



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA
DESHIDROEPIANDROSTERONA CON UN GRUPO
METOXILO EN LA POSICIÓN C-17 Y UN GRUPO
ÉSTER EN 3 β - COMO POSIBLES INHIBIDORES DE
LA ENZIMA 5 α -REDUCTASA Y/O ANTAGONISTAS
DEL RECEPTOR ANDROGENICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

GLADYS JAQUELINNE NIEVES ZAMUDIO

MÉXICO, D.F.

2012





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado Asignado:

Presidente: Consuelo García Manrique
Vocal: Eduardo Guillermo Ramón Marambio Dennett
Secretario: G. Yazmín Arellano Salazar
1er Suplente: Elena Guadalupe Ramírez López
2do Suplente: Eugene Bratoeff Titeff

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 125, Edificio E, Facultad de Química, Universidad Nacional
Autónoma De México

Asesor del tema:

M. en C. G. Yazmín Arellano Salazar

Supervisor técnico:

Dr. Eugene Bratoeff

Sustentante:

Gladys Jaquelinne Nieves Zamudio

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por el apoyo económico para la realización de este proyecto.

A la M. en C. G. Yazmín Arellano y al Dr. Eugene Bratoeff quienes me brindaron su apoyo académico para la realización de este proyecto de investigación.

A la Dra. María Teresa Odulia Ramirez Apan por su gran aportación en la determinación de la actividad biológica de los compuestos sintetizados.

Al personal de la USAI por la realización de los espectros de IR, RMN¹-H, RMN-¹³C y espectrometría de masas de los compuestos sintetizados.

Al Q.F.B. Juan Francisco Cortés Benítez por el préstamo de su equipo computacional y sus conocimientos compartidos.

A los integrantes del jurado por los comentarios, sugerencias y aportaciones hechos a este trabajo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio 125 del Departamento de Farmacia en el Edificio E de la Facultad de Química, por el apoyo que me brindaron durante el desarrollo de este trabajo.

*P*ara todas aquellas
personas que han
llegado a mi vida y
para bien o para mal
han dejado un
aprendizaje en mi.

J.H.

AGRADECIMIENTOS

Empezare agradeciendo conforme ha ido transcurriendo mi vida.

Primeramente agradezco a mis padres Hilda Zamudio Cortez y Gustavo A. Nieves Días por darme la vida y por sustentar mis estudios, son muy fuertes, valientes y a la vez frágiles, a mis hermanas Selenia, Carina, Diana y Cynthia que bien o mal han influido en mi carácter para luchar por lo que amo y me gusta.

Agradezco a mis amigas Alexis, Liliana y Nadia quienes han estado para apoyarme siempre que lo he necesitado.

Agradezco a mis amigas Nancy, Alfonsina, Adriana y Maru con quienes he aprendido a convivir y a respetar nuestras ideas divergentes, y en quienes me he apoyado durante toda la carrera.

Agradezco al Dr. Rafael Castillo por darme la oportunidad de hacer una estancia en su laboratorio, a Jaime y Toño por mis primeros aprendizajes en el camino de la investigación.

Al Dr. Alfonso Lira por brindarme la oportunidad de estar en su laboratorio, y así aprendiendo más sobre este camino de la investigación y por alentarnos a aprender de los congresos.

Al Dr. Eugene Bratoeff por la oportunidad de realizar el actual trabajo y por compartir sus conocimientos.

A Yaz quien guío mi trabajo y de quien he aprendido tanto.

A la Dra. Elena por el apoyo y consejos que nos brinda en cada obstáculo.

A la Dra. Isabel por una grata convivencia, se le extraña!!!!

A mis compañeros del 125, Francisco, Alejandra, Alejandro, Iván, Aylin, Luis, José, Anita, Alberto, Karen 1 y Karen 2 por todos aquellos momentos agradables compartidos en el laboratorio, por sus consejos, apoyo y por escucharme.

A mis bellysisters quienes siempre me han apoyado, escuchado, me han compartido sus experiencias y me han dado ánimos para seguir adelante.

A mi pandillita salsera que siempre han estado ahí para apoyarme, escucharme y que aunque tengamos ideas divergentes sé que siempre van a estar para mi.

Y a todos aquellos que no fueron mencionados pero que estuvieron en cualquier etapa de mi vida desde aquellas personas que pasaron, hasta mis amigos, compañeros, mis bellysisters, mi pandillita salsera, mi familia de sangre, mis familias en la carretera, y no podían faltar todos los profesores de los cuales he aprendido mucho todos han sido parte importante para lograrlo, pues la vida no son un conjunto de coincidencias todo pasa por un fin.

Hay que saber agradecer a quienes lo ameritan, todos lo ameritan porque bien o mal dejaron un aprendizaje en mi y por eso lo valen.

Nunca se deja de aprender, vamos por más.



Saca la basura de tu mente. Aquel pensamiento que te distraiga de lo que realmente importa.

“Las tres reglas:

Primera: La paradoja. La vida es un misterio, no pierdas el tiempo deduciéndola.

Segunda: Humor. No pierdas tu sentido, sobre todo en ti. Te dará una fuerza colosal.

Tercera: Cambio. No hay nada que perdure.”

-El camino del guerrero



ÍNDICE

Índice de Figuras.....	V
Índice de Tablas.....	VI
Índice de Espectros.....	VIII
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	4
Ciclo celular.....	4
Cáncer.....	6
Iniciación.....	9
Promoción.....	10
Progresión.....	12
Histología y Patología de la Próstata.....	13
Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP).....	15
Cáncer de Próstata (CaP).....	16
Biomarcadores moleculares de cáncer de próstata y diagnostico.....	17
Tratamiento para la HBP.....	19
Tratamiento para el CaP.....	20
Blancos para el tratamiento de la enfermedad.....	20
Sistema endócrino.....	20
Hormonas Esteroideas.....	21
Andrógenos.....	23
5 α -reductasa.....	24
Receptor Androgénico.....	25



Fármacos Empleados.....	28
Finasterida.....	28
Dutasterida.....	28
III. Justificación.....	30
IV. Hipótesis.....	31
V. Objetivos.....	32
Objetivos generales.....	32
Objetivos Particulares.....	32
VI. Parte Experimental.....	34
Reactivos y Equipo.....	34
Cromatografía.....	35
Cromatografía de Capa Fina (ccf).....	35
Cromatografía en Columna (cc).....	35
Ruta de Síntesis.....	35
Obtención del 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno por la reacción de formilación de Vilsmeier-Haack.....	36
Obtención del 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	37
Obtención de los derivados 3 β -éster-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno por la reacción de esterificación de Stiglich.....	38
Características físicas, espectroscópicas y espectrometrías de los compuestos sintetizados.....	39
3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno.....	39
16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	39
3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	40
3 β -ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	41
3 β -ciclobutiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	41



3 β -ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	42
3 β -ciclohexiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	43
3 β -cicloheptiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	43
Evaluación Biológica.....	44
Material Biológico.....	44
Sustancias y Equipo.....	44
Ensayo <i>in vitro</i> , citotoxicidad en líneas celulares.....	45
Análisis Computacional.....	47
VII. Discusión de Resultados.....	50
VIII. Conclusiones.....	53
IX. Perspectivas.....	54
X. Bibliografía.....	55
XI. Anexo.....	60



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo celular.....	5
Figura 2. Incidencia de cáncer a nivel mundial.....	6
Figura 3. Características de una célula maligna.....	8
Figura 4. Etapas de la Carcinogénesis química y los sucesos involucrados.....	13
Figura 5. Anatomía de la Próstata.....	13
Figura 6. Esquema de las zonas de la próstata.....	15
Figura 7. Testosterona (T) y Dihidrotestosterona (DHT).....	20
Figura 8. a) Ciclopentanoperhidrofenantreno b) Colesterol.....	21
Figura 9. Hormonas esteroideas.....	22
Figura 10. Eje gonadal masculino.....	24
Figura 11. Vía de señalización de apoptosis.....	27
Figura 12. Ruta de síntesis.....	35



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores que controlan y cambian la carcinogénesis química.....	7
Tabla 2. Principales características de las etapas del desarrollo carcinogénico....	12
Tabla 3. Clasificación de los síntomas en la HBP.....	16
Tabla 4. Estrategias terapéuticas para para la HBP.....	19
Tabla 5. Características y localización de las isoenzimas 5 α -reductasa.....	25
Tabla 6. Desventajas y Efectos secundarios de la Finasterida.....	28
Tabla 7. Desventajas y Efectos secundarios de la Dutasterida.....	29
Tabla 8. Compuestos propuestos para ser sintetizados y su nomenclatura.....	32
Tabla 9. Sistemas de elución empleados para la ccf.....	35
Tabla 10. Citotoxicidad en líneas cancerosas de humano.....	46
Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos calculados de los compuestos sintetizados..	47
Tabla 12. Ecuaciones obtenidas del volumen para cada línea celular.....	48
Tabla 13. Ecuaciones obtenidas del PSA para cada línea celular.....	48
Tabla 14. Ecuaciones obtenidas de la ovalidad para cada línea celular.....	48
Tabla 15. Ecuaciones obtenidas de la polarizabilidad para cada línea celular.....	48
Tabla 16. Ecuaciones obtenidas de Log P para cada línea celular.....	48
Tabla 17. Actividad antiproliferativa estimada y % de asertividad.....	49
Tabla 20. Compuestos sintetizados y su rendimiento global	50



ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. IR del compuesto (II) 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno.....	61
Espectro 2. RMN- ¹ H del compuesto (II) 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno.....	62
Espectro 3. RMN- ¹³ C del compuesto (II) 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno.....	63
Espectro 4. Masas, compuesto (II) 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno.....	64
Espectro 5. IR del compuesto (III) 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	65
Espectro 6. RMN- ¹ H del compuesto (III) 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	66
Espectro 7. RMN- ¹³ C del compuesto (III) 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	67
Espectro 8. Masas, compuesto (III) 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol.....	68
Espectro 9. IR del compuesto (IVa) 3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	69
Espectro 10. RMN- ¹ H del compuesto (IVa) 3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	70



Espectro 11. RMN- ¹³ C del compuesto (IVa) 3β-acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	71
Espectro 12. Masas, compuesto (IVa) 3β-acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	72
Espectro 13. IR del compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	73
Espectro 14. RMN- ¹ H del compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	74
Espectro 15. RMN- ¹³ C del compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	75
Espectro 16. Masas, compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	76
Espectro 17. IR del compuesto (IVc) 3β-ciclobutiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	77
Espectro 18. RMN- ¹ H del compuesto (IVc) 3β-ciclobutiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	78
Espectro 19. RMN- ¹³ C del compuesto (IVc) 3β-ciclobutiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	79
Espectro 20. Masas, compuesto (IVc) 3β-ciclobutiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	80
Espectro 21. IR del compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	81
Espectro 22. RMN- ¹ H del compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno.....	82



Espectro 23. RMN-¹³C del compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **83**

Espectro 24. Masas, compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **84**

Espectro 25. IR del compuesto (IVe) 3β-ciclohexiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **85**

Espectro 26. RMN-¹H del compuesto (IVe) 3β-ciclohexiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **86**

Espectro 27. RMN-¹³C del compuesto (IVe) 3β-ciclohexiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **87**

Espectro 28. Masas, compuesto (IVe) 3β-ciclohexiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **88**

Espectro 29. IR del compuesto (IVf) 3β-cicloheptiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **89**

Espectro 30. RMN-¹H del compuesto (IVf) 3β-cicloheptiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **90**

Espectro 31. RMN-¹³C del compuesto (IVf) 3β-cicloheptiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **91**

Espectro 32. Masas, compuesto (IVf) 3β-cicloheptiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno..... **92**



I INTRODUCCIÓN

Cáncer es un término genérico para un grupo de más de 100 enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Una de las características que define al cáncer, es la generación rápida de células anormales, que crecen más allá de sus límites normales y pueden invadir zonas adyacentes del organismo o diseminarse a otros órganos, en un proceso que da lugar a la formación de las llamadas metástasis. Existen aproximadamente 100 tipos de cáncer y es una de las principales causas de mortalidad en el mundo con aproximadamente 13% de las defunciones en el 2008, y en ese mismo año cerca del 72% de las muertes registradas para este padecimiento fueron en países de bajos y medianos ingresos.¹

El cáncer de próstata (CaP) constituye un importante problema de salud mundial, ya que es del tipo de cáncer de mayor incidencia en el hombre, ocupando en México, el cuarto lugar entre los hombres de 40 años y el tercero en varones de 65.²

La hiperplasia benigna de próstata (HBP), es el tumor benigno más habitual en los varones y se define histológicamente como un aumento en el tamaño de la glándula prostática. La próstata comienza a aumentar de tamaño durante la edad madura en la mayoría de los hombres e incluso antes en algunos. La HBP se caracteriza clínicamente por un aumento en la micción, principalmente de noche. El paciente refiere grandes esfuerzos a la hora de iniciar la micción y salida de orina con poca fuerza. Los síntomas se clasifican en obstructivos e irritativos. El proceso patológico conduce al desarrollo de los síntomas conocidos como



I. Introducción

prostatismo: una hiperplasia histológica prostática, un aumento de la resistencia al flujo urinario y la respuesta del músculo detrusor de la vejiga a esta obstrucción.³

Tanto la HBP como el CaP son dependientes de andrógenos, la testosterona (T) y la dihidrotestosterona (DHT), los cuales ejercen su efecto principalmente a través de la unión al receptor androgénico (RA), un miembro de la superfamilia de receptores nucleares. El RA señala la activación de cinasas por mitógenos (MAPK) en todas las etapas de la carcinogénesis de próstata, las cuales se encuentran ampliamente utilizando las vías de transducción de señales en las células eucariotas. Se sabe que una de las MAPKs principal, la cinasa c-Jun N-terminal (JNK), juega un papel fundamental en diferentes actividades celulares, incluyendo el crecimiento celular y muerte celular programada. Por lo que se sugieren tratamientos inhibidores del receptor androgénico o supresores de andrógenos a través de la inhibición de la enzima 5 α -reductasa, encargada de transformar la testosterona (T) en su metabolito activo la dihidrotestosterona (DHT).⁴

Los tratamientos a los que se recurren para erradicar estos padecimientos son la terapia quirúrgica y la terapia farmacológica. En la terapia farmacológica se utilizan comúnmente los antiandrógenos y los inhibidores de la 5 α -reductasa.⁴

La finasterida es un inhibidor de la 5 α -reductasa que efectivamente inhibe la producción de DHT.⁴ Existen tres isoformas de la enzima 5 α -reductasa, la tipo 1 se encuentra principalmente en piel e hígado, la tipo 2 que se encuentra principalmente en la próstata, vesículas seminales, hígado y epidídimo y la tipo 3 que se encuentra en tejido benigno y maligno. La finasterida inhibe selectivamente sólo la isoforma tipo 2 y 3, sin embargo, no reduce los niveles de DHT a niveles de castración ya que la testosterona circulante se convierte en DHT por la isoforma tipo 1.⁵



I. Introducción

Es por lo expuesto anteriormente, que se propone la investigación de nuevos compuestos inhibidores efectivos de ambas isoformas o con un grado mayor de inhibición sobre la isoforma tipo 1.

En el presente trabajo se reporta la obtención y evaluación biológica de nuevos derivados de la deshidroepiandrosterona con un grupo metoxilo en la posición C-17 y un grupo 3- β -éster como posibles inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y/o antagonistas del receptor androgénico. El razonamiento para la síntesis de estos nuevos compuestos se basó en trabajos recientes de nuestro grupo de investigación en los que se ha observado que derivados de la deshidroepiandrosterona (DHEA) han resultado tener una actividad preferente sobre la isoforma tipo 1 de la 5 α -reductasa, sin embargo, se ha observado que dichos compuestos tienen problemas en su solubilidad para estudios biológicos, por lo que se pretenden sintetizar nuevos derivados de la DHEA con un grupo polar (metoxilo-) en la posición C-17 para aumentar su solubilidad y con un grupo éster en la posición 3 β - con el fin de poder observar una correlación del sustituyente con su actividad biológica.





II ANTECEDENTES

*P*ara entender el cómo y el por qué las células cancerígenas, tenemos que entender las funciones normales de crecimiento y reproducción celular. Desde mediados del siglo XIX en adelante, la investigación en biología celular, bioquímica y biología molecular ha proporcionado información asombrosamente detallada sobre las moléculas y los procesos que permiten a las células dividirse, crecer, diferenciarse, y llevar a cabo sus funciones esenciales. Este conocimiento básico de la biología celular también ha llevado a descubrimientos prácticos acerca de los mecanismos del cáncer y de moléculas específicas que controlan la progresión de una célula a través del ciclo celular regulando el crecimiento celular. La comprensión de los procesos normales del ciclo celular y cuándo esos procesos se desregulan proporciona información clave sobre los mecanismos que conllevan al cáncer. La pérdida de control del ciclo celular es uno de los pasos críticos en el desarrollo del mismo.⁶

Ciclo celular

Las células normales crecen y se dividen de manera ordenada, de acuerdo con el ciclo celular. Los acontecimientos importantes en el ciclo celular se describen en la **Figura 1.**⁶

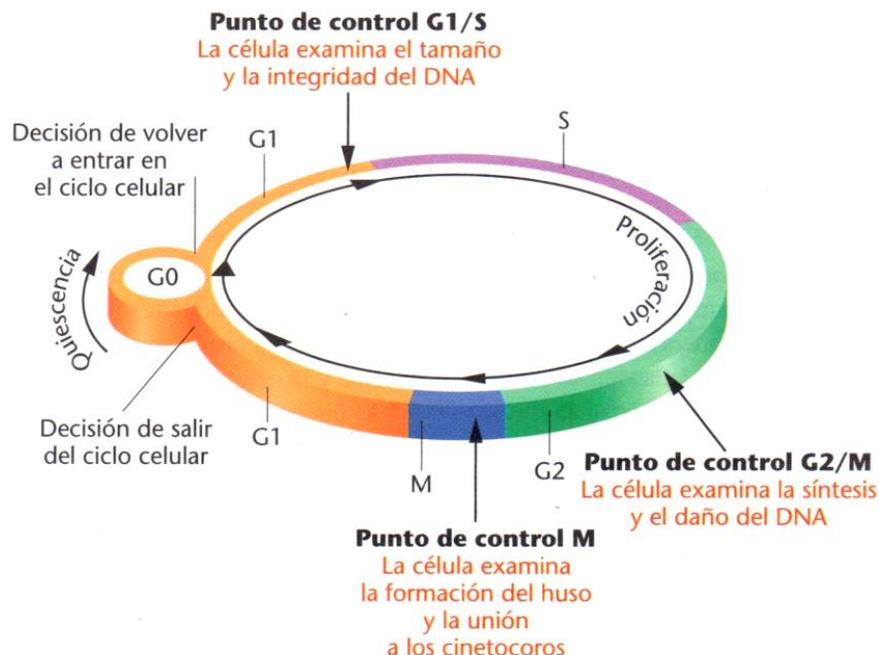


Figura 1. El ciclo celular es un proceso ordenado de acontecimientos que se produce en cuatro etapas. Durante las dos fases, G1 y G2, se activa el metabolismo de la célula, pero no la división. En la fase S (síntesis), los cromosomas se duplican, como resultado de la replicación del ADN. Durante la fase M (mitosis), los cromosomas se separan en el núcleo y la división del citoplasma (citocinesis) se produce. Hay puntos de control en el ciclo al final de G1 y G2 que pueden prevenir a la célula de entrar en la fase S o M del ciclo. Las células que no están en el proceso de división se encuentran en la fase G0, la cual incluye a la mayoría de las células adultas.⁷

Varias proteínas de control de las fases en el ciclo celular, están estrechamente reguladas para asegurar que las células se dividan cuando sea necesario. La pérdida de esta regulación es la característica del cáncer. Interruptores principales de control del ciclo celular son las cinasas dependientes de ciclinas. Cada cinasa dependiente de ciclina forma un complejo con una ciclina particular, una proteína que se le une y la activa. La cinasa dentro del complejo es una enzima que añade un fosfato a las diferentes proteínas, necesario para la progresión de una célula a través del ciclo. Estos fosfatos añadidos alteran la estructura de la proteína y pueden activarla o desactivarla, dependiendo de su función. Hay complejos específicos de cinasas dependientes de ciclinas en los puntos de entrada en las fases G1, S y M del ciclo celular, así como otros factores que ayudan a preparar a la célula para entrar en la fase S y la fase M.⁸

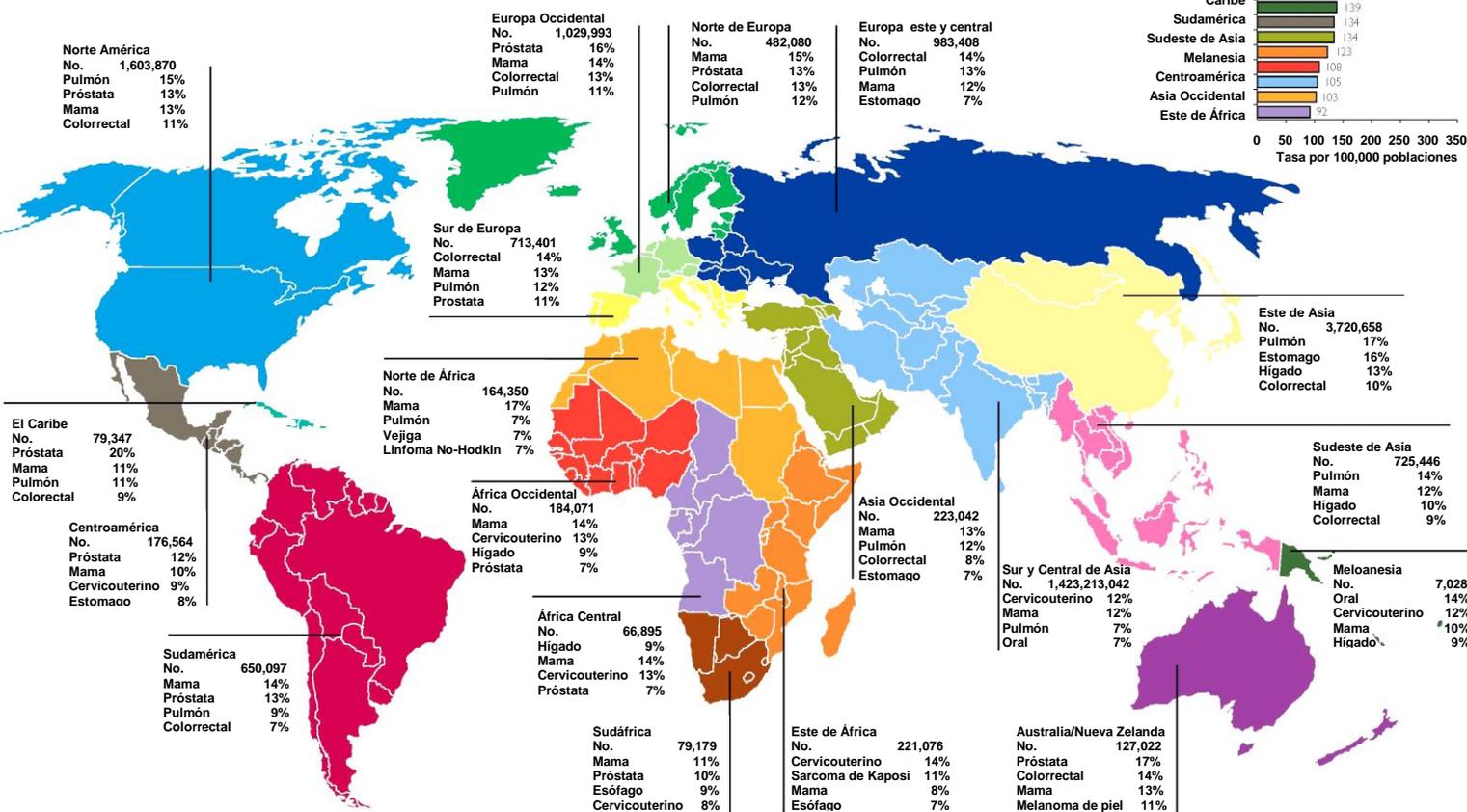
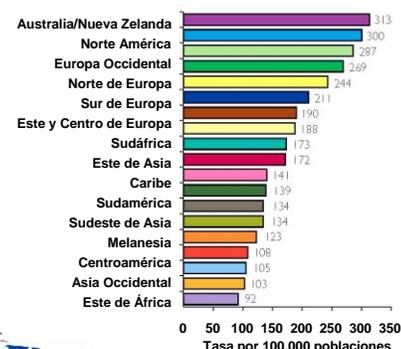


Cáncer

La opinión pública considera que el cáncer es una enfermedad cada vez más amenazante, que afecta a personas de todas las edades. Después de las enfermedades cardiovasculares, es la segunda causa de muerte entre la población mundial. La gente tiende a aceptar con estoicismo el cáncer y se someten a períodos prolongados de tratamientos, que no siempre son eficaces.

INCIDENCIA DE CÁNCER A NIVEL MUNDIAL

Desglose de aproximadamente 12.7 millones de nuevos casos, en tasas de edad mundial estandarizadas de incidencia y diagnóstico más comunes de cáncer en las diferentes regiones del mundo, 2008.



Source: GLOBOCAN 2008, v. 1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide.

Figura 2. Incidencia de cáncer a nivel mundial.⁹



II. Antecedentes

Aunque el cáncer comprende por lo menos 100 enfermedades diferentes, todas las células cancerosas tienen una característica importante: son células anormales en el que los procesos que regulan la división celular normal se alteran. Es decir, el cáncer se desarrolla a partir de los cambios que hacen que las células normales adquieran funciones anormales. Estos cambios son a menudo el resultado de mutaciones hereditarias o inducidas por factores ambientales como la luz ultravioleta, rayos X, productos químicos, productos de tabaco, y los virus (**Tabla1**). Toda la evidencia sugiere que la mayoría de los cánceres no son el resultado de un solo evento o factor. Por el contrario, alrededor de cuatro a siete eventos son generalmente necesarios para que una célula normal evoluciones a través de una serie de etapas premalignas en un cáncer invasivo. A menudo, muchos años transcurren entre el suceso inicial, la biología celular y de la aparición del cáncer (las mutaciones en los proto-oncogenes o genes supresores de tumores permiten a una célula cancerosa crecer y dividirse sin los controles normales impuestos por el ciclo celular).¹⁰⁻¹²

Tabla 1. Factores que controlan y cambian la carcinogénesis química.

Edad	Virus	Sexo
Dieta, estilo de vida	Especies animales	Constitución genética
Sistema endócrino	Fármacos Anticancerígenos	Sistema inmune
Vías metabólicas	Trauma Radiaciones	Reparación del DNA

Un cáncer se compone de miles de millones de células, todas procedentes de una célula inicial que se multiplica por clonación, que se escapan de la apoptosis y acumulan alteraciones genética y/o epigenéticas, alteraciones que convergen en una célula neoplásica. El bloqueo de la apoptosis por el lado del daño genético significativo puede facilitar la acumulación de células aberrantes y puede convertirse en un punto crítico en la patogénesis de malignidad.

La neoplasia puede ser clasificada como benigna o maligna dependiendo de sus características celulares. Las células constituyentes de una neoplasia maligna



II. Antecedentes

muestran cambios aún más en la biología celular (**Figura 3**). Proliferan de manera autónoma, se diferencian, invaden los tejidos adyacentes y con frecuencia los tejidos que no están relacionados con la neoplasia primaria. Las células, que forman parte de las neoplasias benignas, crecen más lentamente y, en general, no perturban la función del tejido normal, a menos que compriman estructuras vitales.



Figura 3. Características de una célula maligna.¹³

La patogénesis neoplásica es un proceso complejo que se puede dividir en tres etapas distintas, desde un punto de vista operativo. Estos son: la iniciación, la promoción y la progresión. Cada una de estas etapas se caracteriza por modificaciones morfológicas y bioquímicas como resultado de alteraciones genéticas y/o epigenéticas. Entre estas modificaciones genéticas se incluyen: las mutaciones en los genes que controlan la proliferación celular, muerte celular y la reparación del ADN, es decir, las mutaciones en los proto-oncogenes y genes supresores de tumores. Los factores



epigenéticos, se consideran de carácter no genético, también pueden contribuir a la carcinogénesis a través de los mecanismos como el silenciamiento de la expresión de los genes.

Iniciación

La primera etapa de la carcinogénesis ha sido nombrada como iniciación desde 1947.¹⁵⁻¹⁸ El inicio es causado por cambios genéticos irreversibles que predisponen a las células normales sensibles a la evolución maligna y la inmortalidad. La célula inicial no es una célula neoplásica, pero ha dado su primer paso hacia este estado, después de sucesivos cambios genotípicos y fenotípicos. Desde una perspectiva fenotípica, la célula iniciada es similar a las células restantes. Sufren mutaciones y éstas inducen la proliferación, pero no la diferenciación.

El daño en el ADN ha sido establecido como el evento que comienza la carcinogénesis química. Daños en el ADN pueden ser reparados por mecanismos enzimáticos. Las células que están proliferando tienen menos tiempo para reparar el ADN dañado y eliminar los enlaces covalentes que los productos químicos establecen con el ADN conocidos como aductos.

En esta etapa, las células iniciadas pueden permanecer latentes durante semanas, meses o años, o pueden crecer de una manera autónoma y clonal. Este proceso de iniciación se asegura de que la división celular sigue siendo simétrica mediante la creación de dos nuevas células iniciadas. La expansión clonal de células iniciadas resulta de un proceso mitogénico causado por un aumento en el número de nuevas células y la inhibición de la apoptosis, que evita que las células iniciadas mueran.

El aumento de daño en el DNA es especialmente importante para las células madres, porque sobreviven durante un largo tiempo y existen en varios tejidos. Las células neoplásicas pueden mostrar un fenotipo que se establece entre el aspecto embrionario, la diferenciación terminal, y el origen monoclonal de todas las células



neoplásicas de una célula madre. Por definición, las células madre son células inmortales hasta que se induce la diferenciación o la muerte. Si retrasamos su diferenciación se convierten en iniciadas y se acumulan en los tejidos como los clones de células anormales. Aunque las células madre no son identificables en la mayoría de los tejidos, se cree que cada tejido tiene una población de células madre.

La iniciación es un fenómeno rápido, irreversible y se transmite a las células hijas. La proliferación celular es esencial para esta etapa, si la división celular se produce antes de la acción de los sistemas de reparación del ADN la lesión puede convertirse en permanente e irreversible. La iniciación es un proceso aditivo, el desarrollo neoplásico depende de la dosis de cancerígenos, por lo que al aumentar la dosis aumenta la incidencia y la multiplicidad de las neoplasias resultantes reduciéndose el periodo de latencia de su manifestación. No todas las células de un organismo vivo expuesto a un agente iniciador serán iniciadas solo si ha sufrido una mutación, y los genes que regulan la diferenciación terminal también son mutados.

Espontáneamente las células iniciadas existen en todos los organismos vivos. La iniciación puede empezar con las mutaciones espontáneas, apoyados por los sucesos normales como la despurinización y la desaminación del ADN. Los errores en la replicación del ADN también se asocian con la iniciación. A pesar de que la iniciación espontánea es menos común que la iniciación inducida, su existencia ha sido confirmada por la aparición de neoplasias espontáneas en animales de laboratorio.

Promoción

El concepto de promoción se introdujo cuando se descubrieron sustancias químicas con baja actividad carcinogénica, las cuales son capaces de inducir el desarrollo de cáncer bajo condiciones experimentales.

Compuestos promotores no interactúan directamente con el ADN y desencadenan efectos biológicos sin ser metabólicamente activos. Estos agentes aumentan la proliferación celular en tejidos susceptibles, contribuyen a la fijación de mutaciones,



umentan las alteraciones en la expresión génica y causan cambios en el control del crecimiento celular. Por otro lado, estos promotores pueden indirectamente dañar el ADN por oxidación. Además, al principio estos acontecimientos se asociaron con los mecanismos epigenéticos, pero hoy en día está ampliamente aceptado que la promoción también implica cambios genéticos.

Los promotores retrasan la inhibición natural de las células en reposo o en G₀. La actividad más importante de los promotores es la genotóxica mitogénica y las acciones de mutaciones no son necesarias en esta etapa. El promotor debe estar presente durante semanas, meses y años con el fin de ser eficaz y su eficacia depende de su concentración en el tejido diana.

La promoción es una etapa reversible, después de la desaparición de un promotor la regresión en la proliferación celular puede ocurrir, probablemente por apoptosis. Es una etapa que puede ser moldeada por factores fisiológicos, y por lo tanto, limitar el alcance de la carcinogénesis. Algunos agentes promotores son específicos para un determinado tejido, pero otros actúan simultáneamente sobre varios tejidos.

En estudios de carcinogénesis con la exposición prolongada y el uso de altas dosis, casi todos los agentes promotores inducen neoplasias sin iniciación. La exposición a fenobarbital, benceno, asbesto y arsénico, incluso sin la previa exposición de los agentes iniciadores de desarrollo, conduce a la neoplasia. Esta contradicción tiene dos explicaciones posibles: o bien el efecto genotóxico no fue identificado por los estudios de mutagenicidad y genotoxicidad, o las células iniciadas surgieron de manera espontánea. En este último caso, podemos considerar que el promotor tiene un efecto indirecto por el aumento de la frecuencia de división celular que fomenta la aparición de errores en la replicación del ADN, así como las mutaciones. No todas las células expuestas a los promotores toman parte en la fase de promoción, sólo las células que son estimuladas a dividirse, que no se diferencian, y han sobrevivido a la apoptosis, pueden contribuir a la inestabilidad entre el crecimiento, la muerte celular y dar lugar a la aparición de una neoplasia maligna.



Progresión

La secuencia de las lesiones detectadas, a través de la histopatología, entre la iniciación y la promoción son designados en forma de lesiones preneoplásticas y/o neoplasias benignas. Su transformación en lesiones malignas es la última de las etapas de la carcinogénesis y es la más extendida, la progresión. En la progresión, el fenotipo neoplásico se adquiere a través de mecanismos genéticos y epigenéticos. Durante la progresión, la proliferación celular es independiente de la presencia de estímulo.

La progresión se caracteriza por la irreversibilidad, la inestabilidad genética, rápido crecimiento, invasión, metástasis y cambios en las características bioquímicas, metabólicas y morfológicas de las células.

La angiogénesis, como un suceso epigenético, es esencial para la progresión neoplásica. La adquisición de un fenotipo angiogénico precede al desarrollo de las características que contribuyen a la malignidad y la inhibición del retraso en el desarrollo neoplásico.¹⁵⁻¹⁸

Tabla 2. Principales características de las etapas del desarrollo carcinogénico.¹⁴

Etapa	Iniciación	Promoción	Etapa de Progresión
Tipo de interacción	Irreversible	Reversible	Irreversible
Factores causales	Mutágenos	Metabolitos	Metabolitos
		(dieta, ambiente y hormonas)	(dieta, ambiente y hormonas)
Aparición	Espontánea	-	Espontánea
Participación en el proceso carcinogénico	Interferencia con el DNA	Potencia el crecimiento celular	Alteraciones en el genoma, cambios morfológicos. Aparición de la neoplasia
Sustancias que las promueven	Genotóxicas (ej. sulfato de dimetilo)	Mitóticas (ej. TPA)	Clastógenas (ej. peróxido de benzoilo)

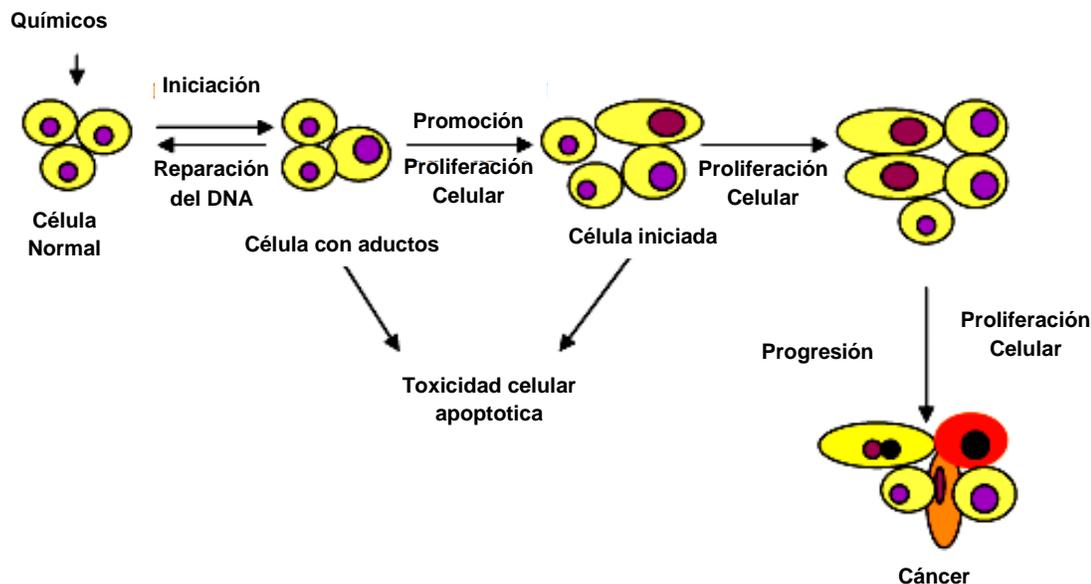


Figura 4. Etapas de la carcinogénesis química y los sucesos involucrados.¹⁵

Histología y Patologías de la Próstata

La próstata es un órgano pequeño de aproximadamente 20g y con una longitud aproximada de 3cm. Produce el líquido prostático, elemento importante que proporciona soporte nutricional al semen. Se localiza enfrente del recto, debajo y a la salida de la vejiga urinaria, ligada a ganglios linfáticos y unida a las vesículas seminales (Figura 5).

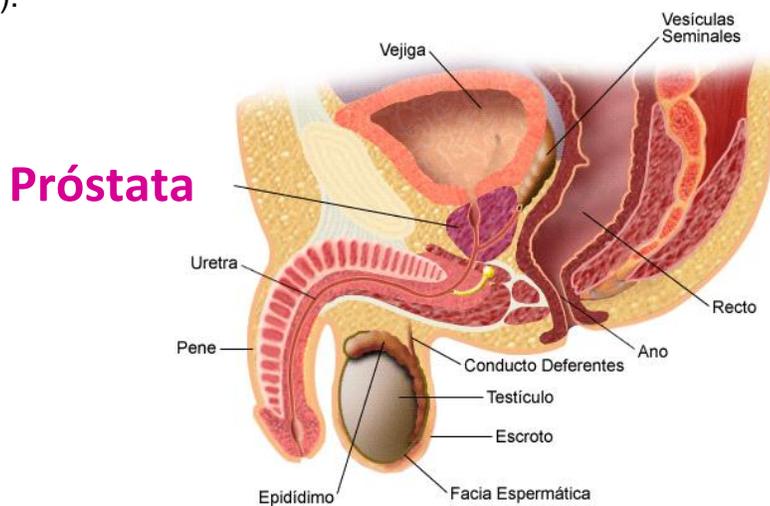


Figura 5. Anatomía de la próstata



Anatómicamente, se distinguen 3 zonas: la zona central, cruzada por los conductos eyaculadores, que supone un 25% de la glándula; la zona transicional, que rodea a la uretra posterior con un 5% de la glándula; es en esta zona donde la HBP ocurre casi de manera exclusiva; y la zona periférica que ocupa un 70% del volumen glandular. En la zona periférica se desarrollan el 68% de los casos de cáncer. La zona periférica es accesible al tacto rectal.

Histológicamente, la próstata consiste de dos tipos celulares principales: el estroma y el epitelio. El estroma está compuesto de células de músculo liso, fibroblastos y células endoteliales. Por otra parte, 4 subtipos celulares componen el epitelio: epitelio basal, epitelio secretor, células neuroendocrinas y células madre (**Figura 6**). La etiología del CaP (cáncer de próstata) es multifactorial y compleja e involucra múltiples alteraciones a nivel molecular. Esta situación se complica aún más ya que existen condiciones patológicas como las prostatitis, la Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP) y la Neoplasia Prostática Intraepitelial (NPI); en las que se observa una alteración del tamaño y la histología de la próstata. Aunque se piensa que las lesiones que caracterizan a la NPI son precursoras del CaP, no hay evidencia concluyente al respecto. Por otra parte, la HBP es un padecimiento que afecta a más del 50% de los hombres mayores de 60 años y su prevalencia aumenta con la edad hasta afectar a casi la totalidad de los hombres mayores de 80 años. La patogénesis del CaP involucra una interacción entre factores ambientales y genéticos. Se estima que estos últimos contribuyen en un 42% al riesgo del desarrollo y progreso de la enfermedad. Aún más, los estudios más recientes indican que los andrógenos tienen un papel importante en el establecimiento de este padecimiento. Variaciones de genes que participan en la biosíntesis y metabolismo de estos andrógenos han sido asociados con el desarrollo y progreso del CaP. El CaP cursa por diferentes estadios desde andrógeno dependiente a andrógeno independiente o refractario a terapia hormonal, siendo esta última fase, la más agresiva y de mal pronóstico para el paciente.

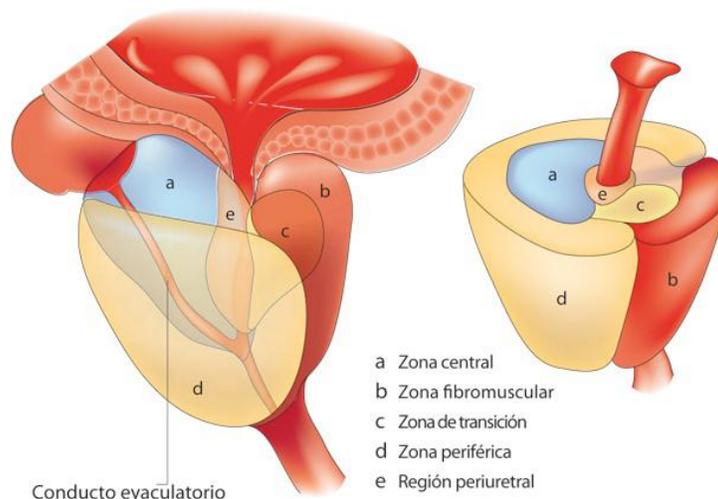


Figura 6. Esquema de las zonas de la próstata y su predisposición a enfermedades. La mayoría de las lesiones de cáncer ocurren en la zona periférica de la glándula, pocas ocurren en la zona de transición y casi ninguna en la zona central. La mayoría de las lesiones de la HBP tienen lugar en la zona de transición. Los carcinomas en la zona central no se encuentran asociados con la NPI, mientras que los que ocurren en la zona periférica guardan una gran relación con la NPI.¹⁹

Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP)

La hiperplasia benigna de próstata es el tumor benigno más habitual en los varones. Con una prevalencia histológica que va del 8% con 40 años, al 90% a partir de los 80, causa la muerte de 30 de cada 100,000 varones en los países desarrollados y es una de las enfermedades que origina un mayor gasto sanitario.

Se define histológicamente como un aumento en el tamaño de la glándula prostática, y determina una obstrucción al flujo urinario que origina síntomas en el tracto urinario inferior.

La causa de esta hipertrofia no está bien definida. Diversos estudios la relacionan a una proliferación de las células prostáticas que deriva de una disminución, con la edad, de la proporción testosterona/estrógenos. Se produce un aumento en la tasa de conversión de testosterona a dihidrotestosterona por la 5 α -reductasa y la acumulación



de dihidrotestosterona produce la proliferación de las células y, por último, la hipertrofia de la glándula.

El aumento de la próstata puede ocupar total o parcialmente la luz de la uretra y obstruir el cuello vesical, con lo que se originan los síntomas obstructivos mecánicos. Por otro lado, el estímulo de los neuroreceptores α , de concentración elevada en el tejido prostático, provoca un incremento de la presión en el interior de la uretra y origina los síntomas funcionales.

Según los diferentes estudios, no hay una relación clara entre el tamaño de la próstata y la frecuencia o gravedad de los síntomas.

La HBP se caracteriza clínicamente por un aumento de las ganas de orinar, principalmente de noche. El paciente refiere grandes esfuerzos a la hora de iniciar la micción y salida de orina con poca fuerza.

Los síntomas se clasifican en obstructivos e irritativos (**Tabla 3**).^{3,19}

Tabla 3. Clasificación de los síntomas en la HBP.

Síntomas obstructivos	Síntomas irritativos
<ul style="list-style-type: none">• Retraso en el inicio de la micción.• Disminución del calibre y fuerza del chorro.• Micción intermitente o prolongada.• Goteo posmiccional.• Retención urinaria.• Incontinencia por rebosamiento.	<ul style="list-style-type: none">• Polaquiuria.• Nicturia.• Micción imperiosa.• Incontinencia por urgencia.• Dolor suprapúbico.

Cáncer de Próstata (CaP)

El cáncer de Prostata (CaP) es el segundo tipo de neoplasia maligna más frecuente entre la población masculina. Las cifras más recientes indican que 782,600 nuevos casos fueron diagnosticados durante el 2007 y el número de muertes asociadas al



II. Antecedentes

CaP durante ese año se estima en 254,000, lo que lo convierte en la sexta causa de muerte en hombres, a nivel mundial. En México, entre el 2006 y el 2007, ocupó el primer lugar en cuanto a mayor número de muertes asociadas a neoplasias malignas (INEGI, 2010). A pesar de los múltiples esfuerzos realizados, aún prevalece la dificultad para diagnosticarlo en etapas tempranas, debido a que en muchas alteraciones no relacionadas al cáncer de próstata como la HBP, se presentan características que guardan gran semejanza con las de las lesiones del CaP. Esto conduce a la necesidad de realizar monitoreos continuos a lo largo de la vida de los pacientes para evaluar su posible desarrollo. Con el avance en la tecnología genómica, los esfuerzos se han concentrado en el estudio a nivel molecular de factores que están implicados en la iniciación y progresión del cáncer en humanos, incluyendo el CaP.

A pesar de la elevada tasa de morbilidad, a la fecha, las causas exactas que llevan al desarrollo de CaP no han sido elucidadas. Tradicionalmente, el CaP se ha asociado a factores como la edad avanzada, la etnia y la historia familiar. Sin embargo, se tiene conocimiento de otros factores putativos de riesgo, entre los que se encuentran la dieta, el tabaquismo, el sedentarismo y la obesidad. Aunque cambios en el estilo de vida y prevención a la exposición a contaminantes químicos parecen ayudar a disminuir la incidencia de la enfermedad, su papel en la etiología del CaP no se han establecido claramente.²⁰⁻²²

Biomarcadores moleculares de cáncer de próstata y diagnóstico

La identificación de marcadores moleculares asociados al CaP, constituyen un aporte científico que ha mejorado la capacidad para detectar individuos en riesgo de padecerlo. El marcador más utilizado actualmente para el diagnóstico de CaP es el Antígeno Prostático Específico (APE). El APE es una glicoproteína que se produce en el epitelio de la próstata de manera exclusiva y está presente en pequeñas cantidades en el suero de varones sanos y se acumula con la edad. Sin embargo, el intervalo de normalidad depende de variables poblacionales o raciales. A pesar de su alta sensibilidad, la prueba de niveles en suero del APE carece de especificidad, ya que, no permite establecer una diferencia confiable entre la HBP y el CaP. A nivel genético,



II. Antecedentes

el Antígeno de Cáncer de Próstata 3 (PCA3, por sus siglas en inglés) ha tenido un papel significativo como marcador de diagnóstico no invasivo, en orina. El PCA3 es un miRNA específico de próstata, cuya expresión se encuentra anormalmente elevada en CaP, en comparación con tejido adyacente no-neoplásico.²³

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) ha aprobado el análisis de APE para que se use junto con el tacto rectal para ayudar a detectar el cáncer de próstata en hombres mayores de 50 años. Durante el tacto rectal, el médico inserta un dedo enguantado en el recto y palpa la glándula prostática a través de su pared buscando protuberancias o áreas anormales. Los médicos usan con frecuencia el análisis de APE y el tacto rectal como exámenes selectivos de detección de cáncer de próstata en aquellos hombres que no tienen síntomas de la enfermedad.

Las recomendaciones de los médicos en cuanto a los exámenes de detección varían. Algunos recomiendan los exámenes anuales de detección para hombres mayores de 50 años de edad y algunos aconsejan a los hombres que tienen un riesgo mayor de padecer cáncer de próstata que comiencen dichos análisis a los 40 o 45 años de edad; otros se oponen a los exámenes de detección de rutina; y otros más, aconsejan sobre los riesgos y los beneficios individualmente y animan a los pacientes a que tomen decisiones personales sobre los exámenes de detección.

Los resultados de los análisis del APE informan del nivel del APE detectado en la sangre. Los resultados de los análisis, casi siempre se comunican en nanogramos del APE por cada mililitro de sangre (ng/mL). En el pasado, el nivel de PSA que se consideraba normal en el hombre era por debajo de los 4ng/mL. Sin embargo, en las investigaciones que se han realizado recientemente se encontraron casos de hombres con cáncer de próstata con niveles de PSA menores de 4,0 ng/mL. En la actualidad, muchos médicos están utilizando los niveles siguientes con algunas variaciones:



0 a 2,5 ng/ml es un nivel bajo.

2,6 a 10 ng/ml es un nivel ligeramente o moderadamente elevado.

10 a 19,9 ng/ml es un nivel elevado.

20 ng/ml o más es un nivel sumamente elevado.

No hay un nivel específico del APE que sea normal o anormal. Sin embargo, cuanto más alto sea el nivel del APE, más probable será que haya cáncer. Pero, ya que varios factores pueden hacer fluctuar los niveles del APE, un resultado anormal no indica necesariamente que haya necesidad de hacer otros análisis.

El procedimiento usado para diagnosticar el cáncer de próstata es la biopsia de la próstata la cual puede causar efectos secundarios, inclusive hemorragia e infección.^{24, 25}

Tratamiento para la HBP

El primer consejo para un paciente con HBP es la adopción de una serie de medidas higiénicas que disminuirán la congestión pelviana, como evitar el sedentarismo, regular el tránsito intestinal, evitar comidas copiosas, el consumo de alcohol, estimulantes, los anticolinérgicos o neurolépticos.^{3, 19}

Las estrategias terapéuticas dependerán de la gravedad de síntomas del paciente (Tabla 4).

Tabla 4. Estrategias terapéuticas para la HBP.

	Síntomas leves (0-7 puntos), tracto rectal y APE normal y ausencia de complicaciones	Síntomas moderados (8-19 puntos), tracto rectal y APE normal y ausencia de complicaciones	Síntomas graves (20-35 puntos)
Con molestias bien toleradas	Conducta expectante	Bloqueadores alfa Inhibidores de la 5α-reductasa	Derivación al urólogo (posible intervención quirúrgica)
Con molestias mal toleradas	Iniciar con fitoterapia: <i>Serenoa repens</i> <i>Pigeum africanum</i> <i>Pigeum equinacea</i>		

APE: antígeno prostático específico.



a) Tratamiento quirúrgico

- *Cirugía abierta*
- *Cirugía endoscópica*

b) Tratamiento farmacológico

- *Fitoterapia*
- *Inhibidores de la 5 α -reductasa*
- *Bloqueadores 1 α -adrenérgicos*

Tratamiento para el CaP

- Castración quirúrgica
- Castración química
- Radioterapia
- Quimioterapia

Combinados con antagonistas del receptor androgénico (RA).²⁶⁻³²

Blancos para el tratamiento de la enfermedad

Tanto la HBP como el CaP son dependientes de andrógenos siendo la testosterona (T) y la dihidrotestosterona (DHT), los que ejercen su efecto principalmente a través de la unión al receptor androgénico (RA).

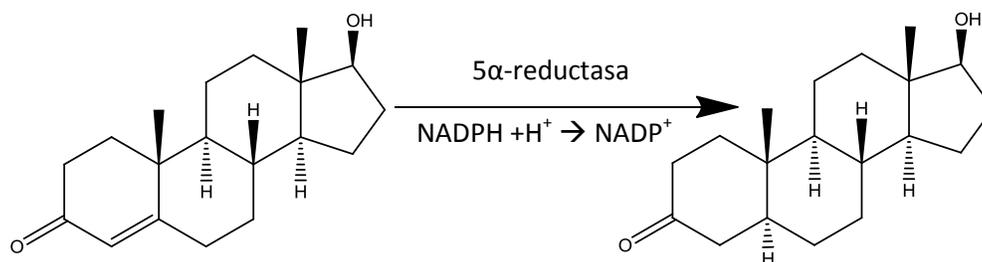


Figura 7. Testosterona (T) y dihidrotestosterona (DHT).

Sistema endócrino

Los organismos multicelulares para llevar a cabo sus funciones requieren de la comunicación celular. Durante la evolución han surgido dos sistemas de comunicación



II. Antecedentes

que satisfacen esas necesidades y éstos son, el sistema nervioso y el sistema endócrino. Estos dos sistemas se relacionan íntimamente y sus funciones pueden superponerse puesto que coordinan las actividades de diversos sistemas celulares.

La interacción de estos sistemas se coordina en el hipotálamo, que es uno de los principales centros de control del sistema nervioso autónomo.

El sistema endócrino se comunica por medio de compuestos químicos (las hormonas) que van a la circulación y de ahí a las "células blanco". Cada célula blanco presenta receptores que al unirse con su hormona específica desencadenan una respuesta celular, de ahí su nombre, pues son blancos de la acción de una hormona determinada.

Las hormonas son productos secretados por glándulas endócrinas, las cuales son sustancias de naturaleza química variada: péptidos, proteínas, glicoproteínas y esteroides.

Hormonas esteroideas

Las hormonas esteroideas son moléculas derivadas del colesterol que tienen en común la estructura del ciclopentanoperhidrofenantreno (**Figura 8**).

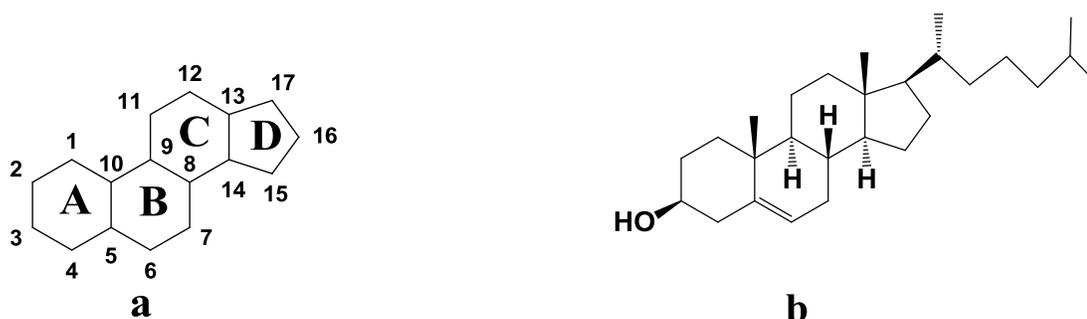


Figura 8. a) Ciclopentanoperhidrofenantreno, b) Colesterol.



II. Antecedentes

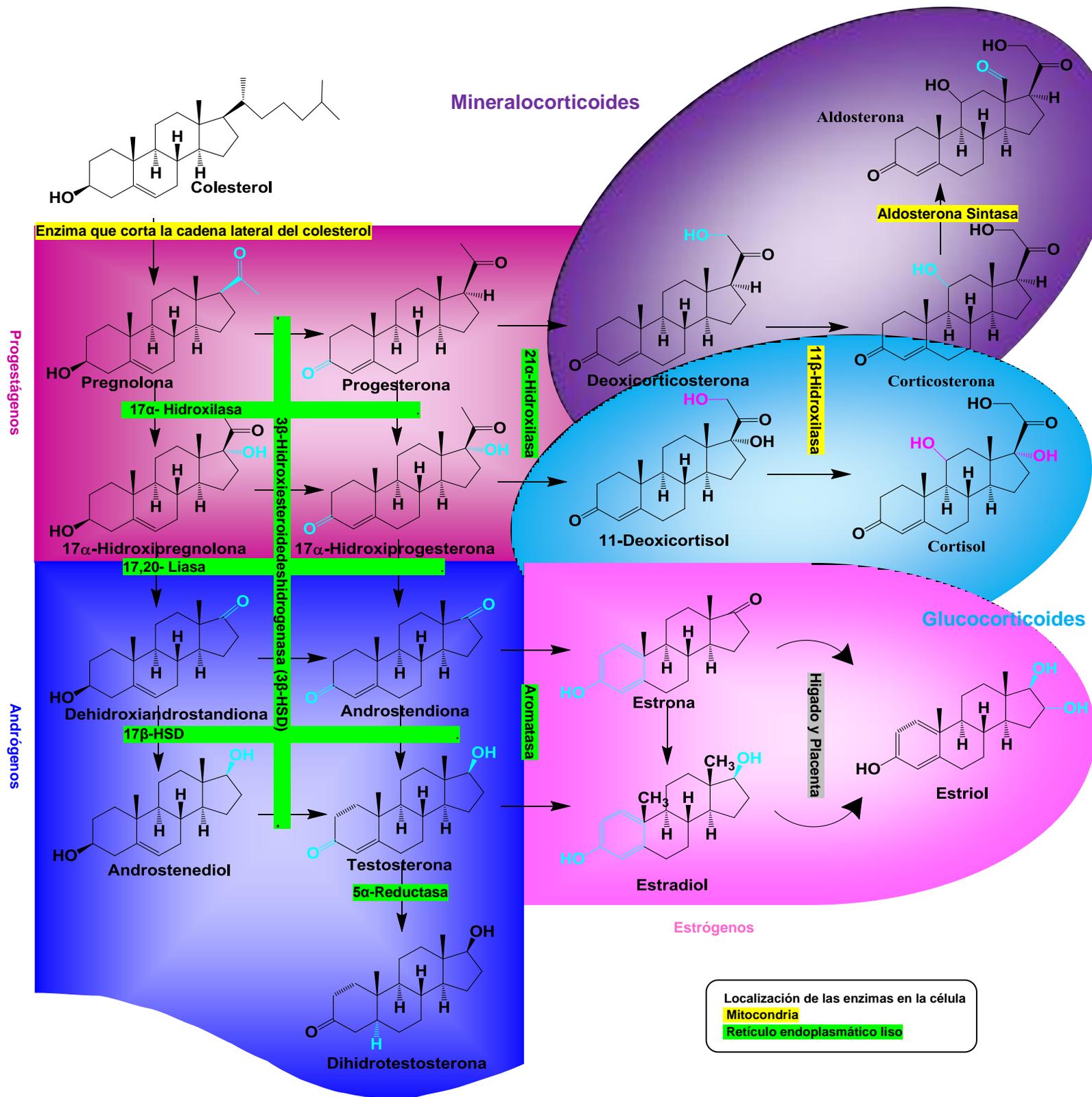


Figura 9. Hormonas esteroideas.³³⁻³⁶



Se clasifican en glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos, estrógenos y progestágenos (**Figura 9**). Difieren de acuerdo al número y grupos sustituyentes, al número y localización de dobles enlaces, y a su configuración estereoquímica.

Andrógenos

Químicamente, los andrógenos se definen como esteroides C-19, entre los cuales se encuentran la 5 α -dihidrotestosterona (DHT) y la testosterona (T). La testosterona es la hormona más importante, ya que ayuda al cuerpo a producir

y mantener las características masculinas. Tiene un ciclo circadiano en donde se encuentra la máxima concentración a las 8h y la mínima a las 20 h. Es el andrógeno circulante secretado por las células de Leyding en los testículos bajo el estímulo de la hormona luteinizante (LH).

En el hipotálamo se produce la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) la cual provoca la secreción en la adenohipófisis de la LH y de la hormona folículo estimulante FSH (gonadotropinas). La LH actúa en el compartimiento intersticial, en las células de Leydig, estimulando la producción de testosterona. A su vez, la testosterona tiene una retroalimentación negativa a nivel de la adenohipófisis e hipotálamo (**Figura 10**). Por otro lado la FSH actúa en el compartimiento tubular, estimulando la actividad de las células de Sertoli, que servirán de apoyo durante la espermatogénesis. Las células de Sertoli bajo la acción de FSH, producen ABP (Proteína de Unión a Andrógenos, por sus siglas en inglés) y concentran testosterona en el compartimiento tubular. De esta manera, a altas concentraciones de testosterona puede ocurrir la espermatogénesis.

La testosterona se convierte en la dihidrotestosterona (DHT), andrógeno más activo en la próstata, por medio de la enzima 5 α -reductasa.



II. Antecedentes

Aproximadamente el 5% de la testosterona es sometida a una reducción 5α para formar un andrógeno más potente, la dihidrotestosterona. La DHT tiene una afinidad por el receptor androgénico tres veces más alta que la testosterona y de 15-30 veces más alta que los andrógenos suprarrenales. Durante la embriogénesis, la DHT tiene un rol esencial en la formación de los genitales externos masculinos, y en el adulto actúa como el andrógeno principal en la próstata, folículos pilosos y participa en el desarrollo de las características sexuales secundarias.

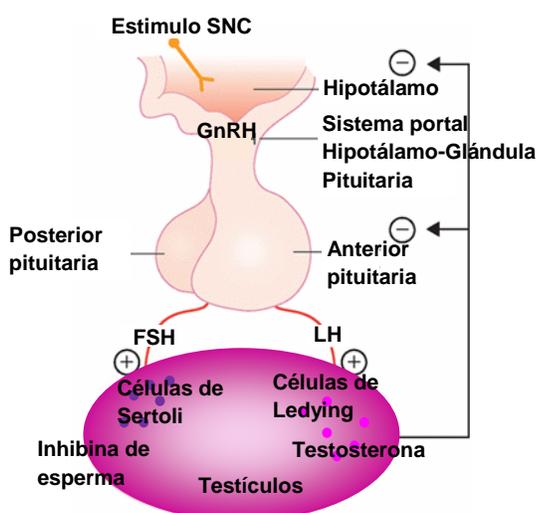


Figura 10. Eje gonadal masculino³⁵

Con el paso de los años los niveles de testosterona disminuyen como resultado de un exceso en la DHT causada por la 5α -reductasa, provocando un agrandamiento de la próstata, lo que conduce a los síntomas de la HBP y que puede evolucionar a CaP.³⁵

5 α -reductasa

Se sabe que existen tres isoenzimas de la 5α -reductasa, y otras dos proteínas muestran la capacidad de reducir en 5α , la glicoproteína sináptica 2 (GPSN2) y la parecida a la glicoproteína sináptica 2 (GPSN2L).

La reducción 5α se demostró que era una reacción irreversible y se encontró que la DHT era un andrógeno más potente que la T en ensayos de próstata.³⁷



La familia de la 5 α -reductasa se compone de 3 subfamilias y 5 miembros (isoenzimas) en total. Las isoenzimas son diferentes proteínas que realizan la misma función:

- (a) 5 α -reductasa1 y 5 α -reductasa2.
- (b) 5 α -reductasa3.
- (c) Proteína GPSN2 y Proteína GPSN2L.

Tabla 5. Características y localización de las isoenzimas 5 α -reductasa.^{37, 38}

Isoenzima	Características	Localización
5α-reductasa 1	Enzima de 259 aminoácidos pH óptimo: 6-8.5 47% homologa a 5 α -R2 Se satura con concentraciones elevadas de T	Escroto, axilas, mama, labios, parpado, músculo, piel, epitelio, vesícula seminal, testículos, ovarios, útero, hígado, páncreas, riñón, glándulas suprarrenales, tiroides, corteza cerebral y pituitaria.
5α-reductasa 2	Enzima de 254 aminoácidos pH óptimo: 5-5.5 47% homologa a 5 α -R1 Se satura con concentraciones bajas de T	Epidídimo, glándulas secretoras, adipocitos, próstata, vesícula seminal, testículos, ovarios, uretra, hígado, páncreas, riñón, glándulas suprarrenales, tiroides, corteza cerebral y pituitaria.
5α-reductasa 3	Enzima de 328 aminoácidos pH óptimo: 7 20% homologa a 5 α -R1 25% homologa a 5 α -R2 Se satura con concentraciones elevadas de T	En tejido benigno y maligno: hígado, riñón, páncreas, músculo esquelético, piel, colon, estómago, tiroides, endometrio, mama, corazón, pulmón, próstata, testículos, glándula mamaria, cerebro, cervix, ovario, piel, intestino.

Receptor androgénico (RA)

Los andrógenos ejercen sus efectos principalmente a través de la unión al receptor androgénico (RA), un miembro de la superfamilia de receptores nucleares.



II. Antecedentes

La DHT tiene 2-5 veces mayor afinidad de unión al RA que la T, y 10 veces mayor potencia de inducir señalización en el RA que la T.

Tras la unión de las hormonas, el RA se transloca al núcleo donde se une a elementos específicos de respuesta. Un número de correguladores y/o complejos reguladores son reclutados por el RA, que controlan la transcripción de genes en diferentes blancos. Muchos de estos genes blancos para el RA son desregulados durante la última etapa, independiente de andrógenos en el cáncer de próstata. El RA se expresa y es funcional durante la progresión tumoral, lo que sugiere un papel importante para el RA de señalización en todas las etapas de la carcinogénesis de próstata.

Proteínas cinasas activadoras de mitógenos (MAPKs) son algunas de las vías de transducción de señales más utilizados en las células eucariotas. Una de las principales MAPKs, la cinasa c-Jun N-terminal (JNK, también llamada proteína cinasa activada por estrés) juega un papel crítico en las diferentes actividades celulares, incluyendo el crecimiento celular y muerte celular programada (**Figura 11**).

Se sabe que la acción antiapoptótica de los andrógenos en las células de cáncer de próstata, al menos en parte, es debido a la inhibición de señalización JNK a través de un mecanismo RA-dependiente de la expresión de nuevos genes.^{4, 40}



II. Antecedentes

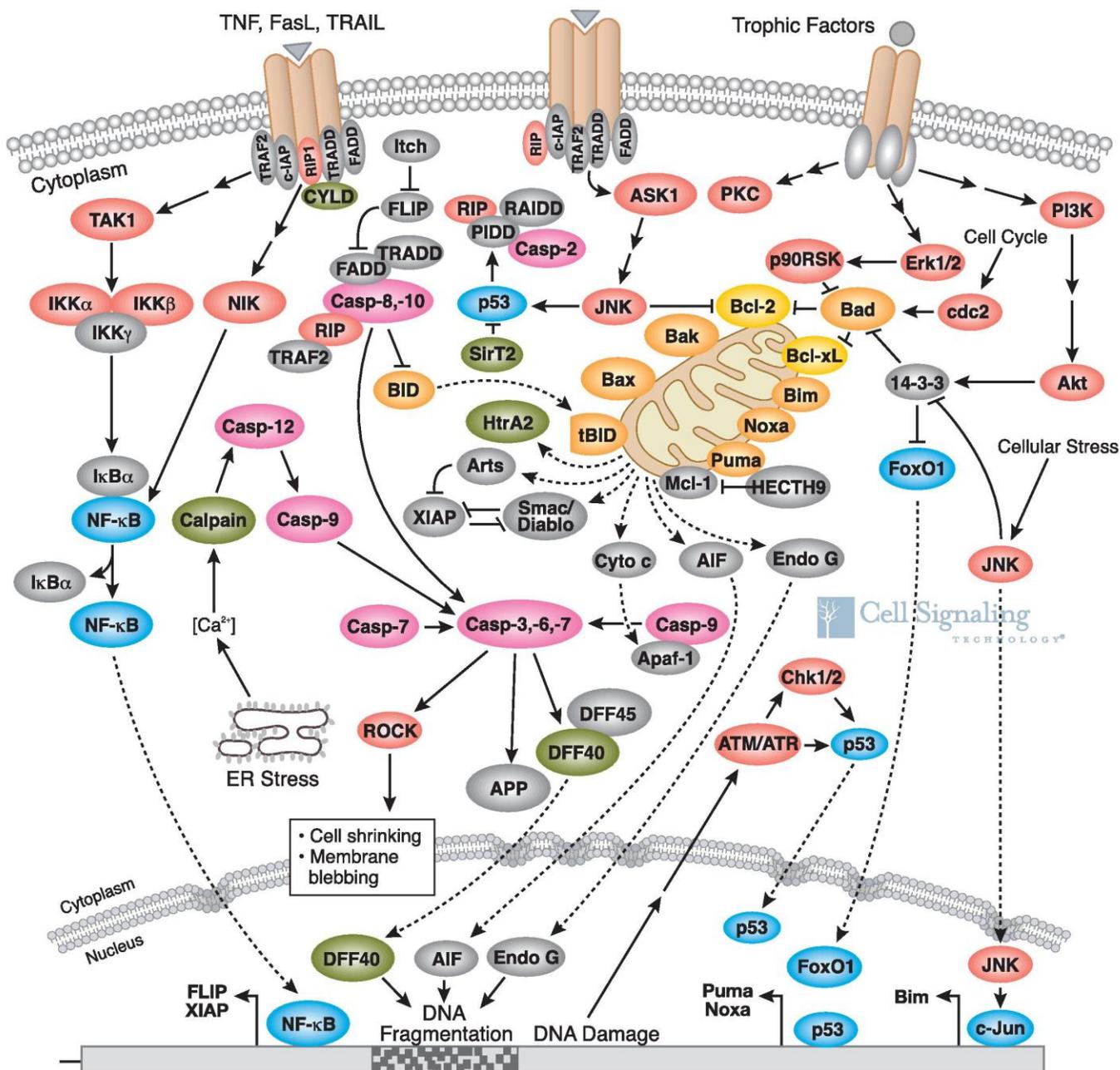


Figura 11. Vía de señalización de apoptosis. Mecanismo de apoptosis por caspasas, caspasas efectoras de la apoptosis (3, 7 y 2); caspasas activadoras de caspasas apoptogénicas (6, 8, 9 y 10). La caspasa-3, es activada por caspasas iniciadoras que son activados por los receptores de muerte celular de la superficie (caspasa-8) y por la vía mitocondrial (caspasa-9). Es necesaria JNK para la activación de la caspasa-9 por la vía mitocondrial. Las dianas potenciales de JNK incluyen los miembros del grupo Bcl2 de proteínas reguladoras de apoptosis.³⁹



Fármacos empleados

Finasterida (Proscar®)

- Es un compuesto 4-azaesteroide
- 1er. Inhibidor aprobado en los E.U. para el tratamiento de la HPB.
- 100 veces más afín por la 5 α -reductasa tipo 2 y tipo 3.
- Reduce significativamente los niveles de DHT en un 71% después de 24 semanas de uso.⁴¹

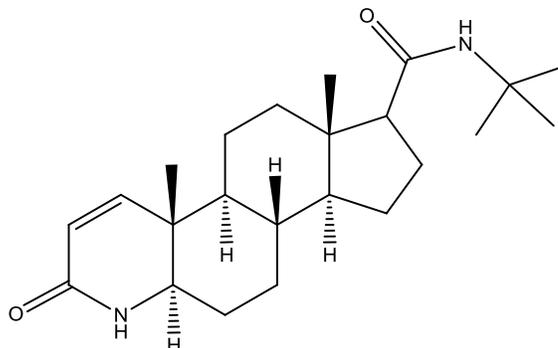


Tabla 6. Desventajas y efectos secundarios de la finasterida

Desventajas	Efectos Secundarios
Inhibidor de unión lenta a ambas isoformas.	Sensación desagradable en el músculo pectoral.
Potencia inhibitoria desestimada.	Baja de la libido.
Eficacia limitada en estudios clínicos.	Relaciones sexuales de mala calidad.
Pobre inhibición de la isoforma tipo 1.	Disminución en el tamaño del órgano sexual.

Dutasterida

- Compuesto 4-azaesteroide
- Sólo está aprobado para el tratamiento de la HPB.
- Inhibidor de la 5 α -reductasa tipo 1, tipo 2 y tipo 3.
- Reduce significativamente los niveles de DHT en suero a las 24 semanas en un 94.7%²⁹⁻³¹

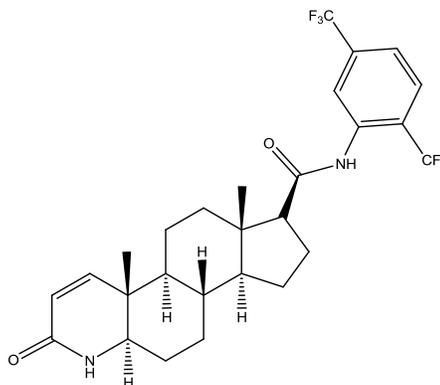




Tabla 7. Desventajas y efectos secundarios de la Dutasterida.

Desventajas	Efectos Secundarios
A los 2 años provoca tolerancia.	Sensación desagradable en el músculo pectoral.
Potencia inhibitoria desestimada.	Baja de la libido.
Eficacia limitada en estudios clínicos.	Relaciones sexuales de mala calidad. Impotencia sexual.





III

JUSTIFICACIÓN

Debido a las desventajas y efectos secundarios de los fármacos utilizados hoy en día, se han sugerido nuevos análogos estructurales, por lo que el grupo de trabajo del Dr. Eugene Bratoeff ha sintetizado derivados de la deshidroepiandrosterona (DHEA) los cuales han resultado tener una actividad preferente sobre la isoforma tipo 1 de la enzima 5α -reductasa, sin embargo, se ha observado que dichos compuestos tienen problemas de solubilidad para estudios biológicos por lo que se pretenden sintetizar nuevos derivados de la DHEA con un grupo polar (metoxilo-) en la posición 17- para aumentar su solubilidad y con un grupo éster en la posición 3- con la finalidad que también pudieran inhibir a la isoforma tipo 2 de la 5α -reductasa.





IV HIPÓTESIS

En trabajos previos de nuestro grupo de investigación se ha observado que la posición 17- así como la 3 β - en el núcleo esteroidal es fundamental para la selectividad y potencia inhibitoria de la molécula, sin embargo, se ha observado que dichos compuestos tienen problemas en su solubilidad para estudios biológicos, por lo que se espera que los compuestos al soportar un grupo polar (metoxilo) serán más solubles, y por tanto, podrían tener una posible actividad como inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y/o como antagonistas del receptor androgénico, blancos importantes para el tratamiento tanto de la hiperplasia benigna de próstata (HBP) y/o como para el cáncer de próstata (CaP).





V

OBJETIVOS

Objetivos Generales

Sintetizar y evaluar biológicamente los derivados de la deshidrohepiandrosterona con un grupo metoxilo en la posición C-17 y ésteres alicíclicos en la posición 3 β - del esteroide, que podrían actuar como posibles inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y/o antagonistas del receptor androgénico.

Objetivos Particulares

- I. Sintizar derivados de la deshidrohepiandrosterona, con un grupo metoxilo en la posición C-17 y ésteres alicíclicos en la posición 3 β .

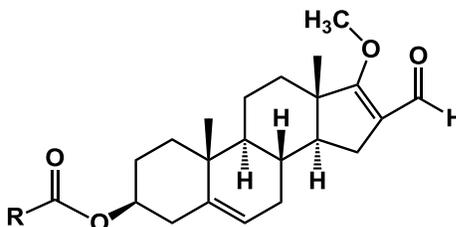
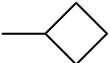
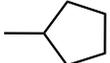
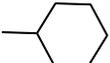
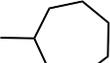


Tabla 8. Compuestos propuestos para ser sintetizados y su nomenclatura.

Compuesto	R	Nomenclatura
IVa	-CH ₃	3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno
IVb		3 β -ciclopropanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno
IVc		3 β -ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno
IVd		3 β -ciclopentanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno
IVe		3 β -ciclohexanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno
IVf		3 β -cicloheptanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno



V. Objetivos

- II. Caracterizar los compuestos obtenidos por sus constantes físicas (pf. y R_f), así como por métodos espectroscópicos (Infrarrojo y Resonancia Magnética Nuclear, ¹H y ¹³C) y espectrométricos (Espectrometría de Masas).
- III. Someter a evaluación biológica los compuestos obtenidos, por ensayos *in vitro*:
 - Ensayo de citotoxicidad en las líneas celulares cancerosas humanas, glía del sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, mama y pulmón respectivamente (U251, PC-3, K562, HCT, MCF-7 y SKLU).





VI

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos y Equipo

La materia prima utilizada se obtuvo comercialmente en grado reactivo y utilizado sin mayor purificación de Aldrich ®.

Para la evaporación de disolventes así como para la destilación de los mismos se empleó un rotaevaporador marca BUCHI modelo R-205.

Los puntos de fusión se determinaron con un aparato Fisher-Johns y no se corrigieron.

Para determinar los espectros de RMN-¹H y ¹³C se emplearon los equipos varian, Gemini 200 y VRX-300s, respectivamente. Se utilizó como referencia interna tetrametilsilano (TMS) y como disolvente cloroformo deuterado (CDCl₃), los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm y las constantes de acoplamiento se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de señales se expresa como s=señal singulete, d=señal doblete, dd=señal doble de doble, m=multiplete.

Los espectros de IR se determinaron mediante un equipo Perkin Elmer Spectrum 400, FT-IR/FT-FIR utilizando la Técnica de Reflectancia por ATR. Las unidades se reportan en cm⁻¹.

Los espectros de masas se determinaron por la Técnica de Bombardeo de Átomos Rápidos (FAB, por sus siglas en inglés) en un Espectrómetro Therma-DFS utilizando una matriz de alcohol m-nitrobencílico que fue irradiado con átomos de cesio a temperatura menor de 50°C. El ion molecular se indica como M⁺+1. La nomenclatura se indica como m/z (masa/carga) con su respectiva abundancia relativa (AR).



Cromatografía

Cromatografía en capa fina (ccf)

Los análisis de pureza y avance de reacción se realizaron por cromatografía en capa fina, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice (60F 254, Merck®). Para la visualización de las placas se empleó una lámpara de luz UV marca Spectroline modelo CM-10 y se utilizó como revelador una solución de CoCl_2 al 1% en H_2SO_4 2N. Los sistemas de elución utilizados se describen en la (Tabla 9).

Tabla 9. Sistemas de elución empleados para la ccf.

Sistema	Mezcla de disolventes	Proporciones
I	Hexano/AcOEt	9:1
II	Hexano/AcOEt	6:4

Cromatografía en columna (cc)

Para la purificación de los compuestos se empleó la cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice 60 (Merck®) o Florisil 200 (Aldrich®) y una mezcla de elución adecuada para cada compuesto.

Ruta de síntesis

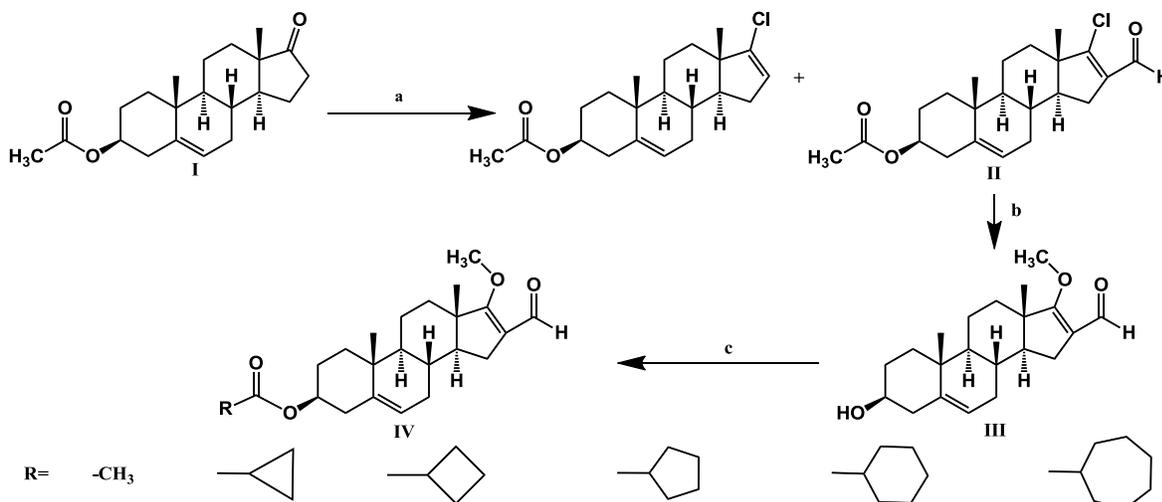
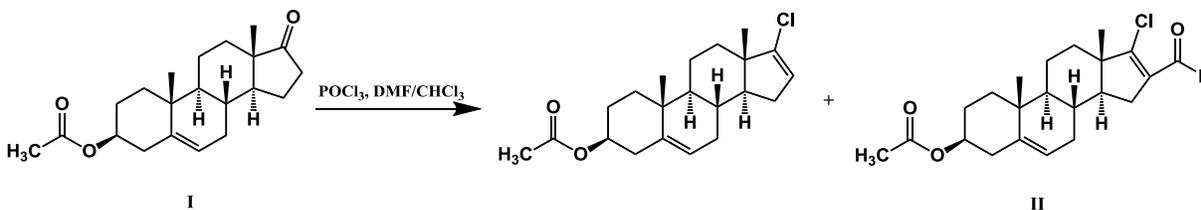


Figura 12. a) POCl_3 , DMF/ CHCl_3 a reflujo 5h en condiciones anhidras. b) DMF, MeONa/MeOH en condiciones anhidras a temperatura ambiente 1h. c) DMAP, DCC, RCOOH, a temperatura ambiente 1h.

**Obtención del 3β-acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno por la reacción de formilación de Vilsmeier-Haack⁴²**

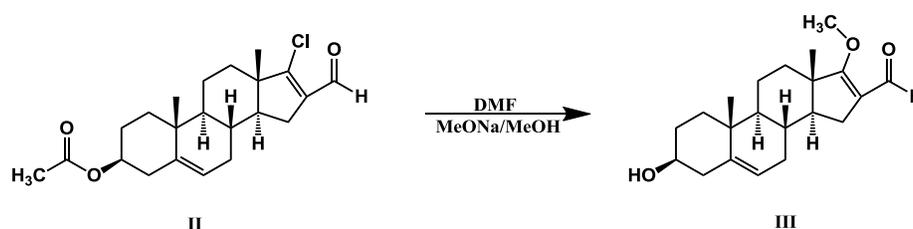
Se colocó un matraz bola de dos bocas con un agitador magnético en un baño de hielo/agua con el refrigerante en una boca y el embudo de adición en la otra y fueron selladas con teflón. Se adicionaron 10mL (107.28mmol) de oxiclورو de fosforo (POCl₃) y posteriormente se adicionaron 10mL (129.68mmol) de N,N-dimetilformamida (DMF). Se retiró el baño de hielo y se colocó a reflujo con calentamiento a 60°C, se adicionó 1g (3.02mmol) de 3β-acetato de la deshidroisoandrosterona en 5mL de cloroformo (CHCl₃) y se dejó en agitación constante durante 5h con atmósfera de N₂.

Una vez terminado el tiempo de reacción, la solución se vertió en 300mL de una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), y se realizaron cinco extracciones con 150mL de cloroformo (CHCl₃), la fase orgánica se lavó dos veces con 150 mL de NaHCO₃ y 100mL de agua destilada, se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y se concentró en un rotaevaporador.

El compuesto fue purificado por cromatografía en columna, la cual fue empacada con sílica gel y se eluyó con hexano-AcOEt 95:5, obteniéndose 955mg (86%) del compuesto II el cual fue un polvo blanco cristalino con un punto de fusión de 135-136°C y un R_f de 0.35 (**sistema I**).



Obtención del 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol



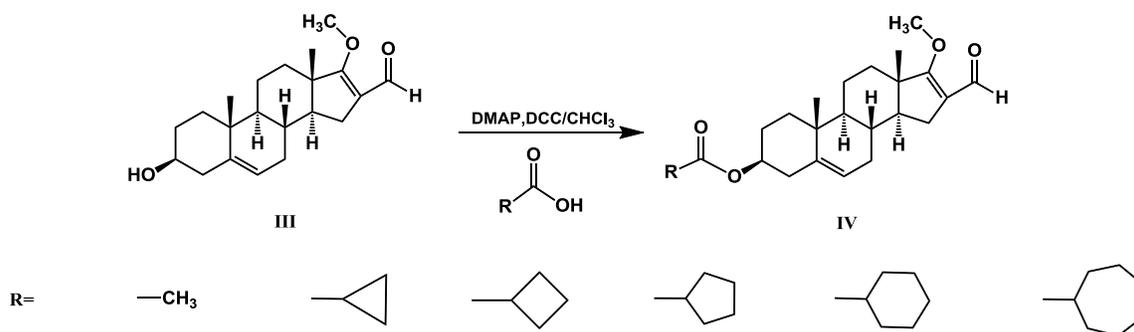
En un matraz de 50mL previamente seco, se colocaron 200mg (0.53mmol) del 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno y un agitador magnético. Se adicionaron 5mL (64.84mmol) de DMF y se puso en agitación durante 30min con atmósfera de N₂. Posteriormente se inyectaron 1.3mL (0.65 meq) de MeONa/MeOH por goteo y se dejó en agitación constante por 1h.

El crudo fue vertido por goteo en 20mL de hielo molido en agitación constante y el precipitado filtrado al vacío.

El compuesto purificado por cromatografía en columna, la cual fue empacada con Florisil® y se eluyó con hexano-AcOEt 83:17, obteniéndose 167mg (94.1%) del compuesto III (16-formil -17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol), el cual fue un polvo blanco cristalino con un punto de fusión de 123-125°C y un R_f de 0.2 (**sistema II**).



Obtención de los derivados 3β-ester-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno por la reacción de esterificación de Steglich.



En un matraz Erlenmeyer de 50mL se colocaron 167mg (0.51 mmol) del 16-formil - 17-metoxilil-5,16-androstandieno-3β-ol, 312mg (2.55mmol) de DMAP, 631mg (3.06mmol) de DCC y 3.57mmol del respectivo ácido con 2mL de CHCl_3 y se dejó en agitación constante durante 10min. La DMAP se mezcló con el ácido y se dejó en agitación constante durante 10min, posteriormente se mezcló con la DCC dejándose 10min en agitación constante y finalmente esta mezcla fue agregada al compuesto III.

Se dejó reaccionar a temperatura ambiente y agitación constante durante 1h. Al crudo se le añadieron 20mL de AcOEt, se dejó en reposo durante 1h, obteniéndose un precipitado blanco, la DCU, se eliminó por filtración.

Al filtrado se le añadieron 30mL de CHCl_3 y fue lavado seis veces con 60mL de HCl al 10%(v/v), posteriormente se lavó dos veces con 60mL de una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y una vez con 100mL de agua destilada. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y se concentró en un rotaevaporador.

El compuesto fue purificado por cromatografía en columna, la cual fue empacada con florisil® y se eluyó con hexano-AcOEt 65:35, obteniéndose rendimientos desde 59 hasta 91% del compuesto IV(a-f). En todos los casos fueron polvos blancos cristalinos.



Características físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos sintetizados

3β-acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino

Formula molecular: C₂₂H₂₉ClO₃

Peso molecular (uma): 376

Punto de fusión (°C): 135-136

Rendimiento: 86%

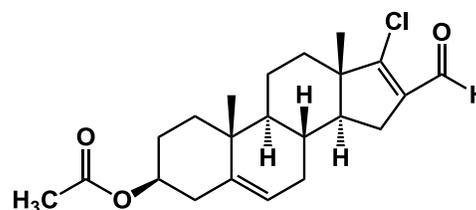
R_f: 0.35 (sistema I)

IR (Espectro 1. cm⁻¹): 2800-3000 C-H (alcanos), 2738 C-H (aldehído, resonancia de Fermi), 1732 C=O (aldehído), 1673, 1593 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1236 C=O (éster).

RMN-¹H (Espectro 2. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 0.99 (s, 3H) H-18, 1.07 (s, 3H) H-19, 2.04 (s, 3H) H-éster, 4.74-4.45 (m, 1H) H-3, 5.40 (d, J=5.3Hz, 1H) H-6, 9.99 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 3. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 14.96 (C-19), 19.20 (C-18), 21.41 (metilo del éster), 73.64 (C-3), 121.82 (C-6), 136.39 (C-16), 139.95 (C-5), 162.29 (C-17), 170.50 (carbonilo de éster), 188.08 (carbonilo de aldehído).

EM (Espectro 4. FAB, m/z): 377 (M⁺+1, 20%) 379 (M⁺+3, 8%)



II

16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3β-ol

Aspecto: Polvo blanco cristalino

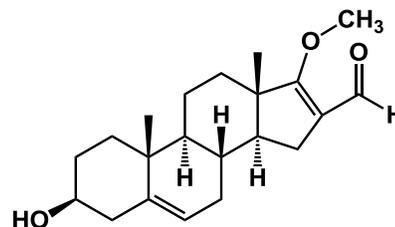
Formula molecular: C₂₁H₃₀O₃

Peso molecular (uma): 330

Punto de fusión (°C): 123-125

Rendimiento: 94.34%

R_f: 0.32 (sistema II)



III



IR (Espectro 5. cm^{-1}): 3363 OH (alcohol), 2860,2930 C-H (alcanos), 1716 C=O (aldehído), 1619, 1569 C=C (aldehído α,β -insaturado), 1400, 1447 C-O (éter), 1199,1045 C-OH (alcohol).

RMN- ^1H (Espectro 6. CDCl_3 , 400MHz, δ , ppm): 0.99 (s, 3H) H-18, 1.03 (s, 3H) H-19, 1.35 (s,1H) OH, 2.05-2.03 (m, 1H) H-3, 4.16 (s, 3H) H-metoxilo, 5.34-5.32 (dd, $J=3.5$, 1.6Hz, 1H) H-6, 10.09 (s, 1H) H-aldehído.

RMN- ^{13}C (Espectro 7. CDCl_3 , 400MHz, δ , ppm): 14.90 (C-19), 18.79 (C-18), 62.01 (C-metoxilo), 70.70 (C-3), 120.27 (C-6), 141.74 (C-16), 180.4 (C-5), 185.48 (carbonilo del aldehído), 205.27 (C-17).

EM (Espectro 8. FAB, m/z): 331 (M^++1 , 100%)

3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino.

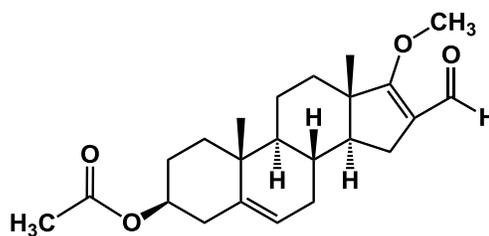
Formula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$

Peso molecular (uma): 372

Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$): 149-152

Rendimiento: 91%

R_f: 0.45 (sistema II)



IVa

IR (Espectro 9. cm^{-1}): 2930-2899 C-H (alcanos), 2789 C-H (aldehído, resonancia de Fermi), 1733 C=O (aldehído), 1629, 1572 C=C (aldehído α,β -insaturado), 1441, 1404 C-O (éter), 1239, 1209 C=O (éster).

RMN- ^1H (Espectro 10. CDCl_3 , 400MHz, δ , ppm): 1.00 (s, 3H) H-18, 1.05 (s, 3H) H-19, 2.03 (s, 3H) H-éster, 4.12 (s, 3H) H-metoxilo, 4.67-4.53 (m, 1H) H-3, 5.4 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 1H) H-6, 10.09 (s, 1H) H-aldehído.

RMN- ^{13}C (Espectro 11. CDCl_3 , 400MHz, δ , ppm): 15.54 (C-19), 19.19 (C-18), 20.32 (C-a), 62.30 (C-metoxilo), 73.74 (C-3), 116.12 (C-6), 122.13 (C-16), 139.80 (C-5), 170.50 (carbonilo del éster), 182.07 (carbonilo del aldehído), 186.40 (C-17).

EM (Espectro 12. FAB, m/z): 373 (M^++1 , 80%).



3β-ciclopropanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino

Formula molecular: C₂₅H₃₄O₄

Peso molecular (uma): 398

Punto de fusión (°C): 130-132

Rendimiento: 72%

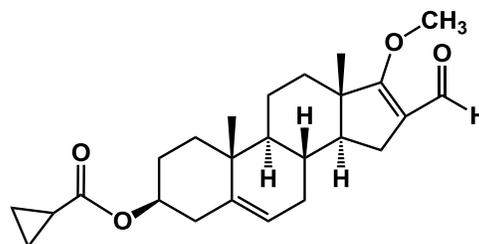
R_f: 0.55 (sistema II)

IR (Espectro 13. cm⁻¹): 2934-2856 C-H (alcanos), 1723 C=O (aldehído), 1627, 1571 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1446, 1396 C-O (éter), 1196, 1174 C=O (éster).

RMN-¹H (Espectro 14. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 0.93 (s, 3H) H-18, 0.99 (s, 3H) H-19, 4.06 (s, 3H) H-metoxilo, 4.64-4.34 (m, 1H) H-3, 5.04 (d, J=7.6Hz, 1H) H-6, 10.01 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 15. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 8.17 (C-b), 12.93 (C-a), 15.41 (C-19), 19.05 (C-18), 62.15 (C-metoxilo), 73.43 (C-3), 115.81 (C-6), 121.81 (C-16), 139.77 (C-5), 174.03 (carbonilo del éster), 181.89 (carbonilo del aldehído), 186.17 (C-17).

EM (Espectro 16. FAB, m/z): 399 (M⁺+1, 3%)



IVb

3β-ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino.

Formula molecular: C₂₆H₃₆O₄

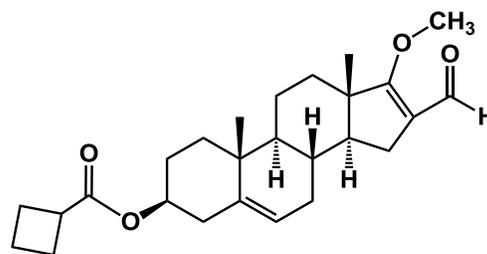
Peso molecular (uma): 412

Punto de fusión (°C): 163-165

Rendimiento: 72%

R_f: 0.52 (sistema II)

IR (Espectro 17. cm⁻¹): 2928-2863 C-H (alcanos), 2785 C-H (aldehído, resonancia de Fermi), 1724 C=O (aldehído), 1632, 1572 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1441, 1399 C-O (éter), 1198, 1174 C=O (éster).



IVc



RMN-¹H (Espectro 18. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 0.98 (s, 3H) H-18, 1.03 (s, 3H) H-19, 4.11 (s, 3H) H-metoxilo, 4.66-4.53 (m, 1H) H-3, 5.38 (d, J=4.9Hz, 1H) H-6, 10.08 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 19. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 15.54 (C-19), 18.32 (C-c), 19.21 (C-18), 25.19 (C-b), 33.00 (C-a), 62.28 (C-metoxilo), 73.36 (C-3), 116.14 (C-6), 122.04 (C-16), 139.91 (C-5), 174.91 (carbonilo del éster), 181.94 (carbonilo del aldehído), 186.33 (C-17).

EM (Espectro 20. FAB, m/z): 413 (M⁺+1, 70%).

3β-ciclopentanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino

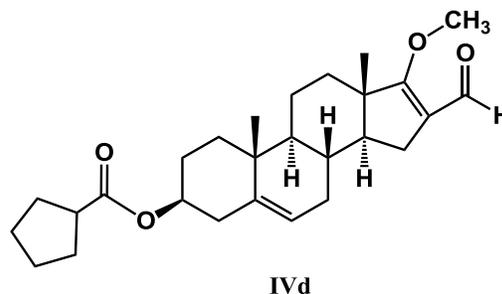
Formula molecular: C₂₇H₃₈O₄

Peso molecular (uma): 426

Punto de fusión (°C): 165-168

Rendimiento: 59%

R_f: 0.45 (sistema II)



IR (Espectro 21. cm⁻¹): 2935-2864 C-H (alcanos), 1724 C=O (aldehído), 1636, 1577 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1452 C-O (éter), 1186, 1151 C=O (éster).

RMN-¹H (Espectro 22. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 1.00 (s, 3H) H-18, 1.05 (s, 3H) H-19, 4.12 (s, 3H) H-metoxilo, 4.73-4.43 (m, 1H) H-3, 5.39 (d, J=4.9Hz, 1H) H-6, 10.10 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 23. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 15.57 (C-19), 19.25 (C-18), 25.82 (C-c), 30.01 (C-b), 44.03 (C-a), 62.32 (C-metoxilo), 73.33 (C-3), 116.14 (C-6), 122.03 (C-16), 139.94 (C-5), 176.24 (carbonilo del éster), 182.03 (carbonilo del aldehído), 186.40 (C-17).

EM (Espectro 24. FAB, m/z): 427 (M⁺+1, 30%).



3β-ciclohexanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino

Formula molecular: C₂₈H₄₀O₄

Peso molecular (uma): 440

Punto de fusión (°C): 175-178

Rendimiento: 70%

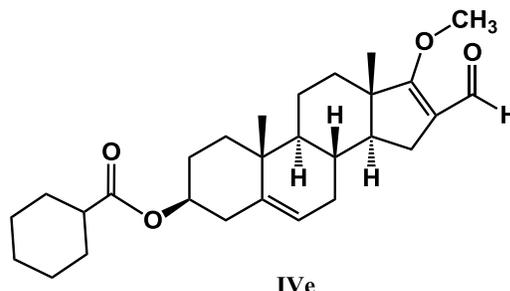
R_f: 0.45 (sistema II)

IR (Espectro 25. cm⁻¹): 2927-2851 C-H (alcanos), 1728 C=O (aldehído), 1627, 1575 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1447, 1405 C-O (éter), 1201, 1169 C=O (éster).

RMN-¹H (Espectro 26. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 1.00 (s, 3H) H-18, 1.05 (s, 3H) H-19, 4.12 (s, 3H) H-metoxilo, 4.74-4.46 (m, 1H) H-3, 5.38 (s, 1H) H-6, 10.09 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 27. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 15.57 (C-19), 19.25 (C-18), 25.45 (C-c), 25.62 (C-d), 25.80 (C-b), 36.74 (C-a), 62.32 (C-metoxilo), 73.17 (C-3), 116.18 (C-6), 122.05 (C-16), 139.95 (C-5), 175.58 (carbonilo del éster), 181.94 (carbonilo del aldehído), 186.38 (C-17).

EM (Espectro 28. FAB, m/z): 441 (M⁺+1, 0.8%).



3β-cicloheptanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

Aspecto: Polvo blanco cristalino.

Formula molecular: C₂₉H₄₂O₄

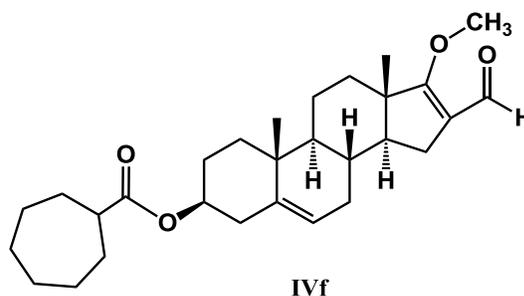
Peso molecular (uma): 454

Punto de fusión (°C): 190-193

Rendimiento: 68%

R_f: 0.53 (sistema II)

IR (Espectro 29. cm⁻¹): 2928-2852 C-H (alcanos), 2823 C-H (aldehído, resonancia de Fermi), 1730 C=O (aldehído), 1627, 1573 C=C (aldehído α,β-insaturado), 1445, 1405 C-O (éter), 1199, 1162 C=O (éster).





RMN-¹H (Espectro 30. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 1.00 (s, 3H) H-18, 1.05 (s, 3H) H-19, 4.12 (s, 3H) H-metoxilo, 4.60-4.54 (m, 1H) H-3, 5.39 (d, J=4.8Hz, 1H) H-6, 10.10 (s, 1H) H-aldehído.

RMN-¹³C (Espectro 31. CDCl₃, 400MHz, δ, ppm): 15.54 (C-19), 19.22 (C-18), 26.36 (C-c), 30.18 (C-d), 30.67 (C-b), 45.16 (C-a), 62.28 (C-metoxilo), 73.16 (C-3), 116.14 (C-6), 122.01 (C-16), 139.93 (C-5), 176.48 (carbonilo del éster), 181.96 (carbonilo del aldehído), 186.34 (C-17).

EM (Espectro 32. FAB, m/z): 455 (M⁺+1, 100%).

Evaluación biológica

Material biológico

Se utilizaron las líneas celulares cancerosas humanas **U251, PC-3, K562, HCT-15, MCF-7 y SKLU-1** (glía del sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, mama y pulmón respectivamente), las cuales fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos (**NCI**).

Sustancias y equipo

Medio RPMI-1640: Enriquecido con 10% de suero fetal de bovino, 2mM L-glutamina, 100UI/mL penicilina G, 100µg/mL sulfato de estreptomicina, 0.25 µg/mL de anfotericina B y 1% de aminoácidos no esenciales.

Se utilizó un lector de ELISA marca Bio-Tek Instruments.



Ensayo *in vitro*, citotoxicidad en líneas cancerosas humanas

Los compuestos sintetizados fueron evaluados en 6 líneas celulares cancerosas humanas (**U251**, **PC-3**, **K562**, **HCT-15**, **MCF-7** y **SKLU-1**). Estas determinaciones fueron realizadas por la Dra. María Teresa Odulia Ramirez Apan (Departamento de Pruebas Biológicas, Instituto de Química, UNAM). Dichas células se cultivaron en el medio RPMI-1640 y se incubaron a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂.

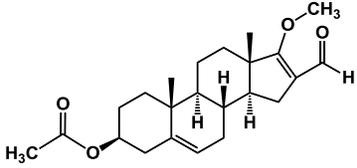
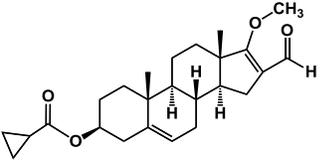
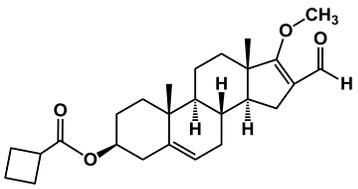
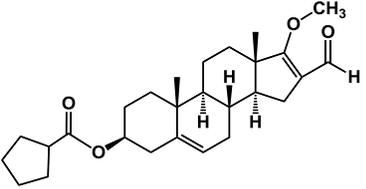
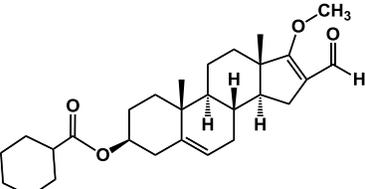
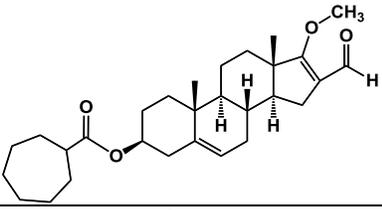
Posteriormente se tomaron 100µL de la línea celular correspondiente, el contenido de las células por pozo varió entre 5 000 a 10 000 dependiendo de las líneas celulares; se incubaron por 24h. Se preparó una solución stock en dimetilsulfóxido (DMSO) de cada compuesto a evaluar, dicha solución se adicionó a cada pozo de las líneas celulares en 100µL de medio de cultivo, siendo la concentración final de cada compuesto de 50µM y se incubó por 48 h (plato experimental). Adicionalmente se preparó otro pozo al cual se le adicionó únicamente medio de cultivo, éste último se incubó por 1h (plato basal); ambas incubaciones se llevaron a cabo a 37°C en atmósfera con 5% CO₂ y 100% de humedad relativa.

Finalizando el tiempo correspondiente se realizó la fijación de los cultivos celulares *in situ* por la adición de 50µL de ácido tricloroacético (TCA) 50% (p/v) frío, se incubó por 60 minutos a 4°C, se desechó el sobrenadante y se hicieron cinco lavados con agua desionizada y se dejó secar por 24 h. Posteriormente, se realizó el teñido adicionando 100µL de sulfurodamina B (SRB) (0.4% p/v en 1% ácido acético) a cada pozo, se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se hicieron lavados con una solución de ácido acético al 1% y se dejó secar por 2 h. Las células fijadas se resuspendieron utilizando 10mM de buffer Tris, pH=10 en agitación por 5min.

Finalmente, se determinó la densidad óptica a 515nm utilizando un lector de ELISA.



Tabla 10. Citotoxicidad en líneas cancerosas de humano.

No.	Compuesto	U251*	PC-3*	K562*	HCT-15*	MCF-7*	SKLU-1*
IVa		72.5±4.5	62.1±0.3	54.2±3.5	78.0±2.2	55.6±3.5	89.2±5.8
IVb		67.4±1.8	79.1±1.2	100	69.4±0.5	67.6±2.7	100
IVc		18.9±2.4	36.1±2.5	50.8±7.8	23.2±1.6	35.6±5.6	81.9±1.4
IVd		9.3±0.2	11.8±3.1	27.3±1.0	7.7±0.5	5.0±0.3	25.7±0.8
IVe		18.6±3.1	22.7±4.6	24.8±3.9	5.5±0.3	24.6±7.6	39.5±0.2
IVf		22.5±4.3	21.5±8.2	16.3±1.5	18.1±1.8	31.5±1.9	32.4±0.3

*% de inhibición del crecimiento por la línea celular, Promedio ± error estándar de la media (corrida de 3 experimentos independientes).



Análisis computacional

Como un estudio exploratorio para observar cómo influyen ciertos parámetros fisicoquímicos en la actividad citotóxica, pensando en que el fármaco atravesara la membrana celular, se usó el programa Spartan 02. Primeramente se construyó la molécula, misma que se optimizó usando mecánica molecular, posteriormente, se realizó un análisis conformacional para obtener el confórmero de mínima energía y finalmente dicho confórmero se sometió a una optimización mediante el método semiempírico AM1. Una vez que se obtuvo y optimizó el confórmero de mínima energía se calcularon los siguientes parámetros fisicoquímicos para los compuestos sintetizados (**Tabla 11**):

Descriptor geométrico

- Volumen
- PSA (área superficial molecular)
- Ovalidad

Descriptor lipofílico

- LogP

Descriptor de química cuántica

- Polarizabilidad (Medida de la capacidad de responder a un campo eléctrico que tiene una molécula y adquirir un momento eléctrico dipolar).⁴³

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos calculados de los compuestos sintetizados

Comp.	Volumen (Å ³)	PSA (Å ²)	Ovalidad	Log P	Polarizabilidad
IVa	397.19	42.159	1.52	2.23	71.4
IVb	426.99	41.831	1.56	2.95	73.82
IVc	443.07	41.503	1.58	3.37	75.12
IVd	458.83	41.518	1.59	3.78	76.4
IVe	475.15	40.904	1.6	4.2	77.72
IVf	492.59	41.917	1.69	4.62	79.14

Posteriormente se realizó un estudio de relación estructura-actividad cuantitativamente en el cual se realizaron regresiones de los diferentes descriptores contra la actividad para cada línea celular.

Se tomó un grupo prueba o de entrenamiento, el compuesto IVc y el resto de los compuestos se sometieron a un análisis estadístico.



Se realizaron regresiones de la actividad con sólo un descriptor, esto se realizó de dicha forma por la cantidad de compuestos obtenidos, ya que se recomienda 5 veces más compuestos que descriptores, para obtener datos más confiables.

Se obtuvieron ecuaciones que describen cómo influye cada descriptor con respecto a la actividad con su respectiva correlación, las cuales se muestran a continuación:

Tabla 12. Ecuaciones obtenidas del volumen para cada línea celular, R y R².

Línea Celular	Ecuación	R	R ²
U251	I = -0.66 V + 338.53	0.86	0.74
PC3	I = -0.61 V + 312.10	0.79	0.62
K562	I = -0.62 V + 324.79	0.7	0.49
HCT-15	I = -0.82 V + 402.92	0.89	0.79
MCF-7	I = -0.43 V + 230.62	0.66	0.43
SKLU-1	I = -0.76 V + 400.55	0.84	0.71

Tabla 13. Ecuaciones obtenidas del PSA para cada línea celular, R y R².

Línea Celular	Ecuación	R	R ²
U251	I = 39.54 PSA - 1609.27	0.65	0.42
PC3	I = 32.12 PSA - 1298.88	0.53	0.28
K562	I = 26.09 PSA - 1042.67	0.37	0.14
HCT-15	I = 52.52 PSA - 2152.72	0.72	0.52
MCF-7	I = 28.88 PSA - 1166.29	0.56	0.31
SKLU-1	I = 37.15 PSA - 1490.39	0.52	0.27

Tabla 14. Ecuaciones obtenidas de la ovalidad para cada línea celular, R y R².

Línea Celular	Ecuación	R	R ²
U251	I = -317.48 O + 543.49	0.68	0.46
PC3	I = -298.32 O + 514.37	0.64	0.41
K562	I = -337.61 O + 581.99	0.62	0.39
HCT-15	I = -380.00 O + 640.7	0.68	0.47
MCF-7	I = -182.15 O + 326.85	0.46	0.21
SKLU-1	I = -389.33 O + 677.18	0.71	0.5

Tabla 15. Ecuaciones obtenidas de la polarizabilidad para cada línea celular, R y R².

Línea Celular	Ecuación	R	R ²
U251	I = -8.23 P + 660.95	0.86	0.74
PC3	I = -7.47 P + 604.53	0.79	0.62
K562	I = -7.67 P + 625.40	0.7	0.49
HCT-15	I = -10.05 P + 796.86	0.89	0.79
MCF-7	I = -5.31 P + 438.46	0.66	0.43
SKLU-1	I = -9.40 P + 768.81	0.84	0.71

Tabla 16. Ecuaciones obtenidas de Log P para cada línea celular, R y R².

Línea Celular	Ecuación	R	R ²
U251	I = -26.59 LogP + 132.61	0.87	0.75
PC3	I = -24.22 LogP + 125.55	0.8	0.63
K562	I = -24.99 LogP + 133.40	0.71	0.5
HCT-15	I = -32.49 LogP + 151.29	0.89	0.8
MCF-7	I = -17.25 LogP + 98.20	0.67	0.44
SKLU-1	I = -30.41 LogP + 165.52	0.85	0.72



Una vez que se realizó el estudio estadístico y se obtuvieron las correlaciones, las ecuaciones que predicen mejor la actividad inhibitoria proliferativa son las obtenidas con el descriptor Log P. A partir de estas ecuaciones se predijo la actividad del grupo prueba (compuesto IVc) y se calculó el % de certidumbre (**Tabla 17**).

Tabla 17. Actividad Antiproliferativa Estimada y % de Certidumbre.

Línea Celular	Ecuación	Actividad Experimental	Actividad Estimada	%AE/R
U251	$I = -26.59 \text{ LogP} + 132.61$	18.9	43.0	227.5
PC3	$I = -24.22 \text{ LogP} + 125.55$	36.1	43.9	121.6
K562	$I = -24.99 \text{ LogP} + 133.40$	50.8	49.2	96.9
HCT-15	$I = -32.49 \text{ LogP} + 151.29$	23.2	41.8	180.2
MCF-7	$I = -17.25 \text{ LogP} + 98.20$	35.6	40.1	112.6
SKLU-1	$I = -30.41 \text{ LogP} + 165.52$	81.9	63.0	76.9

AE=actividad estimada, R=actividad experimental.



VI

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Por lo que podemos observar, el método de síntesis de derivados de la deshidroepiandrosterona tanto los intermediarios como los compuestos finales con un grupo metoxilo en la posición C-17 y un grupo éster en 3β - dan rendimientos buenos como se observa en la (Tabla 18):

Tabla 18. Compuestos sintetizados y su rendimiento global.

Compuesto	Molécula	Rendimiento
II		86%
III		81.13%
IVa		73.83%
IVb		58.41%
IVc		58.41%
IVd		47.87%
IVe		56.79%
IVf		55.17%



Si observamos los rendimientos globales podemos ver que el compuesto que tiene una cadena alifática en la posición 3 β - nos da un mayor rendimiento que los compuestos que tienen en dicha posición un aliciclo, lo que es atribuido a una mayor libertad de rotación de los ácidos alifáticos, por lo cual pueden interaccionar mejor con la posición 3 β -.

Observamos que el compuesto 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno (**II**) se obtuvo debido a que aparece en el espectro de IR una señal en 2738 cm⁻¹ que se le conoce como la resonancia de Fermi de un aldehído, en RMN-¹H aparece un singulete en 10ppm, desplazamiento que indica que tenemos un protón sin vecinos, el aldehído en C-16 y en RMN-¹³C encontramos una señal del carbono del aldehído en 188 ppm, una señal en 162 ppm el cual es el desplazamiento de un carbono vinílico unido a un halógeno y una señal en 139ppm, desplazamiento de un carbono vinílico unido a un aldehído; además en espectrometría de masas podemos observar dos señales características del cloro una en M⁺+1 (377m/z) y la otra en M⁺+3 (379m/z) con abundancias en la proporción 3:1.

Para el compuesto 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3 β -ol (**III**) observamos en IR una señal ancha en 3363 cm⁻¹ lo que nos indica la presencia de un grupo –OH y dos señales en 1400 y 1447 cm⁻¹ que nos indica la presencia de un grupo éter del grupo metoxilo, en RMN-¹H encontramos un singulete con un desplazamiento característico de un metilo unido a un oxígeno en 4.16ppm el cual integra para tres hidrógenos, en RMN-¹³C encontramos una señal con desplazamiento característico de un metilo del metoxilo en 62 ppm y en espectrometría de masas se observa una señal corresponde a M⁺+1 de 331.

Para el compuesto 3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVa**) ya no se observa en IR la señal ancha perteneciente al alcohol, sin embargo, aparecen dos señales características de un grupo éster en 1239 y 1209 cm⁻¹, en el espectro de RMN-¹H se observa un singulete que integra para tres hidrógenos en 2.03 ppm perteneciente al metilo del éster el cual es el mismo desplazamiento que tiene en el compuesto **II**; en RMN-¹³C aparece una señal en 21 ppm perteneciente al metilo del éster, de igual desplazamiento que en el espectro del compuesto **II** y que desaparece en el espectro del compuesto **III** y en espectrometría de masas se observa una señal corresponde a M⁺+1 de 373.

Para el resto de los compuestos aparece el mismo patrón de señales en IR que el compuesto **IVa**. En los espectros de RMN-¹H se observan las mismas señales a excepción del singulete en 2.03ppm, en dicha región se observan varios multipletes, los cuales corresponden a los protones de los carbonos de los esteres alicíclicos. En los espectros de RMN-¹³C se observan las señales pertenecientes a los carbonos del



éster alicíclico y en masa se observa una señal que corresponde con el M^{+1} de cada compuesto.

Por otro lado, de acuerdo a los datos obtenidos de actividad antiproliferativa podemos observar que el compuesto 3β -ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVc**) presenta cierta selectividad contra la línea celular de cáncer de pulmón, el compuesto 3β -ciclopropanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVb**) igualmente presenta cierta selectividad por las líneas celulares de cáncer de pulmón y de leucemia, y el compuesto 3β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVa**) presenta actividad moderada sobre todas las líneas celulares, mientras que el resto de los compuestos presentan una baja actividad antiproliferativa.

Al realizar el estudio estadístico del descriptor Log P versus la actividad antiproliferativa de acuerdo con las ecuaciones obtenidas, encontramos que influye de manera negativa en la actividad, ya que el signo para esta variable es negativo. Esto significa que los compuestos menos lipofílicos presentan un incremento en la actividad, lo cual nos da una idea de que podría facilitar su paso a través de la membrana y es probable que en estos compuestos un valor de $\log P > 3.4$ no favorezca la actividad antiproliferativa debido a que queden incluidos en la membrana celular y no permeen hacia el blanco farmacológico. Por otro lado, al obtener el % de certidumbre de la actividad antiproliferativa del modelo estadístico, observamos que hay una mejor predicción en la línea celular de cáncer de próstata (PC3) con un 121.6%, la línea celular de leucemia(K562) con un 96.9%, la línea celular de cáncer de mama (MCF-7) con un 112.6% y la línea celular de cáncer de pulmón (SKLU-1) con un 76.9%, lo que nos habla de la gran contribución que tiene la lipofilicidad de los compuestos para la actividad antiproliferativa y la fiabilidad de los modelos obtenidos de dichas líneas celulares.





VII

CONCLUSIONES

- Se obtuvieron seis derivados de la deshidroepiandrosterona con un grupo metoxilo en la posición C-17 y un grupo éster en 3 β - con buenos rendimientos.
- Los nuevos compuestos se caracterizaron tanto por sus propiedades físicas (pf. y R_f), así como por métodos espectroscópicos (Infrarrojo y Resonancia Magnética Nuclear, ¹H y ¹³C) y espectrométricos (Espectrometría de Masas).
- Se evaluaron los compuestos obtenidos en 6 líneas de células cancerosas, de los cuales 3 compuestos presentaron actividad relevante. El compuesto 3 β -ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVc**) presenta cierta selectividad contra la línea celular de cáncer de pulmón, el compuesto 3 β -ciclopropanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVb**) presenta cierta selectividad por las líneas celulares de cáncer de pulmón y de leucemia, y el compuesto 3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno (**IVa**) presenta actividad moderada sobre todas las líneas celulares.
- Además, se hizo un estudio para comprender qué propiedad influye en la actividad antiproliferativa para las células de cáncer humanas probadas, obteniéndose que una de las propiedades fisicoquímicas estudiadas es de gran importancia para dicha actividad: la lipofilicidad, ya que entre menor fue el Log P mayor fue el % de inhibición proliferativa para las líneas celulares cancerígenas.
- Las ecuaciones obtenidas mediante un método estadístico describen el comportamiento antiproliferativo del compuesto prueba, ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno **IVc**, con una mejor predicción en las línea celulares de cáncer de próstata (PC3), de leucemia(K562), de cáncer de mama (MCF-7) y de cáncer de pulmón (SKLU-1).



VIII

PERSPECTIVAS

Actualmente, se contempla:

- La evaluación *in vitro*

Ensayos de actividad inhibitoria hacia la enzima 5 α - reductasa 1 y 2.

Ensayos de competencia de unión al receptor androgénico (RA).

- La evaluacion *in vivo*

Tamaño de la mancha pigmentada del órgano flanco.

Peso de la próstata.

Peso de las vesículas seminales.

Por otro lado, el presente trabajo ha abierto una puerta para realizar un estudio QSAR más amplio, tanto para una mayor cantidad de compuestos como de descriptores, para obtener un modelo que describa con precisión el comportamiento de los nuevos compuestos sobre la actividad biológica deseada, ya que el trabajo realizado solo fue un estudio de exploración.





VIII

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Organización mundial de la salud, Página web consultada el 10 de enero del 2012 en: <http://www.who.int/cancer/about/facts/en/index.html>
- 2) INEGI, Página web consultada el 10 de enero del 2012 en: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/proyectos/continuas/vitales/BD/taludados/ConsultaMortalidad.asp>
- 3) Rosas, Ma.R. Hiperplasia benigna de próstata: Síntomas, diagnóstico y estrategia terapéutica, OFFARM, **(2006)**, 25 (8), 102-108.
- 4) Lorenzo, P.I., Saatcioglu, F. Inhibition of Apoptosis in Prostate Cancer Cells by Androgens is Mediated through Downregulation of c-Jun N-terminal Kinase Activation, Neoplasia, **(2008)**, 10(5), 418-428.
- 5) Stephenson, A.J., Abouassaly, R., Klein, E.A. Chemoprevention of Prostate Cancer, Urologic Clinics of North America, **(2010)**, 37(1), 11-20.
- 6) Bahls, C., Fogarty M. Reining in a killer disease, An outline of several approaches to controlling cancer. The Scientist, **(2002)**, 16(11), 16.
- 7) Klug, WS., Cummings, MR. Conceptos de Genética, 8^a Edición, Pearson/Prentice Hall, **(2008)**, P.920.
- 8) Wilson, J. F. How researchers have deciphered the role of DNA damage repair in cancer, Elucidating the DNA damage pathway. The Scientist, **(2002)**, 16(2), 30



- 9) Organización Mundial de la Salud, Source Globocan, **(2008)**, Cancer incidence and mortality worldwide. Pagina web consultada el 21 de abril del 2012 en: <http://www.who.int/cancer/about/facts/en/index.html>
- 10)Gibbs, W.W. New evidence challenges old theories of how cancer develops. Untangling the roots. *American*, **(2003)**, 57–65.
- 11)Kling, J. Gene silencing by methylation rather than by gene mutation may create some cancer cells. Put the blame on methylation. *The Scientist* **(2003)**, 16(12), 27–28.
- 12)McCook, A. Developing protein “fingerprints” to screen for cancer. Lifting the screen. *Scientific American*, **(2002)**, 16–17.
- 13)Douglas, H., Weinberg, R.A. Helkmarks of cancer: the next geeration. *Leading Edge Review*, **(2011)**, 2(13), 646-674.
- 14)Henry C. Pitot, M.D. *Cancer*, **(1993)**, 7, 2962-2970.
- 15)Oliveira, P.A., Colaço, A., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., Luis, F., De-la-Cruz P., Lopes, C. Chemical carcinogénesis. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, **(2007)**, 79(4), 593-616.
- 16)Klusner, R.D. The fabric of cáncer cell biology-weaving together the strands, cancer cell, **(2002)**, 1, 3-10.
- 17)Kroemer, G., Pouyssegur, J. Tumor Cell Metabolism: Cancer’s Achilles’ Heel. *Cancer Cell*, **(2008)**, 13, 472-482.
- 18)Langdon, S.P. *Cancer Cell Culture*. Humana Press, **(2008)**, 88, 3-335.



VIII. Bibliografía

- 19)Giraldez, J., Fernandez, E., Torrubia, F.J. Hiperplasia benigna de próstata: Tacto rectal. SEMERGEN, **(2011)**, 24(7), 546-550.
- 20)Travis, L.B. Second Primary Cancers: An Overview. Hematol Oncol Clin, **(2008)**, 22, 271-289.
- 21)Czernin, J., Benz, M.R., Allen-Auerbach, M.S. PET Imaging of Prostate Cancer Using C-Acetate. PET Clin, **(2009)**, 4, 163-172.
- 22)Thompson, IM. Pauler, DK. Goodman, PJ. et al. Prevalencia of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level 4.0ng per milliliter. The New England Journal of Medicine, **(2004)**, 350(22), 2239-2246.
- 23)Guadarrama, I., et al. Papel de los andrógenos en el desarrollo del cáncer de próstata: un estudio sobre miRNAs. Instituto Nacional de Medicina Genómica, Secretaria de Salud, **(2011)**, 185-210.
- 24)Keetch, DW., Catalona, WJ., Smith, DS. Serial prostatic biopsies in men with persistently elevated serum prostate specific antigen values. The Journal of Urology **(1994)**, 151(6), 1571-1574.
- 25)Fiorentino, F., Capizzi, E. Blood and Tissue Biomarkers Prostate Cancer: Stage of the Art, Urol Clin, **(2009)**, 37, 131-141.
- 26)Rayl, A.J.S., Lewis, R. Evidence for the importance of lifestyle in preventing cancer, In cancer research, diet and exercise roles strengthen. The Scientist **(2001)**, 15(20), 17.
- 27)Veggeberg, S. Discussion of a class of drugs that helps to prevent angiogenesis, Fighting cancer with angiogenesis inhibitors. The Scientist **(2002)**, 16(11), 41.
- 28)Wilson J.F. Discusses approaches to cancer treatment using cells cycle inhibitors, A dual role of CDK inhibitors. The Scientists, **(2001)**, 16(2), 30.
-



- 29)Ginzvurg, S., Albertsen, P.C. The Timing and Extent of Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer: Weighing the Clinical Evidence. *Endocrinol Metab Clin*, **(2011)**, 40, 615-623.
- 30)Stephenson, A.J., Abouasaly, R., Klein, E.A. Chemoprevention of Prostate Cancer, **(2009)**, 37, 11-21.
- 31)Jônsson, B., Staginnus, U., Wiking, N. Una revisión de los tratamientos oncológicos. *ReES*, **(2008)**, 6(3), 148-156.
- 32)Mostaghel, E.A., Plymate, S. Therapies for Castration-Resistant Prostata Cancer. *Endocrinol Metab Cllin*, **(2011)**, 40, 625-642.
- 33) Kronenberg, H.M. Williams Tratado de Endocrinología, 11^a edición. *Medicina Full*, **(2008)**, p.1920.
- 34)Mooradian, A. D., Morley, J.E., Korenman, S. G. Biological Action of Androgens. *Endocrine Society*, **(1987)**, 8(1), 1-28.
- 35)Jordan, C.L., DonCarlos, L. Androgens in health and disease: An overview. *NIH Public Access*, **(2008)**, 53(5), 589-595.
- 36)Mostaghel, E.A., Nelson, P.S. Intracrine androgen metabolism in prostate cancer progression: mechanisms of castrance resistance and therapeutic implications. *NIH Public Access*, **(2008)**, 22(2), 243-258.
- 37)Mohler, J.L., Titus, M., Kozyreva, O., Harris, O., Ford, I., Kawinski, E., Yun Li. Novel steroid 5 α -reductase, **(2009)**, Patent application number: 20090246785.



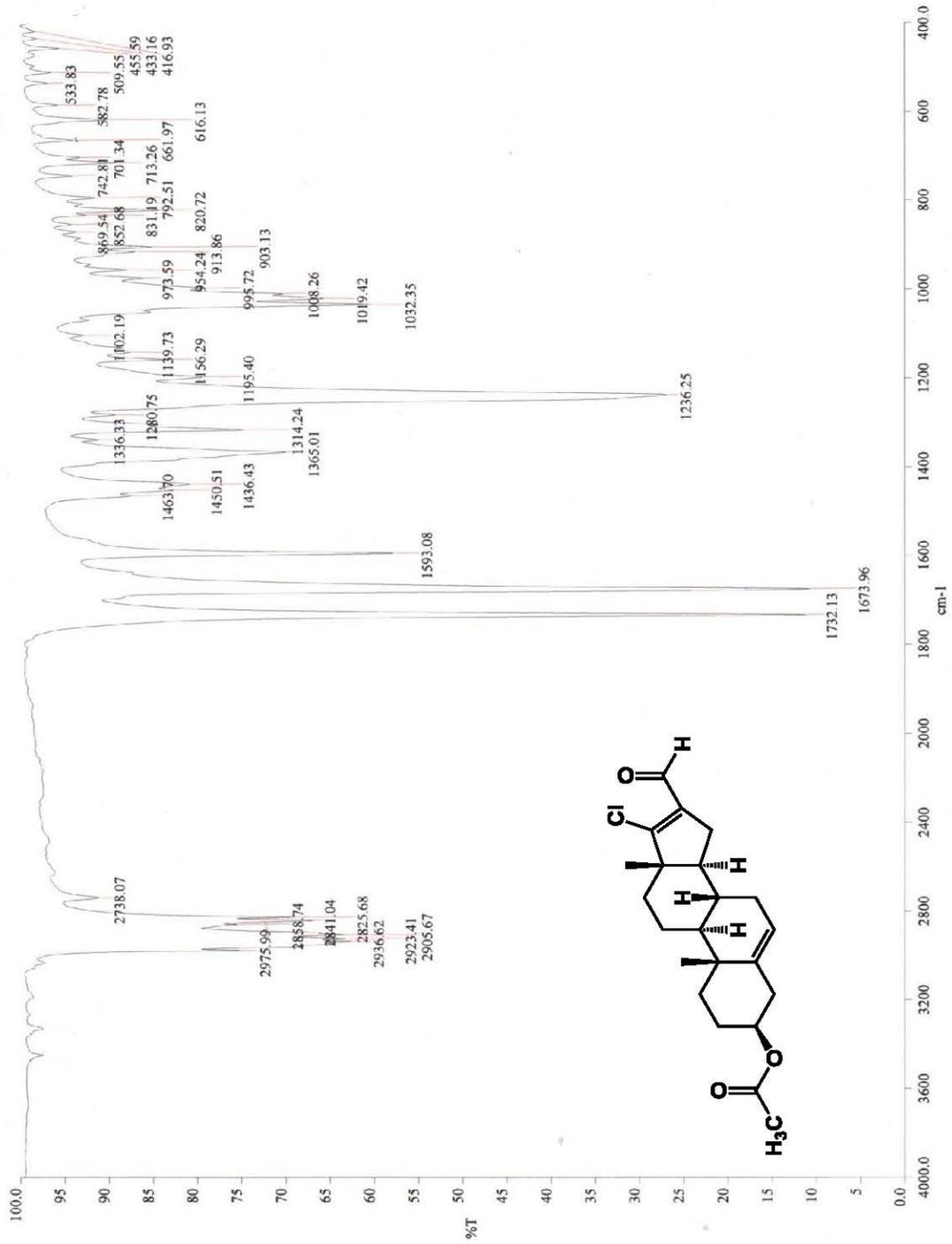
VIII. Bibliografía

- 38) Azzouni, F., Godoy, A., Yun Li., Mohler, J. The 5 α -reductase Isozyme Family: A Review of Basic Biology and Their Role in Human Diseases. Hindawi Publishing Corporation Advances in Urology, **(2012)**, 1-18.
- 39) Cell signal, Technology, Pagina web consultada el 5 de mayo del 2012 en: <http://www.cellsignal.com/pathways/apoptosis-signaling.jsp>
- 40) Davis, R.J. Signal Transduction by the JNK Group of MAP Kinases, cell Press, **(2000)**, 103, 239-252.
- 41) Cabeza, S.M., Bratoeff, E., Ramirez, L.E., Flores, O.E. Mecanismo de acción de antiandrógenos esteroidales. Serie Academicos CBS. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México **(2004)**.
- 42) Njar, V.C.O., Kato, K., Nnane, I.P., Grigoryev, D. N., Long, B.J. and Brodie, A.M.H., Novel 17-azolyl steroids; potent inhibitors of cytochrome 17 alpha hydroxylase/17,20-lyase (P450 17 alpha): Potential agents for the treatment of prostate cancer. J. Med. Chem., 1998, 41, 902-912.
- 43) Grover, I.I., Singh, I.I., Bakshi, I.I., Quantitative Structure-Property Relationship in Pharmaceutical Research-Part 1. Pharm. Sci. Technol. Today, **(2000)**, 3(1), 28-35.

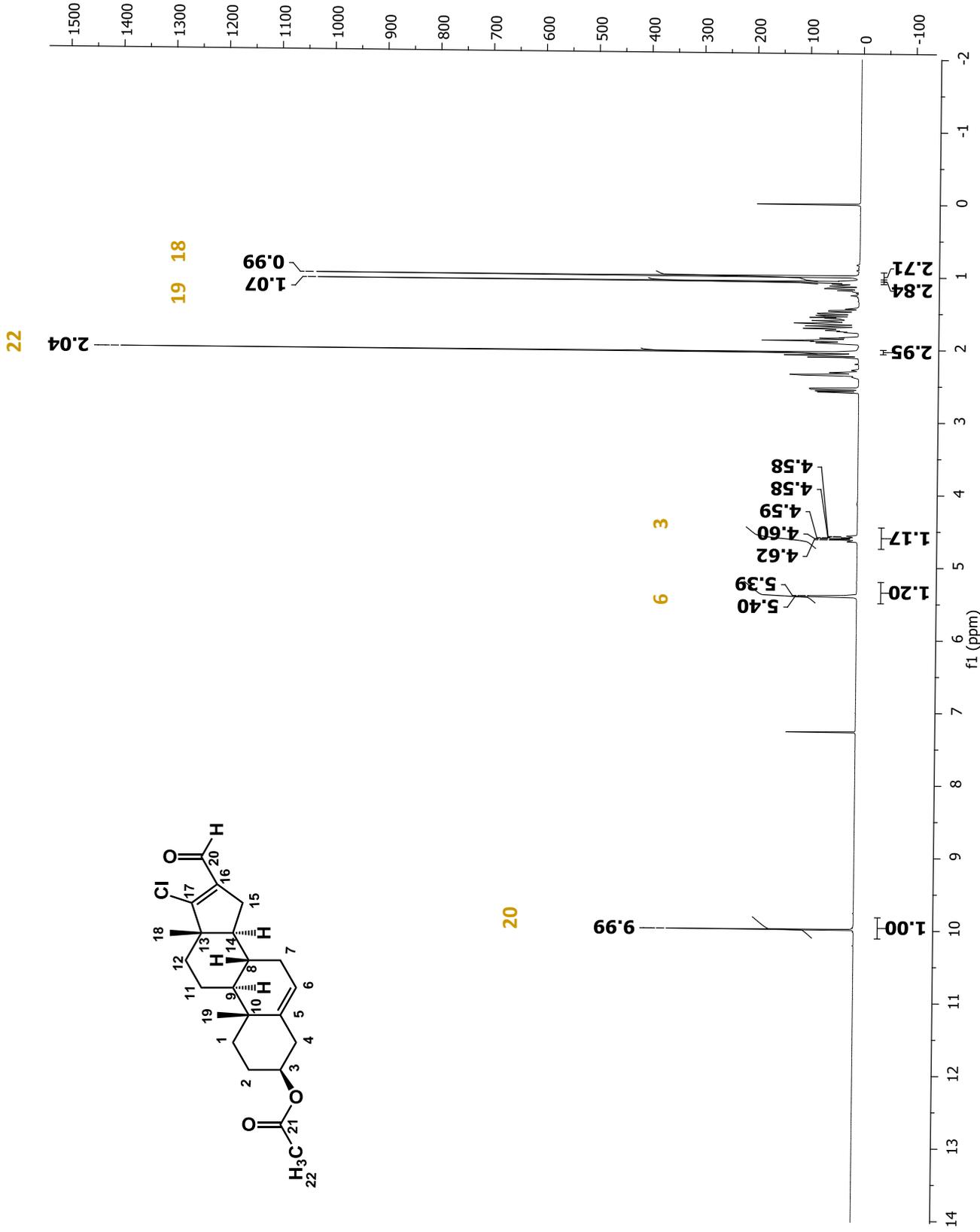


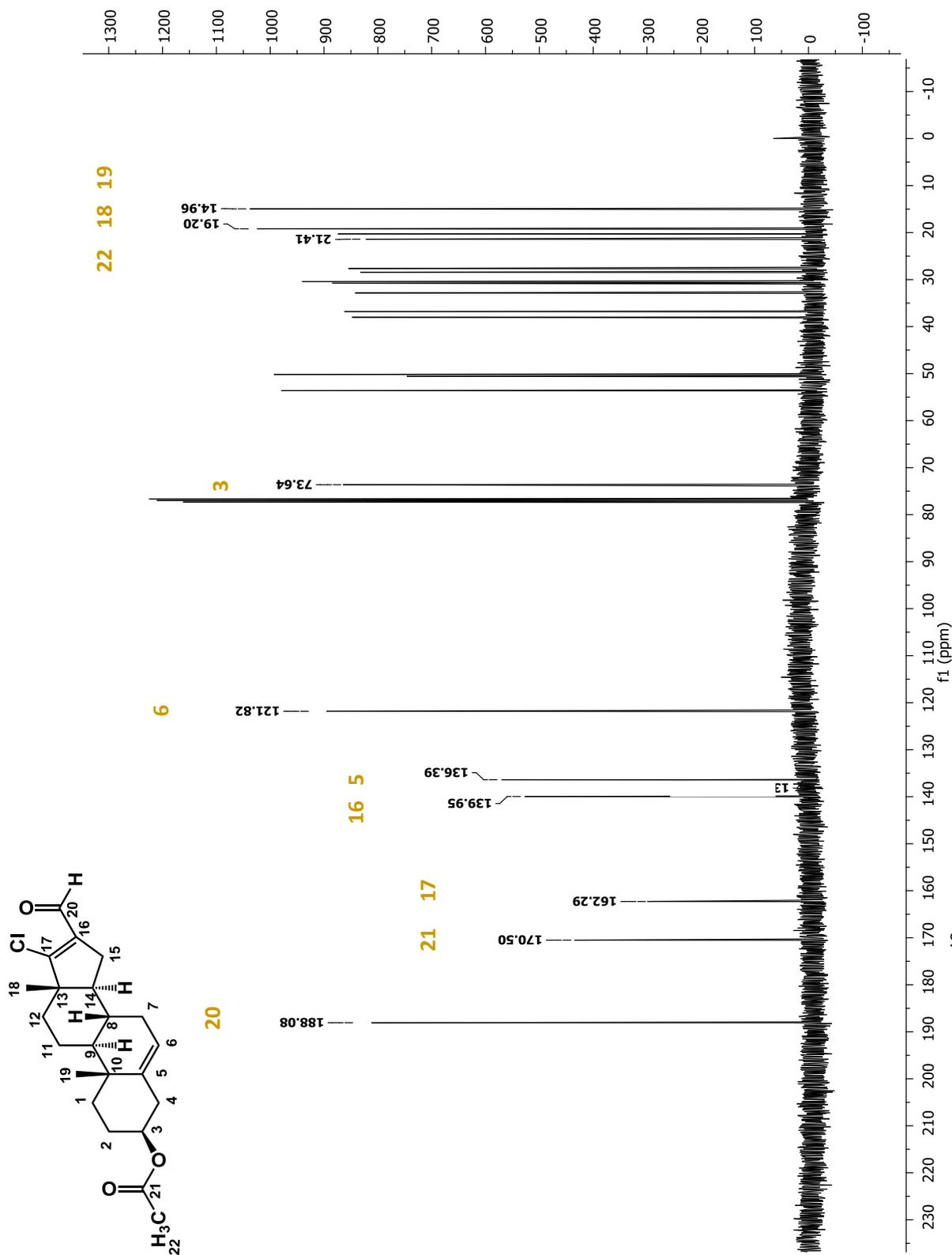


IX. ANEXO ESPECTROS

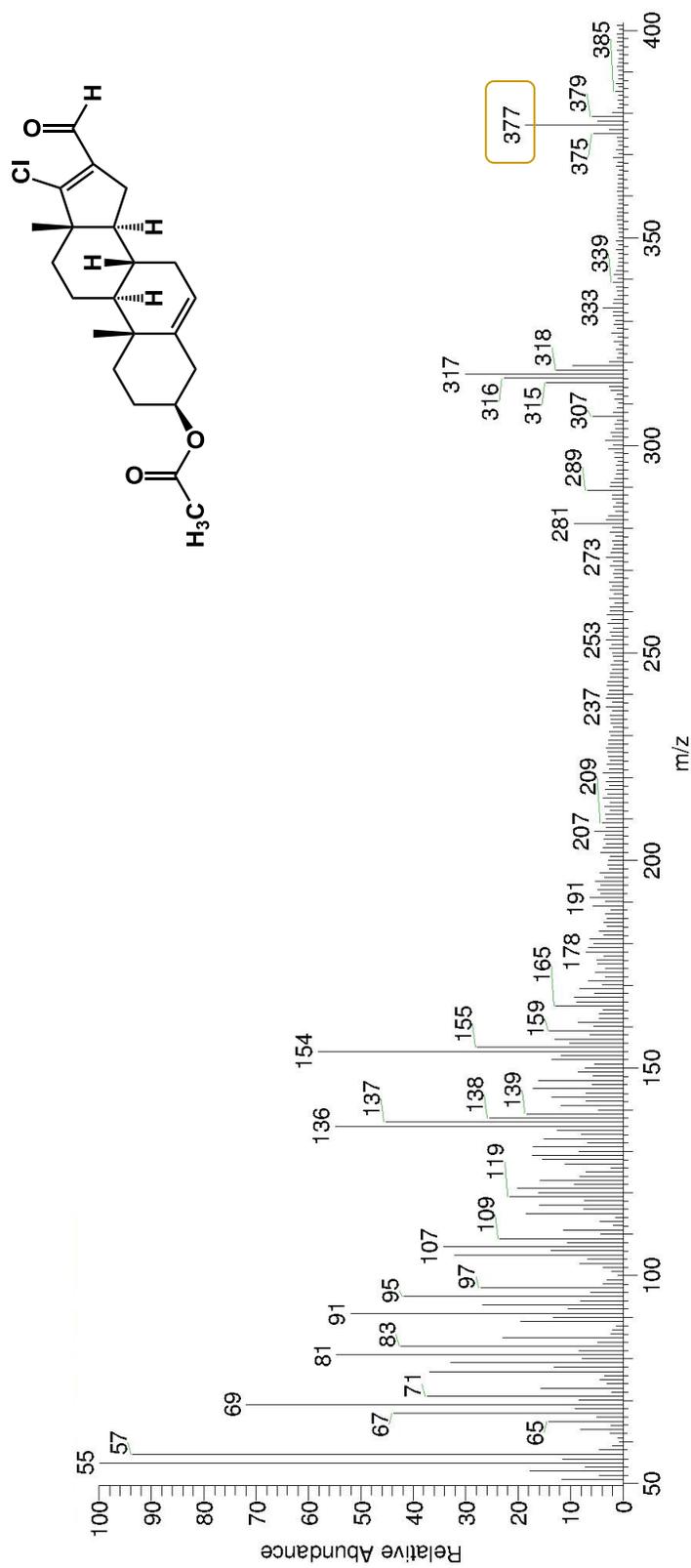


Espectro 1. IR del compuesto (II) 3β-acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno

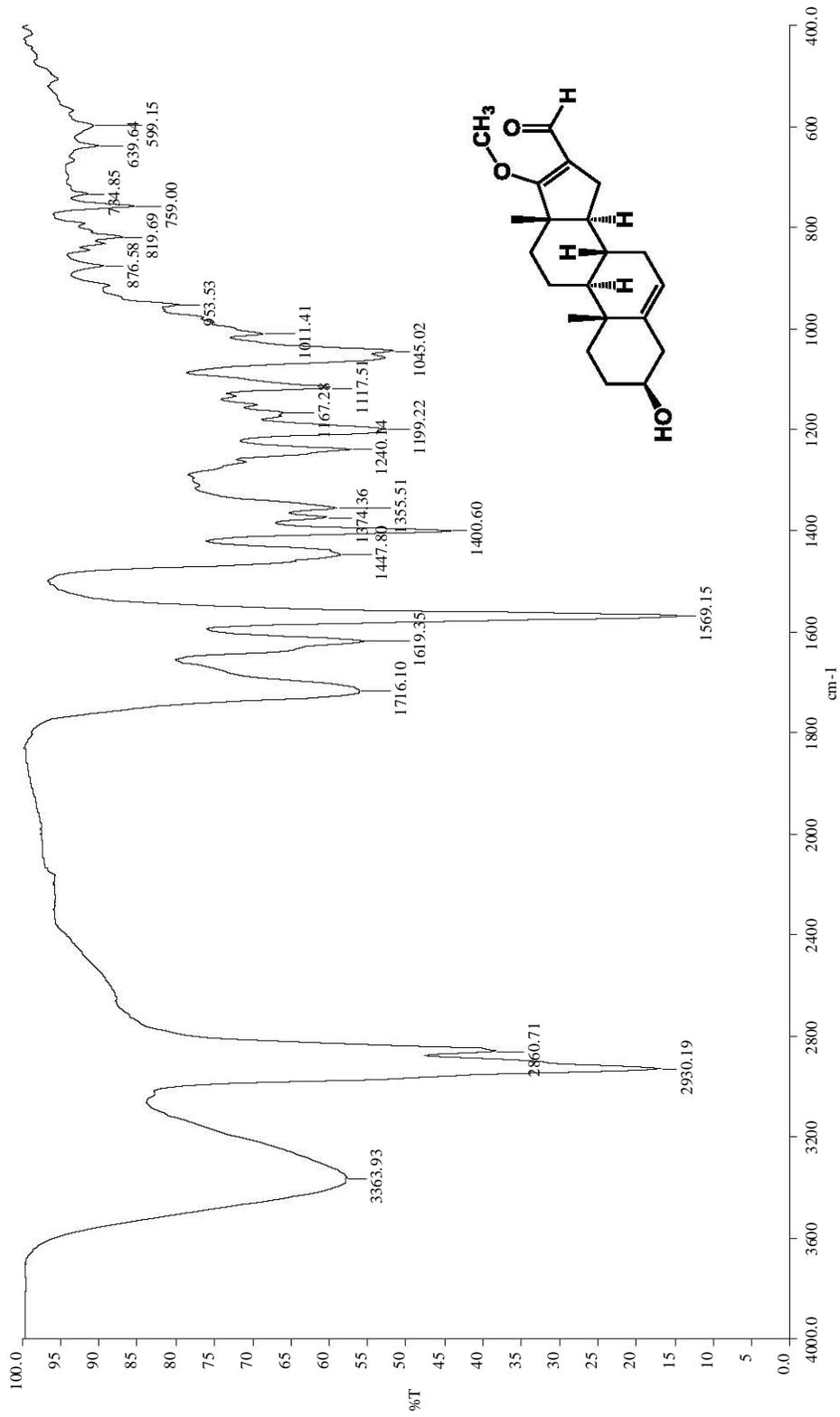




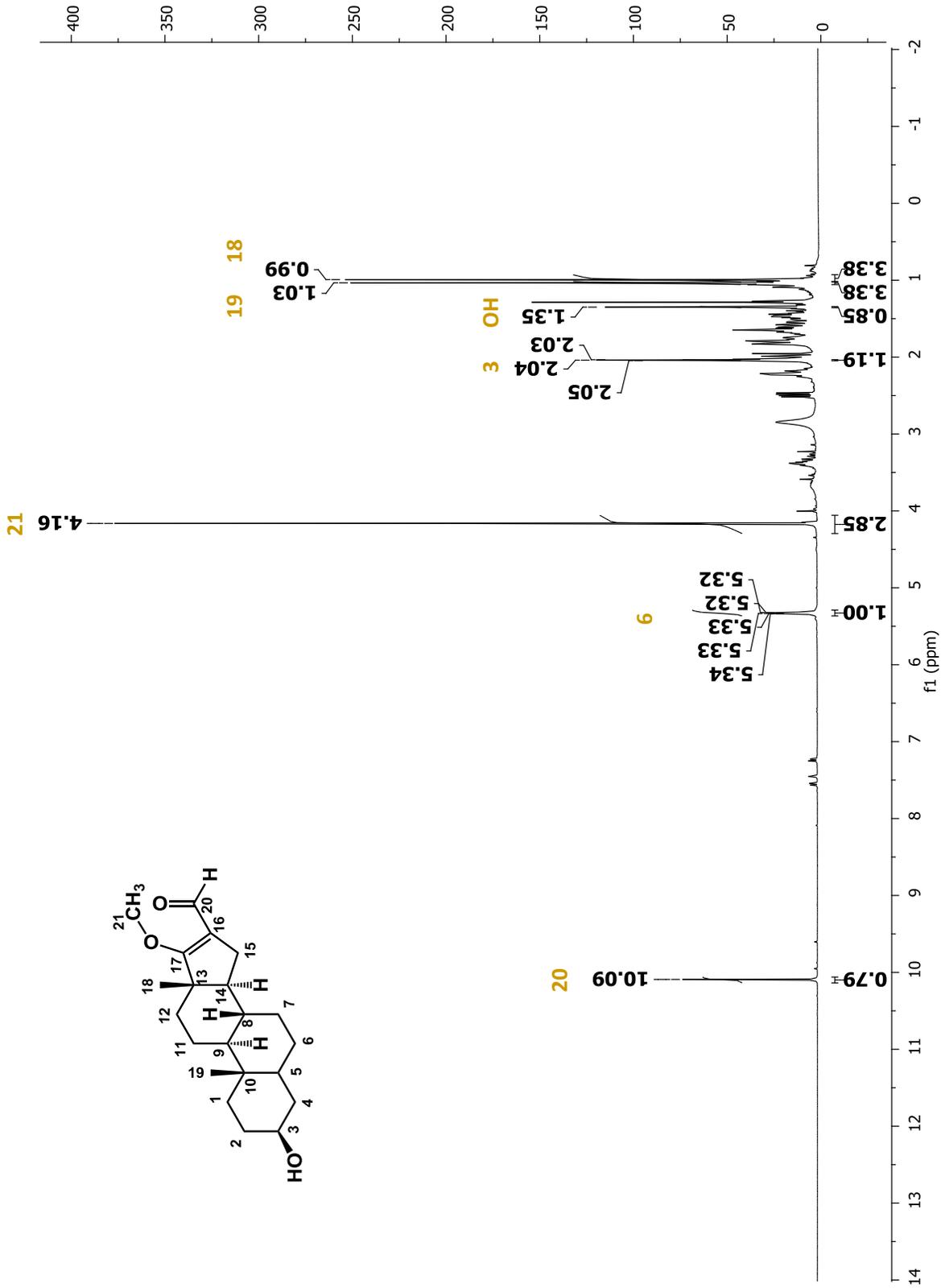
Espectro 3. RMN- ^{13}C del compuesto (II) 3 β -acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno



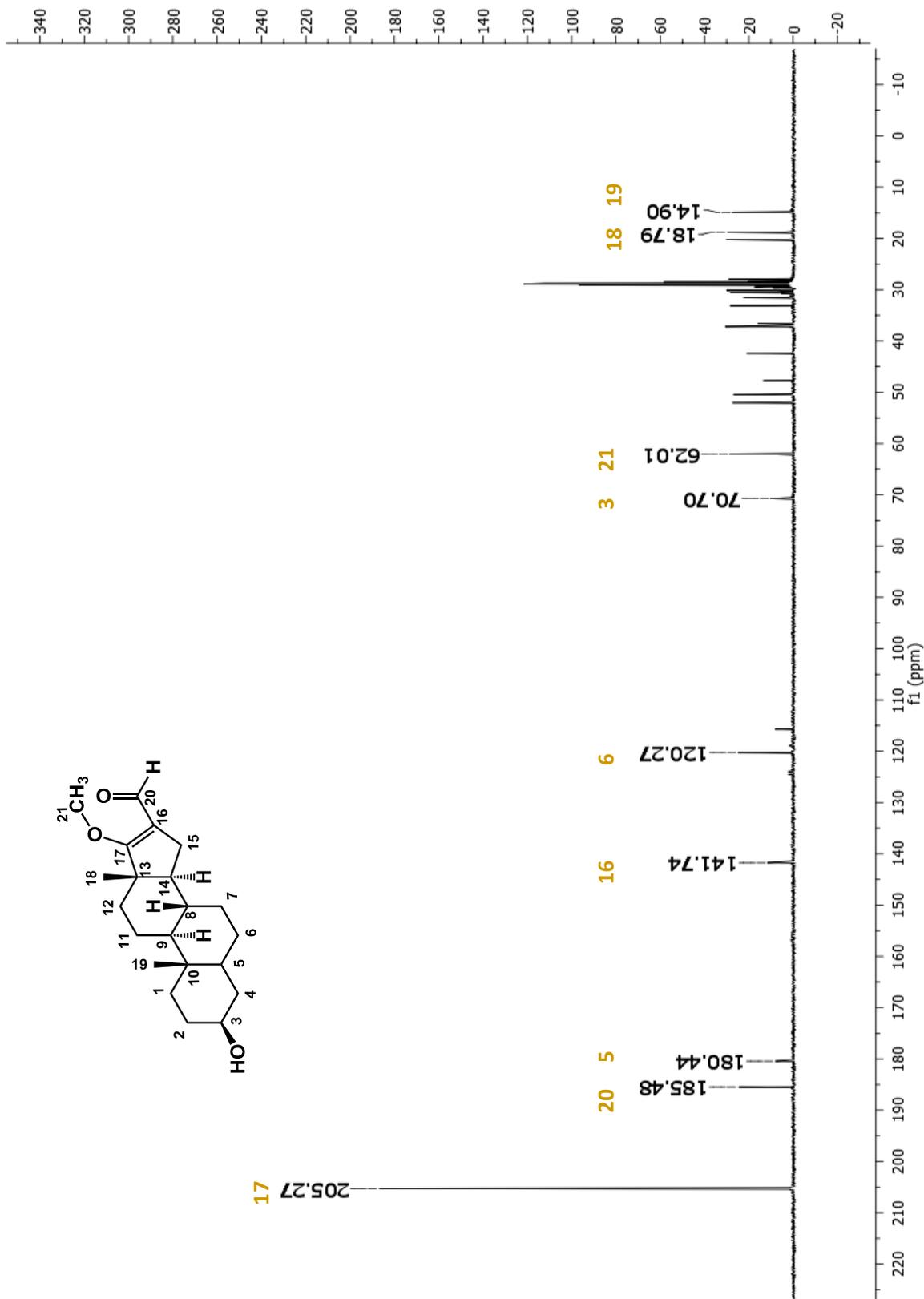
Espectro 4. Masas, compuesto (II) 3β-acetoxi-17-cloro-16-formil-5,16-androstandieno



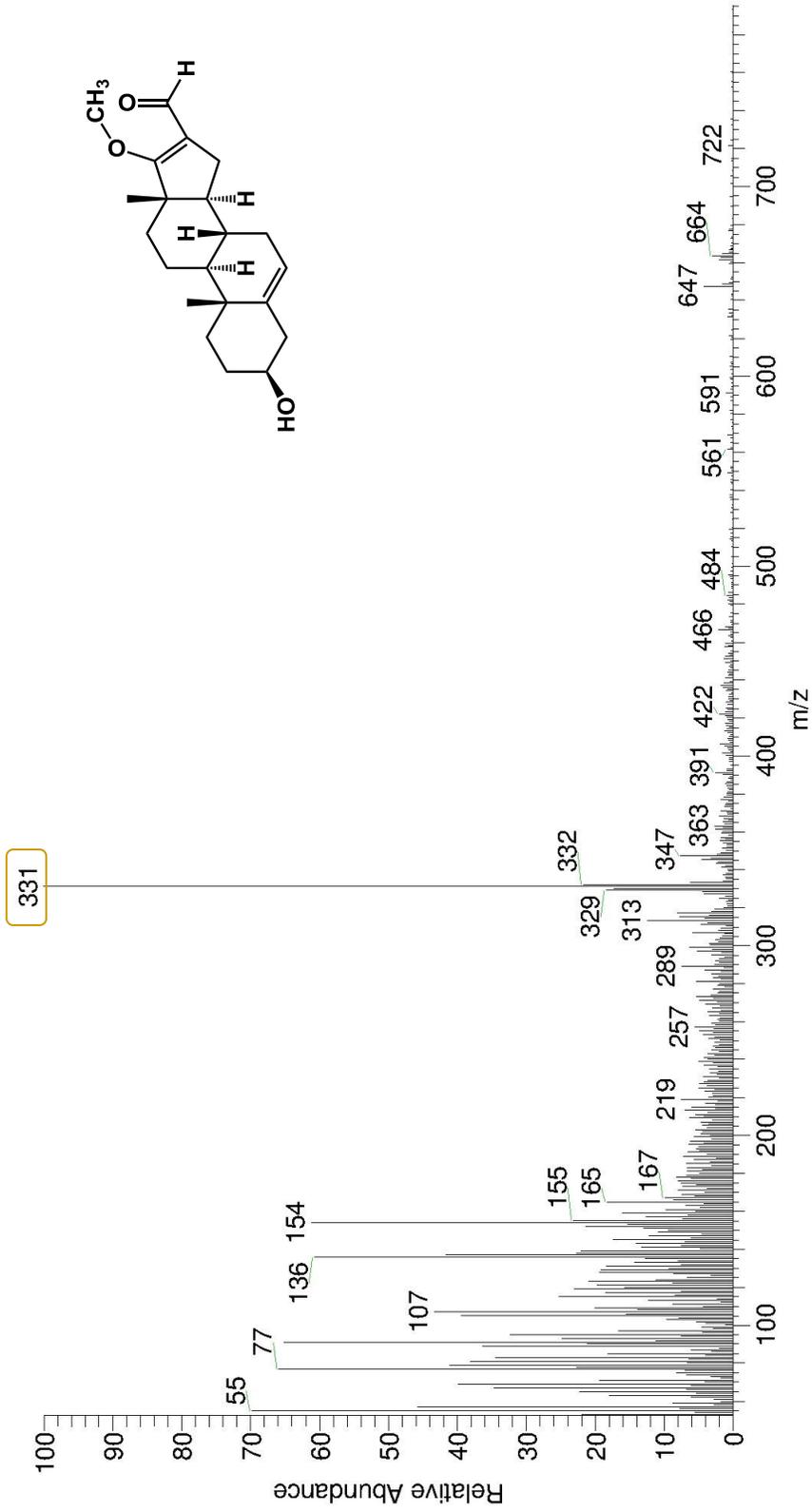
Espectro 5. IR del compuesto (III) 16-formil-17metoxil-5,16-androstandieno-3β-ol



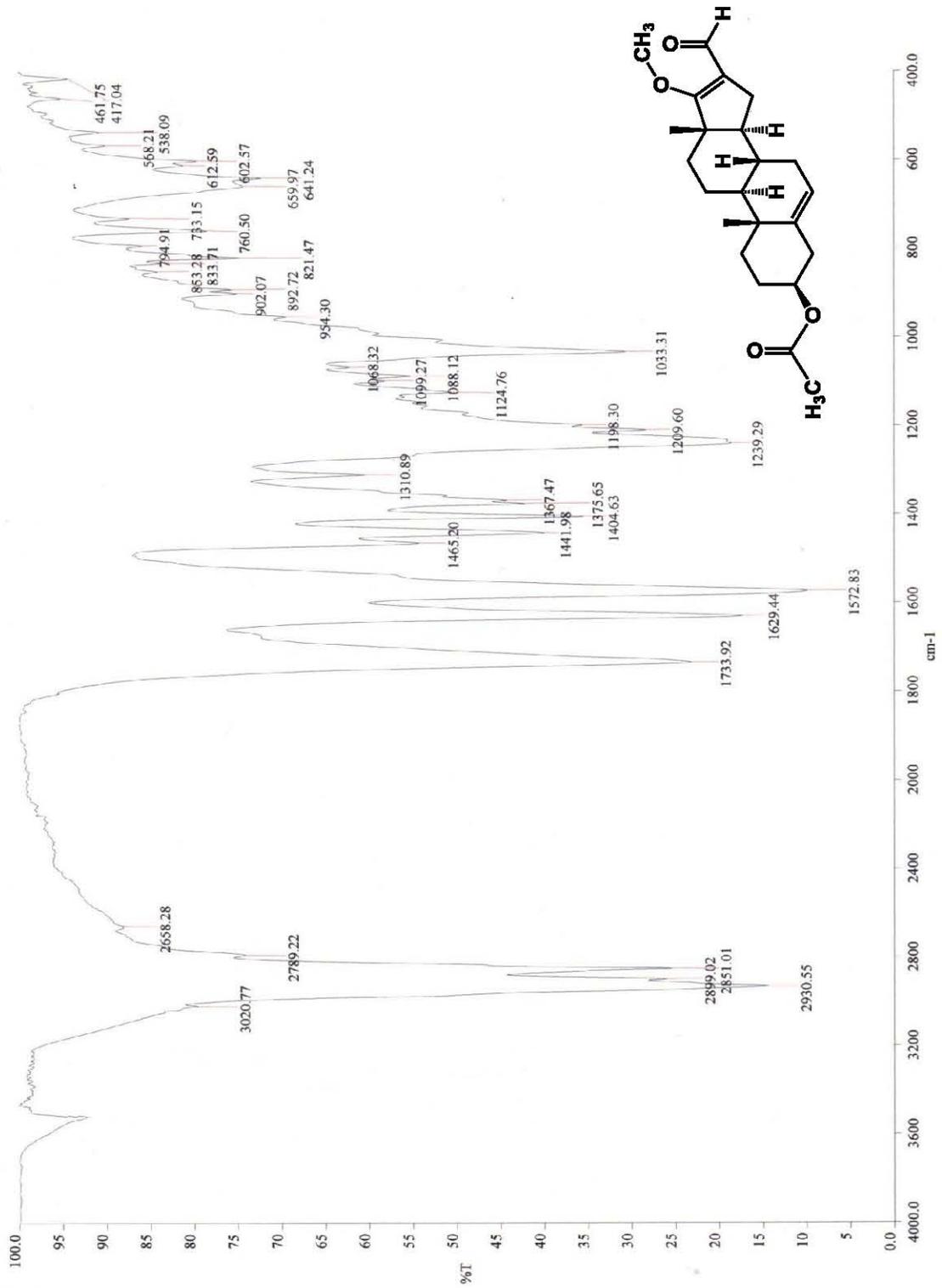
Espectro 6. RMN-¹H del compuesto (III) -16-formil-17-metoxil-5,16-androstandieno-3β-ol



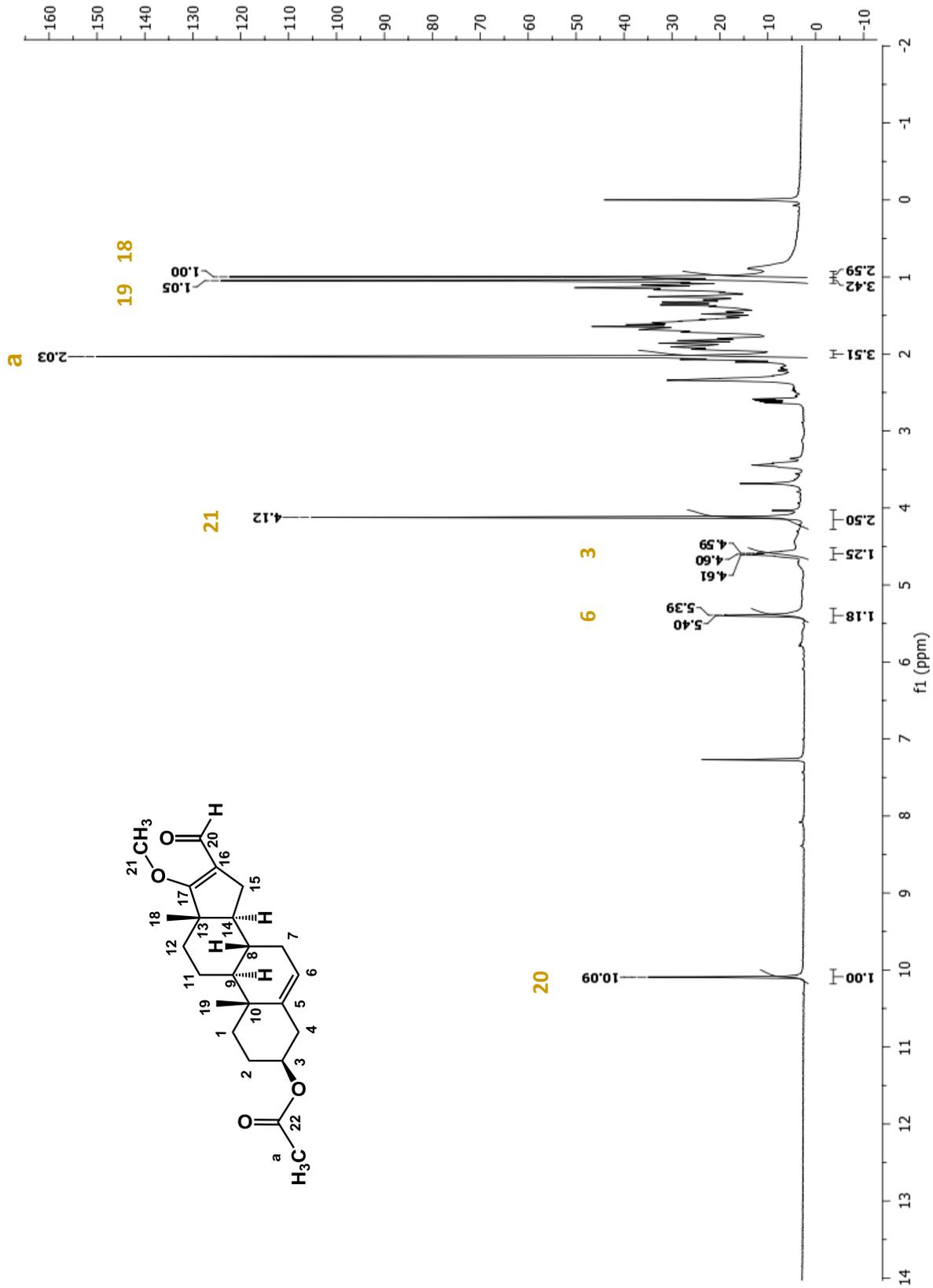
Espectro 7. RMN-¹³C del compuesto (III) 16-formil-17metoxiii-5,16-androstandieno-3β-ol

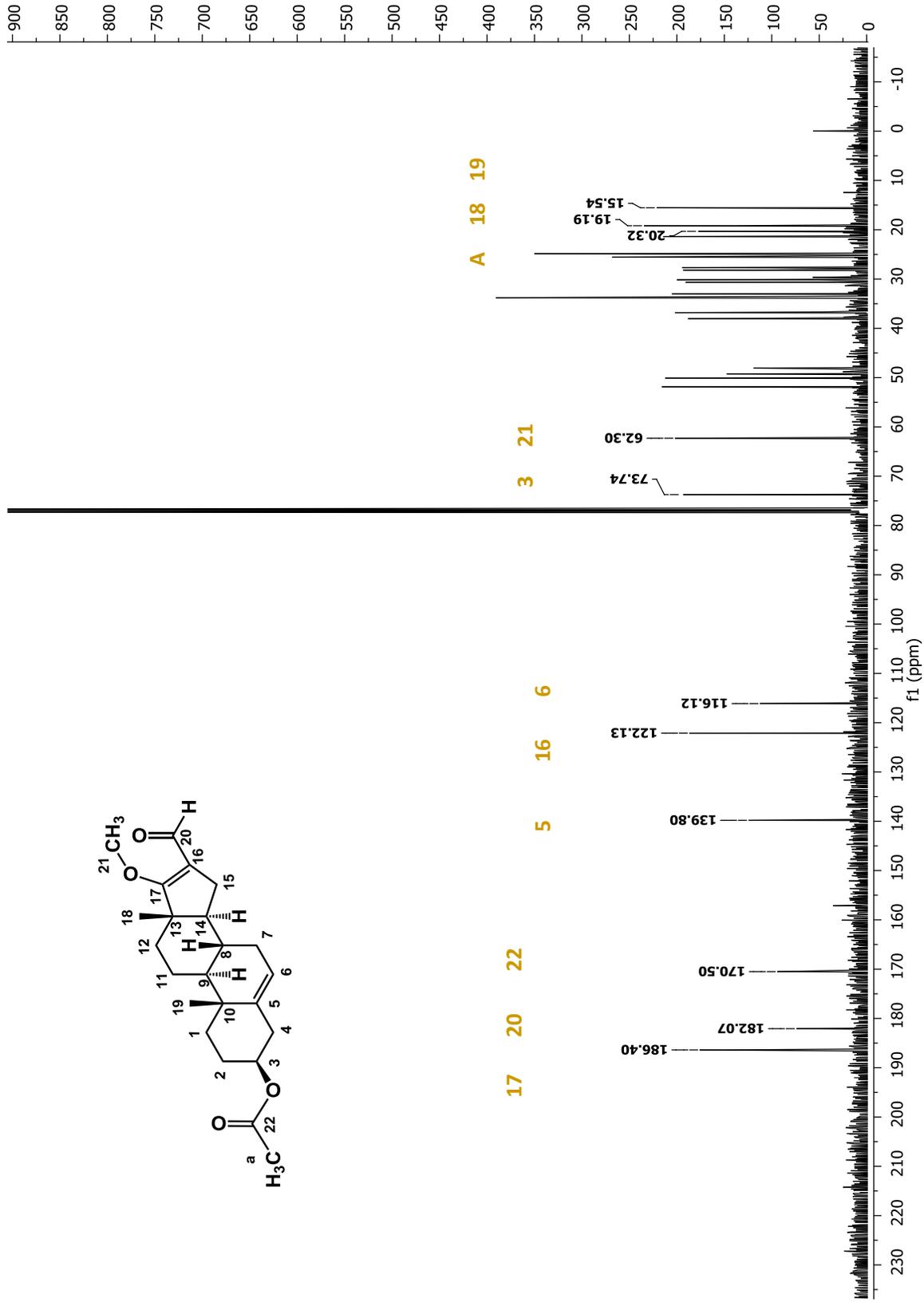


Espectro 8. Masas, compuesto (III) 16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno-3β-ol

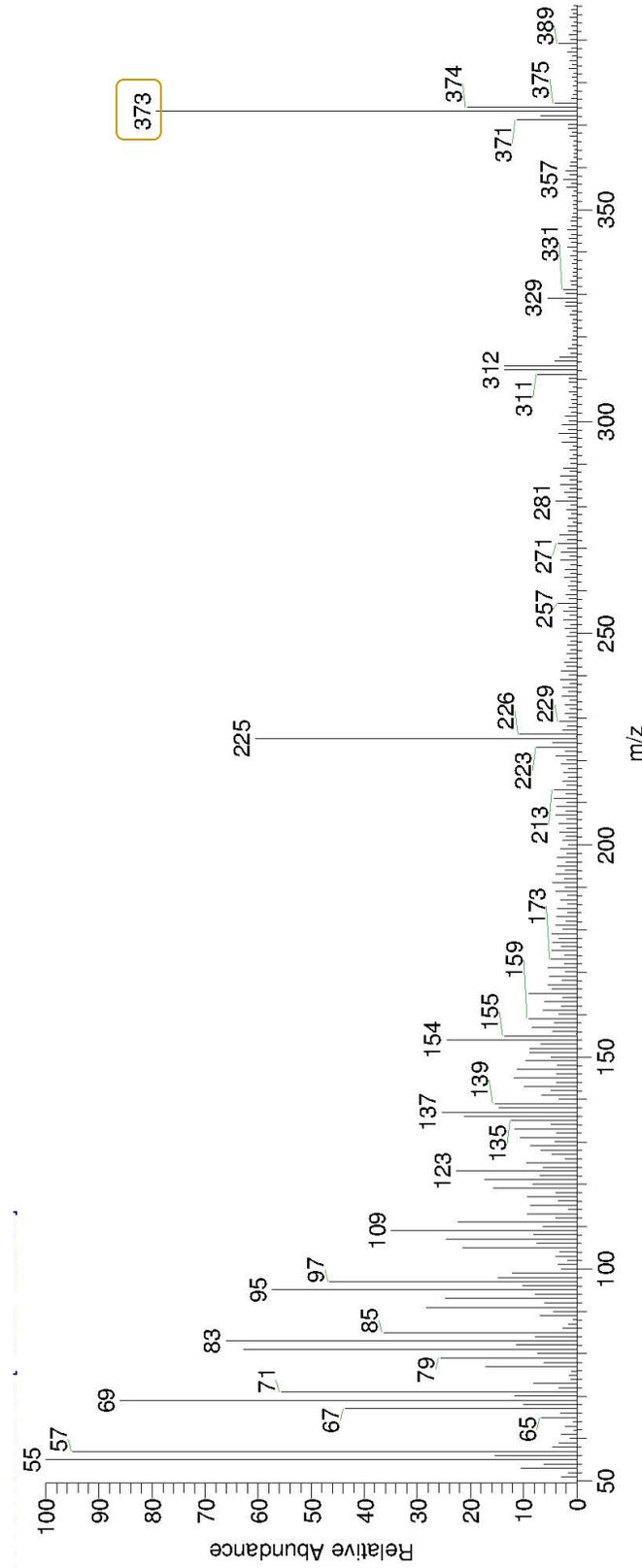
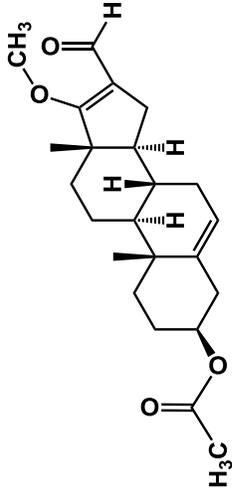


Espectro 9. IR del compuesto (IVa) 3β-acetoxi-16-formil-17-metoxiil-5,16-androstandieno

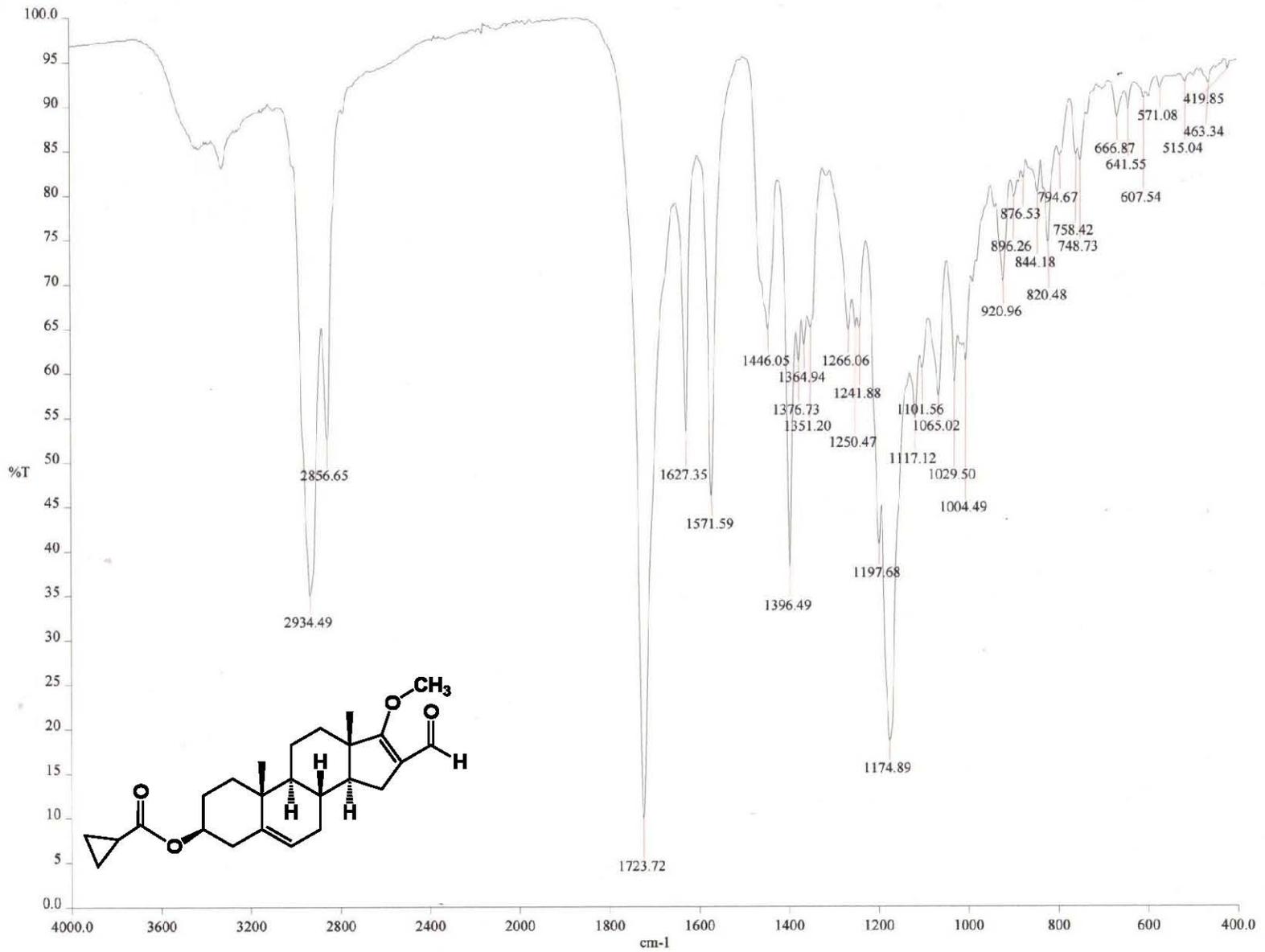




Espectro 11. RMN-¹³C del compuesto (IVa) 3β-acetoxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno

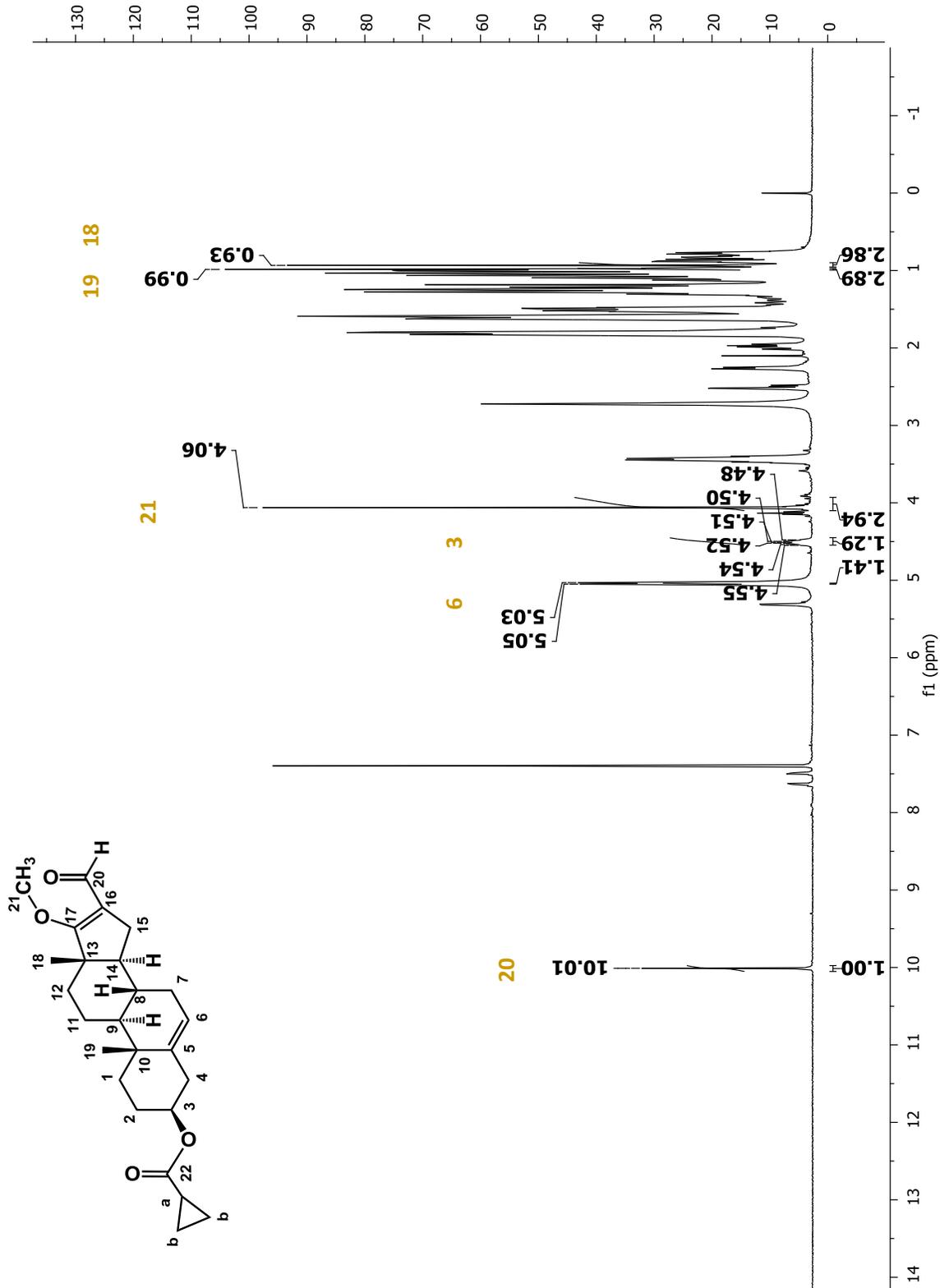


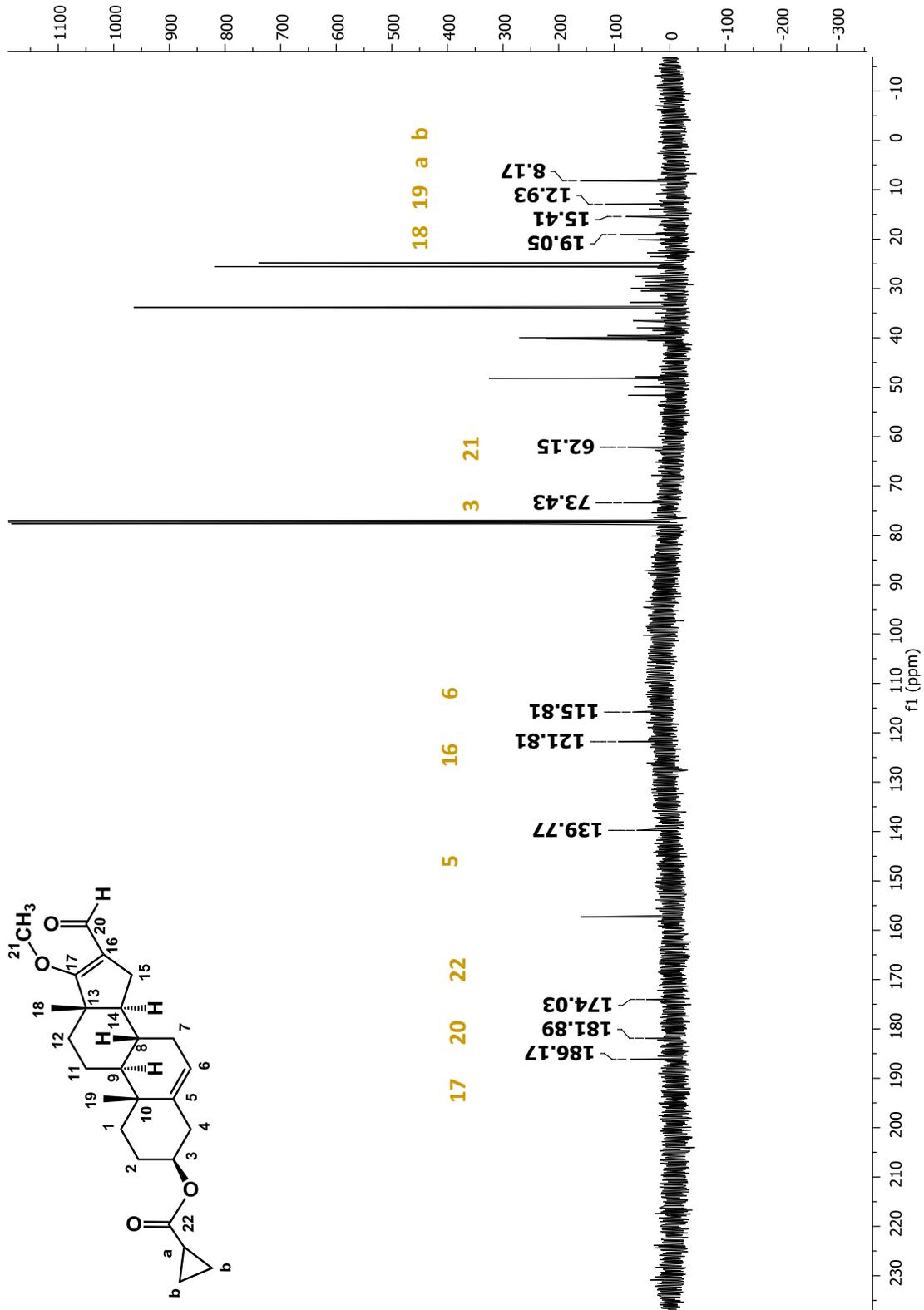
Espectro 8. Masas, compuesto (IVa) 3 β -acetoxi-16-formil-17-metoxil-5,16-androstandieno



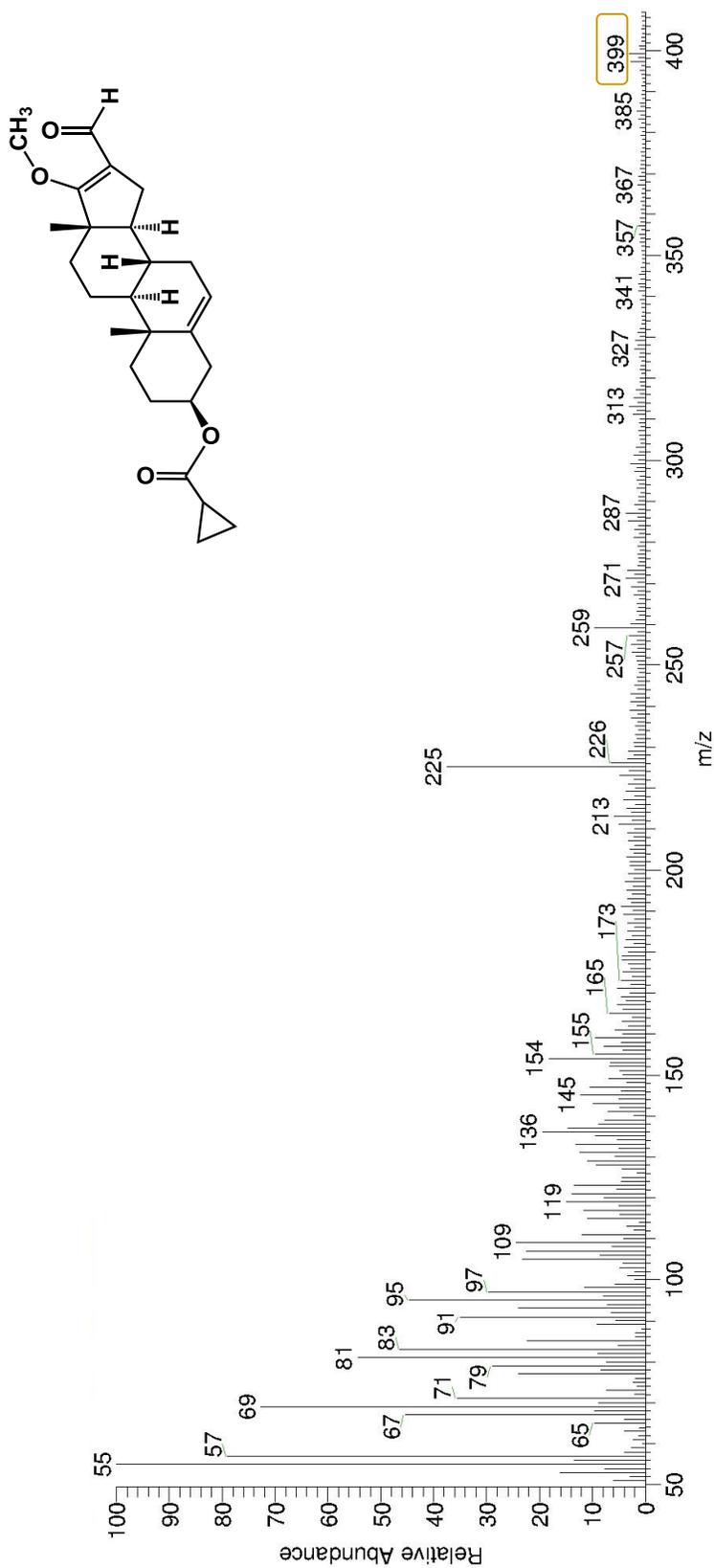
Espectro 13. IR del compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno



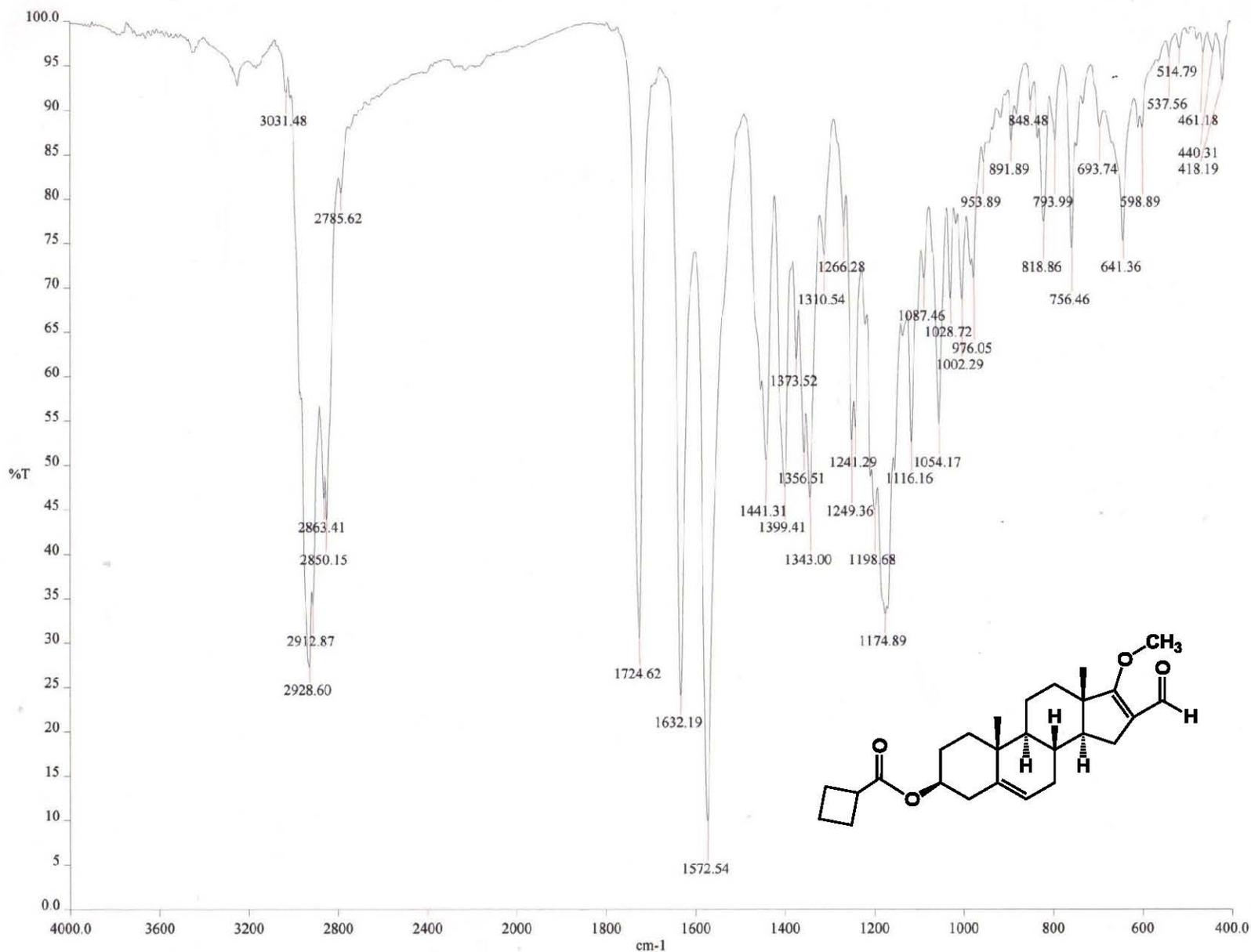




Espectro 16. RMN-¹³C del compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno

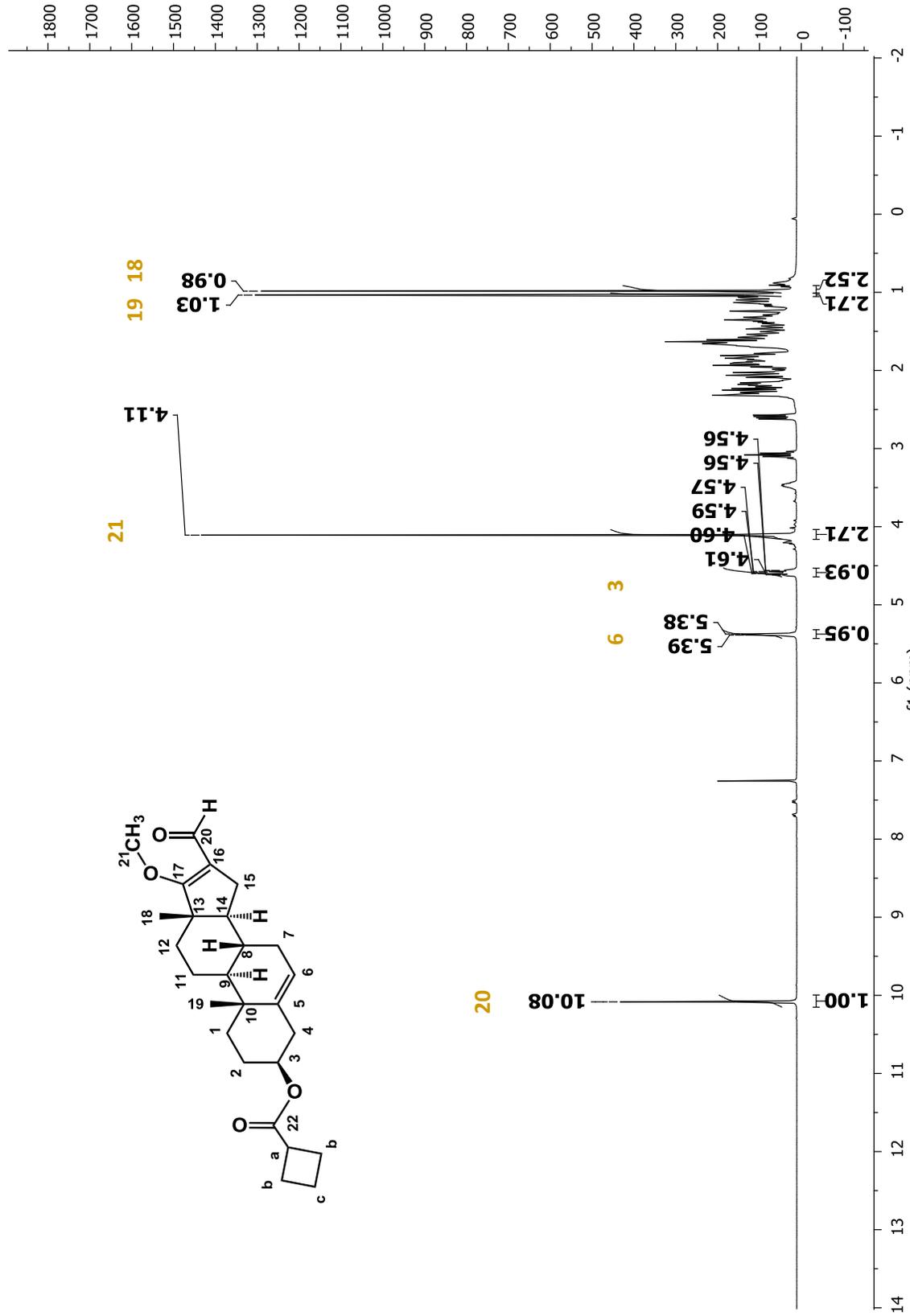


Espectro 16. Masas, compuesto (IVb) 3β-ciclopropiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

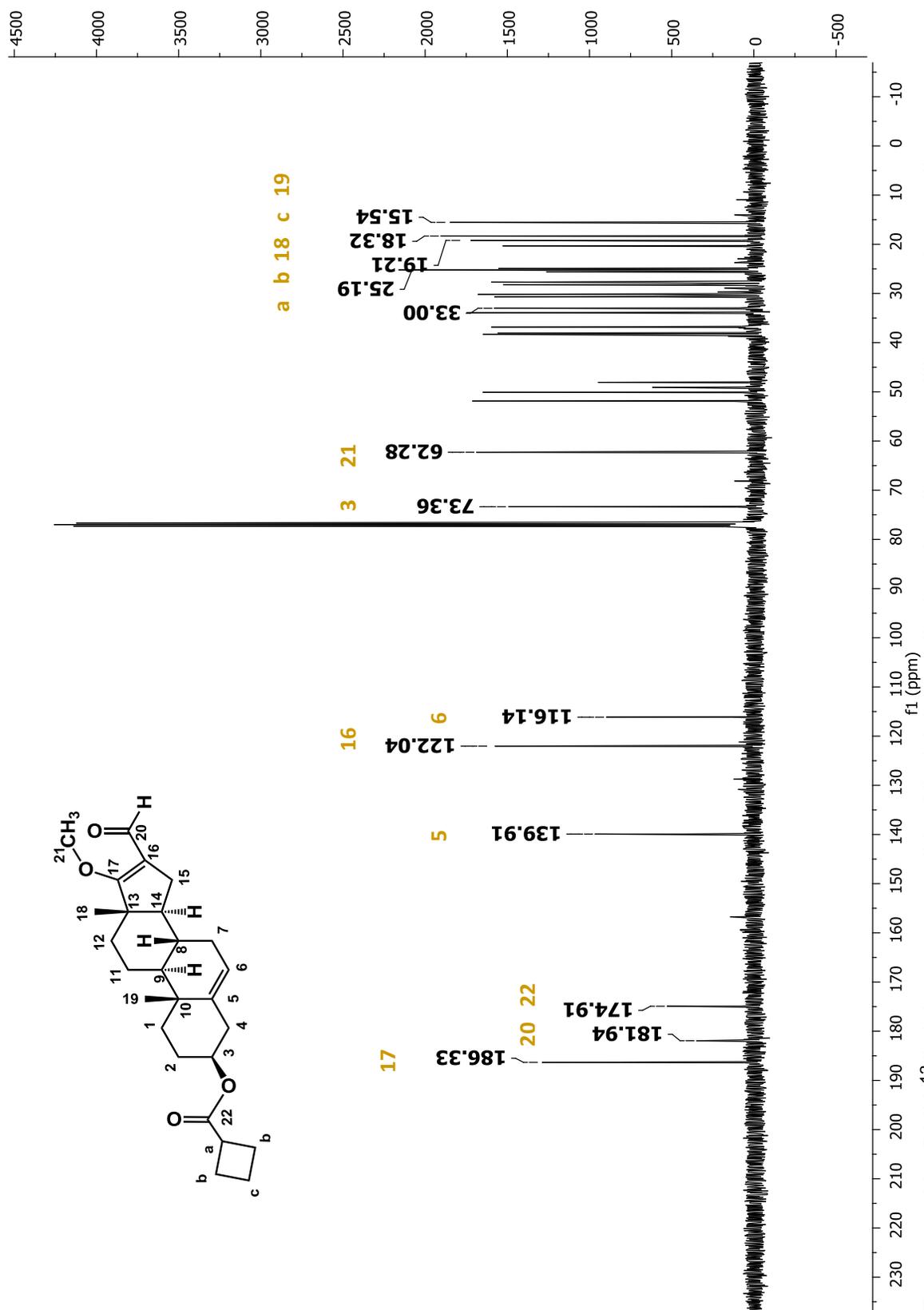


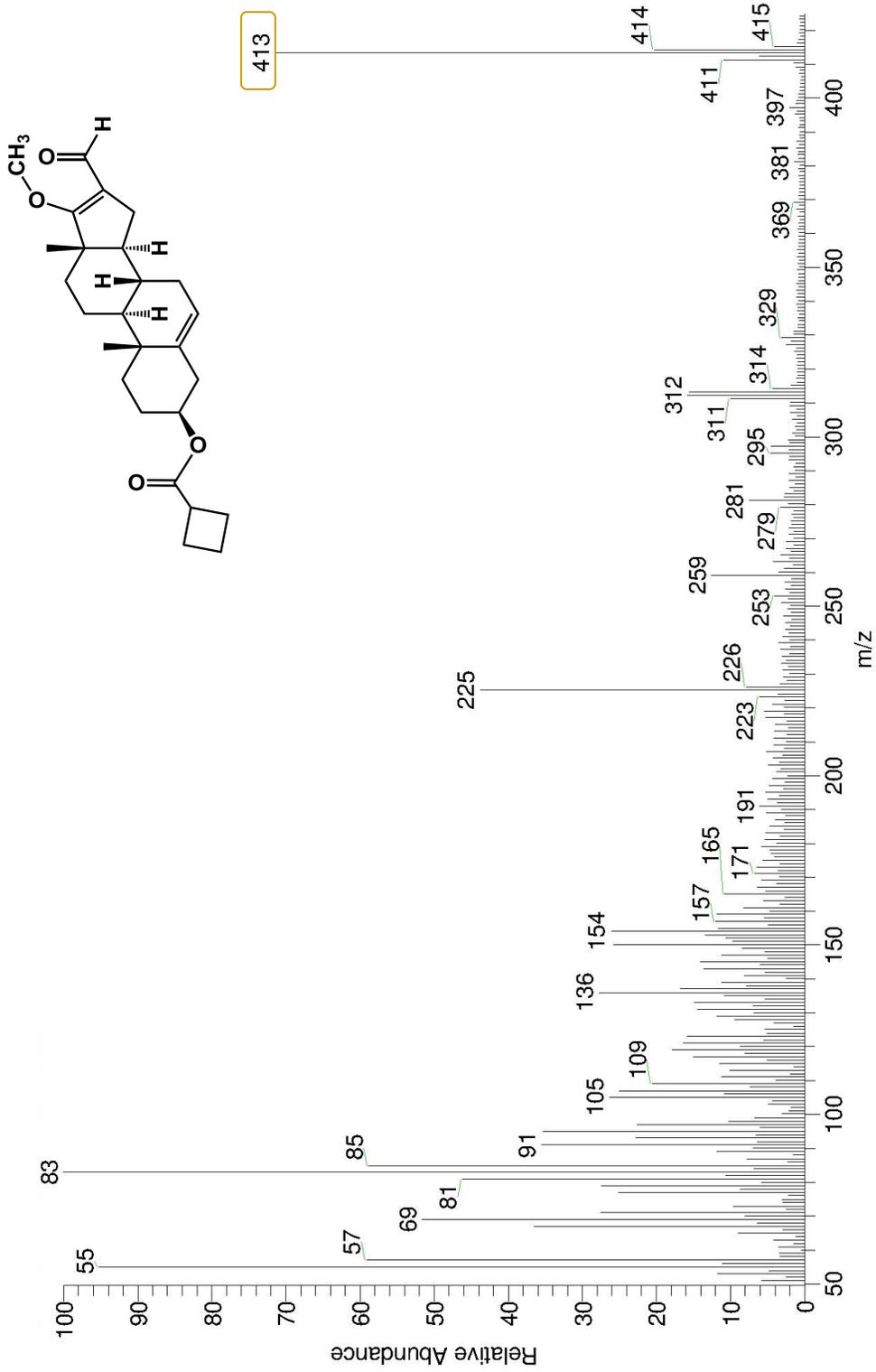
Espectro 17. IR del compuesto (IVc) 3β-ciclobutaniloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno



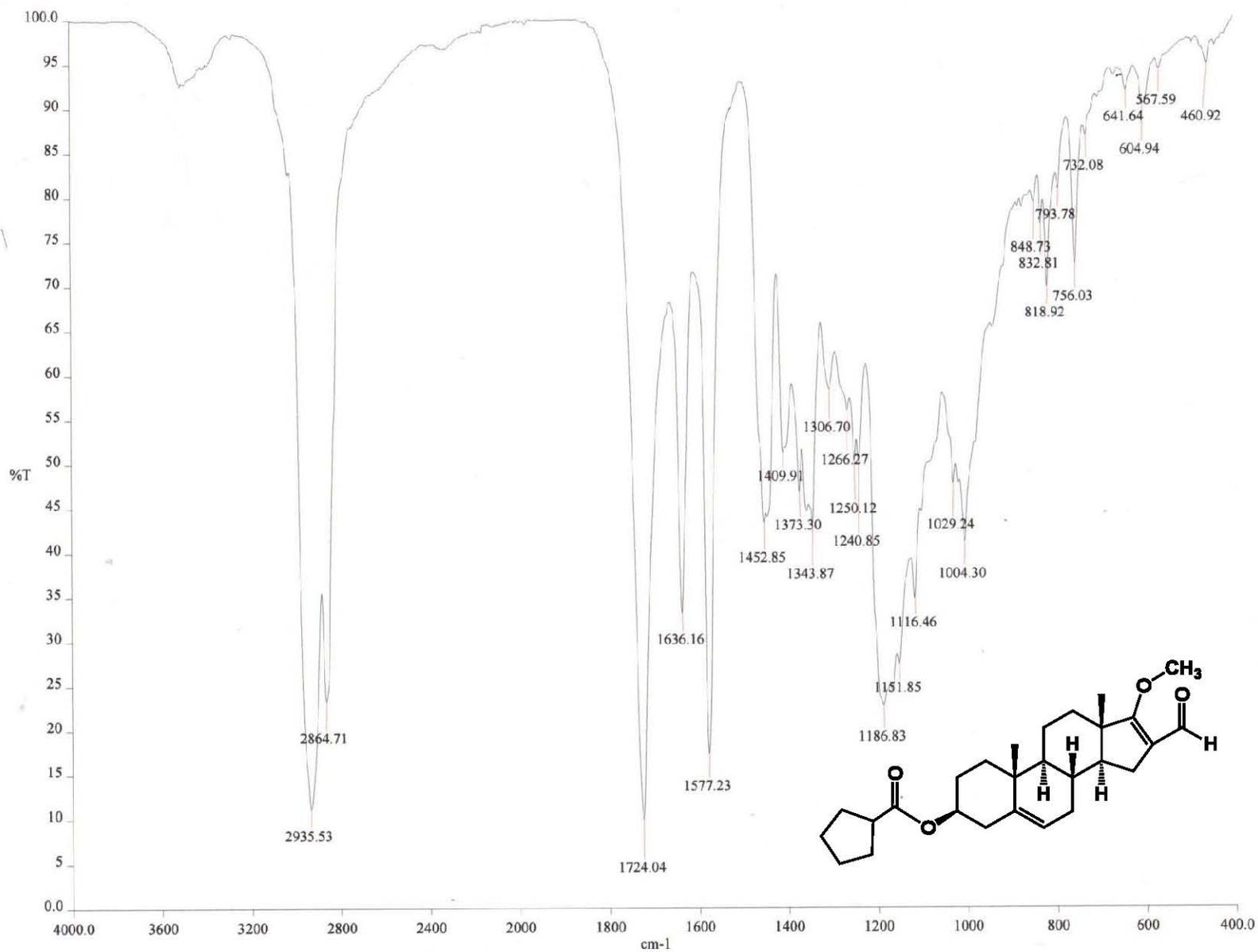


Espectro 18. RMN- ^1H del compuesto (IVc) 3 β -ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno



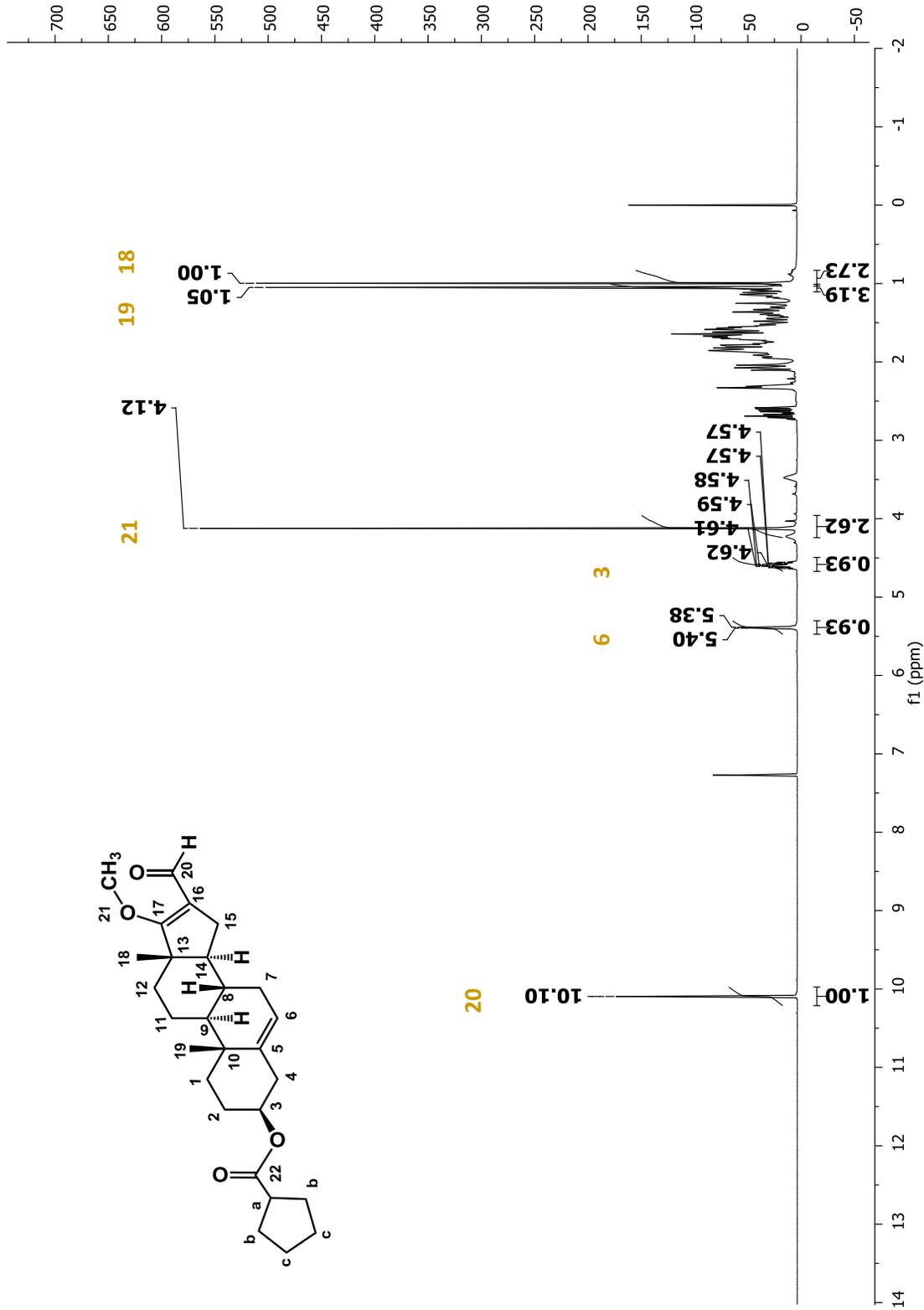


Espectro 20. Masas, compuesto (IVc) 3β-ciclobutanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno



Espectro 21. IR del compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno

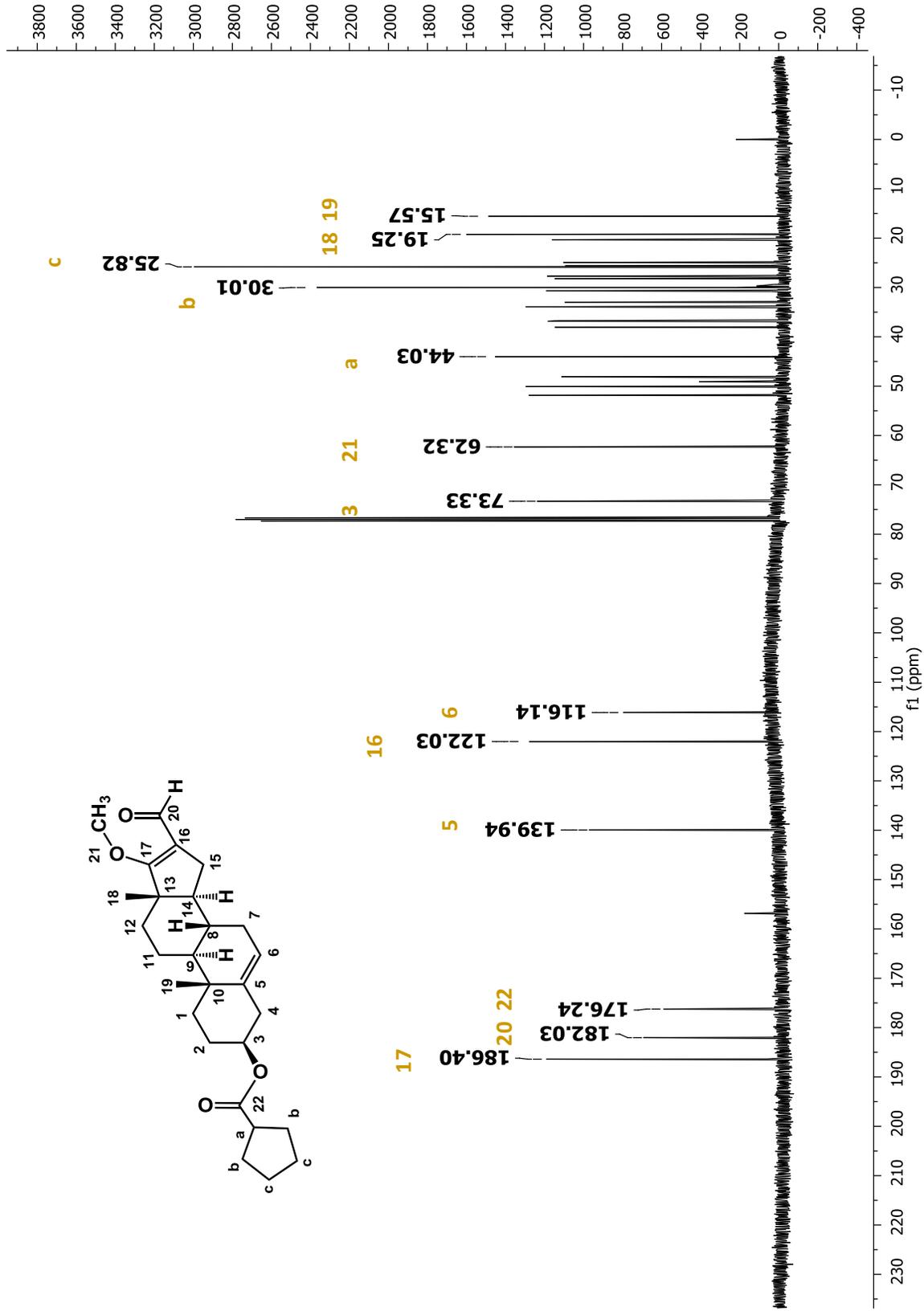




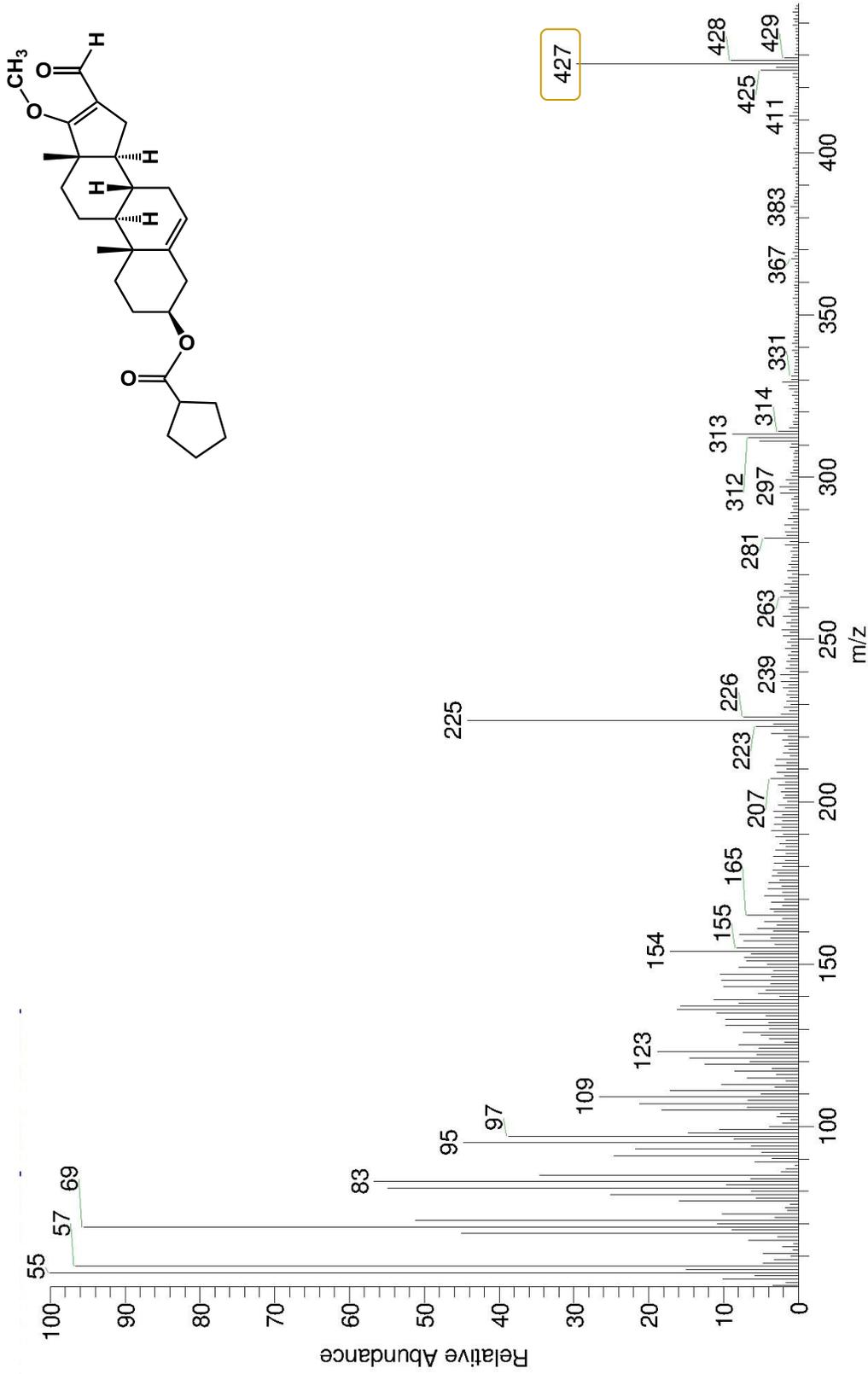
Espectro 22. RMN-¹H del compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno



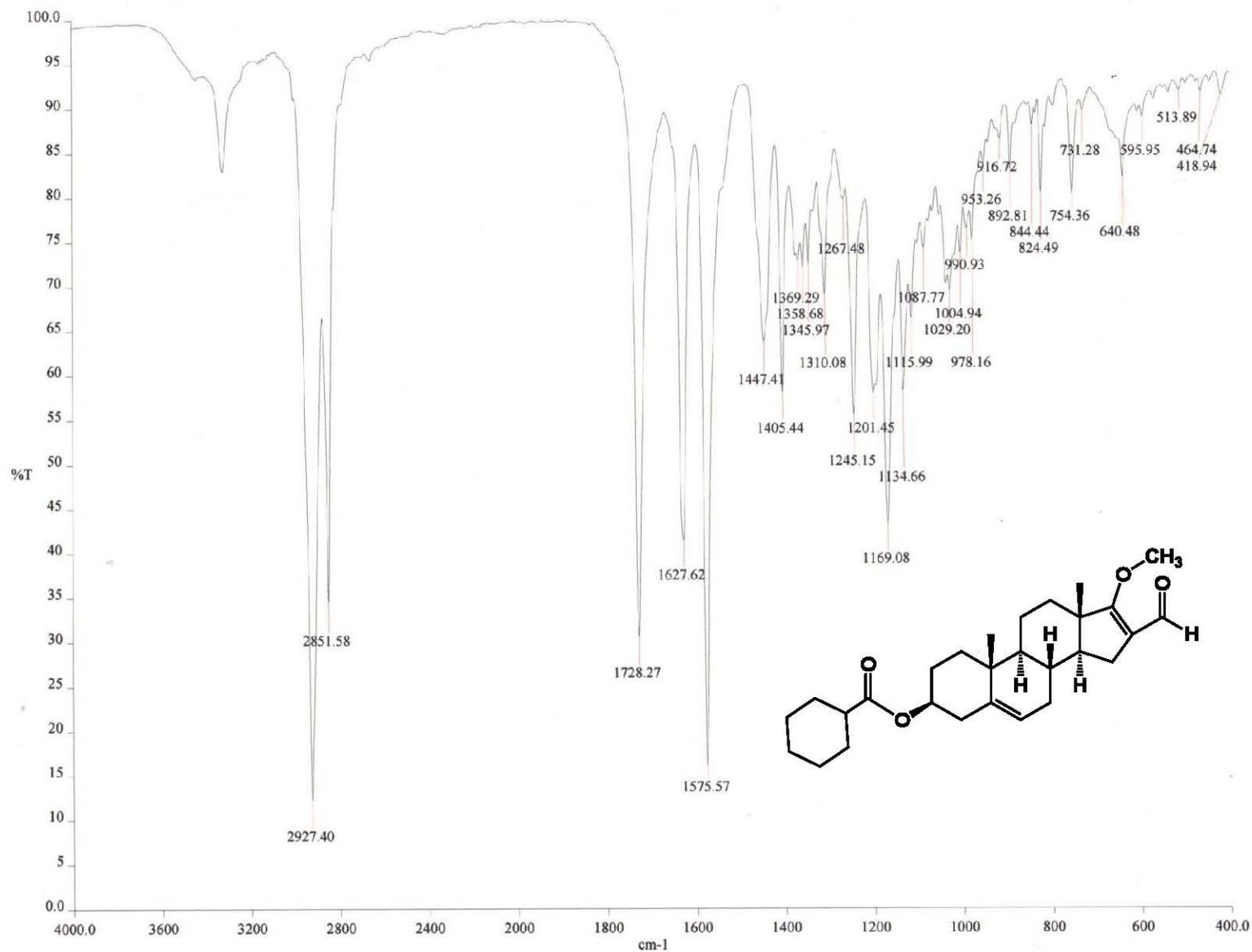
IX. Anexo



Espectro 23. RMN-¹³C del compuesto (IVd) 3 β -ciclopentiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno

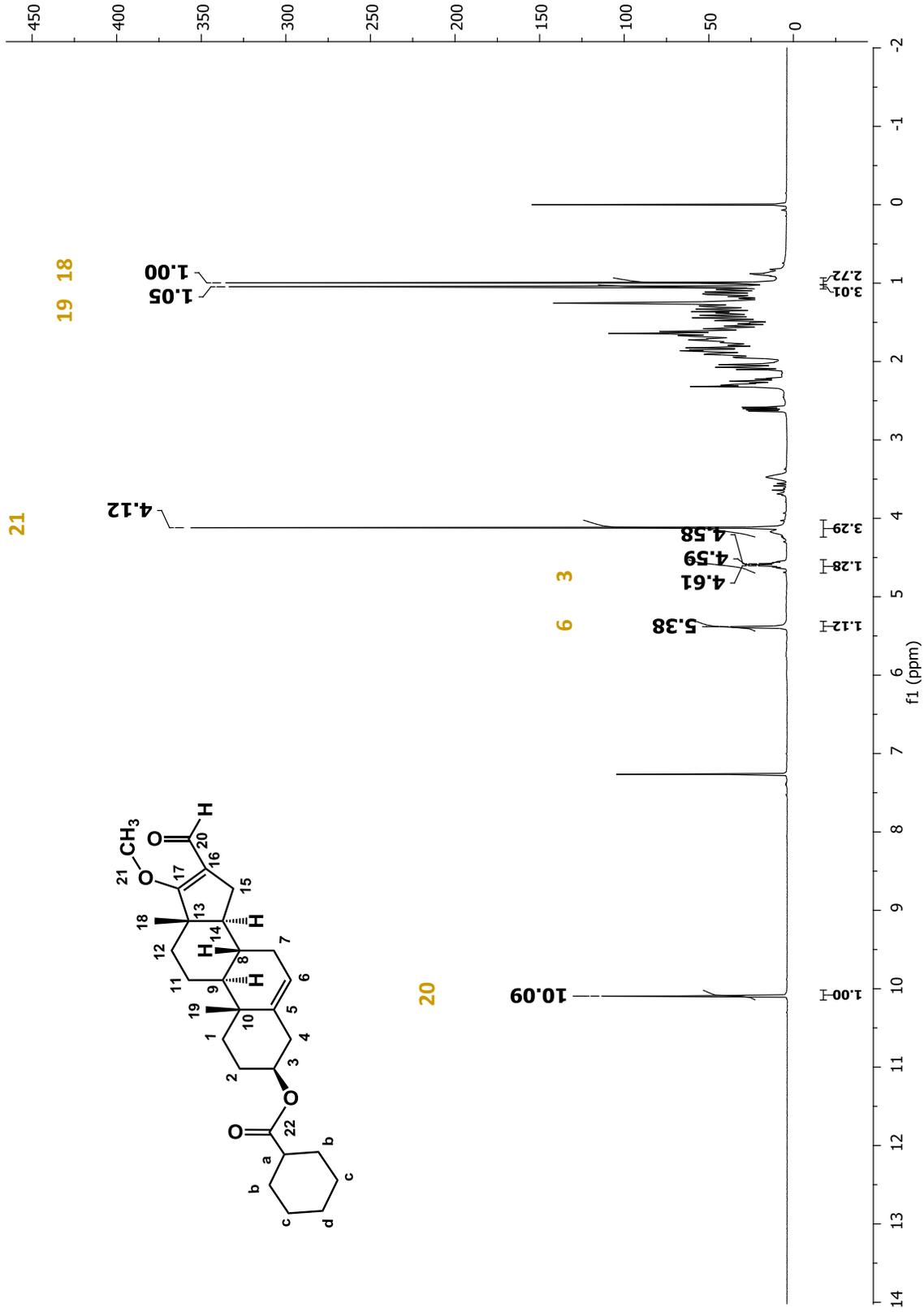


Espectro 24. Masas, compuesto (IVd) 3β-ciclopentiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

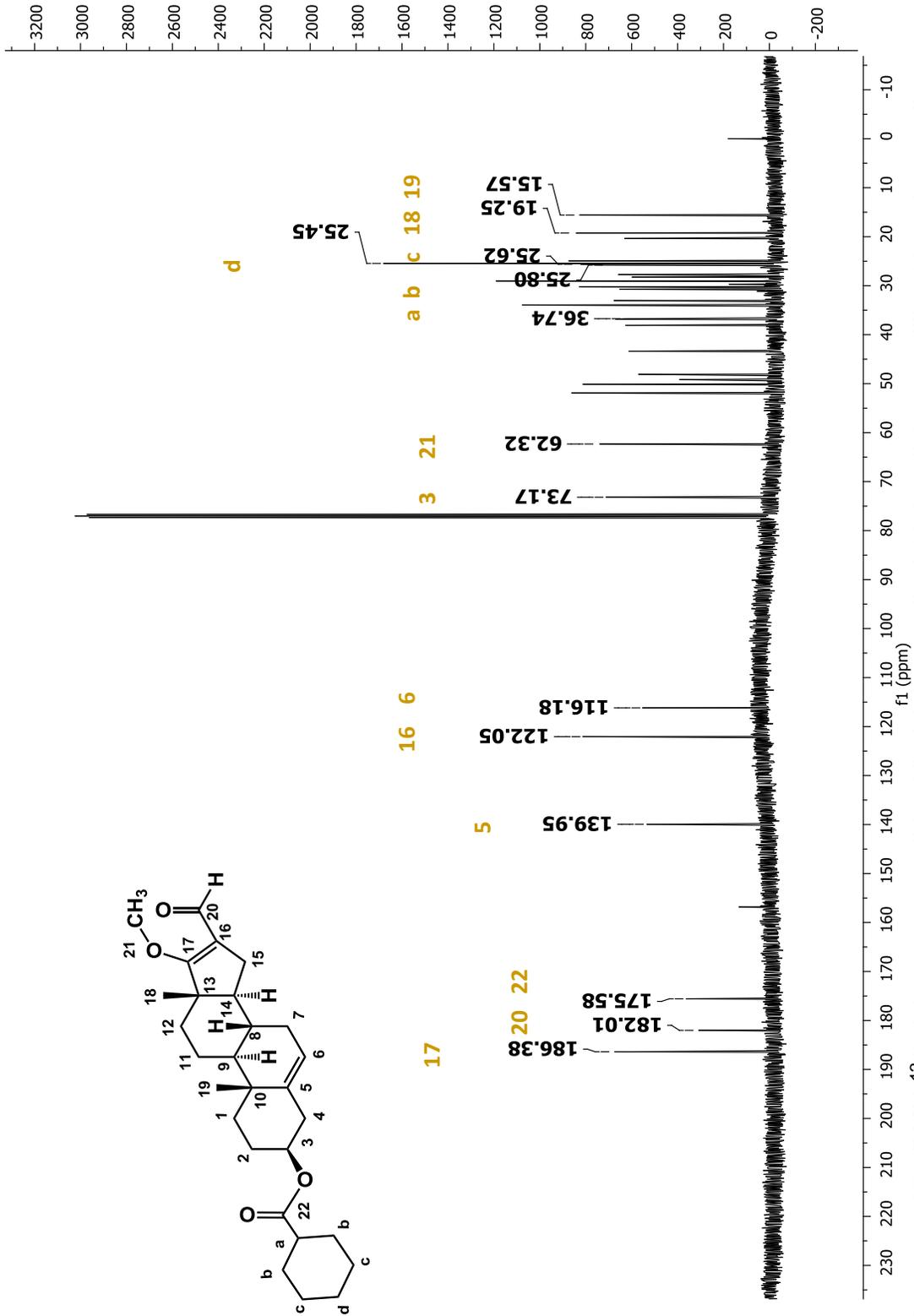


Espectro 25. IR del compuesto (IVe) 3β-ciclohexanoiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno

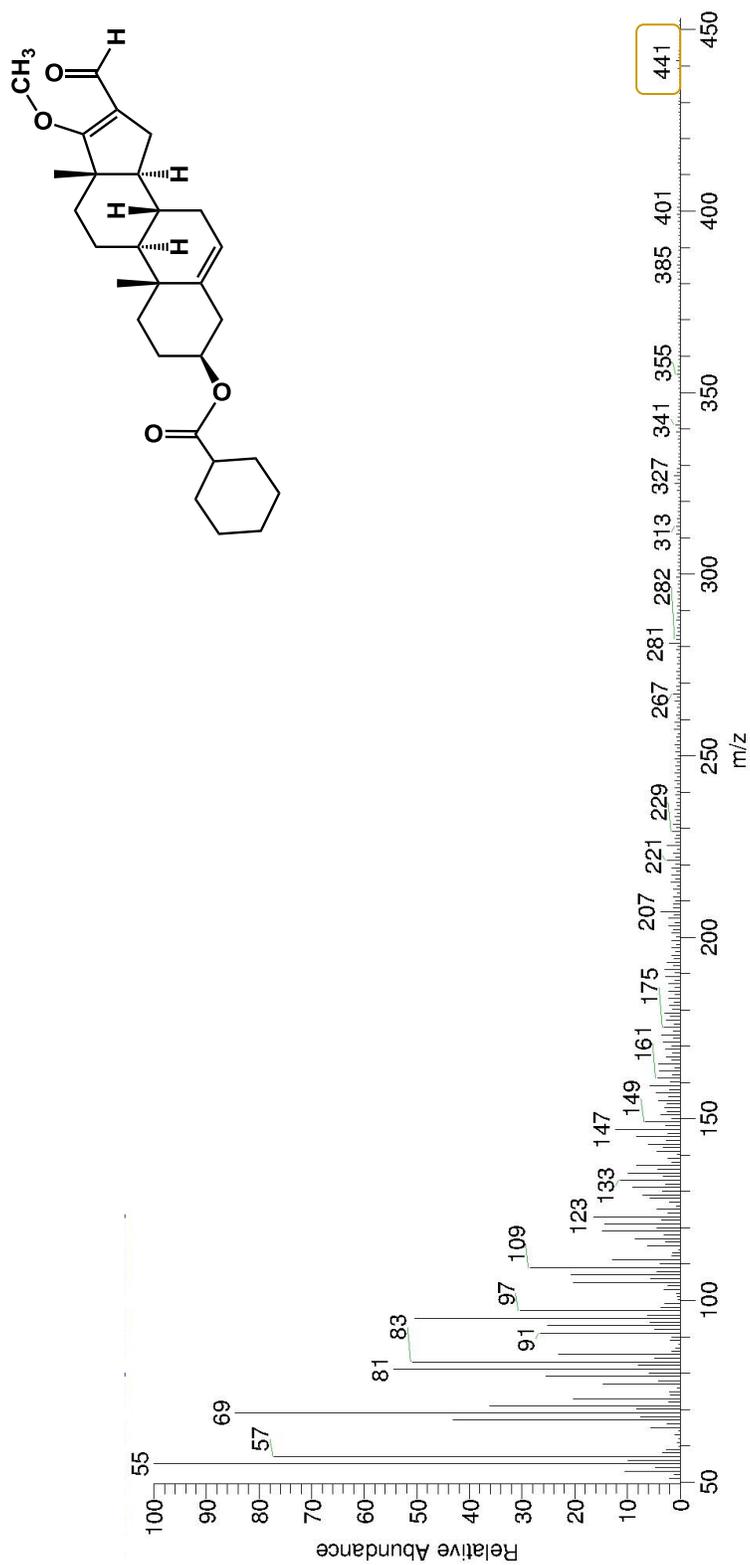




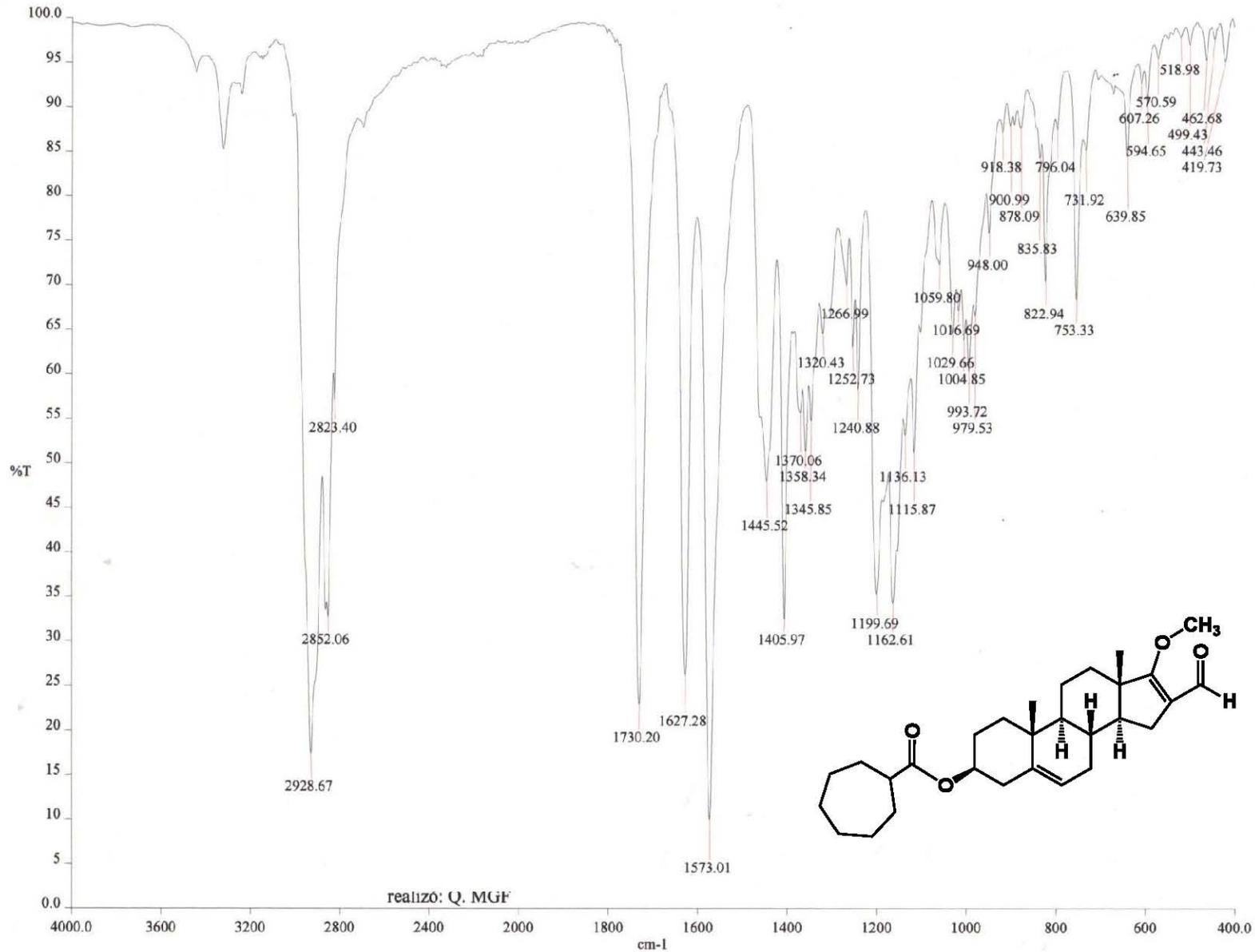
Espectro 26. RMN-¹H del compuesto (IVe) 3β-ciclohexanoiloxi-16-formil-17-metoxiii-5,16-androstandieno



Espectro 27. RMN-¹³C del compuesto (IVe) 3β-ciclohexanoiloxi-16-formil-17metoxili-5,16-androstandieno

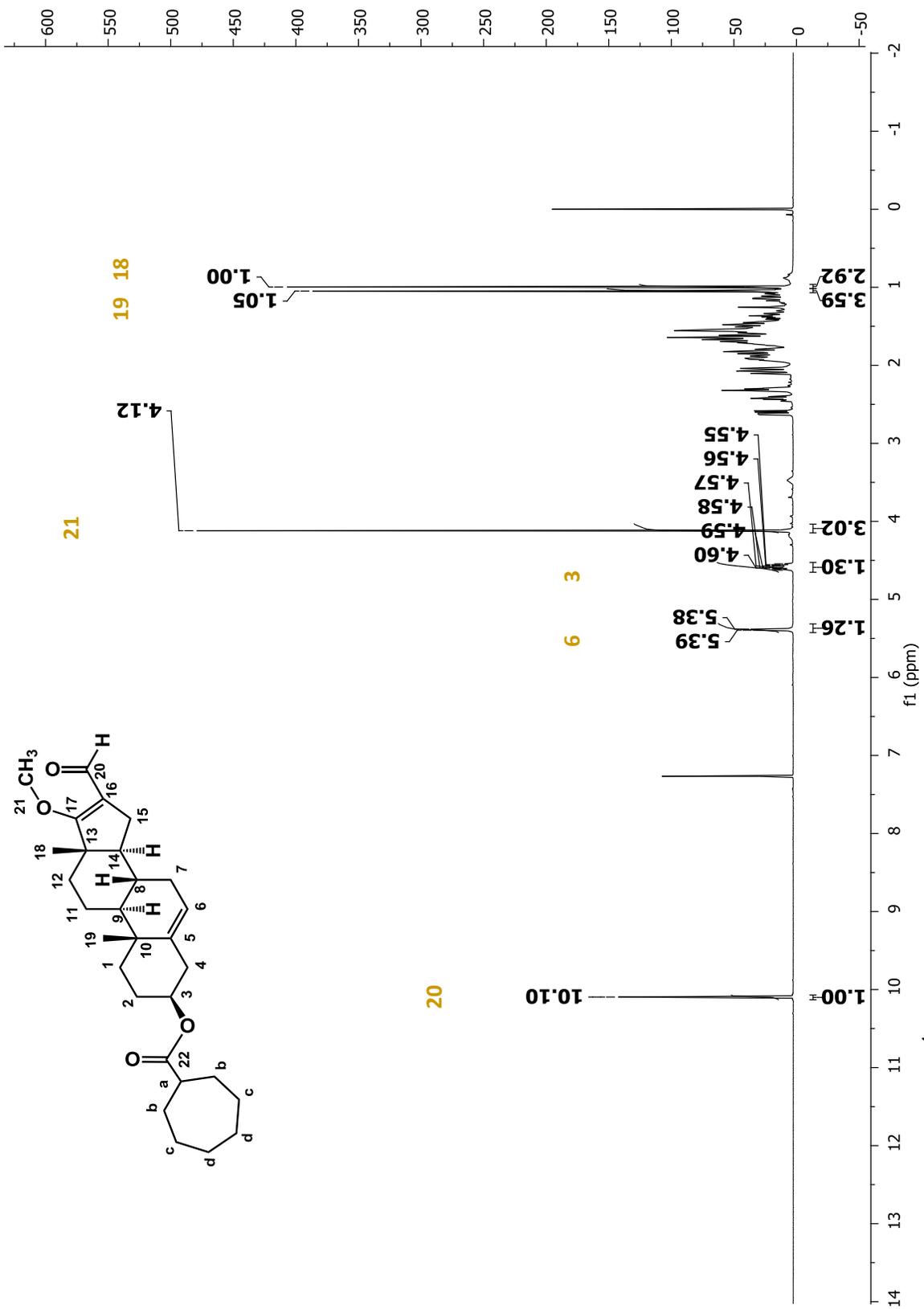


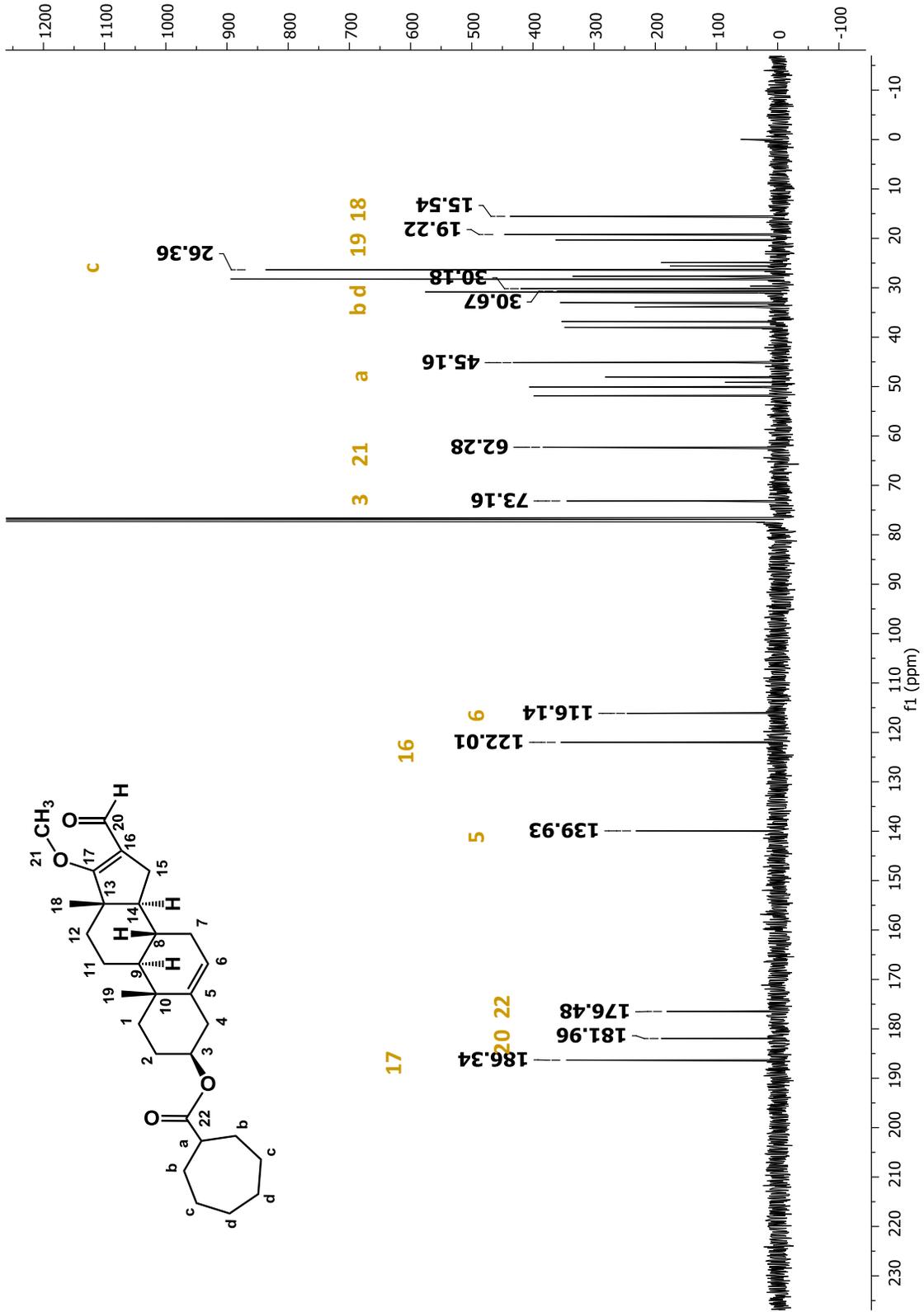
Espectro 28. Masas, compuesto (IVe) 3β-ciclohexanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

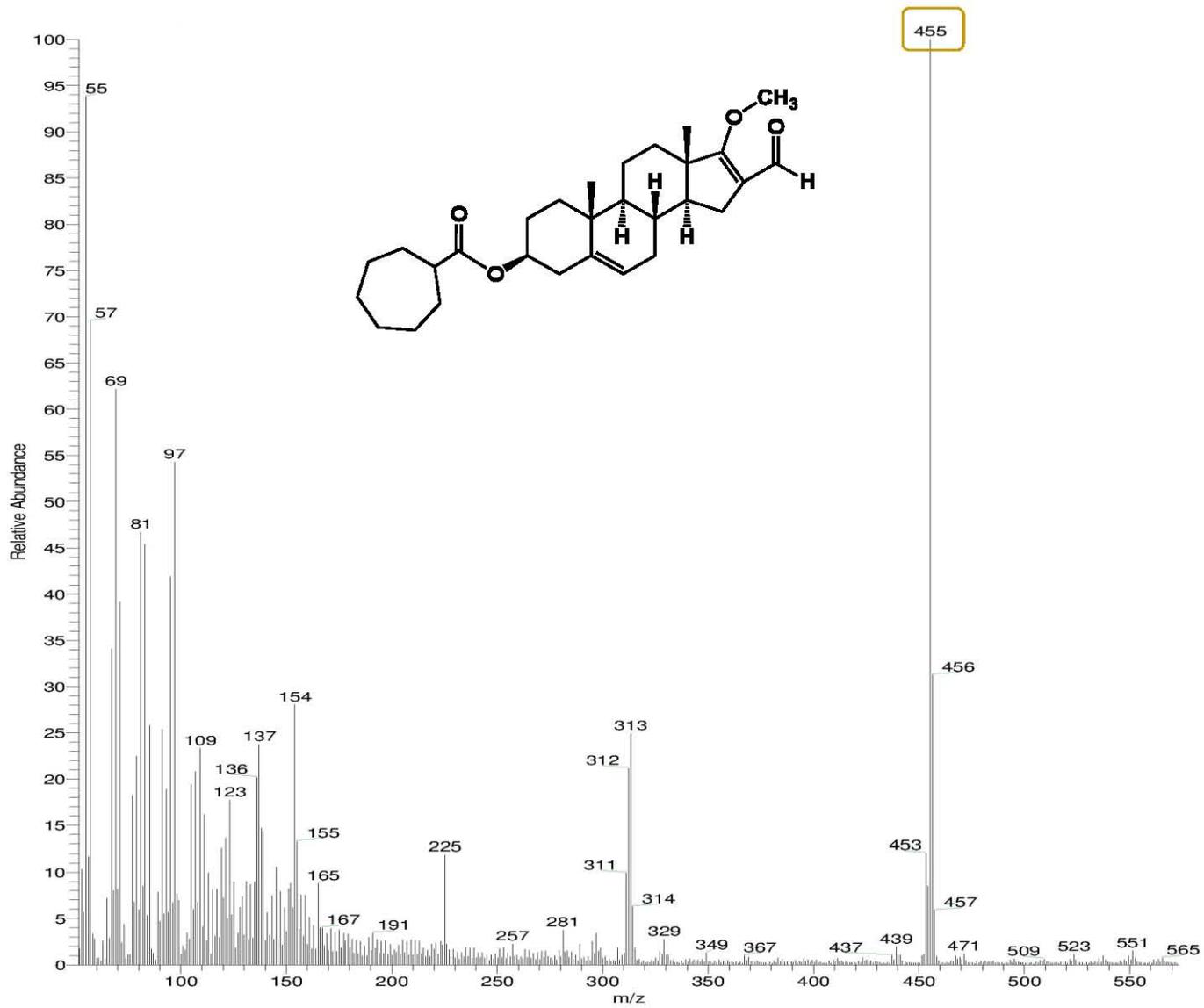


Espectro 29. IR del compuesto (IVf) 3β-cicloheptanoiloxi-16-formil-17metoxilil-5,16-androstandieno









Espectro 32. Masas, compuesto (IVf) 3β-cicloheptanoiloxi-16-formil-17-metoxilil-5,16-androstandieno

