



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

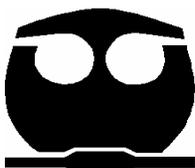
FACULTAD DE QUÍMICA

**INDOLES SUSTITUIDOS
APLICADOS COMO
ANTAGONISTAS NO PEPTIDICOS
DEL RECEPTOR DE GnRH**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO

PRESENTA
EDUARDO MAGAÑA GUTIERREZ



MÉXICO D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

| | |
|---------------|---|
| Presidente | Prof. Gustavo Alberto García de la Mora |
| Vocal | Prof. José Manuel Méndez Stivalet |
| Secretario | Prof. Fernando León Cedeño |
| 1er. Suplente | Prof. Marta Menes Arzate |
| 2º. Suplente | Prof. Ivonne María Antonieta Grillasca Rangel |

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorios 205 y 206, Departamento de Química Orgánica
División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM

Asesor del tema:

Dr. Gustavo Alberto García de la Mora

Supervisor técnico:

Q. Ivonne María Antonieta Grillasca Rangel

Sustentante:

Eduardo Magaña Gutiérrez

Agradecimientos:

A las sagradas y divinas energías del universo por haberme permitido existir y darme la conciencia universal para cuestionar las cosas que otros ni siquiera pueden ver.

A mis padres Adela y Ricardo, porque sin su apoyo nunca habría podido llevar a buen término esta empresa y ni siquiera existiría.

A mi hermano Luis Alberto, porque nuestra pasión por las estrellas siempre nos ha mantenido unidos, platicando y discutiendo juntos, lejos de la aburrida, monótona y supuesta realidad en que vivimos.

A mi maestro de la preparatoria, Sergio González Vázquez del Mercado, por haber descubierto y encausado al científico que traigo adentro.

Al Dr. Gustavo A. García de la Mora, por haberme mostrado una vez más que ser hombre de ciencia es la forma más elegante de vivir.

A mis pocos amigos, por estar conmigo siempre, aunque a veces yo no pueda estar con ellos.

A la Facultad de Química, por haber sido mi casa y mi espacio de estudio durante estos años.

A la empresa Abbott Laboratories, porque sin su inmensa biblioteca digital, nunca habría podido tener acceso a tantas revistas electrónicas para realizar esta investigación.

A mi jefa en Abbott Laboratories, Silvia Arias Usi, por darme mi primer trabajo, cambiar mi visión acerca de la industria química y apoyarme con salidas temprano y horarios cortados durante la realización de este trabajo.

A mi querida Anel, por enseñarme cosas que no se aprenden en el salón de clases y por recordarme que también soy un simple humano, aunque me niegue a aceptarlo.

A todos los maestros y compañeros de la Facultad de Química, porque gracias a sus críticas y consejos he podido convertirme en mejor persona.

A mí, por tomar las decisiones correctas, por nunca rendirme y por mantenerme siempre fiel a mis ideas, aunque los demás no crean en ellas.

Dedicatorias:

A mi madre por apoyarme en mis estudios, por comprender mi silencio y por siempre confiar en mi. Muchas gracias "ma".

A mi padre, por enseñarme que siempre hay que ser un hombre trabajador y responsable, ya que eso no se aprende en la escuela. Gracias "pa".

A mis amigos, a mis maestros, a mis compañeros de la Facultad, a mi querido hermano Luis Alberto y a mi novia Anel, por apoyarme siempre y por aguantar mi descuido hacia ustedes y mi neurosis permanente mientras estuve escribiendo este trabajo. Gracias a todos.

Estoy aquí porque sé algo, algo que no puedo explicar - pero lo siento. Toda mi vida he sentido que hay algo que no funciona en el mundo. No sé que es, pero es como un clavo en mi cabeza, que me enloquece...

Seré como el bambú, que se retuerce y se dobla, para después recuperarme y retornar al Tao.

Quiero saber como Dios creó el universo, no estoy interesado en este o aquel fenómeno, quiero entender sus pensamientos, lo demás... son solo detalles.

Índice

| | |
|--|----|
| RESÚMEN..... | 3 |
| 1. IMPORTANCIA DEL TEMA..... | 5 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 6 |
| 3. ANTECEDENTES..... | 9 |
| 3.1 Gonadotrofinas hipofisarias..... | 9 |
| 3.1.1 Hormona folículo estimulante (FSH)..... | 9 |
| 3.1.2 Hormona luteinizante (LH)..... | 9 |
| 3.2 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)..... | 10 |
| 3.2.1 Bases fisiológicas de la acción de la GnRH..... | 11 |
| 3.3 El receptor de la GnRH (GnRHr)..... | 13 |
| 3.3.1 Características estructurales del receptor de GnRH..... | 13 |
| 3.3.2 El receptor de GnRH en cánceres de tipo ginecológico..... | 15 |
| 3.4 Agonistas y antagonistas peptídicos del GnRHr..... | 15 |
| 3.4.1 Aspectos básicos de los agonistas peptídicos del GnRHr..... | 15 |
| 3.4.2 Aspectos básicos de los antagonistas peptídicos del GnRHr..... | 16 |
| 3.5 El cáncer..... | 17 |
| 3.5.1 Genética del cáncer..... | 18 |
| 3.5.2 Diagnóstico del cáncer..... | 19 |
| 3.5.3 Tratamiento del cáncer..... | 19 |
| 3.5.4 Pronóstico del cáncer..... | 20 |
| 3.6 Cánceres dependientes de hormonas..... | 20 |
| 3.6.1 Cáncer de mama..... | 23 |
| 3.6.1.1 Tipos de cáncer de mama..... | 23 |
| 3.6.1.2 Factores de riesgo..... | 23 |
| 3.6.1.3 Síntomas..... | 25 |
| 3.6.1.4 Tratamiento..... | 25 |
| 3.6.2 Cáncer de próstata..... | 27 |
| 3.6.2.1 Factores de riesgo..... | 28 |
| 3.6.2.2 Síntomas..... | 30 |
| 3.6.2.3 Tratamiento..... | 30 |
| 3.6.3 Hipertrofia prostática benigna..... | 32 |
| 3.6.3.1 Síntomas..... | 33 |
| 3.6.3.2 Tratamiento..... | 33 |
| 3.6.4 Fibroides uterinos..... | 34 |
| 3.6.4.1 Causas, incidencia y factores de riesgo..... | 34 |
| 3.6.4.2 Síntomas..... | 35 |
| 3.6.4.3 Tratamiento..... | 35 |
| 3.6.5 Endometriosis..... | 37 |
| 3.6.5.1 Causas, incidencia y factores de riesgo..... | 37 |
| 3.6.5.2 Síntomas..... | 38 |
| 3.6.5.3 Tratamiento..... | 39 |
| 4. NUEVOS FÁRMACOS CONTRA LOS CÁNCERES DEPENDIENTES DE HORMONAS..... | 41 |
| 4.1 Antagonistas no peptídicos del GnRHr..... | 42 |
| 4.1.1 Pirimidonas y pirimidinodionas bicíclicas..... | 42 |
| 4.1.2 Uracilos..... | 45 |
| 4.1.3 Quinolonas, quinolinas y ftalazinas..... | 47 |
| 4.1.4 Furano-2-carboxamidas y bencimidazoles..... | 49 |

| | |
|---|----|
| 5. INDOLES 2,3,5-TRISUSTITUIDOS APLICADOS COMO ANTAGONISTAS NO PEPTÍDICOS DEL RECEPTOR DE LA GnRH..... | 52 |
| 5.1 Síntesis de indoles 2,3,5-trisustituidos..... | 52 |
| 5.1.1 Síntesis de indoles de Fischer..... | 53 |
| 5.1.1.1 Síntesis de indoles de Fischer a partir de α -acillactamas..... | 53 |
| 5.1.1.2 Síntesis de indoles de Fischer a partir de vinilpirrolidonas..... | 54 |
| 5.1.2 Síntesis de indoles de Madelung..... | 55 |
| 5.1.3 Síntesis de indoles de Yamanaka-Sakamoto..... | 55 |
| 5.1.4 Síntesis de indoles de Larock..... | 56 |
| 5.1.5 Síntesis de indoles de Fürstner..... | 56 |
| 5.1.6 Síntesis de indoles de Castro..... | 57 |
| 5.1.7 Otros métodos..... | 57 |
| 5.2 Estudios de la relación estructura-actividad de indoles 2,3,5-trisustituidos aplicados como antagonistas del receptor de GnRH en humanos y ratas..... | 58 |
| 6. INVESTIGACIONES ACTUALES..... | 87 |
| 7. CONCLUSIONES..... | 89 |
| 8. GLOSARIO..... | 91 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA..... | 96 |

RESÚMEN

El cáncer es una enfermedad causada por la multiplicación sin control de las células de un órgano, el cual puede propagarse por el cuerpo a otros órganos. Los órganos que comúnmente se ven afectados son la lengua, los pulmones, la próstata, la piel, los senos, el colon, además de otros tejidos menos comunes.

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es actualmente la causa de un 12% de las muertes que se producen en todo el mundo. Contrario a muchas enfermedades, el cáncer no afecta solo a los pobres, ya que de los nuevos casos que se registran por año, 5,5 millones corresponden a los países en desarrollo, frente a 4,7 millones en los industrializados. Se cree que el aumento de la incidencia del cáncer se debe a una mayor exposición a factores de riesgo tales como el consumo de tabaco, las dietas malsanas, la falta de actividad física y otros agentes carcinógenos.

Los dos métodos más comunes para el tratamiento del cáncer incluyen la quimioterapia y la radioterapia. En la quimioterapia se utilizan medicamentos antineoplásicos para tratar las células cancerosas. En la mayoría de los casos, la quimioterapia actúa interfiriendo con la capacidad de crecimiento o reproducción de las células cancerosas.

Distintos grupos de medicamentos actúan en forma diferente para combatir las células cancerosas. La quimioterapia se puede utilizar sola para tratar algunas clases de cáncer o en combinación con otras terapias, tales como la radiación o la cirugía. A menudo, se utiliza una combinación de medicamentos quimioterapéuticos para combatir una clase específica de cáncer. Existen determinados medicamentos quimioterapéuticos que se administran siguiendo un orden específico, según la clase de cáncer que se está tratando.

Si bien la quimioterapia puede ser bastante eficaz en el tratamiento de ciertos cánceres, los medicamentos quimioterapéuticos alcanzan a todas las partes del cuerpo, no sólo a las células cancerosas. Por este motivo, es posible que surjan diversos efectos secundarios durante el tratamiento, tales como la supresión de la médula ósea (disminución de glóbulos rojos, blancos y plaquetas) náuseas, vómitos y diarrea, además de que también se ven afectadas las células del tracto gastrointestinal, del cabello y de las uñas.

La radioterapia (también llamada radiología terapéutica u oncología con radiación) utiliza clases especiales de ondas o partículas energéticas para combatir el cáncer. Al igual que la cirugía, la radioterapia se utiliza de diferentes maneras según el tipo y la ubicación del cáncer. Ciertos niveles de radiación actúan destruyendo las células cancerosas o evitando que éstas crezcan o se reproduzcan. Al igual que la quimioterapia, este método también afecta a las células no cancerosas, por lo que sus efectos secundarios son muy similares.

Para los tipos de cáncer dependientes de hormonas, existen medicamentos llamados análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH por sus siglas en inglés), los cuales son péptidos de 10 aminoácidos con una secuencia similar a la de dicha hormona que se aplican a través de inyecciones. La dificultad para sintetizar péptidos que sean eficaces y biodisponibles oralmente es muy alta y ante esta situación la búsqueda de nuevos fármacos resulta urgente y de suma importancia. Por tal motivo el punto central de este trabajo es la revisión de los avances logrados en el desarrollo de

análogos no peptídicos de la GnRH aplicados contra el cáncer dependiente de hormonas con el fin de encontrar las tendencias a seguir en el futuro.

En este estudio se revisaron estructuras del tipo quinonas, quinolonas, pirimidonas, pirimidinodionas, tienopirimidonas, bencimidazoles, uracilos, furano-2-carboxamidas y de manera especial y exhaustiva indoles 2, 3, 5-trisustituidos.

1. IMPORTANCIA DEL TEMA

El cáncer es un padecimiento con graves consecuencias físicas y psicológicas para la población que lo padece, que incluso puede provocar la muerte si no es detectado en fases tempranas. Es la segunda causa principal de muerte detrás de las enfermedades cardíacas. Sin embargo, las muertes por enfermedades cardiovasculares están disminuyendo, mientras que las muertes por cáncer están aumentando. Se estima que a lo largo del siglo XXI, el cáncer sea la primera causa de muerte en los países desarrollados. A pesar de esto, se ha producido un aumento en la supervivencia de los pacientes con cáncer. Las cinco principales causas de muerte por cáncer por orden de importancia tanto en hombres como en mujeres son: cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de próstata y cáncer de páncreas.⁽²⁰⁾ Con la presente recopilación bibliográfica se pretende informar a la comunidad química la importancia que tiene la síntesis de moléculas tan añejas como los indoles y los usos tan relevantes que se les está dando contra un padecimiento tan grave como lo es el cáncer. Si bien es cierto que las terapias utilizadas hoy en día prolongan la vida de los pacientes, también producen múltiples efectos secundarios no deseados, añadiendo a esto el que las terapias no siempre son efectivas y matan tanto a células sanas como a células cancerosas, lo cual resulta ser un tratamiento poco efectivo.

Ante esta situación, la búsqueda de nuevos fármacos para combatir los cánceres dependientes de hormonas resulta urgente y de suma importancia a escala mundial. Por esto compañías farmacéuticas como Pfizer, Astra Zeneca, Schering, Bayer y Merck están invirtiendo grandes sumas de dinero en investigación para comprender totalmente el funcionamiento del receptor de la GnRH y para sintetizar moléculas biodisponibles que tengan una alta afinidad por este receptor y bloqueen de manera eficiente y reversible la secreción de las hormonas LH y FSH.

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el cáncer es un padecimiento que afecta a personas de todo el mundo sin importar raza, género o condición social. El cáncer se produce cuando células del tejido de diferentes órganos mutan y comienzan a multiplicarse descontroladamente. Estas células podrían propagarse (metástasis) desde el órgano infectado a otras partes del cuerpo. Este padecimiento se puede manifestar de múltiples formas, cada una de ellas en órganos distintos, desde el cáncer de pulmón o de lengua hasta el cáncer de próstata o de seno.

Existen varios tipos de cáncer que son dependientes de hormonas, como son el cáncer de seno, el cáncer de próstata y otros padecimientos como la endometriosis, los fibroides uterinos y la hipertrofia prostática benigna, los cuales dependen principalmente de la producción de ciertas hormonas como la Hormona luteinizante (LH por sus siglas en inglés) y la Hormona folículo estimulante (FSH por sus siglas en inglés). Por esta razón, desde hace ya varios años, una línea de tratamiento para este tipo de padecimientos es el bloqueo hormonal, el cual consiste en administrar medicamentos que reduzcan la cantidad de las hormonas que promueven el crecimiento de las células cancerosas. Esta forma de tratar el cáncer se ha vuelto cada vez más importante debido a la agresividad de otros tratamientos como la quimioterapia, el ultrasonido focalizado de alta densidad (HIFU por sus siglas en inglés) y la radioterapia.

El cáncer de próstata se desarrolla más frecuentemente en individuos mayores de 50 años. Es el segundo tipo de cáncer más común en hombres después del cáncer de pulmón. Sin embargo, muchos hombres que desarrollan cáncer de próstata nunca tienen síntomas, ni son sometidos a terapia. Diversos factores, incluyendo la genética y la dieta, han sido implicados en el desarrollo de cáncer de próstata, pero hasta la fecha (2007), las modalidades de prevención primaria conocidas son insuficientes para eliminar el riesgo de contraer la enfermedad.⁽¹⁾

Como sucede con la mayoría de los cánceres, la edad es un factor muy importante. De hecho, un 84% de las muertes por cáncer de mama ocurren en mujeres de 50 años o más. Más del 80% de todos los casos ocurre en mujeres de más de 50 años y menos del 1% ocurre en hombres. El riesgo de cáncer de mama está claramente relacionado con influencias hormonales, pero aún no está claro cómo afectan éstas la enfermedad.⁽²⁾

Los fibroides (tumores) uterinos pueden estar presentes en el 15-20% de las mujeres en sus años reproductivos, es decir, el tiempo después de comenzar la menstruación por primera vez y antes de la menopausia. Estos miomas pueden afectar del 30 al 40% de las mujeres después de los 30 años de edad y ocurren 2 a 3 veces con más frecuencia en mujeres de raza negra que en mujeres de raza blanca. El crecimiento de los fibroides uterinos parece depender de las hormonas estrogénicas. En tanto una mujer con dichos fibroides esté menstruando, estos quizá seguirán creciendo, generalmente de manera lenta. Esta afección casi nunca afecta a mujeres menores de 20 años de edad o a mujeres posmenopáusicas.⁽³⁾

La endometriosis es un problema común en las mujeres y se presenta en un estimado del 10% de ellas durante sus años reproductivos. La tasa puede llegar hasta un 25 a 35% en mujeres infértiles. Aunque la endometriosis suele ser diagnosticada entre los 25 y 35 años, el problema probablemente comienza alrededor del momento del inicio de la menstruación regular.

Cuando la madre o hermana de una mujer han padecido de endometriosis, ésta corre un riesgo 6 veces mayor de desarrollar esta afección que la población general. Otros posibles factores comprenden el inicio temprano de la menstruación, los ciclos menstruales regulares y los períodos largos que duran 7 días o más.⁽⁴⁾

Finalmente, la hipertrofia prostática benigna es un padecimiento en el cual la próstata crece mas allá de su tamaño y peso normales (20 gramos) causando múltiples molestias en los pacientes que la sufren, de hecho, en los Estados Unidos de América es la segunda cirugía mas realizada luego de las cataratas: 300.000 operaciones al año.⁽⁵⁾

Entre los fármacos disponibles para el tratamiento de los cánceres dependientes de hormonas se encuentran los agonistas* y antagonistas* peptídicos de la hormona GnRH. Esta hormona es la encargada de liberar LH y FSH por acción directa sobre los gonadotropos adenohipofisarios*.

Los agonistas mas importantes son Triptorelina (Decapeptil®), Leuprorelina (Lupron®), Buselerina (Suprifact®), Goserelina (Zoladex®), Nafarelina (Sinarel®) e Histrelina (Supprelin®); los cuales inicialmente causan una hipersecreción de LH y FSH, la cual es seguida, después de un periodo de alrededor de 10 días, por una desensibilización de la pituitaria y una profunda supresión de los niveles de LH y FSH.⁽⁶⁻⁸⁾

Los antagonistas mas utilizados en el bloqueo hormonal son Cetrotide (Cetrorelix®) y Orgalutran (Ganirelix®); los cuales, a diferencia de los agonistas, no causan una hipersecreción inicial de gonadotropinas, en su lugar, causan una inmediata y rápida supresión de la secreción de dichas hormonas a través del bloqueo del receptor de la hormona liberadora de Gonadotropina (GnRHr por sus siglas en inglés) en la hipófisis, es decir, al inhibir la acción de la GnRH y la señal que produce, se evita de manera mas eficaz la liberación de las hormonas LH y FSH.⁽⁹⁻¹³⁾

A partir del año 2001, los laboratorios de química medica, bioquímica y fisiología de la compañía Merck comenzaron a sintetizar antagonistas no peptídicos de la GnRH basados en indoles⁽¹⁴⁻¹⁶⁾, aunque también se ha trabajado con tienonas⁽¹⁷⁾ y quinolonas^(18,19), y se espera que al tener moléculas más pequeñas que los antagonistas peptídicos, estas puedan tener una biodisponibilidad y una actividad mayor.

En este trabajo se ha efectuado una revisión del avance en las investigaciones para encontrar antagonistas no-peptídicos del receptor de la GnRH en los últimos 20 años, enfocándose principalmente en los que están basados en indoles; esto incluye los estudios para comprender el mecanismo de acción de la GnRH, las implicaciones del receptor de GnRH en canceres de tipo oncológico, los estudios para dilucidar las formas de interacción entre los agonistas y antagonistas peptídicos y no peptídicos con el receptor de GnRH además de los avances en la síntesis y en los estudios de la relación estructura-actividad (SAR por sus siglas en inglés) de los antagonistas no peptídicos de la GnRH de tipo indol.

La primera parte contempla lo referido a las hormonas LH, FSH y GnRH, así como también al receptor de la GnRH involucrados en el proceso de los canceres hormono-dependientes. La segunda parte del trabajo presenta los antecedentes referidos al cáncer, a los tipos de cáncer dependientes de hormonas, sus características, tipos de tratamiento y los medicamentos en uso. La tercera parte se enfoca en las formas de síntesis y en el

análisis de los extensos estudios de la relación estructura-actividad de los antagonistas no-peptídicos del receptor de GnRH basados en indoles. Finalmente en la última parte se presenta un resumen de los avances logrados hasta la fecha y las conclusiones.

Nota: El significado de las palabras marcadas con un asterisco será definido en el glosario.

3. ANTECEDENTES

3.1 Gonadotropinas hipofisarias

En sentido amplio, se llama gonadotropinas a las sustancias capaces de estimular las gónadas. Según su origen, se les divide en hipofisarias y coriónicas. Las gonadotropinas coriónicas o placentarias son las que se encuentran en la orina de la mujer embarazada y en el suero de la yegua preñada. Las gonadotropinas hipofisarias son aquellas que se extraen de la hipófisis y se hallan en la sangre y la orina del varón y la mujer no embarazada. Las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) son glicoproteínas sintetizadas en la células basófilas gonadotropas* que, tras ser liberadas en los capilares fenestrados anterohipofisarios*, llegan por la circulación general a las gónadas. La FSH y la LH son reguladas por las hormonas hipotalámicas, se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso, se acumulan en el complejo de Golgi y se almacenan en gránulos de secreción que pueden ser liberados por exocitosis o fusión con la membrana celular. En la sangre experimentan variaciones relacionadas con circunstancias fisiológicas conocidas (ciclo menstrual, lactación, etc.), pero además presentan cambios de menor magnitud, aunque muy frecuentes, de hora en hora, por los cuales sus niveles plasmáticos basales oscilan. Son liberadas en pulsos abruptos por los gonadotropos, que lo hacen sincrónicamente y ocasionan un ascenso plasmático de las hormonas. Al cesar el pulso, las hormonas decaen en el plasma de acuerdo con su vida media biológica. La vida media plasmática y el ritmo de los pulsos de descarga son influidos por los esteroides sexuales y por la GnRH. Cada hormona glicoprotéica gonadotrófica esta constituida por dos subunidades, α y β , que aisladamente son ineficaces. La subunidad α es común a varias hormonas glicoprotéicas de una misma especie, mientras que la β daría la especificidad hormonal. Los tejidos sobre los cuales actúan las gonadotropinas se caracterizan por tener receptores hormonales, es decir, moléculas en la membrana celular capaces de fijar con gran afinidad una hormona y de ser saturadas por ella.

3.1.1 Hormona folículo estimulante (FSH)

La FSH tiene acción gametogénica*: es fundamental para la ovulación y la espermatogénesis. Mantiene y repara el epitelio seminífero, pero es inactiva sobre el intersticio*, la secreción androgénica y los caracteres secundarios. En la hembra activa el crecimiento y la maduración folicular y estimula la granulosa*. La concentración de FSH plasmática en la mujer adulta es máxima en el momento previo a la ovulación. También es alta en el plasma y en la orina después de la menopausia y en la castración, en ambos casos por descenso del freno esteroideo gonadal. Es baja en el plasma de niños y niñas prepúberes, en la mujer fuera del pico ovulatorio y en el varón. Su secreción disminuye por acción de una hormona proteica de origen gonadal, la inhibina*. Esta ejerce su efecto sobre la secreción de FSH, y en menor grado sobre LH.

3.1.2 Hormona luteinizante (LH)

La LH activa en el macho normal el desarrollo del intersticio testicular (células de Leydig*) y su secreción androgénica, mediante la cual estimula los caracteres sexuales secundarios. En la hembra provoca la rotura del folículo maduro con la consecuente ovulación y aparición del cuerpo amarillo; además, desarrolla las células tecales* y

activa el intersticio. Muchos de los efectos sobre el testículo y el ovario se deben a una acción sinérgica entre ambas gonadotropinas, los esteroides sexuales y factores paracrinos locales que aseguran una adecuada gametogénesis y secreción gonadal. Los valores séricos de LH son bajos en prepúberes de ambos sexos, en machos adultos y durante la mayor parte del ciclo menstrual, excepto durante el pico ovulatorio. En la mujer, el pico de LH acompañado por otro de FSH se produce en la mitad del ciclo y antecede en 16 a 24 horas a la ovulación y al comienzo de la fase progestacional. En la posmenopausia y en la castración la LH aumenta considerablemente, mientras que la terapia estrogénica la deprime. De la orina de mujeres posmenopáusicas pueden ser extraídas gonadotrofinas, que son utilizadas en terapéutica.

3.2 Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH)

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, sinónimo de LHRH, hormona liberadora de la hormona luteinizante en inglés o gonadoliberina) junto con su receptor juegan un papel central en neuroendocrinología.⁽²¹⁾ Esta hormona es un decapeptido compuesto de los siguientes aminoácidos: pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, y posee la siguiente estructura:

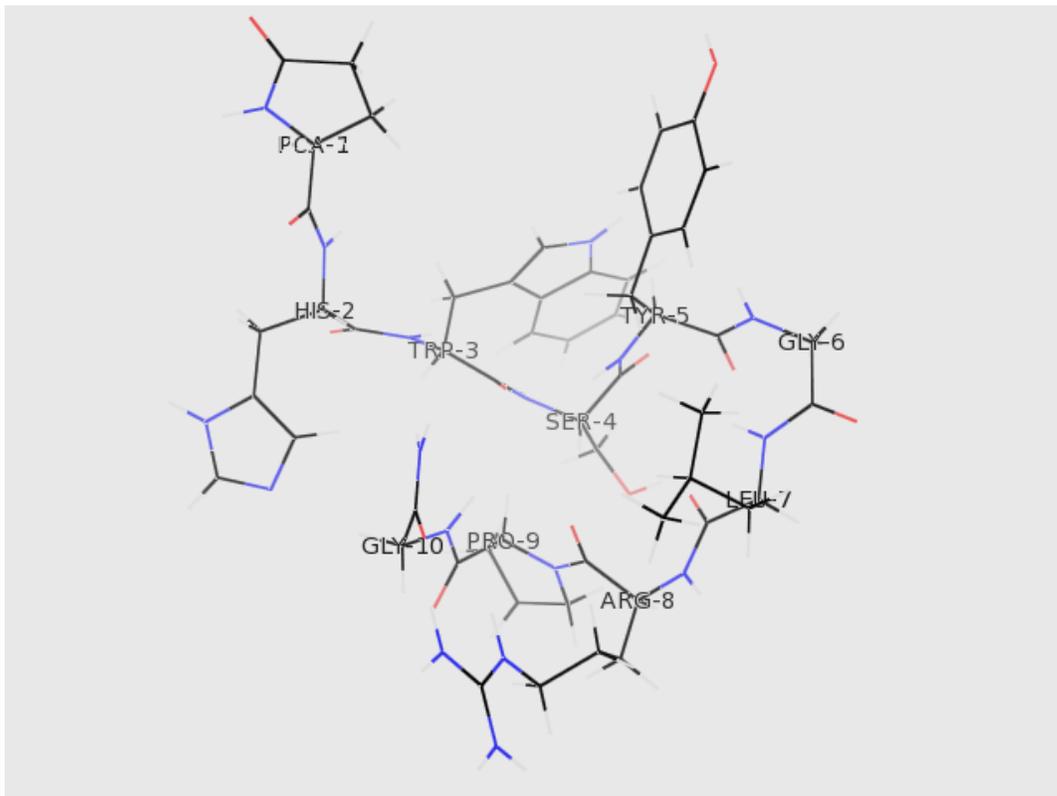


Figura. 1 Estructura tridimensional de la GnRH

Esta hormona, descubierta en 1971 por A. V. Schally⁽²²⁻²⁴⁾ et al. y R. Guillemin et al.⁽²⁵⁾, se forma en las neuronas hipotalámicas y es secretada en pulsos al torrente sanguíneo; es la encargada de estimular la glándula pituitaria para que esta libere LH y FSH, juega un papel muy importante en la modulación de las funciones reproductivas. Sus análogos sintéticos han atraído considerablemente el interés debido a su utilidad en

el tratamiento contra padecimientos dependientes de hormonas, tales como el cáncer de próstata, cáncer de mama, endometriosis, fibroides uterinos y pubertad precoz.⁽²⁶⁾ Esto se fundamenta en las extensas investigaciones que han demostrado que existen receptores específicos para la GnRH y sus análogos sintéticos en otros tejidos (por ejemplo: tumores) y órganos fuera de la pituitaria.⁽²⁷⁾

En el siguiente esquema se representa como interviene la GnRH (LHRH), sus agonistas y antagonistas en el desarrollo de los tumores⁽²⁸⁾:

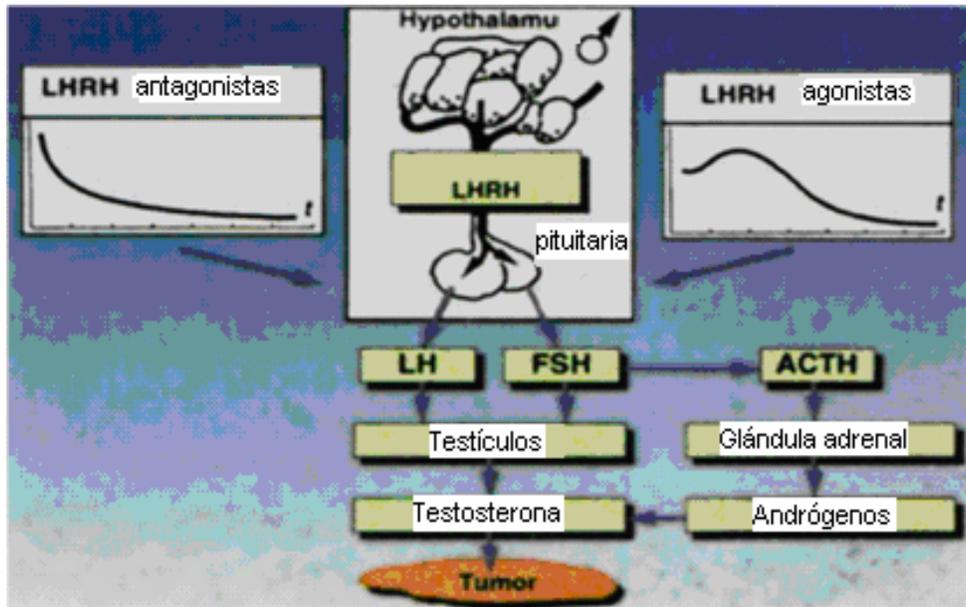


Figura. 2 Actividad antitumoral de los agonistas y antagonistas de la LHRH en el hombre.

En la pituitaria, la GnRH estimula la síntesis y secreción de la FSH y de la LH, este proceso es controlado por el tamaño y la frecuencia de los pulsos de GnRH, así como por la retroregulación de andrógenos y estrógenos. Una frecuencia baja de los pulsos produce la liberación de FSH, mientras que una frecuencia alta de los pulsos estimula la liberación de LH. Existen diferencias en la secreción de GnRH entre hembras y machos; en los machos, la GnRH es secretada en pulsos a frecuencia constante, mientras que en las hembras la frecuencia de los pulsos varía durante el ciclo menstrual y hay un gran aumento de GnRH justo antes de la ovulación.⁽²⁹⁾

3.2.1 Bases fisiológicas de la acción de la GnRH

Una característica esencial de la secreción de todas las hormonas hipotálamicas es su ritmo pulsátil. Es particularmente complejo el caso de la regulación hipotálamica de la secreción de las dos gonadotropinas, LH y FSH, mediante una sola hormona hipotálamica, GnRH, y por un tipo celular único, los gonadotrofos. Las variaciones en la secreción relativa de FSH y LH durante la vida fértil se basan en la capacidad de los gonadotrofos hipofisarios de responder de forma variable a los pulsos secretores cambiantes de GnRH al sistema portal hipotálamico hipofisario. La cantidad relativa de FSH y LH secretadas en cada momento del ciclo dependen de abundancia de receptores

para GnRH, y de la regulación de la respuesta intracelular a los pulsos de GnRH de los gonadotrofos, influenciada por las hormonas ováricas estradiol y activina*.

Una vez secretada la GnRH al sistema portal hipotalámico-hipofisario, la hormona alcanza los gonadotrofos hipofisarios. Debido al escaso flujo de sangre entre el hipotálamo y la hipófisis, la concentración de GnRH es elevada en torno a esas células. Una vez que la sangre abandona la hipófisis para entrar en la circulación general, la GnRH se diluye mucho, por lo que no parece capaz de estimular células extrahipofisarias. Por ello, a pesar de que existen muchas otras células en tejidos reproductivos que expresan receptores para GnRH, seguramente los gonadotrofos constituyen la única diana fisiológica de la GnRH, pues es en torno a ellos donde la concentración de hormona alcanza niveles suficientes para ocupar un número significativo de receptores.

El primer paso en la acción de la GnRH comienza con su unión al receptor específico anclado en la membrana plasmática, lo que causa una microagregación de receptores y la formación de un complejo oligomérico. El complejo oligomérico hormona-receptor puede ahora ejercer su efecto señalizador.

El siguiente paso incluye la activación de una proteína G (intercambiadora de GTP), que a su vez activa la fosfolipasa C, que conduce a la producción de acilglicerol y a la activación de la proteína quinasa C. Como consecuencia de estos metabolitos se abren canales iónicos que incrementan la concentración de calcio intracelular, requisito necesario para la liberación de LH y FSH acumulada en gránulos de secreción intracelulares.

La respuesta de los gonadotrofos a la llegada pulsátil de GnRH requiere la internalización/destrucción del receptor en cada ciclo y su síntesis y recolocación en la membrana, a la espera de una nueva oleada de hormona. El gen del receptor debe pues responder a un conjunto de señales que condicionan su disponibilidad cíclica. La regulación de la expresión del gen es compleja, aquí la autorregulación juega el papel determinante junto a la participación de la activina (ovárica e hipofisaria), que probablemente modula su expresión para adaptarla a las necesidades secretoras cambiantes a lo largo del ciclo de LH y FSH. La administración continuada de agonistas desacopla el proceso y la síntesis de receptor no recibe las instrucciones adecuadas.

Finalmente los microagregados de receptores para GnRH son internalizados y degradados por proteasas lisosomales intracelulares. La eliminación de receptores de GnRH da lugar a la insensibilidad de los gonadotrofos y al cese de la secreción de LH y FSH. La célula debe ahora reponer sus receptores y sus reservas de LH y FSH mediante la activación de la síntesis proteica. Esto ocurre en los periodos entre picos de secreción de GnRH, durante los cuales los gonadotrofos quedan listos para responder al siguiente pulso de GnRH. Los sutiles cambios de secreción de LH y FSH a lo largo de la vida y del ciclo menstrual son promovidos por la unión GnRH y su receptor, y moduladas por las condiciones intracelulares que afectan a la intensidad de respuesta de las rutas señaladoras posteriores, cuyos detalles comienzan a conocerse.

3.3 El receptor de la GnRH (GnRHr)

El receptor de GnRH es una estructura de 328 aminoácidos en el ser humano, con siete dominios transmembranales, el cual ha sido objeto de gran investigación durante muchas décadas debido al importante papel que juega en la comprensión de la biología reproductiva de los humanos y en el desarrollo de terapias medicas. La elucidación de la secuencia primaria de la GnRH por Schally y Guillemin inauguraron el campo. La compleja regulación del receptor en los mamíferos, la cual es crítica para la reproducción normal y para la respuesta terapéutica a los análogos de la GnRH ha sido estudiada en muchas especies.⁽³⁰⁻³²⁾ También han sido estudiadas las vías de transducción de señales usadas por el receptor⁽³³⁻³⁷⁾, las cuales no se mencionarán aquí ya que quedan totalmente fuera de los propósitos de este trabajo.

3.3.1 Características estructurales generales del receptor de GnRH

Los análisis de la secuencia primaria del receptor lo identifican como un miembro de la familia de los receptores acoplados a proteína G* de siete dominios transmembranales. Una representación de la topología del receptor de GnRH en el humano se muestra en la figura 3. El receptor esta compuesto por una sola cadena polipeptídica. Los análisis de hidrofobicidad de la secuencia primaria del receptor confirman la presencia de siete cadenas hidrofóbicas que corresponden a los siete dominios helicoidales transmembrana, con un extremo amino extracelular y un extremo carboxilo intracelular.

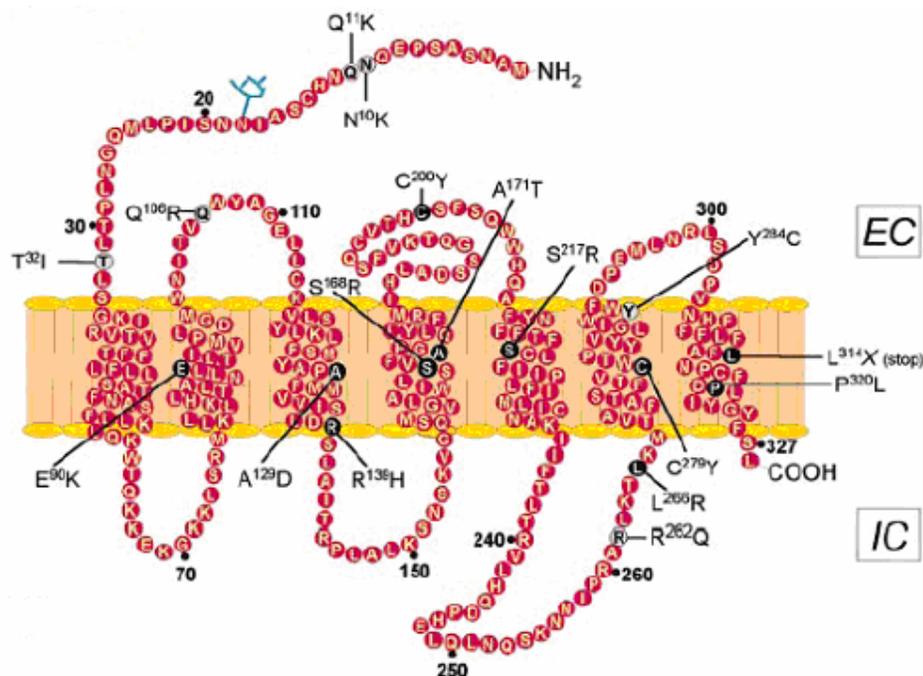


Figura. 3 Representación del receptor de GnRH en humanos

Usando modelado computacional⁽³⁸⁾ ha sido desarrollado un modelo de las hélices transmembranales del receptor de GnRH⁽³⁹⁾:

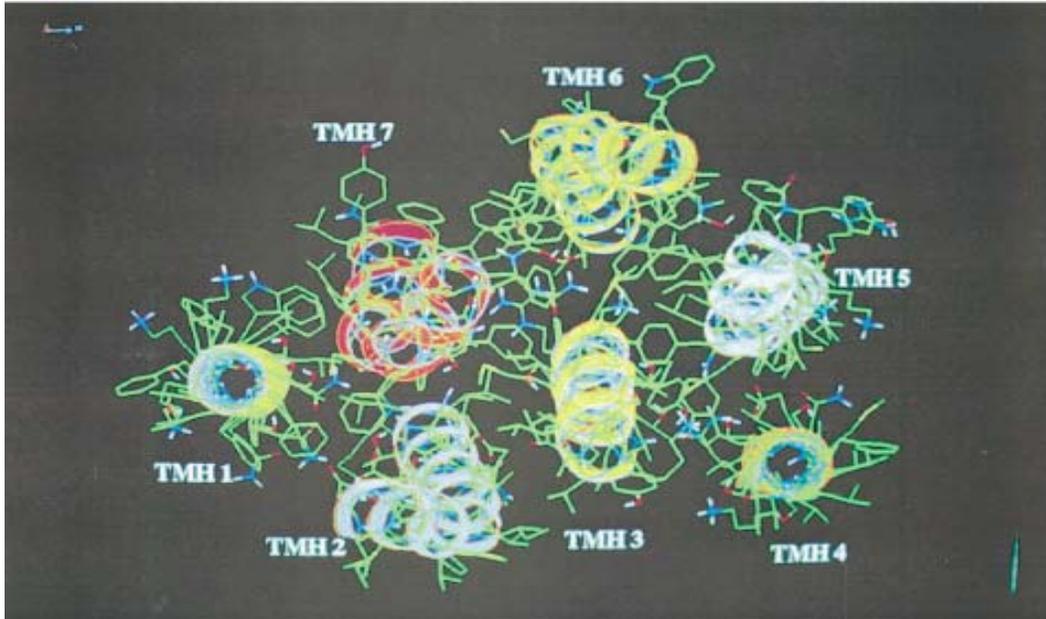


Figura. 4 Modelo tridimensional de la porción transmembrana del receptor de GnRH, vista desde el lado extracelular.

Usando este modelo⁽³⁹⁾ como punto de inicio e incorporando el trabajo experimental en conformación de péptidos, puede ser obtenido un modelo que satisface los datos computacionales y experimentales:

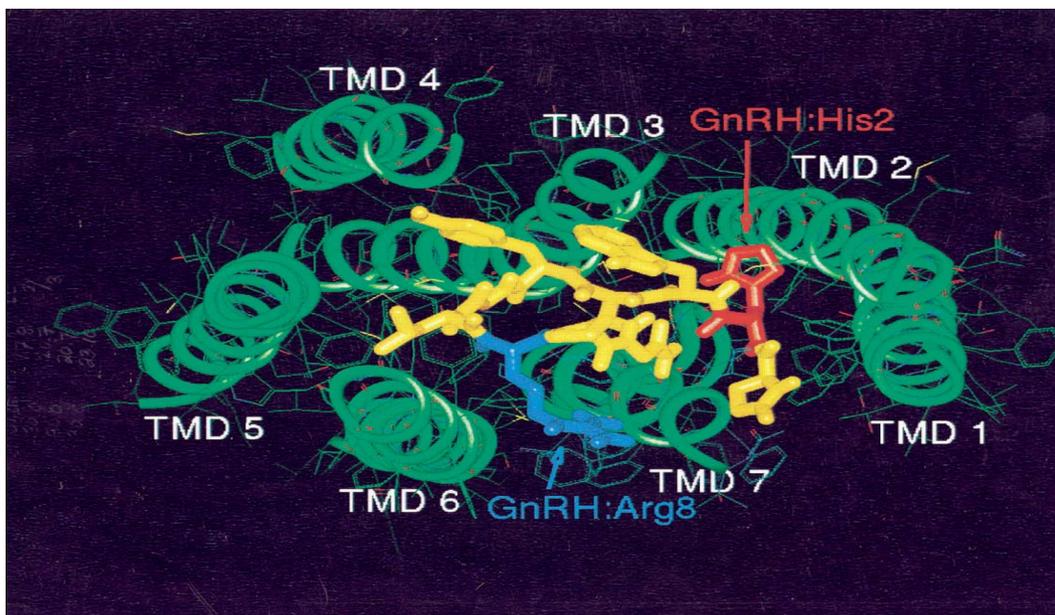


Figura. 5 Modelo computacional tridimensional del receptor de GnRH y la GnRH. La GnRH es mostrada en amarillo excepto por la His² (rojo) y la Arg⁸ (azul). Los dominios transmembrana del receptor están dibujados en color verde.

3.3.2 *El receptor de GnRH en cánceres de tipo ginecológico.*

En varios estudios ha sido observado que los cánceres de endometrio, mama y ovario expresan receptores para GnRH^(37, 40-44). Existen dos tipos de sitios de unión, uno de baja afinidad y alta capacidad y otro de alta afinidad y baja capacidad. El último es comparable al receptor de la pituitaria^(41, 45, 46). En 1992, fue descrita la clonación, secuenciación y expresión del receptor de GnRH pituitario^(47, 48). Estos descubrimientos provocaron una intensa investigación para tratar de demostrar que el gen del receptor de la GnRH se expresa en líneas celulares de cáncer ovárico y endometrial y en cerca del 80% de los tumores primarios respectivos^(47, 49-51). En muestras de cáncer endometrial y ovárico y en líneas celulares que expresan el mRNA para el receptor de GnRH de la pituitaria, fueron encontrados sitios de unión de alta afinidad y baja capacidad con relación cercana al receptor de GnRH⁽⁵²⁾. Kakar et al.⁽⁵³⁾ demostraron que la secuencia de nucleótidos de los receptores de GnRH en tumores de ovario y mama son idénticos a los encontrados en la pituitaria. Los datos disponibles hoy en día sugieren que cerca del 50% de los cánceres de mama⁽⁵⁴⁾ y aproximadamente el 80% de los cánceres de endometrio y ovario expresan sitios de unión de alta afinidad para GnRH. Así como los cánceres de mama, ovario y endometrio expresan la GnRH y su receptor, parece razonable especular que, en muchos de estos tumores, existe un sistema local de regulación basado en la GnRH. La misma situación fue encontrada para el cáncer de próstata⁽⁴⁴⁾.

3.4 *Agonistas y antagonistas peptídicos del GnRHr*

Los péptidos que imitan la acción de la GnRH son de gran interés clínico debido a que pueden ser usados para suprimir la secreción de gonadotropinas y la subsecuente producción de esteroides sexuales. En el pasado, varios análogos agonistas de la GnRH fueron sintetizados y aplicados con éxito en el tratamiento de varios padecimientos dependientes de esteroides sexuales (Tabla 1). Estos compuestos se enlazan con gran afinidad al receptor de GnRH en la pituitaria y producen, después de una liberación inicial de gonadotropinas, la supresión de la liberación de estas por los gonadotrofos*. En contraste, los antagonistas de GnRH compiten con la GnRH por enlazarse al receptor (Tabla 2). Estos compuestos carecen de actividad agonista, por lo cual, producen la inmediata supresión de la secreción de LH y FSH.

3.4.1 *Aspectos básicos de los agonistas peptídicos del GnRHr*

Estudios de la relación estructura reactividad de la molécula de GnRH revelan que las terminales N- y C- del péptido son muy importantes para el enlace con el receptor, mientras que el extremo N- juega un papel central en la activación del receptor. La Arg8 parece ser importante para el enlace de alta afinidad con el receptor⁽⁵⁵⁾. Muchos agonistas de la GnRH han sido sintetizados; algunos de estos compuestos presentan una terminal C- Gly10- amida con la adición de un residuo de etilamina a la Pro9 (Tabla 1).

Los análogos agonistas ejercen la misma actividad biológica que el péptido original, pero son más resistentes a la degradación enzimática y poseen una mayor afinidad al receptor de GnRH. La afinidad puede ser aumentada mediante la introducción de grupos hidrofóbicos en el sexto aminoácido^(56, 57). La administración crónica de altas dosis produce una disminución del número de receptores de GnRH. Además, se piensa que el

proceso de desensibilización esta involucrado en el mecanismo de acción de los agonistas de la GnRH. La exposición sostenida de los gonadotrofos pituitarios a altas concentraciones de GnRH nativa reduce la respuesta de las células a la subsecuente estimulación con GnRH. Este proceso, llamado desensibilización, produce la supresión de la secreción de gonadotropinas y es el mecanismo primario de la acción agonista contra la GnRH.

Tabla 1. Secuencias de aminoácidos de algunos agonistas del GnRHr.

| Péptido | Secuencia |
|----------------|--|
| GnRH | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-Gly6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly10-NH ₂ |
| Triptorelin | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-D-Trp6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly10-NH ₂ |
| Leuprolide | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-D-Leu6-Leu7-Arg8-Pro9-NHC ₂ H ₅ |
| Buserelin | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-D-Ser(tBu)6-Leu7-Arg8-Pro9-NHC ₂ H ₅ |
| Goserelin | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-D-Ser(tBu)6-Leu7-Arg8-Pro9-AzGly10-NH ₂ |
| Nafarelin | pPyr1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-D-2-Nal6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly10-NH ₂ |

3.4.2 Aspectos básicos de los antagonistas peptídicos del GnRHr

Los análogos antagonistas fueron inicialmente desarrollados con el propósito de obtener una nueva clase de drogas anticonceptivas con mayor especificidad que los compuestos esteroidales. Los análogos antagonistas de la GnRH resultan de múltiples sustituciones de aminoácidos en las posiciones 1, 2, 3, 6, 8 y 10 del decapeptido. Los primeros compuestos de este tipo fueron sintetizados hace más de 20 años⁽⁵⁷⁾. Su aplicación clínica se vio disminuida por sus efectos secundarios, tales como reacciones anafilácticas, debidas a la liberación de histamina.

Nuevas generaciones de antagonistas del GnRHr libres de efectos secundarios han sido desarrolladas (Tabla 2).

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos de algunos antagonistas del GnRHr.

| Péptido | Secuencia |
|----------------|---|
| GnRH | pGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-Gly6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly10-NH ₂ |
| Nal-Glu-GnRH | Ac-D-Nal1-D-Cpa2-D-Pal3-Ser4-Arg5-D-Glu6(AA)-Leu7-Arg8-Pro9-D-Ala10-NH ₂ |
| Antide | Ac-D-Nal1-D-Cpa2-D-Pal3-Ser4-NicLys5-D-NicLys6-Leu7-ILys8-Pro9-D-Ala10-NH ₂ |
| Cetrorelix | Ac-D-Nal1-D-Cpa2-D-Pal3-Ser4-Tyr5-D-Cit6-Leu7-Arg8-Pro9-D-Ala10-NH ₂ |
| Ganirelix | Ac-D-Nal1-D-Cpa2-D-Pal3-Ser4-Tyr5-D-hArg(Et ₂)6-Leu7-hArg(Et ₂)8-Pro9-D-Ala10-NH ₂ |

Estos compuestos tienen que ser administrados en altas dosis para que neutralicen la actividad de la GnRH endógena. Las limitaciones de los antagonistas peptídicos de la GnRH residen en algunos de sus parámetros farmacocinéticos tales como baja solubilidad y a que son propensos a formar geles en soluciones acuosas. Se han hecho esfuerzos para desarrollar análogos antagonistas libres de efectos secundarios y con una solubilidad mayor. Dos de estos compuestos, cetrorelix (Cetrotide®; Serono Internacional SA, Geneva, Suiza) y ganirelix (Orgalutran®; Antagon®; Organon SA, Oss, Holanda) fueron probados extensamente en estudios clínicos y ahora están disponibles en el mercado⁽⁵⁸⁻⁶³⁾; ambos muestran una alta potencia para suprimir

inmediatamente la secreción de gonadotropinas. Consecuentemente, los niveles de esteroides sexuales disminuyen. Debido a que los antagonistas de la GnRH no producen una liberación inicial de gonadotropinas, tienen el potencial para reemplazar a los agonistas de la GnRH ^(64, 65). Estos compuestos ya han comenzado a utilizarse en padecimientos tales como: endometriosis, fibroides uterinos y cánceres dependientes de esteroides sexuales ⁽⁶⁶⁾.

El principal mecanismo de acción de estos compuestos es el bloqueo de los receptores de GnRH, entonces, los antagonistas de la GnRH inhiben la transducción de señales inducida por la GnRH.

3.5 El cáncer

Esta palabra deriva del griego y significa cangrejo. Se dice que las formas corrientes de cáncer avanzado adoptan una forma abigarrada, con ramificaciones, que se adhiere a todo lo que agarra, con la obstinación y forma similar a la de un cangrejo marino y de ahí deriva su nombre. Se considera a veces sinónimo de los términos neoplasia* y tumor, sin embargo el cáncer siempre es una neoplasia o un tumor maligno.

En medicina, el término cáncer es usado para identificar una entidad clínica y anatomopatológica de carácter maligno que afecta a un paciente, y cuyas características histopatológicas son la alteración morfológica y funcional seguida de la proliferación descontrolada —no siempre acelerada— de las células de un tejido que invaden, desplazan y destruyen, localmente y a distancia, otros tejidos sanos del organismo.

A partir de la concepción celular de Virchow ("toda célula proviene de otra célula") se entiende que el cáncer es una patología celular. El cáncer es un proceso lógico y coordinado en el que una célula (o un grupo de ellas) sufre cambios y adquiere capacidades especiales diferentes de las células normales. De esta forma, las células cancerosas no están sujetas a las restricciones usuales (normales) concernientes a la proliferación celular, impuestas por la biología tisular y corporal.

Los efectos del cáncer (enfermedad cancerosa) conforman un conjunto de signos y síntomas de pronóstico y tratamiento diferentes, que depende de la localización anatómica en la que se encuentre y del tipo celular o histológico del que proceda, principalmente.

Cuando las células normales se lesionan o envejecen, mueren por apoptosis*, pero las células cancerosas la evitan.

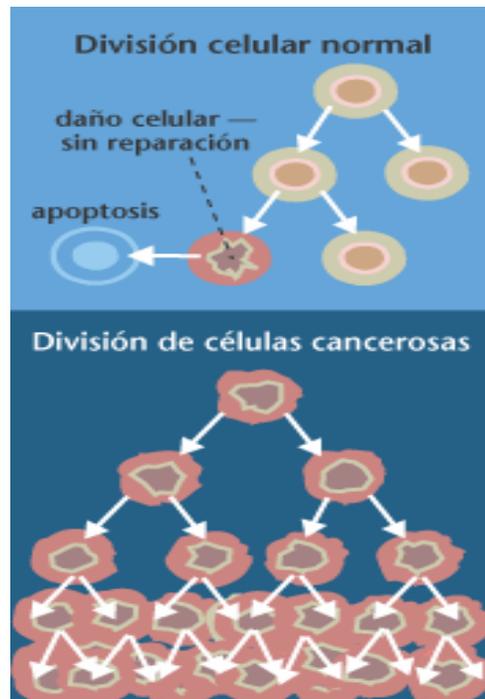


Figura. 6 Las células normales al lesionarse mueren por apoptosis, pero las células cancerosas la evitan.

3.5.1 Genética del cáncer

El cáncer es una enfermedad genética producida por la mutación de determinados genes en una célula determinada y que adquiere las características del cáncer. Estos genes son de tres tipos:

- *Oncogenes*: Son genes mutados que proceden de otros llamados *protooncogenes* encargados de la regulación del crecimiento celular.
- *Genes supresores tumorales*: Son los encargados de detener la división celular y de provocar la apoptosis. Cuando se mutan estos genes la célula se divide sin control.
- *Genes de reparación del ADN*: Cuando el sistema de reparación es defectuoso como resultado de una mutación adquirida o heredada, la tasa de acumulación de mutaciones en el genoma se eleva a medida que se producen divisiones celulares. Según el grado en que estas mutaciones afecten a oncogenes y genes supresores tumorales, aumentará la probabilidad de padecer neoplasias malignas.

La transformación maligna de las células normales consiste en la adquisición progresiva de una serie de cambios genéticos específicos que actúan desobedeciendo los fuertes mecanismos antitumorales que existen en todas las células normales. Estos mecanismos incluyen:

- La regulación de la transducción de señales.
- La diferenciación celular.
- La apoptosis.
- La reparación del ADN.
- La progresión del ciclo celular.
- La angiogénesis.
- La adhesión celular.

3.5.2 *Diagnostico del cáncer*

El diagnóstico del cáncer se basa indispensablemente en la toma de biopsia del tumor para un estudio histológico con su grado de diferenciación y de invasión y para un estudio molecular para determinar sus marcadores biológicos y genéticos. Ningún diagnóstico de cáncer es válido si no está basado en el estudio de una biopsia, y por lo tanto el personal médico debe hacer todos los esfuerzos por conseguir una muestra de tejido válida para confirmar el diagnóstico de cáncer ante la persistencia de la sospecha clínica. Al igual que sucede con los síntomas, los signos del cáncer varían dependiendo del tipo de tumor y de su ubicación en el cuerpo. Algunos de los exámenes más comunes son:

- TC (Tomografía axial computarizada)
- Conteo sanguíneo completo (CSC)
- Químicas sanguíneas
- Biopsia del tumor
- Biopsia de médula ósea (para detectar linfoma o leucemia)
- Radiografía de tórax

La mayoría de los cánceres se diagnostican por medio de una biopsia y dependiendo de la ubicación del tumor, ésta puede ser un procedimiento sencillo o una cirugía delicada. A la mayoría de las personas afectadas por un cáncer se las somete a TC para determinar la ubicación exacta del tumor o tumores.

3.5.3 *Tratamiento del cáncer*

El tratamiento del cáncer se fundamenta en tres pilares básicos: cirugía, quimioterapia y radioterapia. Existe un cuarto pilar llamado *terapia biológica* que incluiría la hormonoterapia, inmunoterapia, y nuevas dianas terapéuticas no citotóxicas. El tratamiento del cáncer es multidisciplinario donde la cooperación entre los distintos profesionales que intervienen (cirujanos, oncólogos médicos y oncólogos radioterapeutas) es de máxima importancia para la planificación del mismo; sin olvidar el consentimiento informado del paciente.

En el plan de tratamiento hay que definir si la intención es curativa o paliativa.

La respuesta al tratamiento puede ser:

- **Completa:** Si se ha producido la desaparición de todos los signos y síntomas de la enfermedad.
- **Parcial:** Si existe una disminución de los signos, síntomas y dolencias producidas por la enfermedad.

- **Objetiva:** Es la respuesta completa o parcial.
- **Progresión:** Si aparece cualquier lesión nueva o existe un aumento mayor del 25% de todas las lesiones mensurables.
- **Estable:** Si existe crecimiento o reducción del tumor que no cumple ninguno de los criterios anteriores.

Cuando no es posible la medida de las lesiones, los marcadores tumorales son útiles para valorar la respuesta al tratamiento.

3.5.4 Pronóstico del cáncer

A partir de la década de 1990 y con las técnicas terapéuticas disponibles el cáncer es curable en aproximadamente el 50% de los pacientes diagnosticados. El pronóstico del cáncer depende sobre todo de:

- La localización anatómica del tumor primario.
- Del tipo histológico con su grado de diferenciación celular, sus características biológicas y citogenéticas.
- Del estadio del cáncer o extensión de la enfermedad.
- La edad del paciente.
- El estado funcional o la reserva fisiológica del paciente.

3.6 Cánceres dependientes de hormonas

Las hormonas esteroideas con papeles importantes en el cáncer pertenecen a tres categorías fisiológicas: estrógenos, progestágenos y andrógenos.

Los estrógenos sintetizados por el organismo humano son tres: estradiol, estrona y estriol. Todos ellos tienen 18 carbonos y su síntesis comienza de colesterol (Fig. 7). El lugar predominante de síntesis de los estrógenos es el ovario, que produce la mayor cantidad de ellos a lo largo de la vida. La estrona y el estriol son importantes sobre todo durante el embarazo, cuando la placenta sintetiza grandes cantidades de los tres estrógenos.

La progesterona es la más importante de los progestágenos. Tiene 21 carbonos, y su síntesis es predominantemente en el cuerpo lúteo, durante la segunda parte del ciclo menstrual. La placenta produce cantidades ingentes de progesterona durante el embarazo, de tal modo que se autoabastece de hormona para mantener la función reproductora.

Los andrógenos más activos son la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT), ambos de 19 carbonos. Su lugar de síntesis preferente es el testículo, pero también el ovario y las glándulas suprarrenales producen cantidades importantes de androstendiona y

dehidroepiandrosterona (DHEA). Estos precursores eventualmente se podrán convertir en testosterona y en estradiol mediante la actividad enzimática de los tejidos periféricos, incluida la mama ⁽⁶⁷⁾.

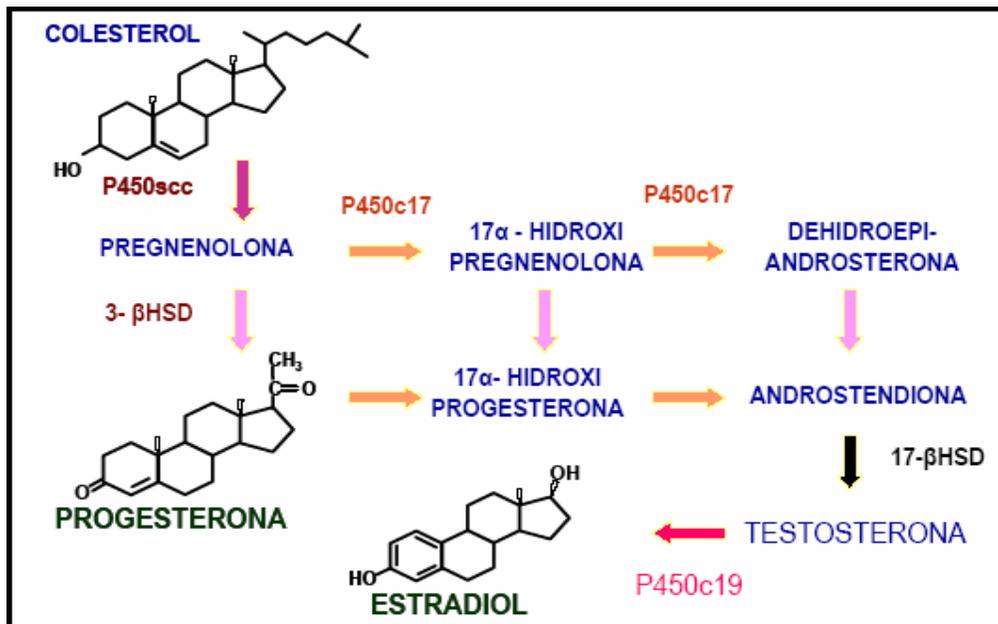


Figura. 7 Esteroidogénesis ovárica.

La síntesis ovárica de hormonas esteroideas da lugar a dos productos, progesterona y estradiol, que se segregan en diferentes proporciones a lo largo del ciclo menstrual, y que se sintetizan también a diferentes velocidades. La progesterona es el resultado de dos oxidaciones del colesterol, y transcurre muy deprisa. La síntesis de estradiol es más lenta y ocurre en las células de la granulosa ováricas. El estradiol requiere 5 oxidaciones desde testosterona, sustrato de la aromatasa, que realiza la oxidación del carbono 19, y completando la síntesis con la aromatización del anillo A de la testosterona y la reducción del grupo 3-ceto a hidroxilo.

La producción de estrógenos durante la vida fértil de la mujer se halla bajo el control de las hormonas hipofisarias FSH y LH. Los genes que codifican las enzimas que participan en la esteroidogénesis son regulados por estas hormonas. En el modelo de dos células para la síntesis ovárica de estrógenos (Fig. 8), el control de las células de la teca es casi totalmente debido a la LH, que induce la síntesis de las enzimas productoras de progesterona y de andrógenos.

El control de la célula de la granulosa durante la fase proliferativa es debido esencialmente a la FSH, que induce el gen de la aromatasa. Durante la fase luteal, las células de la granulosa del folículo dominante expresan también receptores de LH, con lo que se convierten en células luteales productoras de progesterona (mayoritariamente) y continúan produciendo estrógenos.

La teoría de las dos células ováricas establece que las células de la teca interna y de la granulosa ováricas tienen funciones complementarias en la síntesis de estrógenos. Las células de la teca interna contienen receptores de LH, y responden a su estímulo aumentando la concentración de AMP-cíclico, regulador de la actividad enzimática que transformará el colesterol en testosterona. Las células de la granulosa tienen receptores

de FSH desde la fase folicular, y responden a ella incrementando la síntesis de AMP-cíclico, que induce la síntesis de aromatasa. En el folículo dominante se expresan además los receptores de LH, que incrementan la síntesis de AMP-cíclico y de aromatasa que activa la conversión de la testosterona aportada por las células tecales, en estradiol ⁽⁶⁸⁾.

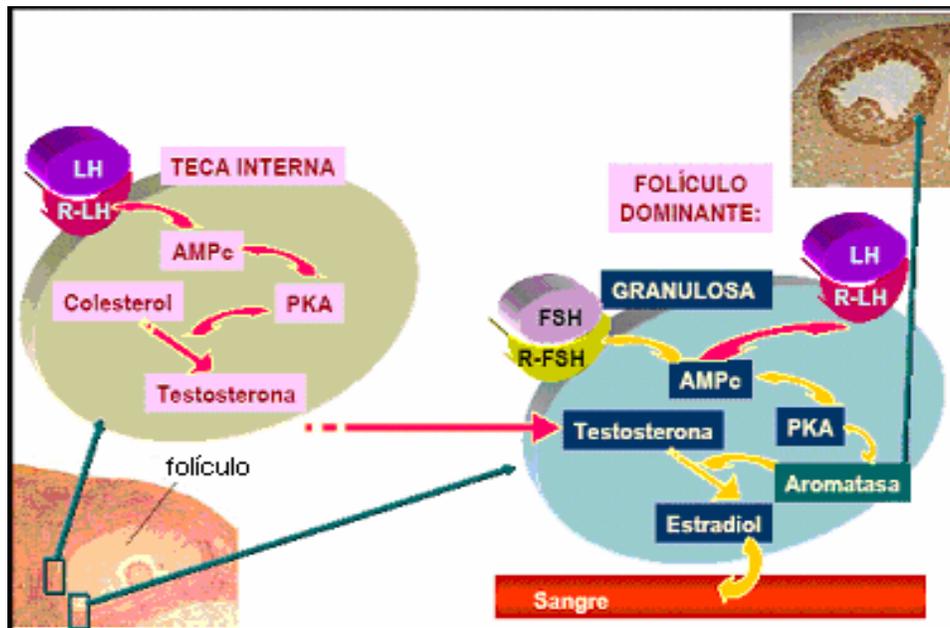


Figura. 8 Teoría de las dos células en la síntesis de hormonas ováricas.

Como se ha mencionado anteriormente, hay evidencia clínica de que prácticamente en el 100% de los casos de cáncer de próstata e hipertrofia prostática benigna y aproximadamente en el 50% de los casos de cáncer de mama, estos tejidos son ricos en receptores de andrógenos y estrógenos respectivamente ^(37, 40, 41, 42, 43, 44). Asimismo, los receptores de GnRH están presentes en el 78% de los cánceres de ovario analizados, en el 80% de los cánceres de endometrio y en los tumores en los senos, en el útero y en la próstata ^(69, 70).

Estos descubrimientos han provocado un gran interés en la terapia de bloqueo hormonal contra cánceres y tumores dependientes de hormonas gonadales (andrógenos y estrógenos), ya que si se suprime la liberación de gonadotrofinas hipofisiarias (FSH y LH) bloqueando el receptor de GnRH, se evita la posterior síntesis y liberación de andrógenos y estrógenos. Hasta el momento se han investigado otras dos formas de suprimir la liberación de hormonas gonadales: los inhibidores de la aromatasa, que evitan la conversión de andrógenos en estrógenos y los antiestrogenos, que bloquean el receptor de estos en las células. Ambas se representan en el siguiente esquema:

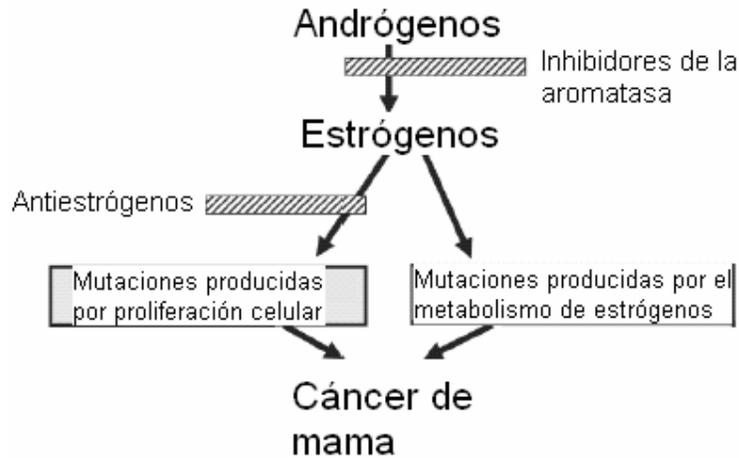


Figura. 9 Formas alternativas para evitar que las hormonas esteroideas alcancen las células.

3.6.1 *Cáncer de mama*

Es un crecimiento maligno que comienza en el tejido mamario. Durante su vida, a una de cada ocho mujeres se le diagnosticará este tipo de cáncer.

3.6.1.1 *Tipos de cáncer de mama*

Existen varios tipos diferentes de cáncer de mama:

- El carcinoma canalicular o de conductos: comienza en las células que recubren los conductos que llevan leche al pezón y es responsable por más del 75% de los cánceres de mama.
- El carcinoma lobulillar: comienza en las glándulas secretoras de leche de las mamas pero es, a excepción de esto, muy similar en su comportamiento al carcinoma canalicular. Otras variedades de cáncer de mama pueden desarrollarse a partir de la piel, grasa, tejido conectivo y de otras células presentes en las mamas.

3.6.1.2 *Factores de riesgo*

Los factores de riesgo para el cáncer de mama abarcan:

- Edad y género: como sucede con la mayoría de los cánceres, la edad es un factor muy importante. De hecho, un 77% de los casos nuevos y 84% de las muertes por cáncer de mama ocurren en mujeres de 50 años o más. Más del 80% de todos los casos ocurre en mujeres de más de 50 años y menos del 1% ocurre en hombres.
- Factores genéticos y antecedentes familiares: algunas familias parecen tener una tendencia genética para el cáncer de mama. Se han encontrado dos genes

variantes que parecen intervenir, el BRCA1 y el BRCA2. Los genes p53 y BARD1 también parecen ser importantes. Los investigadores han identificado otros genes defectuosos que pueden causar cáncer de mama, entre los cuales están el BRCA3 y el Noey2 (que es una enfermedad heredada sólo del lado paterno de la familia). Estos descubrimientos sugieren que el cáncer de mama ocurre cuando los sistemas de control y vigilancia del cuerpo contra el cáncer, que normalmente eliminan las células anormales, no logran funcionar. La reducción en la capacidad del cuerpo para eliminar las células anormales lleva a que se presente algún daño que se acumula gradualmente. Las mujeres portadoras de mutaciones del BRCA1 y/o del BRCA2 comienzan con una disfunción preexistente de este sistema y tienen una "ventaja inicial" en este proceso de daño. Las hormonas son importantes porque estimulan el crecimiento celular. Los altos niveles hormonales durante los años reproductivos de una mujer, especialmente cuando éstos no han sido interrumpidos por los cambios hormonales del embarazo, parecen aumentar las posibilidades de que las células genéticamente dañadas crezcan y causen el cáncer⁽²⁾.

- Menarquia temprana y menopausia tardía: las mujeres que inician tempranamente sus períodos menstruales (antes de los 12 años) o llegan a la menopausia después de los 55 tienen un riesgo mayor. Igual sucede con aquellas que no tuvieron hijos o los tuvieron después de los 30 años de edad.
- Anticonceptivos orales: los anticonceptivos orales pueden aumentar ligeramente el riesgo de sufrir cáncer de mama, dependiendo de la edad, el tiempo de uso y otros factores. Nadie sabe por cuánto tiempo se mantiene este efecto después de suspenderlos.
- Terapia de reemplazo hormonal: se ha demostrado que el uso de la terapia de reemplazo hormonal aumenta el riesgo de sufrir cáncer de mama.
- Características físicas: el papel de la obesidad como factor de riesgo sigue siendo controvertido. Algunos estudios muestran que sí lo es y que se asocia posiblemente con la producción de altos niveles de estrógenos en las mujeres obesas.
- Consumo de alcohol: el alto consumo de alcohol (más de 1 ó 2 tragos al día) se relaciona con un mayor riesgo de sufrir cáncer de mama.
- Químicos: varios estudios han señalado que la exposición a sustancias químicas similares a los estrógenos, que se encuentran en pesticidas y ciertos productos industriales, puede aumentar también este riesgo.
- DES: las mujeres que tomaron dietilestilbestrol (DES) para evitar abortos pueden tener un riesgo alto de sufrir cáncer de mama después de los 40 años.
- Radiación: las personas que han estado expuestas a la radiación, particularmente durante su infancia, pueden tener igualmente un riesgo alto de cáncer de mama en su vida adulta, sobre todo quienes recibieron radiación en el tórax por cánceres anteriores.

- Otros factores de riesgo: varios estudios han mostrado que el haber tenido tumores previos en las mamas, útero, ovarios o colon, y antecedentes de cáncer en la familia aumentan el riesgo de sufrir cáncer de mama. Tales antecedentes pueden ser indicio de factores genéticos descritos anteriormente.

3.6.1.3 Síntomas

Los síntomas pueden ser los siguientes:

- Tumores mamarios o masas mamarias identificadas durante un autoexamen de mama, las cuales suelen ser indoloras, de firmes a duras y, por lo general, con bordes irregulares.
- Protuberancias o masas en la axila.
- Cambio en el tamaño o forma de las mamas.
- Secreción anormal del pezón, suele ser un líquido sanguinolento o de claro a amarillento o verdoso, puede parecer pus (purulento).
- Cambios en el color o sensación de la piel de la mama, del pezón o de la areola con orificios, fruncido o escamoso.
- Retracción, apariencia de "concha de naranja".
- Enrojecimiento o venas acentuadas en la superficie de la mama.
- Cambios en la apariencia o sensibilidad del pezón: hundido (retracción), agrandamiento o picazón.
- Dolor, aumento de tamaño o molestia sólo de un lado.
- Cualquier protuberancia, dolor, sensibilidad u otro cambio en las mamas de un hombre
- Los síntomas de enfermedad avanzada son dolor óseo, pérdida de peso, inflamación de un brazo y ulceración cutánea.

3.6.1.4 Tratamiento

La selección del tratamiento inicial está basada en muchos factores. Para los cánceres en etapas tempranas de desarrollo, las principales consideraciones son tratar adecuadamente el cáncer y evitar la recurrencia, ya sea en el lugar del tumor original (local) o en cualquier otra parte del cuerpo (metastásica). Para etapas avanzadas, el objetivo es mejorar los síntomas y prolongar la supervivencia. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el cáncer en etapas avanzadas no se puede curar.

La cirugía puede consistir sólo en extracción del tumor de la mama (tumorectomía), o mastectomía parcial, total o radical, por lo general con la extracción de uno o más ganglios linfáticos de la axila. A menudo, se utilizan procedimientos especiales para encontrar los ganglios linfáticos a los que probablemente se ha diseminado el cáncer (ganglios centinela).

Se puede dirigir terapia por radiación al tumor, la mama, la pared torácica o a otros tejidos que se conoce o se sospecha quedan con células cancerosas.

La quimioterapia se utiliza para ayudar a eliminar las células cancerosas que aún puedan quedar en la mama o que ya se hayan diseminado a otras partes del cuerpo.

Las drogas biológicas, como el trastuzumab (Herceptin®), son un tipo de drogas contra el cáncer completamente nuevas, que se pueden usar solas o con quimioterapia. Esta droga afecta el crecimiento y funcionamiento de las células cancerosas y del 20 al 25% de los cánceres de mama responden a ella. El trastuzumab no es quimioterapia pero se puede combinar con ésta. De hecho, estudios recientes muestran que agregarle trastuzumab a la quimioterapia o hacer un tratamiento con trastuzumab después de la quimioterapia ayuda a prevenir la recurrencia del cáncer y puede hacer que las personas vivan por más tiempo⁽²⁾.

Se utiliza terapia hormonal con tamoxifeno para bloquear los efectos del estrógeno que de otra manera puede ayudar a las células cancerosas a sobrevivir y crecer. La mayoría de las mujeres con cánceres de mama que presentan estrógeno o progesterona en su superficie se benefician del tratamiento con tamoxifeno. Dentro de la terapia hormonal también se utilizan los denominados inhibidores de la aromatasas, como Aromasin, que han demostrado ser tan buenos como o posiblemente mejores que el tamoxifeno en mujeres con cánceres de mama en la etapa IV.

La mayoría de las mujeres recibe una combinación de estos tratamientos. Para los tumores en etapa 0, el tratamiento estándar es la mastectomía o tumorectomía más radiación. Para los casos en etapas I y II, el tratamiento estándar es la tumorectomía (más radiación) o mastectomía con la extirpación de al menos el "ganglio centinela".

Después de la cirugía, se puede recomendar quimioterapia con o sin trastuzumab, terapia hormonal o ambas. La presencia de cáncer de mama en los ganglios linfáticos axilares es muy importante para la estadificación y el tratamiento y seguimiento apropiados.

Las pacientes en la etapa III por lo general se tratan con cirugía seguida de quimioterapia con o sin terapia hormonal. También se puede considerar la radioterapia bajo circunstancias especiales.

El cáncer de mama en etapa IV se puede tratar con cirugía, radiación, quimioterapia, terapia hormonal o una combinación de éstas (dependiendo de la situación).

Varios estudios experimentales y clínicos muestran que los agonistas de la GnRH pueden ser útiles en el tratamiento de cáncer de mama dependiente de estrógenos^(71, 72). Los antagonistas de la GnRH solo han sido probados en modelos experimentales de cáncer de mama en ratas^(71, 73-76).

3.6.2 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es una enfermedad en la que el cáncer se desarrolla en la próstata, un órgano glandular en el sistema reproductor masculino. El cáncer se produce cuando células de la próstata mutan y comienzan a multiplicarse descontroladamente. Estas células podrían propagarse (metástasis) desde la próstata a otras partes del cuerpo, especialmente los huesos y los ganglios linfáticos. El cáncer de próstata puede causar dolor, micción dificultosa, disfunción eréctil, entre otros síntomas.

Esta enfermedad sólo afecta a varones y se desarrolla más frecuentemente en individuos mayores de 50 años. Es el segundo tipo de cáncer más común en hombres. Sin embargo, muchos hombres que desarrollan cáncer de próstata nunca tienen síntomas, ni son sometidos a terapia. Diversos factores, incluyendo la genética y la dieta, han sido implicados en el desarrollo de cáncer de próstata, pero hasta la fecha (2007), las modalidades de prevención primaria conocidas son insuficientes para eliminar el riesgo de contraer la enfermedad.

La detección se lleva a cabo principalmente por la prueba en sangre del antígeno prostático específico (PSA) o por exploración física de la glándula prostática (tacto rectal). Los resultados sospechosos típicamente dan lugar a la posterior extracción de una muestra tisular de la próstata (biopsia), que es examinada en microscopio.

El tratamiento puede incluir cirugía, radioterapia, hormonoterapia, quimioterapia, o bien una combinación de aquéllas. La edad y el estado de salud general del afectado, tanto como el alcance de la diseminación, la apariencia de los tejidos examinados en microscopio, y la respuesta del cáncer al tratamiento inicial, son vitales en la determinación del resultado terapéutico. Debido a que el cáncer de próstata es una enfermedad que afecta mayoritariamente a hombres mayores, muchos de ellos morirán por otras causas antes de que el cáncer pueda propagarse o causar síntomas.

En general, de todos los varones diagnosticados de cáncer de próstata, el 97% siguen vivos a los 5 años del diagnóstico, el 79% a los 10 años. Estas cifras incluyen todos los estadios y grados del cáncer de próstata, pero no tiene en cuenta los hombres que mueren por otras causas.

Al menos el 70% de todos los cánceres de próstata se diagnostican cuando el cáncer tiene, al momento de efectuarse el diagnóstico, extensión a otras partes distantes del cuerpo. La tasa de mortalidad por cáncer de próstata ha disminuido en los Estados Unidos. Esto se ha atribuido al diagnóstico precoz. Los pacientes diagnosticados en estado precoz, tienen probablemente mejor pronóstico que los diagnosticados en estado avanzado.

De acuerdo con la evidencia disponible, el desarrollo del cáncer de próstata estaría relacionado con niveles altos de algunas hormonas, en particular, los andrógenos. Los niveles altos de andrógenos (hormonas masculinas), como la testosterona, pueden contribuir a incrementar el riesgo de cáncer de próstata.

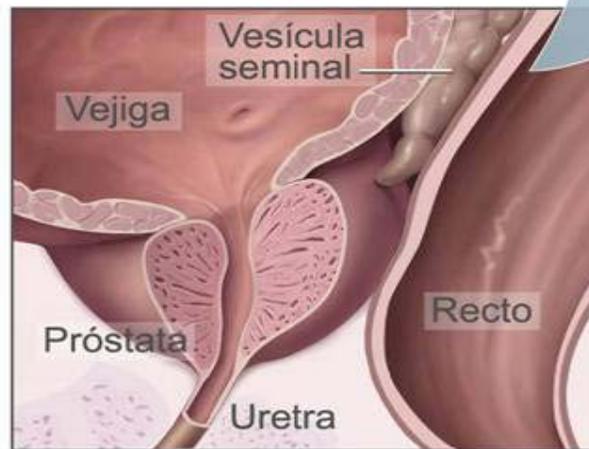
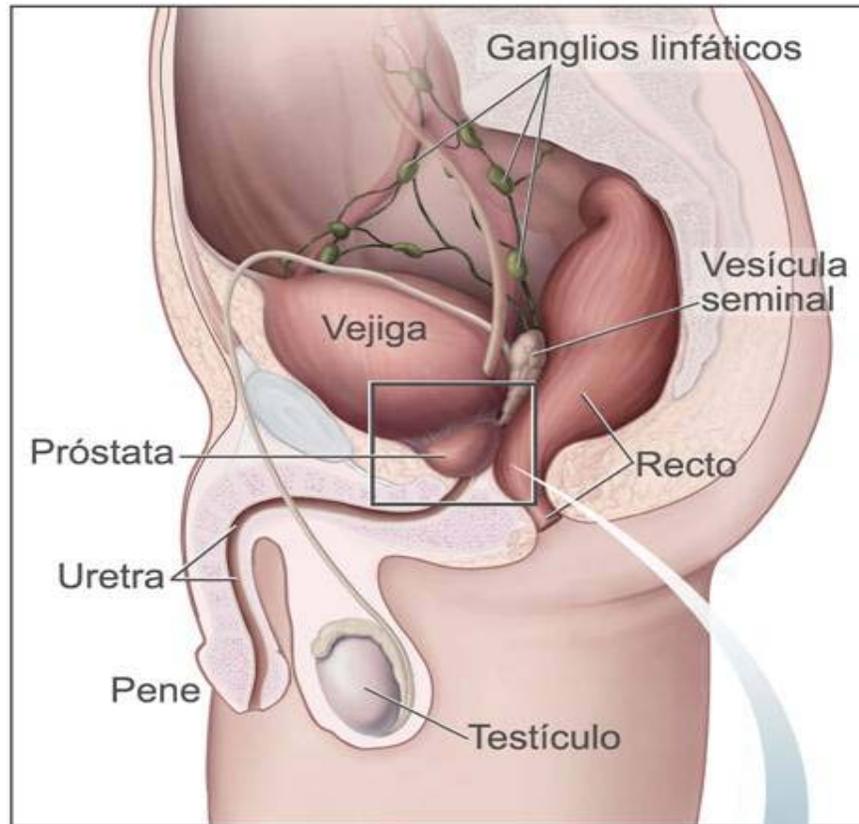


Figura. 10 Anatomía del sistema reproductor masculino.

3.6.2.1 Factores de riesgo

Se han establecido algunos factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad.

- Edad: La probabilidad de tener cáncer de próstata aumenta rápidamente después de los 50 años. Más del 70% de los casos son diagnosticados en hombres que tienen más de 65 años.

- Raza: El cáncer de próstata ocurre alrededor del 70% más a menudo en hombres afroamericanos que en hombres blancos americanos. Los hombres de ascendencia asiática o los habitantes de las islas del Pacífico, tienen las tasas más bajas de incidencia y mortalidad.
- Nacionalidad, medio ambiente y estilo de vida: En Suecia se da el riesgo más elevado de cáncer de próstata; éste presenta valores intermedios en Norteamérica y Europa, y bajos en Taiwán y Japón. Sin embargo los japoneses que emigran a EE.UU. presentan cáncer de próstata con una frecuencia parecida a la de otros varones de este país.
- Dieta: La nutrición parece tener un papel importante en el desarrollo del cáncer de próstata. La distribución geográfica de este cáncer muestra valores muy elevados en los países industrializados o *desarrollados*. Se están realizando estudios para comprobar si determinadas sustancias reducen el riesgo de cáncer de próstata. Por el momento, se recomienda comer menos carne, grasas y productos lácteos, y comer más de cinco veces al día frutas y verduras.
- Inactividad física y obesidad: El ejercicio físico regular y el mantener un peso saludable pueden ayudar a reducir el riesgo. La obesidad definida como un índice de masa corporal superior a 29 kg/m² se asocia con el doble de riesgo de padecer cáncer de próstata que en los hombres que tienen peso normal; además, en estos casos, el tumor se diagnostica en estadio más avanzado y es más agresivo.
- Historia familiar: El cáncer de próstata parece que ocurre más frecuentemente en algunas familias, sugiriendo que existe un factor hereditario. Tener un padre o un hermano con cáncer de próstata dobla el riesgo de padecer esta enfermedad.
- Trabajo: Los trabajadores de las industrias del caucho y del cadmio en soldaduras y baterías, parecen tener más probabilidades de desarrollar cáncer de próstata. El cadmio es un metal pesado que interrumpe el proceso natural de reparación del ADN celular y puede permitir la multiplicación sin control de las células malignas de los tumores.
- Agentes infecciosos y actividad sexual: Se ha considerado que los agentes infecciosos transmitidos por vía sexual podrían provocar cáncer prostático. Sin embargo, los estudios epidemiológicos, virológicos e inmunológicos han aportado resultados contradictorios. Éstos no han aportado pruebas concretas para una causa infecciosa de cáncer prostático, como las gonococias, el virus del papiloma humano (VPH) y otro tipo de uretritis, prostatitis y enfermedades de transmisión sexual. Recientemente se ha descrito que la masturbación diaria entre los 20 y 50 años reduce el riesgo de cáncer de próstata; se cree que es debido a la eliminación de sustancias cancerígenas en el semen ⁽⁷⁷⁾.
- Tabaco: El tabaco, según estudios recientes ⁽¹⁾, es también un factor de riesgo para el cáncer de próstata. Fumar cigarrillos aumenta la producción de hormonas masculinas. Éstas estimulan el crecimiento celular y, por lo tanto, el crecimiento

de los tumores prostáticos. Por otro lado, el cadmio contenido en los cigarrillos también es otro factor de riesgo.

3.6.2.2 Síntomas

El cáncer de próstata precoz, normalmente no produce síntomas y se detecta por una elevación del PSA o realizando un tacto rectal. La presencia de síntomas es indicativa de que se halla en una fase avanzada. Entre los síntomas se encuentran: disuria*, tenesmo vesical*, poliaquiuria* y nicturia*, retención de orina, goteo y hematuria terminal*. El inicio brusco y la progresión rápida de los síntomas obstructivos urinarios en hombres del grupo de edad adecuado, tiene muchas probabilidades de ser causado por un cáncer de próstata.

3.6.2.3 Tratamiento

- **Prostatectomía:** La prostatectomía radical es la cirugía que se realiza con la intención de curar el cáncer de próstata. Tradicionalmente la cirugía se ha realizado en varones menores de 70 años. Se realiza más a menudo cuando el cáncer no ha sobrepasado los límites de la glándula prostática (estadios T1 o T2). En esta operación el urólogo trata de curar extirpando la glándula prostática más los tejidos de alrededor ⁽⁷⁸⁾.
- **Radioterapia:** La radioterapia usa rayos X de alta energía (megavoltaje) o partículas para eliminar células cancerosas. La radiación trata el cáncer de bajo grado que está confinado en la próstata o que sólo ha invadido tejido vecino. Si la enfermedad está más avanzada, la radiación puede ser usada para disminuir el tamaño del tumor y proporcionar alivio de síntomas actuales o futuros. Tradicionalmente se ha reservado la radioterapia como tratamiento de primera línea en los varones entre 70 y 80 años de edad con cáncer de próstata y con otros problemas de salud que contraindican la cirugía.
- **Criocirugía:** La criocirugía, también llamada crioterapia o crioablación, se usa algunas veces para tratar el cáncer de próstata localizado, congelando las células con una sonda de metal. A través de una sonda vesical se hace circular agua salada tibia para protegerla de la congelación. La sonda de metal se introduce en la próstata a través de una incisión en la piel del periné guiada por ecografía transrectal. Se requiere anestesia epidural o general durante este procedimiento. En España son aún pocos los centros donde se practica la crioterapia. La apariencia de los tejidos prostáticos en las imágenes ecográficas cambia con la congelación. Para estar seguro de que se destruye el suficiente tejido prostático sin dañar demasiado a los tejidos vecinos, el urólogo observa cuidadosamente las imágenes de la ecografía durante este procedimiento. Esta técnica precisa también de la colocación de un catéter suprapúbico a través de una incisión en la piel del abdomen, hasta la vejiga para vaciarla de orina, mientras la próstata está inflamada por la congelación. El catéter se retira al cabo de una o dos semanas. Después de este procedimiento, puede haber algunas molestias en el área donde fueron insertadas las sondas. El paciente debe estar ingresado en el hospital uno o dos días. La criocirugía es menos invasiva, presenta una menor pérdida de sangre, una corta hospitalización, un corto periodo de recuperación y menos

dolor que la prostatectomía radical. Pero comparado con la cirugía o la radioterapia, se conoce mucho menos a largo plazo la efectividad de esta técnica. Las técnicas actuales que usan la guía de la ecografía transrectal y que monitorean con precisión la temperatura, están disponibles solo hace pocos años. Se necesita un largo seguimiento (de 10 a 15 años), para recoger y analizar los datos. Por eso muchos médicos aún consideran la criocirugía como un tratamiento experimental.

- Ultrasonido focalizado de alta densidad: El ABLATHERM es un dispositivo médico pilotado mediante un ordenador, diseñado para tratar el cáncer de próstata localizado, usando ultrasonidos focalizados de alta intensidad (HIFU). Se libera la energía a través de una sonda endorrectal. Las ondas de ultrasonidos viajan a través de las paredes del recto sin dañarlo y son enfocadas sobre la próstata. Este enfoque produce un calentamiento intenso y provoca la destrucción del tejido que está dentro del área tratada sin dañar los tejidos circundantes. El tratamiento (1 a 3 horas) puede llevarse a cabo bajo anestesia epidural. Este tratamiento es aún experimental y se necesitan más estudios para incluirlo dentro de las opciones de tratamiento.
- Bloqueo hormonal androgénico: El objetivo del tratamiento hormonal es disminuir los niveles de hormonas masculinas, los andrógenos. El principal andrógeno se llama testosterona. Los andrógenos, producidos sobre todo en los testículos, promueven el crecimiento de las células cancerosas de la próstata. Cuando los niveles de andrógenos son bajos, los cánceres de próstata se reducen y crecen más lentamente. Pero el tratamiento hormonal no cura el cáncer y no es sustituto de un tratamiento curativo. Para detener el crecimiento del cáncer, se pueden administrar hormonas femeninas (estrógenos), agonistas o antagonistas de GnRH que reducen la cantidad de hormonas masculinas. El motivo es el mismo que en algunas ocasiones lleva a una extirpación de los testículos (orquiectomía) con el fin de impedir que estos produzcan testosterona. Este tratamiento es en caso de cáncer muy avanzado. El tratamiento hormonal puede ser usado en varias situaciones:
 - Como primera línea (tratamiento inicial o primario o principal) si el paciente no está preparado para una cirugía o radioterapia o no puede ser curado con estos tratamientos porque el cáncer ha sobrepasado los límites de la próstata.
 - Después de un tratamiento inicial, como cirugía o radioterapia, si el cáncer persiste o hay recaída.
 - Junto con radioterapia como tratamiento inicial (terapia adyuvante) en ciertos grupos de hombres que tienen alto riesgo de recurrencia.
 - Algunos médicos están ensayando el tratamiento hormonal antes de la cirugía o radioterapia (tratamiento neoadyuvante), con el objetivo de reducir el cáncer y poder hacer el tratamiento primario más efectivo. La efectividad de este procedimiento todavía no está demostrada, pero parece que es superior con radioterapia.
 - Algunos médicos piensan que el tratamiento con bloqueo hormonal es más efectivo si se empieza tan pronto como sea posible, una vez que el cáncer se ha diagnosticado en un estadio avanzado, pero no todos los médicos están de acuerdo.

- Tradicionalmente se ha reservado al bloqueo androgénico completo para varones mayores de 80 años con cáncer de próstata sintomático o avanzado.
- Quimioterapia: Algunas veces se recurre a la quimioterapia si el cáncer de próstata está extendido fuera de la glándula prostática y el tratamiento hormonal no hace efecto (hormonorresistencia). En la “quimioterapia sistémica” se administran drogas por vía intravenosa o por vía oral. Estas drogas entran en el torrente sanguíneo y alcanzan todas las partes del cuerpo, haciendo que este tratamiento sea potencialmente eficaz en los cánceres que han metastatizado (que se han extendido hacia órganos distantes de la próstata). El objetivo de este tratamiento no es eliminar todas las células cancerosas, pero puede disminuir el crecimiento del cáncer y reducir el dolor. Se obtiene respuesta parcial objetiva entre el 10 y el 40% de los casos. La quimioterapia no está indicada como tratamiento en caso de cáncer de próstata precoz.

3.6.3 *Hipertrofia prostática benigna*

La próstata es una glándula que forma parte del sistema reproductor masculino, con forma de avellana. Está formada por dos componentes: uno glandular (túbulo alveolar) y un estroma de tejido conectivo repartido en tres zonas. Una central que ocupa un 25%, una de transición que ocupa un 5% y una periférica que ocupa un 70%. La hipertrofia prostática benigna (HPB) ocurre en la zona de transición. Se ubica por delante del recto y justo por debajo de la vejiga, rodeando a la uretra proximal.

Entre los 10 y los 20 años se produce el mayor crecimiento, llegando a su peso normal de 20gr. Luego permanece igual durante 25 años más para luego comenzar de nuevo a aumentar de tamaño.

- 25% de los pacientes de 80 años reciben tratamiento para HPB.
- A los 60 años el 50% tiene cambios histológicos compatibles.
- A los 80 años el 95% tiene cambios compatibles.
- 10% de los pacientes debutan con retención urinaria aguda.

No se conoce con certeza el origen de la HPB. Se sabe desde hace años que la edad y los andrógenos tienen un rol fundamental en su desarrollo. De allí que los pacientes orquiectomizados en la pubertad no desarrollan HPB.

LH y FSH estimulan la liberación de testosterona en el testículo, que a nivel periférico se transforma en dihidrotestosterona por la 5α -reductasa. Esta última se une al receptor en la próstata y estimula así su crecimiento ⁽⁷⁹⁾.

3.6.3.1 Síntomas

Los síntomas de la HPB, pueden dividirse en 2 categorías: irritativos y obstructivos. Dichos síntomas tienen que ver con dos componentes: el primero dinámico, dado por la estimulación de los receptores alfa adrenérgicos* y el segundo un componente estático dado por la proliferación de glándulas y estromas y los cambios a nivel del músculo detrusor*.

De los irritativos, los más comunes son la poliaquiuria, la disuria, la nocturia y la sensación de vaciado incompleto. Los obstructivos ocurren en etapas cuando, debido al crecimiento se produce cierto grado de obstrucción, ejemplo: chorro delgado, dificultad para comenzar la micción, micción entrecortada y retención total de orina.

Es importante destacar que el tamaño de la próstata, no se correlaciona con el grado de intensidad en los síntomas, así pacientes con próstata pequeña pueden estar muy sintomáticos y viceversa.

Es frecuente que los pacientes empiecen con una obstrucción aguda, en general son aquellos que tienen HPB poco sintomática y que toman café, alcohol o drogas con acción alfa agonista como son los descongestivos nasales.

3.6.3.2 Tratamiento

El tratamiento de la HPB puede dividirse en tres esferas⁽⁸⁰⁾:

- Tratamiento médico: Inhibidores de la 5α -reductasa o agonistas y antagonistas de la GnRH.

En bloqueo de los receptores de andrógenos mediante antagonistas y la inhibición de la formación de dihidrotestosterona (DHT) a partir de testosterona y la 5α -reductasa (5α -R) produce una reducción en la estimulación androgénica de la próstata. Esto puede ser logrado también mediante el uso de agonistas y antagonistas de la GnRH, ya que ambos tipos de compuestos tienen el mismo efecto final. Ambos disminuyen la liberación de LH de la pituitaria, previniendo la acción estimuladora de la LH sobre las células de Leydig* en los testículos. Esto puede disminuir la producción de andrógenos, principalmente testosterona, en estas células⁽⁸¹⁾. Tanto los agonistas como los antagonistas reducen los niveles de testosterona y DHT hasta niveles de castración. Este mecanismo difiere del observado con los inhibidores de la 5α -R que producen un aumento en los niveles de testosterona en la próstata después de ser administrados, mientras que esto no sucede con agonistas o antagonistas de la GnRH⁽⁸²⁾.

- Tratamiento quirúrgico: prostatectomía radical*, RTU (resección transuretral).
- Tratamiento mínimamente invasivo: TUMT, TUNA, ILC.
 - Microondas transuretrales. (TUMT).

Aprobado en mayo de 1996. Su nombre es PROSTATRON.

Se realiza termoterapia a 43.8° C

Dura aprox. 1 hora. Es ambulatorio sin anestesia general.

- Extirpación transuretral. (TUNA).
Aprobado en octubre de 1996.
Se basa en producir necrosis a través de energía por radiofrecuencia.
- Tratamiento con láser. (ILC).
Aprobado en marzo de 1996.
A través de la uretra se mandan rayos durante 30 a 60 seg.
Requiere anestesia y hospitalización.
Produce mínimo sangrado.

3.6.4 *Fibroides uterinos*

Son tumores no cancerosos que se adhieren o se desarrollan dentro de la pared del útero, el órgano reproductor femenino.



Figura. 11 Fibroides uterinos

3.6.4.1 *Causas, incidencia y factores de riesgo*

Los miomas uterinos son el tumor pélvico más común. Se desconoce la causa de los miomas en el útero, aunque parece ser que los anticonceptivos orales y el embarazo disminuyen el riesgo de desarrollar nuevos miomas.

Los miomas uterinos pueden estar presentes en el 15-20% de las mujeres en sus años reproductivos, es decir, el tiempo después de comenzar la menstruación por primera vez y antes de la menopausia. Estos miomas pueden afectar del 30 al 40% de las mujeres después de los 30 años de edad y ocurren 2 a 3 veces con más frecuencia en mujeres de raza negra que en mujeres de raza blanca.

El crecimiento de los miomas uterinos parece depender de las hormonas estrógenicas. En tanto una mujer con dichos miomas esté menstruando, estos quizá seguirán creciendo, generalmente de manera lenta. Esta afección casi nunca afecta a mujeres menores de 20 años de edad o a mujeres posmenopáusicas.

Los miomas uterinos comienzan como pequeñas plántulas que se diseminan a lo largo de las paredes musculares del útero y pueden ser tan diminutas que puede ser necesario un microscopio para observarlas. Sin embargo, también pueden crecer con un gran tamaño, pueden llenar todo el útero y pesar varias libras. Aunque es posible que sólo se desarrolle un mioma uterino, generalmente hay más de uno.

Algunas veces, un mioma uterino cuelga de un tallo largo, que está adherido al exterior del útero y se denomina mioma pediculado. Dicho mioma puede resultar retorcido, causar un ensortijamiento en los vasos sanguíneos que irrigan el tumor y puede requerir cirugía.

3.6.4.2 Síntomas

- Sensación de presión o de llenura en la parte inferior del abdomen.
- Calambres pélvicos o dolor con los períodos.
- Llenura abdominal, gases.
- Aumento de la frecuencia urinaria.
- Sangrado menstrual abundante (menorragia), a veces con el paso de coágulos de sangre.
- Dolor repentino e intenso debido a un mioma pediculado*.

3.6.4.3 Tratamiento

El tratamiento depende de la gravedad de los síntomas, de la edad de la paciente, si está o no en embarazo, del deseo de embarazos futuros, de su salud general y de las características de los miomas. Algunas mujeres simplemente pueden necesitar el control del mioma uterino, lo cual requiere de exámenes pélvicos o ecografías de vez en cuando.

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), como el ibuprofeno o el naproxen, pueden ser recomendables para las mujeres que presentan cólicos o dolor con la menstruación. Se pueden utilizar pastillas anticonceptivas (anticonceptivos orales) para ayudar a controlar los períodos menstruales abundantes y detener el crecimiento del mioma uterino. Así mismo, los suplementos de hierro ayudan a prevenir la anemia en las mujeres con menstruación abundante.

En algunos casos, se prescribe la terapia hormonal con drogas tales como Leuprolide inyectable para reducir el tamaño de los miomas uterinos. Este medicamento reduce la producción de las hormonas estrógeno y progesterona. Las hormonas crean una situación en el cuerpo que es muy similar a la menopausia. Los efectos secundarios pueden ser severos y pueden abarcar sofocos, resequedad vaginal y pérdida de la densidad ósea.

El tratamiento hormonal puede durar varios meses y los miomas uterinos comenzarán a crecer tan pronto se suspenda el tratamiento. En algunos casos, la terapia hormonal se utiliza durante un período de tiempo corto antes de la cirugía o cuando la mujer esté esperando llegar a la menopausia pronto.

La extirpación histeroscópica de los miomas (procedimiento quirúrgico ambulatorio) puede ser necesaria para mujeres con miomas que crecen dentro de la cavidad uterina. En este procedimiento, se inserta una pequeña cámara e instrumentos a través del cuello uterino dentro del útero para retirar los miomas.

La embolización de la arteria uterina es un nuevo procedimiento que tiene como objetivo evitar una cirugía mayor. Este método detiene el suministro de sangre que hace crecer los miomas uterinos. Los efectos a largo plazo de este procedimiento aún se desconocen y la seguridad de un embarazo después de la intervención es cuestionable.

Una miomectomía, un procedimiento quirúrgico para extirpar únicamente los miomas uterinos, con frecuencia es el procedimiento elegido para las mujeres premenopáusicas que desean tener hijos, ya que con este usualmente se preserva la fertilidad. Otra de las ventajas de la miomectomía es que controla el dolor o el sangrado excesivo que experimentan algunas mujeres afectadas por dichos miomas uterinos⁽⁸³⁾.

El uso de agonistas de la GnRH como pretratamiento para los fibroides uterinos en pacientes en espera de cirugía como una estrategia sensible y apropiada parece altamente controversial. A pesar de que algunos compuestos tales como leuprorelina y triptorelina han sido específicamente usados en el tratamiento preoperativo de fibroides uterinos asociados con anemia, algunos autores mantienen que no hay prueba tangible de que estos compuestos presenten una ventaja clínica⁽⁸⁴⁾. Otros han demostrado una reducción importante en el volumen de los fibroides después del tratamiento con agonistas de la GnRH durante 3 – 6 meses y entonces, en ese aspecto, el tratamiento con análogos de la GnRH es una valiosa ayuda para aquellos pacientes con fibroides uterinos y anemia sideropénica* que están esperando cirugía⁽⁸⁵⁾. Por otro lado, un tratamiento de 3 – 6 meses es complicado para el paciente, con síntomas típicos de la disminución de estradiol tales como bochornos y resequedad vaginal; también puede ocurrir una pérdida en la densidad de los huesos⁽⁸⁶⁾.

Los antagonistas de la GnRH, actuando de una manera completamente diferente, reducen el tiempo de tratamiento. En 1993, el antagonista Nal-Glu a 50 µg / Kg peso corporal / día fue probado por primera vez⁽⁸⁷⁾. La disminución del tamaño de los fibroides se alcanzó dentro de las primeras 4 semanas. En 1996, una formulación de liberación controlada, cetorelix, con una dosis de 60 mg fue administrada 2 veces durante un periodo de 8 semanas. El mayor impacto terapéutico ocurrió en las primeras 2 semanas de disminución de estradiol⁽⁸⁸⁾. Los regímenes de la administración de los antagonistas de GnRH cambiaron durante el curso del tratamiento y mostró que el tratamiento preoperativo de los fibroides usando cetorelix es altamente efectivo en muchos pacientes⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾. La función ovárica puede ser restaurada en tiempos cortos comparada con el tratamiento con una agonista de la GnRH.

3.6.5 Endometriosis

Es una afección en la cual el tejido, que normalmente recubre el útero (el endometrio), crece en otras áreas del cuerpo, causando dolor, sangrado irregular y posiblemente infertilidad.

Por lo general, el crecimiento del tejido (implante) ocurre en el área pélvica, fuera del útero, en los ovarios, el intestino, el recto, la vejiga y el delicado revestimiento de la pelvis.

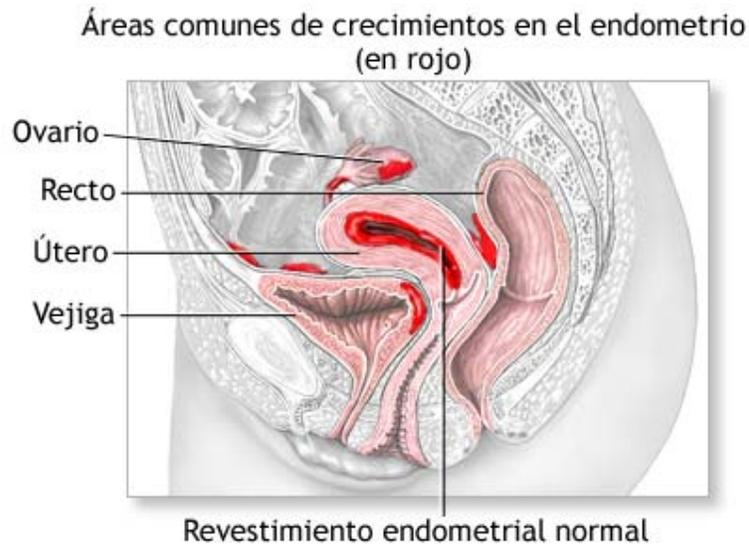


Figura. 12 Anatomía de la endometriosis

3.6.5.1 Causas, incidencia y factores de riesgo

La causa de la endometriosis es desconocida, aunque existen muchas teorías. Una teoría sugiere que las células del endometrio (que se desprenden durante la menstruación) pueden devolverse por las trompas de Falopio hacia la pelvis donde se implantan y crecen en las cavidades pélvica o abdominal. Esto se denomina menstruación retrógrada.

Otras teorías comprenden:

- Un sistema inmunitario defectuoso hace que el tejido menstrual se implante y crezca en áreas diferentes al revestimiento uterino.
- Las células que recubren la cavidad abdominal pueden desarrollar endometriosis espontáneamente.
- Ciertas familias pueden tener factores genéticos que hacen que una mujer sea más propensa a la endometriosis.
- Cada mes, los ovarios producen hormonas que estimulan las células del revestimiento uterino (endometrio) para multiplicarse y prepararse para un óvulo fertilizado. El revestimiento se inflama y se vuelve más grueso.

- Si las células endometriales se implantan por fuera del útero o en otra parte, esto puede causar problemas. Estas células también responden a la estimulación hormonal mensual.

A diferencia de las células que se encuentran normalmente en el útero y que se desprenden durante la menstruación, las que se encuentran por fuera del útero permanecen en su lugar y algunas veces sangran un poco, pero sanan y son estimuladas de nuevo durante el siguiente ciclo.

Este proceso continuo produce cicatrizaciones y adherencias en las trompas y ovarios, así como en el extremo de las trompas de falopio. Las adherencias pueden dificultar o imposibilitar la transferencia del óvulo desde el ovario hasta la trompa de Falopio y también pueden impedir el paso de un óvulo fertilizado desde la trompa de Falopio hasta el útero.

La endometriosis es un problema común en las mujeres y se presenta en un estimado del 10% de ellas durante sus años reproductivos. La tasa puede llegar hasta un 25 a 35% en mujeres estériles. Aunque la endometriosis suele ser diagnosticada entre los 25 y 35 años, el problema probablemente comienza alrededor del momento del inicio de la menstruación regular.

Cuando la madre o hermana de una mujer han padecido de endometriosis, ésta corre un riesgo 6 veces mayor de desarrollar esta afección que la población general. Otros posibles factores comprenden el inicio temprano de la menstruación, los ciclos menstruales regulares y los períodos largos que duran 7 días o más ⁽⁹²⁾.

3.6.5.2 Síntomas

- Períodos menstruales cada vez más dolorosos.
- Dolor abdominal bajo o calambres pélvicos que pueden sentirse durante una o dos semanas antes de la menstruación.
- Dolor abdominal bajo que se siente durante la menstruación (el dolor y los calambres pueden ser permanentes y sordos o muy severos).
- Dolor en la parte inferior de la espalda o en la pelvis que puede presentarse en cualquier momento del ciclo menstrual.
- Dolor durante o después de la relación sexual.
- Dolor con las deposiciones.
- Manchado premenstrual.
- Infertilidad.

Con frecuencia puede no haber síntomas. De hecho, algunas mujeres con casos severos de endometriosis no sienten absolutamente ningún dolor, mientras que algunas otras con apenas unos pequeños implantes sufren dolor intenso.

3.6.5.3 Tratamiento

El tratamiento depende del grado de los síntomas que se experimenten, la gravedad de la enfermedad, el deseo de la mujer de tener hijos en el futuro y la edad de la mujer.

A algunas mujeres con enfermedad y síntomas deben estar sometidas a un monitoreo constante. Es importante que la mujer mantenga un programa regular de exámenes médicos (cada 6 a 12 meses) para notar cualquier cambio u observar si la enfermedad ha empeorado. Se pueden administrar analgésicos para aliviar el dolor.

La suspensión del ciclo menstrual crea un estado parecido al embarazo (seudoembarazo) y puede evitar el empeoramiento de la enfermedad. Dicho pseudoembarazo se puede inducir con anticonceptivos orales que contengan estrógenos y progesterona. Este tipo de terapia toma de seis a nueve meses y mejora la mayoría de los síntomas, pero no evita la formación de tejido cicatricial a causa de la enfermedad. Los efectos secundarios comprenden el manchado con sangre.

Los medicamentos de progesterona, en pastillas o inyecciones, en sí son otro tratamiento hormonal efectivo para la endometriosis. Sin embargo, los efectos secundarios pueden representar un problema para algunas mujeres y pueden ser, entre otros, depresión, aumento de peso y aparición de manchas de sangre.

La cirugía (ya sea laparoscopia* o laparotomía*) suele utilizarse exclusivamente en mujeres con endometriosis muy severas, incluyendo aquellas que presentan problemas de adherencias e infertilidad. El objetivo de la cirugía es extirpar o destruir todo el tejido y las adherencias relacionadas con la endometriosis y restaurar lo mejor posible el área pélvica. En raras ocasiones, se puede realizar una extirpación de nervios (neurectomía) durante la cirugía para aliviar el dolor asociado con la endometriosis.

Las mujeres con enfermedad o síntomas severos, que no tienen intenciones de quedar embarazadas en el futuro, pueden someterse a una cirugía para extirpar el útero (histerectomía), ambos ovarios, ambas trompas de Falopio y cualquier remanente de adherencias o implantes de endometriosis. Se puede requerir una terapia de reemplazo hormonal después de la extracción de los ovarios⁽⁹³⁾.

La endometriosis es tratable mediante la disminución de los estrógenos, una terapia que fue probada efectivamente mediante la administración nasal diaria de un agonista de la GnRH⁽⁹⁴⁾, la cual disminuyó el dolor de la pelvis, el tamaño de los implantes endometriales y restauró la fertilidad. Más aun, el uso de un agonista de la GnRH reduce la actividad de los factores paracrinos y endocrinos, tales como factores promotores de crecimiento, los cuales se supone que están involucrados en las vías patogénicas de la endometriosis⁽⁹⁵⁾.

Los implantes endometriales son dependientes de hormonas. La tolerancia a los análogos de la GnRH es grande y los efectos secundarios son pocos comparados con otros medicamentos usados para tratar la endometriosis, como danazol o gestrinona. Los análogos son administrados usualmente en inyecciones mensuales durante 4- 6 meses. Los síntomas no deseados del hipoestrogenismo tales como bochornos y el posible riesgo de una disminución en la densidad ósea pueden ser evitados con la administración simultánea de pequeñas dosis de estrógenos. Cuando los síntomas de la endometriosis son lo suficientemente severos como para requerir una prolongada

administración de análogos, el uso de estrógenos y progesterona es necesario para prevenir una disminución crónica de estrógenos en los huesos y en el sistema cardiovascular⁽⁹⁶⁾.

Otra forma de mantener la efectividad de estos agentes mientras se eliminan los efectos hipoestrogénicos colaterales ha sido propuesta⁽⁹⁷⁾, en la cual la nafarelina intranasal a dosis de 200 µg/día después de la desensibilización inicial de la pituitaria con nafarelina 400 µg fue efectiva para el tratamiento de endometriosis con muy pocos efectos adversos. Dado que el uso de antagonistas de la GnRH ofrece numerosas ventajas para el tratamiento de la endometriosis, muchos estudios están actualmente llevándose a cabo para encontrar la dosis ideal del antagonista que mantenga una baja secreción de estradiol y que permita una supresión terapéutica sin la existencia de los síntomas asociados a la disminución del estradiol.

4. Nuevos fármacos contra los cánceres dependientes de hormonas

Debido a su importancia biológica, la GnRH y sus análogos han sido empleados extensamente para el tratamiento de cánceres dependientes de hormonas (cáncer de próstata, hipertrofia prostática benigna, cáncer de mama, endometriosis, fibroides uterinos) y anticoncepción. El desarrollo de análogos sintéticos de la GnRH como agonistas y antagonistas del receptor comenzó antes del descubrimiento de la secuencia de aminoácidos del receptor de GnRH, y se han hecho muchas mejoras para aumentar la actividad, la estabilidad y biodisponibilidad de estos péptidos alterando su secuencia de aminoácidos. Hubo éxito en algunos casos ⁽⁹⁸⁾, y la investigación exhaustiva durante las pasadas tres décadas resultó en la aprobación por la FDA de 7 análogos de la GnRH para uso clínico. La sustitución de la glicina en la posición 6 por D-aminoácidos y la Gly-NH₂ en el extremo amino por NH₂-etilamida, resultó en nonapéptidos (leuprorelina, buserelina, goserelina, histrelina, deslorelina) y decapeptidos (triptorelina y nafarelina) de gran potencia ⁽⁹⁹⁾.

A pesar de la buena eficacia clínica, los agonistas del receptor de GnRH presentan una baja tolerancia por parte de los pacientes, además del efecto de la hipersecreción inicial de gonadotropinas después de ser administrados. Los efectos secundarios tales como bochornos, disfunción eréctil, depresión, piel seca y efectos negativos sobre la fuerza del sistema músculo-esquelético después de períodos prolongados de uso son preocupantes ⁽¹⁰⁰⁾.

El diseño de los antagonistas del receptor de GnRH ha sido más complicado que para los agonistas, y tomó 30 años para poder resolver las características de potencia insuficiente, baja solubilidad y reacciones anafilácticas ⁽¹⁰¹⁾. La primera generación de antagonistas empleó el reemplazo de His y Trp en las posiciones 2 y 3 respectivamente, pero los compuestos seguían siendo débilmente activos. La incorporación de D-aminoácidos en la posición 6 aumentó la potencia de la segunda generación de antagonistas (Detirelix), pero también aumentaron las reacciones anafilácticas, debido a un aumento en la liberación de histamina ⁽¹⁰¹⁾. Esto fue resuelto en la tercera generación de antagonistas: abarelix, antarelix, azalina B, cetorelix, ganirelix e iturelix, mediante el reemplazo de la Arg en la posición 6 por aminoácidos D-Uridalquil ⁽¹⁰²⁻¹⁰⁶⁾. La administración de los antagonistas del receptor de GnRH en humanos resulta en la supresión de los niveles séricos de LH (51-84%) y de FSH (17-42%) dentro de las primeras 8 – 24 horas después de la dosis inicial ⁽¹⁰⁷⁾. Por lo tanto, los antagonistas del receptor de la GnRH representan una alternativa a los agonistas para el tratamiento de desordenes en los cuales la hipersecreción inicial de gonadotropinas no es requerida. Los agonistas y antagonistas no presentan efectos significativos en la química sanguínea, pero si provocan reacciones en la piel tales como comezón, salpullido, hinchazón y dolor en el sitio de la inyección. Estas reacciones locales son menores en el caso de los antagonistas del receptor de GnRH ⁽¹⁰⁸⁾.

Algunas de las características de las inyecciones subcutáneas, tales como dosificación repetida y reacciones en la piel, pueden ser superadas por implantes en donde se encuentre almacenado el principio activo ⁽¹⁰⁹⁾. De cualquier modo, este tipo de medicación siempre está en desventaja al compararse con la vía oral. Otros tipos de medicación como las preparaciones intranasales y los sprays nasales han sido poco utilizados debido a que su absorción es impredecible y su dosificación es repetida.

Surge entonces la oportunidad de desarrollar antagonistas no peptídicos del receptor de GnRH como moléculas pequeñas que puedan ser ingeridas por vía oral y que aseguren una mejor aceptación del paciente. El amplio intervalo de aplicación de los antagonistas de la GnRH en el tratamiento contra el cáncer y enfermedades del hombre y la mujer ofrece un gran potencial terapéutico y de mercado para los antagonistas no peptídicos del receptor de GnRH biodisponibles oralmente.

4.1 Antagonistas no peptídicos del GnRH

Los antagonistas no peptídicos (moléculas pequeñas) del receptor de GnRH desarrollados dentro del periodo que abarca este trabajo (1994-2007) pueden ser divididos en las siguientes categorías:

- Pirimidonas y pirimidinodionas bicíclicas
- Uracilos
- Quinolonas, quinolinas y ftalazinas
- Furano-2-carboxamidas y benzimidazoles
- Indoles

4.1.1 Pirimidonas y pirimidinodionas bicíclicas

El primer antagonista no peptídico del receptor de GnRH oralmente activo con alta potencia fue el T-98475 (**1**) el cual tenía una estructura de tienopiridona⁽¹¹⁰⁾.

La búsqueda de nuevas estructuras basadas en T-98475 resultó en varios análogos cercanos que tenían un núcleo de pirimidona bicíclica (Figura 13). Neurocrine Biosciences publicó la síntesis y el estudio SAR para pirrolo[1,2-a]pirimidonas (**2** – **4**) como potentes antagonistas del receptor de GnRH⁽¹¹¹⁻¹¹³⁾. La alta afinidad de estos compuestos por el receptor de GnRH se debe a la presencia del fragmento 2-(2-metilaminoetil)piridina. Los compuestos **3** y **4** exhiben antagonismo funcional y esto se hizo evidente gracias a la inhibición del flujo de calcio estimulada por GnRH, mientras que el compuesto **4** mostró una estabilidad mayor bajo condiciones fisiológicas ácidas comparado con los compuestos **2** y **3**.

Los intentos de industrias Takeda por reemplazar el anillo pirrol de los pirrolo[1,2-a]pirimidonas llevó a la identificación de estructuras del tipo imidazolo [1,2-a]pirimidonas. El compuesto **5** fue un potente antagonista *in vitro*, y se concluyó que un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que posea un grupo fenilo unido al heterociclo de 5 miembros es una característica estructural importante para el antagonismo de moléculas pequeñas hacia el receptor de GnRH⁽¹¹⁴⁾. Neurocrine Biosciences ha descrito a las imidazolo[1,2-a]pirimidonas (**6**, **7**) como potentes antagonistas del receptor de GnRH para el tratamiento de enfermedades relacionadas con hormonas sexuales, enfermedades de los huesos y síntomas de hipogonadismo^(115-117, 201). La potencia de estos compuestos se atribuyó de nuevo a la presencia de la cadena aminoetilpiridina mientras que la amina básica y el anillo de piridina influyen de manera importante con el receptor.

Los antagonistas del receptor de GnRH que poseen una mejor biodisponibilidad oral que T-98475 (**1**) fueron preparados reemplazando los grupos éster y amida metabólicamente lábiles y la estructura tieno-piridin-4-ona con tieno[2,3-d]pirimidinas representada por el compuesto TAK-013 (sufugolix; 9, Figura 13) ⁽¹¹⁸⁻¹¹⁹⁾. La cadena de metoxiurea es la responsable de la mejora en la absorción oral de este compuesto. Los procesos de producción de tabletas y sistemas de liberación prolongada para TAK-013 y otros compuestos relacionados han producido 3 patentes ⁽²⁰²⁻²⁰⁴⁾.

El desarrollo de TAK-013 para endometriosis y fibroides uterinos fue descontinuado en la fase II* en Julio de 2005 ⁽¹²⁰⁾.

Takeda ha informado acerca de otros derivados de pirimidinodionas bicíclicas como antagonistas del receptor de GnRH con buena absorción oral, excelente estabilidad, buena farmacocinética y baja toxicidad, representados por el compuesto **10** ⁽²⁰⁵⁾. Guo *et al.* lograron aumentar la baja solubilidad en agua del compuesto TAK-013 reemplazando su cadena N-bencil-N-metilamino por una 2-piridiletilamina, como se muestra en el compuesto 11 ⁽¹²¹⁾. En 2004 Takeda informó de pirimidinodionas bicíclicas en las cuales el grupo N-fenilo de TAK-013 fue reemplazado por un grupo N-piridilo, aparte de otras modificaciones ⁽²⁰⁶⁾. El compuesto mencionado (**12**) mostró valores de IC₅₀* de 3 y 0.1 nM en monos y humanos respectivamente.

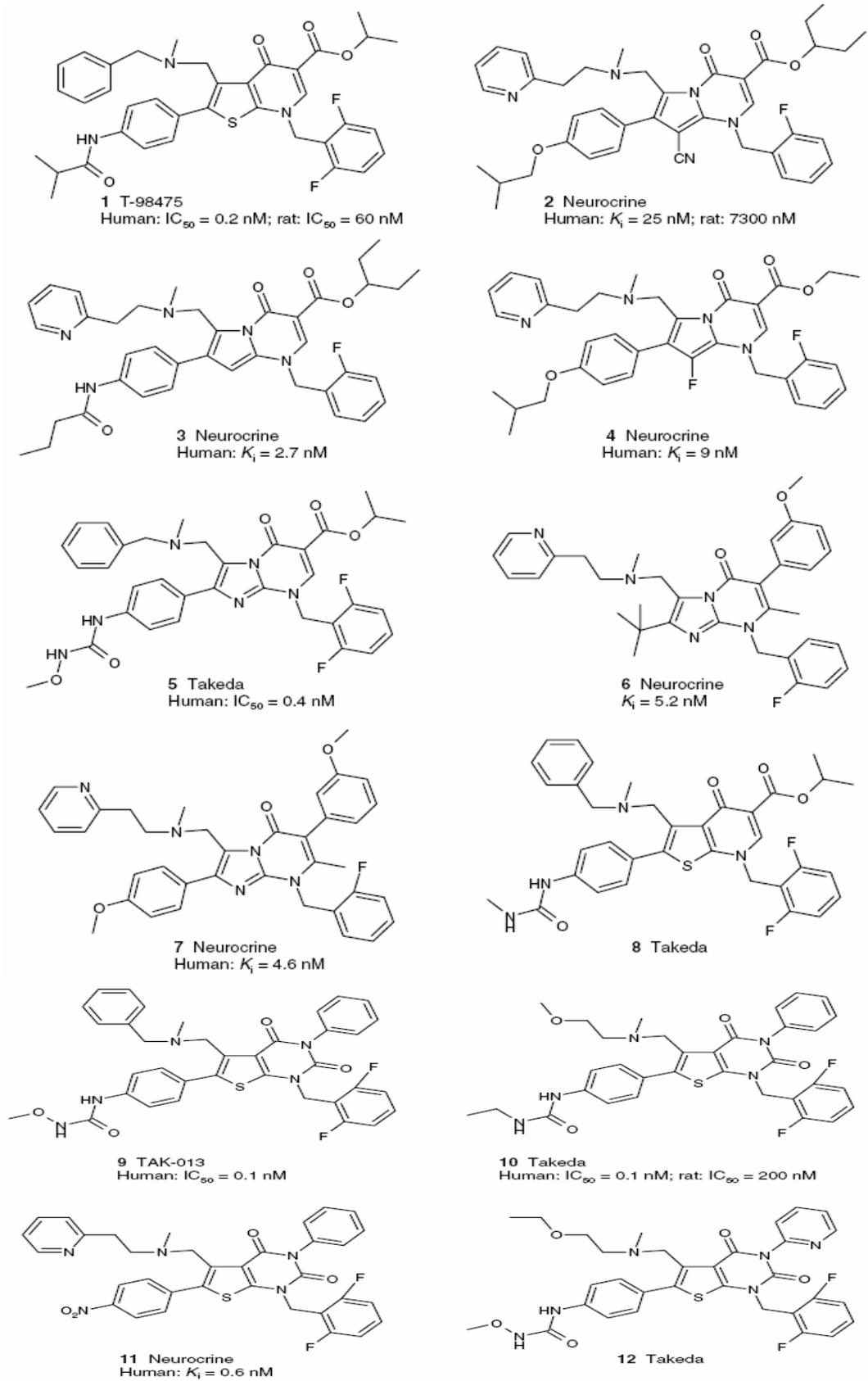


Figura 13: Antagonistas basados en piridonas y pirimidinodionas bicyclicas

4.1.2 *Uracilos*

La búsqueda de compuestos monocíclicos pequeños de bajo peso molecular llevó al descubrimiento de antagonistas del receptor de GnRH basados en la molécula de uracilo (Figuras 14 y 15), tales como el compuesto **13** ^(122, 207). Tres artículos relacionados muestran los esfuerzos de Neurocrine para mejorar la potencia de este compuesto ⁽¹²³⁻¹²⁵⁾. Se propuso la idea de que la cadena flexible en el nitrógeno de la posición 3 del uracilo orientaría mejor la amina básica hacia el residuo ácido del receptor, lo cual sería benéfico para aumentar la energía de enlace. El efecto de introducir un grupo alquilo pequeño en la cadena fue investigado y como resultado se obtuvieron los compuestos **14** y **15** con un grupo metilo en configuración (R). La superioridad del enantiómero (R), especialmente en el caso del compuesto **14** se cree que es debida a que el grupo (R)-metilo orienta la cadena con piridina hacia el residuo de ácido aspártico (302) en la hélice 7. Se piensa que esto es un punto crítico de reconocimiento para un enlace óptimo.

Una posterior optimización del compuesto **13** llevó al descubrimiento de los derivados de uracilo **16** ⁽¹²⁶⁾, **17** ⁽¹²⁷⁾, **18** ⁽¹²⁸⁾, y **19** ⁽¹²⁹⁾, los cuales proveen de un mejor entendimiento acerca de las características requeridas para tener una alta potencia y buenas propiedades farmacocinéticas.

Neurocrine esta desarrollando el compuesto **19** (NBI 42902), un 6-metiluracilo, para tratamiento de endometriosis, hipertrofia prostática benigna, fibroides uterinos y tumores en la próstata. Se encontró que NBI-42902 muestra atropisomerismo, lo cual resulta en problemas para su manufactura; por esto la molécula fue optimizada para obtener el compuesto **20**, el cual no presenta ese problema ⁽¹³⁰⁾.

En 2005 fueron publicadas una serie de patentes ⁽²⁰⁸⁻²¹⁰⁾ que informaban acerca de nuevos derivados de la molécula de uracilo como posibles antagonistas de la GnRH. Se informó que los compuestos **21** – **23** tienen alta biodisponibilidad y exhiben valores de K_i^* menores a 100 nM en ensayos de enlace con receptores de membrana.

Por ejemplo, los grupos 4-oxo y 6-metil del anillo de uracilo del compuesto **23**, son considerados como importantes para el enlace con el receptor ⁽¹³¹⁾. Para explorar más la importancia de estas características fueron sintetizados 1,3,5-triazina-2,4,6-trionas (isocianuratos) ^(132, 211) y 1,2,4-triazina-3,5-dionas (azauracilos), representados por los compuestos **24** y **25** respectivamente. Las conclusiones fueron que el grupo 4-oxo entre los grupos 5-aril y 4-(aminoetil) era crítico para posibles enlaces de hidrogeno y que el grupo 6-metil entre los grupos 5-aril y 1-bencil es importante para orientar los grupos arilo y bencilo en direcciones apropiadas para que interactúen correctamente con el receptor.

Posteriormente Neurocrine demostró que el compuesto **26**, en el cual el grupo tipo bencilo esta conformacionalmente restringido, tiene alta afinidad por el receptor de GnRH ⁽¹³³⁾.

Las piridin-2-onas **27**, piridin-4-onas **28**, piridazonas **29** y oxazolo-pirimidin-5,7-dionas **30** son el resultado de haber efectuado más investigación en uracilos monocíclicos ⁽²¹²⁻²¹⁴⁾. Los compuestos tienen valores de K_i menores a 100 μ M en un ensayo de enlace con el receptor de la GnRH. Recientemente, Wyeth informó nuevos derivados de uracilo como antagonistas del receptor de GnRH en forma oral para el tratamiento de padecimientos dependientes de hormonas ⁽¹³⁴⁾. El compuesto **31**, en dosis

de 30 mg/Kg, produce una caída en el nivel de LH mayor al 90% cuando se administra en ratas.

NBI-56418 es un antagonista no peptídico del receptor de la GnRH oralmente activo bajo desarrollo para evaluar su potencial tratamiento para la endometriosis, HPB, fibroides uterinos y tumores prostáticos ⁽¹³⁵⁾. Se ha informado que el compuesto es seguro, que suprime los niveles de LH, estradiol y testosterona. Aunque la estructura del NBI-56418 no ha sido informada, se sabe que es un derivado de uracilo.

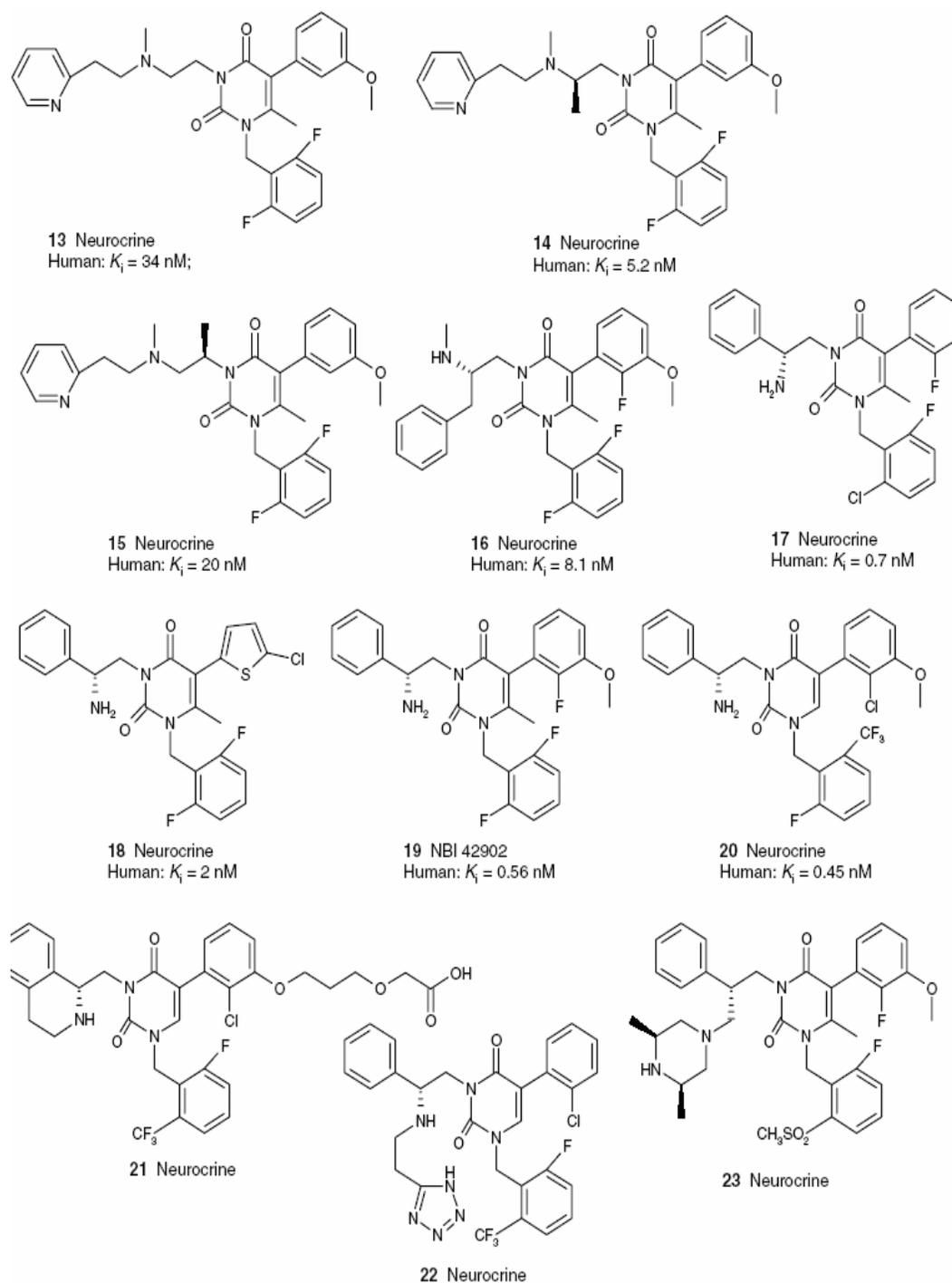


Figura 14: Antagonistas basados en la molécula de uracilo

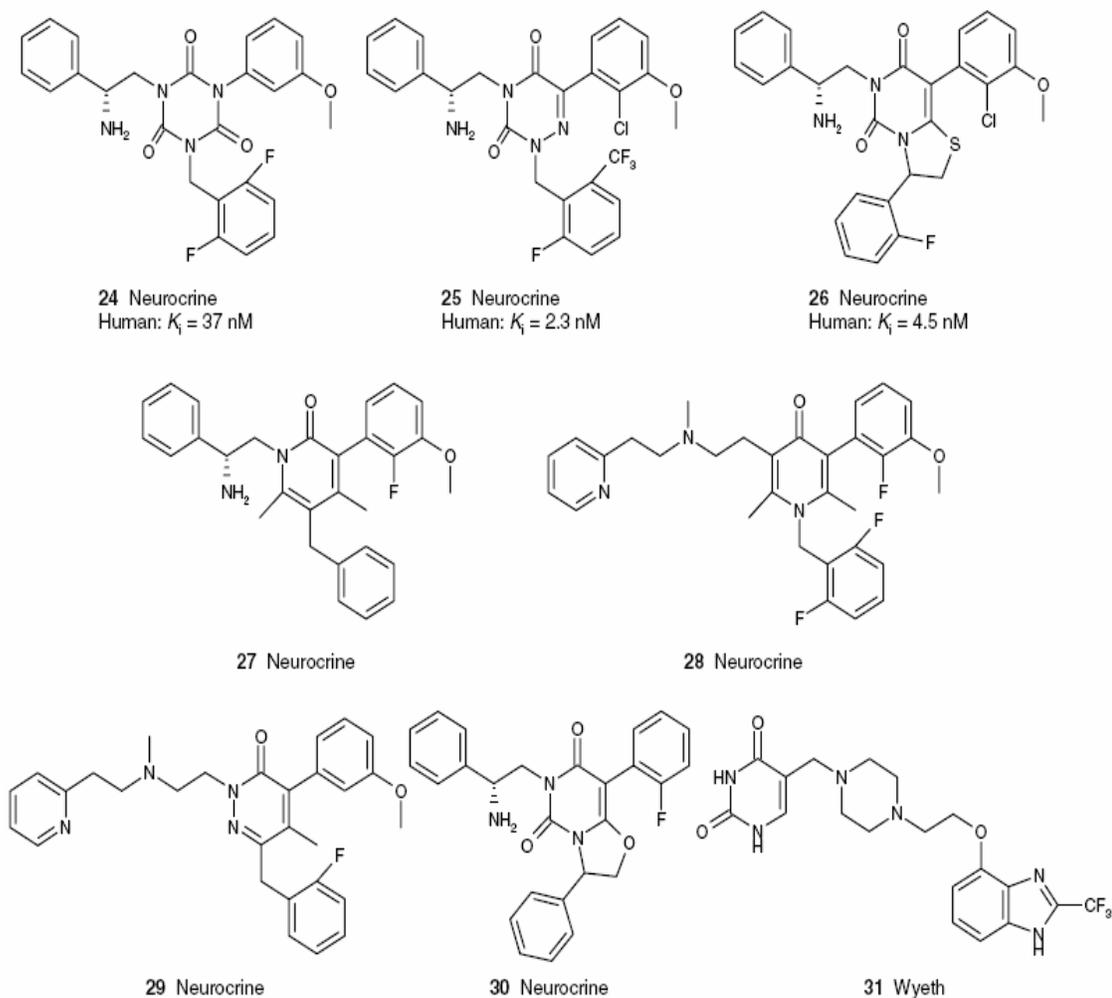


Figura 15: Antagonistas basados en la molécula de uracilo

4.1.3 Quinolonas, quinolinas y ftalazinas

Merck identificó la 4-alcoxi-7-cloroquinolina (**46**) como una base estructural durante su continua búsqueda por antagonistas no peptídicos del receptor de GnRH (Figura 16) ⁽¹³⁶⁾.

La optimización de la estructura de esta molécula inicial llevó a la identificación de varias características estructurales necesarias para una actividad antagonista potente hacia el receptor de GnRH tal y como se ilustra en el compuesto **47**, el cual muestra una alta afinidad de enlace por el receptor de GnRH ^(136, 137). El estudio de los efectos de la sustitución en la posición 6 del anillo de piperidina del compuesto **47** llevó al compuesto **48**, el cual contiene un grupo 6-trifluorometilo. Este compuesto muestra una mejor biodisponibilidad oral comparado con el compuesto **47** ⁽¹³⁷⁾. Los intentos por reemplazar la amina ciclica unida a la posición 4 de la quinolina con cadenas neutras resultó en los compuestos **49** y **50**, los cuales mantuvieron altas afinidades de enlace ^(138, 215). El compuesto **51** representa el intento de Merck por reemplazar el grupo fenilo sustituido en la posición 3 de la quinolona con sistemas heteroaromáticos ⁽²¹⁶⁾.

Schering y Orto-Mcneil han informado de quinolonas, ftalazinas y tieno[2,3-b]piridinas como antagonistas del receptor de GnRH correspondientes a los compuestos **52** – **55**, en la cual han sido explorados varios cambios en la estructura de las quinolonas (Figura 17) ^(217, 218).

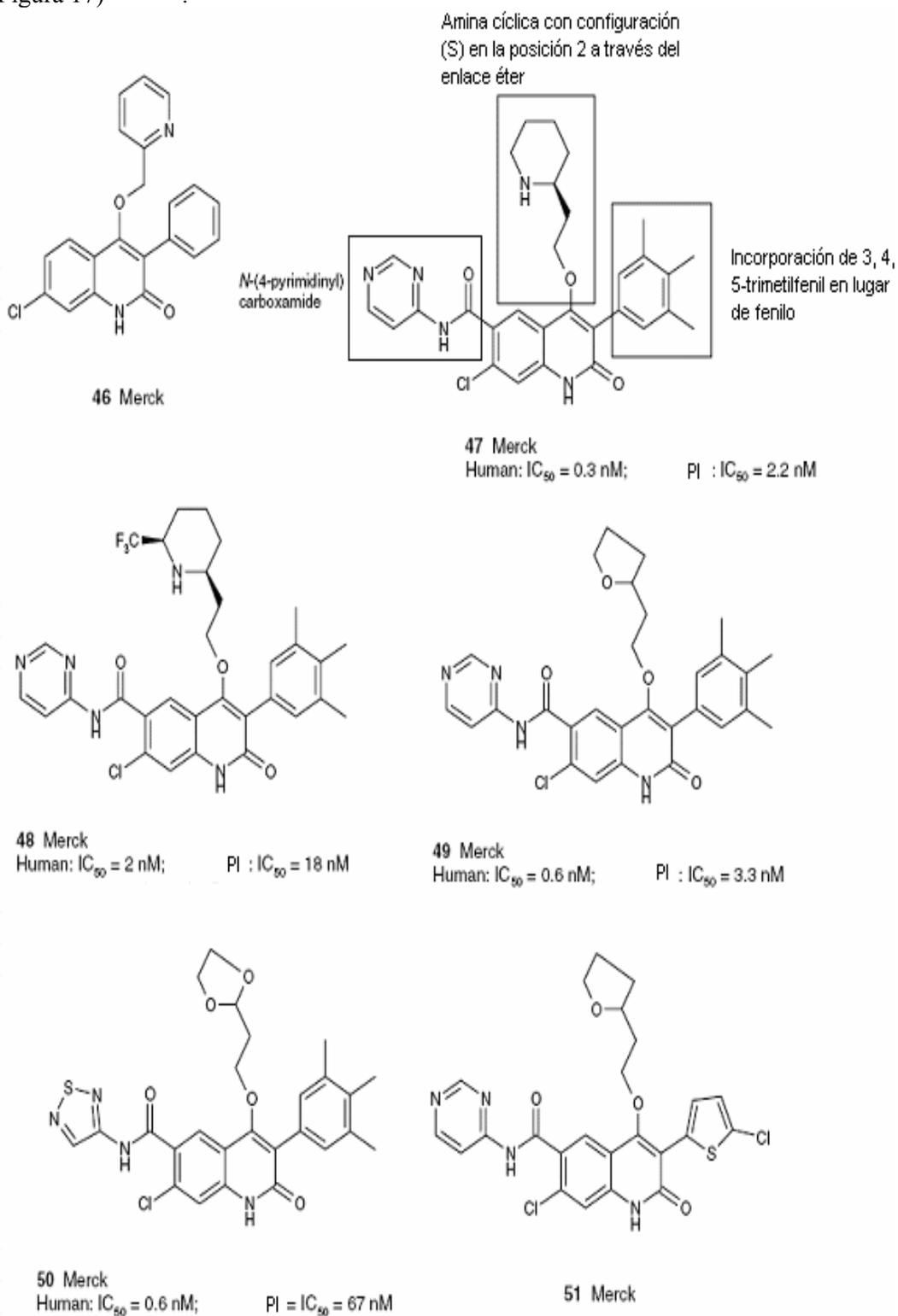


Figura 16: Antagonistas basados en quinolonas, quinolinas y ftalazinas

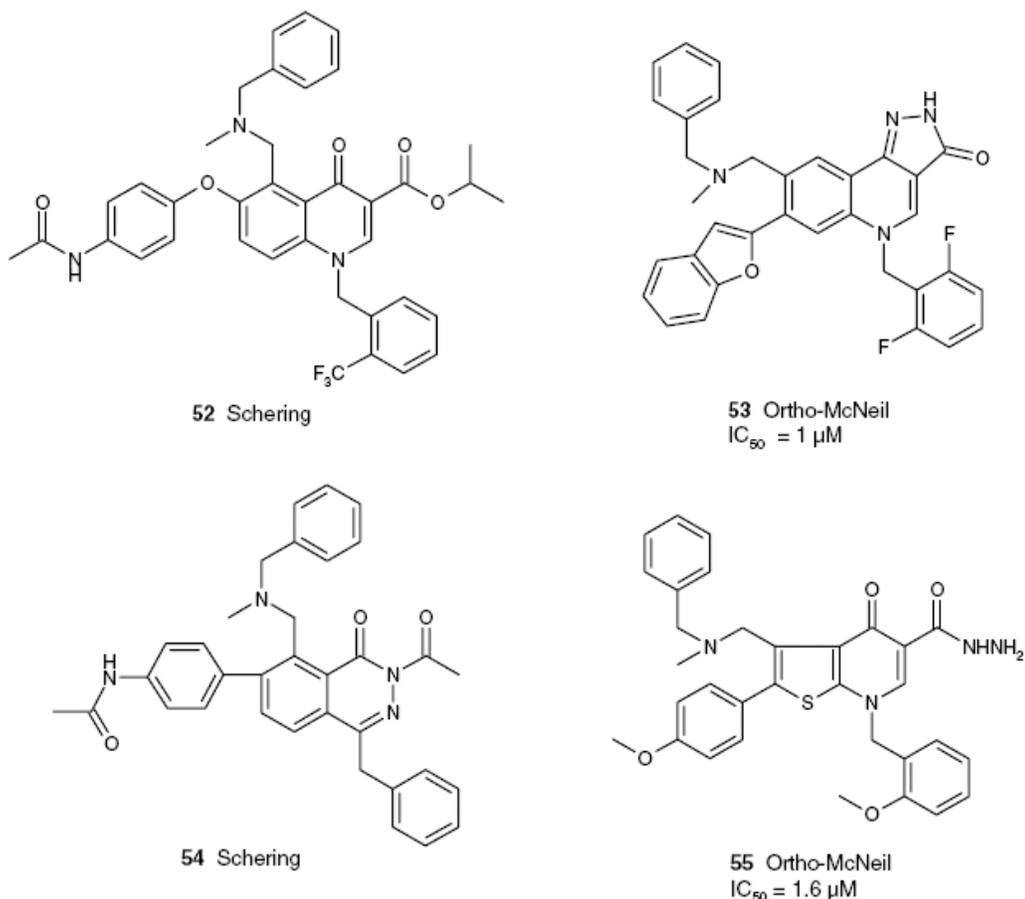


Figura 17: Antagonistas basados en quinolonas, quinolinas y ftalazinas

4.1.4 Furano-2-carboxamidas y bencimidazoles

Otra clase de antagonistas no peptídicos del receptor de GnRH, estudiados particularmente por Pfizer y Agouron (ahora parte de Pfizer) son las furano-2-carboxamidas (Figura 18). El compuesto optimizado **56** mantiene afinidades de enlace similares al compuesto de inicio (**57**), mientras que se elimina el grupo guanidina, la cual probablemente causaba una baja absorción ⁽¹³⁹⁾.

Las afinidades de enlace similares del compuesto **58** para los receptores de GnRH de ratas y humanos pueden ser atribuidas a la presencia del grupo bencilo. Una posterior optimización de la estructura de este anillo bencílico produjo mono-aminopirimidina **59** y di-aminopirimidina **60**, con el último compuesto se observó una potente actividad en sistemas *in vitro* e *in vivo* ⁽¹⁴⁰⁾. La actividad *in vitro* superior del compuesto **60** se cree que fue resultado de una interacción hidrofóbica entre el grupo tetrahydrofurilo y el receptor de GnRH de ratas. La limitada biodisponibilidad oral de esta clase de compuestos fue mejorada en el compuesto CMPD1 (**61**), descrito como un antagonista no peptídico del receptor de GnRH pequeño y oralmente activo ⁽¹⁴¹⁾, a través del reemplazo del grupo ciclohexilmetil con un grupo arilo sustituido.

Agouron Pharmaceuticals ha sintetizado una serie de compuestos con un oxígeno en lugar de un metileno en la posición 5 del anillo de furano, como en el

compuesto **62** ⁽²¹⁹⁾. Del mismo modo, Pfizer ha informado de compuestos con una pirimidina sustituida en lugar del grupo ciclohexilmetil, como en el compuesto **63** ⁽²²⁰⁾.

En 2004, Amedis informó del análogo con silicio (**64**) del CMPD1 ⁽²²¹⁾ y ha estudiado más recientemente dos series de furano-2-carboxamidas con puente de oxígeno entre el núcleo de furano y el sustituyente organo-silicio (**65** y **66**) como antagonistas del receptor de GnRH ^(222, 223).

Muchas clases de antagonistas del receptor de GnRH muestran diferentes afinidades de enlace entre los receptores de humano y de rata, descartando el uso de roedores para estudios preclínicos de estos compuestos. De cualquier modo, las furano-2-carboxamidas no muestran esta distinción y ofrecen la ventaja de permitir el uso de roedores más baratos para los estudios de actividad *in vivo* y análisis toxicológicos.

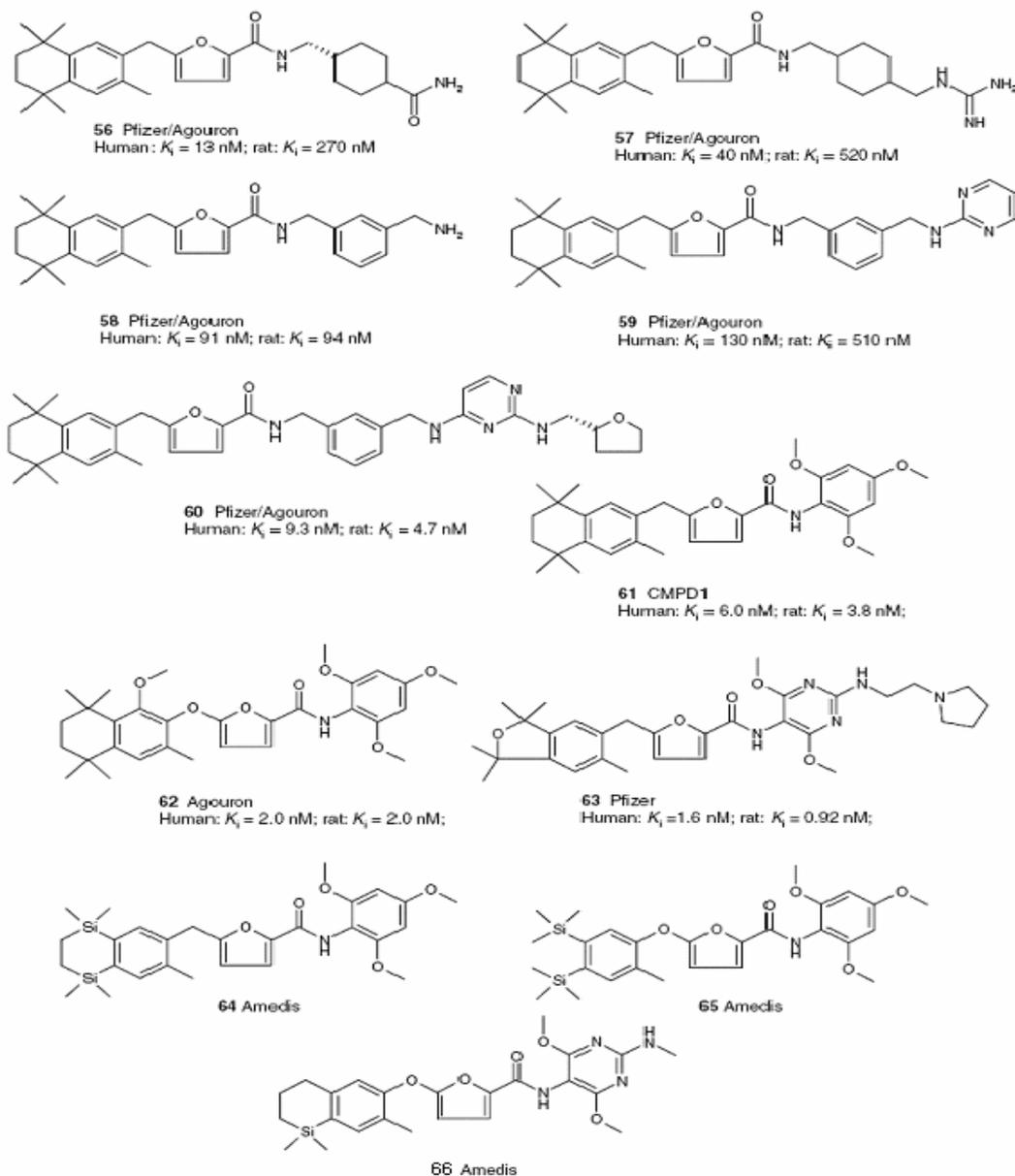


Figura 18: Antagonistas basados en furano-2-carboxamidas

Los bencimidazoles, desarrollados por Bayer Yakuhin, representan otra clase de compuestos que presentan afinidades de enlace similares para los receptores de humano y rata. (Figura 19). La molécula inicial (**67**)⁽¹⁴²⁾ fue optimizada para obtener el compuesto **68**⁽¹⁴³⁾.

Los compuestos **69** y **70** representan otras dos series de bencimidazoles desarrollados como antagonistas del receptor de GnRH por Bayer⁽¹⁴⁴⁾ y SCRAS⁽²²⁴⁾, respectivamente. El primer compuesto presenta actividad en receptores de humano y rata, mientras que el segundo compuesto sólo presenta una buena afinidad por ambos receptores. En 2005, Wyeth informó de un proceso para preparar bencimidazoles sustituidos con piperazina que al parecer presentan buena actividad antagonista⁽²²⁵⁾.

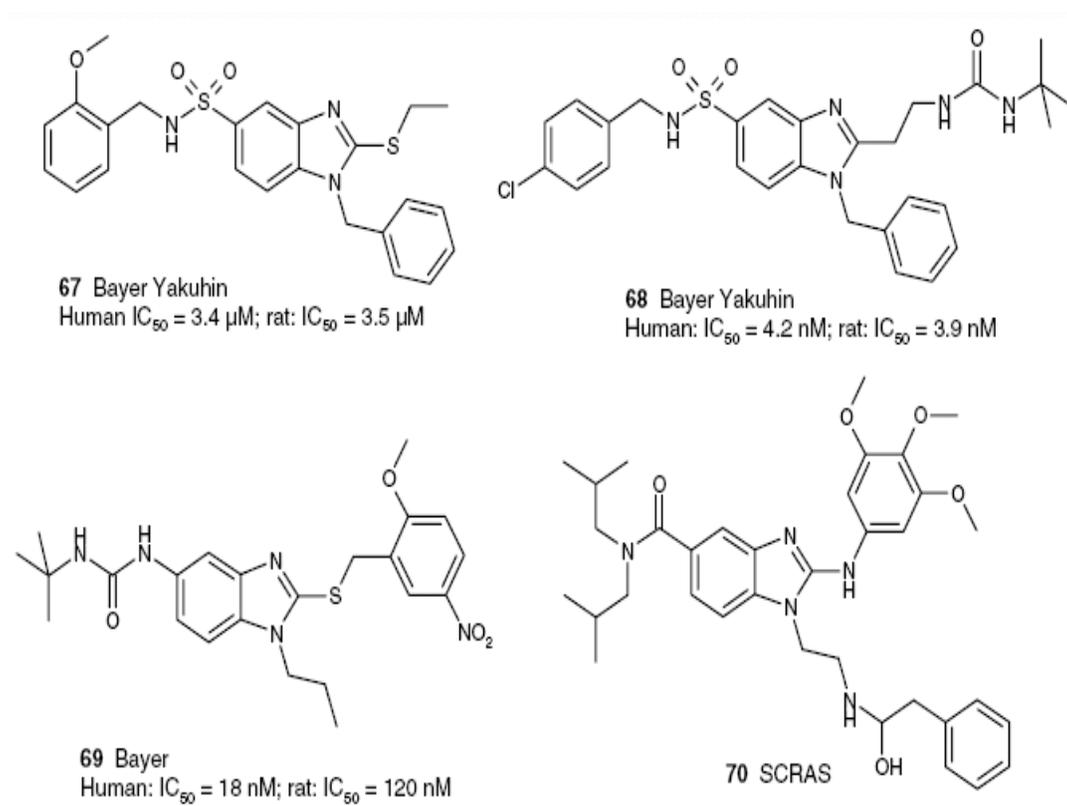


Figura 19: Antagonistas basados en bencimidazoles

5. *Indoles 2,3,5-sustituídos aplicados como antagonistas no peptídicos del receptor de la GnRH*

A mediados de los años noventas Merck & Co. reportó el uso de indoles 2, 3, 5-trisustituídos aplicados como antagonistas del receptor de la GnRH ⁽²²⁶⁻²³⁵⁾. El compuesto inicial (71) (Figura 20) fue identificado en los 80's ⁽¹⁴⁾ y a partir de él se comenzó todo un largo proceso de búsqueda de estructuras basadas en la molécula de indol con el fin de obtener fármacos con una mayor afinidad de enlace al receptor de GnRH y con una mayor biodisponibilidad oral.

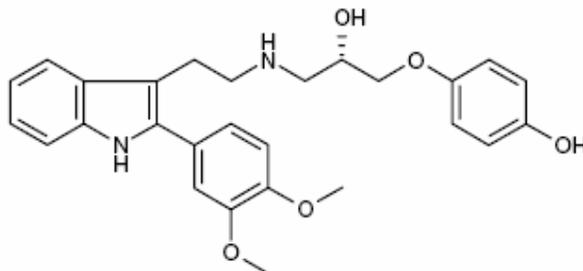


Figura 20: Primer antagonista de tipo indol (71)

5.1 *Síntesis de indoles 2,3,5-sustituídos*

La molécula de indol está presente en un gran número de productos naturales y la síntesis de esta importante estructura ha sido un tema de gran interés desde hace muchos años ⁽¹⁴⁵⁾. Entre los numerosos métodos que han sido desarrollados para la síntesis de indoles, muy pocos son aplicables para la construcción de indoles 2,3,5-sustituídos ⁽¹⁴⁶⁾. Específicamente, a pesar de que la síntesis de indoles de Fischer es la más usada, la necesidad de ácido y calor comúnmente produce problemas en la purificación ⁽¹⁴⁷⁾. Además, las síntesis de indoles de Gassman y Fürstner desarrolladas recientemente requieren la laboriosa síntesis de *R*-tiometilcetonas y *N*-diacilanilinas, respectivamente ⁽¹⁴⁸⁻¹⁴⁹⁾.

En esta sección se presenta una revisión de los métodos más usados para sintetizar indoles 2,3,5-trisustituídos que abarca desde el año 1994 hasta el año 2007. Por la orientación de este trabajo, son de especial interés las técnicas que permiten obtener indoles 2-fenilsustituídos.

5.1.1 Síntesis de indoles de Fischer

La síntesis de indoles de Fischer ha mantenido su rol prominente como una ruta para obtener indoles en el laboratorio y como un proceso de producción a gran escala para obtener intermediarios farmacéuticos basados en esta molécula.

Esta técnica produce el heterociclo aromático indol a partir de una fenilhidracina sustituida (que produce la sustitución en la posición 5) y un aldehído o una cetona (que producen las sustituciones en 2 y en 3) bajo condiciones ácidas. La reacción fué descubierta en 1883 por Hermann Emil Fischer^(150,151) y se muestra a continuación:

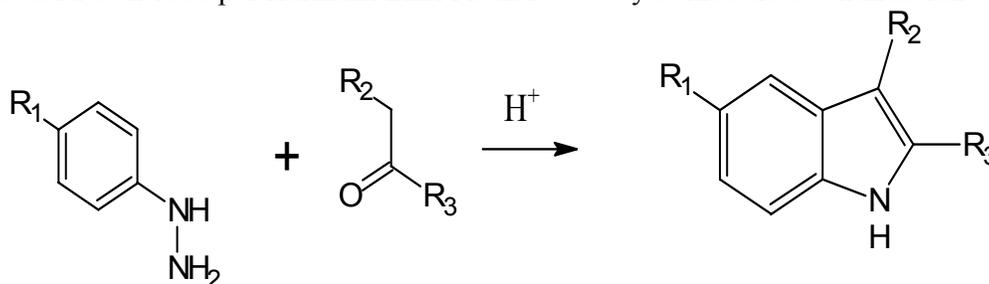


Figura 21: Síntesis de indoles de Fischer

5.1.1.1 Síntesis de indoles de Fischer a partir de α -acillactamas

Nenadjenko y colaboradores⁽¹⁵²⁾ han desarrollado una conveniente síntesis de 6-aminohexanonas para la reacción de Fischer a partir de sustancias fácilmente disponibles y baratas. Las sustancias de partida para las aminocetonas son α -acillactamas, ya que estas últimas pueden ser obtenidas fácilmente a partir de una condensación de Claisen entre una lactama N-prottegida y un éster⁽¹⁵³⁾. Se sabe que el grupo protector N-vinilo es estable y puede ser fácilmente removido con medio ácido.

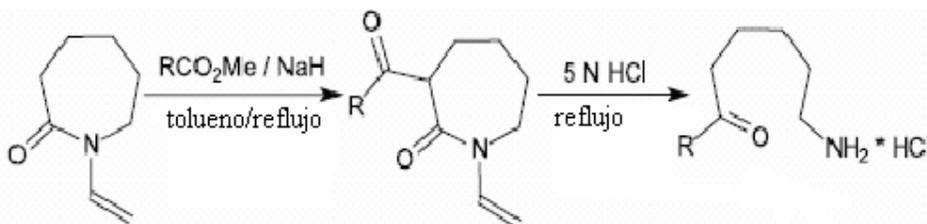


Figura 22: Síntesis de cetonas a partir de lactamas N-prottegidas

De esta forma, teniendo la hidracina p-sustituida, se puede sintetizar fácilmente la cetona que introduzca el sustituyente requerido en la posición 2 del indol, aunque en la posición 3 siempre se tendrá el sustituyente 4-aminobutil.

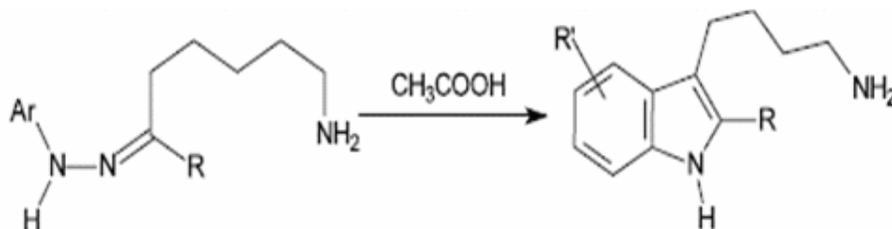


Figura 23: Síntesis de indoles a partir de aminocetonas

5.1.1.2 Síntesis de indoles de Fischer a partir de vinilpirrolidonas

Con base en la publicación anterior ⁽¹⁵²⁾ y en los estudios de RMN, se descubrió que en el caso de 3-acillactamas de 5 miembros, la hidrólisis ácida y la descarboxilación ⁽¹⁵⁴⁾ producen una mezcla de iminas cíclicas y aminocetonas ⁽¹⁵⁵⁾. Entonces, la mezcla de reacción fue basificada con KOH al 50% y solamente se obtuvieron iminas cíclicas. En el caso de contar con sustituyentes sensibles a las condiciones ácidas, se utilizaron reactivos de organolitio con N-vinilpirrolidona ⁽¹⁵⁶⁻¹⁶¹⁾, y después fue basificado para obtener la iminas cíclicas.

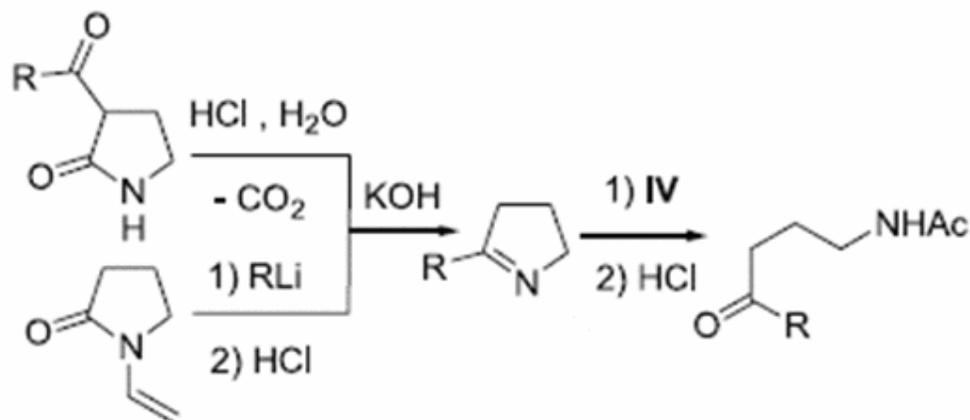


Figura 24: Síntesis de aminocetonas a partir de vinilpirrolidonas

Existen pocos ejemplos de la acilación de iminas cíclicas para producir amidocetonas ^(157, 162, 163), pero ninguno conlleva a resultados satisfactorios. Es por esto que Nenadjenko y colaboradores desarrollaron un nuevo método de acilación usando cloruro de N-acetilpiridinio (IV) ⁽¹⁵⁵⁾. Después de obtener la amidocetona ésta se introduce en la reacción de Fischer y se obtiene el indol 2,3,5-trisustituido, para lo cual el sustituyente en la hidrazina debe estar en posición para (Figura 25).

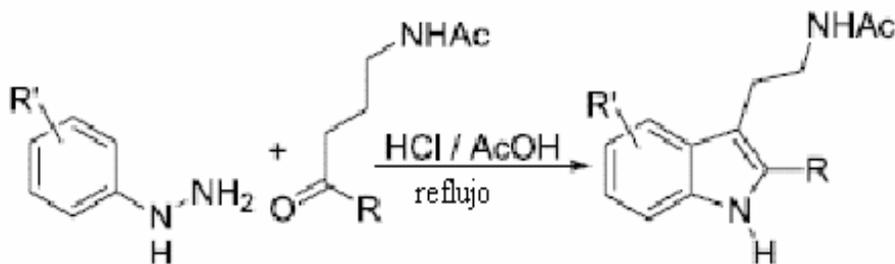


Figura 25: Síntesis de indoles utilizando aminocetonas provenientes de vinilpirrolidonas

5.1.2 Síntesis de indoles de Madelung

A pesar de que la síntesis de Madelung clásica raramente es usada en la actualidad, la excelente modificación de Houlihan ⁽¹⁶⁴⁾, la cual utiliza BuLi o LDA como bases bajo condiciones más suaves que las condiciones originales de Madelung, se ha comenzado a utilizar de manera importante.

Una variación de la síntesis de Madelung-Houlihan es la reacción aza-Wittig de iminofosforanos con acilcianuros, la cual resulta en una nueva síntesis de indoles ⁽¹⁶⁵⁾. Este método es excelente para la preparación de 2-aryl-3-(arilsulfonil) indoles y 2-anilino-3-(arilsulfonil) indoles.

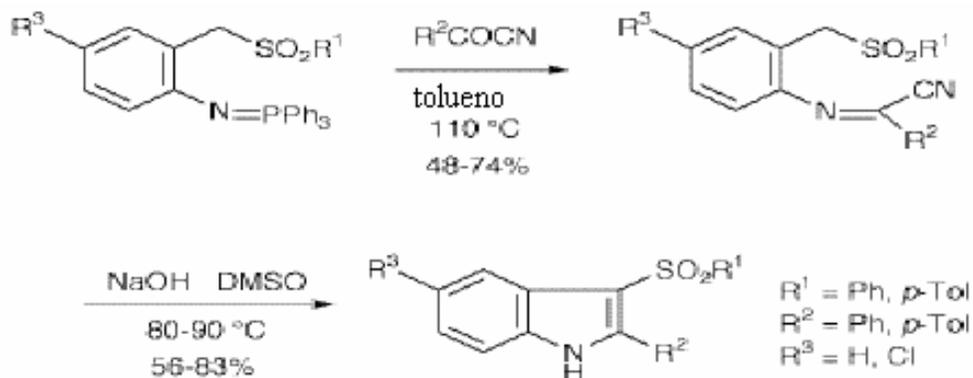


Figura 26: Síntesis de indoles de Madelung

5.1.3 Síntesis de indoles de Yamanaka-Sakamoto

A pesar de que la síntesis de indoles de Yamanaka-Sakamoto no necesariamente involucra paladio en el paso de formación del anillo de indol, esta incluida dentro de las síntesis de indoles catalizadas por metales debido a su parecido con las síntesis de Hegedus-Mori-Heck y de Larock.

La reacción de Yamanaka-Sakamoto ⁽¹⁶⁶⁾ utiliza un acoplamiento catalizado por paladio entre un alquino terminal y una o-haloanilina para producir una o-alquinilanilina, la cual posteriormente se cicla en presencia de una base, obteniéndose un indol. La reacción prototipo se muestra a continuación. ⁽¹⁶⁷⁾

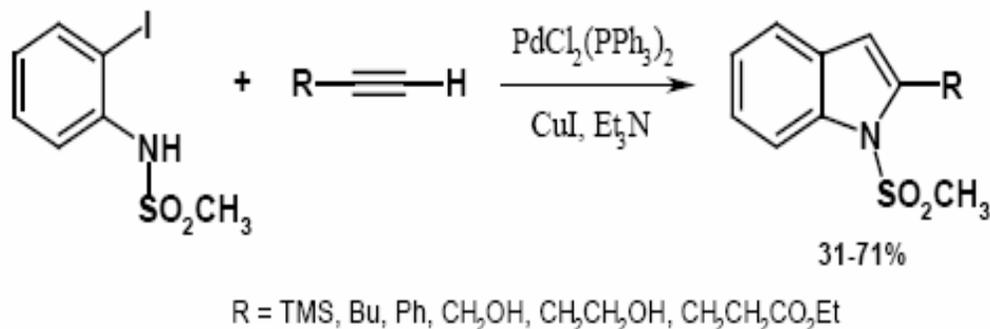


Figura 27: Síntesis de indoles de Yamanaka-Sakamoto

5.1.4 Síntesis de indoles de Larock

La síntesis de indoles de Larock ^(168,169) es una reacción intermolecular catalizada por paladio entre o-haloanilinas y alquinos (usualmente internos) para obtener indoles en un solo paso. La reacción prototipo se muestra a continuación. ⁽¹⁶⁹⁾:

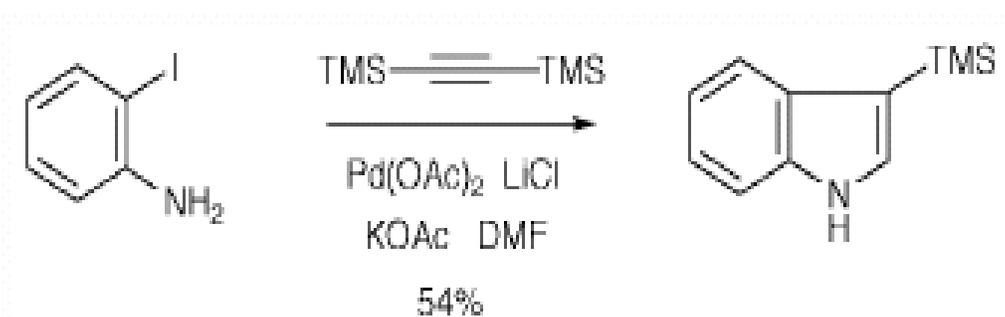


Figura 28: Síntesis de indoles de Larock

Los sustituyentes en el alquino pueden variarse para obtener indoles 2,3-disustituídos.

5.1.5 Síntesis de indoles de Fürstner

La síntesis de indoles de Fürstner es una ciclización reductiva de oxoamidas catalizada por titanio para producir el anillo de indol ⁽¹⁷⁰⁾. Fürstner *et al.* han demostrado el enorme potencial y versatilidad de esta reacción de acoplamiento a través de a síntesis total de alcaloides derivados del indol tales como: (+)-aristotelina ⁽¹⁷¹⁾, camalexina ⁽¹⁷²⁾, flavopereirina y otros alcaloides indolo[2,3-a]quinolizinas ^(172,149) y secofascaplisina ⁽¹⁴⁸⁾. Esta reacción es general para indoles simples ⁽¹⁴⁹⁾ incluyendo los altamente impedidos estéricamente (2,3-di-terbutil-1-metilindol ⁽¹⁷¹⁾). Es particularmente útil para la preparación de 2-arylindoles ⁽¹⁷³⁾.

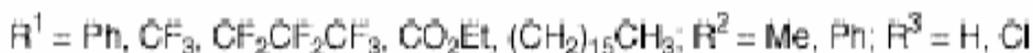


Figura 29: Síntesis de indoles de Fürstner

5.1.6 Síntesis de indoles de Castro

Castro *et al.* fueron los primeros en descubrir la ciclación de o-alquililanilinas a indoles catalizada por cobre⁽¹⁷⁴⁻¹⁷⁶⁾. Sus contribuciones en este campo han sido desestimadas, pero los descubrimientos de Castro incluyen el acoplamiento entre acetiluro de cobre y o-yodoanilinas y la ciclación de o-alquililanilinas catalizada por CuI para producir indoles, los cuales están ilustrados en el esquema:

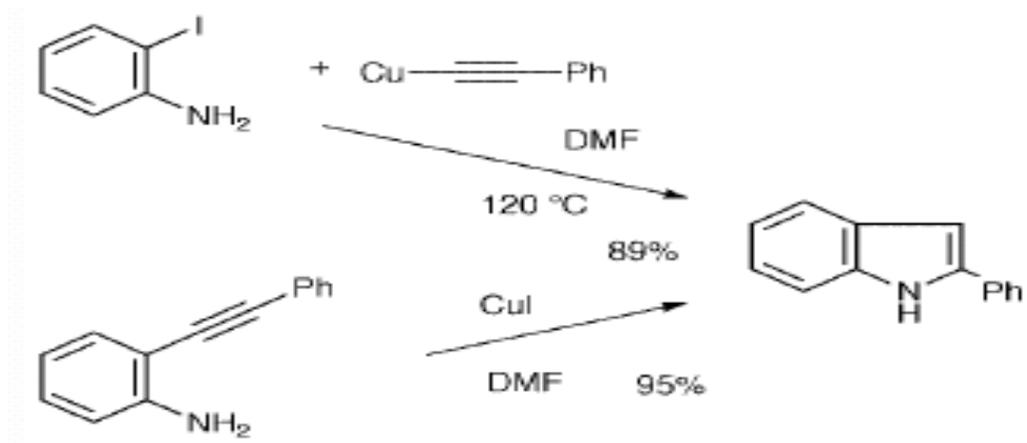


Figura 30: Síntesis de indoles de Castro

5.1.7 Otros métodos

La dimerización inducida por base de 4H-3,1-benzotiazinas produce indoles 2-sustituidos después de la reducción del intermediario disulfuro diindolilo⁽¹⁷⁷⁾.

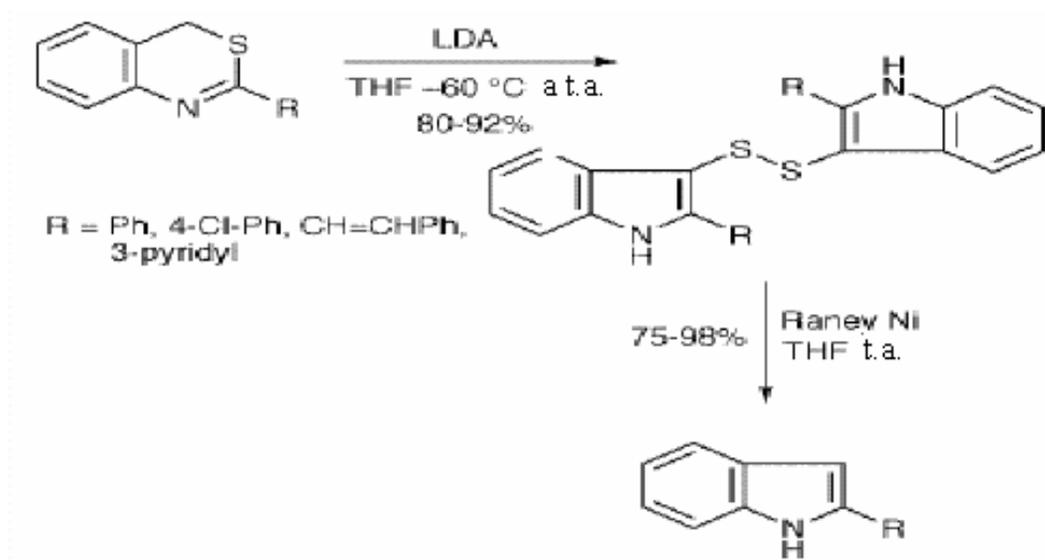


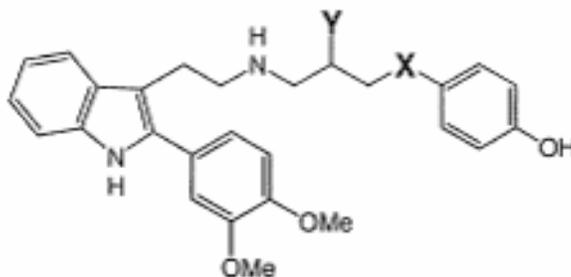
Figura 31: Síntesis a partir de 4H-3,1-benzotiazinas

5.2 Estudios de la relación estructura-actividad de indoles 2,3,5-trisustituídos aplicados como antagonistas del receptor de GnRH en humanos y ratas.

Aunque en investigaciones actuales la aplicación de las moléculas basadas en indoles 2,3,5-trisustituídos es como chaperonas moleculares (Ver capítulo 6), en un inicio, después de que Merck & Co. descubrió que el 2-(3,4-dimetoxifenil) indol (Figura 20) actuaba como antagonista del receptor de GnRH, se comenzó todo un estudio en química medicinal con el fin de determinar la viabilidad de este tipo de compuestos. Los primeros estudios se enfocaron en analizar la importancia de las características estructurales del 2-(3,4-dimetoxifenil) indol, como son:

- La sustitución en la posición 2 del indol.
- La estereoquímica del carbono unido al hidroxilo.
- El puente de oxígeno.
- La sustitución en el éter.
- La variación de los sustituyentes en el fenilo de la posición 2.

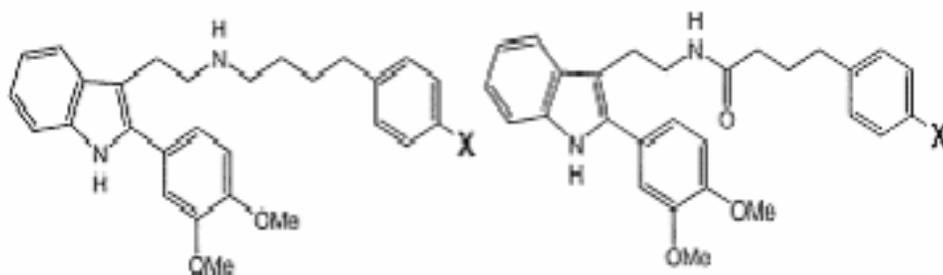
Para examinar la importancia de la estereoquímica en el compuesto **71** se preparó y probó el enantiómero R (**73**). Sorprendentemente, el isómero R fue igual de potente que el compuesto **71** (Tabla 3). Lo siguiente fue sustituir el oxígeno del éter con un metileno (**74**) para evaluar el papel del oxígeno en el enlace con el receptor de GnRH. De nuevo, el compuesto **74** exhibió actividad similar a la del compuesto **71**. Es fácil de observar que ni la estereoquímica de la molécula ni el éter eran importantes para el enlace con el receptor de GnRH, lo cual se comprobó con la molécula **75**. Aún después de simplificar la molécula no se observó ninguna pérdida de actividad considerable (IC_{50}) en el enlace con el receptor de GnRH.



| Análogo | -X- | -Y- | IC_{50} (μM) |
|---------|--------------------|------------|-----------------------|
| 71 | -O- |OH, S | 3 |
| 73 | -O- | —OH, R | 3 |
| 74 | -CH ₂ - |OH, S | 2 |
| 75 | -CH ₂ - | —H | 2 |

Tabla 3

Posteriormente se prepararon varios compuestos conteniendo análogos del fenol, los cuales se encuentran listados en la tabla 4, junto con su contraparte amida. Es claramente visible que la amina básica es superior a la amida para mantener la afinidad por el receptor de GnRH.

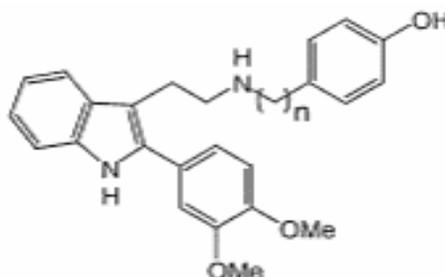


| X | Análogo | IC ₅₀ (μM) | X | Análogo | IC ₅₀ (μM) |
|------------------|---------|-----------------------|------------------|---------|-----------------------|
| -OH | 75 | 2 | -OH | 76 | >30 |
| -OBn | 77 | 30 | -OBn | 78 | — ^a |
| -NO ₂ | 79 | 5 | -NO ₂ | 80 | >30 |
| -NH ₂ | 81 | 10 | -NH ₂ | 82 | 30 |

^a 0% de inhibición a 10 μM

Tabla 4

Después de esto se prepararon una serie de análogos variando el tamaño de la cadena entre el fenol y la amina para determinar el espaciado óptimo entre estos. Como se muestra en la tabla 5, los análogos que contienen una cadena de entre 2 y 5 carbonos presentan afinidad similar por el receptor de GnRH.

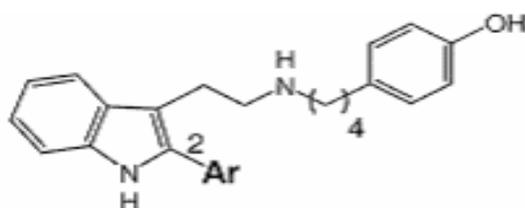


| n | Análogo | IC ₅₀ (μM) |
|---|---------|-----------------------|
| 1 | 83 | 20 |
| 2 | 84 | 4 |
| 3 | 85 | 6 |
| 4 | 75 | 2 |
| 5 | 86 | 2 |
| 6 | 87 | 10 |

Tabla 5

La investigación de la relación estructura actividad en la región del indol fue mucho más interesante. La Tabla 6a muestra los compuestos que fueron preparados con ninguno o con un sustituyente en el grupo arilo en la posición 2 del indol. Las sustituciones en posición para, disminuían la actividad de enlace, y un átomo de flúor en

esta posición disminuía mucho más este valor. A partir del estudio de arilos disustituídos (Tabla 6b) se descubrió que el grupo 3,5-dimetilfenil ocasionaba un gran aumento en la afinidad de enlace (97). Una investigación posterior en arilos bicíclicos (Tabla 6c) mostró que muchos de estos análogos se enlazaban mejor que el 2-fenilindol (88), pero ninguno fue más activo que el análogo con sustitución 3,5-dimetilfenil (97).



| Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) | Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) |
|---------|----|-----------------------|---------|----|-----------------------|
| 75 | | 2.0 | 91 | | 0.5 |
| 88 | | 1.3 | 92 | | 0.2 |
| 89 | | 11.0 | 93 | | 0.9 |
| 90 | | 9.0 | 94 | | 0.6 |

Tabla 6a

| Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) | Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) |
|---------|----|-----------------------|---------|----|-----------------------|
| 95 | | 1.5 | 99 | | 1.7 |
| 96 | | 0.17 | 100 | | 0.4 |
| 97 | | 0.05 | 101 | | 0.9 |
| 98 | | 0.7 | | | |

Tabla 6b

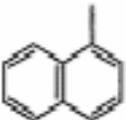
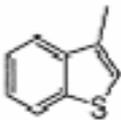
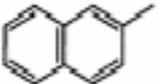
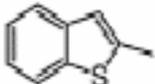
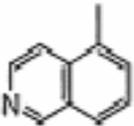
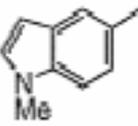
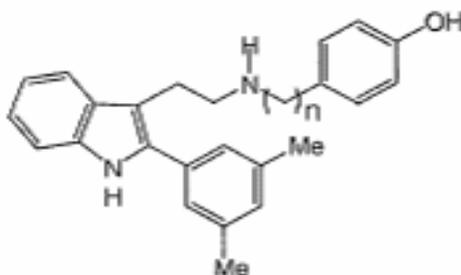
| Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) | Análogo | Ar | IC ₅₀ (μM) |
|---------|---|-----------------------|---------|---|-----------------------|
| 102 |  | 0.13 | 105 |  | 0.30 |
| 103 |  | 2.5 | 106 |  | 2.5 |
| 104 |  | 1.9 | 107 |  | 2.8 |

Tabla 6c

Con el aumento de potencia causado por el grupo 3,5-dimetilfenil en la posición 2 del indol, se realizó otro estudio variando el número de carbonos de la cadena entre la amina y el fenol. El resultado de esta prueba indicó que la cadena de 4 carbonos es al menos 4 veces más potente que todas las demás.



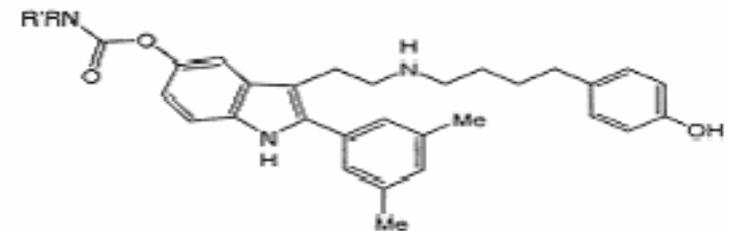
| <i>n</i> | Análogo | IC ₅₀ (μM) |
|----------|---------|-----------------------|
| 1 | 108 | 9.0 |
| 2 | 109 | 0.20 |
| 3 | 110 | 0.25 |
| 4 | 97 | 0.05 |
| 5 | 111 | 0.20 |
| 6 | 112 | 0.60 |

Tabla 7

El estudio SAR inicial del antagonista **71** permitió simplificar la cadena éter-etanolamina por una cadena simple de cuatro carbonos sin perder afinidad en el enlace con el receptor. También se demostró, después de probar con distintos grupos arilo en la posición 2 del indol, que el grupo 3,5-dimetilfenil aumentaba en gran medida la afinidad de enlace entre la molécula y el receptor de GnRH. Finalmente se observó que el espaciamiento óptimo entre la amina y el fenol es de cuatro carbonos. En total se obtuvo

un aumento de 60 veces en la afinidad de enlace con la molécula **97** (50 nM), comparada con la molécula **71** (3000 nM).

Cuando Merck & Co. observó que la molécula **97** con un grupo metoxilo en la posición 5 del indol era 1.25 veces (40 nM) más potente que sin esta sustitución, comenzó a investigar el efecto de varios sustituyentes en dicha posición del indol. La tabla 8 muestra varios análogos 5-sustituídos y sus afinidades de enlace con el receptor de GnRH en ratas.



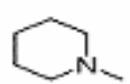
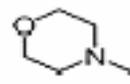
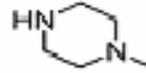
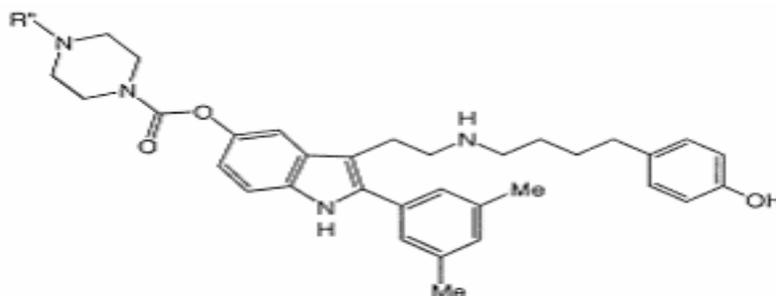
| NRR' | Análogo | IC ₅₀ (nM) |
|---|---------|-----------------------|
| MeHN- | 113 | 30 |
| Me ₂ N | 114 | 30 |
| EtHN | 115 | 16 |
| PrHN- | 116 | 30 |
|  | 117 | 32 |
|  | 118 | 20 |
|  | 119 | 100 |

Tabla 8

A pesar de que casi todos los carbamatos (**113–118**) presentan actividades similares, ninguno de ellos sobresalió de manera particular. De cualquier modo, en investigaciones posteriores se observó que los compuestos con piperazina sustituida, especialmente con sulfonas (**126–129**), mostraron una mayor afinidad de enlace (Tabla 9). En particular, la molécula **127** con un sustituyente etilsulfonil mostró ser 13 veces mas potente (4 nM) que el compuesto **97** (50 nM).



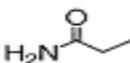
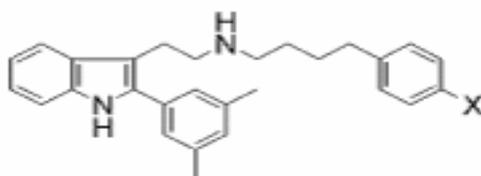
| R'' | Análogo | IC ₅₀ (nM) |
|---|---------|-----------------------|
| Me— | 120 | 25 |
|  | 121 | 30 |
|  | 122 | 15 |
|  | 123 | 30 |
|  | 124 | 27 |
|  | 125 | 32 |
| MeO ₂ S— | 126 | 6 |
| EtO ₂ S— | 127 | 4 |
| <i>i</i> PrO ₂ S— | 128 | 7 |
| PrO ₂ S | 129 | 12 |

Tabla 9

Durante el año 2000 Merck & Co. se dedicó a investigar los efectos de la sustitución del grupo hidroxilo sobre la afinidad de enlace.



| Análogo | X | Enlace al receptor de GnRH de rata IC ₅₀ , nM | Enlace al receptor de GnRH humano IC ₅₀ , nM |
|---------|----------------------------------|---|--|
| 97 | -OH | 27 | 357 |
| 130 | -F | 300 | |
| 131 | -NO ₂ | 500 | |
| 132 | -NH ₂ | 300 | |
| 133 | -NHCOMe | 200 | |
| 134 | -NHCONHMe | 48 | |
| 135 | -NHCONHEt | 28 | |
| 136 | -NHSO ₂ NHMe | 47 | |
| 137 | -NHSO ₂ NHEt | 40 | |
| 138 | -NHSO ₂ Me | 7 | 170 |
| 139 | -NHSO ₂ Et | 200 | |
| 140 | -NHSO ₂ iPr | 220 | |
| 141 | -NHSO ₂ Ph | 300 | |
| 142 | -SO ₂ NH ₂ | 36 | |

Tabla 10

El intento inicial fue sustituir el grupo hidroxilo por un átomo de flúor (**130**, 300 nM) lo cual resultó en una gran pérdida en la afinidad de enlace con el receptor de GnRH en ratas relativa a la molécula con el fenol (**97**, 27 nM). Esta observación hizo pensar que tal vez era necesaria la presencia de un sustituyente que pudiera formar puentes de hidrógeno, o que proporcionara polaridad a la molécula para un mejor enlace con el receptor de GnRH. Esto se comprobó con el compuesto **131** que contenía un sustituyente p-nitro, el cual presentó una muy baja afinidad de enlace (500 nM). La anilina **132** (300 nM) y la acetanilida **133** (200 nM), las cuales son capaces de actuar como donadores de puente de hidrógeno, también mostraron una baja afinidad de enlace con el receptor de GnRH en ratas. Entonces, algunos derivados de la anilina con un pKa < 15 fueron evaluados. La sorpresa fue que en la siguiente serie de análogos, la metil urea **134** (48 nM) y la etilurea **135** (28 nM) mostraron una afinidad de enlace al receptor similar a la del fenol **97**, así como también lo hicieron las dos sulfonilureas **136** (47 nM) y **137** (40 nM). Por lo tanto, las ureas y sulfonilureas (**134-137**) actúan como sustitutos del compuesto **97**.

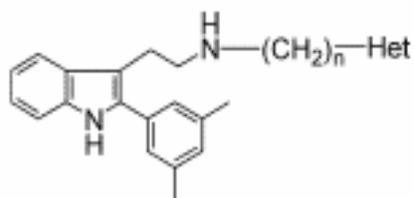
La serie de sulfonilamidas (**138-141**) también fue de interés. La metanosulfonamida **138** (7 nM) fue cuatro veces más potente que el fenol **97** en el receptor de rata y 2 veces más potente en el receptor de humano (170 nM para **138** comparado con 357 nM

para **97**). Otros antagonistas no peptídicos de la GnRH han mostrado diferencias en sus afinidades de enlace con los receptores de GnRH de ratas y humanos ⁽¹⁷⁸⁾.

Las moléculas con sustituyentes que causan un impedimento estérico mayor como etilo, isopropilo y bencenosulfonamida fueron menos potentes y mostraron valores de IC₅₀ en el intervalo de 200-300 nM para el receptor de GnRH de rata. La sulfonamida primaria “invertida” (**142**) mostró una mejor afinidad de enlace (36 nM) al receptor de rata, comparable con la del fenol **97**, pero menos potente que la metanosulfonamida **138**.

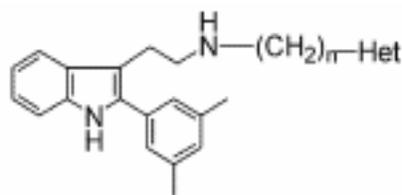
Por lo tanto, la metanosulfonamida **138** parece ser un adecuado y potente reemplazo para el antagonista **97** que contiene grupo hidroxilo.

Otra investigación que realizó Merck & Co. durante el año 2000 fue la de sustituir el fenol por distintos heterociclos y variar al mismo tiempo la longitud de la cadena hidrocarbonada entre estos y la amina.



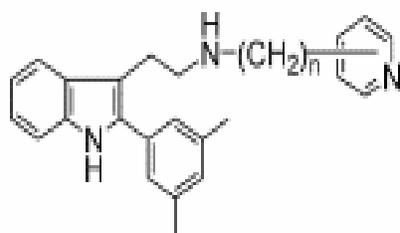
| Análogo | <i>n</i> | Heterociclo |
|---------|----------|---|
| 143 | 1 | 2-Pyridyl |
| 144 | 1 | 3-Pyridyl |
| 145 | 1 | 4-Pyridyl |
| 146 | 2 | 2-Pyridyl |
| 147 | 2 | 3-Pyridyl |
| 148 | 2 | 4-Pyridyl |
| 149 | 3 | 3-Pyridyl |
| 150 | 3 | 4-Pyridyl |
| 151 | 4 | 4-Imidazolyl |
| 152 | 4 | 7-(1,2,3,4-Tetrahydro)-1,8-naphthyridyl |

Tabla 11



| Análogo | <i>n</i> | Heterociclo |
|---------|----------|---------------------|
| 153 | 4 | 2-Pyridyl |
| 154 | 4 | 3-Pyridyl |
| 155 | 4 | 4-Pyridyl |
| 156 | 5 | 3-Pyridyl |
| 157 | 5 | 4-Pyridyl |
| 158 | 4 | 5-Pyrimidinyl |
| 159 | 4 | 3-Quinoliny |
| 160 | 4 | 5-(2-MeO)-Pyridyl |
| 161 | 4 | 5-Pyrid-2-onyl |
| 162 | 4 | 5-(2-AcNH)-Pyridyl |
| 163 | 4 | 5-(2-Amino)pyridyl- |
| 164 | 4 | 5-(2-MsNH)-Pyridyl |

Tabla 12



| Isómero | Longitud de la cadena | | | | |
|-----------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | <i>n</i> =1 | <i>n</i> =2 | <i>n</i> =3 | <i>n</i> =4 | <i>n</i> =5 |
| 2-pyridyl | 143 | 146 | | 153 | |
| | > 10 μM ^b | 2 170 nM | | 450 nM | |
| 3-pyridyl | 144 | 147 | 149 | 154 | 156 |
| | 4 500 nM | 200 nM | 200 nM | 40 nM | 50 nM |
| 4-pyridyl | 145 | 148 | 150 | 155 | 157 |
| | 9 000 nM | 160 nM | 210 nM | 16 nM | 150 nM |

Tabla 13

De este estudio se encontró que los compuestos con un solo carbono en la cadena (**143,144** y **145**) eran débilmente activos y que las moléculas con anillos 2-piridil (**143,146** y **153**) también eran menos potentes que sus contrapartes con anillos 3- y 4-piridil (**144, 147, 154** y **145, 148, 155**, respectivamente). Para una molécula con sustituyente 3-piridil y cadena de 2 o 3 átomos de carbono (**147** y **149**) se observó una actividad moderada, mientras que para compuestos con cadena más larga (**154**, n = 4 y **156**, n = 5) se obtuvo un incremento en la actividad de aproximadamente cinco veces. En la serie de compuestos con sustituyente 4-piridil, la afinidad de enlace con cadenas de n = 2, 3 o 5 (**148**, 160 nM; **150**, 210 nM; y **157**, 150 nM) fue comparable con los anteriores. La distinción se observó en moléculas con una cadena de 4 carbonos. El compuesto más activo fue la molécula con el sustituyente 4-piridil con una cadena de 4 carbonos, (**155**, 16 nM) en el receptor de GnRH de rata. Este valor de IC₅₀ es similar al mostrado por el compuesto inicial con sustituyente fenol (27 nM). Claramente se observa que existe una preferencia por las cadenas de 4 carbonos en las moléculas con sustituyente 4-piridilo. El orden de los isómeros de piridina con respecto a la potencia es: 4-piridil ≈ 3-piridil > 2-piridil.

Teniendo claro que la cadena de 4 carbonos es la que provee mayor potencia, se procedió a probar más heterociclos como sustituyentes. En el caso del compuesto **152** con sustituyente 7-(1,2,3,4-tetrahidro)-1,8-naftiridil se observó una baja potencia (1260 nM). El compuesto **158** con 5-pirimidil (270 nM) y la molécula **151** con 4-imidazoil (450 nM) tienen también poca potencia. La molécula con 3-quinolin (**159**, 36 nM) posee una potencia comparable con la molécula con 3-piridil (**154**, 40 nM), lo cual implica que el anillo aromático extra aparentemente contribuye a aumentar la potencia del enlace con el receptor de GnRH.

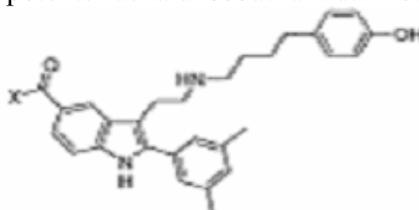
| Análogo | Enlace al receptor de GnRH de rata IC ₅₀ (nM) |
|---------|---|
| 151 | 450 |
| 152 | 1260 |
| 158 | 270 |
| 159 | 36 |
| 160 | 90 |
| 161 | 57 |
| 162 | 120 |
| 163 | 41 |
| 164 | 45 |

Tabla 14

Durante esta investigación se especuló que una combinación de un grupo hidroxilo o metanosulfonamida con un anillo 3-piridil podría presentar incremento en la potencia. La piridona **161** y la sulfonamida **164** presentaron afinidades de enlace (57 y 45 nM, respectivamente) comparables con la del fenol, lo cual significa que el efecto deseado no se observó. En esta investigación se supone que las piridinas actúan indirectamente como donadores de enlace de hidrógeno a través de una molécula de agua asociada. De todos los compuestos analizados en esta investigación el más potente fue el **155**, con una cadena de cuatro carbonos y un anillo 4-piridil, ya que presentó un IC₅₀ = 16 nM, que lo sitúa entre el fenol y la metanosulfonamida mencionados anteriormente⁽¹⁶⁾.

Lo siguiente que hicieron en los laboratorios de investigación Merck & Co. fué comenzar a probar diversos sustituyentes en la posición 5 del indol del tipo ésteres y amidas. En esta investigación se observó que, en ausencia de BSA (albúmina sérica bovina) (Protocolo A), los compuestos probados se quedaban adheridos a los tubos de ensaye, disminuyendo la concentración de estos en solución. La adición de BSA al 0.1% (Protocolo B) eliminó este problema, posiblemente gracias a la neutralización de cargas en la superficie de los tubos de vidrio. Por esta razón, las determinaciones de IC₅₀ se hicieron siguiendo el protocolo B. De cualquier modo, se muestran los resultados de ambas condiciones de prueba, además del ensayo para determinar la inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

En la primera serie de compuestos que contenían fenol (Tabla 15) y un etil éster en la posición 5 del indol (**167**) fue bien tolerado, pero la hidrólisis al ácido libre (**168**) provocó una pérdida de 20 veces en la potencia de enlace. Las carboxamidas probaron ser más propicias, especialmente aquellas derivadas de aminas secundarias (**169,170,172** y **173**) las cuales resultaron ser hasta 10 veces más potentes que el análogo (**165**). La dimetilamida **169** presentó una actividad de enlace similar a la del carbamato **166**. La única amida derivada de una amina primaria (**171**) fué menos efectiva. En el ensayo de liberación de LH, las amidas mostraron una importante actividad inhibitoria, mientras que el análogo **165** fue esencialmente inactivo. En esta serie el compuesto más potente fue la diisobutilamida **173**.



| Análogo | X | rGnRH IC ₅₀ , nM ^a | | Liberación de LH IC ₅₀ , nM ^b |
|---------|---|--|------------------|--|
| | | Protocolo A ^c | B ^d | |
| 165 | [H] ^f | 50 | | > 6200 |
| 166 | [Me ₂ NC(O)O] ^f | 3 | | |
| 167 | EtO | 32 | | |
| 168 | HO | 600 | | |
| 169 | Me ₂ N | 5 | | 820 |
| 170 | Et ₂ N | 6 | 0.5 | 540 |
| 171 | PhCH ₂ NH | 24 | | |
| 172 |  | 4 | | 800 |
| 173 | <i>i</i> -Bu ₂ N | | 5.7 ^g | 380 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

^c Ausencia de BSA.

^d Presencia de BSA al 0.1%.

^e Ref. 14

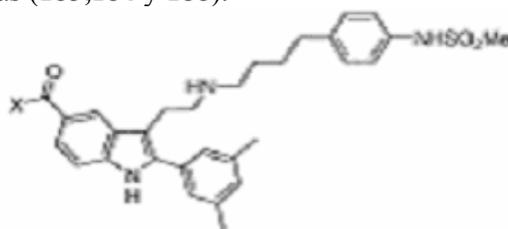
^f Sustituyente en lugar de XCO en la posición 5 del indol.

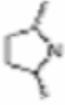
^g Ref. 15

^h Inhibición del enlace al receptor de GnRH humano.

Tabla 15

Cuando el hidroxilo del fenol fue reemplazado por una metanosulfonamida (Tabla 16), se observaron tendencias similares. De nuevo, las amidas terciarias fueron preferidas. A pesar de que las diferencias en afinidad de enlace no fueron grandes, las tendencias de la actividad fueron reveladas en el ensayo funcional. Los compuestos más efectivos en bloquear la liberación de LH fueron las amidas derivadas de aminas secundarias cíclicas o lineales sustituidas (**183,184** y **188**).



| Análogo | X | rGnRH IC ₅₀ , nM ^a | | Liberación de LH IC ₅₀ , nM ^b |
|---------|---|--|----------------|--|
| | | Protocolo A ^c | B ^d | |
| 174 | [H] ^f | 7 | | |
| 175 | EtO | 14 | | > 6200 |
| 176 | Me ₂ N | 2 | | 690 |
| 177 | Et ₂ N | 2 | 0.2 | 270 |
| 178 | EtNH | 6 | | 2400 |
| 179 | <i>n</i> -BuN(Et) | 4 | | 240 |
| 180 | <i>i</i> -PrN(Et) | 3 | | 120 |
| 181 | <i>t</i> -BuN(Et) | | 0.8 | 660 |
| 182 | <i>n</i> -Pr ₂ N | 5 | | 140 |
| 183 | <i>i</i> -Pr ₂ N | 3 | 0.3 | 72 |
| 184 | <i>i</i> -Bu ₂ N | | 0.4 | 32 |
| | | | | 510 |
| 185 |  | 4 | 0.2 | |
| 186 |  | 2 | | 220 |
| 187 |  | 2 | 0.2 | 400 |
| 188 |  | 3 | 0.2 | 95 |
| 189 |  | 3 | 0.4 | 210 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

^c Ausencia de BSA.

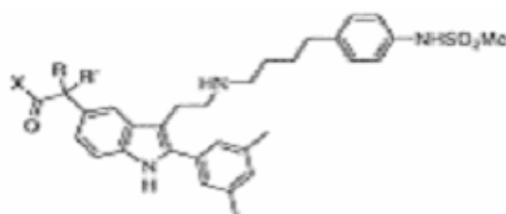
^d Presencia de BSA al 0.1%.

^e Ref. 16

^f Sustituyente en lugar de XCO en la posición 5 del indol.

Tabla 16

La tercera serie de compuestos (Tabla 17) también contienen la metanosulfonamida en lugar del hidroxilo pero presentan un carbono entre el carbociclo y el grupo carbonilo en la posición 5 del indol. A pesar de que no se observan tendencias claras en el ensayo de actividad, algunas relaciones estructura-actividad sí se hicieron evidentes en el ensayo de liberación de LH. Entre los ésteres (**190,194,196**) el aumento en la sustitución en el carbono entre el anillo y el carbonilo claramente mejoró la potencia, de 2000 nM en el acetato **190** a 150 nM en el derivado gem-dimetil **196**. Una tendencia similar fue observada para las amidas (**197 vs 191, 198 vs 192 y 202 vs 193**). Varias amidas terciarias sustituidas en la serie de compuestos con gem-dimetilos (**198-202**) fueron inhibidores relativamente potentes de la liberación de LH inducida por GnRH (valores de $IC_{50} < 100$ nM). En el caso de las 5-carboxamidas (Tabla 16) la amida de la 2,5-dimetilpirrolidina (**188**) fue 5 veces más potente en el bloqueo de la liberación de LH que la amida de la pirrolidina no sustituida (**185**). Para las acetamidas con sustitución gem-dimetil, ambas moléculas, con pirrolidina sustituida (**202**) y no sustituida (**201**) presentaron una actividad similar.



| Análogo | R | R' | X | rGnRH IC_{50} , nM ^a | | Liberación de LH |
|---------|----|----|---|-----------------------------------|----------------|--|
| | | | | Protocolo | A ^c | B ^d IC_{50} , nM ^b |
| 190 | H | H | EtO | 2 | | 2000 |
| 191 | H | H | Me ₂ N | 2 | 0.1 | 320 |
| 192 | H | H | Et ₂ N | 3 | 0.2 | 130 |
| 193 | H | H |  | 3 | 0.1 | 95 |
| 194 | Me | H | EtO | 4 | 0.5 | 610 |
| 195 | Me | H | Et ₂ N | 2 | 0.2 | 130 |
| 196 | Me | Me | EtO | 3 | 0.3 | 150 |
| 197 | Me | Me | Me ₂ N | 3 | 0.1 | 160 |
| 198 | Me | Me | Et ₂ N | 2 | 0.2 | 42 |
| 199 | Me | Me | <i>n</i> -Pr ₂ N | 5 | 0.4 | 70 |
| 200 | Me | Me |  | | 0.12 | 81 |
| 201 | Me | Me |  | 2 | 0.2 | 40 |
| 202 | Me | Me |  | 3 | 0.2 | 65 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

^c Ausencia de BSA.

^d Presencia de BSA al 0.1%.

Tabla 17

Con estas series de compuestos se encontró que los grupos ésteres y, especialmente carboxamidas, en la posición 5 del indol confieren una potente actividad en los ensayos funcionales y de enlace. Esto fue demostrado para compuestos que contienen un grupo hidroxilo o metanosulfonamida en la cadena N-(4-fenilbutil). En cada caso, las amidas derivadas de aminas secundarias de tamaño mediano fueron las preferidas, especialmente para la inhibición de la liberación de LH. Con el grupo carbonilo de la amida unido directamente a la posición 5 del indol, fueron preferidos sustituyentes ramificados como N,N-diisobutilcarboxamida. Cuando se insertó un carbono gem-dimetilsustituido entre el indol y el carbonilo, se observó una buena actividad funcional, aún con amidas terciarias sencillas derivadas de dietilamina o pirrolidina.

Debido a que las moléculas antagonistas con grupos terminales tales como hidroxilo o metanosulfonamida presentaron propiedades farmacocinéticas desfavorables, se han investigado grupos terminales alternativos. Anteriormente fue informado ⁽¹⁷⁹⁾ que las moléculas con sustituyentes terminales 3-piridil y 4-piridil, como en **203** y **204**, resultaron ser antagonistas con buena potencia del receptor de GnRH.

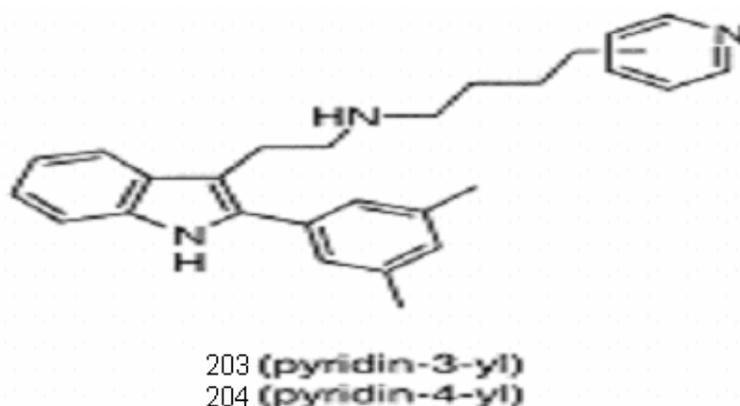


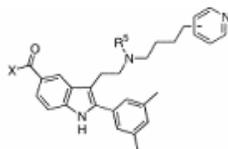
Figura 32: Indol con sustituciones 3- y 4-piridil

Aplicando esto, los siguientes compuestos estudiados fueron indol-5-carboxamidas y acetamidas con sustituyentes 3 o 4-piridil.

En el ensayo de enlace, los compuestos fueron probados inicialmente por su habilidad para competir con el agonista del receptor de GnRH [¹²⁵I]-buserelina para enlazarse al receptor de GnRH de rata ⁽¹⁹⁾ en presencia de BSA al 0.1%. Durante el curso de este estudio, el receptor de rata fue reemplazado por el receptor de humano, el cual fue más sensible a las relaciones estructura-actividad y fue considerado más relevante para el proceso de diseño de los fármacos. Dos ensayos funcionales fueron utilizados para caracterizar los compuestos: inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata y, para la determinación del antagonismo funcional *in vitro*, fue determinada la inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol* (PI) estimulada por GnRH en células de ovario clonadas de hamster chino (CHO) que expresan el receptor de GnRH humano.

Es evidente en la Tabla 18 que la adición de una carboxamida a la posición 5 del indol aumenta ligeramente la afinidad de enlace al receptor de GnRH de rata comparada con los análogos **203** y **204**. A pesar de que la potencia hacia el receptor de rata no varía mucho entre las amidas, las cuales presentan valores de IC₅₀ subnanomolares, grandes

diferencias fueron observadas para el receptor humano. Muchas amidas voluminosas, hidrofóbicas, ramificadas o terciarias cíclicas (**219-223** y **226**) fueron mejores para enlazarse al receptor de GnRH humano. Algunos de estos mismos compuestos, notablemente **221-223**, estuvieron también entre los más efectivos en la liberación de LH y en la prueba de PI. Sin embargo, los resultados de los ensayos funcionales no siempre concuerdan con los estudios de enlace. La dietilamida **208** probó ser ligeramente más activa ($IC_{50} = 12$ nM) en el experimento de inhibición de PI de lo que habría sido predicho de su comportamiento en otras pruebas. En todos los ensayos, el sitio de enlace de los heterociclos terminales (3-piridil o 4-piridil) afectaron ligeramente los resultados.



| Compd | X | Pyridine link | R ⁵ | GnRH binding IC ₅₀ (nM) ^a | | LH release IC ₅₀ (nM) ^b | PI turnover IC ₅₀ (nM) ^c |
|-------|---|---------------|----------------|--|-------|--|---|
| | | | | Rat | Human | | |
| 203 | [H] ^f | 3 | H | 40 | | | |
| 204 | [H] ^f | 4 | H | 16 | | | |
| 205 | Me ₂ N | 3 | H | 0.7 | | 2600 | |
| 206 | Me ₂ N | 4 | H | 0.8 | | 1460 | |
| 207 | Et ₂ N | 3 | H | 0.6 | 23 | 400 | 190 |
| 208 | Et ₂ N | 4 | H | 0.5 | 18 | 470 | 12 |
| 209 | Et ₂ N | 4 | Me | | 36 | 430 | 58 |
| 210 | HOCH ₂ CH ₂ N(Et) | 3 | H | 0.6 | | 1200 | |
| 211 | HOCH ₂ CH ₂ N(Et) | 4 | H | | 36 | 1000 | 260 |
| 212 | (MeOCH ₂ CH ₂) ₂ N | 3 | H | | 45 | 1300 | 610 |
| 213 | (CF ₃ CH ₂) ₂ N | 4 | H | 0.6 | 36 | 3600 | 91 |
| 214 | <i>i</i> -PrNH | 3 | H | | 55 | > 1300 | 1200 |
| 215 | <i>i</i> -PrN(Et) | 3 | H | | 11 | 830 | 110 |
| 216 | <i>i</i> -Pr ₂ N | 4 | H | 0.3 | | 400 | |
| 217 | <i>n</i> -Bu ₂ N | 3 | H | 0.4 | | 1000 | |
| 218 | <i>n</i> -Bu ₂ N | 4 | H | 0.4 | | 240 | 56 |
| 219 | <i>i</i> -Bu ₂ N | 3 | H | 0.7 | 5.0 | 150 | 120 |
| 220 | <i>i</i> -Bu ₂ N | 4 | H | 0.6 | 7.1 | 380 | 80 |
| 221 | Cyclohexyl-N(Et) | 3 | H | 0.2 | 2.3 | 140 | 16 |
| 222 | Cyclohexyl-N(Et) | 4 | H | 0.4 | 2.8 | 130 | 22 |
| 223 | Cyclooctyl-N(Et) | 4 | H | | 1.9 | 81 ^f | 15 |
| 224 |  | 3 | H | 0.6 | | 5100 | |
| 225 |  | 4 | H | 0.5 | | > 1300 | |
| 226 |  | 3 | H | | 3.6 | 360 | 62 |
| 227 |  | 4 | H | 0.3 | | 340 | |
| 228 |  | 3 | H | 0.4 | | 1600 | |
| 229 |  | 4 | H | 0.3 | | 1400 | |
| 230 |  | 4 | H | | 32 | | 260 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

^c Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

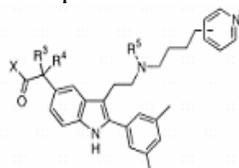
^d Ref. 179.

^e Sustituyente en lugar de XCO en la posición 5 del indol.

^f Condiciones de ensayo modificadas: 0.2 nM en lugar de 2 nM de GnRH.

Tabla 18

Excepto por la amida primaria **231**, la mayoría de los indol-5-acetamidas (Tabla 19) fueron potentes antagonistas para el receptor de GnRH humano, algunos con valores de IC₅₀ de 1-3 nM. Los valores nanomolares bajos de IC₅₀ en este receptor fueron obtenidos con N-sustituyentes más pequeños que en la serie de indol-5-carboxamidas. De nuevo, los análogos 3- y 4-piridil fueron similares en potencia. Entre los compuestos más efectivos en el ensayo funcional y de enlace estuvieron las amidas de 7-azanorbornano **245** y **246**, a pesar del bajo rendimiento del análogo **230** en la serie de indol-5-carboxamidas. Otros análogos activos en el ensayo de PI fueron la diisobutilamida **237** y la 2,5-dimetilpirrolidina **242**. La N-metilación de la amina secundaria **247** no tuvo efecto significativo en la potencia en el ensayo de enlace y en la liberación de LH, y fue el mismo caso para **209** en la Tabla 18.



| Compd | R ³ | R ⁴ | X | Pyridine link | R ⁵ | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | LH release IC ₅₀ (nM) ^b | PI turning IC ₅₀ (nM) ^c |
|-------|----------------|----------------|---|---------------|----------------|--|---|---|
| 231 | Me | Me | H ₂ N | 3 | H | 32 | | 350 |
| 232 | Me | Me | Me ₂ N | 3 | H | [0.5] ^d | 680 | |
| 233 | Me | Me | Me ₂ N | 4 | H | [0.3] ^d | 930 | |
| 234 | Me | Me | Et ₂ N | 3 | H | 3.3 | 240 | 94 |
| 235 | Me | Me | Et ₂ N | 4 | H | 3.2 | 770 | 58 |
| 236 | Me | Me | <i>i</i> -Bu ₂ N | 3 | H | 1.7 | 400 | 22 |
| 237 | Me | Me | <i>i</i> -Bu ₂ N | 4 | H | 2.8 | 140 | 8.3 |
| 238 | Me | Me | <i>o</i> -HxN(Et) | 4 | H | 2.3 | 960 | 54 |
| 239 | Me | Me |  | 3 | H | 1.0 | 350 ^e 190 | 62 |
| 240 | Me | Me |  | 3 | H | 5.0 | 290 | 61 |
| 241 | Me | Me |  | 4 | H | 4.8 | 340 | |
| 242 | Me | Me |  | 4 | H | 2.8 | 160 | 15 |
| 243 | Me | Me |  | 4 | H | 1.8 | 1200 | 38 |
| 244 | Me | Me |  | 4 | H | 11 | 540 | 59 |
| 245 | Me | Me |  | 3 | H | 1.4 | 73 ^e | 14 |
| 246 | Me | Me |  | 4 | H | 1.4 | 71 ^e | 18 |
| 247 | Me | Me |  | 4 | Me | 1.5 | 71 ^e | 110 |
| 248 | Me | Me |  | 4 | Et | 2.2 | 730 ^e | 90 |
| 249 | Me | Me |  | 4 | <i>i</i> -Pr | 3.1 | | 200 |
| 250 | Me | Me |  | 4 | <i>i</i> -Bu | 8.2 | | 300 |

Tabla 19

Continúa tabla 19

| | | | | | | | | |
|-----|------------------------------------|----|---|---|---|-----|------------------|-----|
| 250 | Me | Et |  | 4 | H | 1.0 | 240 ^a | 38 |
| 251 | Et | Et |  | 4 | H | 1.7 | 260 ^a | 40 |
| 252 | -(CH ₂) ₃ - | |  | 4 | H | 1.2 | | 170 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la liberación de LH estimulada por GnRH en células de pituitaria de rata.

^c Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

^d Dato para la inhibición en el receptor de GnRH de rata

^e Condiciones de ensayo modificadas: 0.2 nM en lugar de 2 nM de GnRH.

De cualquier modo, fue observada una disminución de 6 veces en la actividad para **247** comparado con **246** en el ensayo de PI. Aumentar en tamaño del grupo N-alquilo (**248-250**) tiende a reducir la actividad en los ensayos. En las series anteriores ⁽¹⁸⁰⁾, se encontró que la gem-dimetilación de la cadena de acetamida aumentaba la actividad; aquí, el reemplazo de uno o ambos de los sustituyentes gem-dimetil por etilos (**251** y **252**) o conectándolos en un anillo de 4 miembros (**253**) fue bien tolerado, pero no ofreció ninguna ventaja.

En resumen, para estas series de compuestos, se observó que la combinación de un sustituyente terminal 3- o 4-piridil en la cadena lateral en la posición 3 del indol y sustituyentes carboxamida o acetamida en la posición 5 del indol produce antagonistas potentes para receptores de rata y humano. Las aminas terciarias fueron las más potentes en las dos series. Entre las indol-5-carboxamidas, el análogo preferido fue la voluminosa N-ciclooctil-N-etil amida (**223**) con valores de IC₅₀ de 1.9, 81 y 15 nM en el ensayo de enlace, liberación de LH y ensayo de PI, respectivamente. Una relación estructura-actividad diferente fue observada para las amidas en la serie de indol-5-acetamidas. Aquí las más favorables fueron las derivadas de diisobutilamina (**237**), 2,5-dimetilpirrolidina (**242**) y 7-azanorbornano (**245** y **246**). Por ejemplo, **245** presentó valores de 1.4, 73 y 14 nM en los ensayos de enlace, liberación de LH y ensayo de PI, respectivamente. En ambas series, otras modificaciones estructurales, tales como la variación de los sustituyentes gem-dimetil o la alquilación de la amina secundaria de la cadena lateral, no tuvieron efectos o fueron negativos.

A finales del año 2001, los científicos de Merck & Co. observaron que la adición de un carbono quiral en la cadena lateral en la posición 3 del indol como en **255** aumentaba la afinidad de enlace significativamente ⁽¹⁸¹⁾.

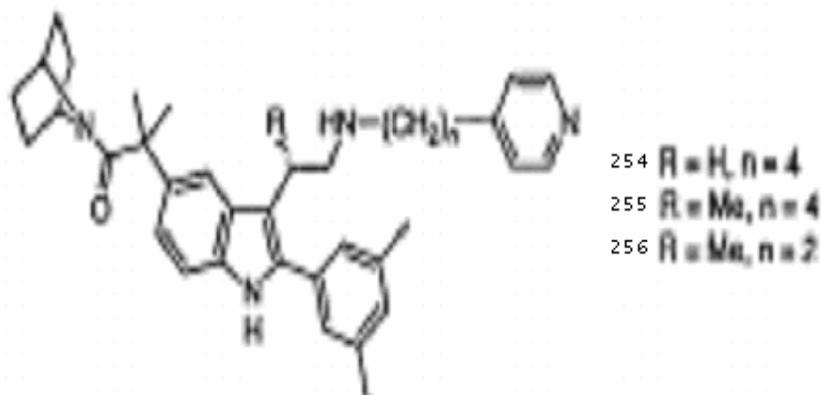


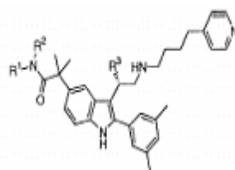
Figura 33: Indol 2,3,5-trisustituido

Por esta razón, la compañía farmacéutica realizó todo un estudio de estructura-actividad de amidas relacionado con **255** y su análogo de cadena corta **256**.

El efecto benéfico del sustituyente (S)- β -metil en la cadena lateral del indol se observa claramente al comparar los compuestos **255** y **254** en la tabla 20. La optimización del sustituyente en la posición 5 del indol que fue mencionada anteriormente ⁽¹⁸²⁾, la cual fue realizada en ausencia del sustituyente β -metil, fue reinvestigada en este experimento (Tabla 20). Comparadas con la amida de 7-azanorbornano (**255**) las gem-dimetil o spiro-azetidinas o las piperidinas (**259-265**) generalmente mantienen una alta afinidad al receptor de GnRH humano pero claramente sufren una reducción en potencia en el ensayo de PI. Las piperazinas **263** y **264** probaron ser muy inferiores en el ensayo de PI. En contraste, la diisobutilamida **265**, a pesar de no ser tan potente en el ensayo de enlace, fue particularmente efectiva en el ensayo funcional ($IC_{50} = 14$ nM). Mientras que las pirrolidinas fusionadas **266** y **267** no produjeron resultados favorables, los productos de varias aminas bicíclicas (**268-274**) fueron buenos antagonistas de la GnRH, excepto el compuesto **272**, que mostró valores funcionales de IC_{50} superiores a 10 nM.

Particularmente importante fue la amida de isoquinuclidina **271** la cual presentó valores de IC_{50} de 1.0 y 2.8 nM para los ensayos de enlace y funcional, respectivamente.

Desgraciadamente, la biodisponibilidad oral de esta molécula fue menor a la esperada (14% en ratas, 7% en perros) así que se necesitan mayores mejoras.



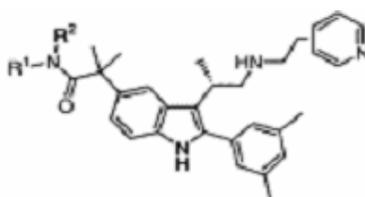
| Compd | R ¹ R ² N | origen de la amina | R ³ | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | PI turnover IC ₅₀ (nM) |
|-------|---------------------------------|--------------------|----------------|--|-----------------------------------|
| 257 | | Ref 5 | H | 1.4 | 18 |
| 258 | | Ref 5 | Me | 0.7 | 5.7 |
| 259 | | Ref 6 | Me | 0.7 | 21 |
| 260 | | Ref 7 | Me | 1.3 | 39 |
| 261 | | Ref 8 | Me | 2.7 | 93 |
| 262 | | Comm. ^e | Me | 0.6 | 66 |
| 263 | | Comm. ^e | Me | 6.1 | 220 |
| 264 | | Ref 9 | Me | 4.4 | 124 |
| 265 | | Comm. ^e | Me | 5.6 | 14 |
| 266 | | Ref 10 | Me | 1.4 | 66 |
| 267 | | Comm. ^e | Me | 21 | 31 |
| 268 | | Ref 11 | Me | 0.8 | 8.8 |
| 269 | | r | Me | 0.4 | 8.7 |
| 270 | | r | Me | 1.0 | 4.0 |
| 271 | | Ref 13 | Me | 1.0 | 2.8 |
| 272 | | Ref 14 | Me | 2.1 | 13 |
| 273 | | Ref 15 | Me | 4.8 | 6.8 |
| 274 | | Comm. ^e | Me | 4.8 | 6.4 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla 20

En una serie anterior de compuestos sin sustituyente en la posición 5 del indol y sin el grupo β -metilo, la modificación de la cadena lateral entre la piridina y la amina secundaria provocaba una disminución en la afinidad de enlace ⁽¹⁷⁹⁾. Increíblemente, el compuesto **256**, el análogo con cadena de 2 carbonos del compuesto **255**, no sólo mantiene una excelente potencia en los ensayos *in vitro* (Tabla 21) sino que también presenta una biodisponibilidad oral del 23% en ratas. El problema, es que su biodisponibilidad en perros (14%) y en monos (6.4%) sigue siendo deficiente. La incorporación de algunos de los mejores grupos amino bicíclicos de la tabla 20 a esta serie produjo los compuestos **275-277** los cuales mostraron alta potencia en los ensayos funcional y de enlace (Tabla 21). A pesar de que la biodisponibilidad oral en perros sigue siendo deficiente para **275** (8.5%) y **277** (12%) el compuesto **276** con amida de isoquinuclidina y terminal 4-piridil tiene propiedades farmacocinéticas prometedoras. La biodisponibilidad oral de **276**, aunque fue de solo 8% en ratas, aumentó a 25% en perros y 21% en monos. La vida media de **276** fue de 1 hora en ratas, 3.9 en perros y 3.3 en monos.



| Análogo | R ¹ R ² N | Unión con piridina | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | PI IC ₅₀ (nM) ^b |
|---------|---------------------------------|--------------------|---|--|
| 256 | | 4 | 0.8 | 7.0 |
| 275 | | 4 | 1.2 | 1.9 |
| 276 | | 4 | 0.6 | 7.2 |
| 277 | | 3 | 0.6 | 2.6 |

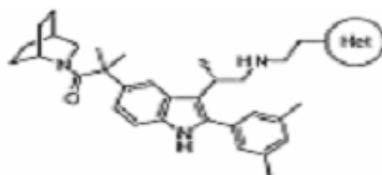
^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla:21

El reemplazo de la piridina por piridona (o un heterociclo relacionado) también fue investigado (Tabla 22). De las 1-metilpiridin-2(1H)-onas isoméricas (**278** y **279**), el enlace en la posición 5 (**279**) resultó en una mejora dramática de la potencia sobre la unión en la posición 3 (**278**). Todos los análogos con la posición de enlace preferida (**279-281** y **283**) mantuvieron alta potencia. Esto sugiere que no hay requerimiento para que la terminal de la cadena lateral sea básica, sino que solo sea un aceptor de enlace de hidrógeno. La metoxipiridina **282**, un isómero de **279**, fue menos activo. Finalmente, el análogo reducido **284**, probado como una mezcla de diastereómeros, fue sólo moderadamente menos potente que el compuesto **279**.

A pesar de que algunos compuestos de esta serie de piridonas tienen biodisponibilidad satisfactoria en perros (35% para **283**) ninguno de los probados tiene biodisponibilidad aceptable en monos (4% para **283**).



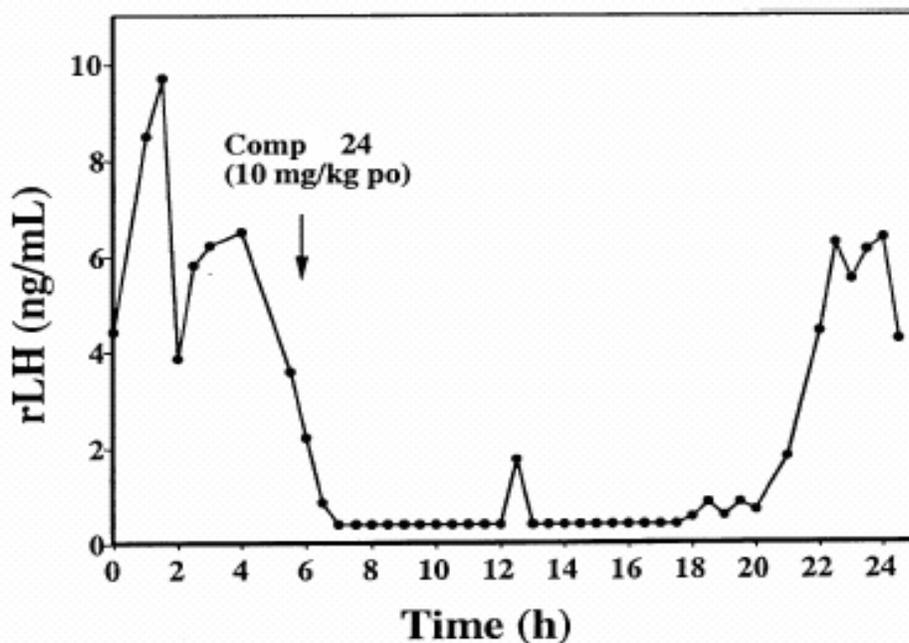
| Análogo | Hct | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | PI | IC ₅₀ (nM) ^b |
|---------|-----|--|-----|------------------------------------|
| 278 | | 5.3 | 82 | |
| 279 | | 0.2 | 1.4 | |
| 280 | | 0.4 | 3.9 | |
| 281 | | 0.3 | 1.0 | |
| 282 | | 1.0 | 11 | |
| 283 | | 0.6 | 4.0 | |
| 284 | | 0.4 | 8.2 | |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla 22

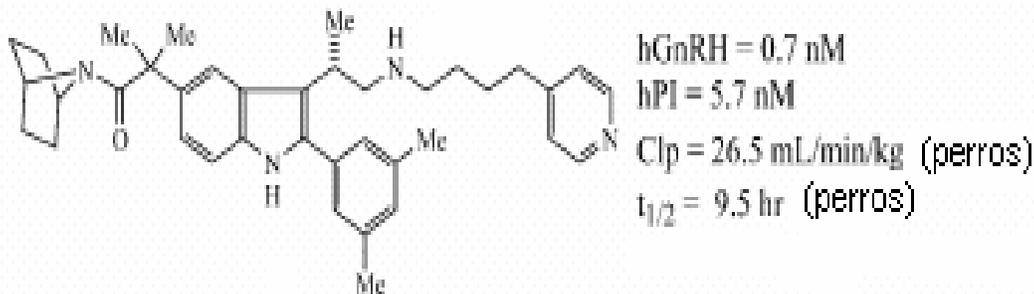
La efectividad del compuesto **276** en bloquear la liberación de LH fue investigada en ratas macho castradas, las cuales presentan niveles circulantes de LH relativamente estables. Debe notarse que **276** tiene un valor de IC_{50} de 1.7 nM contra el receptor de GnRH de rata en todo un estudio de enlace. El compuesto **276** inhibe la liberación de LH por períodos de entre 5-7 horas a 5 mg/kg a 15 horas a 20 mg/kg. En un experimento representativo, una sola dosis de **276** a 10 mg/kg suprimió completamente los niveles de LH en plasma durante 13 horas (Fig. 33).



Efecto de la administración oral del compuesto **24** ($t = 6$ h, indicado por la flecha) en la liberación de LH en una rata macho castrada.

Figura 34

El compuesto que Merck & Co. probó clínicamente fué el indol **258**, el cual se caracterizó por tener una excelente potencia *in vitro* en los ensayos funcionales (PI) y de enlace y por tener una buena biodisponibilidad oral en perros.



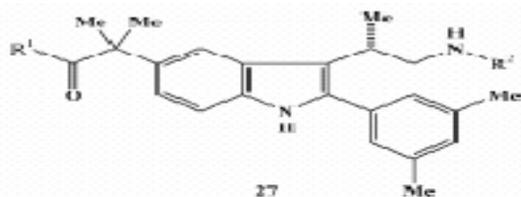
Propiedades biológicas del antagonista del receptor de GnRH (**258**)

Figura 35

A pesar de estas características favorables, la duración de la acción *in vivo* para este indol fue baja. Esto se atribuye en parte a los bajos niveles sistémicos de fármaco y a una rápida eliminación. Debido a que las posiciones 2 y 5 del indol ya han sido optimizadas para aumentar la potencia y sus propiedades farmacocinéticas, se investigó la relación estructura-actividad entre el heterociclo terminal y la cadena hidrocarbonada de la posición 3 del indol variando la longitud de la misma y reemplazando la piridina por otros heterociclos.

Los compuestos preparados contienen quinolinas e isoquinolinas con varias longitudes de cadena con el fin de mejorar las propiedades *in vivo* del indol **1** (Tabla 23). En la serie inicial, fueron sintetizadas 5-alkilquinolinas (**27a**, **27c** y **27d**) sin el metilo quiral. La comparación entre **27a** y **27b** reveló que el sustituyente (S)- β -metil aumentaba al doble la afinidad de enlace al receptor de GnRH. Los compuestos **27c** y **27d** fueron notablemente más potentes que **27a**, indicando una preferencia por las cadenas más largas (3 o 4 carbonos). Las siguientes quinolinas e isoquinolinas (**27e-m**) en la tabla 1 mostraron actividades *in vitro* similares (hPI IC₅₀ = 5-35 nM). El compuesto **27k**, el único con una cadena de 2 carbonos en la tabla 1, demostró tener la mejor afinidad de enlace al receptor de GnRH pero la actividad funcional fue menor que la esperada.

Para distinguir entre las moléculas con 2 y 4 átomos de carbono se obtuvieron datos farmacocinéticos (en perros) de los compuestos **27k** y **27m**. El compuesto con la cadena corta mostró grandes ventajas durante su comparación *in vivo*. Por ejemplo, la vida media plasmática de **27k** fue dos veces más alta (1.9 vs 1.0 h) la velocidad de excreción en plasma fue 10 veces menor (5.8 vs 49.2 mL/min/kg) y la biodisponibilidad oral fue 2 veces mayor que en **27m** (10 vs 4%).



| 27 | R ¹ | R ² | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | hPI IC ₅₀ (nM) ^b |
|----|----------------|----------------|---|---|
| a | | | 27.5 | 420 |
| b | | | 15.3 | 315 |
| c | | | 2.4 | 131 |
| d | | | 1.9 | 46.4 |
| e | | | 3.0 | 17.8 |
| f | | | 1.1 | 11.5 |
| g | | | 2.1 | 7.5 |
| h | | | 2.1 | 10.2 |
| i | | | 0.7 | 4.6 |
| j | | | 3.6 | 5.8 |
| k | | | 0.6 | 34.7 |
| l | | | 0.9 | 5.0 |
| m | | | 1.5 | 6.8 |

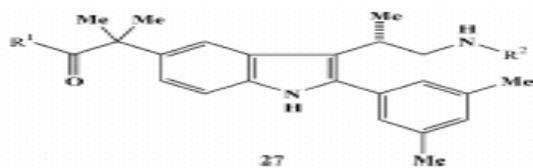
^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla 23

Posteriormente se estudiaron heterociclos más sofisticados tales como naftipiridinas **27n-o**, pirazinilpiridinas **27p-q** e imidazopiridina **27r**, las cuales mostraron resultados *in vitro* muy prometedores, a pesar de que no fue observada ninguna mejora en la potencia sobre las quinolinas e isoquinolinas (Tabla 23). Una ligera preferencia por la cadena de 4 carbonos fue observada en esta serie. Interesantemente, la imidazopiridina **27s**, unida a través de una cadena de 2 carbonos, demostró antagonismo funcional igual al de **27r**. Esto contrasta con lo observado en la serie de isoquinolinas **27k** y **27m**. El análogo de bencimidazol **27u** fue igual de potente que **27s**. Adicionalmente, las amidas de isoquinuclidina **27t** y **27v** fueron indistinguibles en términos de la potencia *in vitro* de las amidas de azanorbornano **27s** y **27u**. Variaciones en el heteroátomo del anillo de 5 miembros, incluyendo benzotiodiazol **27x**, benzoxazoles **27y**, **27z** y **27aa** e indazol **27bb**, proporcionaron ejemplos adicionales de antagonistas de GnRG funcionalmente potentes.

Debido a las atractivas propiedades de **27s-v**, se obtuvieron datos farmacocinéticos (en perros) de estos análogos. En general, los bencimidazoles son excretados del plasma más lentamente y tienen vidas medias más largas si son comparados con las imidazopiridinas. Este dato en parte proviene de la gran discrepancia en la biodisponibilidad oral entre **27v** y **27t** (63% y 16%, respectivamente).



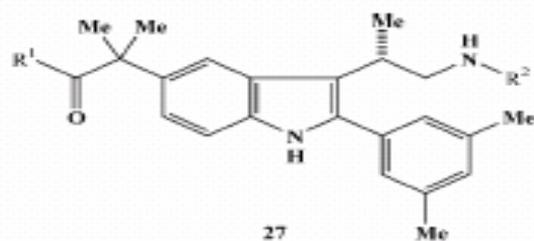
| 27 | R ¹ | R ² | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | hPI IC ₅₀ (nM) ^b |
|-----------|----------------|----------------|---|---|
| n | | | 1.1 | 16.2 |
| o | | | 0.6 | 8.4 |
| p | | | 0.8 | 10.9 |
| q | | | 0.4 | 7.9 |
| r | | | 0.4 | 4.6 |
| s | | | 0.4 | 2.5 |
| t | | | 0.3 | 4.5 |
| u | | | 0.4 | 2.6 |
| v | | | 0.3 | 4.5 |
| w | | | 16.5 | 43.9 |
| x | | | 0.5 | 11.4 |
| y | | | 0.4 | 2.0 |
| z | | | 0.6 | 3.9 |
| aa | | | 0.3 | 9.0 |
| bb | | | 1.1 | 1.5 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla 24

La potencia de los bencimidazoles **27ee-gg** (Tabla 25) apoyó la idea de que no se requieren sustituyentes básicos para el antagonismo funcional (fenoles y sulfonamidas) y que los grupos polares capaces de participar en enlaces de hidrógeno son bien tolerados. La benzimidazolinona **27hh** es un compuesto prometedor en términos de su potencia (PI: $IC_{50} = 2.0$ nM) pero carece de biodisponibilidad oral (5% en perros). La adición de un átomo de flúor a la benzimidazolinona (**27ii**) tuvo un impacto negativo en la actividad funcional. Finalmente, los derivados de benzotriazol **27jj**, **27kk** y **27ll** demostraron tener una buena actividad funcional, además de que **27kk** y **27ll** poseen una biodisponibilidad oral moderada (20 y 37% en perros, respectivamente), con una baja excreción plasmática (5.0 y 9.7 mL / min / kg, respectivamente) y vidas medias razonables (7.2 y 2.7 h, respectivamente).



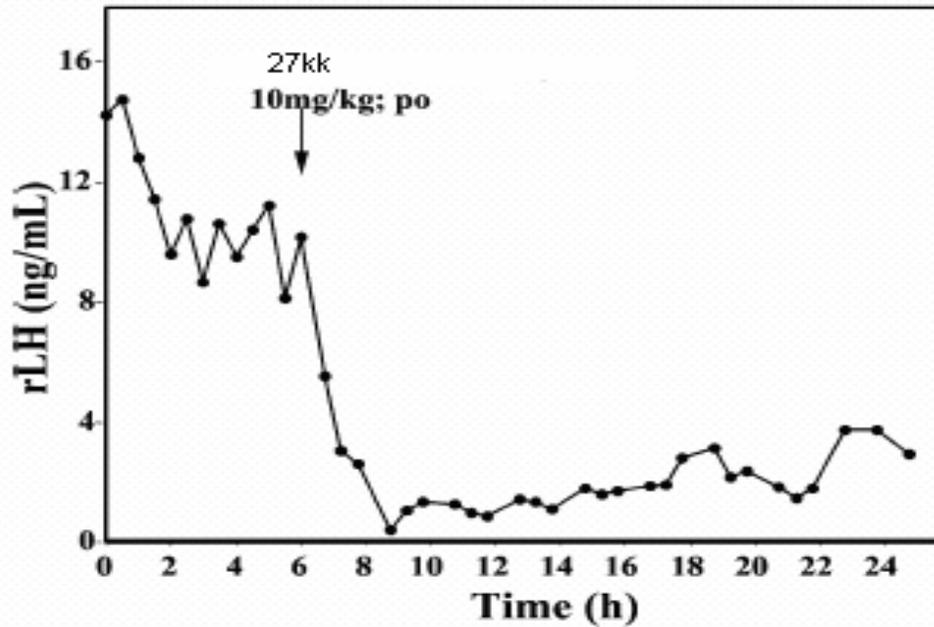
| 27 | R ¹ | R ² | hGnRH IC ₅₀ (nM) ^a | hPI IC ₅₀ (nM) ^b |
|----|----------------|----------------|---|---|
| cc | | | 0.4 | 13 |
| dd | | | 0.9 | 101 |
| ee | | | 0.3 | 7.6 |
| ff | | | 0.4 | 6.5 |
| gg | | | 0.7 | 5.0 |
| hh | | | 0.6 | 2.0 |
| ii | | | 0.7 | 27.9 |
| jj | | | 0.6 | 2.8 |
| kk | | | 0.3 | 2.5 |
| ll | | | 0.6 | 2.0 |

^a Inhibición del enlace entre [¹²⁵I]-buserelina y el receptor de GnRH de rata.

^b Inhibición de la hidrólisis del fosfatidilinositol estimulada por GnRH.

Tabla 25

El benzotriazol **27kk** probó ser eficaz en el ensayo de ratas castradas, el cual mide la capacidad de un antagonista de la GnRH para reducir los niveles circulantes de LH. En una rata intacta, los niveles de LH son pulsátiles y variables, mientras que en una rata castrada los niveles son más consistentes y elevados. Las primeras seis horas de experimento sirvieron para establecer el nivel basal de LH circulante para la rata en particular (Fig. 35). El compuesto **27kk** inhibió efectivamente la liberación de LH en un amplio intervalo de dosis orales (1, 5, 10 y 20 mg / kg). En un experimento representativo, una sola dosis oral a 10 mg / kg redujo sustancialmente los niveles plasmáticos de LH durante aproximadamente 14 horas.



Efecto de la administración oral del compuesto **27kk** (t = 6 h, indicado por la flecha) en la liberación de LH en una rata macho castrada.

Figura 36

6. *Investigaciones actuales*

A partir del año 2004 los antagonistas del receptor de GnRH, especialmente los indoles, han comenzado a utilizarse como chaperonas moleculares para corregir defectos en el plegamiento (formación de la estructura terciaria) de las proteínas.

En general, las chaperonas moleculares son proteínas residentes del retículo endoplásmico (RE) las cuales se unen a los polipéptidos recién creados para estabilizarlos y facilitar su correcto plegamiento⁽¹⁸³⁾. También contribuyen a esto previniendo la agregación o interacción incorrecta de proteínas mal plegadas con otras moléculas en un medio con una alta densidad como lo es el RE, evitando entonces que estas sean exportadas a otros compartimentos celulares⁽¹⁸³⁻¹⁸⁷⁾. Entonces, las chaperonas moleculares protegen a los polipéptidos nuevos contra interacciones potencialmente dañinas que puedan ocurrir durante las diferentes etapas del proceso de plegamiento (Figura 36). Si el polipéptido se pliega de manera incorrecta, este es destruido por los proteosomas⁽¹⁸⁸⁻¹⁹⁰⁾.

El proceso de control de calidad en el retículo endoplásmico involucra una gran variedad de mecanismos que aseguran que solo las proteínas plegadas correctamente entren a la vía de secreción. Entre estos se encuentran los mecanismos de selección de conformación, llevados a cabo por chaperonas moleculares que ayudan a las proteínas en su plegamiento y previenen que proteínas mal plegadas interactúen entre ellas.

Las chaperonas farmacológicas o “farmacoperonas” son moléculas que pueden prevenir o disminuir enfermedades induciendo a las proteínas mal plegadas a adoptar la conformación correcta. Todo este efecto se está estudiando tomando como modelo el receptor de GnRH, debido a que es el más conocido.

Se cree que la acumulación de proteínas mal plegadas es la responsable de algunas enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y mal de Parkinson, así como cataratas y diabetes mellitus tipo II. En estos padecimientos, las proteínas mal plegadas o fragmentos de ellas, se convierten de su conformación normal soluble, en agregados insolubles bien estructurados, conocidos como amiloides (β -amiloides en Alzheimer y α -sinucleína en el mal de Parkinson), los cuales están formados por estructuras de hojas β que se acumulan intra o extracelularmente⁽¹⁹¹⁻¹⁹⁵⁾.

Por esto se están buscando chaperonas moleculares de tipo indol, quinolonas y macrólidos que puedan corregir el plegamiento incorrecto de ciertas proteínas y así atacar los padecimientos antes mencionados.

Sin embargo, en este tipo de aplicaciones, es necesario que la farmacoperona sea más lipofílica y por tanto penetre fácilmente la membrana del RE y ejerza su acción. Por lo anterior otro objetivo de la síntesis de este tipo de compuestos es el de alcanzar dicha lipofilia y probarlos en modelos apropiados como el de la optimización del plegamiento del receptor de GnRH como se muestra en la figura 37.

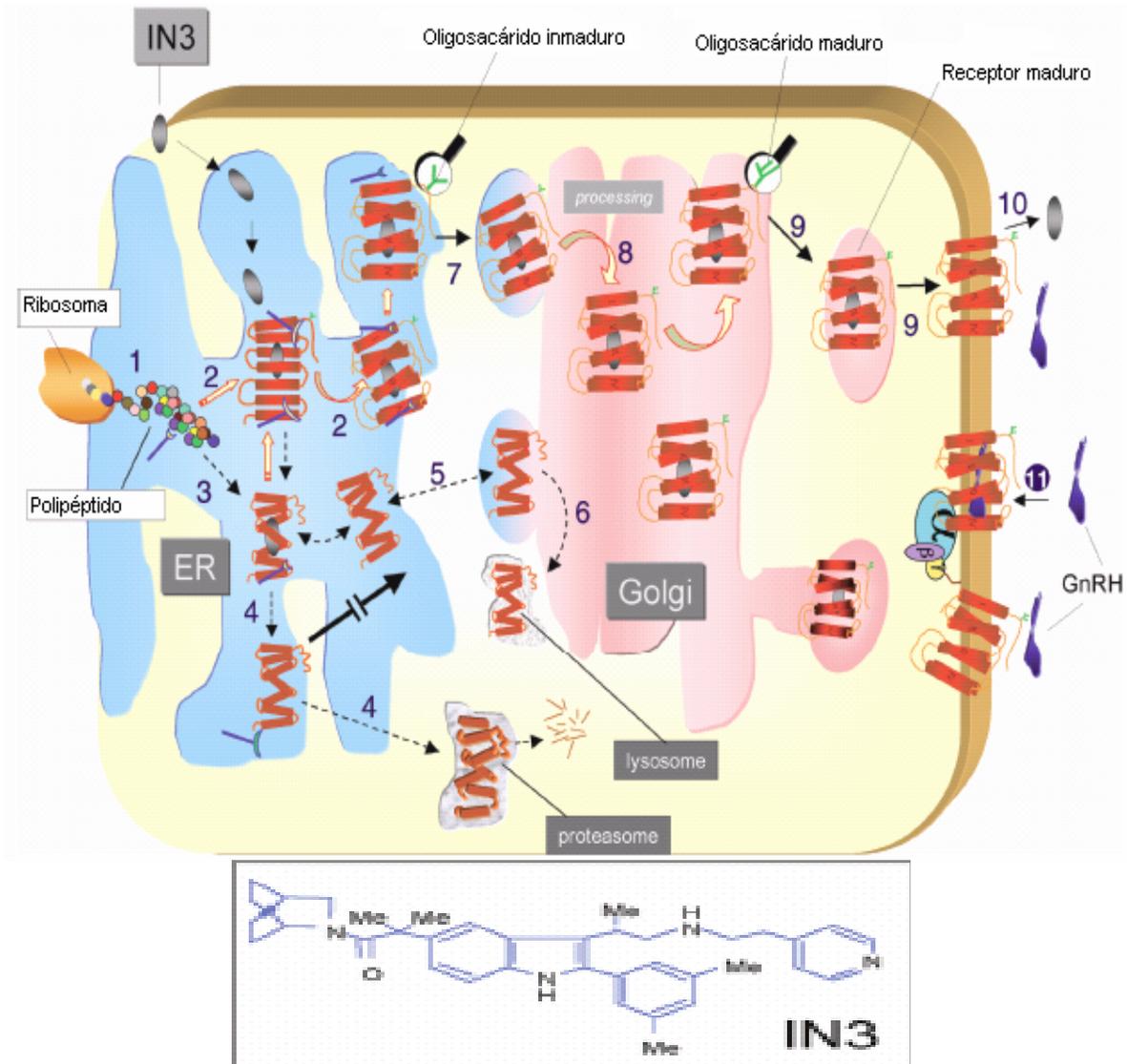


Figura 37: Control de calidad en el retículo endoplásmico (RE). Los polipéptidos recién sintetizados son trasladados al interior del RE (Paso 1). El plegamiento se facilita por la interacción entre el polipéptido nuevo y las chaperonas moleculares (Paso 2). Los productos mal ensamblados o mal plegados son retenidos en el RE y expuestos a las chaperonas residentes para tratar de plegarlos correctamente (Paso 3). Eventualmente, las proteínas mal plegadas serán degradadas en el citoplasma por proteosomas después de la disociación de las chaperonas (Paso 4). Alternativamente, las proteínas defectuosas pueden ser exportadas y retenidas en el aparato de Golgi para regresar de nuevo al RE, donde nuevamente se intentará plegarlas correctamente (Paso 5), o también pueden ser devoradas por los lisosomas para su degradación (Paso 6). Las proteínas plegadas correctamente son llevadas al aparato de Golgi (Paso 7) donde se completa su proceso de maduración (Paso 8). Después los productos maduros son trasladados a su destino final (ejemplo: la superficie de la membrana celular) (Paso 9). En presencia de chaperonas farmacológicas (ejemplo: IN3) el plegado y ensamblaje de una proteína defectuosa se ve favorecido durante etapas tempranas de su biosíntesis, así que puede escapar de la degradación, salir del RE y trasladarse a su destino final⁽¹⁹⁶⁻¹⁹⁹⁾. Las chaperonas moleculares se disocian en el RE, mientras que las chaperonas farmacológicas pueden permanecer asociadas⁽²⁰⁰⁾. Una vez que la proteína recién sintetizada (ejemplo: GnRHr) alcanza su destino, la farmacoperona se disocia (Paso 10) y permite la interacción del ligante (ejemplo: GnRH) con su sitio de unión en la proteína (Paso 11).

7. Conclusiones

A través de todo el proceso se ha obtenido una gran cantidad de información sobre los compuestos indólicos, con la cual se puede concluir lo siguiente:

- La amina básica es importante para el enlace con el receptor de GnRH.
- La afinidad se puede mantener o aumentar cambiando el puente alcoxi-etanolamina por una cadena de cuatro carbonos y el grupo 3,4-dimetoxifenil por un 3,5-dimetoxifenil.
- El grupo hidroxilo del fenol, el cual es propenso a una oxidación metabólica no deseada, puede ser reemplazado por otros grupos tales como metanosulfonamida.
- Pueden obtenerse potentes actividades de enlace si se sustituye el indol en la posición 5, particularmente con piperazinas y carboxamidas.
- El fenol puede ser reemplazado con anillos alternativos.
- La adición de un sustituyente (S)- β -metil al indol ayuda en la mejora de las propiedades farmacocinéticas.

Los compuestos **33-38** representan el avance en la optimización de los indoles 2,3,5-trisustituídos aplicados como antagonistas del receptor de GnRH. El compuesto **38** exhibe alta potencia *in vitro* en los ensayos funcionales y de enlace y buena biodisponibilidad oral en perros. Desgraciadamente, su tiempo de acción *in vivo* es corto como resultado de bajos niveles sistémicos del fármaco y rápida excreción. Mayor optimización produjo el compuesto **40**, el cual presenta una biodisponibilidad mayor al 20% en perros y humanos.

Existen muchas aplicaciones terapéuticas para los antagonistas del receptor de GnRH en el tratamiento de desordenes reproductivos y cáncer. Los datos clínicos confirman la eficacia de los antagonistas del receptor de GnRH en condiciones reproductivas (endometriosis, fibroides, HPB) y en cáncer (próstata, mama, endometrial, ovárico) lo cual los hace un objetivo atractivo para la investigación en química medicinal y farmacología.

El cáncer, especialmente el de próstata, representa un área donde los antagonistas del receptor de GnRH han sido utilizados de manera exitosa. El cáncer de próstata representa el segundo tipo de cáncer más común en hombres después del cáncer de pulmón y es la segunda causa de muertes por cáncer en hombres a nivel mundial. La aplicación clínica de los antagonistas del receptor de GnRH en el tratamiento del cáncer de próstata ha permitido su uso en otros tipos de cáncer dependiente de hormonas, tales como cáncer de mama y de ovario. Más aún, el rápido crecimiento de tales padecimientos y el tamaño del mercado en el que se pueden comercializar proveen de una inmensa oportunidad a los antagonistas no peptídicos del receptor de GnRH.

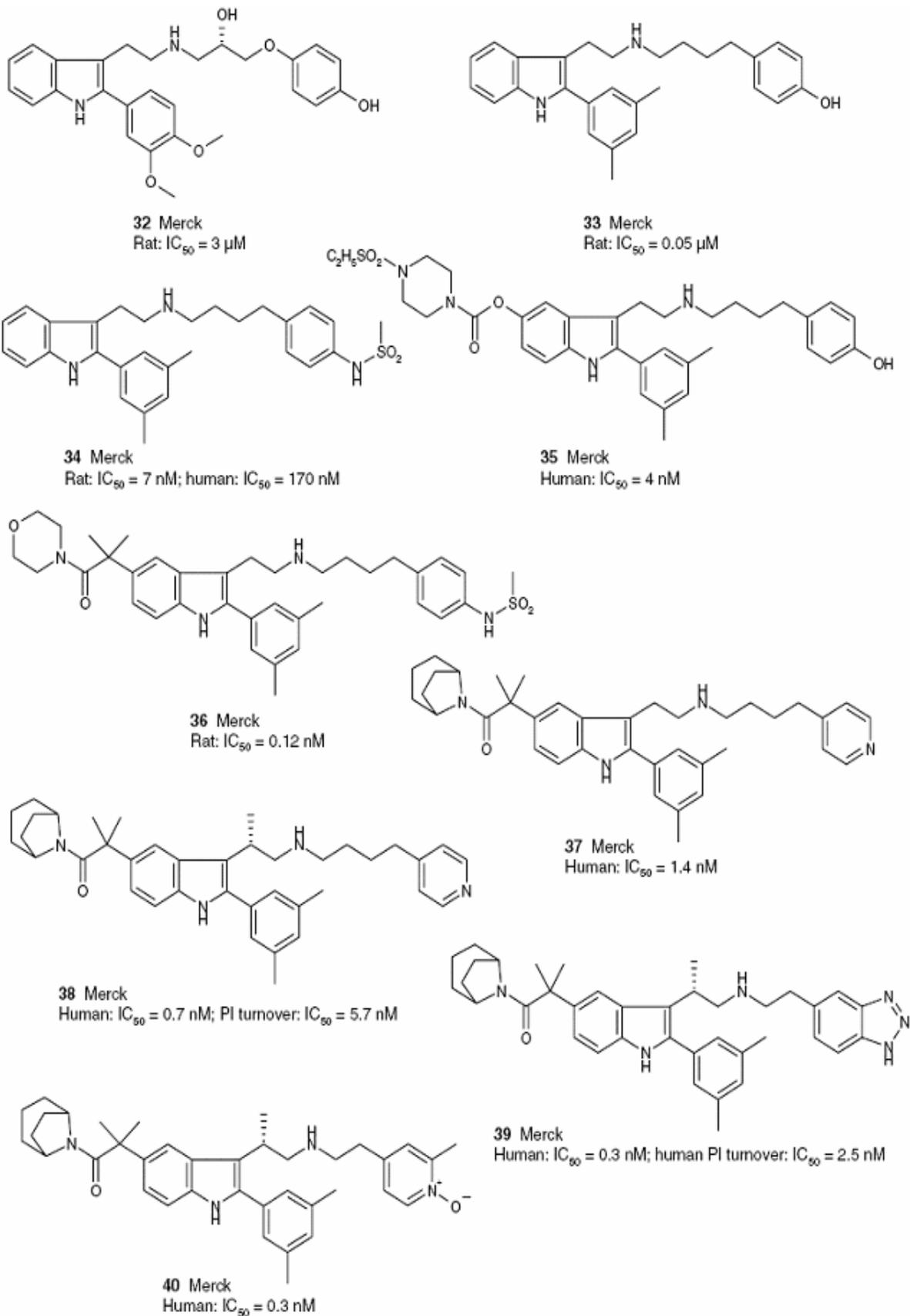


Figura 38: Proceso de optimización realizado por Merck de los antagonistas basados en indoles

8. *Glosario*

Actividad gametogénica: Es la producción de espermatozoides y óvulos por parte de los testículos y ovarios respectivamente.

Activina: Es un péptido dimérico constituido por dos unidades b de la inhibina (268 aminoácidos). Estimula la secreción hipofisiaria de FSH.

Agonista: Compuesto de estructura semejante a la del agente fisiológico (hormona, neurotransmisor) con capacidad para unirse al receptor y provocar respuesta.

Anemia sideropénica: Es una deficiencia real de hierro en todo el organismo.

Antagonista: Compuesto de estructura semejante a la del agente fisiológico que se fija al receptor, pero no produce respuesta.

Apoptosis: La apoptosis es uno de los principales tipos de muerte celular programada. Como tal es un conjunto de reacciones bioquímicas que ocurre en las células de un organismo pluricelular, encaminadas a producir la muerte de la célula de manera controlada.

Capilares fenestrados anterohipofisarios: Son los vasos sanguíneos de pared más delgada situados en la parte anterior de la hipófisis, a través de los cuales se verifica el intercambio de gases y nutrientes. Su estructura es la misma que la de un capilar normal, pero se diferencian en que sus células endoteliales presentan, en su citoplasma, poros denominados fenestras.

Al microscopio electrónico se ve que la fenestra presenta un diafragma que cierra el poro, que tiene un engrosamiento en su zona central. El diámetro de la fenestra es de 800 Å, y el diafragma está formado por un engrosamiento del que surgen 8 fibras que radian hacia los extremos de la fenestra, que actúan a modo de filtro. Dejan entre ellas un espacio de 5.5 nm.

Células basófilas gonadotropas: Son células que sintetizan gonadotropinas que se tiñen con colorantes básicos.

Células de Leydig: Son un tipo de células que sólo se encuentran en el hombre, localizadas en el testículo. Estas células son las encargadas de producir testosterona, que es la hormona sexual más importante en el hombre. Ello se produce por un estímulo procedente desde la hipófisis vía sanguínea, que es la hormona LH, la cual, al unirse a su receptor de membrana en las células de Leydig producirá un aumento de la concentración de AMPc en el citoplasma, que como consecuencia producirá la expresión de unos genes a proteínas, las cuales son las enzimas que catalizan las reacciones desde colesterol a testosterona. Por lo tanto, la fuente principal de testosterona en el hombre será a partir de las células de Leydig. Fueron descubiertas en el año 1850 por Franz Leydig, al que deben su nombre.

Células tecales: Células del estroma que forman una cubierta de teca fuera de la lámina basal, revistiendo el folículo ovárico maduro. La teca intersticial o células estromales son esteroideogénicas y producen principalmente andrógenos, que sirven como precursores de los estrógenos en las células granulosas.

Disuria: Es la expulsión (micción) difícil, dolorosa e incompleta de la orina.

Fases del desarrollo de medicamentos: Para que un fármaco salga al mercado tiene que pasar por 3 fases, la *fase I* se refiere a la primera introducción de un medicamento en seres humanos. Generalmente se estudian individuos normales para determinar a qué niveles de uso del medicamento se observa toxicidad. A continuación, se realizan otros estudios de dosis-respuesta en pacientes, para determinar la seguridad del medicamento y, en algunos casos, indicios iniciales de su efecto.

Los estudios *fase II* consisten en ensayos clínicos controlados diseñados para demostrar la eficacia y la seguridad relativa. Generalmente, se llevan a cabo en un número limitado de pacientes estrechamente vigilados.

Los ensayos *fase III* se realizan después de establecerse una probabilidad razonable de eficacia del medicamento y tienen como objetivo obtener información adicional de su eficacia para aplicaciones específicas y una definición más precisa de los efectos adversos asociados al medicamento. Esta fase incluye estudios controlados y no controlados.

Los ensayos de la *fase IV* se realizan después de que el organismo nacional de registro de medicamentos haya aprobado un medicamento para su distribución o comercialización. Estos ensayos pueden incluir investigación destinada a explorar un efecto farmacológico específico, a establecer la frecuencia de reacciones adversas o a determinar los efectos de la administración a largo plazo de un medicamento. Los ensayos de la fase IV pueden también estar diseñados para evaluar un medicamento en una población que no se ha estudiado adecuadamente en las fases de precomercialización (como los niños o los ancianos) o para establecer una nueva indicación clínica para un medicamento. Este tipo de investigación debe distinguirse de la que se realiza con fines de comercialización, de los estudios para la promoción de las ventas y de la vigilancia epidemiológica rutinaria para detectar reacciones adversas a los medicamentos; la diferencia es que estas últimas categorías por regla general no necesitan ser evaluadas por comités de ética.

FSH: Hormona foliculo estimulante.

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas.

GnRHR: Receptor de la hormona liberadora de gonadotropinas

Gonadotropos adenohipofisarios: Son células localizadas en la hipófisis que sintetizan gonadotropinas y que pueden ser basófilas o acidófilas.

Granulosa: Es una célula somática asociada con el desarrollo del gameto femenino (llamado oocito o huevo) en los ovarios de los mamíferos. Su principal función es la producción de esteroides y factores de crecimiento que interactúan con el oocito durante su desarrollo.

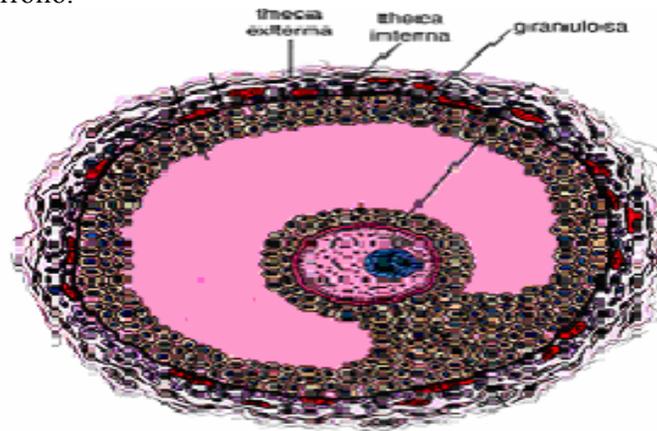


Figura 39: Folículo ovárico

Hematuria terminal: Es la expulsión de sangre en los momentos finales de la micción y su origen generalmente es prostatovesical.

Hidrólisis del fosfatidilinositol (PI) estimulada por GnRH: Mecanismo de transducción de señal catalizado por la enzima fosfolipasa C cuyo propósito es formar dos segundos mensajeros, diacilglicerol (DAG) e inositol-1, 4,5-trifosfato (IP3).

IC₅₀ : Es la concentración de fármaco necesaria para inhibir al 50% su objetivo (enzima, célula, receptor celular o microorganismo).

Inhibina: Es un péptido formado por dos subunidades de 230 y 134 aminoácidos producido por el cuerpo lúteo del ovario. Inhibe la secreción de GnRH y de FSH y, en menor extensión, de LH.

Intersticio: Es un tejido conectivo que contiene algunas células especializadas en la producción de hormonas masculinas androgénicas.

Laparoscopia: La laparoscopia es la visión de la cavidad pélvica-abdominal a través de un tubo (óptica) que contiene un sistema de lentes. A éste se le conecta una fibra óptica que transmite la luz generada en una fuente externa, para iluminar la cavidad. Habitualmente se acopla una cámara para transmitir la imagen a un monitor.

Laparotomía: es una cirugía que se hace con el propósito de abrir, explorar y examinar para tratar los problemas que se presenten en el abdomen.

LH: Hormona luteinizante.

Mioma pediculado: Son tumores no cancerosos que se adhieren o se desarrollan dentro de la pared del útero, cuando cuelgan de un tallo largo que está adherido al exterior del útero, se denominan miomas pediculados.

Músculo detrusor: Es el músculo liso de la vejiga con fibras distribuidas en espiral que dan lugar a una contracción coordinada.

Neoplasia: Este término suele usarse genéricamente como sinónimo de tumor, pero sólo en el sentido de cualquier proceso que implique proliferación celular excesiva.

Nicturia: Es la emisión excesiva de orina durante la noche.

Poliaquiuria: Es la necesidad excesiva de orinar.

Prostatectomía radical: Es el procedimiento quirúrgico mediante el cual se retira completamente la glándula prostática, la vesícula seminal y el vaso deferente, así como los tejidos que rodean esta área (incluyendo el cuello de la vejiga). La vejiga es luego conectada quirúrgicamente a la uretra.

Reacciones anafilácticas: Se habla de anafilaxia o reacción anafiláctica cuando, como consecuencia de la entrada en el organismo de un alérgeno, se produce una reacción generalizada que afecta a varios órganos y sistemas, y no únicamente a la zona a través de la cual el alérgeno penetra en el organismo. La reacción suele producirse tan sólo unos pocos minutos tras el contacto con la sustancia responsable.

Receptores alfa-adrenérgicos: Son los receptores de adrenalina y de noradrenalina que se encuentran prácticamente en todas las células del cuerpo humano.

Receptores acoplados a proteína G: Son receptores acoplados a proteínas integrales de membrana que forman una de las familias más extensas de proteínas transductoras de señal y se destacan por su participación en un gran número de procesos fisiológicos. Estos receptores presentan una estructura molecular común de 7 hélices transmembrana unidas por lazos intracelulares y extracelulares, contienen además un bolsillo de unión situado en las proximidades del centro de la bicapa donde tiene lugar la unión de muchos tipos de ligantes. Estas proteínas responden a una gran variedad de estímulos, incluyendo señales sensoriales, hormonas y neurotransmisores. Son los responsables en muchos casos del control de la actividad enzimática, de los canales iónicos y del transporte vesicular. El proceso de transducción de señal de estos receptores es a través de proteínas G, es decir, proteínas heterotriméricas que tienen unido un nucleótido de guanidina, y es por ello que reciben su denominación característica. Recíprocamente, la proteína G es activada exclusivamente por receptores de siete hélices. Las proteínas G constan de tres tipos de subunidades: α , β y γ . La subunidad α es el componente de fijación del nucleótido de guanina y se cree que interacciona indirectamente con el receptor a través de las subunidades β y γ . La mayoría de los transductores de receptores en la membrana celular son proteínas G (Figura 40).

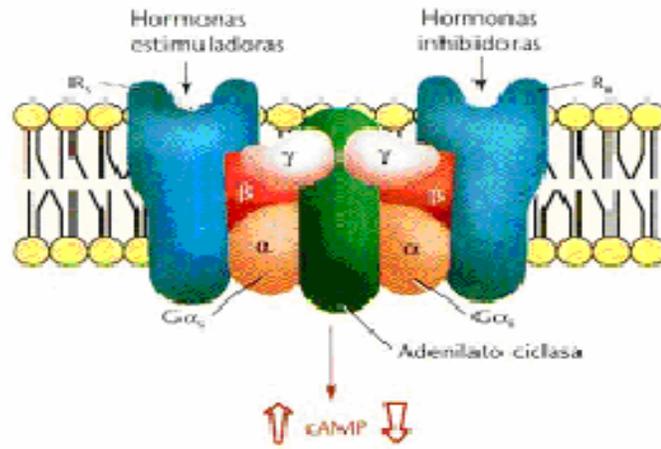


Figura 40: Proteína G

Teca: Capa de células poligonales secretoras de andrógenos.

Tenesmo vesical: Es un deseo imperioso de orinar que obliga a intentarlo constantemente sin conseguirlo.

9. Bibliografia

1. American Cancer Society: *Detailed Guide: prostate cancer* (2007).
2. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005, **20**, 353(16), 1659-72.
3. Casini ML, Rossi F, Agostini R, Unfer V. Effects of the position of fibroids on fertility. *Gynecol Endocrinol.* 2006, **22**(2), 106-9.
4. Hansen KA, Eyster KM. A review of current management of endometriosis in 2006: an evidence-based approach. *S D Med.* 2006, **59**(4), 153-9.
5. Medina JJ, Parra RO, Moore RG. Benign prostatic hyperplasia (the aging prostate). *Med Clin North Am.* 1999, **83**(5), 1213-29.
6. Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ: Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. *Endocr. Rev.* 1994, **15**, 462-499.
7. Kaiser UB, Conn PM, Chin WW: Studies of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor expressing pituitary cell lines. *Endocr. Rev.* 1997, **18**, 46-70.
8. Conn PM, Crowley WF: Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *N. Engl. J. Med.* 1991, **324**, 93-103.
9. Ravinobici J, Rothman P, Monroe SE, Nerenberg C, Jaffe RB: Endocrine effects and pharmacokinetic characteristics of a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) with mionbimal histamine-releasing properties: studies in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992, **75**, 1220-1225.
10. Diecrich K, Diedrich C, Santos E, et al.: Suppression of the endogenous LH-surge by the LH-RH antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum. Reprod.* 1994, **9**, 788-791.
11. Fujimoto VY, Monroe SE, Nelson LR, Downey D, Jaffe RB: Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. *Fertil. Steril.* 1997, **67**, 469-473.
12. Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmuller-Winzen H, VAN Steirteghem A, Devroey P: Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil. Steril.* 1997, **67**, 917-922.
13. Felberbaum RE, Reissmann T, Kuepker W, et al.: Preserved pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetrorelix) in women with tubal infertility. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1995, **61**, 151-155.
14. Chu, L.; Hutchins, J. E.; Weber, A. E.; Lo, J.-L.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G.; Fisher, M. H.; Wyvratt, M. J.; Goulet, M. T. Initial structure-activity relationship of a novel class of nonpeptidyl GnRH receptor antagonists: 2-arylindoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 509-513.
15. Chu, L.; Lo, J.-L.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G.; Fisher, M. H.; Wyvratt, M. J.; Goulet, M. T. SAR studies of novel 5-substituted 2-arylindoles as nonpeptidyl GnRH receptor antagonists *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 515-517.
16. Lin, P.; Marino, D.; Lo, J.-L.; Yang, Y.-T.; Cheng, K.; Smith, R. G.; Fisher, M. H.; Wyvratt, M. J.; Goulet, M. T. 2-(3,5-dimethylphenyl)tryptamine derivatives that bind to the GnRH receptor *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 1073-1076.

17. Cho, N.; Harada, M.; Imaeda, T.; Imada, T.; Matsumoto, H.; Hayase, Y.; Sasaki, S.; Furuya, S.; Suzuki, N.; Okubo, S.; Ogi, K.; Endo, S.; Onda, H.; Fujino, M. Discovery of a Novel, Potent, and Orally Active Nonpeptide Antagonist of the Human Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) Receptor *J. Med. Chem.* 1998, **41**, 4190-4195.
18. DeVita, R. J.; Hollings, D. D.; Goulet, M. T.; Wyvratt, M. J.; Fisher, M. H.; Lo, J.-L.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G. Identification and Initial Structure-Activity Relationships of a Novel Non-Peptide Quinolone GnRH Receptor Antagonist. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, **9**, 2615-2620.
19. Walsh, T. F.; Toupence, R. B.; Young, J. R.; Huang, S. X.; Ujjainwalla, F.; DeVita, R. J.; Goulet, M. T.; Wyvratt, M. J., Jr.; Fisher, M. H.; Lo, J.-L.; Ren, N.; Yudkovitz, J. B.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G. Potent antagonists of gonadotropin releasing hormone receptors derived from quinolone-6-carboxamides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000, **10**, 443-447.
20. Web de la Sociedad Española de Oncología Médica.
21. A. V. Schally, S. M. McCann. The Privileges of a Nobel Laureate. *Fertil. Steril.* 1995, **64**, 452-453.
22. Schally, A. V.; Arimura, A.; Kastin, A. J.; Matsuo, H.; Baba, Y.; Redding, T. W.; Nair, R. M. G.; Debeljuk, L.; White, W. F. Gonadotropin-Releasing Hormone: One Polypeptide Regulates Secretion of Luteinizing and Follicle-Stimulating Hormones. *Science* 1971, **173**, 1036-1038.
23. Matsuo, H.; Baba, Y.; Nair, R. M. G.; Arimura, A.; Schally, A. V. Structure of the Porcine LH- and FSH-Releasing Hormone: The Proposed Amino Acid Sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971, **43**, 1334-1339.
24. Amoss, M.; Burgus, R.; Blackwell, R.; Vale, W.; Fellows, R.; Guillemin, R. Purification, Amino Acid Composition and *N*-Terminus of the Hypothalamic Luteinizing Hormone Releasing Factor (LRF) of Ovine Origin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971, **44**, 205-210.
25. Baba, Y.; Matsuo, H.; Schally, A. V. Structure of the Porcine LH- and FSH-Releasing Hormone II. Confirmation of the Proposed Structure by Conventional Sequential Analyses. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971, **44**, 459-463.
26. Filicori, M.; Flamigni, C. GnRH Agonists and Antagonists: Current Clinical Status. *Drugs* 1988, **35**, 63-82.
27. G. Emons, A. V. Schally, The use of luteinizing hormone releasing hormone agonists and antagonists in gynaecological cancers *Hum. Reprod.* 1994, **9**, 1364-1379.
28. Kutscher, B., Bernd, M., Beckers, T., Polymeropoulos, E. E., and Engel, J. Chemistry and molecular biology in the search for new LH-RH antagonists. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, **36**, 2148-2161.
29. M. Justisz, A. Starzec, M. Corbani, R. Counis, Synthesis of gonadotrophins and its regulation in the pituitary gland *Human Reprod.* 1988, **3**, 485-489.
30. Clayton RN, Catt KJ, Gonadotropin-releasing hormone receptors: characterization, physiological regulation, and relationship to reproductive function. *Endocr Rev.* 1981, **2**, 186-209.
31. Hazum E, Conn PM, Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone (GnRH) action. I. The GnRH receptor. *Endocr Rev.* 1988, **9**, 379-386.
32. Conn PM, Janovick JA, Stanislaus D, Kuphal D, Jennes L. Molecular and cellular bases of gonadotropin-releasing hormone action in the pituitary and central nervous system. *Vitam Horm.* 1995 **50**, 151-214.
33. Huckle WR, Conn PM, Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone action. II. The effector system. *Endocr Rev.* 1988, **9**, 387-395.

34. Naor Z, Signal transduction mechanisms of Ca²⁺ mobilizing hormones: the case of gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev.* 1990, **11**:326–353.
35. Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ, Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. *Endocr Rev.* 1994, **15**, 462–499.
36. Stojilkovic SS, Catt KJ, Novel aspects of GnRH-induced intracellular signaling and secretion in pituitary gonadotrophs. *J Neuroendocrinol.* 1995, **7**, 739–757.
37. Stojilkovic SS, Catt KJ, Expression and signal transduction pathways of gonadotropin-releasing hormone receptors. *Recent Prog Horm Res.* 1995, **50**, 161–205.
38. Ballesteros JA, Weinstein H, Integrated methods for the construction of three-dimensional models and computational probing of structure-function relations in G protein-coupled receptors. *Methods Neurosci.* 1995, **25**, 366–428.
39. Zhou W, Flanagan C, Ballesteros JA, Konvicka K, Davidson JS, Weinstein H, Millar RP, Sealson SC, A reciprocal mutation supports helix 2 and helix 7 proximity in the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Mol Pharmacol.* 1994, **45**, 165–170.
40. Schally AV. Hypothalamic hormones from neuroendocrinology to cancer therapy. *Anticancer Drugs*, 1994, **5**, 115–130.
41. Emons G & Schally AV. The use of luteinizing hormone-releasing hormone agonists and antagonists in gynecological cancers. *Human Reproduction*, 1994, **9**, 1364–1379.
42. Friess H, Buchler M, Kiesel L, Kruiger M & Beger HG. LHRH receptors in the human pancreas. Basis for antihormonal treatment in ductal carcinoma of the pancreas. *International Journal of Pancreatology*, 1991, **10**, 151–159.
43. Baumann KH, Kiesel L, Kaufmann M, Bastert G & Runnebaum B. Characterization of binding sites for a GnRH-agonist (buserelin) in human breast cancer biopsies and their distribution in relation to tumor parameters. *Breast Cancer Research and Treatment*, 1993, **25**, 37–46.
44. Dondi D, Limonta P, Moretti RM, Marelli MM, Garattini E & Motta M. Antiproliferative effects of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonists on human androgen-independent prostate cancer cell line DU 145: evidence for an autocrine-inhibitory LHRH loop. *Cancer Research*, 1994, **54**, 4091–4095.
45. Kakar SS, Musgrove LC, Devor DC, Sellers JC & Neill JD. Cloning, sequencing, and expression of human gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1992, **189**, 289–295.
46. Chi L, Zhou W, Prikhozan A, Flanagan C, Davidson KJS, Golembo M et al. Cloning and characterization of the human gonadotropin-releasing hormone receptor. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1993, **91**, R1–R6.
47. Loop SM, Gorder CA, Lewis SM, Saiers JH, Drivdahl RH & Ostenson RC. Growth inhibition of human prostatic cancer cells by an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Prostate*, 1995, **26**, 179–188.
48. Gründker C & Emons G. GnRH – mechanisms of action. In GnRH Analogues, *The State of the Art at the Millennium*, pp 95–120. Ed. B Lunenfeld. Carnforth: Publicaciones Parthenon 1999.
49. Imai A, Ohno T, Iida K, Fuseya T, Furui T & Tamaya T. Gonadotropin releasing hormone receptors in gynecological tumors. *Cancer*, 1994, **74**, 2555–2561.
50. Imai A, Ohno T, Iida K, Fuseya T, Furui T & Tamaya T. Presence of gonadotropin-releasing hormone receptor and its messenger ribonucleic acid in

- endometrial carcinoma and endometrium. *Gynecologic Oncology*, 1994, **55**, 114–118.
51. Irmer G, Bürger C, Müller R, Ortmann O, Peter U, Kakar S et al. Expression of the messenger RNAs for luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and its receptor in human ovarian epithelial carcinoma. *Cancer Research*, 1995, **55**, 817–822.
 52. Emons G, Schröder B, Ortmann O, Westphalen S, Schulz KD & Schally AV. High affinity binding and direct antiproliferative effects of luteinizing hormone-releasing hormone analogs in human endometrial cancer cell lines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1993, **77**, 1458–1464.
 53. Kakar SS, Grizzle WE & Neill JD. The nucleotide sequence of human GnRH receptors in breast and ovarian tumors are identical with that found in pituitary. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1994, **106**, 145–149.
 54. Fekete M, Wittliff JL & Schally AV. Characteristics and distribution of receptors for [D-Trp⁶]-luteinizing hormone-releasing hormone, somatostatin, epidermal growth factor and sex steroids in 500 biopsy samples of human breast cancer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 1989, **3**, 137–147.
 55. Sealfon SC, Weinstein H, Millar RP. Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Endocr. Rev.* 1997, **18**, 180-205.
 56. Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *N. Engl. J. Med.* 1991, **324**, 93-103.
 57. Karten MJ, Rivier JE. Gonadotropin-releasing hormone analog design. Structure-function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. *Endocr. Rev.* 1986, **7**, 44-66.
 58. Rabonovici J, Rothman P, Monroe SE, Nerenberg GC, Jaffe RB. Endocrine effects and pharmacokinetic characteristics of a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) with mionbimal histamine-releasing properties: studies in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992, **75**, 1220-1225.
 59. Nestor JJ, Tahilramani R, Ho TL, Goodpasture JC, Vicker BH, Ferrandon B. Potent gonadotropin releasing hormone antagonists with reduced histamine-releasing activity. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 3942-3948.
 60. Diedrich K, Diedrich C, Santos E *et al.* Suppression of the endogenous LH-surge by the LH-RH antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum. Reprod.* 1994, **9**, 788-791.
 61. Nelson LR, Fujimoto VY, Jaffe RB, Monroe SE. Suppression of follicular phase pituitary-gonadal function by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist with reduced histamine-relasing properties (ganirelix). *Fertil. Steril.* 1995, **63**, 963-969.
 62. Rivier J, Jiang GC, Lahrchi SL *et al.* Dose relationship between GnRH antagonists and pituitary suppression. *Hum. Reprod.* 1996, **11**(Suppl. 3),133-147.
 63. Fujimoto VY, Monroe SE, Nelson LR, Downey D, Jaffe RB. Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. *Fertil. Steril.* 1997, **67**, 469-473.
 64. Chillik C, Acosta A. The role of LHRH agonists and antagonists. *Reprod. Biomed. Online*, 2001, **2**, 120-128.
 65. Howles C. The place of gonadotropin-releasing hormone antagonists in reproductive medicine. *Reprod. Biomed. Online*, 2002, **4**(Suppl. 3), 64-71.

66. Kuepker W, Felberbaum R, Krapp M, Schill T, Malik E, Diedrich K. Use of GnRH-antagonists in the treatment of endometriosis. *Reprod. Biomed. Online* 2002, **5**, 12-16.
67. Gruber, CJ, Tschuggel, W, Scheenberger, C, Huber, J. Production and action of estrogens. *N. Engl. J. Med.* 2002, **346**, 340-347.
68. Simpson ER, Davis SR. Minireview: aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis: Some new perspectives. *Endocrinology.* 2001, **142**, 4589-94.
69. Santen, R. To block estrogen's synthesis or action: That is the question. *J Clin Endocr Metab*, 2002, **87**, 3007-3012.
70. Emens LA, Davidson NE. Adjuvant hormonal therapy for premenopausal women with breast cancer. *Clin Cancer Res.*, 2003, **9**, 486S-94S.
71. A.V. Schally, A.M. Comaru-Schally, Hypothalamic and Other Peptide Hormones, in: J.F. Holland, E. Frei, III, R.C. Bast, Jr., D.E. Kufe, D.L. Morton, R.R. Weichselbaum, (Eds.), *Cancer Medicine*, 4th Edition, Williams and Wilkins Publishers, Baltimore, MD, 1997, pp. 1067–1086.
72. A.V. Schally, The use of LH-RH analogues in Gynaecology and Tumour Therapy, in: Belfort, P., Pinotti, J.A., Eskes, T.K.A.B. (Eds.) *Advances in Gynaecology and Obstetrics, General Gynaecology.*, Vol. 6, Carnforth, England, Parthenon Publishing, 1989, pp. 3–20.
73. T.H. Reissmann, J. Engel, B. Kutscher, M. Bernd, P. Hilgard, M. Peukert, I. Szelenyi, S. Reichert, D. Gonzalez-Barcena, E. Nieschiag, A.M. Comaru-Schally, A.V. Schally, *Drugs of the Future* 1994, **19**, 228–237.
74. T.W. Redding, A.V. Schally, Inhibition of mammary tumour growth in rats and mice by administration of agonistic and antagonistic analogues of luteinizing hormone- releasing hormone, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1982, **80**, 1459–1462.
75. B. Szende, G. Srkalovic, K. Groot, K. Lapis, A.V. Schally, Growth inhibition of mouse MXT mammary tumour by the luteinizing hormone-releasing hormone antagonist SB-75, *J. Natl. Cancer Inst.* 1990, **82**, 513–517.
76. T. Yano, J. Pinski, K. Szepeshazi, G. Halmos, S. Radulovic, K. Groot, A.V. Schally, Inhibitory effect of bombesin/ gastrin releasing peptide (GRP) antagonist RC-3095 and LH-RH antagonist SB-75 on growth of MCF-7 MIII human breast cancer xenografts in athymic nude mice, *Cancer*, 1994, **73**, 1229–1238.
77. Leitzmann MF, Platz EA, Stampfer MJ, Willett WC, Giovannucci E. Ejaculation frequency and subsequent risk of prostate cancer. *Journal JAMA*, 2004, **291**, 1578-1586.
78. Ward JF, Zincke H. Radical prostatectomy for the patient with locally advanced prostate cancer. *Journal Curr. Urol. Rep.* 2003, **4**, 196-204.
79. Medina JJ, Parra RO, Moore RG. Benign prostatic hyperplasia (the aging prostate). *Med. Clin. North. Am.* 1999, **83(5)**, 1213-29.
80. Oesterling JE. Benign prostatic hyperplasia: Medical and minimally invasive treatment options. *N Engl J Med*, 1995, **332(2)**, 99-109.
81. McConnell JD, Prostatic growth: new insights into hormonal regulation. *Br. J. Urol.* 1995, **76**, 5-10.
82. McConnell JD, Wilson JD, George FW, Geller J, Pappas F, Stoner E, Finasteride, an inhibitor of 5 α -reductase, suppress prostatic dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992, **74**, 505-508.
83. Casini ML, Rossi F, Agostini R, Unfer V. Effects of the position of fibroids on fertility. *Gynecol Endocrinol.* 2006, **22(2)**, 106-9.

84. Anonymous: Leuprorelin and triptorelin: new indication. Preoperative treatment of uterine leiomyoma: no proven value. *Prescrire Int.* 2001, **10**, 73-77.
85. Russo P, Ciulli P, Atlante M, Carico E *et al.* Clinical use of leuprolide acetate depot in a group of gynecological patients in the preoperative period. *Minerva Ginecologica*, 1998, **50**, 499-502.
86. Compston JE, Yamaguchi K, Croucher PI, Garrahan N, Lindsay PC, Shaw RW The effects of gonadotropin-releasing hormone agonists on iliac crest cancellous bone structure in women with endometriosis. *Bone*, 1995, **16**, 261-267.
87. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, Rivier J, Vale W, Yen SS. Rapid regression of uterine leiomyomas in response to daily administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil. Steril.* 1993, **60**, 642-645.
88. Felberbaum RE, Germer U, Ludwig M *et al.*: Treatment of uterine fibroids with a slow-release formulation of the gonadotrophin releasing hormone antagonist cetrorelix. *Hum. Reprod.* 1998, **13**, 1660-1668.
89. Felberbaum RE, Kupker W, Krapp W, Gehl B, Ludwig M, Diedrich K: Preoperative reduction of uterine fibroids in only 16 days by administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist (Cetrotide). *Reprod. Biomed. Online* 2001, **3**, 14-18.
90. Yano T, Minaguchi H, Taketani Y *et al.*: Cetrorelix in the treatment of uterine leiomyomas. *Gynecol. Endocrinol.* 2001, **15**, 46.
91. De Blok S, Oberye J: Rapid reduction of leiomyoma volume during treatment with the GnRH antagonist ganirelix. *Gynecol. Endocrinol.* 2001, **15**, 22.
92. Hansen KA, Eyster KM. A review of current management of endometriosis in 2006: an evidence-based approach. *SD Med.* 2006, **59(4)**, 153-9.
93. Adamson GD, Pasta DJ. Surgical treatment of endometriosis-associated infertility: meta-analysis compared with survival analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1994, **171(6)**, 1488-504.
94. Kiesel L, Thomas K, Tempone A *et al.*: Efficacy and safety of buserelin treatment in women with endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.* 1998, **3**, 5-19.
95. Kuepker W, Schultze-Mosgau A, Diedrich K: Paracrine changes in the peritoneal environment of women with endometriosis. *Hum. Reprod. Update* 1998, **4**, 719-723.
96. Fernandez H, Lucas C, Hedon B, Meyer JL, Mayenga JM, Roux C: One year comparison between two addback therapies in patients treated with a GnRH agonist for symptomatic endometriosis: a randomized double-blind trial. *Hum. Reprod.* 2004, **19**, 1465-1471.
97. Tahara M, Matsuoka T, Yokoi T, Tasaka K, Kurachi H, Murata Y: Treatment of endometriosis with a decreasing dosage of a gonadotropin-releasing hormone agonist (nafarelin): a pilot study with low-dose agonist therapy ('draw-back' therapy). *Fertil. Steril.* 2000, **73**, 799-804.
98. Karten MJ, Rivier JE: Gonadotropin-releasing hormone analog design-structure-function studies towards the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. *Endocr. Rev.* 1986, **7**, 44-66.
99. Crook T, Sheridan WP: Development of GnRH receptor antagonists for prostate cancer: New approaches to treatment. *Oncologist* 2000, **5**, 162-168.
100. Tiwaria, Krishna NS, Nanda K, Chugh A: Benign prostatic hyperplasia: an insight into current investigational medical therapies. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2005, **14**, 1359-1372.
101. Huirne JA, Lambalk CB: Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet*, 2001, **358**, 1793-1803.

102. Bajuz S, Kovacs M, Gazdag M *et al.*: Highly potent antagonists of luteinizing hormone-releasing hormone free of edematogenic effects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**, 1637-1641.
103. Ljungqvist A, Feng DM, Hook W *et al.*: Antide and related antagonists of luteinizing hormone release with long action and oral activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**, 8236-8240.
104. Nestor JJ Jr, Tahilramani R, Ho TL *et al.*: Potent gonadotropin releasing hormone antagonists with low histamine-releasing activity. *J. Med. Chem.* 1992 **35**, 3942-3948.
105. Rivier J, Porter J, Hoeger C *et al.*: Gonadotropin-releasing hormone antagonists with *N*-omega-triazolyornithine,-lysine, or -*p*-aminophenylalanine residues at position 5 and 6. *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 4270-4278.
106. Deghenghi R, Boutignon F, Wutrich P. *et al.*: Antarelix (EP 24332) a novel water soluble LHRH antagonist. *Biomed. Pharmacother.* 1993, **47**, 107-110.
107. Weckermann D, Harzmann R: Hormone therapy in prostate cancer: LHRH antagonists versus LHRH analogues. *Eur. Urol.* 2004, **46**, 279-284.
108. Tarlatzis BC, Bili H: Safety of GnRH agonists and antagonists. *Expert Opin. Drug Saf.* 2004, **3**, 39-46.
109. Jiang G, Gavini E, Dani BA *et al.*: Identification and determination of GnRH antagonist gelling at injection site. *Int. J. Pharmaceutics*, 2002, **233**, 19-27.
110. Cho N, Harada M, Imaeda T *et al.*: Discovery of a novel, potent and orally active nonpeptidic antagonist of the human luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) Receptor. *J. Med. Chem.* 1998, **41**, 4190-4195.
111. Zhu YF, Struthers RC, Connors PJ *et al.*: Initial structure-activity relationship studies of a novel series of pyrrolo[1,2-*a*]pyrimid-7-ones as GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 399-402.
112. Zhu YF, Wilcoxon K, Saunders J *et al.*: A novel synthesis of 2-aryl-pyrrolo[1,2-*a*]pyrimid-7-ones and their structure-activity relationships as potent GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 403-406.
113. Tucci FC, Zhu YF, Guo Z *et al.*: A novel synthesis of 7-aryl-8-fluoropyrrolo[1,2-*a*]pyrimid-4-ones as potent, stable GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 3491-3495.
114. Sasaki S, Imaeda T, Hayase Y *et al.*: A new class of potent nonpeptide luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) antagonists: design and synthesis of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyrimidin-5-ones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 2073-2077.
115. Wilcoxon KM, Zhu YF, Connors PJ *et al.*: Synthesis and initial structure activity relationships of a novel series of imidazolo[1,2-*a*]pyrimid-5-ones as potent GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 2179-2183.
116. Gross TD, Zhu YF, Saunders J *et al.*: Design, synthesis and structure-activity relationships of novel imidazolo[1,2-*a*]pyrimid-5-ones as potent GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 2185-2187.
117. Zhu YF, Guo Z, Gross TD *et al.*: Design and structure-activity relationships of 2-alkyl-3-aminomethyl-6-(3-methoxyphenyl)-7-methyl-8-(2-fluorobenzyl)-imidazolo[1,2-*a*]pyrimid-5-ones as potent GnRH receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 2003, **46**, 1769-1772.
118. Sorbera LS, Castaner J, Leeson PA: TAK-013. *Drugs Future*, 2003, **28**, 121-124.
119. Sasaki S, Cho N, Nara Y *et al.*: Discovery of a thieno[2,3-*d*] pyrimidine-2,4-dione bearing a *p*-methoxyureidophenyl moiety at the 6-position: A highly potent and orally bioavailable non-peptide antagonist for the human luteinizing hormone releasing hormone receptor. *J. Med. Chem.* 2003, **46**, 113-124.

120. No authors Listed: Sufugolix: IddB Drug Report, RF 615297.
121. Guo Z, Chen Y, Wu D *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of thieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione derivatives as potent GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, **13**, 3617-3622.
122. Zhu YF, Gross TD Guo Z *et al.*: Identification of 1-arylmethyl-3-(2-aminoethyl)-5-aryluracil as novel gonadotropin-releasing-hormone receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 2003, **46**, 2023-2026.
123. Guo Z, Zhu YF, Tucci FC *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of 1-arylmethyl-3-(2-aminopropyl)-5-aryl-6-methyluracils as potent GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, **13**, 3311-3315.
124. Tucci FC, Zhu YF, Guo Z *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of 1-arylmethyl-3-(1-methyl-2-amino)ethyl-5-aryl-6-methyluracils as antagonists of the human GnRH receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, **13**, 3317-3322.
125. Guo Z, Zhu YF, Gross TD *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of 1-arylmethyl-5-aryl-6-methyluracils as potent gonadotropin-releasing-hormone receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 2004, **47**, 1259-1271.
126. Tucci FC, Zhu YF, Guo Z *et al.*: 3-(2-Aminoalkyl)-1-(2,6-difluorobenzyl)-5-(2-fluoro-3-methoxyphenyl)-6-methyluracils as orally bioavailable antagonists of the human gonadotropin releasing hormone receptor. *J. Med. Chem.* 2004, **47**, 3483-3486.
127. Rowbottom MW, Tucci FC, Zhu YF *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of (*R*)-1-alkyl-3-[2-(2-amino)phenethyl]-5-(2-fluorophenyl)-6-methyluracils as human GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, **14**, 2269-2274.
128. Rowbottom MW, Tucci F C, Connors PJ Jr *et al.*: Synthesis and structure activity relationships of uracil derived human GnRH receptor antagonists: (*R*)-3-[2-(2-amino)phenethyl]-1-(2,6-difluorobenzyl)-6-methyluracils containing a substituted thiophene or thiazole at C-5. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, **14**, 4967-4973.
129. Tucci FC, Zhu YF, Struthers RS *et al.*: 3-[(2*R*)-Amino-2-phenethyl]-1-(2,6-difluorobenzyl)-5-(2-fluoro-3-methoxyphenyl)-6-methyl-pyrimidin-2,4-dione (NBI 42902) as a potent and orally active antagonist of the human gonadotropin releasing hormone receptor. Design, synthesis, and *in vitro* and *in vivo* characterization. *J. Med. Chem.* 2005, **48**, 1169-1178.
130. Guo Z, Chen Y, Huang CQ *et al.*: Uracils as potent antagonists of the human gonadotropin releasing hormone receptor without atropisomerism. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 2519-2522.
131. Pontillo J, Guo Z, Wu D, Struthers RC, Chen C: Synthesis of aryl-1,2,4-triazine-3,5-diones as antagonists of the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 4363-4366.
132. Guo Z, Wu D, Zhu YF *et al.*: A convenient one-pot synthesis of asymmetric 1,3,5-triazine-2,4,6-triones and its application towards a novel class of gonadotropin releasing hormone receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 693-698.
133. Pontillo J, Chen C: Efficient synthesis of bicyclic oxazolino- and thiazolino[3,2-c]pyrimidine-5,7-diones and its application to the synthesis of GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 1407-1411.
134. Pelletier JC, Chengalvala M, Cottom J *et al.*: 2-Phenyl-4-piperazinybenzimidazoles as inhibitors of the gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor. *ACS*, 2005, **230**, Washington.

135. No authors listed: IddB drug report: NBI-56418, Neurocrine Biosciences Incorporation.
136. Devita RJ, Walsh TF, Young JR *et al.*: A potent nonpeptidyl 1H-quinolone antagonist for the gonadotropin releasing hormone receptor. *J. Med. Chem.* 2001, **44**, 917-922.
137. Jiang J, Devita RJ, Goulet MT *et al.*: Synthesis and structure–activity relationship studies of piperidine substituted quinolones as nonpeptide gonadotropin releasing hormone antagonist. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, **14**, 1795-1798.
138. Devita RJ, Parich M, Jiang J *et al.*: Identification of neutral 4-O-alkyl quinolone nonpeptide GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, **14**, 5599-5603.
139. Lutihn DR, Hong Y, Pathak VP *et al.*: The discovery of novel small molecule non-peptide gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 3467-3470.
140. Lutihn DR, Hong Y, Tompkins E *et al.*: Characterization of mono- and diaminopyrimidine derivatives as novel, non-peptide gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, **12**, 3635-3639.
141. Anders KL, Lutihn DR, Castillo R *et al.*: Biological characterization of a novel, orally active small molecule gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist using castrated and intact rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, **305**, 688-695.
142. Hashimoto K, Tatsuta M, Kataoka M *et al.*: Benzimidazole derivatives as novel non-peptide luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) antagonists. Part 1: Benzimidazole-5-sulfonamides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 799-803.
143. Li Y, Kataoka M, Tatsuta M *et al.*: Benzimidazole derivatives as novel non-peptide luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) antagonists. Part 2: Benzimidazole-5-sulfonamides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 805-807.
144. Tatsuta M, Kataoka M, Yasoshima K *et al.*: Benzimidazoles as non-peptide luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) antagonists. Part 3: Discovery of 1-(1H-benzimidazol-5-yl)-3-*tert*-butyl-urea derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, **15**, 2265-2269.
145. Pindur, U.; Adam, R. Synthetically Attractive Indolization Processes and Newer Methods for the Preparation of Selectively Substituted Indoles *J. Heterocycl. Chem.* 1988, **25**, 1.
146. Gassman, P. G.; van Bergen, T. J.; Gilbert, D. P.; Cue, B. W., Jr. General method for the synthesis of indoles. *J. Am. Chem. Soc.* 1974, **96**, 5495.
147. Gassman, P. G.; Gilbert, D. P.; van Bergen, T. L. General method for the synthesis of indoles. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1974, 201.
148. Fürstner, A.; Jumbam, D. N. Titanium-induced syntheses of furans, benzofurans and indoles *Tetrahedron* 1992, **48**, 5991.
149. Fürstner, A.; Hupperts, A. Carbonyl Coupling Reactions Catalytic in Titanium and the Use of Commercial Titanium Powder for Organic Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, **117**, 4468.
150. Fischer, E.; Jourdan, F. The hidrazone of piruvic acid. *Ber.* 1883, **16**, 2241.
151. Fischer, E.; Hess, O. The synthesis of indole derivatives. *Ber.* 1884, **17**, 559.
152. V. G. Nenadjenko, E. P. Zakurdaev, E. S. Balenkova, A new strategy for 2-substituted indolylalkylamines: synthesis of 2-aryldihomotryptamines *Tetrahedron Letters*, 2002, **43**, 8449.

153. Deur, C.; Hegedus, L. S. Synthesis of acyllactams from N-protected lactams and esters. *Org. Synth.* 1997, **75**, 215.
154. Sorgi, K. L.; Maryanoff, A. C.; McComsey, D. F.; Maryanoff, B. E. N-ninylpyrrolidin-2-one as a 3-aminopropyl carbanion equivalent in the synthesis of substituted 1-pyrrolines: 2-phenyl-1-pyrroline. *Org. Synth.* 1998, **75**, 215.
155. V. G. Nenadjenko, E. P. Zakurdaev, E. V. Prusov, E. S. Balenkova, Convenient synthesis of melatonin analogues: 2- and 3-substituted -N-acetylindolylalkylamines. *Tetrahedron*, 2004, **60**, 11719.
156. Seeman, J. I. A New Pyrroline Synthesis. The Use of an N-Vinyl Moiety as an NH-Protecting Group. *Synthesis* 1977, 498.
157. Bielawski, J.; Brandage, S.; Lindblom, L. N-Vinyl as N-H Protecting Group. Synthesis of Cyclic Imines from N-Vinylactams and Organolithium Reagents *J. Heterocycl. Chem.* 1978, **15**(1), 97.
158. Feringa, B.; Jansen, J. Synthesis of arylimines from N-silylamides and aryllithium compounds *Tetrahedron Lett.* 1986, **27**(4), 507.
159. Hua, D.; Shon, W. M.; Narashima, Selective nucleophilic addition reactions of alkyllithium reagents with N-(trimethylsilyl)lactams. Synthesis of cyclic ketimines. *S. J. Org. Chem.* 1990, **55**, 3682.
160. Koldobsky, A. B.; Vakhmistrov, V. E.; Solodova, E. V.; Shilova, O. S.; Kalinin, V. N. *Izv. Acad. Nauk.* 2002, **387**(1), 61.
161. Giovanni, A.; Savoia, D.; Umani-Ronchi, A. Organometallic ring-opening reactions of N-acyl and N-alkoxycarbonyl lactams. Synthesis of cyclic imines. *J. Org. Chem.* 1989, **54**, 228.
162. Belleau, B. Synthesis in the field of the erythrina alkaloids: Part I. The synthesis of hexahydroapoerysotrine. *Can. J. Chem.* 1957, **35**, 651.
163. Poisel, H.; Schmidt, U. Über Aminosäuren und Peptide, XVI. Über Dehydroaminosäuren, III. Additionen an α -Iminocarbonsäuren. *Chem. Ber.* 1975, **108**, 2917.
164. W. J. Houlihan, V. A. Parrino and Y. Uike, Lithiation of N-(2-alkylphenyl)alkanamides and related compounds. A modified Madelung indole síntesis. *J. Org. Chem.*, 1981, **46**, 4511.
165. M. Takahashi and D. Suga, Synthesis of 2-Aryl-3-arylsulfonylindoles and 2-Anilino-3-arylsulfonylindoles from 2-(Arylsulfonyl)methylanilines using the Aza-Wittig Reaction of Iminophosphoranes. *Synthesis*, 1998, 986.
166. T. Sakamoto, Y. Kondo and H. Yamanaka, Synthesis of Condensed Heteroaromatic Compounds Using Palladium-Catalyzed Reaction. *Heterocycles*, 1988, **27**, 2225.
167. (a) T. Sakamoto, Y. Kondo and H. Yamanaka, Facile Synthesis of 2-Substituted Indoles from o-Bromoaniline. *Heterocycles*, 1986, **24**, 31; (b) T. Sakamoto, Y. Kondo, S. Iwashita and H. Yamanaka, Synthesis of Condensed Heteroaromatic Compounds Using Palladium-Catalyzed Reaction. *Chem. Pharm. Bull.*, 1987, **35**, 1823.
168. R. C. Larock and E. K. Yum, Synthesis of indoles via palladium-catalyzed heteroannulation of internal alkynes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 6689.
169. R. C. Larock, E. K. Yum and M. D. Refvik, Synthesis of 2,3-Disubstituted Indoles via Palladium-Catalyzed Annulation of Internal Alkynes. *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 7652.
170. A. Fürstner and B. Bogdanovic, New Developments in the Chemistry of Low-Valent Titanium. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1996, **35**, 2442.

171. A. Fürstner, A. Hupperts, A. Ptock and E. Janssen, "Site Selective" Formation of Low-Valent Titanium Reagents: An "Instant" Procedure for the Reductive Coupling of Oxo Amides to Indoles. *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 5215.
172. A. Fürstner and A. Ernst, Synthesis of camalexin, indolopyridocoline and flavopereirine *Tetrahedron*, 1995, **51**, 773.
173. A. Fürstner, D. N. Jumbam and G. Seidel, Syntheses of Zindoxifene and Analogues by Titanium-Induced Oxo-Amide Coupling. *Chem. Ber.*, 1994, **127**, 1125.
174. R. D. Stephens and C. E. Castro, The Substitution of Aryl Iodides with Cuprous Acetylides. A Synthesis of Tolanes and Heterocyclics. *J. Org. Chem.*, 1963, **28**, 3313.
175. C. E. Castro, E. J. Gaughan and D. C. Owsley, Indoles, Benzofurans, Phthalides, and Tolanes via Copper(I) Acetylides. *J. Org. Chem.*, 1966, **31**, 4071.
176. C. E. Castro, R. Havlin, V. K. Honwad, A. Malte and K. Mojé, Copper(I) substitutions. Scope and mechanism of cuprous acetylide substitutions. *J. Am. Chem. Soc.*, 1969, **91**, 6464.
177. S. I. El-Desoky, E. M. Kandeel, A. H. Abd-el-Rahman and R. R. Schmidt, Synthesis and Reactions of 4*H*-3,1-Benzothiazines *J. Heterocycl. Chem.*, 1999, **36**, 153.
178. Young, J. R.; Huang, S. X.; Chen, I.; Walsh, T. F.; DeVita, R. J.; Goulet, M. T.; Wyvratt, M. J., Jr.; Fisher, M. H.; Lo, J.; Ren, N.; Yudkovitz, J. B.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G. Quinolones as gonadotropin releasing hormone (GnRH) antagonists: simultaneous optimization of the C(3)-aryl and C(6)-substituents *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000, **10**, 1723.
179. Lin, P.; Parikh, M.; Lo, J.-L.; Yang, Y.-T.; Cheng, K.; Smith, R. G.; Fisher, M. H.; Wyvratt, M. J.; Goulet, M. T. Heterocyclic derivatives of 2-(3,5-dimethylphenyl)tryptamine as GnRH receptor Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 1077.
180. Ashton, W. T.; Sisco, R. M.; Yang, Y. T.; Lo, J.-L.; Yudkovitz, J. B.; Cheng, K.; Goulet, M. T. Substituted indole-5-carboxamides and -acetamides as potent nonpeptide GnRH receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 1723.
181. Simeone, J. P.; Bugianesi, R. L.; Ponpipom, M. M.; Goulet, M. T.; Levorse, M. S.; Desai, R. C. Synthesis of chiral β -methyl tryptamine-derived GnRH antagonists. *Tetrahedron Lett.* 2001, **42**, 6459.
182. Ashton, W. T.; Sisco, R. M.; Yang, Y. T.; Lo, J.-L.; Yudkovitz, J. B.; Gibbons, P. H.; Mount, G. R.; Ren, R. N.; Butler, B. S.; Cheng, K.; Goulet, M. T. Potent nonpeptide GnRH receptor antagonists derived from substituted indole-5-carboxamides and -acetamides bearing a pyridine side-chain terminus. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, **11**, 1727.
183. Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002, **295**, 1852–1858.
184. Brooks DA. Molecular chaperones of the ER: their role in protein folding and genetic disease. *Semin Cell Dev Biol*, 1999, **10**, 441–442.
185. Luque I, Leavitt SA, Freire E. The linkage between protein folding and functional cooperativity: two sides of the same coin? *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2002, **31**, 235–256.
186. Ellgaard L. Setting the standards: quality control in the secretory pathway. *Science*, 1999, **286**, 1882–1888.
187. Hooury WA. Chaperone-assisted protein folding in the cell cytoplasm. *Curr Protein Pept Sci*, 2001, **2**, 227–244.

188. Hiller MM, Finger A, Schweiger M, Wolf DH. ER degradation of a misfolded luminal protein by the cytosolic ubiquitin-proteasome pathway. *Science* 1996, **273**, 1725–1728.
189. Werner ED, Brodsky JL, McCracken AA. Proteasome-dependent endoplasmic reticulum-associated protein degradation: an unconventional route to a familiar fate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**, 13797–13801.
190. Schubert U, Anton LC, Gibbs J, Norbury CC, Yewdell JW, Bennink JR. Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes. *Nature*, 2000, **404**, 770–774.
191. Forloni G, Terreni L, Bertani I, Fogliarino S, Invernizzi R, Assini A, Ribizzi G, Negro A, Calabrese E, Volonte' MA, Ariani C, Franceschi M, Tabaton M, Bertoli A. Protein misfolding in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: genetic and molecular mechanisms. *Neurobiol Aging*, 2002, **23**, 957–976.
192. Glenner GG. Amyloid deposits and amyloidosis: the b-fibrilloses. *N Engl J Med* 1980, **302**, 1283–1292.
193. Gotz J, Chen F, Van Dorpe J, Nitsch RM. Formation of neurofibrillary tangles in P301L tau transgenic mice induced by Ab42 fibrils. *Science* 2001, **293**, 1491–1495.
194. Lee MK, Stirling W, Xu Y, Xu X, Qui D, Mandir AS, Dawson TM, Copeland NG, Jenkins NA, Price DL. Human a-synuclein harboring familial Parkinson's disease linked Ala-53-Thr mutation causes neurodegenerative disease with a-synuclein aggregation in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, **99**, 8968–8973.
195. Lewis J, Dickson DW, Lin W-L, Chisholm L, Corral A, Jones J, Yen S-H, Sahara N, Skipper L, Yager D, Eckman C, Hardy J, Hutton M, McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001, **293**, 1487–1491.
196. Janovick JA, Maya-Nuñez G, Conn PM. Rescue of hypogonadotropic hypogonadism-causing and manufactured GnRH receptor mutants by a specific protein-folding template: Misrouted proteins as a novel disease etiology and therapeutic target. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, **87**, 3255–3262.
197. Leños-Miranda A, Janovick JA, Conn PM. Receptor-misrouting: an unexpectedly prevalent and rescuable etiology in GnRHR-mediated hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, **87**, 4825–4828.
198. Janovick JA, Goulet M, Bush E, Greer J, Wettlaufer DG, Conn PM. Structure-activity relations of successful pharmacologic chaperones for rescue of naturally occurring and manufactured mutants of the gonadotropin-releasing hormone receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, **305**, 608–614.
199. Conn PM, Leños-Miranda A, Janovick JA. Protein origami: therapeutic rescue of misfolded gene products. *Mol Interv*, 2002, **2**, 308–316.
200. Morello JP, Bichet DG, Bouvier M. Pharmacological chaperones: a new twist on receptor folding. *Trends Pharmacol Sci* 2000, **21**, 466–469.

Patentes

201. Neurocrine Biosci., Inc. : WO129044 (2000).
202. Takeda Chem. Ind.: WO0164683 (2001).
203. Takeda Chem. Ind.: WO0224230 (2002).
204. Takeda Chem. Ind.: WO0243766 (2002).
205. Takeda Chem. Ind.: WO03064429 (2003).
206. Takeda Chem. Ind.: WO2004067535 (2004).
207. Neurocrine Biosci., Inc. : WO0155119 (2001).
208. Neurocrine Biosci., Inc. : WO2005007164 (2005).
209. Neurocrine Biosci., Inc. : WO2005007165 (2005).
210. Neurocrine Biosci., Inc. : WO2005007633 (2005).
211. Neurocrine Biosci., Inc. : WO03011839 (2003).
212. Neurocrine Biosci., Inc. : WO03011293 (2003).
213. Neurocrine Biosci., Inc. : WO03013528 (2003).
214. Neurocrine Biosci., Inc. : WO03011870 (2003).
215. Merck & Co.: WO0170228 (2001).
216. Merck & Co.: WO0170227 (2001).
217. Schering AG: WO02066437 (2002).
218. Ortho-Mcneil Pharm., Inc.: WO0248112 (2002).
219. Agouron Pharm. Inc.: WO02098363 (2002).
220. Pfizer, Inc.: WO03068769 (2003).
221. Amedis Pharm. Ltd: WO2004045625 (2004).
222. Amedis Pharm. Ltd: WO2005005442 (2005).
223. Amedis Pharm. Ltd: WO2005005443 (2005).
224. SCRAS: WO03053939 (2003).
225. Wyeth: US20050282820 (2005).
226. MERCK & CO.: W09721703 (1997).
227. MERCK & CO.: US5756507 (1998).
228. MERCK & CO.: W09721707 (1997).
229. MERCK & CO.: W09855119 (1998).
230. MERCK & CO.: W09855470 (1998).
231. MERCK & CO.: W09921553 (1999).
232. MERCK & CO.: W09921557 (1999).
233. MERCK & CO.: W09941251 (1999).
234. MERCK & CO.: W09941252 (1999).
235. MERCK & CO.: W00004013 (2000).