

00524
125



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DERIVADOS DE LA PROGESTERONA COMO
ANTIANDROGENOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

ALEJANDRO OROZCO CHAVEZ



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

2003

A



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.

PAGINACION

DISCONTINUA

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: GUADALUPE MERCADO RAMIREZ

VOCAL: EUGENE ATHANAS BRATOEFF TITEFF

SECRETARIO: RUBEN TRINIDAD SANCHEZ OBREGON

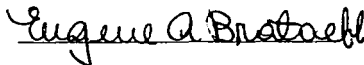
1^{ER} SUPLENTE: BENJAMIN RUIZ LOYOLA

2^{DO} SUPLENTE: VERONICA TEJEDA GONZALEZ

Sitio donde se desarrolló el tema:

**DEPARTAMENTO DE FARMACIA, EDIFICIO E, LABORATORIO 125,
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM**

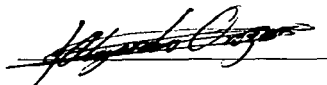
Asesor:
Dr. Eugene A. Bratoeff Titeff



Supervisor Técnico:
Dra. Elena Ramírez



Sustentante:
Alejandro Orozco Chávez



La parte química del presente trabajo se realizó en el Laboratorio L-125 del Conjunto "E" de la Facultad de Química UNAM.

La evaluación biológica del presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Hormonas (G-006) del Departamento de Sistemas Biológicos de la Universidad Autónoma Metropolitana campus Xochimilco, bajo la supervisión de la Dra. Marisa Cabeza.

AGRADECIMIENTOS:

- Al Dr. Eugene Bratoeff T. por su apoyo incondicional y su gran calidad humana mostradas para la realización de este proyecto de investigación.
- Con mucho cariño a la Dra. Elena Ramírez, por el apoyo académico brindado y por ser una gran compañera y amiga.
- A la Dra. Marisa Cabeza por su apoyo y dedicación en la realización de las pruebas biológicas.
- A todos mis compañeros y amigos del laboratorio 125 del Conjunto E de la Facultad de Química UNAM, por su amistad, compañerismo y ayuda desinteresada, en especial a Norma Valencia y a Alex.
- Al *USAI* por el registro de los espectros de UV, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y EMIE.
- Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)* que gracias al programa G-33450-M de becas me brindó el apoyo económico para la realización de este trabajo.
- A la *Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA)* que mediante el programa de becas y al proyecto IN200301 otorgó el financiamiento para la realización de este trabajo de investigación.

Con mucho cariño dedico este trabajo a mis padres que me han apoyado durante todo este tiempo.

"Gracias por ayudarme a encontrar mi camino"

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.	4
2. ANTECEDENTES.	8
2.1. Esteroides.	8
2.1.1. Clasificación de los esteroides.	8
2.1.2. Efectos fisiológicos de los esteroides.	8
2.2. Andrógenos.	8
2.3. Síntesis y biogénesis de la Testosterona.	11
2.4. La enzima 5 α -reductasa y la transformación de T a DHT.	12
2.5. La próstata.	13
2.6. HPB y el cáncer de la próstata.	14
2.6.1. Diagnóstico.	15
2.6.2. Tratamiento.	16
2.7. Antiandrógenos.	16
2.7.1. Acción Biológica.	17
2.7.1.1. Inhibidores de la síntesis de Andrógenos.	17
2.7.1.2. Inhibidores de la enzima 5 α -reductasa.	18
2.7.1.3. Antagonistas de los receptores androgénicos.	18
2.7.2. Clasificación química de los Antiandrógenos.	18
2.7.3. Características para su uso terapéutico.	20
2.7.4. Síntesis de Antiandrógenos.	21
3. OBJETIVOS.	22
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	23
4.1. Etapa 1: Síntesis y caracterización de los compuestos.	23
4.1.1. Purificación y caracterización de la materia prima (AO-1): Acetato de 16-dehidropregnenolona o 3 β -Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona.	26
4.1.2. Síntesis de (AO-2): 3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona.	26
4.1.3. Síntesis de (AO-3): 3-Acetoxi-5-hidroxi-6-oxo-pregn-16-en-20-ona.	28
4.1.4. Síntesis de (AO-4): 3-Acetoxi-6-oxo-pregn-16-en-20-ona.	29
4.1.5. Síntesis de (AO-5): 3-Hidroxi-6-oxo-pregn-16-en-20-ona.	31
4.1.6. Síntesis de (AO-6): 3-p-Fluorobenzoiloxi-6-oxo-pregn-4,16-dien-20-ona.	32
4.1.7. Síntesis de (AO-7): 3-p-Bromobenzoiloxi-6-oxo-pregn-4,16-dien-20-ona.	33
4.2. Etapa 2: Evaluación biológica de la actividad antiandrógena.	35
4.2.1. Experimentos <i>in vivo</i> : Efecto de los compuestos AO-5, AO-6 y AO-7 sobre próstata de hámster.	36

4.2.2. Experimentos <i>in vitro</i> : Inhibición de la actividad de la enzima 5 α -reductasa presente en fracción microsomal de la próstata de hámster a pH= 7,0.	37
4.2.2.1. Obtención de la fracción microsomal de próstata y citosol de vesícula seminal de hámster.	37
4.2.3. Determinación de la unión a receptores en citosol de vesícula seminal.	38
5. RESULTADOS.	39
5.1. Resultados obtenidos en la parte química.	39
5.2. Resultados obtenidos en la parte biológica.	48
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	51
6.1. Discusión de la Síntesis de los Compuestos.	51
6.2. Discusión de los Ensayos Biológicos.	61
7. CONCLUSIONES.	63
8. ABREVIATURAS.	64
9. BIBLIOGRAFÍA.	65
10. APÉNDICE.	67

ESPECTROS

3 β -Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).	
Espectro 1. UV.	67
Espectro 2. IR.	67
Espectro 3. RMN ¹ H.	68
Espectro 4. RMN ¹³ C.	68
Espectro 5. RMN ¹³ C en versión DEPT.	69
Espectro 6. EMIE.	70
3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2).	
Espectro 7. UV.	70
Espectro 8. IR.	71
Espectro 9. RMN ¹ H.	71
Espectro 10. RMN ¹³ C.	72
Espectro 11. RMN ¹³ C en versión DEPT.	72
Espectro 12. EMIE.	73
3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).	
Espectro 13. UV.	73
Espectro 14. IR.	74
Espectro 15. RMN ¹ H.	74
Espectro 16. RMN ¹³ C.	75
Espectro 17. RMN ¹³ C en versión DEPT.	75
Espectro 18. EMIE.	77

3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).	
Espectro 19. UV.	77
Espectro 20. IR.	78
Espectro 21. RMN ¹ H.	78
Espectro 22. RMN ¹³ C.	79
Espectro 23. RMN ¹³ C en versión DEPT.	79
Espectro 24. EMIE.	81
3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5).	
Espectro 25. UV.	81
Espectro 26. IR.	82
Espectro 27. RMN ¹ H.	82
Espectro 28. RMN ¹³ C.	83
Espectro 29. RMN ¹³ C en versión DEPT.	83
Espectro 30. EMIE.	85
3-(p-Fluorobenzoiloxi) pregna-4,16-dien-6,20-ona (AO-6).	
Espectro 31. UV.	85
Espectro 32. IR.	86
Espectro 33. RMN ¹ H.	86
Espectro 34. RMN ¹³ C.	87
Espectro 35. RMN ¹³ C en versión DEPT.	87
Espectro 36. EMIE.	89
3-(p-Bromobenzoiloxi) pregna-4,16-dien-6,20-ona (AO-7).	
Espectro 37. UV.	89
Espectro 38. IR.	90
Espectro 39. RMN ¹ H.	90
Espectro 40. RMN ¹³ C.	91
Espectro 41. RMN ¹³ C en versión DEPT.	91
Espectro 42. EMIE.	93

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata y la hiperplasia prostática benigna o hiperplasia nodular (HPB) son enfermedades muy comunes en los hombres con edad promedio de 55 años, debido a que la próstata es un órgano susceptible de sufrir aumento de tamaño. Además de estar relacionado con tumores benignos o malignos y con enfermedades de tipo infeccioso.

Este órgano está localizado en la pelvis debajo de la vejiga rodeando la porción superior de la uretra, por tal razón, cualquier trastorno ocurrido a la próstata puede obstruir el flujo de orina, causando que la micción se torne difícil y dolorosa, provocando alteraciones graves en la vejiga, los uréteres y los riñones.

El agrandamiento de la próstata es un trastorno que presenta uno de cada tres individuos de más de 60 años de edad, en los que el órgano incrementa su tamaño de dos o cuatro veces en relación al tamaño normal^{1,2}.

El cáncer de próstata es la segunda neoplasia más frecuente diagnosticada (seguida por el cáncer de piel), y es la segunda causa de muerte por cáncer en la población masculina. Este mal 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, se forma un tumor benigno. Si el tumor invade tanto los tejidos vecinos como los que se encuentran a distancia (metástasis) entonces se forma un tumor maligno o cáncer.

La HPB se caracteriza por la formación de voluminosos nódulos bien delimitados en la región periuretral de la próstata, cuando alcanzan el tamaño suficiente, los nódulos comprimen y estrechan el conducto uretral, causando una obstrucción parcial o casi completa de la uretra³.

La hiperplasia prostática benigna, el cáncer de próstata y la alopecia androgénica, entre otros padecimientos, están relacionados con una serie de factores etiológicos en común como la raza, la edad, factores ambientales, la dieta y otros factores como la predisposición genética. Sin embargo, el factor más importante es un exceso de andrógenos en el organismo^{1,3}.

Los andrógenos son una clase de hormonas esteroidales responsables de regular la fisiología sexual en el varón, promoviendo y manteniendo las características sexuales primarias y secundarias. El andrógeno predominante en la circulación sanguínea es la testosterona (T), (fig. 1). Sin embargo, el andrógeno activo intracelular no es T, sino su metabolito 5 α -dihidrotestosterona (5 α -DHT)⁴, (fig. 1), por lo que al disminuir la concentración de éste, se puede ayudar considerablemente a controlar la evolución de cáncer y/o el desarrollo de la hiperplasia prostática benigna (HPB).

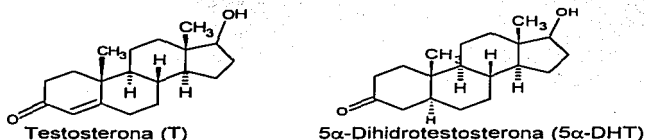


Figura 1

Los tratamientos actuales para el control de estos padecimientos incluyen la cirugía y la radiación, empleados principalmente para eliminar el cáncer local. También, la terapia hormonal empieza a utilizarse más ampliamente, principalmente en hombres con cáncer de próstata metastásico. Sin embargo, estos tratamientos presentan efectos secundarios importantes como incontinencia, lesión intestinal, impotencia sexual, así como efectos propios de la radiación⁵.

Es por esta razón, que surgen nuevas estrategias terapéuticas para buscar compuestos sintéticos que sean capaces de actuar sobre los receptores andrógenicos. Hoy en día muchos de estos compuestos se utilizan como fármacos en el tratamiento de varias enfermedades provocadas por andrógenos como el acné, seborrea, alopecia androgénica, pubertad precoz, así como del cáncer de próstata y la HPB⁶.

Con base en lo anterior, la inhibición de la síntesis de los metabolitos activos de los andrógenos, constituye una opción en el tratamiento de la HPB y del cáncer de próstata.

En la actualidad se dispone de compuestos sintéticos para inhibir la acción androgénica de la T y de la DHT. Uno de ellos es el acetato de ciproterona, fármaco con actividad antigonadotrópica y antiandrogénica periférica, que se utiliza comercialmente para el tratamiento de cáncer de próstata en el ser humano, ya que inhibe la interacción de la DHT con sus receptores androgénicos. Existe otro esteroide que ha sido ampliamente utilizado para el hombre con HPB, la finasterida (fig. 2), (cuyo nombre comercial es el Proscar), fármaco que inhibe la actividad de la enzima 5 α -reductasa tipo 2, presente en la glándula prostática⁷.

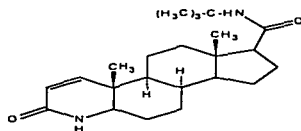


Figura 2. Finasterida.

El análisis de la relación estructura-actividad biológica (REA) de los antiandrogénos esteroidales como el acetato de ciproterona (fig.3) y sus derivados, ha concluido que su actividad se debe a la estructura casi plana de la molécula, conferida por la presencia del metileno en C-1 y C-2 y a las insaturaciones entre los C-4 y C-5, C-6 y C-7; a un grupo electronegativo en C-6; y al grupo α -acetoxi en C-17, así como a los grupos cetónicos en C-3 y C-20⁸.

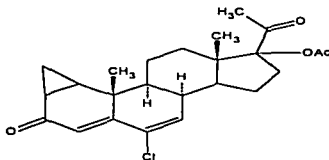


Figura 3. Acetato de Ciproterona.

Tomando en consideración algunas de las características anteriores obtenidas del análisis de REA, se propuso desarrollar la síntesis de compuestos derivados de la progesterona, con un grupo éster en C-3 y una doble ligadura en C-4 conjugada con un grupo carbonilo en C-6, como antiandrógenos.

Para obtener los compuestos de interés se siguió una ruta de síntesis en 5 pasos, empleando como materia prima el acetato de 16-dehidropregnenolona(AO-1).

Los compuestos obtenidos se evaluaron farmacológicamente a través de un ensayo biológico en próstata de hámster *in vivo* y dos pruebas más *in vitro*; inhibición de la enzima 5 α -reductasa y unión a receptores en citosol de vesícula seminal de hámster, con el fin de determinar su posible actividad antiandrogénica.

Dichos compuestos se caracterizaron por sus propiedades físicas (p.f.) y espectroscópicas (UV, IR, RMN¹H, RMN¹³C y EMIE).

2. ANTECEDENTES

2.1. Esteroides.

Los esteroides son sustancias que contienen en su estructura base el núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno (fig. 4). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, tanto en el reino animal como en el vegetal^{9, 10}.

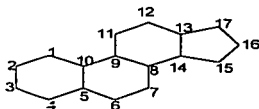


Figura 4. Núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno.

2.1.1. Clasificación de los esteroides.

Los esteroides se clasifican considerando su estructura química. Por lo general se encuentran sustituidos en C-10 y C-13 por grupos metilo, y por un grupo oxhidrilo o carbonilo en C-3. Para nombrarlos se toma en cuenta la cadena que presenta en la posición del carbono C-17 (fig. 5).

Las hormonas esteroidales se agrupan en 5 categorías: progestagenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos.

2.1.2. Efectos fisiológicos de los esteroides.

Los efectos fisiológicos varían de un compuesto a otro y van desde la actividad de vitaminas hasta la de hormonas sexuales. En la Tabla 1 (pág. 10) se presentan algunas hormonas y sus propiedades fisiológicas.

2.2. Andrógenos.

Los andrógenos son una clase de hormonas esteroidales pertenecientes al grupo del androstano y son responsables de regular la fisiología sexual en el varón, promoviendo y manteniendo las características sexuales primarias y secundarias.

Además, poseen actividad anabólica que causa aceleración del crecimiento esquelético, incremento de la masa muscular así como la pérdida de grasa subcutánea.

La Testosterona (T) es el andrógeno predominante en la circulación sanguínea. Sin embargo, su metabolito 5α -dihidrotestosterona (5α -DHT) es el andrógeno endógeno más potente³.

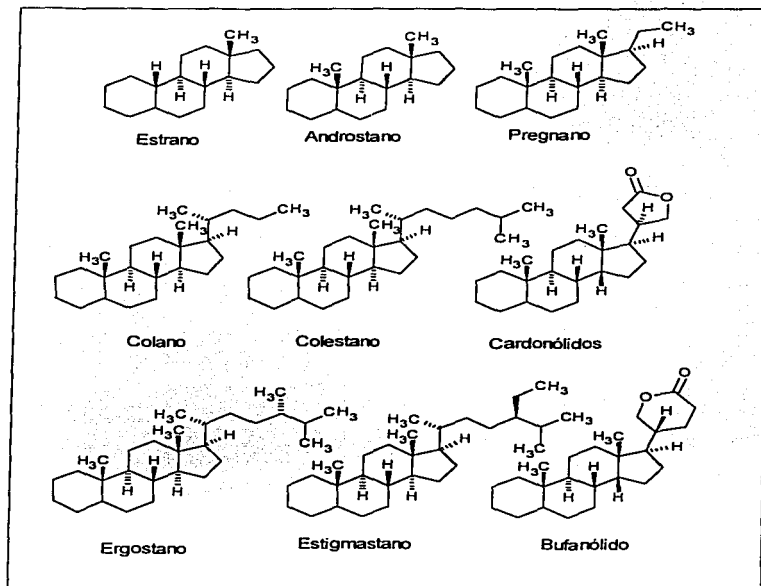
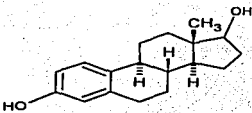
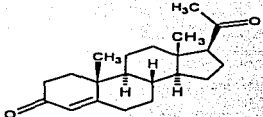
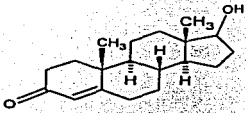
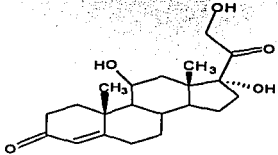
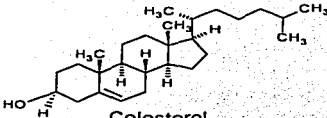
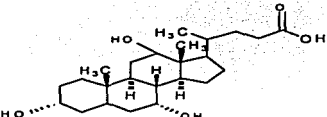


Figura 5. Clasificación de los esteroides.

Los andrógenos son secretados por las células de Leydig, mismas que se encuentran agrupadas en el tejido conectivo entre los tubos seminíferos de los testículos. Otros órganos como el hígado, la próstata y las glándulas suprarrenales contribuyen en forma mínima a la producción de los andrógenos¹.

Tabla 1. Algunas hormonas y sus propiedades fisiológicas.

 <p style="text-align: center;">Estradiol</p>	<p>Hormona estrogénica más importante de la mujer, secretada por los ovarios.</p>
 <p style="text-align: center;">Progesterona</p>	<p>Hormona del embarazo, es secretada por el cuerpo lúteo. Es el progestágeno más abundante; es el precursor de los glucocorticoides, de los mineralocorticoides y de la testosterona.</p>
 <p style="text-align: center;">Testosterona</p>	<p>Hormona sexual masculina, regula la diferenciación sexual, la expresión de las características sexuales secundarias y los modelos de comportamiento sexual.</p>
 <p style="text-align: center;">Cortisol</p>	<p>Posee múltiples funciones metabólicas para el control del metabolismo de las proteínas, de los carbohidratos y de los lípidos y electrolitos; tal como la aldosterona, que es un corticoide.</p>

 <p>Chemical structure of Cholesterol (Colesterol) showing the steroid nucleus with a hydroxyl group at C3, methyl groups at C10 and C13, and a branched hydrocarbon side chain at C17.</p> <p style="text-align: center;">Colesterol</p>	<p>Precursor de las hormonas esteroidales y de los ácidos biliares. Se encuentra en casi todos los tejidos de los vertebrados y es el principal constituyente de los cálculos o piedras biliares.</p>
 <p>Chemical structure of Cholic Acid (Ácido Cólico) showing the steroid nucleus with hydroxyl groups at C3 and C12, methyl groups at C10 and C13, and a branched side chain at C17 ending in a carboxylic acid group.</p> <p style="text-align: center;">Ácido Cólico</p>	<p>Principal ácido biliar sintetizado en el hígado, secretado en forma de conjugado de glicina o de taurina a la vesícula biliar.</p>

2.3. Síntesis y biogénesis de la Testosterona.

La Testosterona (T) es la hormona sexual masculina predominante en circulación y se encuentra relacionada con el desarrollo, crecimiento y conservación de los órganos genitales masculinos^{1,3}. La producción de T en los testículos y su liberación en el organismo se muestran en la figura 6.

El hipotálamo secreta la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) que controla la síntesis y liberación de las hormonas de las gónadas, su nombre específico es Factor de Liberación de la Hormona Luteinizante, el cual, estimula la secreción de la Hormona Estimulante de las Células Intersticiales (HSCI) y la hormona Folículo Estimulante (FSH) en el lóbulo anterior de la hipófisis.

El siguiente paso es la producción de testosterona, en los testículos, bajo la influencia de HSCI y FSH por las células intersticiales de Leydig.

Aproximadamente un 95% de la Testosterona es producida en los testículos y el 5% es liberada en las glándulas suprarrenales.

La biogénesis de testosterona en el organismo se lleva a cabo mediante la degradación enzimática parcial de la cadena lateral del colesterol (C-20) dando lugar a la formación de la pregnenolona y posteriormente la producción de progesterona que es el precursor de la testosterona.

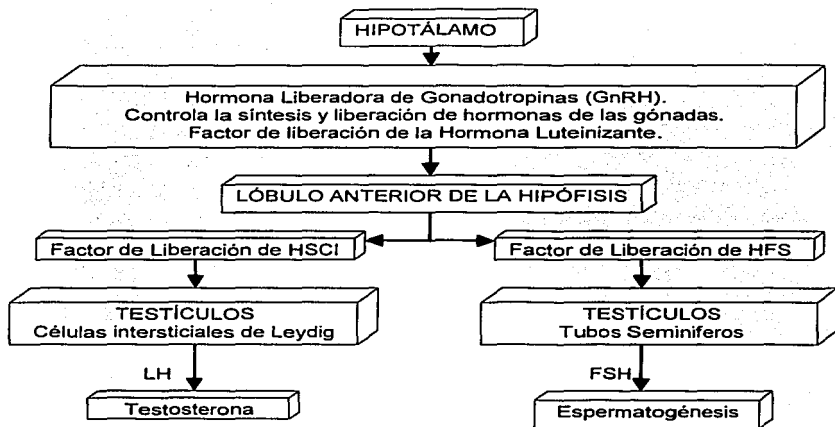


Figura 6. Liberación de Testosterona en el organismo.

2.4. La enzima 5α -reductasa y la transformación de T a DHT.

La Testosterona (T) está considerada como una prohormona y el mecanismo de acción para convertirse de T a Dihidrotestosterona (DHT) es el siguiente: La T entra a la célula blanco, al parecer por difusión pasiva^{11,12}, en el retículo endoplásmico o en la membrana nuclear se lleva a cabo la transformación de la prohormona en DHT, la transformación es biológicamente irreversible y está catalizada por una enzima que se encuentra fija en la membrana, esta enzima es denominada 5α -reductasa, y requiere de NADPH (forma reducida de la Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato) como cofactor para llevar a cabo dicha transformación.

Esta transformación consiste en la reducción estereoespecífica por la adición del hidruro del NADPH a la posición C-5 de T. El enolato formado en C3-C4 se estabiliza por algún residuo electrofílico (E⁺) de la enzima 5α -reductasa.

Posteriormente, por tautomerismo, se regenera el grupo carbonilo formándose así la 5 α -dihidrotestosterona (DHT) y la liberación de NADPH (fig.7) 6,13.

La enzima 5 α -reductasa se encuentra en dos isoformas denominadas Tipo I y Tipo II; las cuales difieren en sus propiedades bioquímicas, tejido de localización y su función ¹⁴.

La isoenzima 5 α -reductasa Tipo I se encuentra predominantemente en la piel no genital y en el hígado, tiene un pH óptimo ligeramente alcalino (pH= 6-8.5), requiere de concentraciones elevadas de T para saturarse (Km= 4 μ M), funcionando de un modo catábólico en la remoción de andrógenos por el hígado y la piel no genital. La isoenzima 5 α -reductasa Tipo II tiene un pH óptimo ácido (pH= 5) y requiere de concentraciones bajas de T para saturarse (Km= 1 μ M). Se encuentra predominantemente en próstata y testículos relacionándose directamente al cáncer de próstata y a la hiperplasia protática benigna; funciona de manera anabólica en la expresión de los andrógenos por la conversión efectiva de T a DHT ^{3,7,15}. También se menciona la relación inversa que presenta la actividad de las dos isoenzimas frente a un mismo tipo de inhibidor, pues mientras un compuesto resulta ser muy activo sobre la isoenzima Tipo II, en la mayoría de los casos es poco activo sobre la isoenzima Tipo I ³.

La unión de DHT a receptores intracelulares específicos forma un complejo hormona receptor¹⁵, que penetra al núcleo celular y se une a la cromatina, se produce entonces una estimulación de la síntesis del ácido ribonucleico (RNA) tanto mensajero como ribosómico; como consecuencia, se produce un aumento de la síntesis proteica y de enzimas intracelulares responsables de las acciones androgénicas⁷.

2.5. La próstata.

La próstata es un órgano que se encuentra debajo de la vejiga y rodeando la uretra. El tamaño normal de la próstata es el de una nuez. Sin embargo, el tamaño puede variar con el tiempo, y en muchos hombres la próstata incrementa

su tamaño conforme avanza la edad, principalmente cuando se llega a la edad de 40 o 50 años.

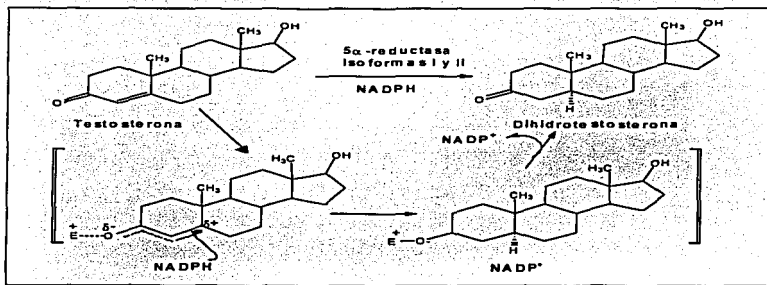


Figura 7. Transformación de T en DHT a través de la enzima 5 α -reductasa.

La próstata tiene dos funciones: La primera consiste en ayudar en el control urinario y la segunda es su participación en la actividad sexual.

En el proceso urinario, la próstata ayuda a controlar la velocidad con la que sale la orina de la vejiga y entra a la uretra.

En su segunda función, se encarga de secretar un líquido en la uretra durante la eyaculación. Esta secreción ayuda a la motilidad del espermatozoides en la uretra y constituye la tercera parte del fluido seminal, dándole a este su apariencia blanquecina¹.

2.6. HPB y el cáncer de la próstata.

La palabra cáncer se utiliza para agrupar aproximadamente 200 enfermedades que se caracterizan por su crecimiento anormal de células, situación que es transmitida a células hijas que se manifiesta por una reducción del control del crecimiento y la función celular^{1,2,16}. Este crecimiento celular sin control puede originar 2 tipos de tumores, los benignos y los malignos, cuyas diferencias se mencionan en la tabla 2¹⁷ (pág. 15).

Cabe resaltar que ambos tumores presentan un crecimiento lento en los cánceres de próstata y pulmón.

Sin embargo, en las demás afecciones por cáncer, el tumor benigno presenta una tasa de crecimiento lenta, a diferencia del tumor maligno, el cual tiene una tasa de crecimiento rápida.

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. Se origina cuando los eventos que regulan el ciclo celular se encuentran alterados por diversos factores, promoviendo un crecimiento inadecuado de la glándula prostática.

La Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) se caracteriza por un agrandamiento anormal de la próstata y la formación de nódulos. Tanto la hiperplasia prostática benigna como el cáncer de próstata tienen características en común como lo es su alta incidencia en la vejez y en ambas se encuentran ligadas a concentraciones altas de andrógenos, respondiendo a terapias que remueven o disminuyen la concentración de estos últimos¹⁰.

Tabla 2. Clasificación de Tumores.

Tumor Benigno	Tumor Maligno
Encapsulado	No encapsulado
No invasivo	Invasivo
Poca división celular	Divisiones celulares comunes
Altamente diferenciados	Poca diferenciación
No hay metástasis	Hay metástasis
Material genético estable	Inestabilidad en el material genético
Poca secreción de proteasas	Alta secreción de proteasas
Requiere factores de crecimiento	No requiere factores de crecimiento

2.6.1. Diagnóstico.

El diagnóstico para el cáncer de la próstata e hiperplasia prostática benigna consiste en detectar por tacto rectal tumores en la glándula prostática. Sin embargo, sólo se identifican tumores no microscópicos².

Otro método de diagnóstico es el del Antígeno Prostático Específico (PSA) en Sangre (80% de sensibilidad), el PSA es una glucoproteína producida por las células epiteliales de la próstata tanto en estado normal como maligno, pero cuando se presenta cáncer su concentración es mayor de 4 ng/mL en sangre.

Actualmente también se utiliza una modificación al método del PSA, que consiste en dividir su concentración entre el volumen de la glándula prostática, determinado por ultrasonografía transrectal. La diagnosis definitiva se realiza a través de una biopsia que nos permite determinar la etapa del padecimiento².

2.6.2. Tratamiento.

Algunos de los métodos disponibles para el tratamiento del cáncer de la próstata y la hiperplasia prostática benigna, son la prostatectomía, la orquiectomía bilateral (extirpación de testículos en donde se utiliza el 95% de la T endógena), tratamientos con láser como el ILC (Interstitial Laser Coagulation), terapias con microondas como TUMT (Transurethral Microwave Therapy of the Prostate) y las terapias hormonales utilizando agonistas androgénicos (agentes esteroidales y no esteroidales), que actúan al reducir o modificar la producción de los andrógenos a través de la inhibición de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante o por la inhibición de la enzima 5 α -reductasa responsable de la conversión de T a DHT, o bien con la competencia antagonista por el receptor androgénico, entre otros métodos. La elección de la terapia es influida por la etapa de la enfermedad en que se encuentre el individuo, así como la edad, condición física y respuesta al tratamiento^{2,18}.

2.7. Antiandrógenos.

Los antiandrógenos son sustancias químicas generalmente esteroides sintéticos o de origen endógeno, que constituyen una amplia gama de fármacos asociados con hiperandrogenismo, previenen la expresión de los andrógenos en su sitio de acción, al bloquear los receptores androgénicos en los órganos blanco, esto debido al carácter antagonista competitivo que tienen frente a los andrógenos para unirse a la misma proteína receptora.

2.7.1.2. Inhibidores de la enzima 5 α -reductasa.

La inhibición de esta enzima, puede ser selectiva al bloquear la acción del andrógeno en un tejido específico (próstata, folículo piloso) en donde es esencial la producción continua de DHT. Un ejemplo de un fármaco que tiene este mecanismo de acción es la finasterida (fig. 2).

2.7.1.3. Antagonistas de los receptores androgénicos.

Existen numerosos fármacos que son antagonistas específicos en la unión del andrógeno con su receptor. Entre ellos está el acetato de ciproterona (fig. 3) y la flutamida (fig. 10).

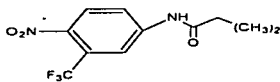
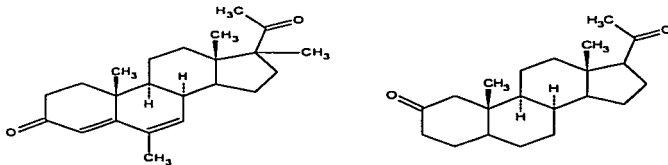


Figura 10. Flutamida.

2.7.2. Clasificación química de los Antiandrógenos.

Los antiandrógenos se clasifican en dos grupos: Esteroidales y No esteroidales.

Los antiandrógenos de tipo esteroidal son compuestos que pueden derivar de la progesterona, como la finasterida (fig. 2) y el acetato de ciproterona (fig.3), la medrogesterona y la A-norprogesterona (fig. 11), y de la testosterona como la metiltestosterona (fig. 12).



Medrogesterona y A-norprogesterona

Figura 11

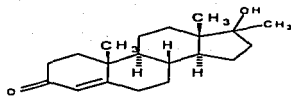


Figura 12. Metiltestosterona.

Sin embargo, existe otro grupo de antiandrógenos, además de los ya mencionados, que no derivan ni de la testosterona ni de la progesterona; como el caso de la espironolactona (fig 9) y la espirixazona (fig. 13), que poseen características similares a la progesterona²¹.

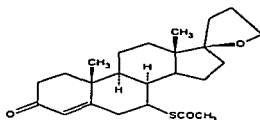
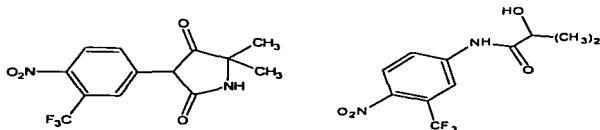


Figura 13. Espirixazona

Los antiandrógenos no esteroidales, tienen afinidad por el receptor debido a su estructura química con geometría semejante y reducen de 25% a 30 % el tamaño de la próstata. Como desventajas presenta la inhibición de la erección e insuficiencia hepática.

Como ejemplos de éstos antiandrógenos tenemos a la flutamida (fig. 10), anandrón y la hidroxiflutamida (fig. 14).



Anandron

Hidroxiflutamida

Figura 14

2.7.3. Características para su uso terapéutico.

Para que un derivado de la progesterona se pueda usar como antiandrógeno debe poseer las siguientes características²²:

- Una baja o nula toxicidad.
- Presentar elevada actividad antiandrogénica.
- Tener baja actividad hormonal.
- No disminuir la libido.

Actualmente, el desarrollo de agentes hormonales antiandrogénicos se ha enfatizado debido a su amplia utilidad en la terapia médica, pues se emplean en el tratamiento de padecimientos andrógeno-dependientes. Existen sustancias como los estrógenos que son antagonistas de los andrógenos, pero no son considerados como antiandrógenos. Estos compuestos, como el dietilestilbestrol (fig. 15), ejercen su acción a nivel gonadotrópico.

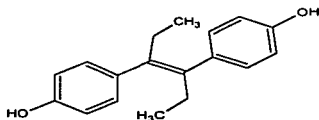


Figura 15. Dietilestilbestrol.

Los antiandrógenos esteroidales son los de mayor interés terapéutico, en especial los derivados de la progesterona, por ser homólogos de los esteroides de origen natural. Sin embargo, y a pesar de su gran importancia en la terapia médica, su uso es restringido debido a los efectos colaterales que generalmente ocasionan, tales como la diarrea, intolerancia al alcohol, efectos hepatotóxicos severos, alteraciones hormonales, fallas cardíacas, retención de líquidos y pérdida del deseo sexual, entre otras^{2,3,15}.

Los efectos nocivos provocados por estos fármacos constituyen un factor que estimula el esfuerzo para buscar nuevas entidades químicas con mayor potencia antiandrogénica y menores efectos colaterales.

La modificación de la molécula de progesterona resulta atractiva para obtener un derivado esteroideal con posible actividad antiandrogénica que presente además baja actividad hormonal, baja toxicidad y no disminuya el deseo sexual^{2,3,9}.

2.7.4. Síntesis de Antiandrógenos.

Se conocen dos métodos para sintetizar un esteroide con características antiandrogénicas⁹.

1. Modificando la molécula de la testosterona, de manera que el compuesto sintetizado interaccione con el receptor sin producir un efecto andrógeno, bloqueando la formación del complejo andrógeno-receptor, de manera que se tenga un efecto antagónico.
2. Modificando la molécula de progesterona que es un antiandrógeno natural, pero debido a su efecto hormonal no puede ser utilizada como tal. Se esperaría que sus análogos sintéticos presenten la misma actividad biológica.

3. OBJETIVOS

Considerando la relación existente entre la estructura química y la actividad biológica de los antiandrógenos de tipo esteroidal, los objetivos del presente trabajo son:

Objetivo General.

- Sintetizar compuestos derivados de la progesterona que presenten actividad antiandrogénica considerable como inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y/o como antagonistas de los receptores androgénicos, con las siguientes características estructurales: un grupo éster en C-3 y una doble ligadura en C-4, conjugada con un grupo carbonilo en C-6.

Objetivos Particulares.

- Sintetizar los compuestos: 3-(p-fluorobenzoiloxi) pregna-4,16-dien-6,20-diona (**AO-6**) y la 3-(p-bromobenzoiloxi) pregna-4,16-dien-6,20-diona (**AO-7**).
- Aislar, purificar y caracterizar mediante sus propiedades físicas (p.f.) y espectroscópicas (UV, IR, RMN¹H, RMN¹³C y EMIE) los intermediarios y productos finales de la ruta sintética.
- Probar la actividad antiandrogénica de los compuestos sintetizados a través de un ensayo biológico *in vivo* sobre próstata de hámster, y dos bioensayos más *in vitro*, inhibición de la enzima 5 α -reductasa y capacidad de unión a receptores en vesícula seminal de hámster.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La parte experimental del presente trabajo se llevó a cabo en dos etapas: química y biológica. En la primera, se realizó la síntesis química y la caracterización física y espectroscópica de los intermediarios (compuestos **AO-1** al **AO-5**) y de los productos finales (compuestos **AO-6** y **AO-7**). En la figura 16 (pág. 25) se muestra la secuencia sintética de este trabajo. En la segunda etapa, se efectuó la evaluación de la actividad antiandrogénica de los compuestos sintetizados, utilizando un sistema *in vivo*, tomándose como parámetro de actividad (respuesta biológica), la capacidad de inhibir el crecimiento de la próstata en hámsters. También se utilizó un sistema *in vitro* en donde se determinó la capacidad de inhibición de la enzima 5 α -reductasa y la capacidad de unión a receptores en tejido de vesícula seminal de hámsters gonadotomizados.

4.1. Etapa 1: Síntesis y Caracterización de los Compuestos.

Los equipos empleados en los diversos estudios fueron: para Espectrofotometría de Absorción de Infrarrojo (IR) un equipo Perkin Elmer 549B; utilizando la técnica de película o pastilla de KBr. En cuanto a la Espectrofotometría de absorción al Ultravioleta (UV) se empleó un equipo Perkin Elmer 200s utilizando metanol como disolvente y para la Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN ^1H) y de Carbono 13 (RMN ^{13}C) equipos Varian, Gemini 200 y VRX-300S, usando CDCl_3 como disolvente; los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al TMS (Tetra Metil Silano) como referencia interna. Para indicar los patrones de acoplamiento se utilizan las siguientes abreviaturas: s= señal simple, d= señal doble, t= señal triple, dd= señal doble de doble, m= señal múltiple. Por último en la Espectrometría de Masas (EM) se empleó un espectrómetro de masas HP 5985-B CG/MS mediante la técnica de impacto electrónico. Los puntos de fusión de los compuestos obtenidos se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

La pureza de los productos y el avance de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (CCF) en cromatofolios de gel de sílice 60F₂₅₄ Merck, usando como revelador una disolución de CoCl₂ al 1% en H₂SO₄ 2N y/o lámpara UV $\lambda = 245$ nm. Los reactivos utilizados se mencionan en la lista siguiente.

Lista de reactivos (Parte Química)

- Acetato de 16-dehidropregnenolona (16-DPA).
 - Ácido 3-cloroperoxibenzoico (m-CPBA).
 - Ácido clorhídrico (HCl).
 - Acetona.
 - Agua (H₂O).
 - Acetato de etilo (AcOEt).
 - Ácido-p-Br-benzoico (ApBrB).
 - Ácido-p-F-benzoico (ApFB).
 - Bicarbonato de Sodio (NaHCO₃).
 - Bisulfito de Sodio (NaHSO₃).
 - Cloroformo deuterado (CDCl₃).
 - Cloruro de Cobalto (CoCl₂).
 - Cloroformo (CHCl₃).
 - Diclorometano (CH₂Cl₂).
 - 1,3-Diciclohexilcarbodiimida (DCC).
 - 4-Dimetilaminopiridina (4-DMAP).
 - Gel de sílice 69 F254 Merck para CCF.
 - Gel de alúmina, grado estándar.
 - Hidróxido de Sodio (NaOH).
 - Hexano.
 - Metanol (MeOH).
 - Trióxido de Cromo (CrO₃).
 - Sulfato de Sodio anhidrido (NaSO₄).
 - Piridina (Py) y Cloruro de Tionilo (SOCl₂).
-

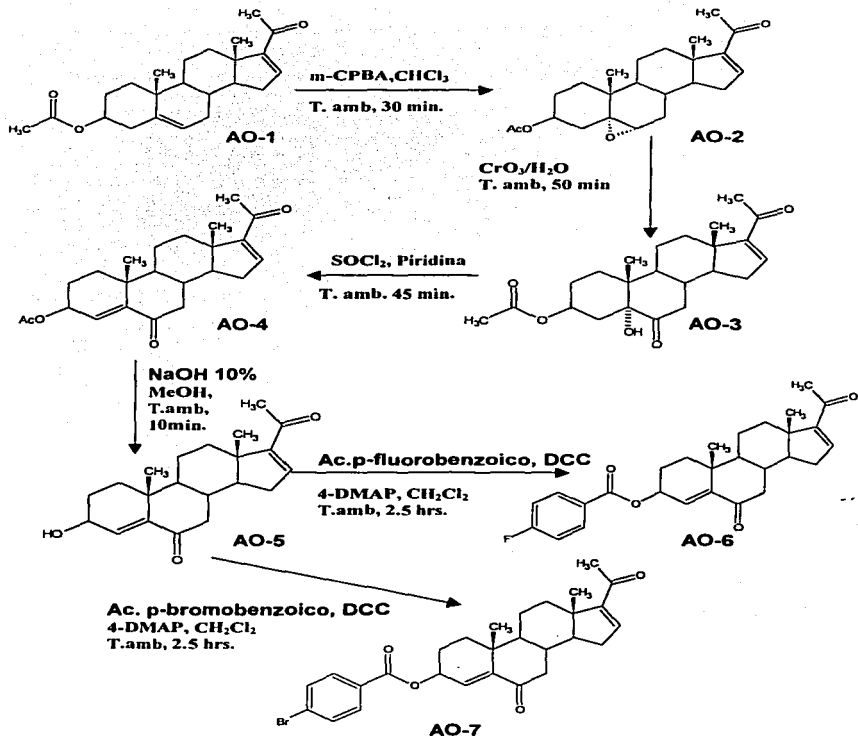
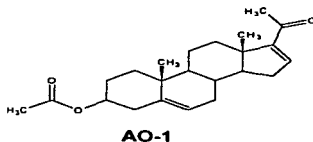


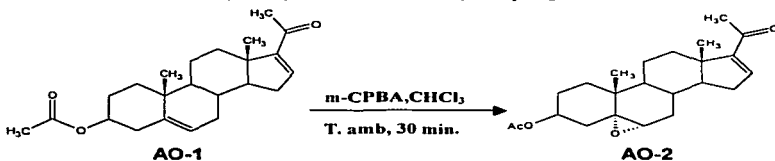
Figura 16. Ruta general de síntesis.

4.1.1 Purificación y caracterización de la materia prima (AO-1): Acetato de 16-dehidropregnenolona o 3 β -Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona.



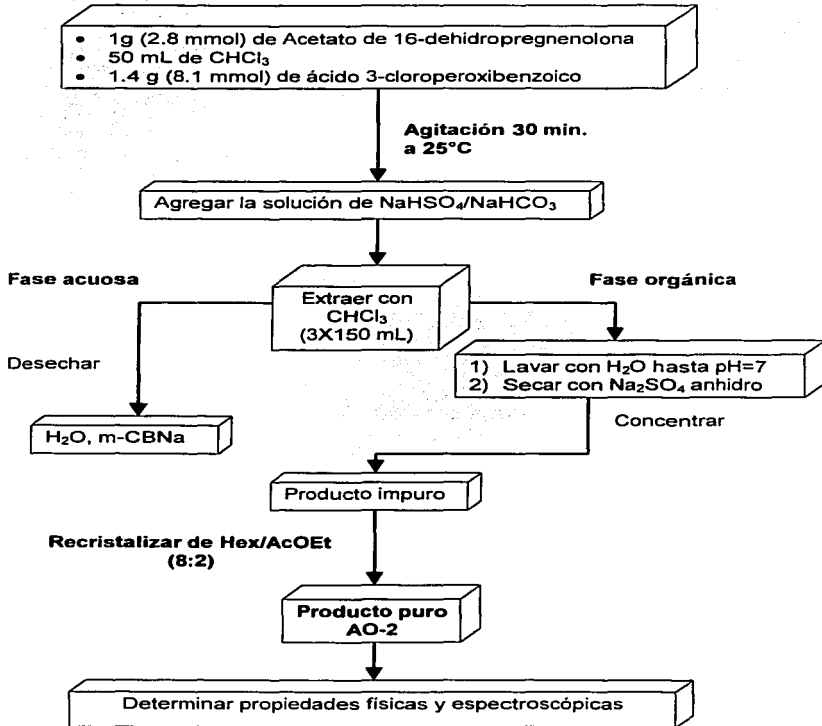
La materia prima (AO-1) fue recristalizada de metanol, obteniéndose cristales en forma de agujas de color blanco, cuyas propiedades físicas y datos espectroscópicos se encuentran descritas en las tablas 3 y 4 (pág. 39).

4.1.2. Síntesis de (AO-2): 3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona.



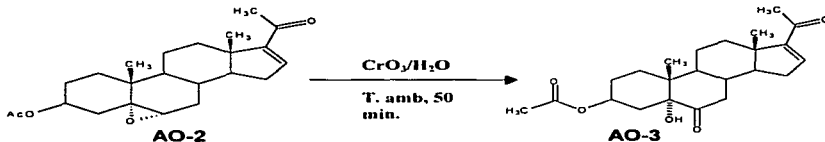
Se disolvió 1 g (2.8 mmol) de **AO-1** en 50 mL de CHCl_3 y después se adicionaron 1.4 g (8.1 mmol) de ácido 3-cloroperoxibenzoico (m-CPBA). La mezcla de reacción se mantuvo a 25 °C durante 30 min, con agitación magnética constante y enseguida, se adicionaron 50 mL de una solución de $\text{NaHSO}_4/\text{NaHCO}_3$ al 5%. La mezcla contenida en el matraz se extrajo con CHCl_3 (3 x 150 mL) y la fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro, se secó con sulfato de sodio y posteriormente se concentró a presión reducida. El sólido resultante se recristalizó de una mezcla de hexano/ AcOEt (8:2 % v/v), obteniéndose 886.5 mg (2.38 mmol) de cristales blancos. El rendimiento fue del 85% (tablas 5 y 6, pág.40).

Síntesis del compuesto AO-2



m-CBNa: m-clorobenzoato de sodio.

4.1.3. Síntesis de (AO-3): 3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona.



Se disolvió 1 g (2.68 mmol) de AO-2 en 50 mL de acetona. Después se adicionaron (gota a gota) 1.05 g (10.5 mmol) de CrO_3 previamente disueltos en 5 mL de agua, manteniendo la temperatura a 0°C durante la adición y la agitación magnética constante durante 10 min. La mezcla se dejó alcanzar la temperatura ambiente y enseguida se adicionó nuevamente gota a gota otra porción de 1.05 g de CrO_3 disueltos en agua, manteniendo la agitación por 20 minutos más. La mezcla de reacción se vertió sobre agua y hielo (150 mL) y el sólido resultante se filtró. Se dejó secar primero al vacío durante 24 h y luego en la estufa a 70°C durante 3 h, para eliminar el exceso de humedad. Se obtuvieron finalmente 852 mg (2.19 mmol) de producto en forma de polvo blanco, con un rendimiento del 82 % (tablas 7 y 8, págs 41 y 42).

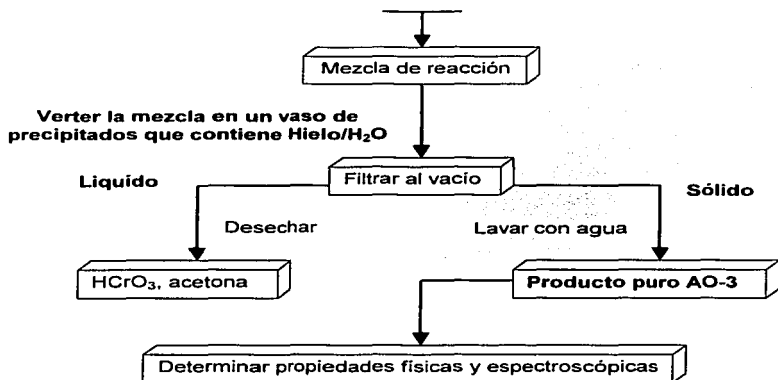
Síntesis del compuesto AO-3

- 1 g (2.68 mmol) de 3-Acetoxy-5,6-epoxy-pregn-16-en-20-ona
- 50 ml de acetona

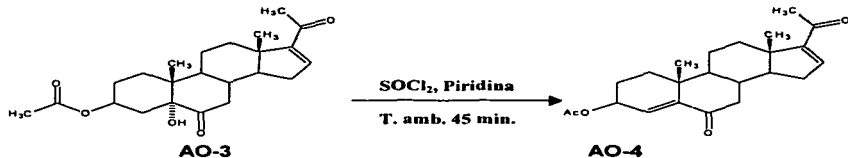
Agitar 20 min
a temp. ambiente

Agregar 10.5 mmol
de $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}$

Agregar 10.5 mmol
de $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}$



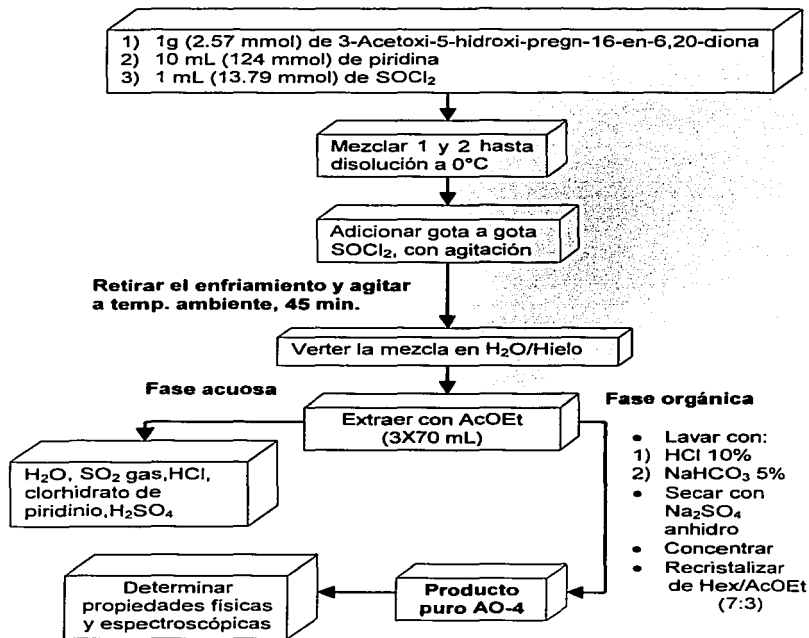
4.1.4. Síntesis de (AO-4): 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona.



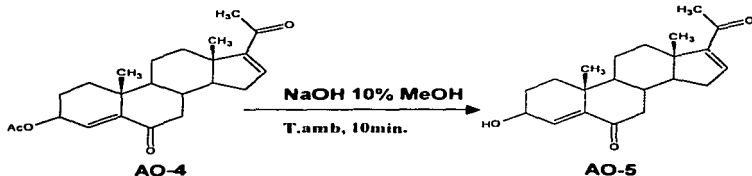
Se disolvió 1 g (2.57 mmol) de **AO-3** en 10 mL (124 mmol) de Py. La mezcla de reacción se mantuvo a 0°C y se fue agregando gota a gota y en una atmósfera de nitrógeno 1 mL (13.79 mmol) de SOCl₂ con agitación magnética constante. Una vez terminada la adición la agitación se continuó durante 45 min. a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la mezcla se vertió sobre agua y hielo (100 mL) para precipitar el producto deseado. El sólido formado se extrajo con AcOEt (3 x 70 mL). La fase orgánica se lavó con HCL al 10 % (2 x 70 mL); luego con NaHCO₃ al 5 % (2 x 70 mL) y finalmente con agua hasta pH neutro.

El extracto se secó con Na_2SO_4 anhidrido y se concentró a presión reducida. El sólido resultante se recrystalizó de una mezcla de hexano/AcOEt (7:3 % v/v), obteniéndose 625.9 mg (1.69 mmol) de cristales ligeramente amarillos con un rendimiento del 65.8 % (tablas 9 y 10, pág. 43).

Síntesis del compuesto AO-4

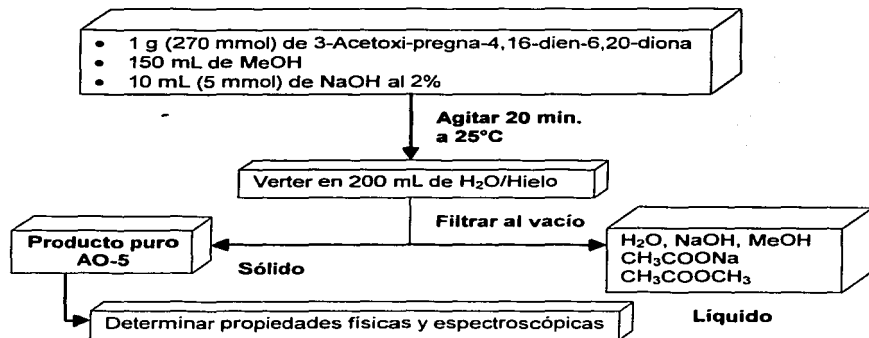


4.1.5. Síntesis de (AO-5): 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona.

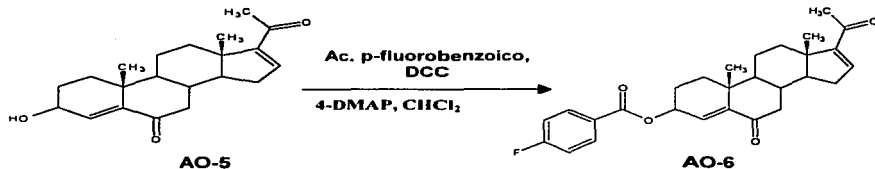


Se disolvió 1 g (270 mmol) de **AO-4** en 150 mL de MeOH. Después se adicionaron 10 mL (5 mmol) de NaOH al 2% y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación magnética constante a temperatura ambiente durante 20 min. Terminado el tiempo de reacción el contenido del matraz se vertió sobre agua y hielo (200 mL) para precipitar el producto de interés. El producto se filtró y se secó al vacío para obtener 531.35 mg (1.62 mmol) de un polvo blanco; el rendimiento de la reacción fue del 60% (tablas 11 y 12, pág. 44).

Síntesis del compuesto AO-5



4.1.6. Síntesis de (AO-6): 3-(p-fluorobenzoiloxi) pregna-4,16-dien-6,20-diona.



Se disolvió 1 g (3.04 mmol) de **AO-5** en 100 mL de CH_2Cl_2 anhidro. Después se adicionaron 1 g (7.14 mmol) de ácido p-fluorobenzoico, 1.04 g (5.04 mmol) de DCC y 0.6 g (4.91 mmol) de 4-DMAP. La mezcla de reacción se mantuvo a temp. ambiente con agitación magnética constante durante 1.5 h. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla se vertió en agua y hielo (150 mL). El producto de reacción se extrajo con CHCl_3 (3 x 70 mL); la fase orgánica se lavó con agua, se secó con sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El sólido resultante se disolvió con AcOEt y se filtró a través de una columna conteniendo 1.5 g de alúmina, para eliminar la diciclohexilurea formada. El filtrado se concentró a presión reducida y el sólido obtenido se recrystalizó de una mezcla hexano/AcOEt (7:3 %v/v). Obteniéndose 891 mg (1.98 mmol) de cristales blancos, con un rendimiento del 65.2 % (tablas 13 y 14, pág. 45).

Síntesis del compuesto AO-6

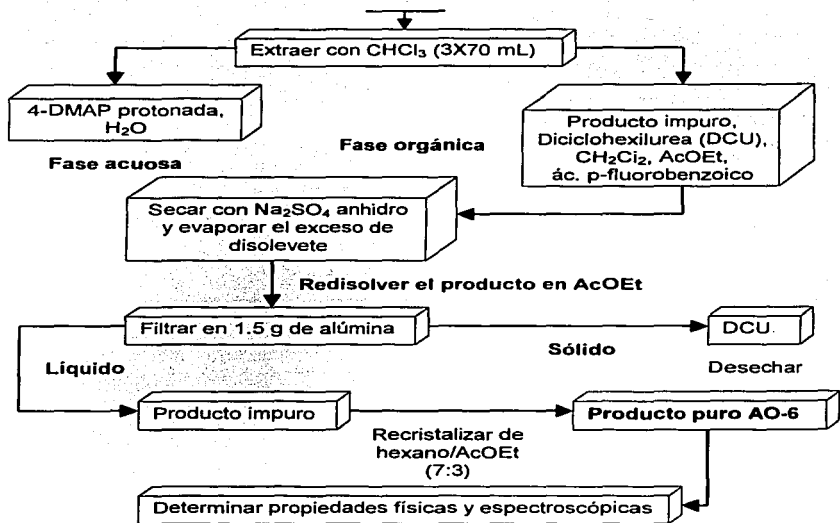
- 1 g (3.04 mmol) de 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona
- 100 mL de CH_2Cl_2 anhidro

Agitación 1.5 h.
a 25°C

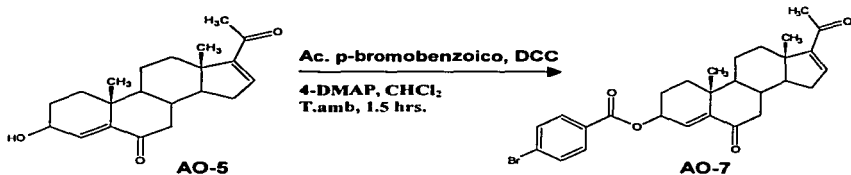
Agregar:

- Ac. p-fluorobenzoico
- DCC
- 4-DMAP

Verter en 150 mL de H_2O /Hielo



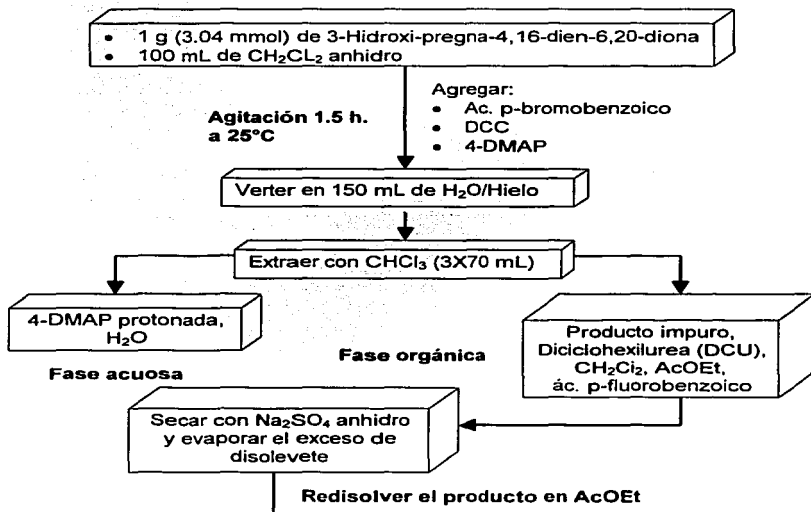
4.1.7. Síntesis de (AO-7): 3-(p-bromobenzoiloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona.

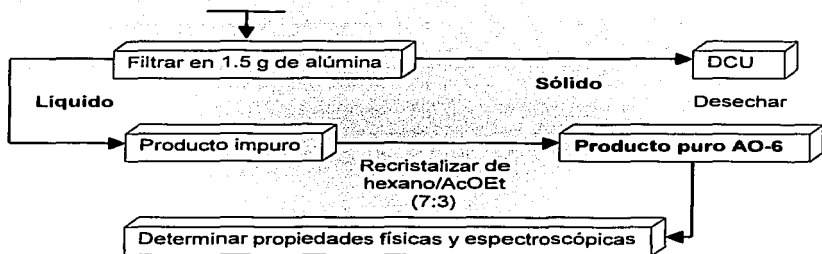


Se disolvió 1 g (3.04 mmol) de **AO-5** en 100 mL de CH_2Cl_2 anhidro. Después se adicionaron 1 g (4.97 mmol) de ácido p-bromobenzoico, 1.04 g (5.04 mmol) de DCC y 0.6 g (4.91 mmol) de 4-DMAP.

La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación magnética constante durante 1.5 h. Terminado el tiempo de reacción, la mezcla se vertió en un vaso con agua y hielo (150 mL) y se extrajo con CHCl_3 (3 x 70 mL), la fase orgánica se lavó con agua, se secó con sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El sólido resultante se disolvió en AcOEt y se filtró a través de una columna conteniendo 1.5 g de alúmina, para eliminar la diciohexilurea formada. El filtrado se concentró a presión reducida y el sólido obtenido se recrystalizó de una mezcla hexano/AcOEt (7:3 %v/v). Obteniéndose 854 mg (1.67 mmol) de cristales blancos, con un rendimiento del 54.9 % (tablas 15 y 16, pág. 47).

Síntesis del compuesto AO-7





4.2. Etapa 2: Evaluación biológica de la actividad antiandrogénica.

Hoy en día todos los grupos de investigación en el ámbito mundial dedicados al desarrollo de nuevas moléculas buscan comprobar la actividad biológica de los compuestos diseñados, por lo que uno de los objetivos del presente trabajo es realizar la evaluación biológica de los tres últimos compuestos de la ruta sintética mencionada en la página 25. Los ensayos biológicos empleados para la evaluación de dichos compuestos no sólo nos permitirán comprobar si presentan actividad antiandrogénica sino también nos ayudarán a identificar si el efecto biológico deseado se produce por inhibición de la enzima 5α -reductasa y/o por interacción con los receptores androgénicos.

La evaluación de la actividad antiandrogénica se realizó a los compuestos **AO-5**, **AO-6** y **AO-7** (fig. 16), cada uno de éstos fue evaluado con tres pruebas diferentes, la primera es un ensayo biológico *in vivo* y dos pruebas más *in vitro*.

Para el desarrollo de los experimentos se emplearon hámsters machos de la cepa Syriam Golden con un peso promedio de 150-200 g y gonadectomizados 30 días antes del estudio.

Los animales se mantuvieron en condiciones de bioterio, a una temperatura controlada de 22°C, con periodos de luz y oscuridad de 12 h y comida y agua *ad libitum*.

Los equipos empleados en los diversos estudios fueron: para medir la radiactividad, un contador de centelleo Liquid Scintillation Analyzer, mod. Tricards 2100 TR-Packard con impresora Panasonic Quiet KX-P3123; una incubadora mod. BMR-18/25; una centrifuga mod. Allegra 6R Centrifuge Beckman; micropipetas electrónicas, Advanced electronic pipette Rainin mod. Edp 3, con capacidad para 10 μL , 100 μL y 1000 μL ; y una lampara UV $\lambda=245\text{ nm}$. Los reactivos utilizados se encuentran descritos en la tabla siguiente.

Lista de reactivos (Parte Biológica)

- | | |
|--|---|
| • Compuestos: AO-5, AO-6 y AO-7. | • Glicerol. |
| • Carbón activado. | • HCl-Tris.(Trisma Hydrochloride). |
| • Cromatofolios de gel de sílice 60F ₂₅₄ Merck. | • Líquido de centelleo Ultima Gold. |
| • Dextrán. | • Molibdato de Sodio. |
| • Ditioneitol (DTT). | • NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato). |
| • Dihidrotestosterona (DHT). | • Sacarosa. |
| • Dihidrotestosterona tritiada ³ [H]DHT. | • Solución amortiguadora de fosfatos pH=6.5 y pH=7.0. |
| • Diclorometano (CH ₂ Cl ₂). | • Testosterona. |
| • Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). | • Testosterona tritiada ³ [H]T. |
| • Éter. | |
-

4.2.1. Experimentos *in vivo*: Efecto de los compuestos AO-5, AO-6 y AO-7 sobre próstata de hámster.

Este ensayo biológico se fundamenta en el hecho de que la enzima 5 α -reductasa y los receptores androgénicos se encuentran presentes en este tejido; de tal manera que si el compuesto a evaluar inhibe a dicha enzima o interactúa con el receptor androgénico provocará una disminución en el peso de la próstata debido a la disminución en la concentración de dihidrotestosterona o a la obstrucción de los receptores androgénicos para este metabolito.

Para realizar este ensayo biológico se utilizaron seis grupos de cuatro hámsters cada uno, con diferentes tratamientos. A cada uno de los animales de los diversos grupos, se les administraron por vía subcutánea 200 µg de testosterona y 1mg de cada uno de los esteroides a evaluar disueltos en aceite de sésamo (ajonjolí) como vehículo. Se aplicaron inyecciones diarias por un periodo de 6 días. Se utilizaron 3 grupos de animales como controles; el primero de ellos se trató únicamente con vehículo, el segundo con una solución oleosa de testosterona y el tercero se trató con una solución oleosa de testosterona más una solución oleosa conteniendo finasterida. Después de seis días, los animales fueron sacrificados bajo anestesia con éter y se obtuvieron las próstatas, las cuales fueron pesadas más tarde^{5, 11}. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 17.

4.2.2. Experimentos *in vitro*: Inhibición de la actividad de la enzima 5α-reductasa presente en fracción microsomal de próstata de hámster a pH= 7.0.

4.2.2.1. Obtención de la fracción microsomal de próstata y citosol de vesícula seminal de hámster.

Se sacrificaron 50 hámsters macho con aproximadamente 72 horas de castración. Se separaron próstatas y vesículas seminales. Los tejidos se limpiaron perfectamente de grasa y se pesaron por separado. Los tejidos se homogeneizaron con una mezcla que contenía: 20 mM de HCl-tris [$\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3\cdot\text{HCl}$], 1.5 mM de EDTA, 20 mM de molibdato de sodio y 10% de glicerol, con relación al peso de tejido (v/p 3:1).

Los homogenados se centrifugaron a 140000 g, durante una hora a 2°C. Posteriormente se separó el pellet (fracción microsomal) para ser resuspendido en 3 volúmenes de medio A (0.32 M de sacarosa, 0.1 mM de ditioneitol y solución amortiguadora de fosfatos 20 mM a pH=6.5) en relación con el peso del tejido obtenido inicialmente.

Con la fracción microsomal de próstata previamente obtenida, se realizó un estudio metabólico *in vitro* para conocer el posible efecto inhibitorio del esteroide sobre la enzima 5α-reductasa^{5, 11}.

Para realizar este bioensayo los esteroides a evaluar fueron incubados en presencia de 250 μg de proteína de microsomas de próstata y una mezcla de incubación que contenía: 2 nM de testosterona tritiada $^3\text{[H]T}$, 2mM de NADPH^{*}, 1 mM de ditiotreitól y una solución amortiguadora de fosfatos 40 mM a pH= 7.0. El bioensayo se incubó durante una hora a una temperatura de 37°C con agitación constante.

Además se preparó un control que contenía fracción microsomal y mezcla de incubación sin inhibidor el cual corresponde al 100 % de conversión. La incubación terminó con la adición de CH_2Cl_2 , para después realizar extracciones sucesivas a la mezcla de reacción con el mismo disolvente. La separación de los productos tritiados $^3\text{[H]T}$ y $^3\text{[H]DHT}$ se realizó por CCF en un sistema de elución de cloroformo-acetona (9:1), desarrollando la placa 3 veces, separando los compuestos en base su polaridad (r.f. de T=0.55, r.f. de DHT=0.67) y midiendo la radiactividad en la región correspondiente a $^3\text{[H]DHT}$ (producto obtenido por la transformación de $^3\text{[H]T}$ en presencia de la enzima 5 α -reductasa). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 18.

4.2.3. Determinación de la unión a receptores en citosol de vesícula seminal.

Este bioensayo se realiza con el fin de conocer si existe algún tipo de inhibición producida por los esteroides evaluados, hacia la unión a receptores androgénicos los cuales se encuentran presentes en el citosol de los tejidos dependientes de andrógenos como la vesícula seminal de hámster. Los compuestos se incubaron en presencia de 200 μL de citosol y 1.36 nM de dihidrotestosterona tritiada $^3\text{[H]DHT}$ durante 18 h a 4°C.

Terminado el tiempo de incubación se agregó una suspensión de carbón activado-dextrán para eliminar la radiactividad libre o no unida al receptor, incubando nuevamente durante 45 min. en hielo. Finalmente se separó el sobrenadante por centrifugación a 4000 rpm, durante 10 min. a 14°C., midiéndose la radiactividad presente en el sobrenadante provocada por la $^3\text{[H]DHT}$ unida al receptor. El análisis por competencia al receptor se lleva a cabo en presencia del sustrato natural (DHT) o de los inhibidores. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 19, gráfica 1 y gráfica 2.

5. RESULTADOS

5.1. Resultados obtenidos en la parte química.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la caracterización física y espectroscópica de cada uno de los compuestos sintetizados.

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-1): Acetato de 16-dehidropregnenolona.

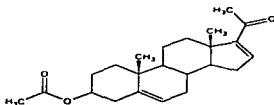


Tabla 3. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	168-171
Peso molecular (UMA)	356.498
Fórmula condensada	C ₂₃ H ₃₂ O ₃

Tabla 4. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ_{max} 237.92	C=O α, β insaturado en C-20
IR (cm⁻¹)	
2940.80	CH ₃ y CH ₂
2860.78	CH ₃ y CH ₂
1731.28	C=O de éster en C-3
1664.68	C=O α, β insaturado en C-20
1586.24	C=C conjugado con C-16
1371.75	CH ₃ y CH ₂
1244.72	C-O-C de CH ₃ -COO- en C-3
1032.79	C-O-C de CH ₃ -COO- en C-3
RMN¹H (ppm)	
0.920 (s, 3H)	CH ₃ en C-10
1.059 (s, 3H)	CH ₃ en C-13
2.036 (s, 3H)	CH ₃ en C-20
2.265 (s, 3H)	CH ₃ de CH ₃ COO- en C-3
4.610 (m, 1H)	H en C-3
5.386 (d, 1H)	C=CH en C-6

6.712 (d,1H)	C=CH en C-16
RMN¹³C (ppm)	
15.685	C-18
19.193	C-19
21.401	C-21
27.121	C3-2' de CH ₃ COO-
73.833	C-3 base de CH ₃ COO-
121.958	C-6 vinílico
140.223	C-5 vinílico
144.386	C-16 vinílico
155.308	C-17 vinílico
170.504	C3-1' de C=O de CH ₃ COO-
196.800	C-20 base de C=O
EMIE (m/z)	
357	M ⁺ +1
341	M ⁺ -[CH ₃] ⁺
296	M ⁺ -[CH ₃ COOH] ⁺ (pico base)

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-2):

3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona.

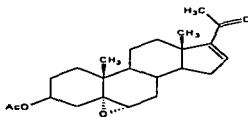


Tabla 5. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	170-172
Peso molecular (UMA)	372.498
Fórmula condensada	C ₂₃ H ₃₂ O ₄
Rendimiento	85%

Tabla 6. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ_{\max} 238.11	C=O α,β insaturado en C-20
IR (cm⁻¹)	
2940.52	CH ₃ y CH ₂
2860.11	CH ₃ y CH ₂
1732.28	C=O de éster en C-3
1664.89	C=O α,β -insaturado en C-20

1587.32	C=C conjugado con C-16
1370.85	CH ₃ y CH ₂
1241.43	C-O-C de CH ₃ -COO- en C-3
1034.67	estiramiento C-O-C
RMN¹H (ppm)	
0.848 (s,3H)	CH ₃ en C-10
1.114 (s,3H)	CH ₃ en C-13
2.034 (s,3H)	CH ₃ en C-20
2.251 (s,3H)	CH ₃ de CH ₃ COO- en C-3
4.610 (m,1H)	H en C-3
5.386 (d,1H)	H en C-6
6.685 (dd,1H)	C=CH en C-16
RMN¹³C (ppm)	
15.822	C-18
16.962	C-19
21.388	C-21
27.149	C3-2' de CH ₃ COO-
63.269	C-6
65.351	C-5
144.126	C-16 vinílico
155.243	C-17 vinílico
170.524	C3-1' de C=O de CH ₃ COO-
196.703	C-20 base de C=O
EMIE (m/z)	
373	M ⁺ +1
357	M ⁺ -[CH ₃] ⁺
329	M ⁺ -[CH ₃ C=O] ⁺
312	329-[OH] ⁺ (pico base)

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-3): 3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona.

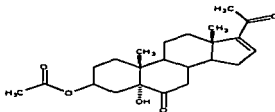


Tabla 7. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	244-245
Peso molecular (UMA)	388.497
Fórmula condensada	C ₂₃ H ₃₂ O ₅
Rendimiento	82%

Tabla 8. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ_{\max} 237.8	C=O α, β -insaturado en C-20
IR (cm⁻¹)	
3409.82	OH en C-3
2940.32	CH ₃ y CH ₂
1712.26	C=O en C-6
1664.74	C=O α, β -insaturado en C-20
1585.74	C=C conjugado en C-16
1432.14	CH ₂
1366.00	CH ₃
1236.75	C-O-C de CH ₃ -COO-
1039.74	estiramiento C-O-C
RMN¹H (ppm)	
0.844 (s,3H)	CH ₃ en C-10
1.110 (s,3H)	CH ₃ en C-13
2.011 (s,3H)	CH ₃ en C-20
2.264 (s,3H)	CH ₃ de CH ₃ COO- en C-3
2.881 (t,2H)	2H de metileno en C-4
5.032(m,1H)	H en C-3
6.688(dd,1H)	C=CH en C-16
RMN ¹³C (ppm)	
13.875	C-18
15.793	C-19
21.335	C-21
27.084	C3-2' de CH ₃ COO-
80.330	C-5 base de -OH
70.573	C-3 base de CH ₃ COO-
143.890	C-16 vinílico
155.092	C-17 vinílico
171.009	C3-1' de C=O de CH ₃ COO-
196.636	C-20 base de C=O
211.739	C-6 base de C=O
EMIE (m/z)	
388	M ⁺
373	M ⁺ - [CH ₃] ⁺
345	M ⁺ - [CH ₃ C=O] ⁺
328	345-[OH] ⁺ (pico base)

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-4): 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona.

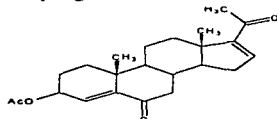


Tabla 9. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	193-197
Peso molecular (UMA)	370.482
Fórmula condensada	C ₂₃ H ₃₀ O ₄
Rendimiento	65.6%

Tabla 10. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm) λ_{max} 236.68	C=O α,β -insaturado en C-20
IR (cm⁻¹) 2942.70 2862.55 1735.14 1691.47 1664.19 1634.55 1371.54 1233.12 1042.00	CH ₃ y CH ₂ CH ₃ y CH ₂ C=O de éster C=O α,β -insaturado en C-6 C=O α,β -insaturado en C-20 estiramientos C=C CH ₃ estiramiento de CH ₃ -COO- estiramiento C-O-C de éster
RMN¹H (ppm) 0.930 (s,3H) 1.062 (s,3H) 2.076 (s,3H) 2.276 (s,3H) 5.330 (m,1H) 6.096 (m,1H) 6.708 (dd,1H)	CH ₃ en C-10 CH ₃ en C-13 CH ₃ en C-20 CH ₃ COO- en C-3 H en C-3 C=CH en C-4 C=CH en C-16
RMN ¹³C (ppm) 15.752 19.553 21.145 27.089 69.193	C-18 C-19 C-21 C-3-2' de CH ₃ COO- C-3 base de CH ₃ COO-

129.045	C-4 vinílico
143.762	C-16 vinílico
147.875	C-5 vinílico
154.869	C-17 vinílico
170.678	C3-1' de C=O de CH ₃ COO-
196.554	C-20 base de C=O
201.746	C-6 base de C=O
EMIE (m/z)	
370	M ⁺
328	M ⁺ - [CH ₃ CH=O] ⁺ (pico base)
313	328 - [CH ₃] ⁺

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-5): 3-

Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona.

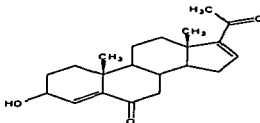


Tabla 11. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	168-170
Peso molecular (UMA)	328.445
Fórmula condensada	C ₂₁ H ₂₈ O ₃
Rendimiento	60.0%

Tabla 12. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ_{\max} 238.41	C=O α, β -insaturado en C-20
IR (cm⁻¹)	
3430.87	-OH en C-3
2941.04	CH ₃ y CH ₂
2859.50	CH ₃ y CH ₂
1688.51	C=O α, β -insaturado en C-6
1663.74	C=O α, β -insaturado en C-20
1371.53	CH ₃
1233.93	estiramiento C-O-C de éster
RMN¹H (ppm)	
0.928 (s,3H)	CH ₃ en C-10

1.043 (s,3H)	CH ₃ en C-13
2.275 (s,3H)	CH ₃ en C-20
4.251 (t,1H)	H en C-3
6.189 (t,1H)	C=CH en C-4
6.710 (t,1H)	C=CH en C-16
RMN ¹³C (ppm)	
15.757	C-18
19.763	C-19
27.089	C-21
67.172	C-3 base de -OH
133.219	C-4 vinílico
143.920	C-16 vinílico
146.498	C-5 vinílico
154.850	C-17 vinílico
196.656	C-20 base de C=O
202.376	C-6 base de C=O
EMIE (m/z)	
328	M ⁺ (pico base)
313	M ⁺ -[CH ₃] ⁺
295	313 - H ₂ O
285	M ⁺ -[CH ₃ C=O] ⁺

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-6): 3-(p-fluorobenzoiiloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona.

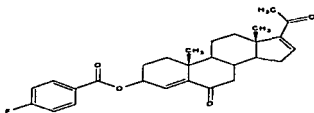


Tabla 13. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	244-246
Peso molecular (UMA)	450.542
Fórmula condensada	C ₂₈ H ₃₁ O ₄ F
Rendimiento	65.2 %

Tabla 14. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ _{max} 235.33	C=O α,β-insaturado en C-20

IR (cm⁻¹)	3085.89 2943.90 2866.71 1723.31 1690.60 1665.70 1629.29 1602.08 1366.42 1258.43 1232.00 762.960	insaturaciones =C-H CH ₃ y CH ₂ CH ₃ y CH ₂ C=O de éster C=O α,β-insaturado en C-6 C=O α,β-insaturado en C-20 estiramiento C=C estiramiento C=C CH ₃ y CH ₂ estiramiento C-O-C de éster estiramiento C-O-C de éster monosustitución en el anillo aromático
RMN¹H (ppm)	0.944 (s,3H) 1.106 (s,3H) 2.283 (s,3H) 5.571 (m,1H) 6.215 (t,1H) 6.714 (dd,1H) 7.113 (m,2H) 8.074 (m,2H)	CH ₃ en C-10 CH ₃ en C-13 CH ₃ en C-20 H en C-3 C=CH en C-4 C=CH en C-16 2H meta en C3-C3' al F 2H orto en C3-C4' al F
RMN ¹³C (ppm)	15.790 19.623 27.117 70.066 115.640 128.928 132.225 132.346 143.776 148.160 154.893 164.160 165.202 196.582 201.867	C-18 C-19 C-21 C-3 base del éster C en C3-4' C en C3-2' C en C3-3' C-4 vinílico C-16 vinílico C-5 vinílico C-17 vinílico C=O en C3-1' C3-5' carbono base del F C=O en C-20 C=O en C-6
EMIE (m/z)	450 432 123	M ⁺ M ⁺ -HF [F-(C ₆ H ₄)-C=O] ⁺ (pico base)

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Propiedades físicas y espectroscópicas para el compuesto (AO-7): 3-(p-bromobenzoiloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona.

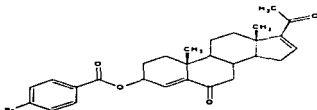


Tabla 15. Características físicas.

Propiedad medida	Valor calculado o determinado
Punto de fusión (°C)	241-242
Peso molecular (UMA)	511.447
Fórmula condensada	C ₂₈ H ₃₁ O ₄ Br
Rendimiento	54.9 %

Tabla 16. Datos espectroscópicos experimentales.

Valor espectroscópico obtenido	Asignación
UV (nm)	
λ_{max} 243.88	C=O α,β -insaturado en C-20
IR (cm⁻¹)	
3424.54	Sobretono de estiramiento C=O
2941.10	CH ₃ y CH ₂
2868.09	CH ₃ y CH ₂
1721.15	C=O de éster
1690.37	C=O α,β -insaturado en C-6
1665.42	C=O α,β -insaturado en C-20
1635.98	estiramiento C=C
1366.87	CH ₃
1270.60	estiramiento C-O-C de éster
1256.77	estiramiento C-O-C de éster
750.280	monosustitución en el anillo aromático
RMN¹H (ppm)	
0.943 (s,3H)	CH ₃ en C-10
1.105 (s,3H)	CH ₃ en C-13
2.280 (s,3H)	CH ₃ en C-20
5.570 (m,1H)	H en C-3
6.206 (t,1H)	C=CH en C-4
6.711 (dd,1H)	C=CH en C-16
7.567 (m,2H)	2H meta al Br en C3-C3'
7.898 (m,2H)	2H orto al Br en C3-C4'
RMN¹³C (ppm)	
15.776	C-18
19.595	C-19

	27.098	C-21
	70.165	C-3 base del éster
	128.219	C en C3-2'
	128.751	C en C3-3'
	128.952	C en C3-5' base del Bromo
	131.230	C en C3-4'
	131.674	C-4 vinílico
	143.734	C-16 vinílico
	148.221	C-5 vinílico
	154.883	C-17 vinílico
	165.421	C=O en C3-1'
	196.544	C=O en C-20
	201.806	C=O en C-6
EMIE (m/z)	510	M ⁺
	512	M ⁺ +2
	327	M ⁺ - [Br-(C ₆ H ₄)-C=O] ⁺
	183	[Br-(C ₆ H ₄)-C=O] ⁺ (pico base)

5.2. Resultados obtenidos en la parte biológica.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los ensayos biológicos realizados para evaluar la actividad antiandrogénica de los compuestos **AO-5, AO-6 y AO-7**.

Experimento *in vivo*: Efecto de **AO-5, AO-6 y AO-7** sobre próstata de hámster.

Tabla 17. Efecto de los esteroides sobre el peso de la próstata de hámster.

Grupo	Tratamiento	Peso de la Próstata (mg)
1	Vehículo	36.65
2	Testosterona (T)	85.33
3	T+Finasterida (F)	59.32
4	T+AO-5	75.70
5	T+AO-6	75.00
6	T+AO-7	74.55

**Inhibición de la actividad la enzima 5 α -reductasa presente en fracción
microsomal de próstata de hámster a pH= 7.0**

Tabla 18. Inhibición de la enzima 5 α -reductasa.

Compuesto	** IC₅₀
Finasterida	10 nM
AO-5	No presenta inhibición de la enzima 5 α -reductasa
AO-6	No presenta inhibición de la enzima 5 α -reductasa
AO-7	No presenta inhibición de la enzima 5 α -reductasa

** IC₅₀: Cantidad de sustrato al cual se inhibe el 50% de la actividad de la enzima.

Determinación de la unión a receptores en citosol de vesícula seminal.

Tabla 19. Unión a receptores en vesícula seminal.

Compuesto	*KI (mM)
Dihidrotestosterona (DHT)	2.14
AO-5	No hay unión a receptores
AO-6	No hay unión a receptores
AO-7	1.44

*KI: Concentración de compuesto no marcado radiactivamente, que inhibe por competencia el 50 % de los sitios de unión al receptor.

Cálculo de la constante de inhibición (KI):

$$(IC_{50} / 1) + (C/Kd) = KI$$

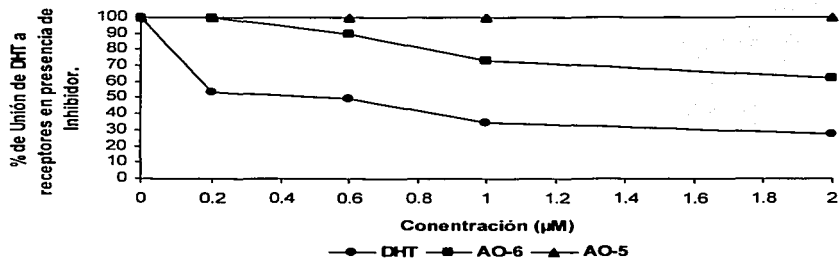
C: Concentración de la hormona marcada (1.37 nM).

Kd: Constante de disociación (1.37 nM).

IC₅₀ : Cantidad de sustrato al cual se inhibe el 50% de la actividad de la enzima.

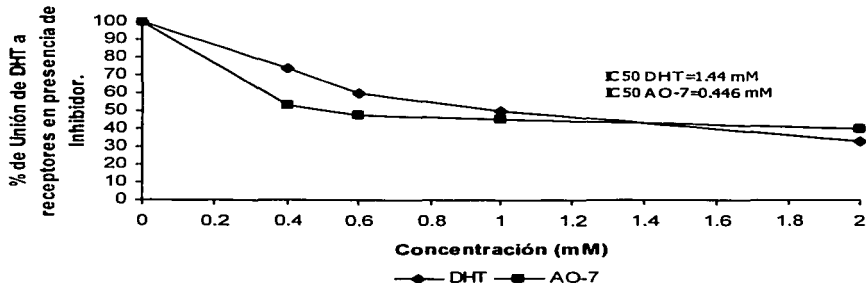
Gráfica 1. Prueba de unión a receptores en Vesicula Seminal (V.S) para los compuestos AO-5, AO-6 y DHT

Prueba de Unión a Receptores en V.S



Gráfica 2. Prueba de unión a receptores en Vesicula Seminal (V.S) para los compuestos AO-7, y DHT

Prueba de Unión a Receptores en V.S



6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En vista de que el presente trabajo involucra aspectos químicos y biológicos a continuación se hace una discusión por separado de cada uno de ellos.

6.1. Discusión de la Síntesis de los Compuestos.

La secuencia sintética llevada a cabo durante el presente trabajo se muestra en la figura 16 (pág. 25).

Acetato de 16-dehidropregnenolona (AO-1). Constituye la materia prima empleada en esta síntesis, también llamada 3 β -acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona, 16-DPA o Neosterol; este compuesto se encuentra disponible comercialmente y está considerado como punto de partida para la síntesis parcial de la mayoría de los esteroides debido a que presenta los grupos funcionales necesarios para transformarse hasta los compuestos finales. Antes de comenzar la secuencia sintética propuesta, fue necesario caracterizar la materia prima a través de sus propiedades físicas y espectrocópicas, tal y como se presentan en las tablas 3 y 4 (pág. 39).

En el UV (Espectro 1, pág. 67), el producto citado presentó absorción debido a la existencia de un grupo cromóforo conjugado con $\lambda_{\text{máx}}$ en 237.92 nm, correspondiente a la cetona α,β -insaturada en C-20.

En el espectro de IR (Espectro 2, pág. 67) dentro de las señales más importantes tenemos las absorciones en la zona de los carbonilos en 1731.28 cm^{-1} y 1664.68 cm^{-1} correspondientes a los carbonilos del grupo acetoxi en C-3 y de la cetona α,β -insaturada en C-20, respectivamente. También se observaron señales en 2945.27 cm^{-1} y 1371.75 cm^{-1} correspondientes a metilos y metilenos; la banda en 1586.24 cm^{-1} indicó la presencia de un doble enlace conjugado y las señales en 1244.72 y 1032.29 cm^{-1} representan la vibración de C-O-C del éster en C-3.

En cuanto a la RMN ^1H (Espectro 3, pág. 68), se aprecian las señales características de los metilos angulares en C-18 y C-19 como son los singuletes en 0.920 y 1.059 ppm que integran para 3 protones cada una.

También se observaron otras dos señales simples en 2.036 y 2.265 ppm que integraron para tres protones cada una, asignadas al metilo en C-21 y al metilo del grupo acetato en C-3 respectivamente. En la zona de protones vinílicos se observaron dos dobletes, uno en 5.386 ppm y otro en 6.712 ppm, integrando cada uno para un protón, los cuales se deben al protón vinílico en C-6 y C-16 respectivamente. La señal múltiple, que integra para un protón en 4.612 ppm se asignó el protón en C-3.

La RMN ^{13}C (Espectros 4 y 5, págs. 68 y 69) muestra señales en 15.685, 19.193 y 21.401 ppm las cuales se asignaron a los carbonos de los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente. En la zona de los carbonos vinílicos (sp^2) se aprecian señales en 140.223 y 121.958 ppm asignadas a C-5 y C-6. Las señales presentes en 155.308 y 144.386 ppm corresponden a los carbonos C-17 y C-16. En 170.504 ppm se tiene una señal debida al carbono de cetona en C-3 y el desplazamiento en 196.800 se asignó al carbono del carbonilo en C-20.

La EMIE (Espectro 6, pág. 70) muestra un ion molecular de 357 m/z correspondiente al peso molecular del compuesto **AO-1** $\text{M}^+ + 1$. También se observó un pico en 341 m/z debido a la pérdida de una entidad [CH_3]. La pérdida de un fragmento [CH_3COO^*] del ion molecular produce el pico de 296 m/z que corresponde al pico con 100% de abundancia relativa (pico base).

3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2). El primer paso en la ruta de síntesis, involucró la formación de un epóxido entre C-5 y C-6. La epoxidación se realizó con ácido 3-cloro-peroxibenzoico en cloroformo. El compuesto deseado se obtuvo con un rendimiento del 85% y se caracterizó mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas mostradas en las tablas 5 y 6 (pág. 40).

En el UV (Espectro 7, pág. 70) se observó que el compuesto **AO-2** presentó absorción en el UV, debido a que mantiene el grupo cromóforo con $\lambda_{\text{máx}}$ de 238.11 nm, que corresponde al grupo carbonilo en C-20 α,β -insaturado.

En el IR (Espectro 8, pág. 71) se observaron las bandas en 2940.52, 2860.11 y 1370.85 cm^{-1} que corresponden a los metilos y metilenos. La banda en 1732.28 cm^{-1} confirmó la existencia del carbonilo del éster en C-3; por otra parte, la señal en 1664.89 cm^{-1} identificó al carbonilo α,β -insaturado en C-20, que conjugado con el doble enlace en C-16 producen una banda en 1557.32 cm^{-1} . Las señales en 1241.43 y 1034.67 cm^{-1} representan la vibración del éster en C-3.

En RMN ^1H (Espectro 9, pág. 71) se observa la desaparición de la señal en 5.386 ppm correspondiente al protón vinílico en C-6, apareciendo una señal doble en 3.114 ppm que integra para un protón en el carbono base del epóxido. La señal múltiple en 4.770 ppm se asignó al protón en C-3; las señales simples en 0.848, 1.114 y 2.034 ppm, que integran para 3 protones cada una, corresponden a los metilos angulares en C-10, C-13 y al metilo α al carbonilo en C-20 respectivamente; la señal en 6.685 ppm que integra para un protón se asignó al protón vinílico en C-16.

Con relación a la RMN ^{13}C (Espectro 10 y 11, pág. 72) las señales en 15.822, 16.962 y 21.388 ppm se refieren a los carbonos de los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente. Las señales en 63.269 y 65.351 ppm corresponden a los carbonos cuaternarios que forman la base del epóxido. La desaparición de las señales de carbonos vinílicos en C-5 y C-6 confirman la formación del epóxido. Las asignaciones en 144.126 y 155.243 ppm en la zona de carbonos vinílicos corresponde a C-16 y C-17 respectivamente. El desplazamiento químico en 196.703 se debe al carbono C-20 base del carbonilo.

En la EMIE (Espectro 12, pág. 73) se nota un ion molecular $\text{M}^+ + 1$ de 373 m/z, que corresponde al peso molecular de **AO-2** más una unidad de masa. El pico en 357 m/z se debe a la pérdida de un fragmento $[\text{CH}_3]^+$ a partir del ion molecular.

La señal en 329 m/z se debe a la pérdida de un fragmento $[\text{CH}_2\text{C}=\text{O}]^+$ a partir del ion molecular. El pico base se localizó en 312 m/z y se debe a la pérdida de un radical OH^+ proveniente del fragmento 329 m/z.

3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3). Con la finalidad de introducir un grupo ceto en la posición C-6 del esteroide, así como la generación simultánea del oxhidrilo en C-5; el paso siguiente en la ruta de síntesis fue la apertura del anillo de oxirano, empleando trióxido de cromo en agua a temperatura ambiente.

Esta reacción produjo el compuesto **AO-3** que se separó por filtración al vacío. El rendimiento fue del 82%, sus propiedades físicas y espectroscópicas se encuentran descritas en las tablas 7 y 8 (págs. 41 y 42) y a continuación se discuten:

En UV (Espectro 13, pág. 73) se observó una $\lambda_{\text{máx}}$ de 237.8 nm correspondiente al grupo cromóforo del carbonilo en C-20 α,β -insaturado, confirmando que este sistema conjugado no sufrió alteración durante la reacción de epoxidación.

En el IR (Espectro 14, pág. 74) de este compuesto, se observa una banda intensa en 3409.82 cm^{-1} correspondiente al oxhidrilo en C-5 como resultado de la apertura del anillo de oxirano. La señal en 1712.26 cm^{-1} se asignó al carbonilo presente en C-6 y la señal en 1664.74 cm^{-1} al carbonilo α,β -insaturado en C-20. Las señales en 2940.32 y 1432.14 cm^{-1} corresponden a los grupos metilos y metilenos. En 1236.75 y 1039.74 cm^{-1} se observan las señales que representan la vibración del éster en C-3.

En la RMN ^1H (Espectro 15, pág. 74) se observó la desaparición de la señal en 5.386 ppm correspondiente al protón en C-6. Las señales en 0.844, 1.110 y 2.011 ppm corresponden a los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente. La señal del protón vinílico en C-16 se mantiene como una señal doble de dobles en 6.688 ppm; la señal múltiple que integra para un protón en 5.032 ppm corresponde al protón en C-3.

La señal triple en 2.881 ppm que integra para dos protones se asignó a los protones del metileno C-4 y la señal simple presente en 2.264 ppm corresponde al metilo del grupo acetoxi.

En la RMN ^{13}C (Espectro 17, págs. 75 y 76) aparecen señales importantes dentro de las cuales destacan, la señal en 80.330 ppm que se asignó al carbono base de oxhidrilo en el carbono número 5, la señal en 211.739 ppm confirma la generación del grupo carbonilo de cetona en C-6. Las señales en 13.875, 15.793 y 21.335 ppm corresponden a los carbonos de los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente; la señal en 27.084 ppm se debe al metilo del éster en C3-2'.

El desplazamiento químico en 70.575 ppm corresponde al carbono base del éster en C-3. Las señales en 143.890 y 155.092 ppm se asignaron a los carbonos vinílicos en C-16 y C-17. Las señales en 171.009 y 196.636 ppm corresponden a los carbonos en C3-1' y C-20 respectivamente.

La EMIE (Espectro 18, pág. 77) muestra un ion molecular en 388 m/z que corresponde al peso molecular del compuesto **AO-3**. El pico en 373 m/z se debe a la pérdida de un fragmento $[\text{CH}_3^*]$ a partir del ion molecular. El siguiente pico en 345 m/z se originó por la pérdida de un fragmento $[\text{CH}_3\text{C}=\text{O}^*]$ a partir del ion molecular. El pico que corresponde al 100% de abundancia relativa o pico base se encuentra en 328 m/z provocado por la pérdida del alcohol en C-5 del fragmento anterior.

3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4). El siguiente paso en la ruta de síntesis fue la eliminación del oxhidrilo presente en C-3 y la formación de un doble enlace entre los carbonos C-4 y C-5, conjugado con el grupo carbonilo presente en el carbono número 6 del éster. El método utilizado involucró el uso de cloruro de tionilo y piridina en una atmósfera de nitrógeno. El rendimiento de la reacción en este paso fue del 65.8 %, el más bajo en toda la ruta sintética. El producto obtenido (**AO-4**), fue caracterizado por sus propiedades físicas y espectroscópicas reportadas en las tablas 9 y 10 (pág. 43).

De los resultados espectroscópicos podemos observar que **AO-4** absorbe en el UV (Espectro 19, pág. 77) debido a la presencia de un grupo cromóforo con $\lambda_{\text{máx}}$ de 236.68 nm correspondiente carbonilo en C-20 α,β -insaturado y al sistema del carbonilo en C-6 también α,β -insaturado.

En cuanto al IR (Espectro 20, pág. 78), se observa la desaparición de la banda intensa en 3409.82 cm^{-1} , lo que indica la eliminación del grupo oxhidrilo en C-3. Las señales en 2942.70 , 2862.55 y 1371.14 cm^{-1} son debidas a metilos y metilenos. La señal presente en 1735.14 cm^{-1} corresponde al carbonilo del éster.

En 1691.47 y 1664.19 cm^{-1} se tienen bandas que corresponden a los carbonilos α,β -insaturados en C-6 y C-20 respectivamente y las bandas en 1233.12 y 1042.00 cm^{-1} se deben a las señales de estiramiento C-O-C características del éster.

La RMN ^1H (Espectro 21, pág. 78) confirma la formación del enlace doble entre C-4 y C-5, por la aparición de la señal en 6.096 ppm que integra para un protón asignada al protón vinílico presente en C-4. Las señales en 0.930, 1.062 y 2.076 ppm que integran cada una para tres protones se asignan a los protones de los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente. La señal en 5.330 ppm corresponde al protón del carbono base en C-3, y la señal doble de dobles que integra para un protón en 6.708 ppm se debe al protón vinílico en C-16.

En la RMN ^{13}C (Espectro 22 y 23, págs. 79 y 80) podemos observar la aparición de dos señales importantes en 129.045 y 147.875 ppm que se asignan a los carbonos vinílicos en C-4 y C-5 y que apoyan la eliminación de grupo oxhidrilo en C-5. Las señales en 143.762 y 154.869 ppm son debidas a los carbonos vinílicos en C-16 y C-17 respectivamente. En 170.678 ppm tenemos la señal que corresponde al carbonilo del éster presente en posición C3-1'. El desplazamiento químico en 196.554 ppm se asigna al carbono del carbonilo en C-20 y la señal en 201.745 ppm corresponde al carbonilo de cetona en C-6. Los desplazamientos químicos presentes en 15.752, 19.553 y 21.145 ppm pertenecen a los carbonos de metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente. La señal en 69.193 ppm corresponde al carbono base del éster en C-3 y la señal en 27.089 ppm fue asignada al carbono metílico del éster en posición C3-2'.

La EMIE (Espectro 24, pág. 81) muestra un ion molecular de 370 m/z que corresponde al peso molecular del compuesto **AO-4**. El pico base se encuentra en 328 m/z y se debe a la pérdida de un fragmento $[\text{CH}_3\text{CH}=\text{O}^*]$ del ion molecular. La pérdida de una entidad $[\text{CH}_3^*]$ del fragmento anterior genera un pico en 313 m/z.

3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5). El siguiente paso en la ruta de síntesis fue la hidrólisis del éster presente en el carbono número 3 de **AO-4**. Esta reacción se llevó a cabo utilizando NaOH al 10% a temperatura ambiente. El producto final, **AO-5** se obtuvo con un rendimiento del 60% y se identificó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, resultados descritos en las tablas 11 y 12 (pág. 44).

En el UV (Espectro 25, pág. 81) se determinó la presencia de dos cromóforos con una $\lambda_{\text{máx}}$ de 238.41 nm correspondiente a los sistemas α,β -insaturado en C-20 y en C-6.

El espectro de IR (Espectro 26, pág. 82) confirmó la hidrólisis del éster en C-3, ya que la presencia de una banda ancha en 3430.87 cm^{-1} indica la formación del alcohol correspondiente. Las señales en 2941.04, 2859.50 y 1371.53 cm^{-1} corresponden a los metilos y metilenos presentes en la estructura. Las bandas en 1688.51 y 1663.74 cm^{-1} son debidas a los carbonilos α,β -insaturados en C-6 y C-20 respectivamente. En 1233.93 cm^{-1} tenemos señales de estiramiento provocadas por los carbonilos de las cetonas presentes.

En el espectro de RMN ^1H (Espectro 27, pág. 82) se observan las señales en 0.928, 1.043 y 2.275 ppm corresponden a los metilos en C-10, C-13 y C-20 respectivamente que no sufrieron cambios. Sin embargo, la señal debida al metilo del éster en C-3 desapareció, confirmando de esta manera que la reacción de hidrólisis se llevó a cabo.

Las señales en 6.189 y 6.710 ppm que integran para un protón corresponden a los protones de los carbonos vinílicos C-4 y C-16 respectivamente y la señal en 4.251 ppm que integra para un protón se asigna al protón en C-3.

Dentro de los desplazamientos químicos más importantes en RMN ^{13}C (Espectros 28 y 29, págs. 83 y 84) tenemos la señal en 67.173 ppm, que corresponde al carbono base del oxhidrilo en C-3. Los carbonos vinílicos C-4, C-16, C-5 y C-17 presentan señales en 133.219, 143.920, 146.498 y 154.850 ppm respectivamente. En 15.757, 19.762 y 27.089 ppm se encuentran las señales asignadas a los metilos presentes en la molécula y se mantuvieron inalteradas. También se mantuvieron constantes las señales en 196.656 ppm que corresponden al carbonilo en C-20 y la señal en 202.376 ppm al carbonilo presente en C-6.

En la EMIE (Espectro 30, pág. 85) se nota un ion molecular en 328 m/z que corresponde al peso molecular del compuesto **AO-5** y también es el pico base del espectro. La pérdida de un fragmento $[\text{CH}_3^*]$ del ion molecular se observa en el pico de 313 m/z. El pico observado en 285 m/z se debe a la pérdida de $[\text{CH}_3\text{C}=\text{O}^*]$ del ion molecular y un pico muy pequeño en 295 m/z es debido a la deshidratación del alcohol en C-3 a partir del fragmento en 313 m/z.

3-(p-Fluorobenzoiloxi) preña-4,16-dien-6,20-ona (AO-6). La esterificación del grupo oxhidrilo en C-3 del compuesto **AO-5** se llevó a cabo con ácido p-fluorobenzoico, diciclohexilcarbodiimida y dimetilaminopiridina en diclorometano como medio de reacción, originando un éster nuevo no descrito en la literatura cuya estructura se elucidó por sus propiedades físicas y espectroscópicas informadas en las tablas 13 y 14 (pág. 45). El rendimiento para esta reacción como ya se mencionó fue del 65.2%

Debido a que este nuevo compuesto mantiene en su estructura dos cromóforos, 4,16-dien-6,20-diona se determinó la presencia de éstos por medio de un máximo de absorbancia a 235.33 nm con la ayuda de la espectroscopia UV (Espectro 31, pág. 85).

El espectro de IR (Espectro 32, pág. 86) confirma la esterificación del oxhidrilo en C-3, ya que la banda en la zona de los alcoholes presente en el espectro anterior de **AO-5** desaparece. La señal en 3085.89 cm^{-1} corresponde a las insaturaciones presentes en el anillo aromático.

Se tiene además una nueva señal en 1723.31 cm^{-1} debida al carbonilo del nuevo éster formado; también, en 1258.43 cm^{-1} y 1232.00 cm^{-1} podemos observar señales de estiramiento C-O características del mismo éster. Una señal importante en 762.96 cm^{-1} indica la monosustitución del anillo aromático presente en **AO-6**. Las señales en 2943.90 y 1366.42 cm^{-1} corresponden a los metilos y los metilenos presentes y las señales de los carbonilos α,β -insaturados en C-6 y C-20 se pueden apreciar en 1690.60 y 1629.29 cm^{-1} respectivamente.

En la RMN ^1H (Espectro 33, pág. 86) tenemos las señales características de los metilos en C-10, C-13 y C-20 en 0.944 , 1.106 y 2.283 ppm . En 5.571 ppm tenemos una señal múltiple que integra para un protón, asignada al protón presente en C-3. Las señales en 6.215 y 6.714 ppm corresponden a los protones de los carbonos vinílicos C-4 y C-16 respectivamente.

Otras nuevas señales corroboran la formación del éster en C-3; la primera en 7.113 ppm es una señal múltiple que integra para dos protones y fue asignada a los protones en posición meta (C3-3') al flúor presente en el anillo aromático y la segunda que también es una señal múltiple que integra para dos protones en 8.074 ppm y cuya asignación corresponde a los protones en posición orto (C3-C4') al flúor del anillo aromático.

El análisis de la RMN ^{13}C (Espectro 34 y 35, págs. 87 y 88) para **AO-6** también confirma la esterificación del oxhidrilo en C-3, puesto que en la zona de los carbonilos además de las señales de 201.967 y 196.582 ppm referentes a los carbonilos en C-6 y C-20 se observa otra señal en 164.160 ppm , que corresponde al carbonilo del éster p-fluorbenzoiloxi (C3-1'). También tenemos señales muy importantes en 115.640 , 128.928 y 132.255 ppm que se asignan a los carbonos C3-4', C3-2' y C3-3' del anillo aromático. La señal en 165.202 ppm corresponde al carbono base del flúor en el anillo aromático (C3-5').

Las señales que permanecieron constantes son: 132.346 , 143.776 , 148.160 y 154.893 ppm que corresponden a los carbonos vinílicos C-4, C-16, C-5 y C-17 respectivamente, así como las señales a campo alto en 15.790 , 19.623 y 27.117 ppm características de los metilos en C-10, C-13 y C-20. La señal en 70.066 ppm corresponde al carbono base del éster en C-3.

En la EMIE (Espectro 36, pág. 89) se nota un ion molecular en 450 m/z que corresponde al peso molecular del compuesto **AO-6**. Cuando este ion molecular pierde el fragmento $[HF]^+$, se observa una señal en 432 m/z. El pico base se encuentra en 123 m/z y se debe a la formación del ion tropilio $[F-(C_6H_4)-C=O]^+$.

3-(p-Bromobenzoiloxi) preña-4,16-dien-6,20-diona (AO-7). Para realizar otra reacción de esterificación del grupo oxhidrilo en C-3 del compuesto AO-5 se utilizó también el ácido p-bromobenzoico en diclorometano como disolvente con dicitclohexilcarbodiimida y dimetilaminopiridina; originando un éster nuevo no descrito en la literatura cuya estructura se elucidó por sus propiedades físicas y espectroscópicas informadas en las tablas 15 y 16 (pág. 47). El rendimiento de esta reacción, como se dijo, fue del 65.2%. Debido a que este nuevo compuesto presentó dos cromóforos en 4,16-dien-6,20-diona se determinó su presencia por medio de un máximo de absorbancia a 243.88 nm a través de la espectroscopía UV (Espectro 37, pág. 89).

En el espectro de IR (Espectro 38, pág. 90) se observa la desaparición de la banda ancha en la zona de los alcoholes, lo que confirma la esterificación del grupo hidroxilo en C-3. La señal en 3424.54 cm^{-1} se debe a los sobretonos de estiramiento provocada por los carbonilos presentes en este nuevo compuesto. En 2941.10 , 2868.09 y 1366.87 cm^{-1} se observan las señales características de metilos y metilenos de la molécula. La señal en 1721.15 cm^{-1} corresponde al carbonilo del éster, y las bandas en 1665.42 y 1635.98 cm^{-1} se deben a los carbonilos α,β -insaturados en C-6 y C-20 respectivamente. También se tienen señales en 1270.60 y 12756.97 cm^{-1} que corresponden al estiramiento C-O-C de éster, así como la señal de estiramiento C=C en 1635.98 cm^{-1} : La banda en 750.28 cm^{-1} indica la monosustitución del anillo aromático.

En la RMN 1H (Espectro 39, pág. 90) las señales características de los metilos en C-10, C-13 y C-20 aparecen en 0.943, 1.105 y 2.280 ppm. En 5.570 ppm se tiene una señal múltiple que integra para un protón, y se asigna al Hidrógeno que se encuentra en C-3. Las señales de los protones vinílicos en C-4 y C-16 aparecen en 6.206 ppm y 6.711 ppm respectivamente.

La señal múltiple en 7.567 ppm que integra para dos protones se asignó a los protones en posición meta (C3-3') al bromo presente en el anillo aromático, y la señal múltiple que también integra para dos protones en 7.898 ppm corresponde a los protones en posición orto (C3-4') al bromo del anillo aromático. Ambas señales confirman la esterificación del compuesto **AO-5**.

El análisis de la RMN ^{13}C (Espectro 40 y 41, págs. 91 y 92) confirmó la esterificación de **AO-5**, ya que en zona de los carbonilos además de las señales de 201.806 y 196.544 ppm referentes a los carbonilos en C-6 y C-20, también se observa otra señal en 165.421 ppm que corresponde al carbonilo en posición C3-1'. También se tienen señales muy importantes en 128.219, 128.751, 131.230 ppm que se asignan a los carbonos del anillo aromático en C3-2', C3-3' y C3-4' respectivamente. La señal en 128.952 se asigna al carbono base del Bromo presente en posición C3-5'. Las señales que permanecen constantes son: 131.674, 143.734, 148.221 y 154.883 ppm que corresponden a los carbonos vinílicos en C-4, C-16, C-5 y C-17 respectivamente y las señales de los metilos en C-10, C-13 y C-20, que aparecen en 15.776, 19595 y 27.098 ppm. La señal en 70.165 ppm se debe al carbono base del éster en C-3.

La EMIE (Espectro 42, pág. 93) confirmó un ion molecular en 510 m/z correspondiente al peso molecular de **AO-7**. También aparece una señal en 512 m/z correspondiente a $M+2$, indicando la presencia de bromo en la molécula. El pico base se encuentra 183 m/z y 185 m/z, que corresponde al fragmento del ion tropilio $[\text{Br}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{C}=\text{O}]^+$. Los picos a 327 m/z y 329 m/z se deben a la pérdida del fragmento $[\text{Br}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{C}=\text{O}]^+$ a partir del ion molecular.

6.2. Discusión de los Ensayos Biológicos.

Los resultados del ensayo biológico *in vivo* (tabla 17, pág. 48) muestran que los animales inyectados con T incrementan el peso de la próstata con respecto al control (animales sin tratamiento). Mientras que aquellos animales que se trataron con T y Finasterida presentaron la disminución del peso de la próstata tal y como se esperaba.

Ahora bien, los compuestos **AO-5**, **AO-6** y **AO-7** también disminuyeron el peso de la próstata, aunque no por debajo de la disminución provocada por la Finasterida. Los resultados obtenidos del ensayo *in vitro* para la inhibición de esta enzima (tabla 18, pág. 49) demuestran que los compuestos estudiados no son inhibidores ya que no presentan un IC_{50} que permita decir lo contrario, como en el caso de la Finasterida, cuyo IC_{50} es de 10 mM.

Por otra parte tenemos los resultados de unión a receptores (tabla 19 y gráfica 1, págs. 49 y 50), en donde podemos observar que de los tres compuestos evaluados sólo el compuesto **AO-7** presentó una menor constante de inhibición ($K_i=1.44$ mM); con respecto a la DHT ($K_i=2.14$ mM).

Esto quiere decir que sí existe afinidad por parte del compuesto **AO-7** hacia los receptores androgénicos presentes en vesícula seminal y próstata, y que esta afinidad es superior a la que presenta DHT, pues la cantidad de compuesto **AO-7** necesaria para inhibir el 50% de los sitios de unión al receptor es menor que la necesaria de DHT para inhibir el mismo 50% (gráfica 2, pág. 50).

La disminución del tamaño de la próstata provocada por los compuestos **AO-5** y **AO-6** puede deberse a la alteración del **eje hipotalámico-hipófisis-glándula**, en donde se presenta una inhibición en la síntesis del factor liberador de gonadotropinas provocando una disminución de la concentración de hormona luteinizante (LH) y por consiguiente disminuyendo la producción de andrógenos por las células de Leyding, afectando de esta manera el peso de la próstata.

Al parecer el peso de la próstata se vio afectado al administrar diariamente durante seis días 1 mg de cada compuesto a los hámsters dando como resultado un incremento en los niveles esteroidales del organismo, alterando así eje hipotalámico-hipófisis-glándula antes mencionado.

7. CONCLUSIONES

- Se logró la síntesis, identificación y evaluación biológica de dos nuevos compuestos esteroideos derivados de la progesterona: 3-(p-fluorobenzoiloxi) pregn-4,16-dien-6,20-diona (**AO-6**) y 3-(p-bromobenzoiloxi) pregn-4,16-dien-6,20-diona (**AO-7**).
- Estos compuestos (**AO-5**, **AO-6** y **AO-7**) no se comportan como inhibidores de la enzima 5α -reductasa. Por lo tanto no tienen actividad antiandrogénica a través de este mecanismo. Sin embargo, su acción androgénica puede atribuirse a la modificación del eje hipotálamo-hipófisis-glándula, inhibiendo la síntesis de andrógenos endógenos.
- El compuesto **AO-7** presentó afinidad por los receptores androgénicos localizados en citosol de vesícula seminal y próstata, mostrando el carácter antiandrogénico de la molécula.

8. ABREVIATURAS

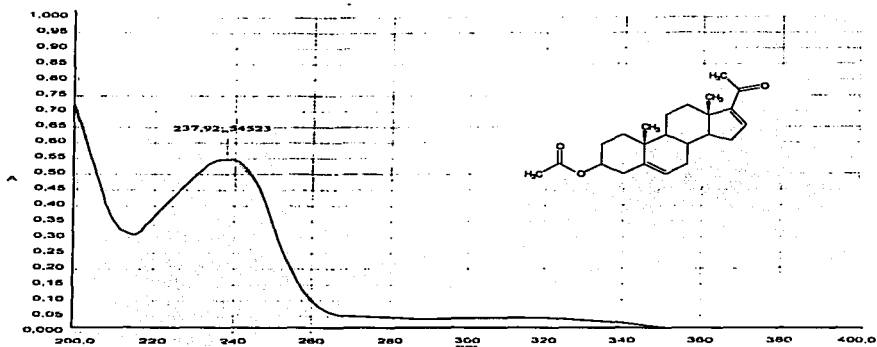
CCF	Cromatografía en Capa Fina.
DHT	Dihidrotestosterona.
EMIE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico.
FSH	Hormona estimulante del folículo.
GnRF	Factor liberador de la gonadotropina.
HCl-Tris	Tris Hydrohymethyl aminomethane hydrochloride $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3\bullet\text{HCl}$
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna.
IR	Infrarrojo.
Km	Constante de Michaelis-Menten.
LH	Hormona Luteinizante.
m/z	Relación masa/carga.
M⁺	Ion molecular.
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato en su forma reducida.
NADP⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato en su forma oxidada.
p.f.	Punto de fusión.
ppm	Partes por millón.
REA	Relación Estructura-Actividad, en inglés SAR.
RMN¹H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica.
RMN¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.
T	Testosterona.
UV	Ultravioleta.
UMA	Unidades de masa atómica.
V.S.	Vesículas seminales.

8. BIBLIOGRAFÍA

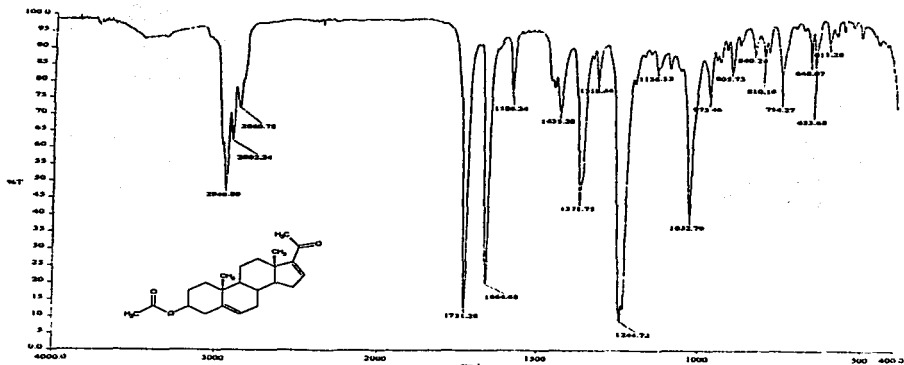
1. Tortora, G.; Anagnostakos N. "Principios de Anatomía y Fisiología", Editorial Harla., 3ª Edición., México, D.F., 1984.
2. Cesorsimo, R.; Carr D. *Health-Syst Pharm.* (1996), 53,381-383.
3. Hoocker, C.W. "Reproduction in the male". In Ruch, T.C.; Patton H.D. *Physiology and Biophysics.*, 19th De. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1965, 1205-1208.
4. Fruzzeetti, F.; Bersi, Ch.; Parrini, D.; Ricci, C.; Genazzani, A.R. *Fertility and Sterility* (1999), 71, 445-451.
5. Sánchez Huerta, N. Síntesis de 17α -butirilo- 16β -metilpregna-4,6-dien-3,20-diona como un antiandrógeno esteroidal, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, 2000.
6. Cabeza, M., et. al. *Steroids* (1999), 64, 413-421.
7. Litter, M. "Farmacología Experimental y Clínica", 6ª Edición., Editorial El Ateneo., Argentina (1980); pp.1218-1230.
8. Martínez, A. 17α -hidroxi- 16β -metil-4,6-pregnadien-3,20-Diona como un intermediario en la síntesis de Andrógenos. Tesis de Licenciatura de la Facultad de Química de la UNAM, México, 1997.
9. Tayler, V. "Pharmacognosy", Editorial Lea & Febiger, 8ª Edición., Philadelphia, USA. 1981. Capítulo 7.
10. Scott, J.; Engel, L. *Mechanism of Action of Steroid Hormones.*, Pregnamon Press N.Y., 1961.
11. Bratoeff, E.; Herrera, H.; Ramírez, E.; Solórzano, K.; Murillo, E.; Quiroz, A; y Cabeza, M. *Chemical Pharmaceutical Bulletin.* (2000), 48,1249-1255.
12. Wilson, J.D. *New England J. Med.* (1972),1284-1288.
13. Bratoeff, E.; Flores, G.; Ramírez, E.; Valencia, N.; *Chimica Oggi/Chemistry Today.* (1997), 15, 67-69.
14. Kochakian, C.D.; Arimasa, N. *Handb. Exp. Pharmacol.*(1997), 43,287-359.
15. Labrie F.; Sugimoto, Y. *Endocrinology*, (1992),131,pp.1571.

16. Catalona, W.J.; and Scott, W.W. "Carcinoma of the prostate in Walsh In: Campbel's Urology", Voll. Walsh, P.C.; Retik, A. B.; Stamey, T.A.; Vaughan, E.D.; (Eds) W.B. Saunders: Philadeiphia, 1986, 1463-1464.
17. Hernández, L.F. "*Curso Teórico de Toxicología*", Capítulo 11, Facultad de Química, UNAM, México, 2001.
18. Shankar M.; Li, X.; Leplante S. *J.Med.Chem*, (1995), 38,1456.
19. Calderón, D. et. al., *Revista Mexicana de las Ciencias Farmacéuticas* (1997), 28,24-29.
20. Goodman & Gilman's, "The Phatmacological Basis of Therapeutics", Mc-Graw Hill, 9th edition, Table 5-1, USA, 1996.
21. Bratoeff, E.; Flores, G.; Ramírez, E.; Calderón, D.; y Hernández, E. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* (1997), 28, 13-19 y 24-29.
22. Bratoeff, E.; Rubio, M.; Ramírez, E.; Flores, G.; García, J.; y Ramírez, G. *Chemistry Today.*, 1998,22,33-35.
23. Bratoeff, E.; Ramírez, E.; Murillo, E.; Flores, G.; Cabeza, M. *Current Medicinal Chemistry*, (1999), 53, 1007-1023.
24. Cabeza, M., et. al., *Proc. West. Pharmacological Soc.* (1998), 41, 87-88.

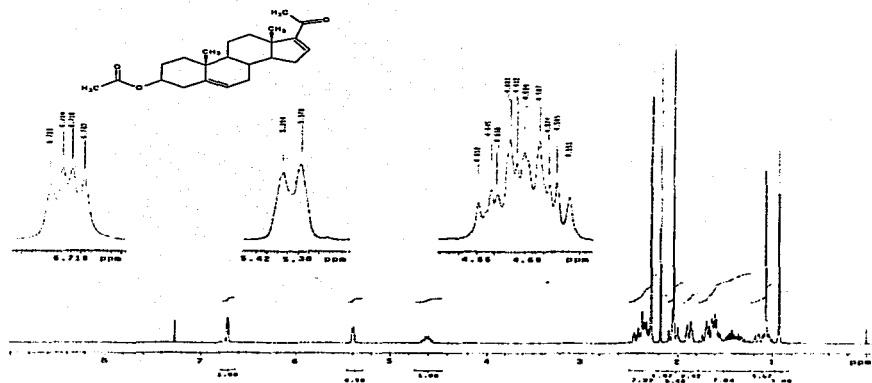
10. APÉNDICE



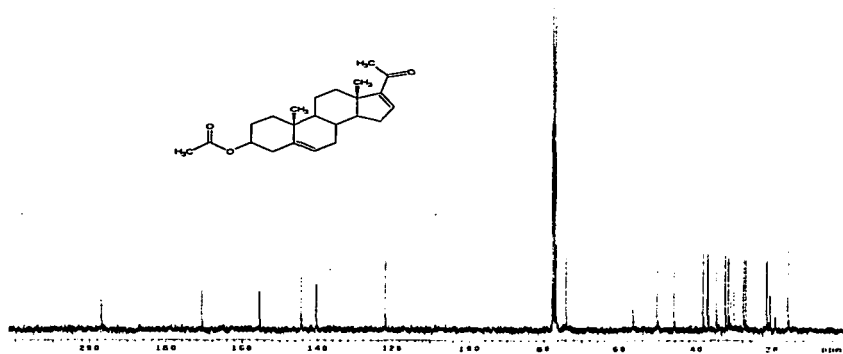
Espectro 1. UV de 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).



Espectro 2. IR de 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).

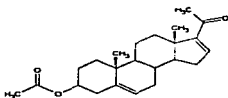


Espectro 3. RMN¹H de 3β-Acetoxy-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).



Espectro 4. RMN¹³C de 3β-Acetoxy-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).

CH3 carbons



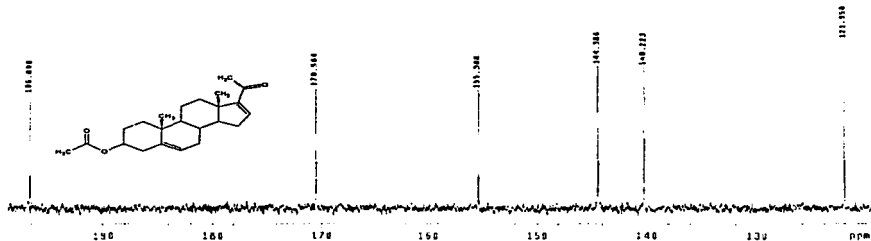
CH2 carbons

CH carbons

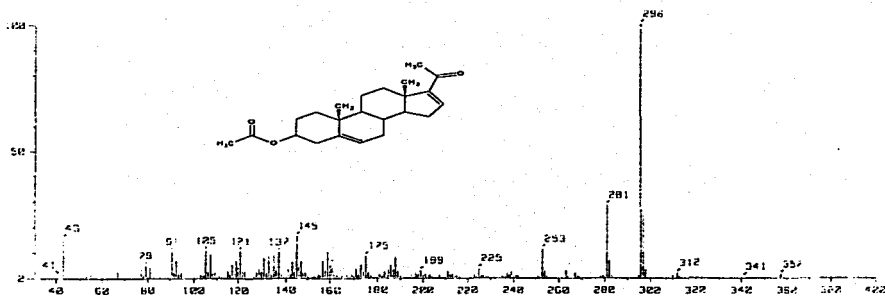
all protons carbons

200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

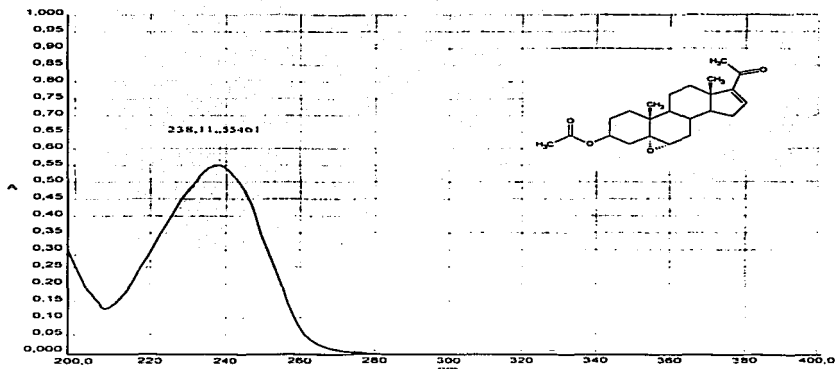
Espectro 5. RMN¹³C en versión DEPT de 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).



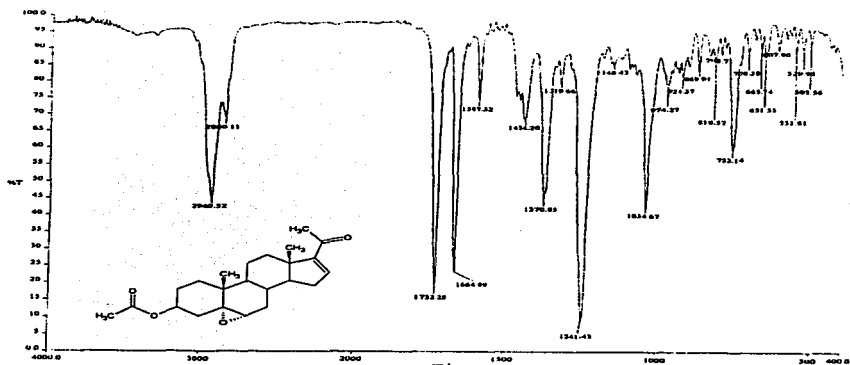
Continuación del DEPT de 3β-Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).



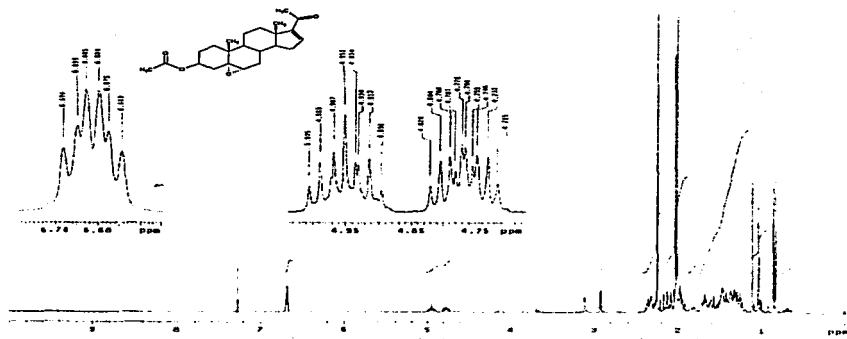
Espectro 6. EMIE de 3 β -Acetoxi-5,16-pregnadien-20-ona (AO-1).



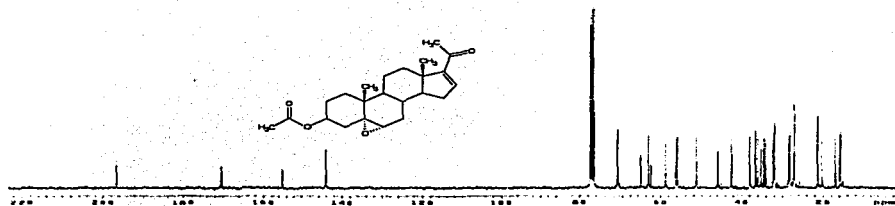
Espectro 7. UV de 3-Acetoxi-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



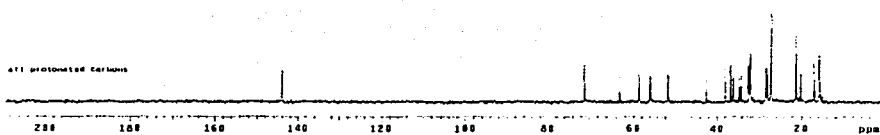
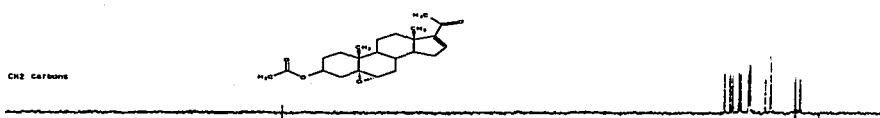
Espectro 8. IR de 3-Acetoxy-5,6-epoxy-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



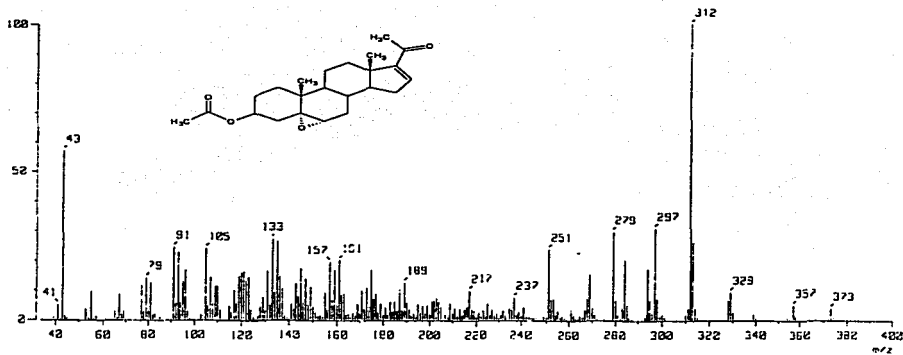
Espectro 9. RMN ¹H de 3-Acetoxy-5,6-epoxy-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



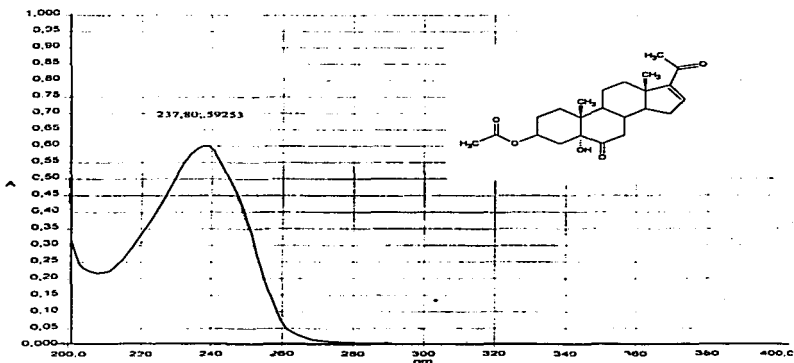
Espectro 10. RMN ^{13}C de 3-Acetoxy-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



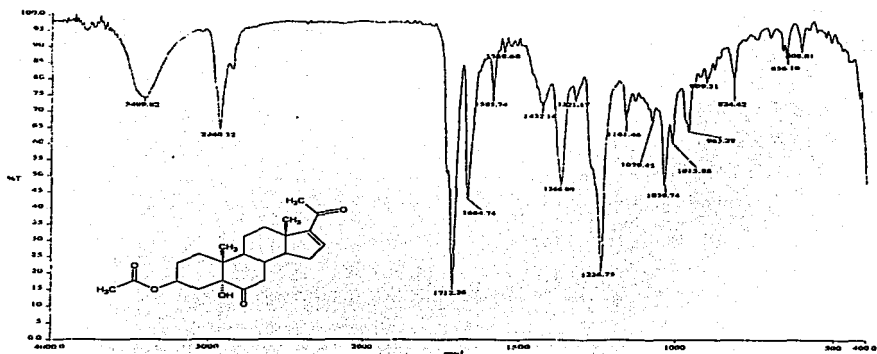
Espectro 11. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-Acetoxy-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



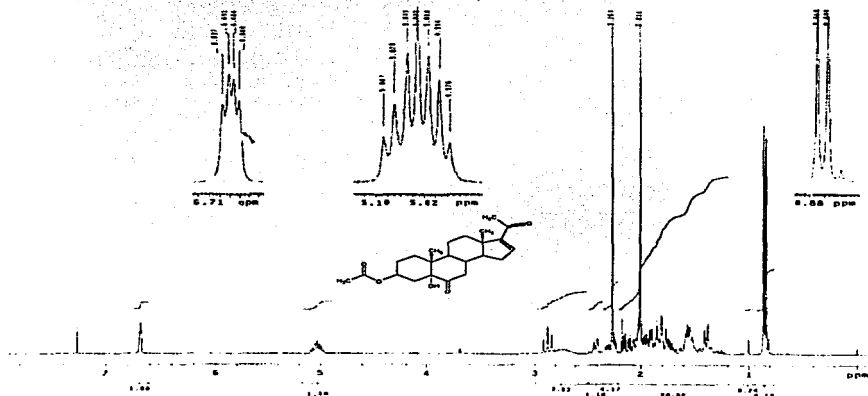
Espectro 12. EMIE de 3-Acetoxy-5,6-epoxi-pregn-16-en-20-ona (AO-2).



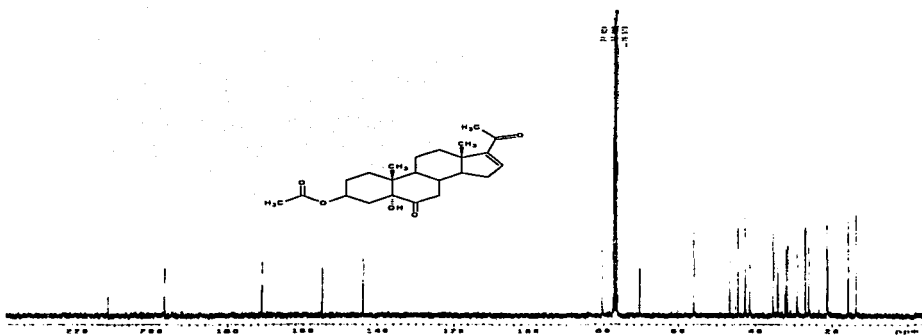
Espectro 13. UV de 3-Acetoxy-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).



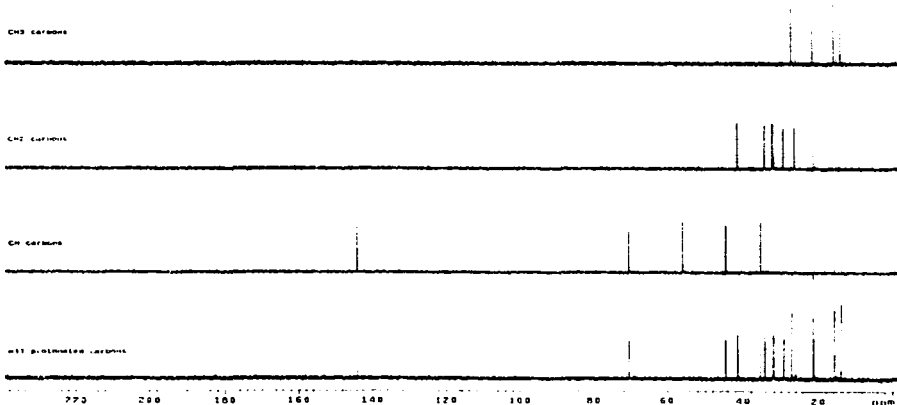
Espectro 14. IR de 3-Acetoxy-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).



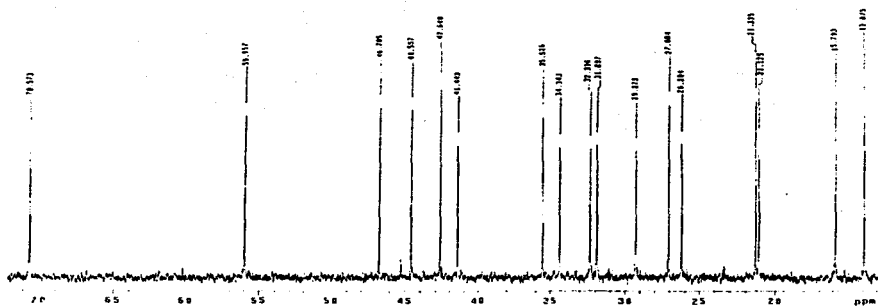
Espectro 15. RMN ^1H de 3-Acetoxy-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).



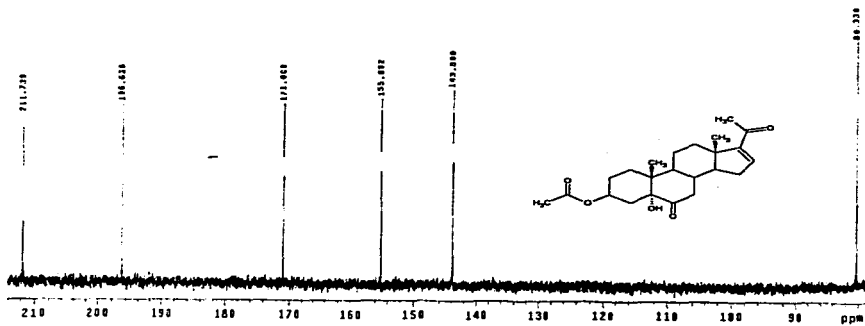
Espectro 16. RMN ^{13}C de 3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).



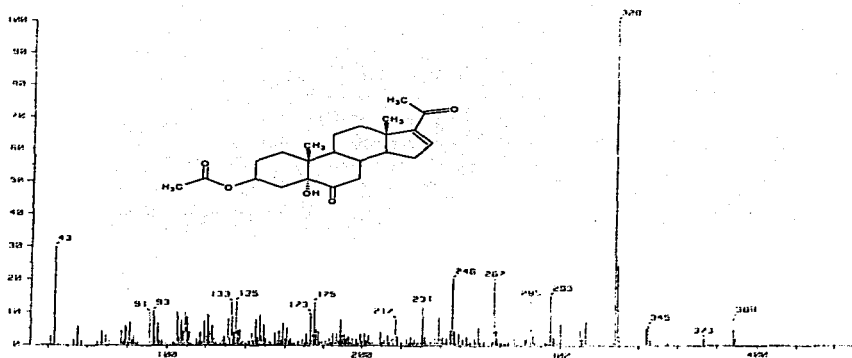
Espectro 17. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-Acetoxi-5-hidroxi-pregn-16-en-6,20-diona (AO-3).



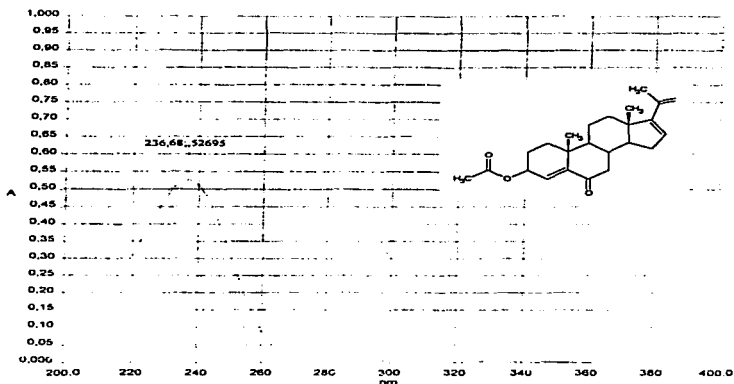
Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-3



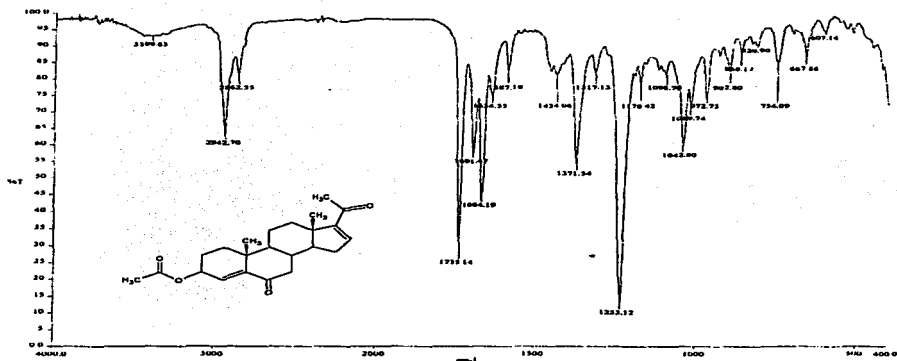
Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-3



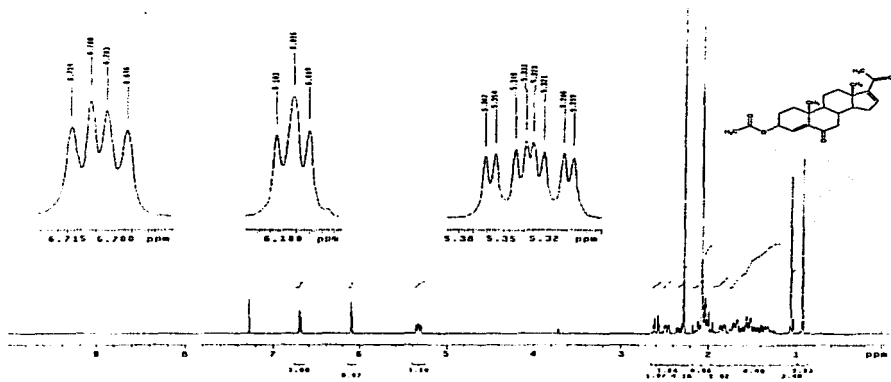
Espectro 18. EMIE de 3-Acetoxy-5-hidroxi-pregna-16-en-6,20-diona (AO-3).



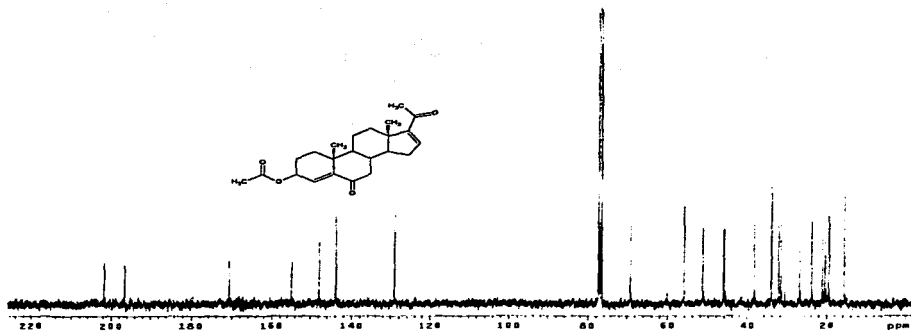
Espectro 19. UV de 3-Acetoxy-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



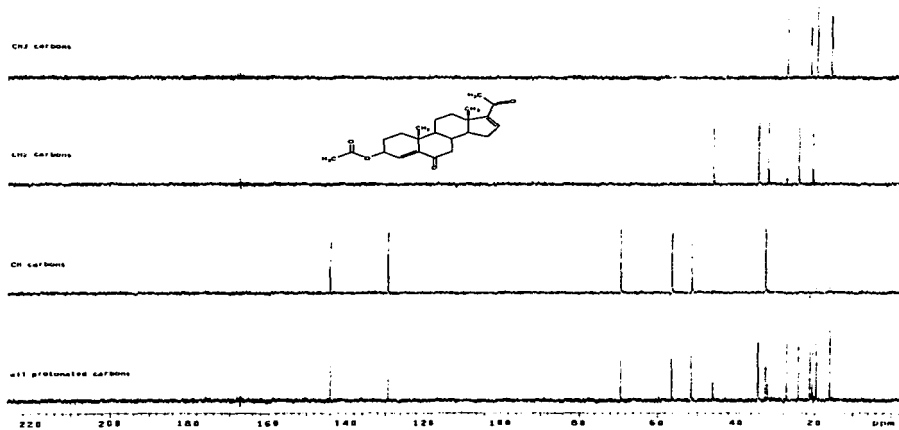
Espectro 20. IR de 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



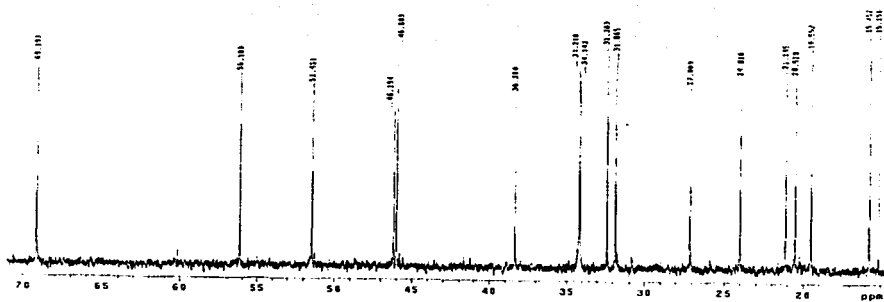
Espectro 21. RMN ^1H de 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



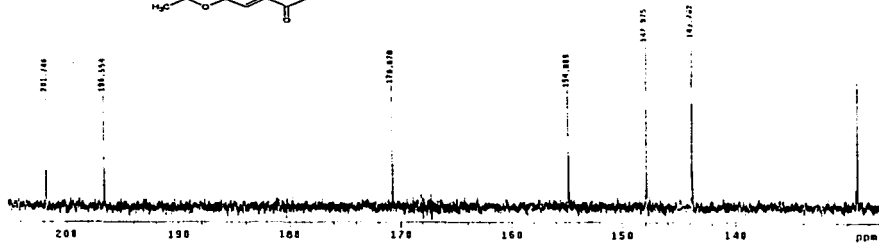
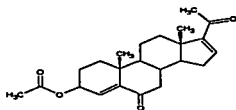
Espectro 22. RMN ^{13}C de 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



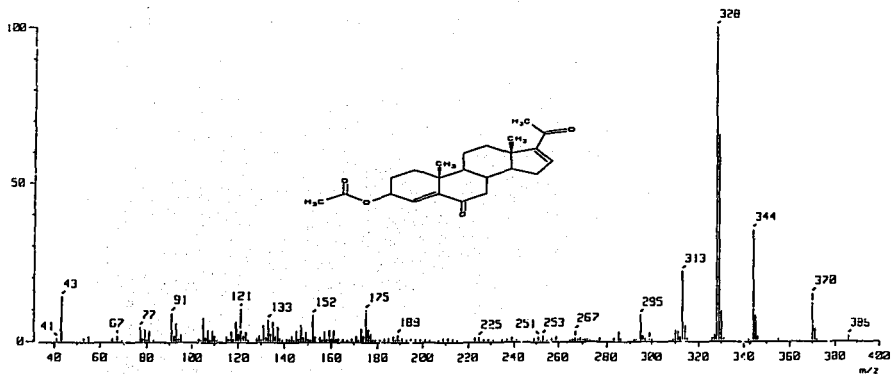
Espectro 23. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-Acetoxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



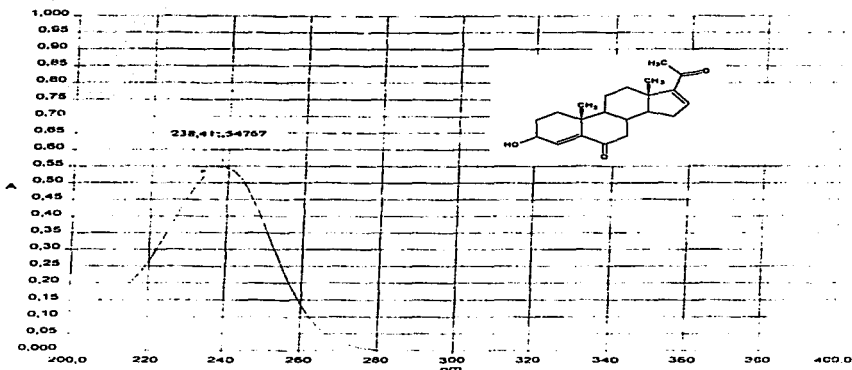
Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-4.



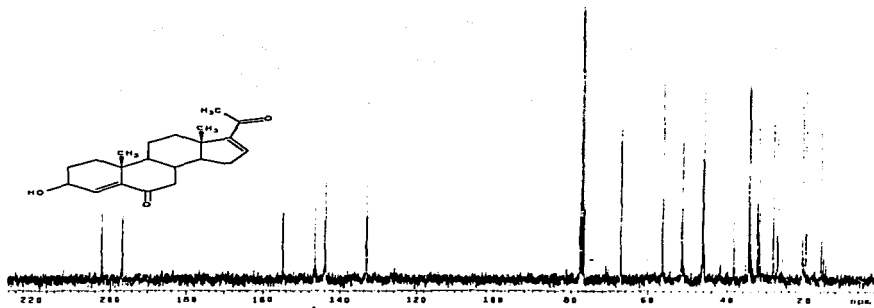
Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-4.



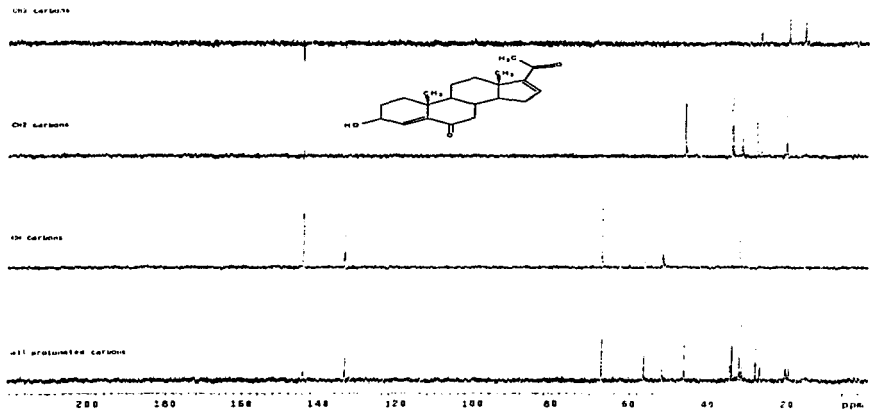
Espectro 24. EMIE de 3-Acetoxy-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-4).



Espectro 25. UV de 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5).

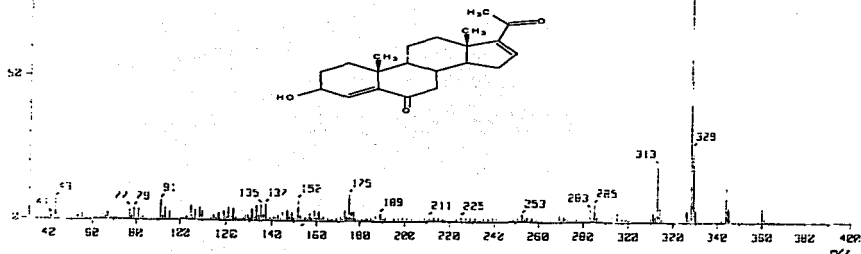


Espectro 28. RMN ^{13}C de 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5).

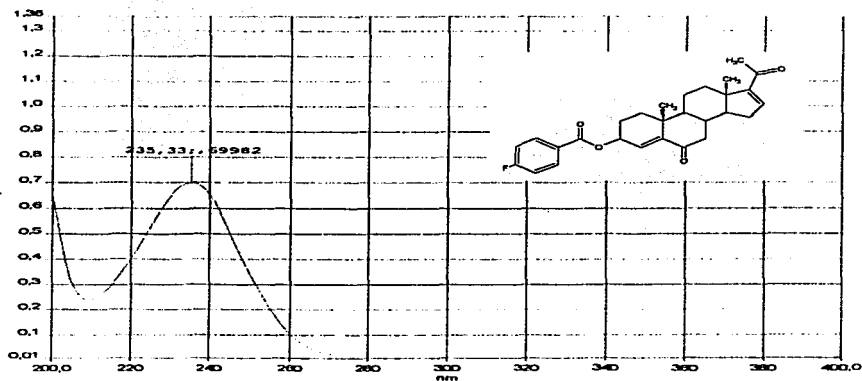


Espectro 29. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5).

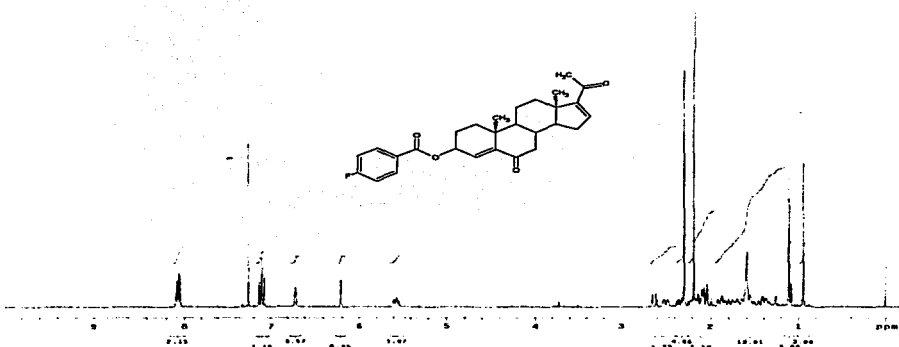
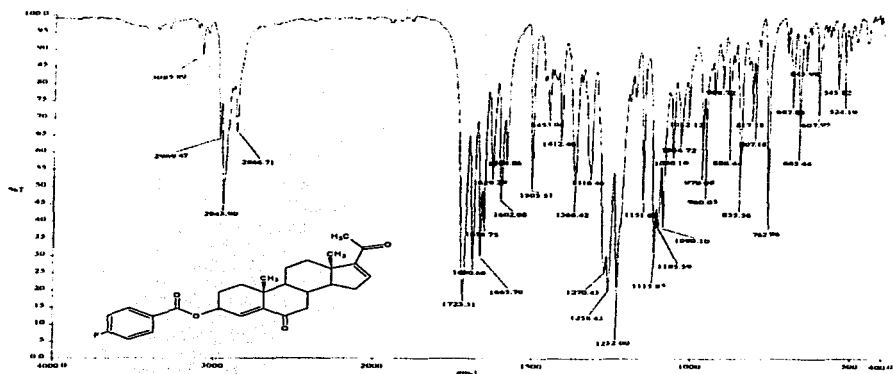
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

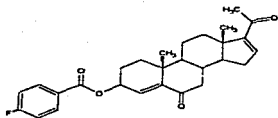


Espectro 30. EMIE de 3-Hidroxi-pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-5).

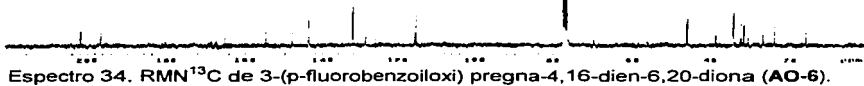


Espectro 31. UV de 3-(p-Fluorobenzoiloxi)pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-6).

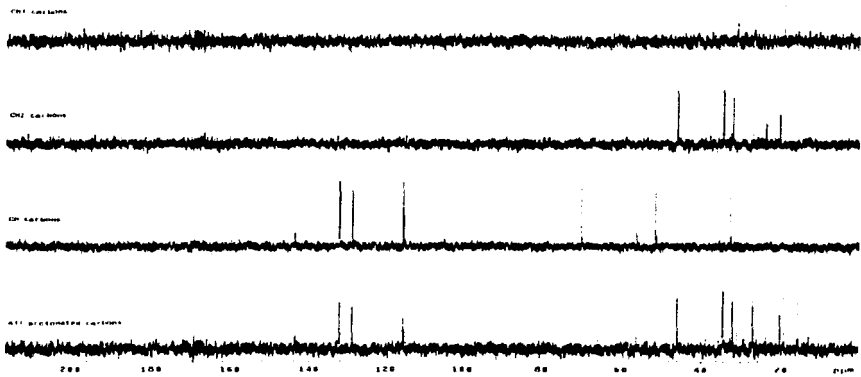




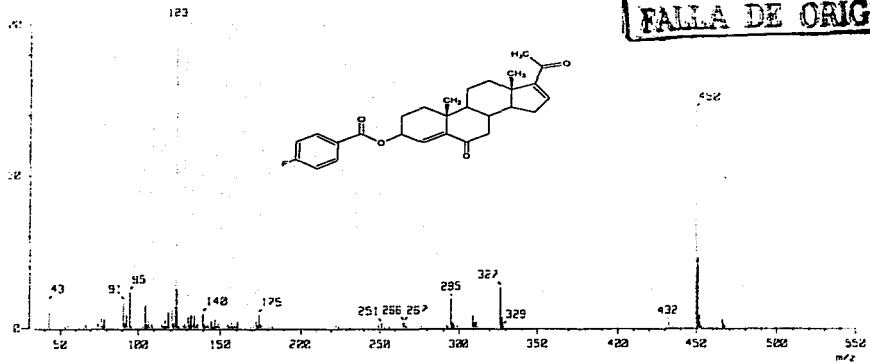
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



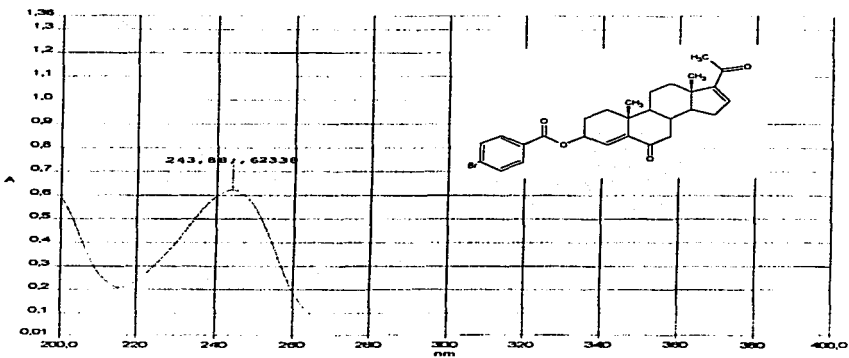
Espectro 34. RMN ^{13}C de 3-(p-fluorobenzoiloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-6).



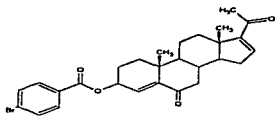
Espectro 35. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-(p-fluorobenzoiloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-6).



Espectro 36. EMIE de 3-(p-fluorobenzoyloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-6).



Espectro 37. UV de 3-(p-bromobenzoyloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-7).



Espectro 40. RMN ^{13}C de 3-(p-bromobenzoyloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-7).

CH3 carbonos



CH2 carbonos



CH carbonos

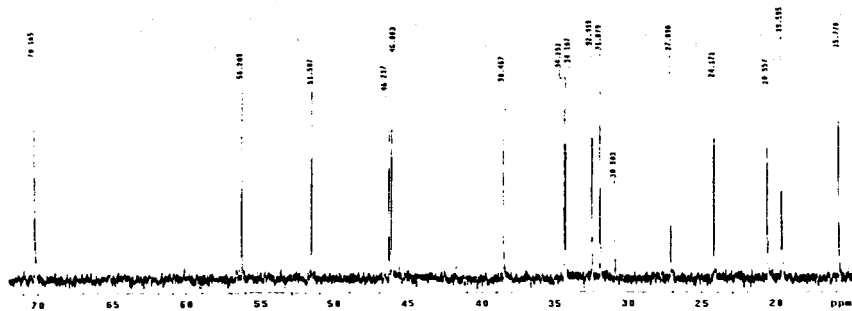


all protonated carbons

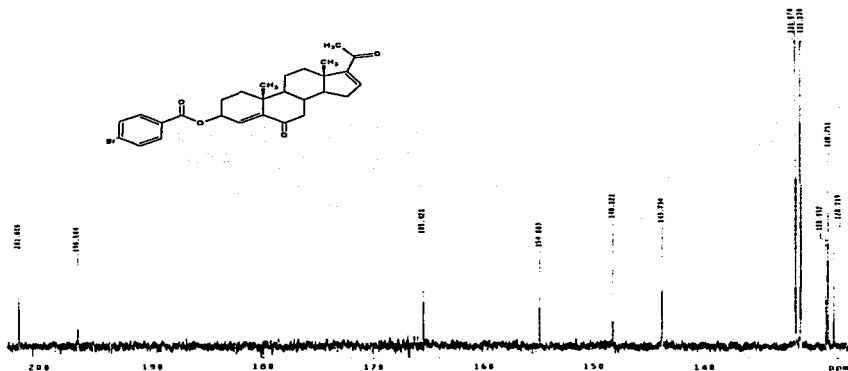
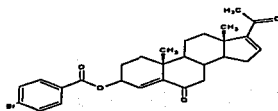


220 180 160 140 120 100 80 60 40 20 ppm

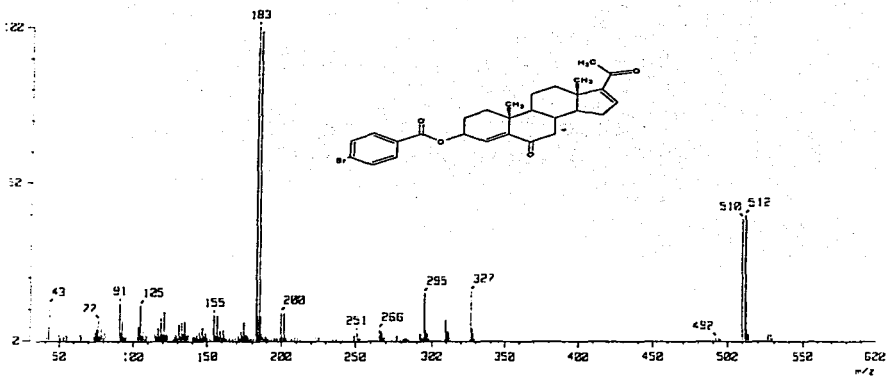
Espectro 41. RMN ^{13}C en versión DEPT de 3-(p-bromobenzoyloxi) preгна-4,16-dien-6,20-diona (AO-7).



Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-7.



Continuación del espectro de RMN ^{13}C en versión DEPT de AO-7.



Espectro 42. EMIE de 3-(p-bromobenzoiloxi)pregna-4,16-dien-6,20-diona (AO-7).

TESIS CON
FACULTAD DE QUÍMICA DE ORIGIN