 1979.
- 30.- Kochakian, C.D., Arimasa, N., The metabolism in Vitro of Anabolic-Androgenic Steroids by Mammalian Tissues. *Handb. Exp. Pharmacol.* 43, 287-359. 1997.
- 31.- Smith, J.A., Jr.: New Methods of endocrine management of prostatic cancer. *J. Urol.* 137:1. 1987.
- 32.- Waxman, J., Pandha, H., y col. Antiandrogens in treatment of prostate cancer. *The Lancet*. Vol. 346. 1955., pp. 1030-1031.
- 33.- Berry, S.J. et al.: The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J. Urol.* 132:474,1984.
- 34.- Calderón, D., Labra, N., Hernández, J.L., Bratoeff, E., y Ramírez, E. Evaluación Farmacológica de dos nuevos fármacos esteroidales sintéticos, con posible actividad antiandrogénica. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* Vol. 28. Nº 2. México. pp. 13-16. 1997.
- 35.- Calderón, D., Labra, N., Hernández, J.L., Barragán, G., Bratoeff, E., y Ramírez E., Antiandrógenos más usuales. Reflexiones sobre la síntesis orgánica. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* Vol. 28. Nº1. México. pp. 24-29. 1997
- 36.- Bratoeff, E., Trejo, A., Hernández, J.L., Sánchez, P. Síntesis de derivados del pregnano con un grupo metilo en posición 16. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* Vol. 22. Nº 6. pp. 14-18. 1992
- 37.- Marker, R., Tsukamoto, T. and Turner, L., Sterols C. Diosgenin. *J. Am. Chem. Soc.* 62: 2525-2530. 1940.
- 38.- Shapiro E., L., Weber L., Harris H., Synthesis and biological activity of 17-esters of 6-dehydro-16-methylene-17a-hydroxyprogesterones. *J. Med. Chem.* 15: 716-720. 1972.

- 39.- Loken B., Kaufman B., Rosenkraz S., Sondheimer G., Steroids LXXVII: Synthesis and reactions of 16 β -oxygenated pregna-20-one derivatives. J. Am. Chem. Soc. 78: 1738-1744. 1956.
- 40.- Julian P, Meyer E., Ryden I., Sterols 17 α -hidroxiprogesterone. J. Am. Chem. Soc. 72: 367-370. 1950.
- 41.- Glatz B., Helmchen G., A total synthesis and structural aspects of racemic 8-oxygenated tetracyclines. J. Am. Chem. Soc. 101: 2171-2176. 1979.
- 42.- Hernández García E. "Síntesis de 17 α -hidroxi-16 β -metil-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona, como un antiandrógeno nuevo". Tesis de Licenciatura de la Facultad de Química. UNAM. 1996.
- 43.- Flores Rodríguez G. "Síntesis de 17 α -butiroxi-6-bromo-1,4,6-pregnatrien-3,20-diona". Tesis de Licenciatura de la Facultad de Química. UNAM. 1992.
- 44.- Bradford M., "A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein-dye binding". Ann Biochem., 72: 248-254. 1976.
- 45.- Passoneou J. Et al., Enzymatic analysis. A practical guide, Edit. Humana Press. 1993.
- 46.- Morris, J., Hughes, L., Glen, A. y Taylor, P. Non-steroidal antiandrogens. Design of novel compounds based on an infrared study of the dominant conformation and hydrogen-bonding properties of a series of anilide antiandrogens. J. Med. Chem., 34:447-452. 1991.
- 47.- Elil, C. Ketoconazole binds to the human androgen receptor. Horm. Metab. Res., 24:367-370. 1992.
- 48.- Petrow, V., Wang, Y., y Lack, L. Prostatic cancer, 1,6-methylene-4-pregnen-3-one as irreversible inhibitors of rat prostatic delta-4-3-Ketosteroid 5 α -reductase. Steroids., 38:121-126. 1987.
- 49.- Traish, A., Muller, R. y Wotiz, H. Interaction of cyproterone acetate with rats prostatic androgen receptors. Steroids., 45:247-262. 1985.
- 50.- Bull, H., García, M. y Anderson, S. Mechanism based inhibition of human steroid 5 α -reductase by finasteride. J. Am. Chem. Soc., 118:2359-2365. 1996.