



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA PROGESTERONA CON UN GRUPO
ÉSTER EN C-17 COMO ANTIANDRÓGENOS**

T E S I S

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

PRESENTA

PERLA GARCÍA GUZMÁN



MÉXICO, D.F.

2009



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: Profesor: Eugene Athanas Bratoeff Titeff

VOCAL: Profesor: Yolanda Caballero Arroyo

SECRETARIO: Profesor: Ana María Vazquez Alvarez

1er. SUPLENTE: Profesor: Mabel Clara Frago Serrano

2° SUPLENTE: Profesor: José Fausto Rivero Cruz

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 125 DEL CONJUNTO E
DE LA FACULTAD DE QUÍMICA.

ASESOR DEL TEMA: EUGENE ATHANAS BRATOEFF TITEFF

(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S): PERLA GARCÍA GUZMÁN

(nombre (s) y firma (s))

Quiero agradecer:

A CONACYT por el apoyo económico recibido.

A la UNAM y a la Facultad de Química por brindarme la mejor formación académica que se puede desear.

Al Dr. Eugene Bratoeff por sus valiosas aportaciones a mi formación académica y a esta tesis.

A mi amiga y maestra M. en C. Tania Segura Moctezuma, por su invaluable apoyo y comprensión.

A mi madre Leticia por su cariño y dedicación, a mi Padre Adolfo por su apoyo, a mi hermano y hermanas por su ejemplo.

A todos mis amigos de la "BP" de la P3, de la FQ y del LAB-125, y finalmente a Alejandra y Alfredo, con mucho cariño a todos ustedes que la verdad no tienen nada que ver pero...ah! siempre nos la pasamos RE-bien.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.....	II
Índice de tablas.....	II
Índice de espectros.....	III
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
3. OBJETIVOS.....	12
4. HIPÓTESIS.....	12
5. METODOLOGÍA.....	13
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
5.2 SÍNTESIS QUÍMICA.....	14
5.2.1 Síntesis de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	14
5.2.2 Síntesis de 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	15
5.2.3 Síntesis de 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	15
5.2.4 Síntesis de 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil) benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	16
5.3 EVALUACIÓN BIOLÓGICA.....	17
5.3.1 Ensayo <i>in vitro</i> de afinidad a receptor de progesterona (RP).....	17
5.3.2 Ensayo <i>in vitro</i> de afinidad a receptor de andrógenos (RA).....	18
5.3.3 Ensayo <i>in vitro</i> de inhibición de la enzima 5 α -reductasa Tipo I y II.....	20
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
6.1 SÍNTESIS QUÍMICA.....	22
6.1.1 Caracterización de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	23
6.1.2 Caracterización de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	24
6.1.3 Caracterización de 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	25
6.1.4 Caracterización de 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	26
6.1.5 Caracterización de 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	28
6.2 EVALUACIÓN BIOLÓGICA.....	31
6.2.1 Ensayo <i>in vitro</i> de afinidad a receptor de progesterona (RP).....	31
6.2.2 Ensayo <i>in vitro</i> de afinidad por el receptor de andrógenos (RA).....	32
6.2.3 Ensayo <i>in vitro</i> de inhibición de la actividad de la enzima 5 α -reductasa tipo I y tipo II.....	33
7. CONCLUSIONES.....	35
8. BIBLIOGRAFÍA.....	36
9. ANEXO.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Testosterona (1) y Dihidrotestosterona (2).....	3
Figura 2. Mecanismo de acción de andrógenos [1].....	3
Figura 3. Conversión de Testosterona (1) a dihidrotestosterona (2) por la enzima 5 α -reductasa.....	4
Figura 4. Distribución de las dos isoformas de la enzima 5 α -reductasa en el cuerpo humano. [4,8].....	5
Figura 5. Mecanismo de reducción de la T a DHT por la enzima 5 α -reductasa [9].....	6
Figura 6. Proporciones de actividad de las dos isoformas de la enzima 5 α R en HPB, NIP y CaP (Primario, Recurrente y Metastásico) [1].....	6
Figura 7. Hiperplasia Prostática benigna. Próstata Normal (izquierda) y Próstata agrandada (derecha).....	8
Figura 8. Antagonistas de AR, Flutamida (3) y Acetato de Ciproterona (4).....	8
Figura 9. Finasterida (5).....	9
Figura 10. Dutasterida (6).....	9
Figura 11. Diseño de Andrógenos a partir de la Progesterona (7).....	11
Figura 12. Ruta de síntesis propuesta.....	14
Figura 13. Síntesis de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	15
Figura 14. Síntesis de 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	15
Figura 15. Inserción de un átomo de halógeno en C ₄	16
Figura 16. Síntesis de 17 α -(p-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(p- etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	17
Figura 17. Promegestona (13).....	18
Figura 18. Mibolerona (MIB) (14).....	19
Figura 19. 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	23
Figura 20. 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	24
Figura 21. 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	25
Figura 22. 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen- 3,20-diona (11b).....	26
Figura 23. 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4- bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	28
Figura 24. Posiciones en la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4- etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	29
Figura 25. 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4- bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Asociación de efectos androgénicos en la pubertad a T y DHT [7].....	4
Tabla 2. Características de las dos isoformas de la 5 α -reductasa. [8].....	5
Tabla 3. Resumen de Efectos adversos del bloqueo androgénico en hombres con Cáncer de Próstata. [5].....	10
Tabla 4. Señales presentes en IR para los compuestos 11a y 11b.....	27
Tabla 5. Señales presentes en RMN ¹³ C para los compuestos 11a y 11b.....	27
Tabla 6. Señales presentes en IR para los compuestos 12a y 12b.....	29
Tabla 7. Señales en RMN ¹ H y RMN ¹³ C en la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	30
Tabla 8. Unión de los compuestos sintetizados al receptor de Progesterona (RP).....	31
Tabla 9. Unión de los compuestos sintetizados al receptor de Andrógenos (RA).....	32
Tabla 10. Efecto de los compuestos sintetizados como inhibidores de la 5 α -reductasa tipo I y tipo II.....	33

ÍNDICE DE ESPECTROS

ESPECTRO 1 UV-VIS de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	38
ESPECTRO 2 IR de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	38
ESPECTRO 3 RMN ¹ H de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	39
ESPECTRO 4 RMN ¹³ C de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	39
ESPECTRO 5 MASAS de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8).....	40
ESPECTRO 6 UV-VIS de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	40
ESPECTRO 7 IR de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	41
ESPECTRO 8 RMN ¹ H de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	41
ESPECTRO 9 RMN ¹³ C de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	42
ESPECTRO 10 MASAS de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).....	42
ESPECTRO 11 IR de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	43
ESPECTRO 12 RMN ¹ H de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	43
ESPECTRO 13 RMN ¹³ C de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	44
ESPECTRO 14 MASAS de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10).....	44
ESPECTRO 15 UV-VIS de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a).....	45
ESPECTRO 16 IR de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a).....	45
ESPECTRO 17 RMN ¹ H de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a).....	46
ESPECTRO 18 RMN ¹³ C de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a).....	46
ESPECTRO 19 MASAS de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a).....	47
ESPECTRO 20 UV-VIS de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	47
ESPECTRO 21 IR de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	48
ESPECTRO 22 RMN ¹ H de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	48
ESPECTRO 23 RMN ¹³ C de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	49
ESPECTRO 24 MASAS de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b).....	49
ESPECTRO 25 UV-VIS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a).....	50
ESPECTRO 26 IR de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a).....	50
ESPECTRO 27 RMN ¹ H de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a).....	51
ESPECTRO 28 RMN ¹³ C de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a).....	51
ESPECTRO 29 MASAS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a).....	52
ESPECTRO 30 UV-VIS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	52
ESPECTRO 31 IR de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	53
ESPECTRO 32 RMN ¹ H de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	53
ESPECTRO 33 RMN ¹³ C de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	54
ESPECTRO 34 MASAS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b).....	54

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Los andrógenos, son hormonas sexuales masculinas, esenciales para el desarrollo, función y crecimiento de la próstata, sin embargo también juegan un papel muy importante en la patogénesis de la Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) y el Cáncer de Próstata (CaP). Dichos padecimientos constituyen problemas de salud pública en el entorno nacional y mundial dada su alta incidencia en los hombres maduros [1,2].

Se ha establecido que la Dihidrotestosterona (DHT), metabolito reducido del andrógeno Testosterona (T), es la principal responsable del crecimiento del tejido prostático, que a su vez es mediado por el receptor de andrógenos (AR). [1] Dicho metabolito más potente que T, se produce por la acción de la enzima 5 α -Reductasa (5 α R) dependiente del cofactor NADPH. Esta enzima existe en las isoformas Tipo I y Tipo II (5 α R-1 y 5 α R-2) que poseen distinta distribución en el organismo. De tal manera que la isoforma Tipo I, se encuentra tanto en la próstata como en la piel no genital, mientras que la Tipo II se encuentra predominantemente en la próstata y otros tejidos genitales. [2]

Dado que la HPB y CaP son enfermedades dependientes de andrógenos, los fármacos antiandrógenos ofrecen una opción útil para su tratamiento. Los antiandrógenos son sustancias capaces de inhibir la acción de las hormonas masculinas mediante diversos mecanismos, ya sea inhibiendo la secreción o síntesis de Testosterona, bloqueando el receptor de andrógenos o inhibiendo a la enzima 5 α -Reductasa y representan una alternativa terapéutica altamente viable a los procedimientos quirúrgicos que existen para el tratamiento de dichos padecimientos, ya que estos producen una gran aprensión entre la población masculina y reducen la calidad y expectativas de vida del paciente. [3]

Además del tratamiento y prevención de la HPB y el CaP, los antiandrógenos son empleados en el tratamiento de otros signos dependientes de andrógenos como Alopecia, Seborrea, Acné e Hirsutismo. [3]

La finasterida es un inhibidor de la enzima 5 α R-2, disminuye hasta un 90% los niveles de DHT sin afectar los de T. [4] Por su parte, la dutasterida es un

inhibidor más novedoso y efectivo de 5 α R por su carácter dual, cuya inhibición de ambas isoformas de 5 α R, se traduce en una menor biosíntesis de DHT [1].

Tanto los inhibidores de la 5 α R como los antiandrógenos en general han demostrado grandes beneficios en la prevención y tratamiento de padecimientos dependientes de andrógenos, sin embargo su empleo prolongado induce efectos colaterales no deseados (pérdida del deseo sexual, ginecomastia y disfunción eréctil entre otros), siendo necesaria la búsqueda de nuevos antiandrógenos más eficientes y con efectos colaterales mínimos. [5]

En la presente tesis se llevó a cabo la síntesis de dos análogos de la progesterona novedosos, la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona y la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona, que poseen un éster en posición C-17 y características estructurales como el sistema 4-en-3-ona y un átomo de halógeno en posición C-4.

Tanto los productos intermedios como los compuestos finales fueron sometidos a la evaluación *in vitro* de su poder antiandrogénico sobre el receptor de andrógenos y de su poder progestacional sobre el receptor de progesterona, encontrando que los compuestos sintetizados así como la materia prima y los intermediarios poseen actividad inhibitoria sobre una o ambas isoformas de la enzima 5 α R, lo que se atribuye a las modificaciones estructurales realizadas. De todos los compuestos evaluados, 3 de ellos presentaron afinidad por el receptor de andrógenos, mientras que solo uno mostró afinidad por el receptor de progesterona.

1. ANTECEDENTES

Los andrógenos tienen una función crucial en el desarrollo, mantenimiento, y regulación del fenotipo y actividad reproductiva masculina. Las principales hormonas masculinas son la Testosterona (T) **(1)** y su metabolito la Dihidrotestosterona (DHT) **(2)** (Figura 1). [3]

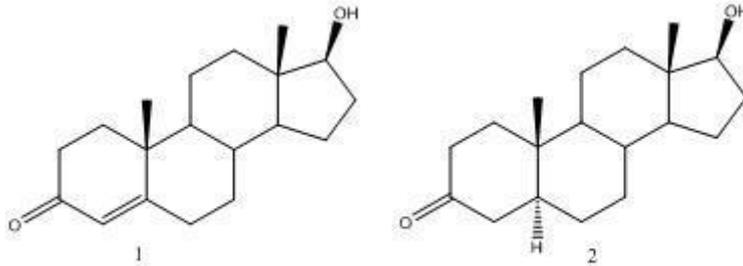


Figura 1. Testosterona (1) y Dihidrotestosterona (2)

La acción androgénica es mediada por el receptor de andrógenos (RA), un miembro de la superfamilia de receptores nucleares. Tanto T como DHT se unen al RA, sin embargo DHT se une con mayor afinidad.

En su estado basal, el RA está unido en el citoplasma a proteínas chaperonas de choque térmico (Hsp) y proteínas co-chaperonas. Al unirse el ligando (T o DHT) al receptor, se produce una disociación de las proteínas de choque térmico lo que produce la translocación del complejo RA-ligando hacia el núcleo, donde se une a los Elementos de Respuesta Androgénica (ERA) que modulan a su vez, la expresión de genes (Figura 2). [1]

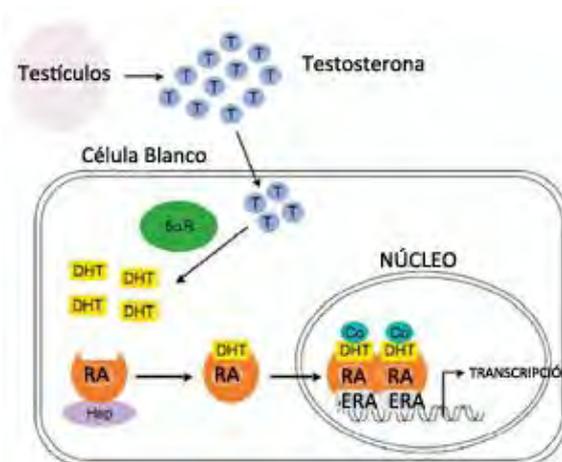


Figura 2. Mecanismo de acción de andrógenos [1].

Las funciones biológicas de cada hormona masculina son diferentes. Así T se encarga de acciones anabólicas y la espermatogénesis, mientras que DHT se encarga de regular el incremento en el vello facial y corporal, y el crecimiento de la próstata (Tabla 1). [6]

Tabla 1. Asociación de efectos androgénicos en la pubertad a T y DHT [7].

Testosterona	Dihidrotestosterona
Anabolismo	Aumento de vello facial y corporal
Crecimiento de pene, escroto y cuerdas vocales	
Maduración del esqueleto	
Cierre de epífisis	
Crecimiento acelerado	
Espermatogénesis	Recesión de cabello
Rendimiento Sexual masculino	Crecimiento de la Próstata
Retroalimentación Pituitaria-Gonadal	Retroalimentación Pituitaria-Gonadal

La conversión de T (1) a DHT (2) es catalizada por la enzima 5 α -Reductasa (5- Δ^4 cetoesteroide α -reductasa, EC 1.3.99.5), dependiente de NADPH, que comprende las isoformas Tipo I y Tipo II (5 α R-1 y 5 α R-2)(Figura 3 y 4) cuya distribución en diferentes tejidos y sus características se describen en la Tabla 2. [4]

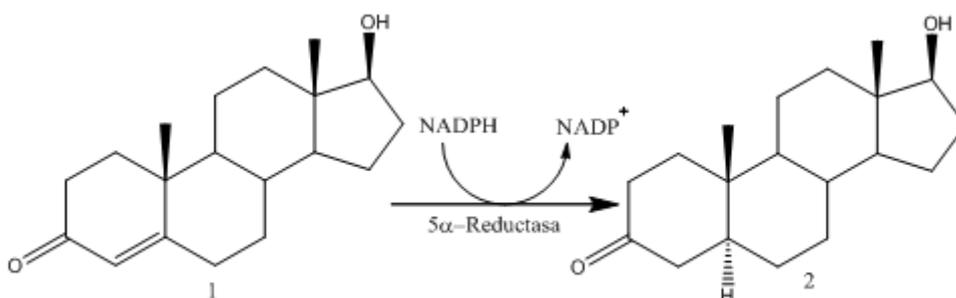


Figura 3. Conversión de Testosterona (1) a dihidrotestosterona (2) por la enzima 5 α -reductasa.

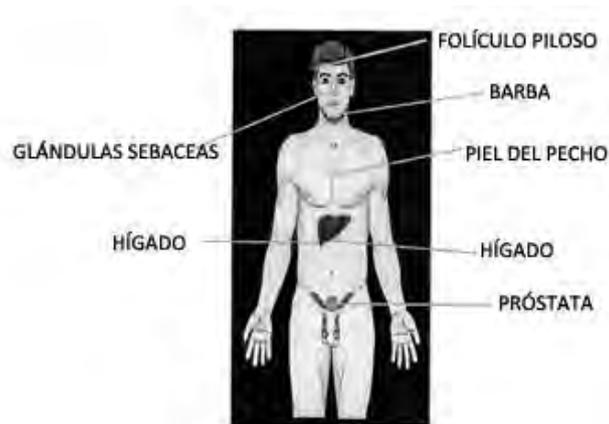


Figura 4. Distribución de las dos isoformas de la enzima 5 α -reductasa en el cuerpo humano. [4,8]

Tabla 2. Características de las dos isoformas de la 5 α -reductasa. [8]

Característica	Tipo I	Tipo II
Tamaño	259 aminoácidos	254 aminoácidos
Distribución	Hígado, Tejido no genital, Próstata y Cerebro	Próstata, epidídimo, vesícula seminal, tejido genital, útero, hígado, pulmones, placenta y cerebro.
pH óptimo	Neutro a básico	Acido a neutro
Afinidad por (T)	Km=1-5 μ M	Km=0.004-1 μ M

El mecanismo de acción propuesto para la conversión de T a DHT por la enzima 5 α -reductasa, se basa en una reacción de adición tipo Michael (Figura 5). La reacción involucra la donación directa de un hidruro del NADPH a la posición 5 α de la T lo que permite la formación del enolato en C₃ y C₄. El enolato podría ser presumiblemente estabilizado por algún residuo electrofílico (E⁺) en el sitio activo. Este proceso también podría visualizarse como la activación de la enona por E⁺ permitiendo la aparición de una especie polarizada, la cual acepta al hidruro procedente del NADPH en C₅. Finalmente mediante tautomerismo ceto-enol se da la formación del producto DHT con la liberación de NADP⁺ (Figura 5). [9,6]

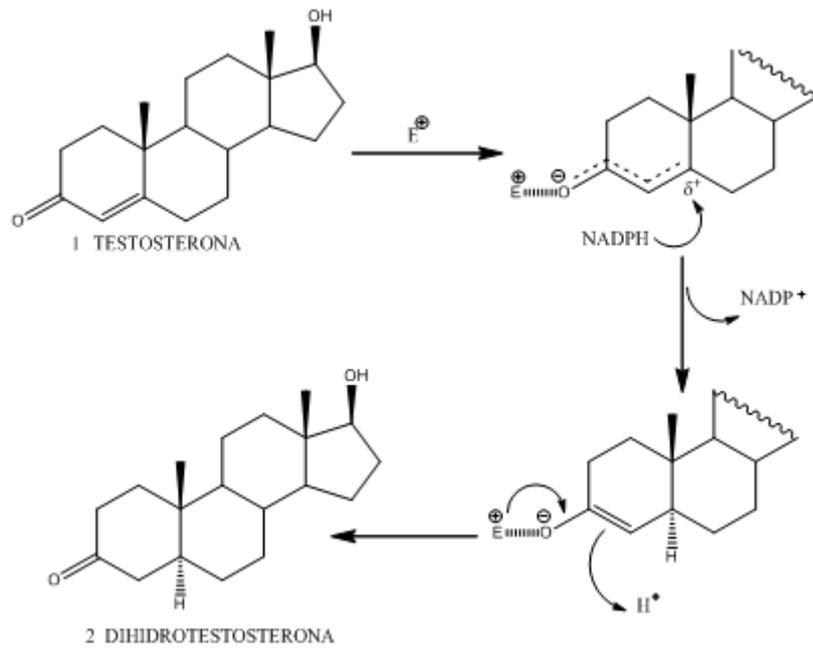


Figura 5. Mecanismo de reducción de la T a DHT por la enzima 5 α -reductasa [9]

La cantidad de dicha enzima y su producto, DHT, es elevado en padecimientos como el acné, hirsutismo, calvicie masculina, Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) y Cáncer de Próstata (CaP). [6]

Diversos estudios han demostrado que la actividad de la 5 α R-1 es de 3 a 4 veces mayor en tejidos prostáticos malignos como en el CaP que benignos como la HPB, mientras que la actividad de la 5 α R-2 es similar en ambos padecimientos y es mayor respecto a la Tipo I. (Figura 6) [1,4,8]

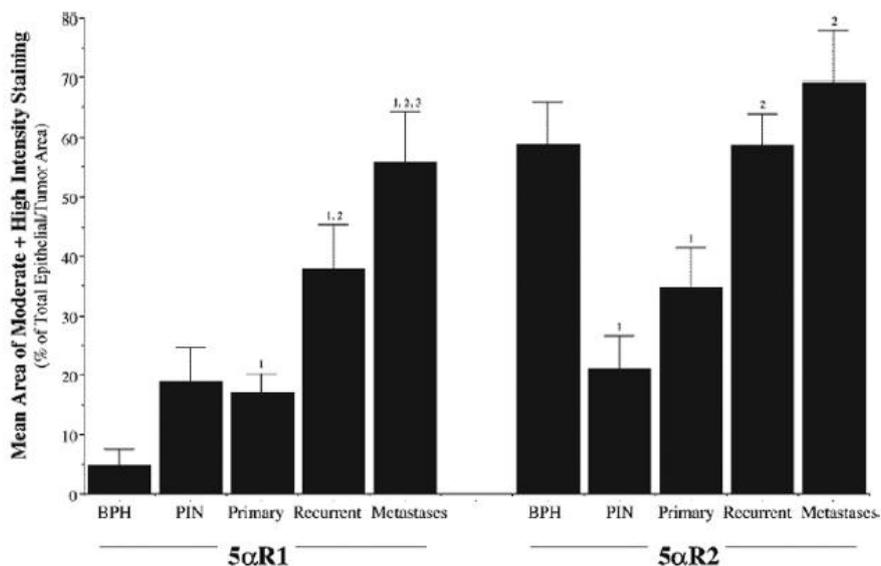


Figura 6. Proporciones de actividad de las dos isoformas de la enzima 5 α R en HPB, NIP y CaP (Primario, Recurrente y Metastásico) [1]

La próstata es una glándula accesoria del aparato reproductor masculino del tamaño de una nuez, con peso aproximado de 20g. Se localiza debajo de la vejiga y rodeando la uretra. La Hiperplasia Prostática Benigna es el tumor benigno más común en varones, es una patología en la que hay aumento en el en el tejido glandular y fibromuscular de la próstata, conforme crecen los nódulos, comprimen las zonas externas de la próstata con la progresiva proliferación nodular se llega a una obstrucción vesical con diversos síntomas, ya sean de tipo obstructivos como titubeo, disminución en fuerza y calibre de chorro, doble micción, y goteo entre otros, o de tipo irritativos como poliuria y nicturia (Figura 7). [10, 16]

El diagnóstico básico consiste en una exploración física y una exploración neurológica dirigida, en la que se nota el tamaño y consistencia de la próstata, siendo característico de HPB un crecimiento prostático suave, firme y elástico, también se requiere un examen general de orina y la medición de creatinina sérica, algunas pruebas adicionales son urografía excretora o ultrasonido renal, cistoscopia, así como Cistometrogramas y Perfiles urodinámicos.

La terapia quirúrgica convencional incluye: Resección transuretral de próstata (RTUP), Incisión Transuretral de la Próstata, y Prostatectomía simple abierta.

Por otro lado la Terapia de invasión mínima incluye: Terapia Laser, electrovaporización transuretral de la próstata, hipertermia, Ablación de la próstata con aguja transuretral, ultrasonido concentrado de alta intensidad, férulas intruretrales y dilatación prostática con globo tranuretral.[16]

Por otro lado el desarrollo de Cáncer de Próstata es un proceso de varios pasos que incluye atrofia inflamatoria proliferativa y una Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP) de alto grado, es decir el crecimiento no canceroso de las células que revisten las superficies internas y externas de la próstata.[1]

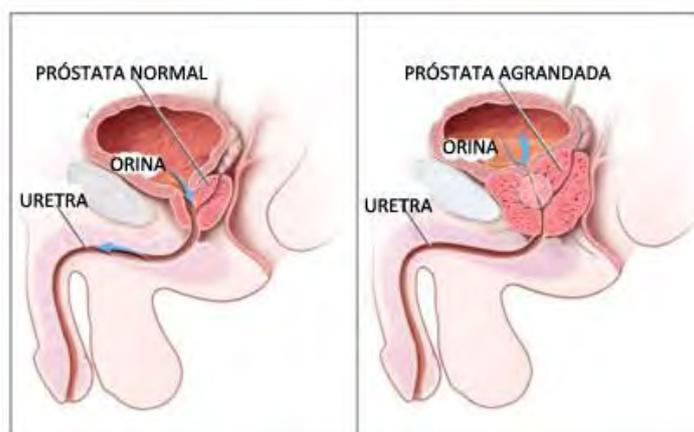


Figura 7. Hiperplasia Prostática benigna. Próstata Normal (izquierda) y Próstata agrandada (derecha).

Aunque en ambos padecimientos existe una gran variedad de tratamientos incluyendo procedimientos quirúrgicos, la supresión de andrógenos mediante el empleo de fármacos antiandrógenos es el tratamiento más aceptado por el paciente al ser menos invasivo.

Los Antiandrógenos son sustancias de tipo esteroidal o no esteroidal, capaces de inhibir la acción de los andrógenos por diversos mecanismos. Además constituyen un tratamiento útil para un gran número de enfermedades mediadas por andrógenos. [11]. Los mecanismos por los cuales ejercen su acción los antiandrógenos son los siguientes:

➤ **Inhibidores de la secreción de Testosterona**, actúan a nivel del eje hipotálamo-pituitaria-testicular. Que a su vez se dividen en:

- Agonistas de la Hormona liberadora de Hormona Luteinizante (LHRH). [11].
- Agonistas y antagonistas de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) [11].

➤ **Inhibidores de la acción de andrógenos**, compiten por el RA y al bloquearlo inhiben la síntesis de proteínas. Ejemplos de estos son el acetato de ciproterona (**3**) y la flutamida (**4**) (Figura 8). [10]

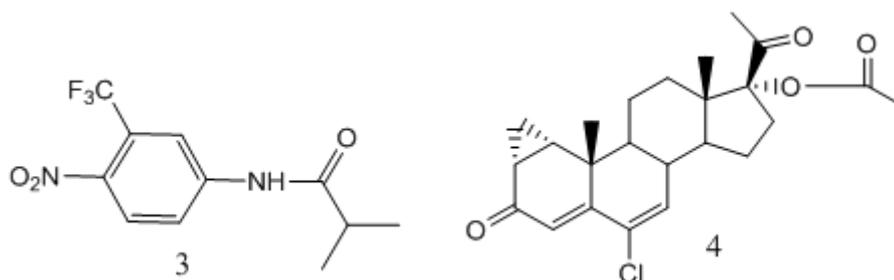


Figura 8. Antagonistas de AR, flutamida (3) y acetato de ciproterona (4).

- **Inhibidores de la enzima 5 α -Reductasa**, inhiben la conversión de T a DHT.

Los inhibidores de la 5 α R más extensamente estudiados son los 4-azasteroides, que incluyen a la finasterida **(5)** (Figura 9). [6]

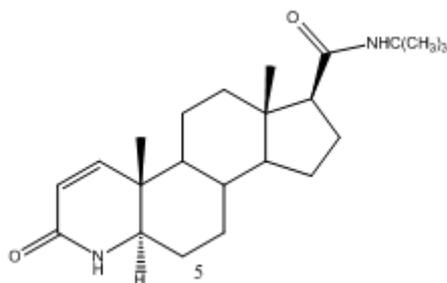


Figura 9. Finasterida (5)

La finasterida fue el primer inhibidor de 5 α -R aprobado por la FDA en 1992, para el tratamiento de HPB [6], tiene aproximadamente 100 veces más afinidad por la 5 α R-2 que por la 5 α R-1, por lo que se considera inhibidor selectivo de 5 α R-2. En humanos baja los niveles de DHT de 70 a 90% y reduce el tamaño de la próstata.

La dutasterida **(6)** (Figura10) aprobada por la FDA en el 2002, es el fármaco de más reciente introducción para inhibir a la enzima, siendo más activa que la finasterida ya que inhibe ambas isoformas de la 5 α -R. Este fármaco es 45 veces más efectivo inhibiendo la 5 α R-1 y 2 veces más efectivo con la 5 α R-2. Mediante esta inhibición dual los niveles de DHT bajan de 90 a 93%. [1,2]

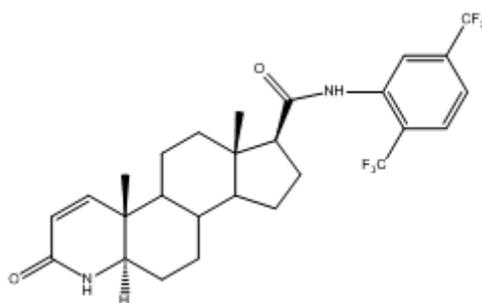


Figura 10. Dutasterida (6)

A pesar de su efectividad, en general el uso de antiandrógenos se ve limitado ya que pueden presentar diversos efectos adversos que disminuyen la calidad de vida de los pacientes (Tabla 3). [5]

Tabla 3. Resumen de Efectos adversos del bloqueo androgénico en hombres con Cáncer de Próstata. [5]

Efectos Adversos	Incidencia
Sofocación	55%-80%
Impotencia	50%-100%
Aumento en peso neto, atrofia muscular y deposición de grasa	común
Depresión	común
Osteoporosis	1.4%-2.6%
Fracturas	común
Ginecomastia	13%-70% depende del fármaco usado
Fatiga	13%
Cambios en el perfil de lípidos	común
Síntomas gastrointestinales	22%
Intolerancia a la glucosa	Raro
Decline de funciones cognitivas	>50%
Debilidad general	común

Dados los efectos secundarios no deseados que se presentan por el empleo prolongado de los fármacos antiandrogénicos, diversos grupos de investigación han dirigido sus esfuerzos a la búsqueda y diseño de nuevos antiandrogénicos más potentes y con mínimos efectos secundarios indeseables.

Se sabe que la DHT está directamente relacionada con las enfermedades dependientes de andrógenos [1], por lo cual la inhibición de la enzima 5 α -reductasa, constituye uno de los blancos de acción antiandrogénica útil para el diseño de nuevos fármacos para su tratamiento. Adicionalmente es conveniente que los nuevos fármacos diseñados presenten poca o ninguna afinidad por el RA con lo cual se verían disminuidos los efectos colaterales indeseables relacionados por la supresión total de hormonas masculinas [12].

Es posible desarrollar antiandrogénicos a partir de la Progesterona (P) (7), hormona esteroidea que actúa a través del receptor de progesterona (RP). Esta hormona es un antiandrogénico natural débil que tiene la capacidad de competir con la T por la enzima 5 α -reductasa. [9] Sin embargo es necesario tener las siguientes consideraciones estructurales en la molécula de P para el diseño de fármacos antiandrogénicos potencialmente activos sobre 5 α -R (Figura 11):

- Una cetona en C-3 y una insaturación en C-4, es decir el sistema 4-en-3-ona o bien un sistema 4,6-dien-3-ona. [13, 14]
- Un grupo lipofílico en C-17 que actúe como transportador de la molécula. [13, 14]
- Sustituyentes electronegativos en C-4 como Cl o Br. Ambas especies convierten a la molécula en una especie altamente susceptible a ser atacada a través de una adición 1,4 tipo Michael. [13, 14]

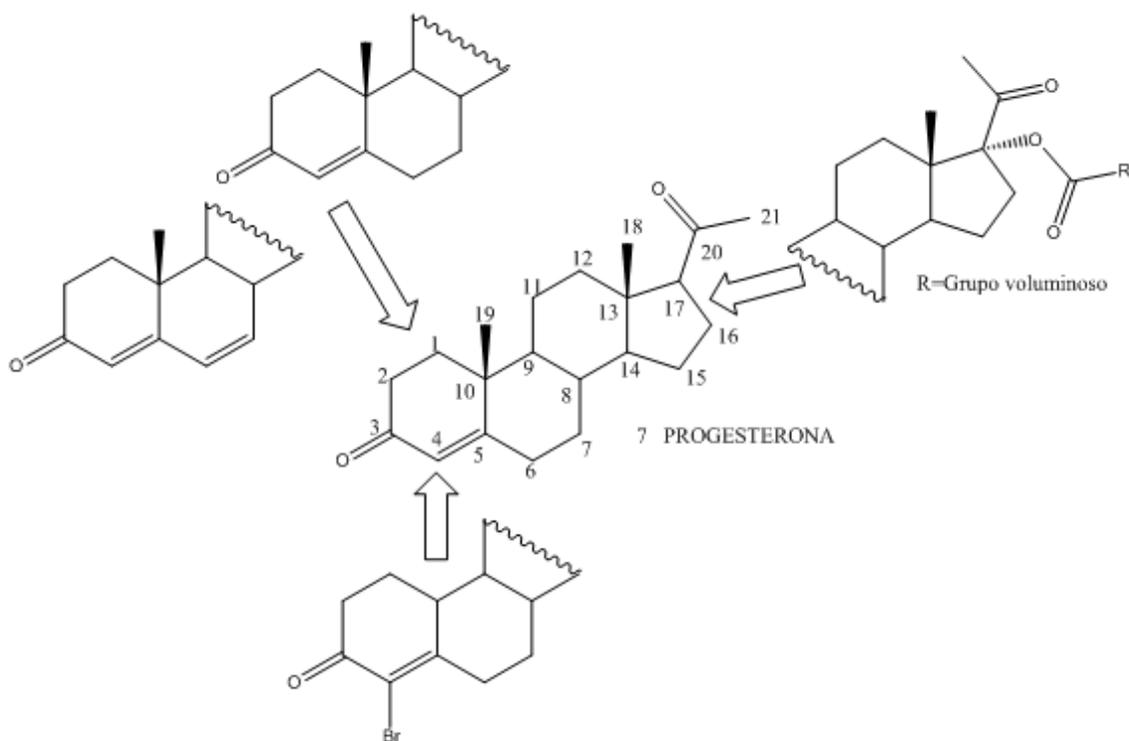


Figura 11. Diseño de Andrógenos a partir de la progesterona (7)

1.OBJETIVOS

Objetivos Generales

- Desarrollar una ruta de síntesis que permita la obtención de análogos novedosos de la progesterona con actividad antiandrogénica potencial sobre la enzima 5 α -reductasa.
- Determinar la actividad antiandrogénica de los compuestos sintetizados en estudios *in vitro* sobre la enzima 5 α -R, el receptor de andrógenos y el receptor de progestágenos, a fin de confirmar el efecto de las modificaciones estructurales realizadas.

Objetivos Particulares

- Sintetizar los análogos de progesterona: 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona y la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona a partir de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**).
- Caracterizar los compuestos obtenidos y a cada uno de los intermediarios mediante la determinación de sus constantes físicas (color, aspecto, pf, Rf) y análisis espectroscópicos (IR, RMN¹H, RMN¹³C, UV-VIS) y espectrométricos (FAB-MS).

2.HIPÓTESIS

Si los compuestos obtenidos inhiben la enzima 5 α -reductasa, las modificaciones estructurales realizadas son adecuadas para la obtención de nuevos compuestos antiandrogénicos derivados de la Progesterona.

1. METODOLOGÍA

5.1 . Materiales y Métodos

La pureza de los productos y el progreso de las reacciones se monitorea por cromatografía en capa fina, utilizando cromatoplasmas Merck de gel de Sílice 60 F₂₅₄, 0.25mm de espesor, eluyendo con sistema hexano: acetato de etilo (7:3). Como reveladores se usan luz una lámpara de luz UV y una solución de cloruro de cobalto (1%) en ácido sulfúrico (2N). Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fischer-Johns y se encuentran sin corregir. Los espectros UV se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer modelo Lambda 2, utilizando como disolvente Metanol. Los espectros de IR fueron generados en un espectrofotómetro FT-IR Perkin Elmer modelo 1605, empleándose pastillas de Bromuro de Potasio (KBr). Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C se obtuvieron en espectrofotómetros Varian modelo Inova Varian, de 400 y 300MHz respectivamente, empleando como estándar interno tetrametilsilano. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro Thermo-DFS, bajo la técnica FAB, empleando una matriz de alcohol *m*-nitrobenzílico que fue irradiada con átomos de cesio a temperatura menor de 50 °C. En esta técnica M⁺ corresponde al ión molecular, representativo del peso molecular del compuesto, mientras que M+1 corresponde al ion molecular más una unidad de masa.

Reactivos químicos

La materia prima: 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**), se consiguió con el proveedor Sigma Aldrich, con 98% de pureza y posee un punto de fusión de 252-256°C.

El ácido 4-etilbenzoico se consiguió con el proveedor Sigma Aldrich con 99% de pureza y un punto de fusión de 112-114°C.

Testosterona [³H] y Mibolerona (17-metil-³H)[³H]MIB se consiguieron con el proveedor Perkin Elmer Life an Analytical Sciences (Boston MA). T, DHT y Mibolerona radioinertes se consiguieron con Steraloids (Wilton, NH, USA). El NADPH se obtuvo de sigma chemical Co. (St. Louis, MO). finasterida se obtuvo por extracción de Proscar (Merck, Sharp & Dohme) .

En la obtención de tejidos y enzimas se usaron ratas macho adultos (150-200g) obtenidas de la UAM, unidad Xochimilco.

5.2. SÍNTESIS QUÍMICA

La figura 12 muestra la secuencia sintética llevada a cabo en el presente trabajo.

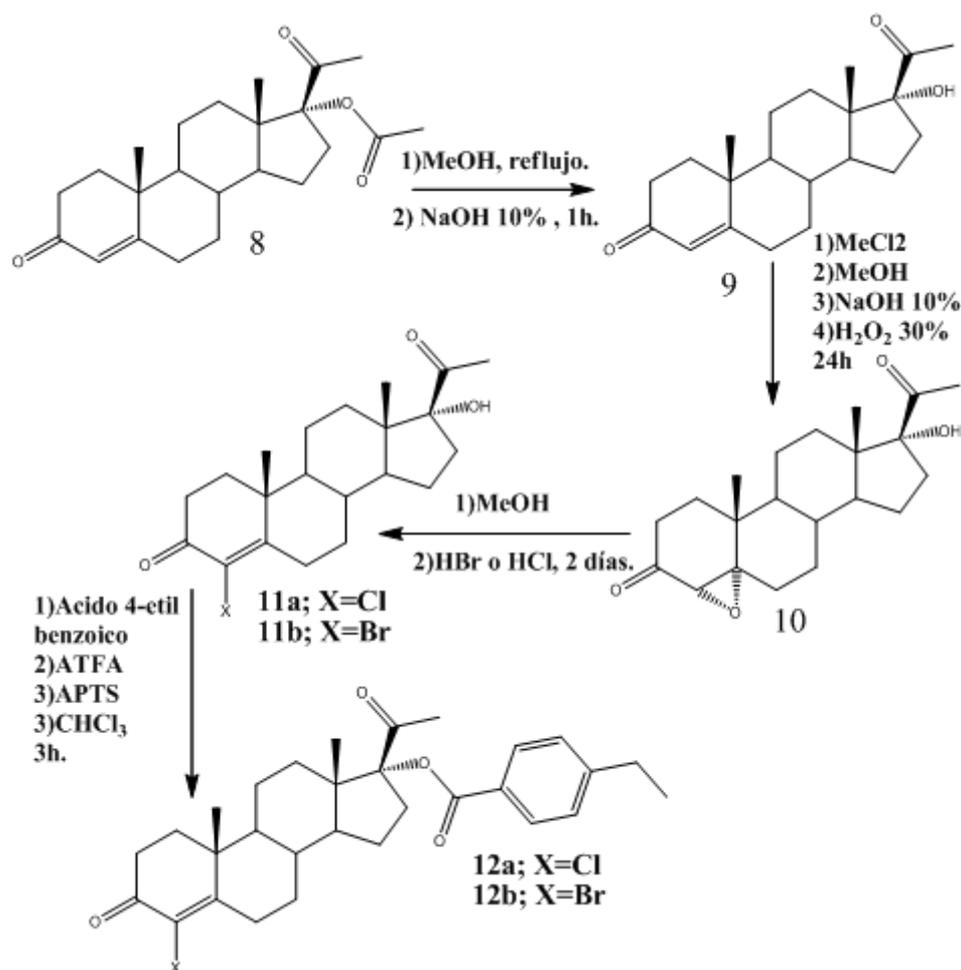


Figura 12. Ruta de síntesis

5.2.1. Síntesis de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)

En un matraz bola de fondo plano (250mL) provisto de agitación magnética y un sistema de reflujo, se colocó la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**) (1g, 2.69mmol) en metanol (60mL).

La mezcla se mantuvo con agitación constante y a reflujo hasta disolución total, posteriormente se adicionó una solución de hidróxido de sodio al 10% (20mL), y se mantuvo las condiciones durante una hora.

Transcurrido el tiempo de reacción el disolvente se evaporó de la mezcla de reacción mediante destilación a presión reducida y se agregó hielo. El precipitado obtenido se separó por filtración y se secó a vacío. El producto obtenido se purificó por recristalización de metanol (Figura 13).

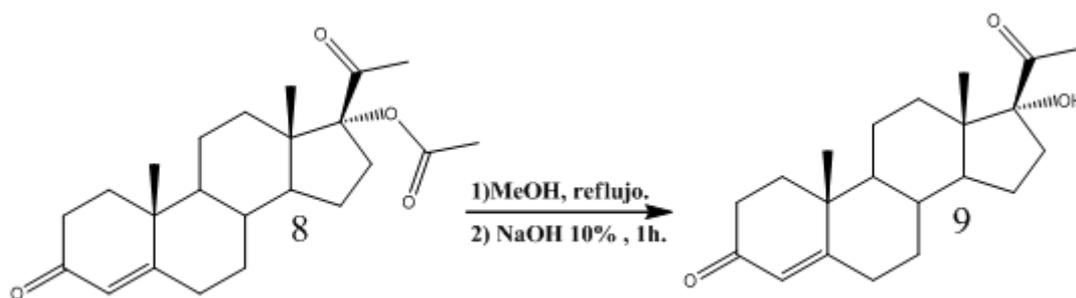


Figura 13. Síntesis de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9).

5.2.2. Síntesis de 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

En un matraz bola de fondo plano (250mL) provisto de agitación magnética se colocó (9) (0.5g, 1.52mmol) en diclorometano (5mL), cuando se obtuvo una mezcla homogénea, se agregó metanol (6mL). Posteriormente se adicionó solución de hidróxido de sodio al 10% (0.6mL) y de peróxido de hidrogeno al 30% (0.8mL).

La agitación se mantuvo constante durante 24h a temperatura ambiente.

Al término de la reacción se eliminó el disolvente del medio de reacción con destilación a presión reducida y se agregó hielo, el precipitado obtenido se separó por filtración y se secó a vacío (Figura 14).

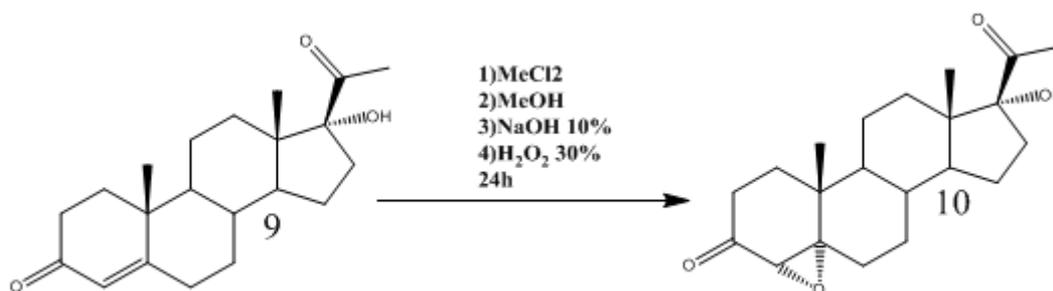


Figura 14. Síntesis de 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

5.2.3. Síntesis de 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)

En un matraz bola de fondo plano (250mL) provisto de agitación magnética se disolvió (10) (0.5g, 1.45mmol) en metanol (15mL), a continuación se agregó el correspondiente ácido concentrado (HCl o HBr, 2.5mL), la agitación se mantuvo constante durante 2 días a temperatura ambiente.

Al término de la reacción se adicionó hielo a la mezcla de reacción y se neutralizó con bicarbonato de sodio. Posteriormente se adicionó agua y se agitó la mezcla a temperatura ambiente. El precipitado obtenido se separó por filtración y se secó a vacío.

El sólido se purificó mediante cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria sílica gel (15g) y como fase móvil una mezcla de hexano: acetato de etilo (75:25) (Figura 15).

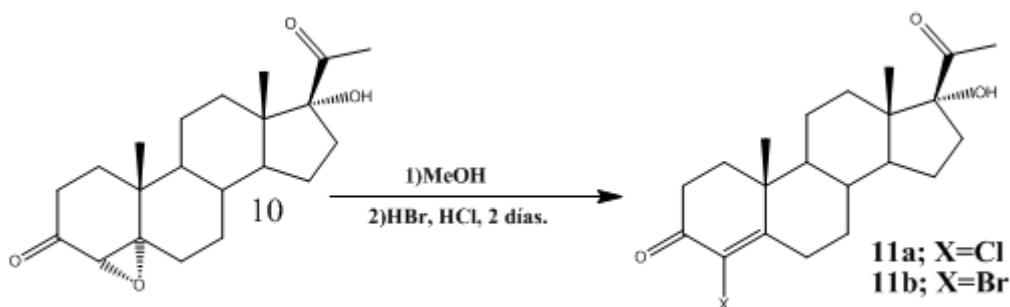


Figura 15. Inserción de un átomo de halógeno en C₄

5.2.4. Síntesis de 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

En un matraz bola (50mL) provisto con una barra de agitación magnética, se colocó ácido 4-etilbenzoico (0.293g, 2 equivalentes), ácido p-toluensulfónico previamente secado (0.1g), anhídrido trifluoroacético (0.6mL, 4 equivalentes) y de diclorometano (3mL); la mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente hasta disolución total, posteriormente se adicionó (11a) o (11b) (0.5g, 1 equivalente).

La agitación se mantuvo durante 3 horas y al término de la reacción se adicionó de diclorometano (10mL) y se neutralizó el medio de reacción con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con diclorometano. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se eliminó mediante destilación a presión reducida, obteniendo un líquido aceitoso el cual finalmente se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15g) utilizando como fase móvil una mezcla de hexano: acetato de etilo (70:30) (figura 16).

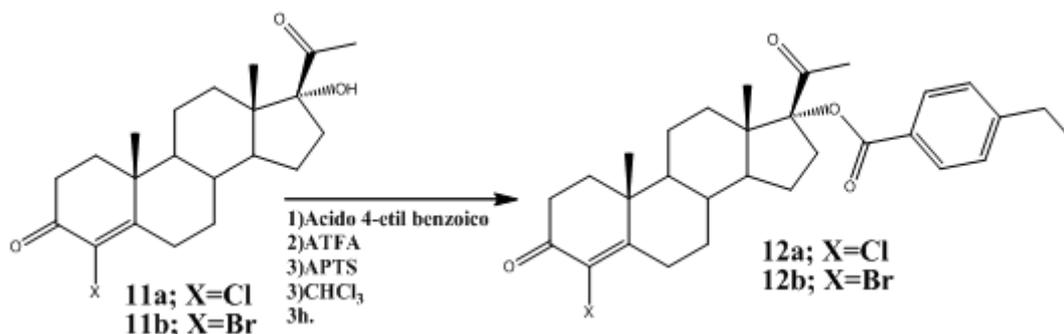


Figura 16. Síntesis de 17 α -(p-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(p-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

5.3. EVALUACIÓN BIOLÓGICA

5.3.1. Ensayo *in vitro* de afinidad a receptor de progesterona (RP)

Extracción de Citosol de Útero de conejo

Se extrajo el útero de conejos maduros tratados durante 7 días con valerato de estradiol (10 μ g/animal), el útero de conejo fue molido y homogenizado en un volumen de buffer TEMD con inhibidores de proteasa PMSF (2mM), Leupeptina (5mM), Tris-HCl (40mM), EDTA (3mM) y molibdato de sodio (20mM), ditiotretitol (0.5mM) y glicerol al 10% a pH=7.4. El homogenado se centrifugó a 140 000 xg por 1 hora a 4°C.

La fracción citosólica obtenida del líquido sobrenadante se almacenó a -70°C y las proteínas citosólicas del útero (4mg de proteína en 200 μ L) fueron determinadas por el método de Bradford. [15]

Ensayo de Unión a RP

Para el ensayo se preparó una serie de tubos que contenían [³H] Promegestona (0.4nM) (**13**) (Figura 17), más cantidades crecientes de Promegestona (10⁻¹⁰ a 10⁻⁶ M) o de los compuestos a evaluar, en etanol.

Posteriormente se adicionaron alícuotas de citosol de útero (200 μ L, 4mg de proteína) y se incubó en presencia de buffer TEMD con inhibidores de proteasas (300 μ L) por 18 horas a 4°C.

Al término de la incubación se adicionó una solución saturada de sulfato de amonio (30%) en buffer TEMD (0.21mL), la mezcla se incubó nuevamente por 1 hora a 4°C.

Se centrifugó a 10 000 xg por 10 minutos y el pellet se redisolvió en TEMD (0.5mL) mezclado con carbón-dextrán (0.5mL), la mezcla se incubó por 10 minutos a 4°C, posteriormente se centrifugó a 800xg por 10 minutos. De cada tubo se tomó una alícuota (600µL) y se colocó en un vial donde se le adicionó líquido de centelleo Ultima Gold (5mL) para finalmente leer la radiactividad producida por el complejo [³H] Promegestona-receptor en el analizador de centelleo.

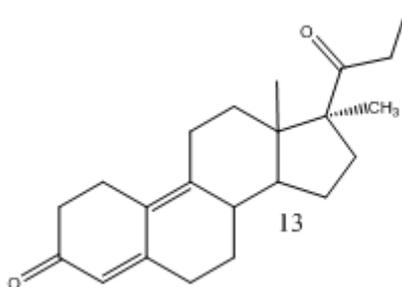


Figura 17. Promegestona (13).

Determinación de %ARE

El % de afinidad relativa de enlace (%ARE) se calculó para cada compuesto de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$ARE = \frac{CI_{50 \text{ de } [H^3]Promegestona}}{CI_{50 \text{ del compuesto}}} \times 100$$

5.3.2. Ensayo *in vitro* de afinidad a receptor de andrógenos (RA)

Extracción de citosol de próstata de rata

La próstata de rata fue homogenizada con un homogenizador de tejido (Teckmar, Cincinnati, OH), en un volumen de buffer TEMD con inhibidores de proteasas PMSF (2mM), Leupeptina (5mM) en hielo. Los homogenados fueron centrifugados a 140,000x g por 60 minutos en un SW60 Ti rotor (Beckman Instruments, Palo alto, CA).

La fracción citosólica obtenida del líquido sobrenadante del homogenado de próstata de rata, se almacena a -70°C. Las proteínas de citosol prostático (4mg de proteínas en 200µL) fueron determinados por el Método de Bradford.[15]

Ensayo de unión a AR

Se preparó una serie de tubos que contenían Mibolerona- $[^3\text{H}]$ (1nM) ($[^3\text{H}]$ MIB), más cantidades crecientes de Mibolerona no radiactiva (MIB) (10^{-10} - 10^{-7} M) (**14**) (Figura 18) o los compuestos a evaluar, en etanol.

Estos tubos se incubaron junto con triamcinolona (200nM), en etanol para prevenir la interacción de MIB con los receptores a glucocorticoides y a progesterona.

Posteriormente se adicionaron alícuotas de citosol de próstata (200 μL), se incubaron en presencia de buffer TEMD conteniendo inhibidores de proteasa (300 μL) por 18h a 4°C.

Al término de la incubación se adicionó una solución saturada de sulfato de amonio (35%) en buffer TEMD (0.27mL), la mezcla se incubó nuevamente por 1 hora a 4°C.

Se centrifugó a 10 000 xg por 10 minutos y el pellet se redisolvió en TEMD (0.5mL) mezclado con carbón-dextrán (0.5mL). La mezcla se incubó por 10 minutos a 4°C, posteriormente se centrifugaron a 800xg por 10 minutos. De cada tubo se tomaron alícuotas (600 μL) y se colocaron en un vial donde se les adicionó líquido de centelleo Ultima Gold (5mL) para finalmente leer la radiactividad producida por el complejo $[^3\text{H}]$ MIB-receptor en el analizador de centelleo.

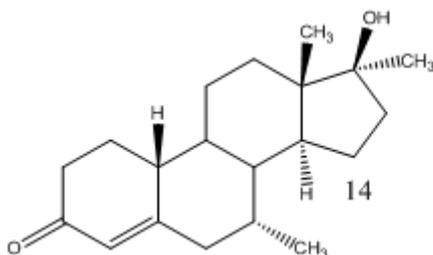


Figura 18. Mibolerona (MIB) (14)

Determinación de %ARE

El % de afinidad relativa de enlace (%ARE) se calculó para cada compuesto de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$ARE = \frac{CI_{50 \text{ de } [^3\text{H}] \text{ Mibolerona}}}{CI_{50 \text{ del compuesto}}} \times 100$$

5.3.3. Ensayo *in vitro* de inhibición de la enzima 5 α -reductasa tipo I y II

Extracción de la enzima 5 α -reductasa

La enzima 5 α -reductasa tipo I se obtuvo de microsomas hepáticos de rata, mientras que la 5 α -reductasa tipo II se obtuvo del pellet formado de la fracción homogenizada de próstata, después de centrifugarlo a 1500 xg.

Determinación de la concentración inhibitoria 50% (CI₅₀) de los compuestos en la enzima 5 α -reductasa

Para cada uno de los compuestos se preparó una serie de tubos en los cuales se utilizaron 6 series de tubos de ensayo conteniendo concentraciones crecientes (10^{-10} - 10^{-4} M) de los compuestos, disueltos en metanol y conteniendo T[³H] (2nM); así mismo se incluyeron tubos controles a los que solo se adicionó T[³H] (2nM). Los tubos se colocaron en baño de agua y en atmosfera de nitrógeno hasta evaporar totalmente el disolvente; enseguida se añadió buffer de fosfatos (720 μ L, 40mM) pH= 6.5 y fracción microsomal de próstata (80 μ L, 360 μ g/mL de proteína). Posteriormente se adicionó DTT (100 μ L, 1mM) y NADPH (100 μ L, 2mM) con los que se dio el inicio de la reacción.

Los tubos se agitaron en un vortex y se incubaron a 37°C por una hora. Finalizado el tiempo de incubación se agregó diclorometano (1mL) para detener la reacción y se agitó nuevamente. Se extrajo la fase orgánica en la que se encontraba la DHT [³H] realizando tres extracciones más y una vez reunidos los extractos, el disolvente se evaporó en baño de agua. El sólido formado se resuspendió con 0.5mL de metanol y se aplicó gota a gota en una placa cromatográfica para separar la DHT [³H] formada. El procedimiento se repitió 5 veces; adicionalmente se aplicaron los estándares de T y DHT en cada extremo de la placa eluyendo tres veces en un sistema cloroformo-acetona (9:1).

Para la visualización de los estándares, las placas se observaron bajo luz UV ($\lambda=254$ nm) y posteriormente se revelaron con una solución de ácido fosfomolibdico en metanol al 8%. Se marcó y cortó la zona correspondiente a la

DHT [³H] (Rf=0.64), después, los pedazos de sílice se colocaron en viales donde se les adicionó líquido de Centelleo Ultima Gold (5mL) y finalmente se registró la radiactividad producida por la DHT [³H] en el analizador de centelleo. La actividad de la enzima se calculó en base a los controles que se incubaron en presencia únicamente de T [³H]. Cada experimento se realizó por duplicado. La referencia utilizada fue finasterida **(5)** y dutasterida **(6)**.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. SÍNTESIS QUÍMICA

La materia prima de la síntesis: 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**) se hidrolizó en medio básico con NaOH al 10% para obtener la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (**9**) con un rendimiento del 83.8%. Dado el carácter electrofílico del doble enlace en C4-C5, la epoxidación del doble enlace se realizó con H₂O₂ al 30% en medio básico a fin de generar el ion hidroperóxido que actuó como nucleófilo y reaccionó con el doble enlace mediante un mecanismo de Adición 1,4 tipo Michael. Ya que la cara β del esteroide se encuentra impedida estéricamente por el metilo angular en posición 19, la adición del ión hidroperóxido se llevó a cabo preferentemente por la cara α , dando un rendimiento del 72.54% del isómero α . El siguiente paso de la ruta de síntesis consistió en inserción de un átomo de halógeno (Cl o Br) en la posición 4 del esteroide y la subsecuente regeneración del doble enlace en C₄-C₅ por la apertura del epóxido en medio ácido con un exceso del halogenuro de ácido (HCl o HBr) respectivo, dando rendimientos del 70-80%. En este caso, la reacción se inició por la protonación del epóxido y la posterior adición del halogenuro en la posición C₄, para producir una halohidrina de estereoquímica anti, que se deshidrata en condiciones ácidas generando una doble ligadura que conjuga con el carbonilo en la posición C₃.

Finalmente se llevó a cabo la esterificación del alcohol en C-17 por la formación *in situ* del anhídrido mixto procedente del ácido 4-etilbenzoico y el anhídrido trifluoroacético, usando ácido p-toluensulfónico como catalizador, se obtuvieron rendimientos del 11 al 20%.

6.1.1. Caracterización de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)

La materia prima: 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8) (Figura 19), es un sólido blanco amorfo con punto de fusión de 252-254°C.

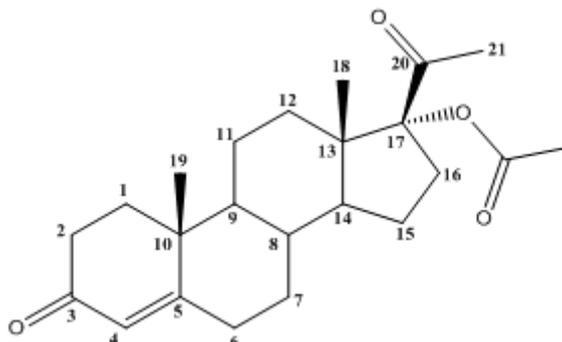


Figura 19. 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)

El espectro de UV mostró un máximo de absorción de 239.63 nm correspondiente al sistema conjugado 4-en-3-ona (Espectro 1).

En el espectro de IR (Espectro 2), se observó una banda de intensidad fuerte en 1732.61 cm^{-1} asignada a la vibración C=O del éster cuya presencia en la molécula queda confirmada por la banda adicional de mediana intensidad en 1260.45 cm^{-1} de la vibración =C-O-C.

La vibraciones en 1718.09 cm^{-1} y 1656.99 cm^{-1} indicaron la presencia de carbonilos de cetona en la molécula, corresponde a la segunda una α , β -insaturada.

En el espectro de RMN¹H (espectro 3) las señales simples que integran para 3H cada una y que se encuentran a campo alto en 2.15, 1.23 y 0.71 ppm, fueron asignadas a los metilos de las posiciones 21, 19 y 18 respectivamente. La señal del hidrógeno vinílico en posición 4 de la entidad 4-en-3-ona, se observó como un singulete a 5.78 ppm, mientras que la señal del metilo del grupo acetoxi apareció como un singulete que integró para 3H en 2.08 ppm.

En el espectro de RMN¹³C (espectro 4), la señal en 204.2 ppm se asignó al carbonilo de cetona en C₂₀, la señal en 199.6 ppm al carbonilo de cetona α , β -insaturada en posición 3 y la señal de 170.9 ppm al carbono carbonilo del éster en C-17. Se observaron además las señales correspondientes a los carbonos sp² en posición 4 y 5 en 124.3 y 170.9 ppm respectivamente, mientras que la señal del carbono metino en 17 apareció a 97.0 ppm.

El espectro de masas por la técnica FAB (Espectro 5), se encontraron dos picos en 372 y 373 correspondientes al M^+ y $(M+1)^+$ respectivamente, que confirman el peso molecular esperado para este compuesto (PM=372).

6.1.2. Caracterización de 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)

La 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9) (Figura 20), se obtuvo como un polvo fino color blanco, con un punto de fusión de 201-204°C y un Rf de 0.16.

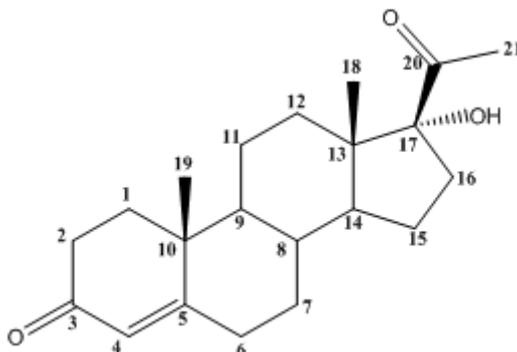


Figura 20. 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)

En el espectro de UV para este compuesto (Espectro 6), se observó una λ_{max} en 240.22 nm correspondiente a la cetona α , β -insaturada.

En el espectro de IR (Espectro 7) se confirmó la hidrólisis del éster de 8 y la aparición de un grupo hidroxilo por la banda ancha en 3424.75 cm^{-1} debida a la vibración del enlace O-H y la banda en 1208.40 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-OH. Además se observó en 1703.51 una banda de C=O de cetona en C-20 y una banda en 1665.48 cm^{-1} asignada a una cetona α , β -insaturada en C-3.

En el espectro de RMN¹H (Espectro 8) se observaron las señales de los metilos angulares como señales simples en 0.80 y 1.23 ppm correspondientes a C₁₈ y C₁₉ respectivamente. También se apreció la señal simple que integra para 3H, correspondiente al metilo de la posición 21 en 2.32 ppm. La señal del protón vinílico en posición C₄ de la entidad 4-en-3-ona apareció como una señal simple a 5.78ppm.

En el espectro de RMN¹³C (Espectro 9) se observó una señal a 211.8 ppm que le fue asignada al carbonilo de cetona en posición 20. La señal de carbonilo de la cetona α , β -insaturada de C₃ apareció a 199.7 ppm, mientras que los carbonos C₄ y C₅ que conforman el doble enlace conjugado se observaron en

124.2 y 171.1 ppm respectivamente. La señal desplazada a campo alto en 90.0 ppm se asignó al C₁₇ que confirmó la hidrólisis del éster.

El espectro de masas (Espectro 10), mostró dos picos a 330 y 331 que corresponden a M⁺ y (M+1)⁺, que confirman el peso molecular esperado para este compuesto (PM=330.47).

6.1.3. Caracterización de 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

El compuesto (10) se obtuvo como un sólido amorfo color blanco, con un punto de fusión de 153-155°C y un R_f de 0.30. (Figura 21)

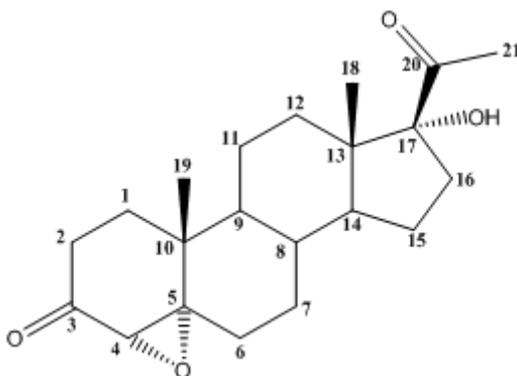


Figura 21. 17 α -hidroxi-4 α , 5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

El compuesto no presentó absorción en UV ya que no contiene ningún sistema conjugado.

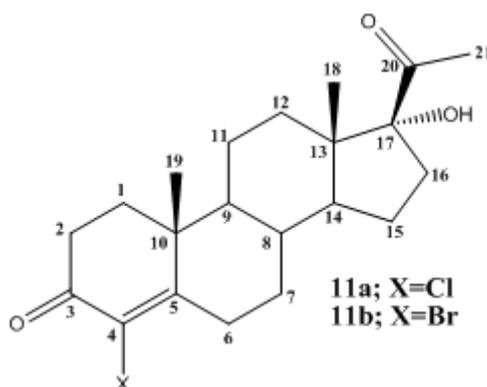
En el espectro de IR (Espectro 11), se observó la banda de intensidad fuerte en 1705.60 cm⁻¹ que se asignó al grupo C=O de cetona. La banda ancha en 3496.15 cm⁻¹ y la banda en 1208.94 cm⁻¹ fueron asignadas al grupo hidroxilo. La presencia del epóxido se confirmó por las señales en 1264.15, 890.68 y 786 cm⁻¹.

En el espectro de RMN¹H (Espectro 12), se observaron dos señales simples que integran para 3H en 0.78 y 1.19ppm, estas señales fueron asignadas a los hidrógenos de los metilos angulares en posición 18 y 19 respectivamente, mientras que la señal del metilo en 21 se apreció como una señal simple en 2.31 ppm. Además se observó una señal simple en 3.02ppm que corresponde al H en la posición 4.

En el espectro de RMN¹³C (Espectro 13) se observó una señal a 206.7 ppm asignada al carbonilo de las dos cetonas en C₃ y C₂₀, mientras que los carbonos base de oxígeno en 62.9 y 70.4 ppm confirman la presencia del epóxido en C₄ y C₅ respectivamente. La señal en 90.0 se asignó al C₁₇.

El espectro de masas (Espectro 14) mostró dos picos en 346 y 347 que corresponden a M⁺ y (M+1)⁺ lo que confirman el peso molecular esperado para este compuesto (PM=346.47).

6.1.4. Caracterización de 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**)



*Figura 22. 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**)*

El 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) (Figura 22) se obtuvo como un polvo fino de color rosa pálido con rendimiento de 70.53% y presentó un punto de fusión de 204-206°C.

El 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**) (Figura 22) se obtuvo como un polvo fino color amarillo pálido. La reacción tuvo un rendimiento de 82.85% y el compuesto presentó un punto de fusión de 203-205°C. Ambos compuestos (**11a**) y (**11b**) presentaron un R_f de 0.23.

En UV, los compuestos (**11a**) (Espectro 15) y (**11b**) (Espectro 20) presentaron λ_{max} de 255.07 y 260.64 nm, respectivamente, indicando la presencia de una cetona α , β -insaturada en las moléculas.

En los espectros de IR de los compuestos 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) (Espectro 16) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**) (Espectro 21) (Tabla 4) se observó la regeneración del doble enlace por la banda ca. 1680 cm⁻¹ correspondiente a la cetona α , β -insaturada. La banda ca. 882 cm⁻¹, indicó la presencia del átomo de halógeno.

Además se observaron una banda de fuerte intensidad ca. 1700 cm⁻¹ que corresponde a una cetona simple en C₂₀ y la banda ancha ca. 3400 cm⁻¹ que corresponde al hidroxilo.

Tabla 4. Señales presentes en IR para los compuestos 11a y 11b.

Asignación	17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) (cm ⁻¹)	17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b) (cm ⁻¹)
C=O α, β-insaturada	1680.82	1680.55
C-X	882.02	882.02
C=O	1703.99	1704.22
O-H	3472.74	3494.93

En ambos espectros de RMN¹H (Espectros 17 y 22) se observó la desaparición de la señal del H de la posición C₄, presente en el intermediario anterior, mientras que las otras señales permanecieron inalteradas.

En los espectros de RMN¹³C para los compuestos 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) (Espectro 18) y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**) (Espectro 23) (Tabla 5) se confirmó la regeneración del doble enlace por la señal ca. 190 ppm corresponde a la cetona α , β -insaturada en C₃, y la adición del halógeno se confirmó por que las señales C₄ y C₅ presentaron un desplazamiento ca. 120 ppm y 160 ppm respectivamente.

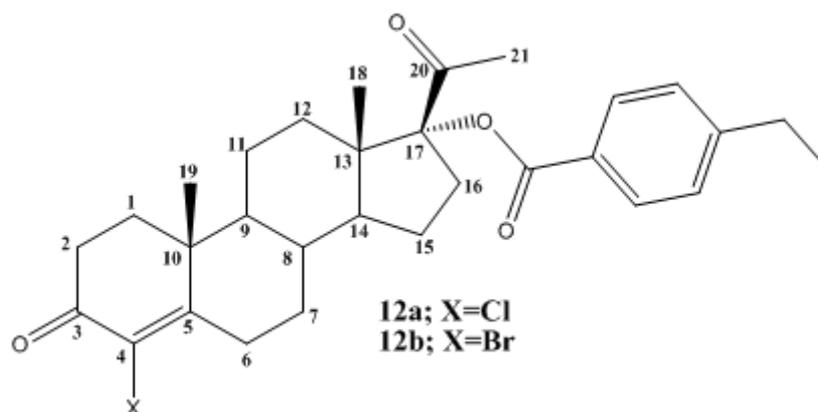
Tabla 5. Señales presentes en RMN¹³C para los compuestos 11a y 11b.

Posición	17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a) (ppm)	17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b) (ppm)
C3	190.87	190.87
C4	127.69	122.28
C5	164.60	167.90

En el espectro de masas del 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**11a**) (Espectro 19) se observó el ion molecular (M^+) en 364, que corresponde al peso molecular del compuesto, además se observó el ($M+2=366$) con un tercio de la intensidad de M^+ . Ambas señales confirman el patrón isotópico del cloro. (PM=364.90)

El espectro de masas del 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**) (Espectro 24) mostró el ión molecular en 408 y el ($M+2=410$) de la misma intensidad que M^+ , que confirmó el patrón isotópico del bromo. (PM=409.35)

6.1.5. Caracterización de 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**)



*Figura 23. 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**)*

El 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**), se obtuvo con un rendimiento del 11%. El producto puro se obtuvo como un polvo fino de color blanco con un punto de fusión de 225-228°C, y un R_f de 0.39. (Figura 23)

El 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**) se obtuvo como un polvo fino de color blanco con rendimiento del 21% y un punto de fusión de 239-241°C con R_f de 0.41. (Figura 23)

En el UV (Espectros (**12a**) 25 y (**12b**) 30) presentaron una λ_{max} de 243.52 y 243.70 nm respectivamente, correspondiente al anillo aromático.

En el IR (Espectros (**12a**) 26 y (**12b**) 31) se confirmó la presencia del éster por la banda ca. 1700 cm^{-1} que corresponde a la vibración C=O y la banda ca.

1290 cm^{-1} que corresponde a la vibración =C-O-C. Las bandas en 1702.11 y 1690.97 cm^{-1} , corresponden a la vibración C=O de una cetona simple y una cetona α,β -insaturada respectivamente. (Tabla 6)

Tabla 6. Señales presentes en IR para los compuestos 12a y 12b.

Asignación	17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) (cm^{-1})	17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b) (cm^{-1})
C=O α, β -insaturada	1610.22	1690.97
C-X	1106.93	1109.96
C=O	1700.00	1702.11
C=O	1712.03	1709.95
=C-O-C	1290.34	1291.21

En los espectros de RMN¹H (Espectros 27 y 32) de los compuestos (12a) y (12b), a campo bajo se observaron señales de dos tipos de H aromáticos ca. 8 y 7 ppm como señales dobles, que corresponde a Ha y Hb, estos núcleos se acoplaron con constantes ca a 6 y 9 Hz respectivamente. A campo alto se observaron señales cuadruples ca. 2.8 ppm (f) y señales triples ca. 1.3 ppm (g), que corresponden al metileno y al metilo respectivamente, que conforman al etilo que está unidos al anillo aromático. (Figura 24)(Tabla7)

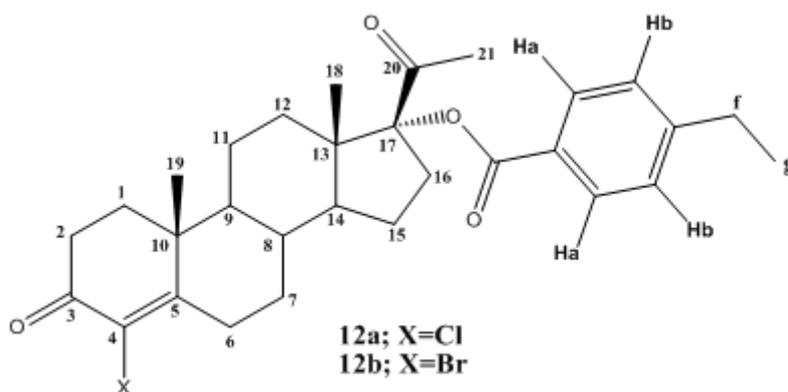


Figura 24. 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

En los espectros de RMN¹³C de los compuestos (11a) (Espectro 28) y (12b) (Espectro 33) se observó un desplazamiento de la señal del C de la posición 17 ca. 97.4 ppm, además se observó la señal ca. 165.0 ppm correspondiente al Carbono del carbonilo del éster y las diferentes señales de C aromáticos en un rango de 128 a 150 ppm. (Figura 25)(Tabla 7)

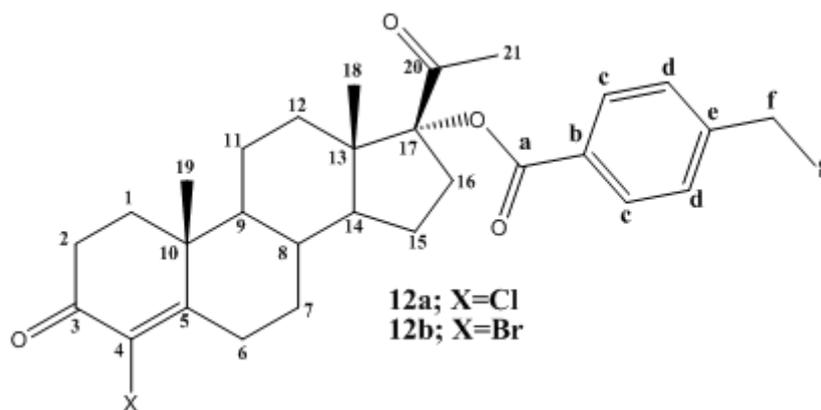


Figura 25. 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

Tabla 7. Señales en RMN¹H y RMN¹³C en la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

Posición	RMN ¹³ C		RMN ¹ H	
	X=Cl (δ ppm)	X=Br (δ ppm)	X=Cl (δ ppm)	X=Br (δ ppm)
C3	190.9	190.9	-----	-----
C4	127.7	122.0	-----	-----
C5	164.3	167.4	-----	-----
C17	97.4	96.8	-----	-----
C18	15.5	15.2	0.80	0.76
C19	18.1	20.9	1.30	1.26
C20	204.5	204.1	-----	-----
C21	26.6	26.3	-----	-----
O-C=O	166.3	166.0	-----	-----
C (aromático)	b-130.7	b-129.8	8.00	7.96
	c-130.1	c-129.8	J _{ab} =6.00Hz	J _{ab} =9.00Hz
	d-128.4	d-128.2	7.36	7.32
	e-150.9	e-150.6	J _{ba} =9.00Hz	J _{ba} =9.00Hz
f (-CH₂-)	29.3	29.0	2.78	2.72
g (-CH₃)	14.8	14.5	1.28	1.24

El espectro de masas del 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**) (Espectro 29), mostró el ion molecular (M⁺) en 497.3, que corresponde al peso molecular del compuesto, además se observó el (M+2=499) con un tercio de la intensidad de M⁺. Ambas señales confirman el patrón isotópico del cloro. (PM=497)

El espectro de masas del 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**) (Espectro 39), mostró el ion molecular en 541.4 y el (M+2=543) de la misma intensidad que M⁺ esta relación confirmó el patrón isotópico del bromo. (PM=541)

6.2. EVALUACIÓN BIOLÓGICA

La evaluación de la actividad antiandrogénica de los productos finales e intermediarios de reacción se realizó por ensayos *in vitro* para obtener el CI_{50} de unión al receptor de andrógenos (RA), la ARE, y la CI_{50} de inhibición de la enzima 5 α -reductasa. Dado que los compuestos son análogos de la progesterona, estos podrían ejercer efectos sobre el receptor de progesterona, por lo cual se evaluó su unión a dicho receptor (RP).

6.2.1. Ensayo *in vitro* de afinidad a receptor de progesterona (RP)

Los valores de concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) de la materia prima, los 6 compuestos sintetizados, y la Promegestona (**13**), usada como referencia de 100% de ARE al RP se indica en la tabla 8.

De los compuestos evaluados, solo la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**), presentó ligera actividad sobre el receptor de progesterona con un %ARE de 5.3.

Tabla 8. Unión de los compuestos sintetizados al receptor de Progesterona (RP).

Compuesto	CI_{50} (nM)	ARE (%)
Promegestona (13)	5.4	100
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)	NA	-----
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)	NA	-----
17 α -hidroxi-4-Cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)	NA	-----
17 α -hidroxi-4-Bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)	NA	-----
17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)	NA	-----
17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)	NA	-----
17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)	101.5	5.3

NA: No presento actividad.

El hecho de que los compuestos sintetizados no se unen al receptor de progesterona indica que estos no producirán efectos progestacionales indeseables, como impotencia o pérdida del deseo sexual. [11]

6.2.2. Ensayo *in vitro* de afinidad por el receptor de andrógenos (RA)

Los resultados de CI_{50} de los compuestos evaluados (Tabla 9) en comparación con el control positivo Mibolerona (MIB) (**14**) indican que solo tres de los compuestos evaluados (**9**, **8**, y **11a**) incluyendo la materia prima (**8**), presentaron ligera afinidad por el receptor de andrógenos, sin embargo dicha actividad no es significativa (0.15, 0.48 y 2.3) respecto al control positivo MIB.

Tabla 9. Unión de los compuestos sintetizados al receptor de Andrógenos (RA).

Compuesto	CI_{50} (nM)	ARE (%)
Mibolerona (14)	1.9	100
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)	NA	-----
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)	NA	-----
17 α -hidroxi-4-Cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)	82	2.3
17 α -hidroxi-4-Bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)	NA	-----
17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)	NA	-----
17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)	400	0.48
17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)	1200	0.15

La 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**) y dos de sus intermediarios (**10** y **11b**) no se unen a RA. Esta propiedad puede ser muy útil en el tratamiento de enfermedades andrógeno-dependientes con la ventaja de no presentar efectos secundarios por supresión total de la acción de andrógenos, pues las funciones sexuales masculinas requieren niveles normales de T en el Sistema Nervioso Central (SNC), principalmente para mantener la libido. [12]

6.2.3. Ensayo *in vitro* de inhibición de la actividad de la enzima 5 α -reductasa tipo I y tipo II

Los valores de Cl_{50} para ambas isoformas de la enzima 5 α -R se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Efecto de los compuestos sintetizados como inhibidores de la 5 α -reductasa tipo I y tipo II.

Compuesto	5 α - reductasa tipo I Cl_{50} (μ M)	5 α - reductasa tipo II Cl_{50} (μ M)
Finasterida (5)	0.0054	0.0005
Dutasterida (6)	0.0003	0.0002
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)	NA	65
17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)	NA	100
17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)	0.50	42
17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)	0.32	40
17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)	50.1	NA
17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)	62.6	37
17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)	31.7	39

La materia prima, 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (**8**), presentó actividad inhibitoria para ambas isoformas de la enzima, con valores de Cl_{50} equiparables, 31.7 μ M y 39 μ M. Estos valores son muy altos comparados con los fármacos de uso clínico finasterida (**5**) y dutasterida (**6**), lo cual indica la poca potencia y selectividad de este compuesto.

La 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (**9**), mostró actividad para ambas isoenzimas siendo más activo para la enzima tipo II con un Cl_{50} de 37 μ M.

El compuesto 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (**10**), presentó una baja actividad, pero selectividad total hacia la inhibición a la isoforma tipo I con Cl_{50} de 50.1 μ g. dado que este compuesto no mostró actividad inhibitoria sobre la isoenzima tipo II, se refleja la necesidad del sistema conjugado sp^2 - sp^2 - sp^2 en el anillo A en las posiciones C₃, C₄ y C₅ para dicha actividad pues esta

característica le permite competir con el sustrato por el sitio activo de la enzima. [14, 10]

El hecho de que **(10)** presente inhibición selectiva de la isoenzima tipo I puede representar una ventaja en el tratamiento clínico de patologías dermatológicas dependientes de andrógenos como la calvicie masculina, acné, e hirsutismo. [10]

Los intermediarios 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona **(11a)** y 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona **(11b)**, resultaron inhibidores duales ya que mostraron actividad para ambas isoformas de la enzima. Sin embargo presentaron mayor actividad hacia la isoforma tipo I. Los valores de CI_{50} para estos compuestos fueron de 0.32 y 0.50 μ M y resultaron ser los compuestos más activos de todos los evaluados. Es importante encontrar inhibidores duales de la 5 α -R, pues resultan ser más efectivos para la prevención y/o tratamiento de enfermedades andrógeno dependientes como HPB e incluso CaP, como es el caso de la Dutasterida **(6)** con la que se logra disminuir los niveles de DHT hasta en un 93%. [1,2]

Los compuestos 17 α -(4-etil) benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona **(12a)** y 17 α -(4-etil) benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona **(12b)**, que poseen los requisitos estructurales para ser inhibidores de la 5 α -R presentaron actividad solo hacia la isoforma tipo II. Dado que estos compuestos no poseen actividad sobre RP ni RA se pueden reducir o eliminar los efectos adversos relacionados a la activación o bloqueo de dichos receptores.

6. CONCLUSIONES

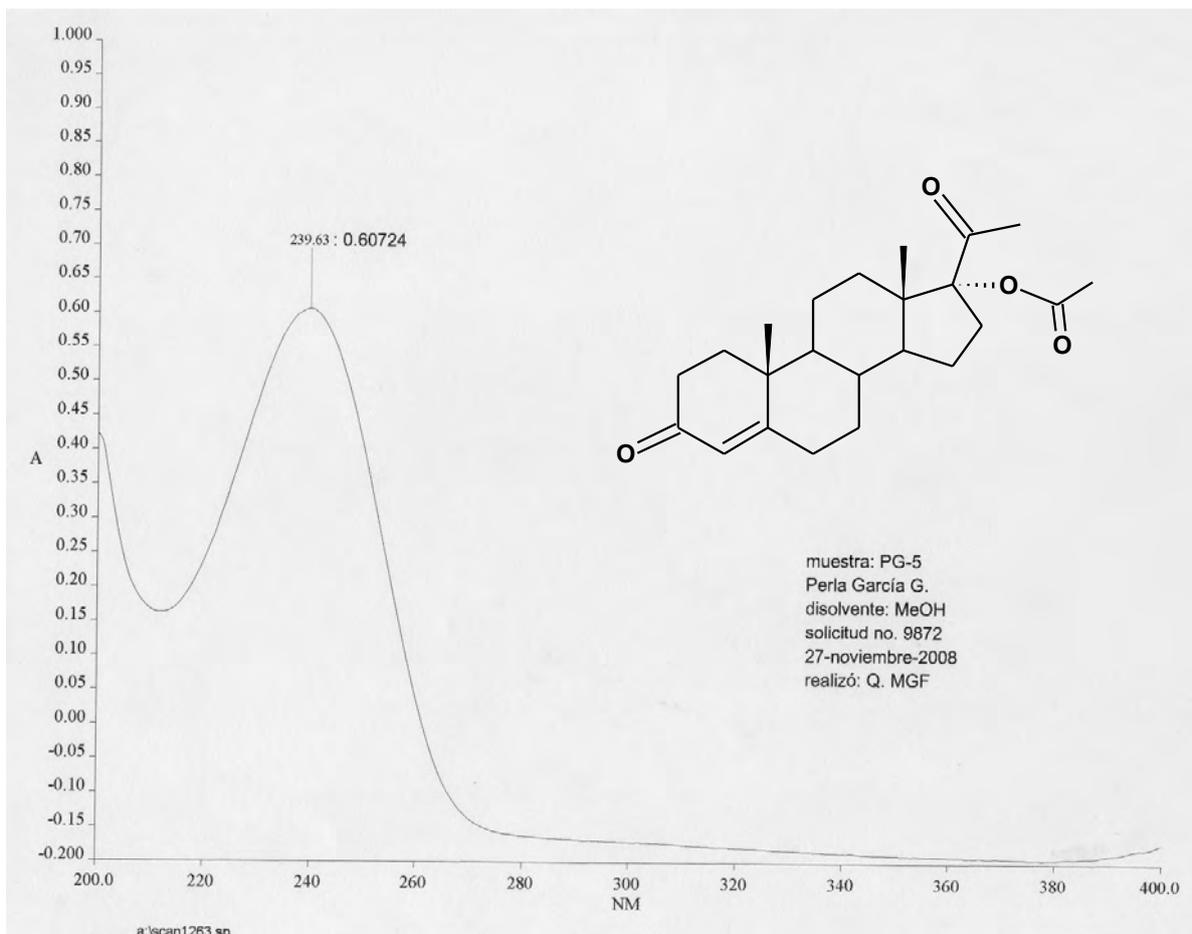
- Se logró desarrollar una ruta de síntesis que permitió obtener nuevos compuestos derivados de la progesterona que presentaron inhibición hacia una o ambas isoformas de la enzima 5 α -reductasa. Sin embargo en ninguno de los casos se mostró mayor actividad inhibitoria que los compuestos de referencia: Finasterida (**5**) y Dutasterida (**6**).
- Se logró sintetizar los nuevos compuestos análogos de la progesterona: 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (**12a**) y 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**12b**), que presentaron actividad inhibitoria por la isoforma tipo II e inactividad sobre la tipo I, sin embargo, en ninguno de los casos se mostró mayor actividad inhibitoria que las referencias. Dado que estos compuestos no poseen actividad sobre RP ni RA, se pueden reducir o eliminar los efectos adversos relacionados a la activación o bloqueo de dichos receptores.
- Tres de los compuestos (**8, 9 y 11a**) presentaron afinidad por el receptor de andrógenos (RA), sin embargo en ninguno de los casos fue significativo.
- Se encontró que el compuesto 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (**11b**), a pesar de no tener el éster en posición C-17, presentó las características necesarias para un inhibidor de la enzima 5 α -reductasa derivado de la progesterona, por lo que sería recomendable evaluar su actividad *in vivo* para determinar la necesidad de dicho grupo transportador.

8. BIBLIOGRAFÍA

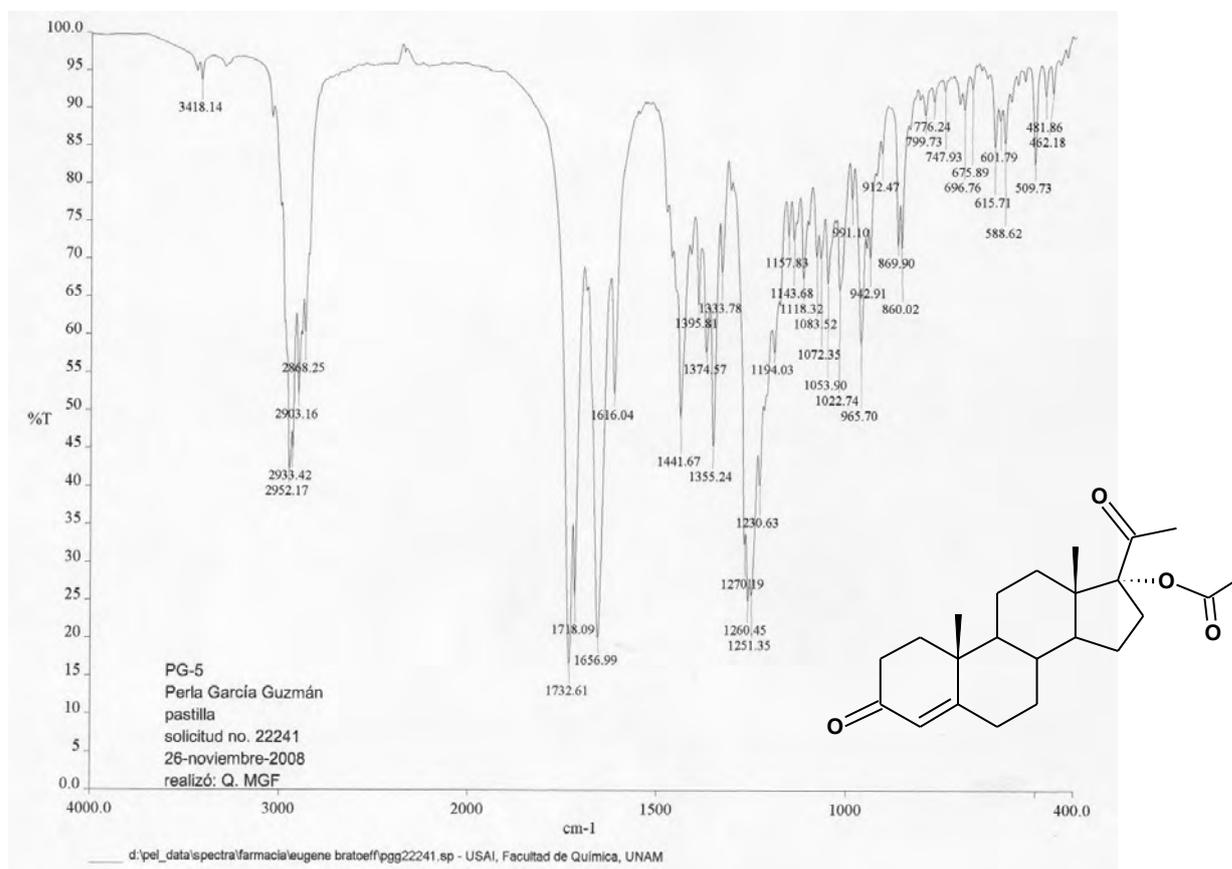
1. Tindall J. Donald and S. Rittmaster Roger, ***The rationale for inhibiting 5 α -reductase Isoenzymes in the Prevention and Treatment of Prostata Cancer***. The Journal of Urology, vol. 179, 1235-1242, April 2008
2. Carson III Culley and S. Rittmaster Roger, ***The Role of dihydrotestosterone in Benign Prostatic Hyperplasia***. Urology 61 (Suppl 4A): 2-7, 2003.
3. Cabeza Mariza, Bratoeff Eugene, et al. ***Biological activity of novel progesterone derivatives having a bulky éster side chains an C-3***. Steroids 73, 838-843, 2008.
4. Steers d. William, ***5 α -Reducatse activity in the Prostate***. Urology 58 (Suppl 6^a): 17-24, 2001.
5. Higano S. Celestia, ***Side effects of Androgen Deprivation therapy: monitoring and minimizin toxicity***. Urology 61 (Suppl 2A): 32–38, 2003.
6. Perez-Ornelas Victor, Cabeza Marisa, et al. ***New 5 α -reductase inhibitors: In vitro and In vivo effects***. Steroids 70, 217-224, 2005.
7. Imperato-McGinley J., Zhu Y.-S., ***Androgens and male physiology the síndrome of 5 α -reductase-2 deficiency***, Molecular and celular endocrinology 198, 51-59, 2005.
8. Zhu Yuan-Shan and Guang-Huan Sun, ***5 α -Reductase Isoenzymes in the Prostate***, J Med Sci., 25 (1): 1-12, 2005.
9. Bratoeff Eugene, Cabeza Marisa, et al. ***Recent Advances in the Chemistry and Pharmacological Activity of New Steroidal Antiandrogens and 5 -Reductase Inhibitors***, Current Medicinal Chemistry, 12, 927-943, 2005.
10. Barry Kenny, et al., ***Pharmacological Options in the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia***, journal of Medicinal chemistry, Vol. 40, no. 9, 1293-1313, 1997.
11. Crawford E. David, ***Hormonal Therapy in Prostate Cancer: Historical Approaches***, Reviews in Urology, vol. 6, Suppl. 7, S3-S11, 2004.
12. Braoeff Eugene, Cabeza Marisa, et al., ***In vivo and in vitro effect of novel 4,16-pregnadiene-6,20-dione derivatives, as 5 α -reductase inhibitors***, Journal of Steroid biochemistry & Molecula biology 111, 275-281, 2008.
13. Kurup Alka, Garg Rajni, et al., ***Comparative QSAR analysis of 5 α -Reductase Inhibitors***, Chem. Rev., 100, 909-924, 2000.
14. Xun Li, et al., ***Synthesis an in vitro evaluation of 4-substituted N-(1,1-Dimethylethyl)-3-oxo-4-androstene-17 β -carboxamides as 5 α -Reductase inhibitors and Antiandrogens***, J. Med. Chem., 38, 1456-1461, 1995
15. M.M. Bradford, ***A rapid and sensitive method for the quantization of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding***, Anal. Biochem. 72, 248–254, 1986.
16. Fauci et al., ***Harrison principios de medicina interna***, 17^a edición, McGrawhill, vol.1, 2008, pag. 600-601.

ANEXO

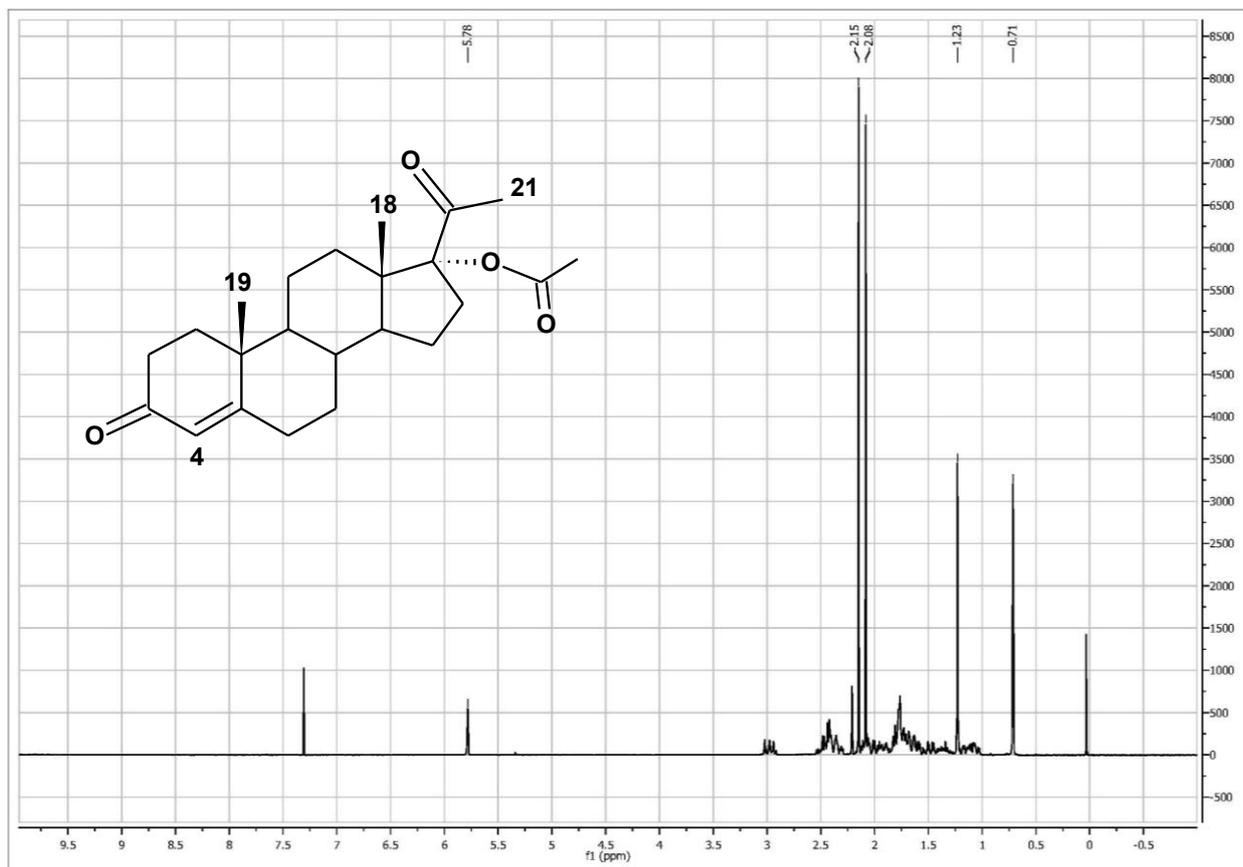
ESPECTRO 1 UV-VIS de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)



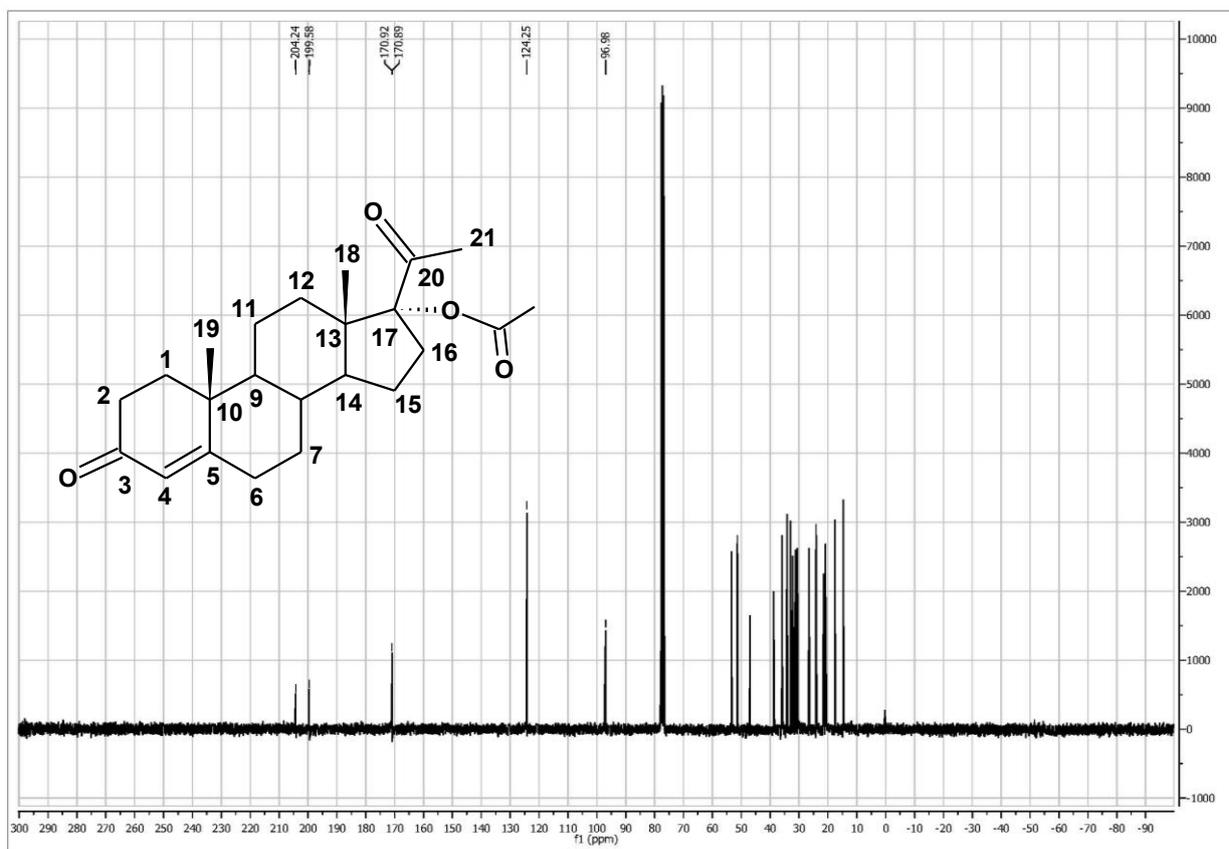
ESPECTRO 2 IR de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)



ESPECTRO 3 RMN¹H de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)

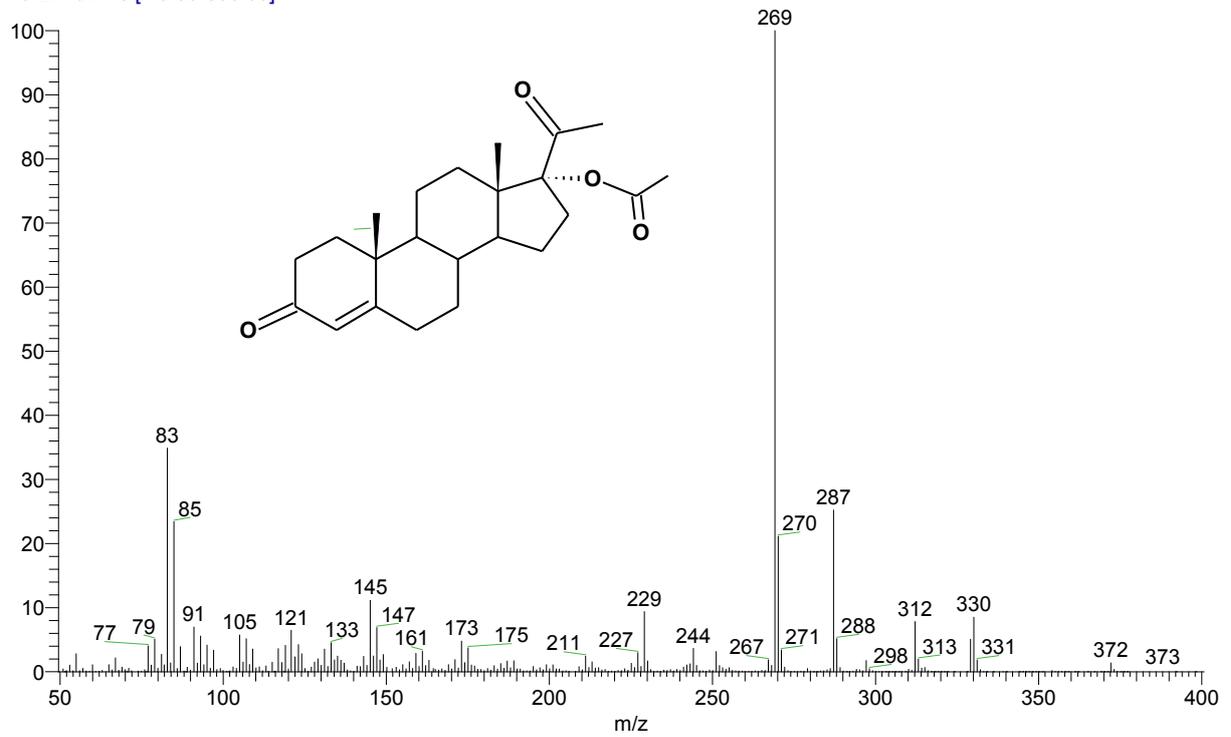


ESPECTRO 4 RMN¹³C de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)

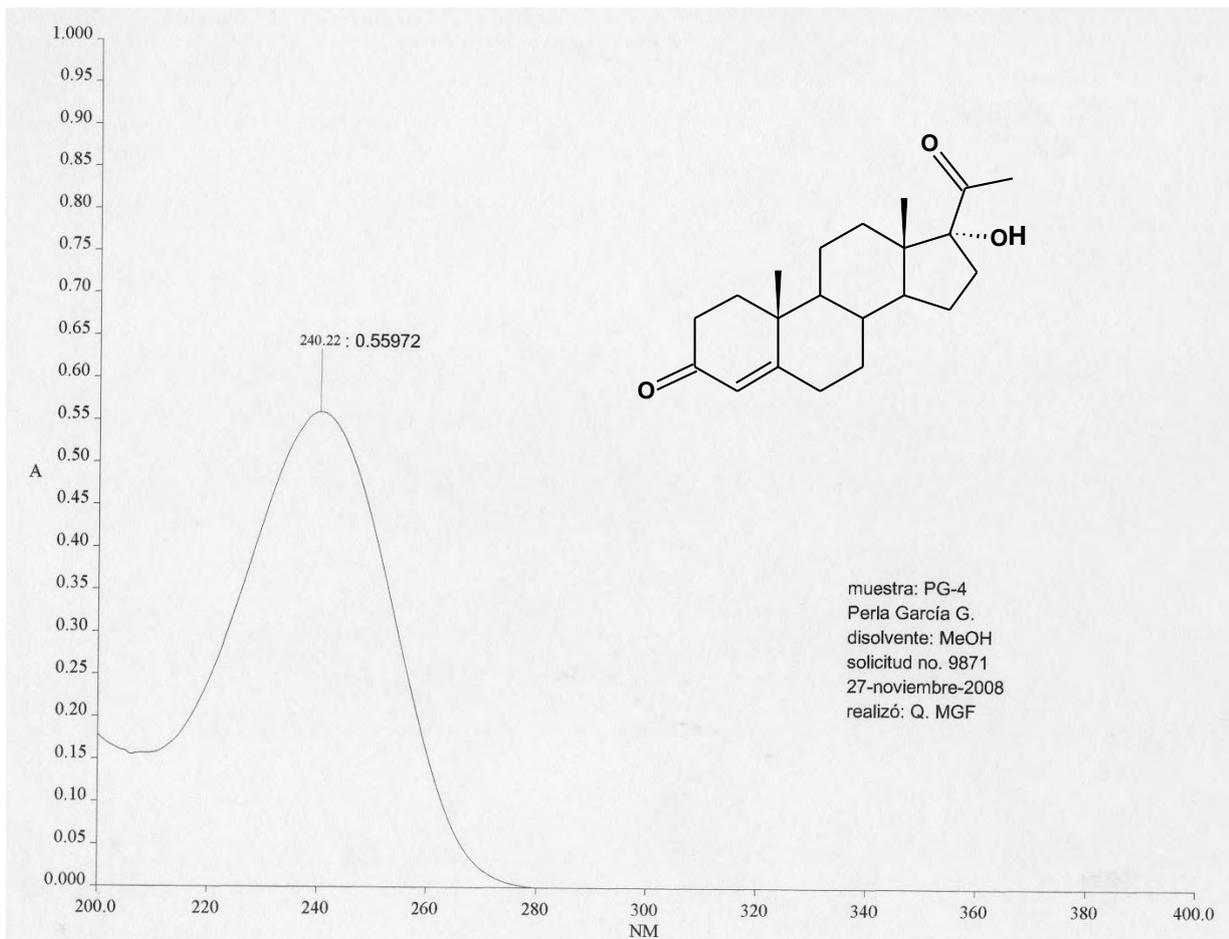


ESPECTRO 5 MASAS de la 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (8)

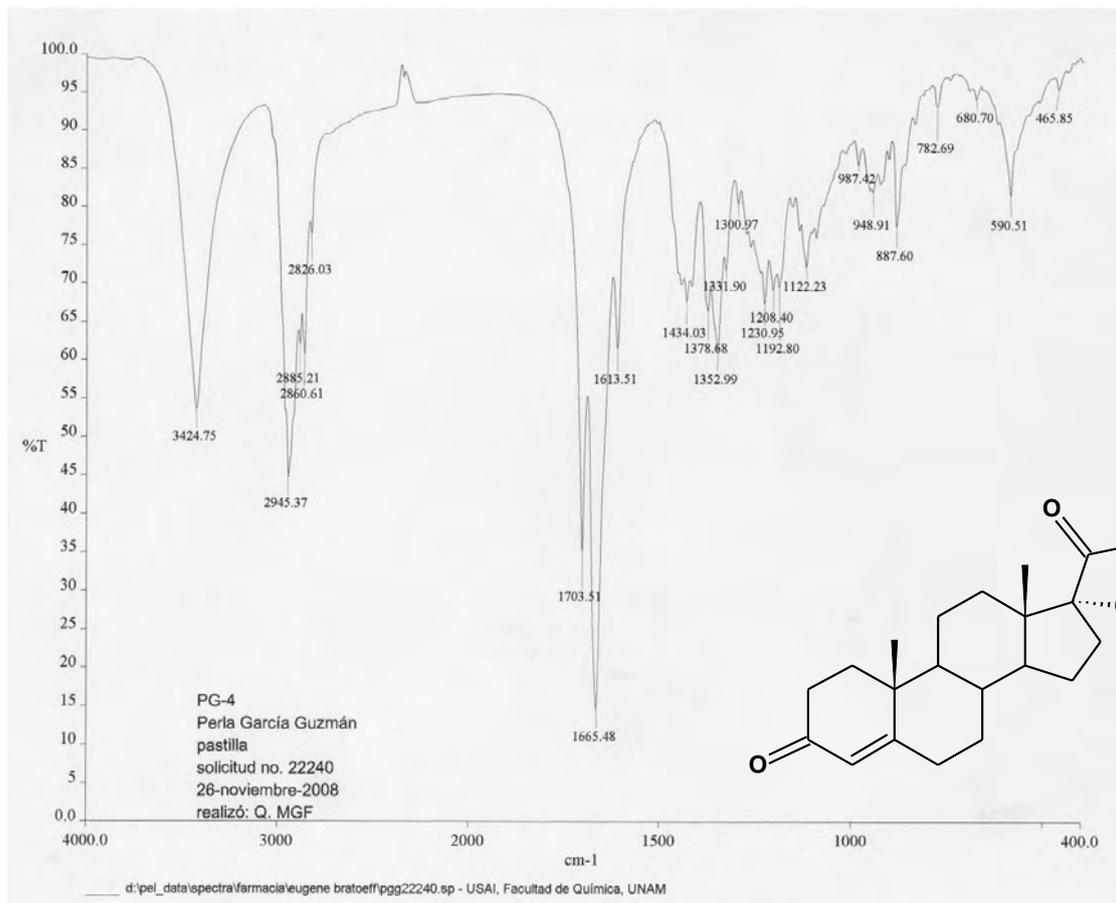
T: + c E⁺ Full ms [49.50-800.50]



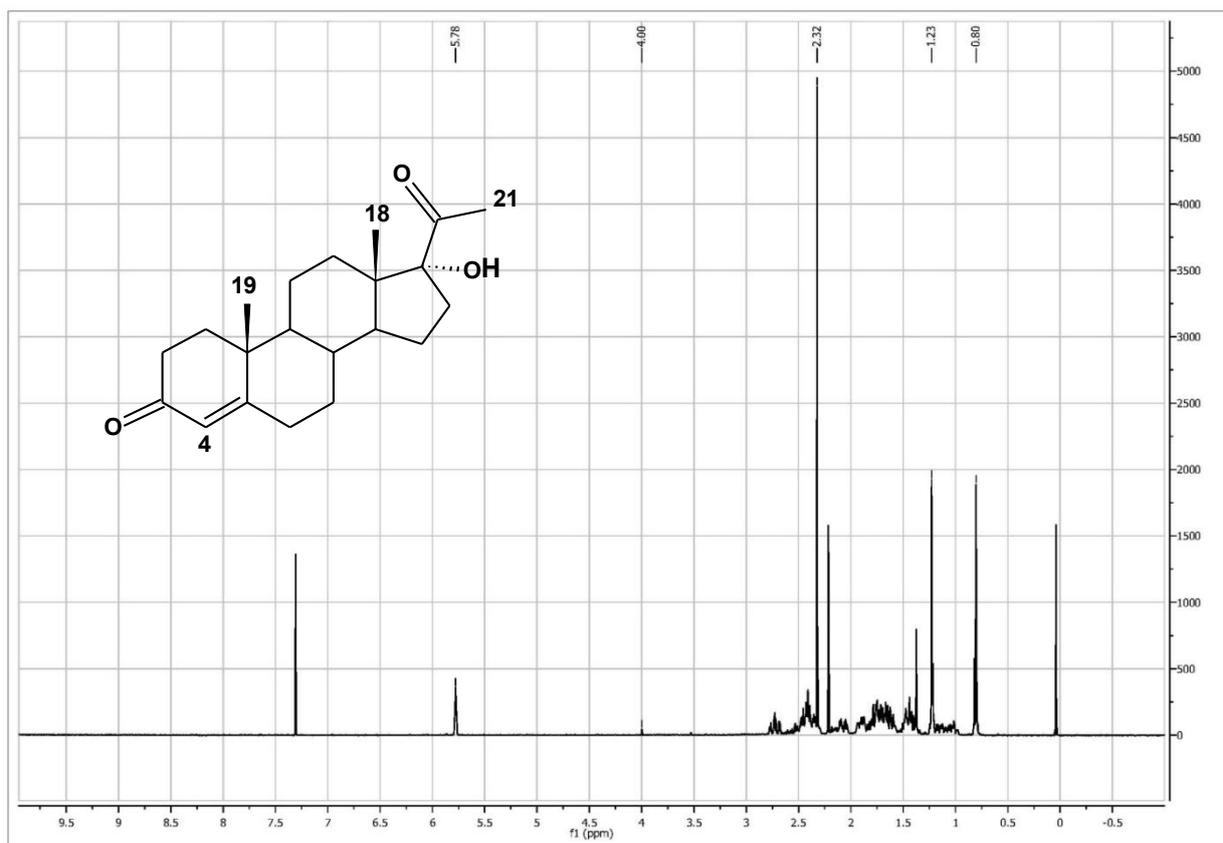
ESPECTRO 6 UV-VIS de la 17α-hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)



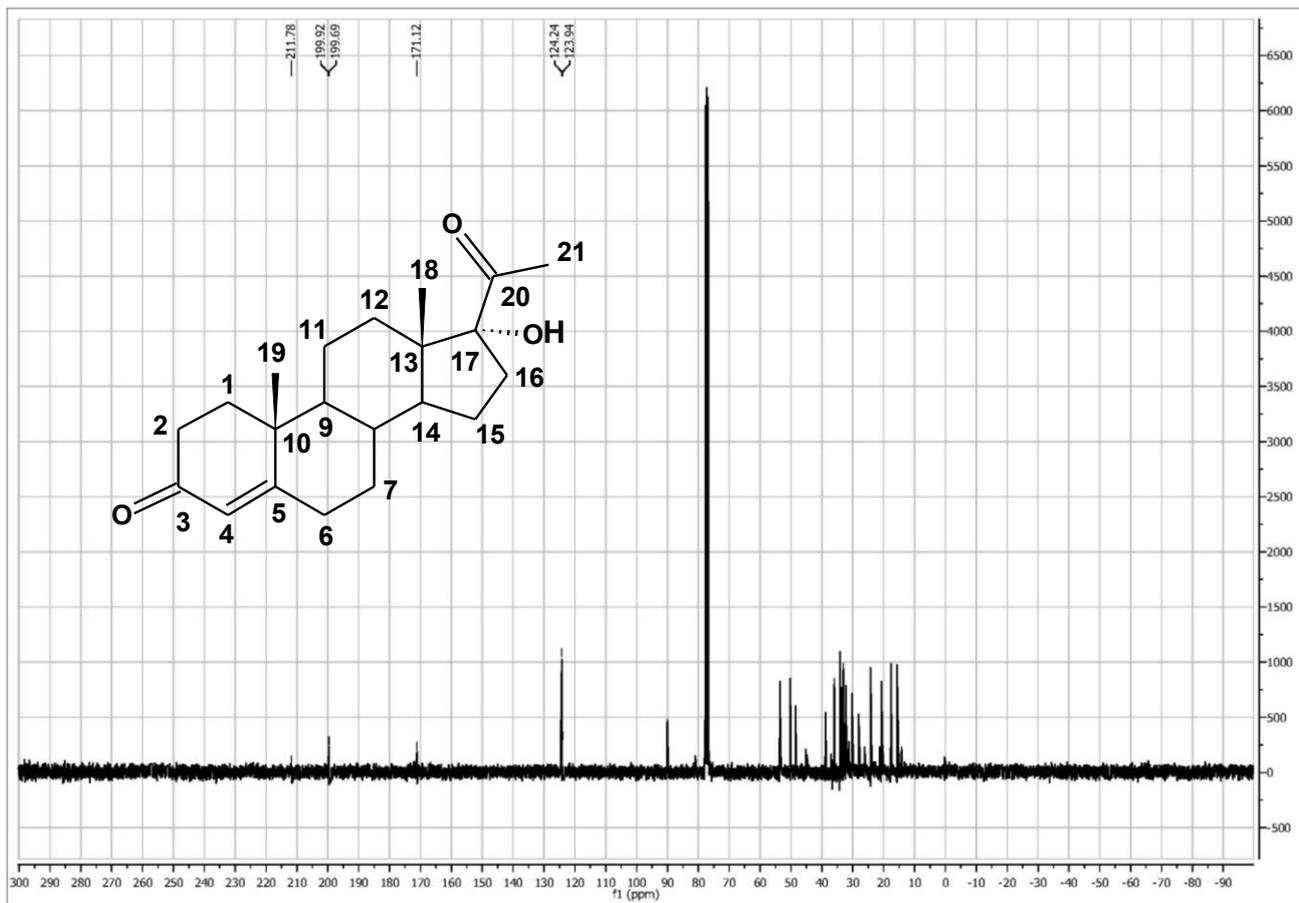
ESPECTRO 7 IR de la 17α-hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)



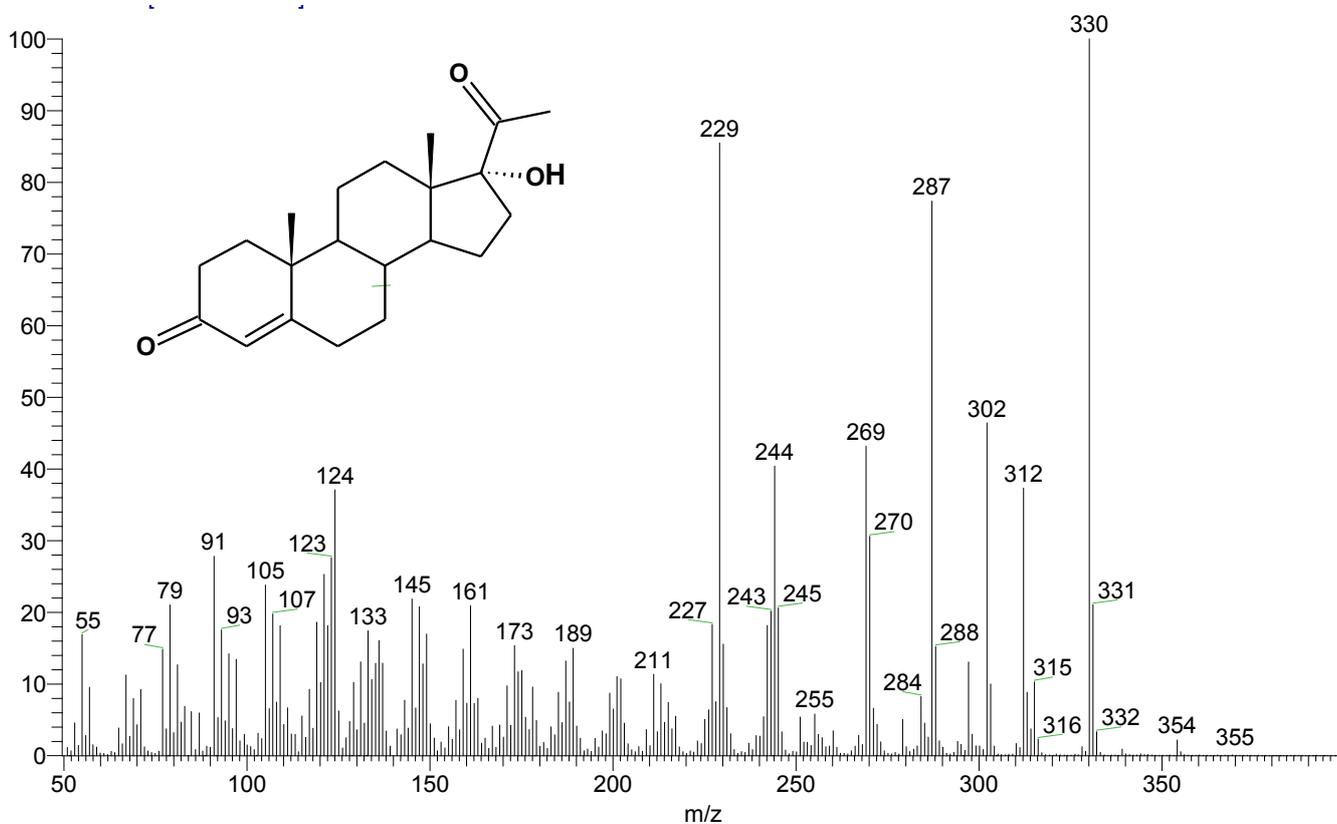
ESPECTRO 8 RMN¹H de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)



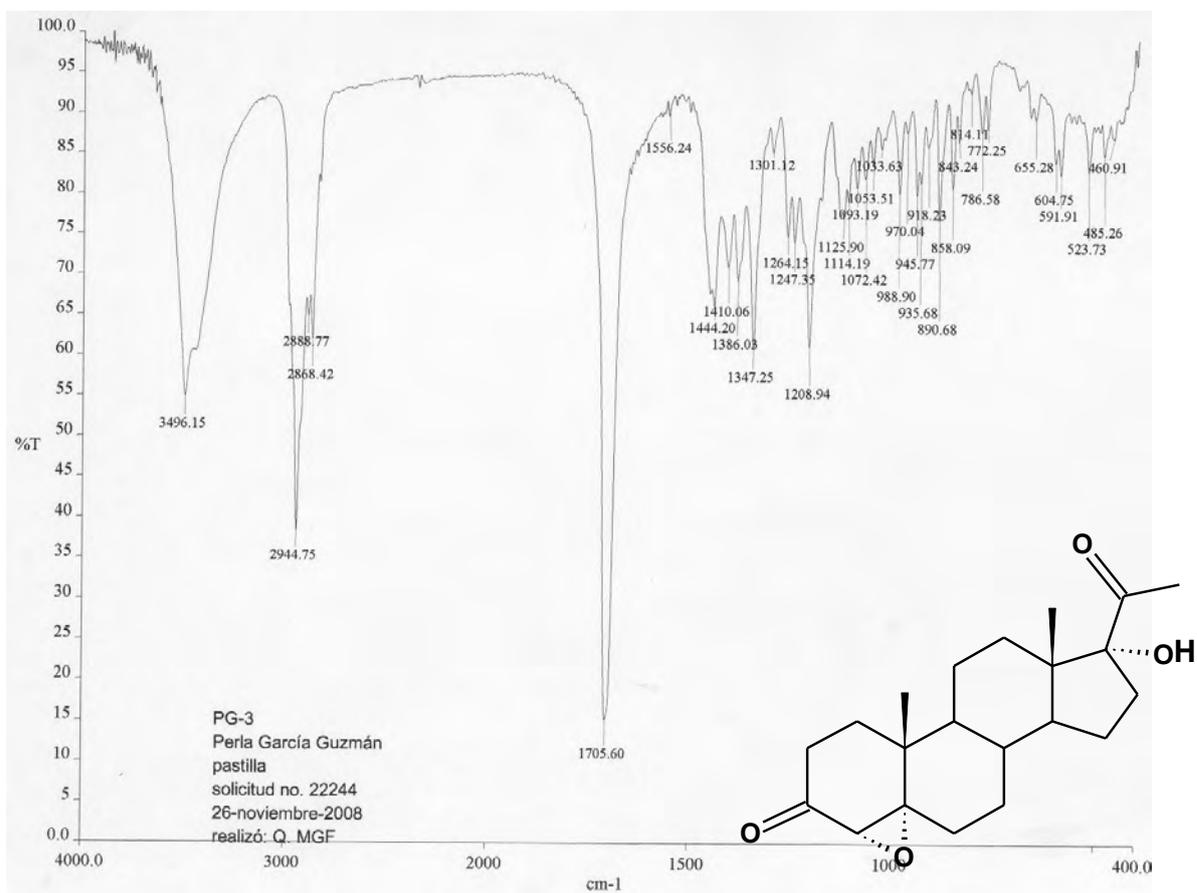
ESPECTRO 9 RMN¹³C de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)



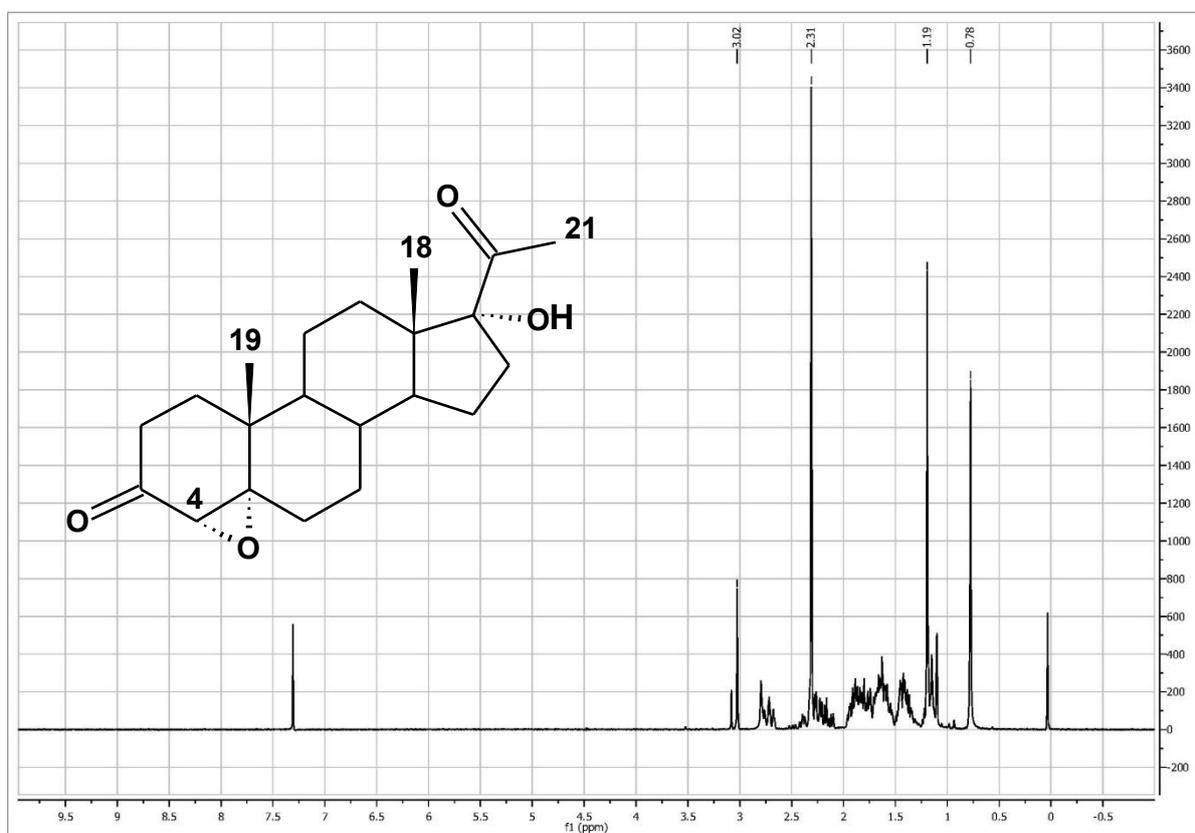
ESPECTRO 10 MASAS de la 17 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (9)



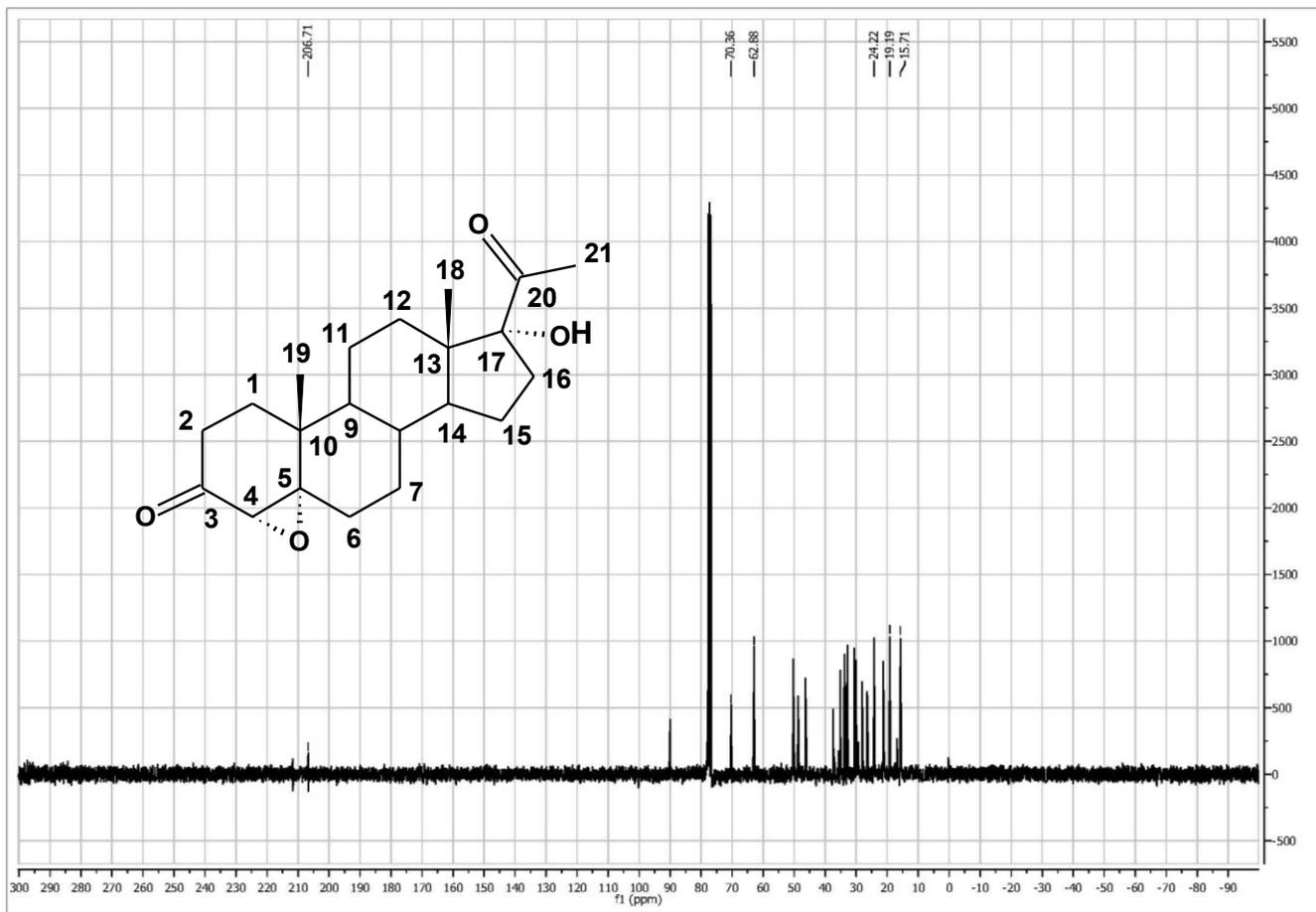
ESPECTRO 11 IR de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)



ESPECTRO 12 RMN¹H de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

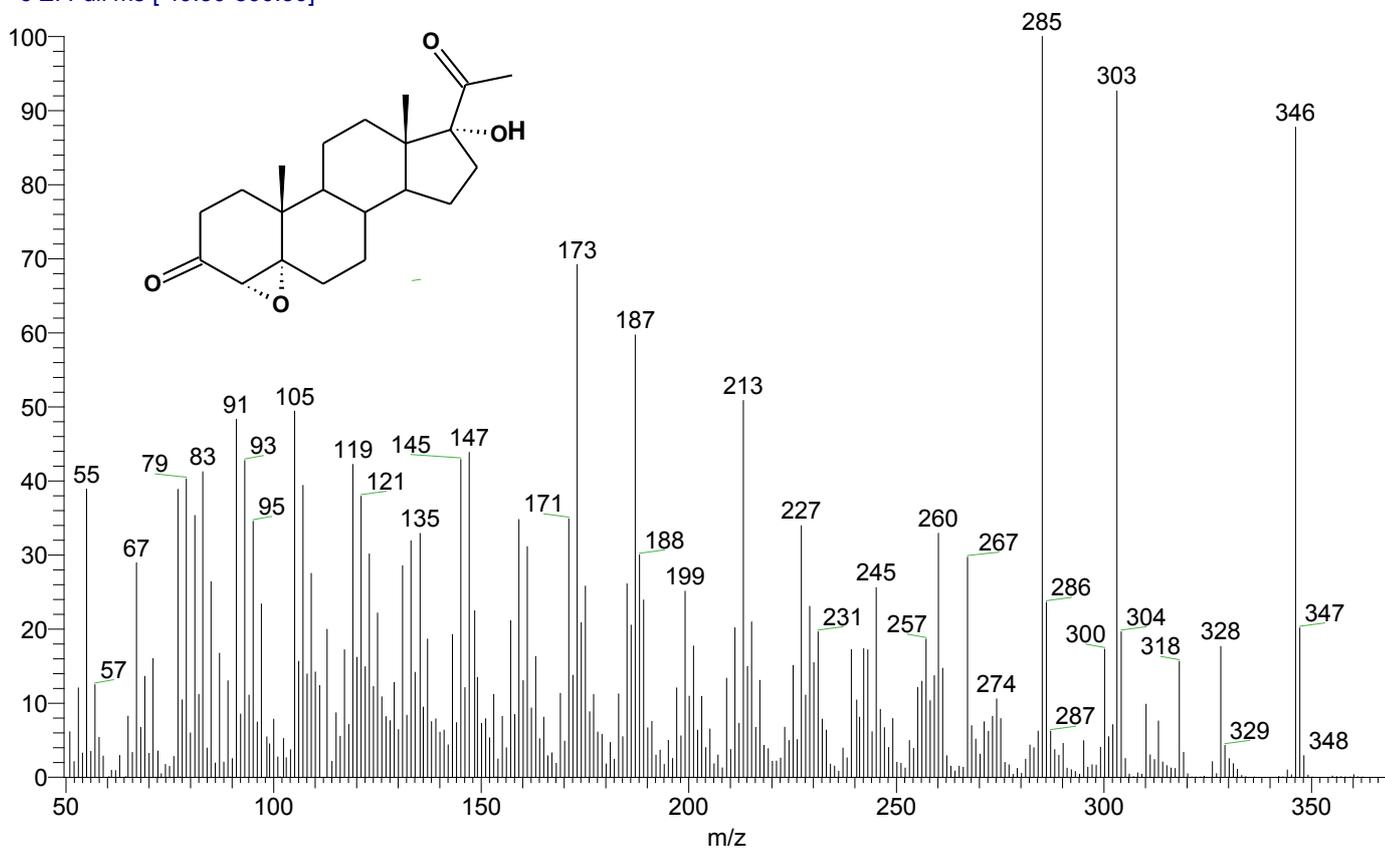


ESPECTRO 13 RMN¹³C de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

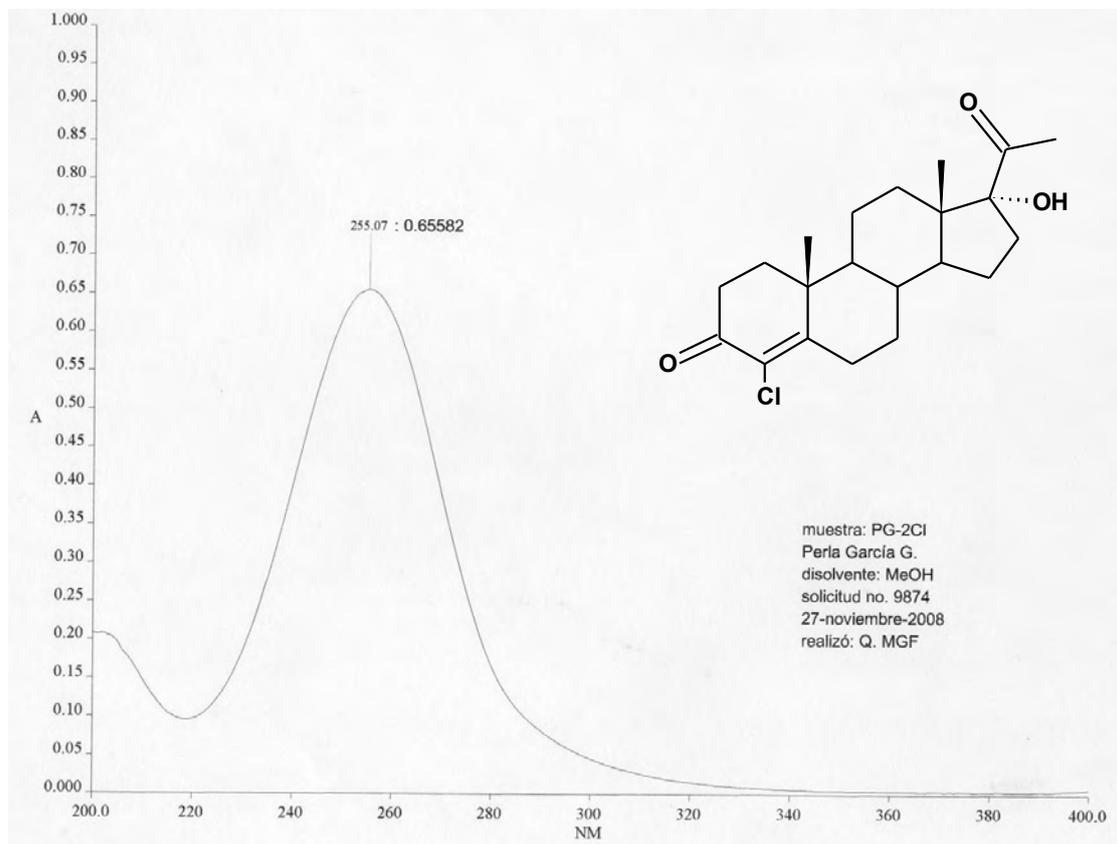


ESPECTRO 14 MASAS de la 17 α -hidroxi-4 α ,5 α -epoxipregnan-3,20-diona (10)

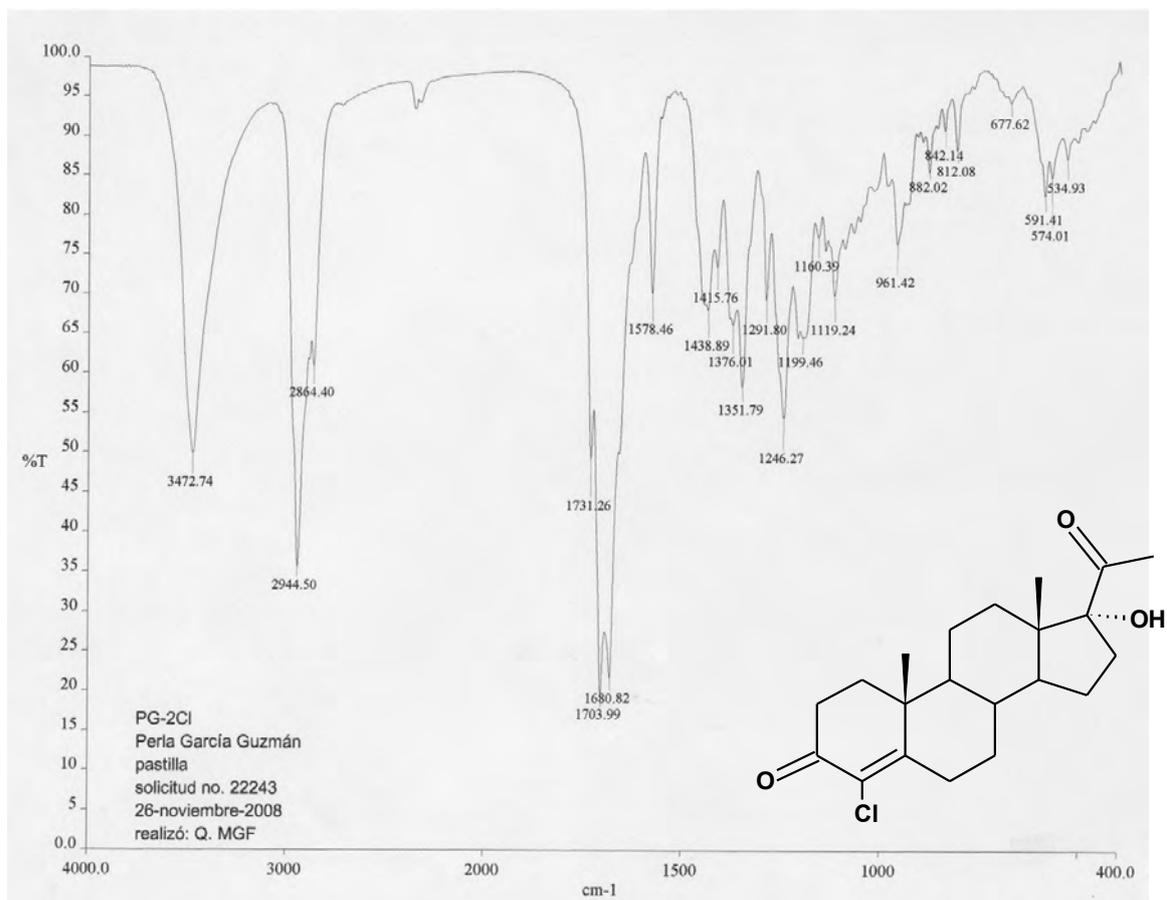
17.000000 [40.00 300.00]



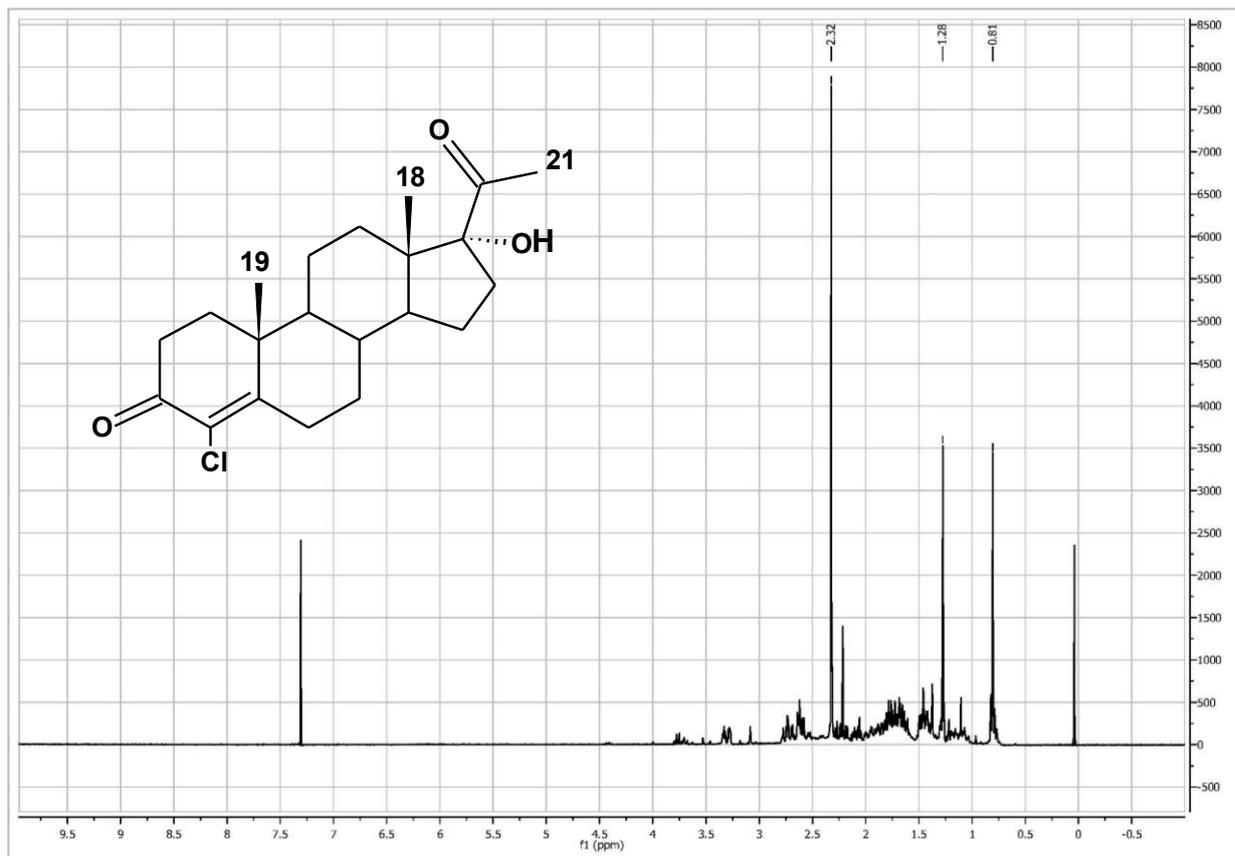
ESPECTRO 15 UV-VIS de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)



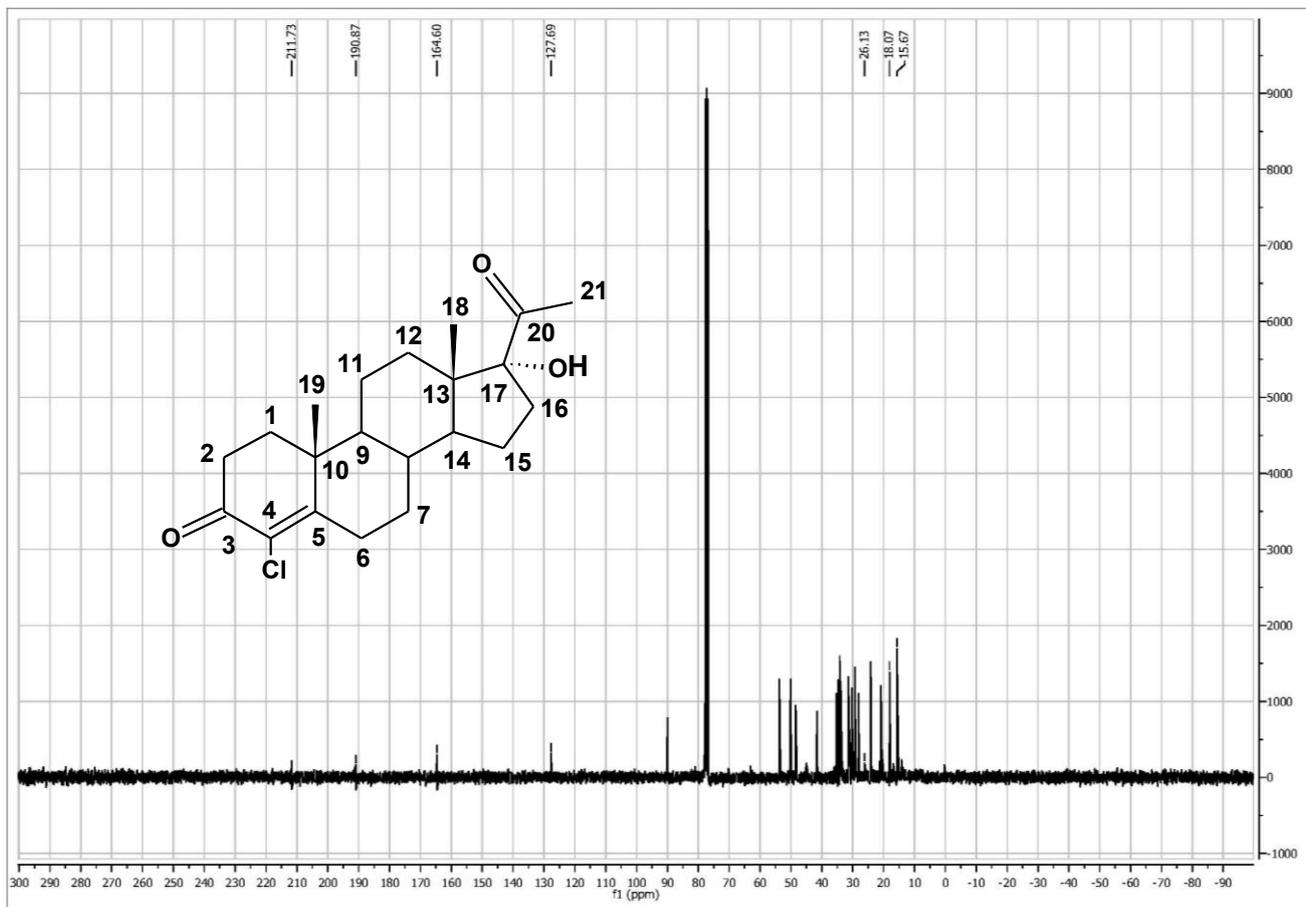
ESPECTRO 16 IR de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)



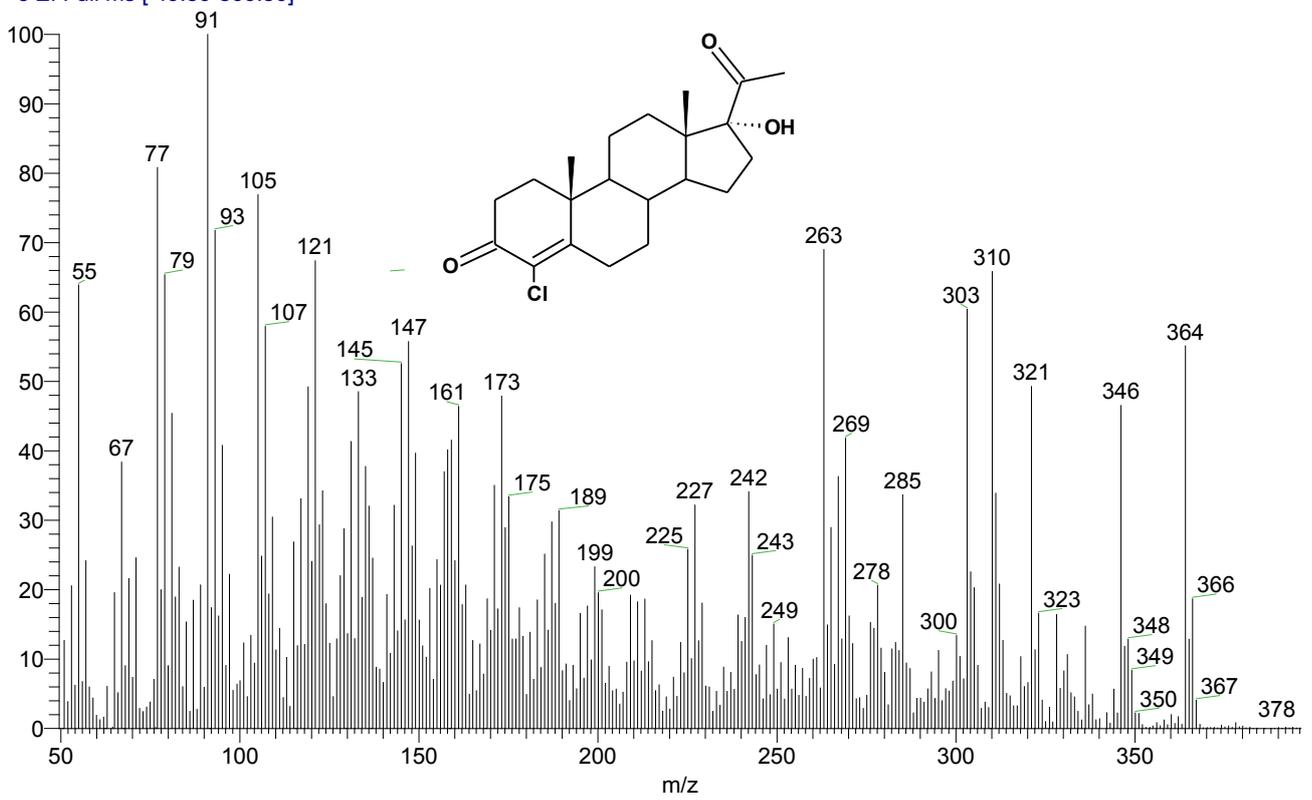
ESPECTRO 17 RMN¹H de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)



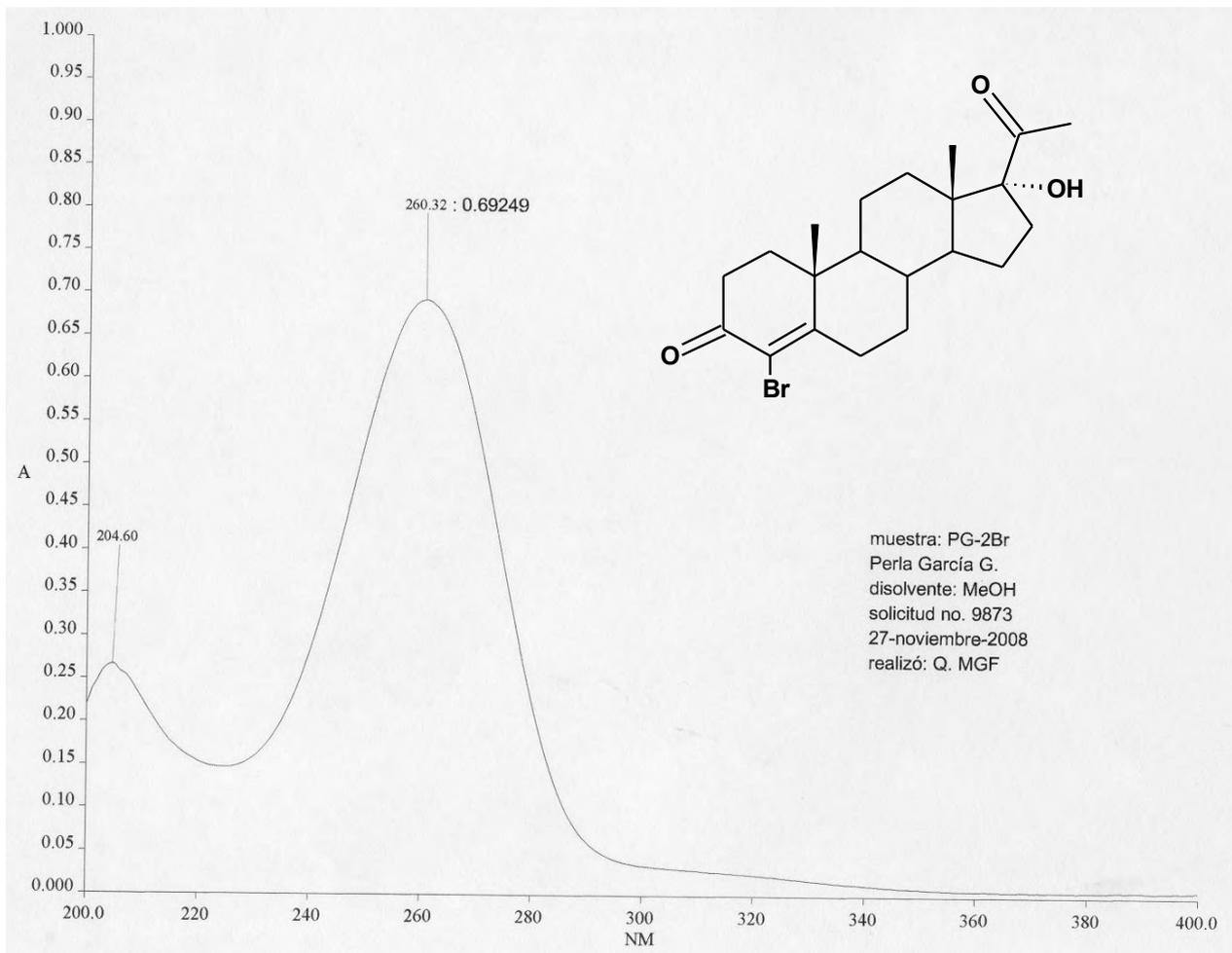
ESPECTRO 18 RMN¹³C de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)



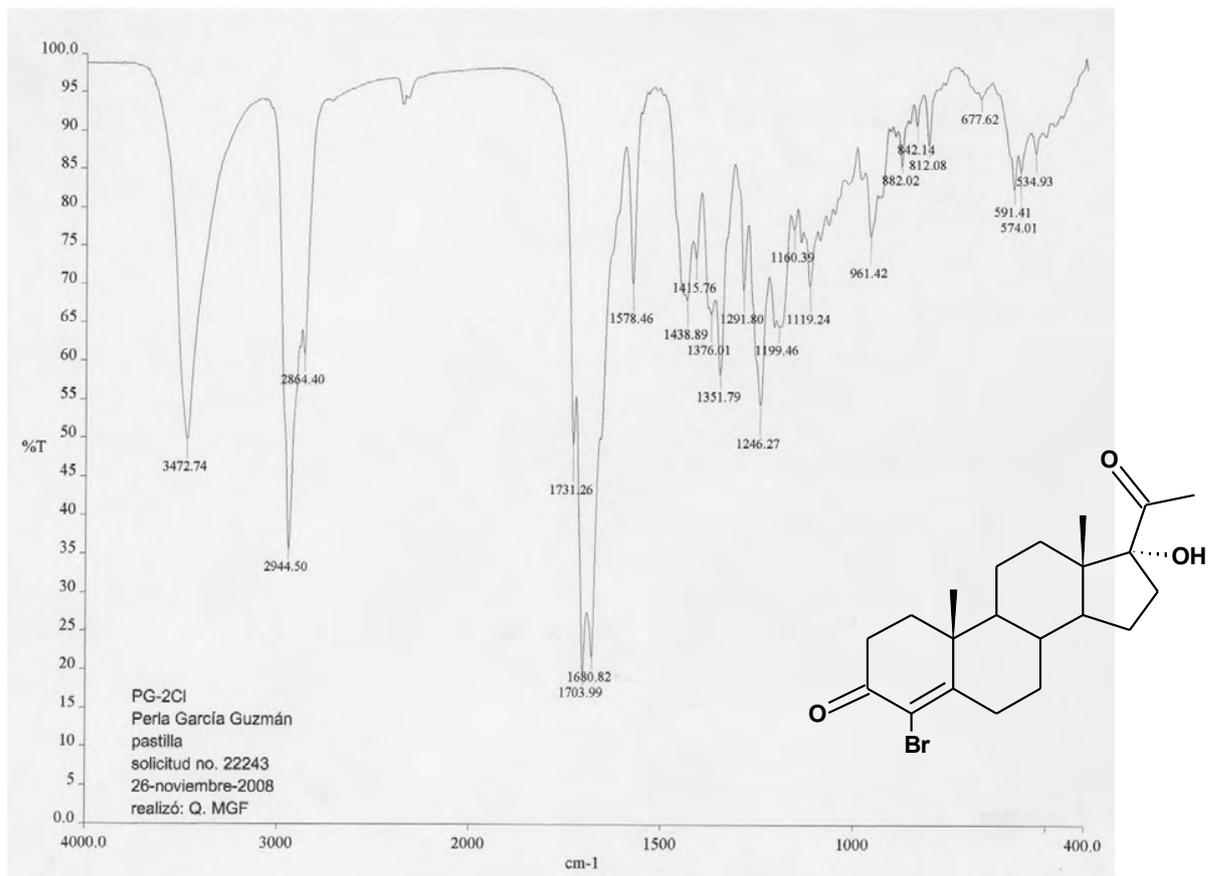
ESPECTRO 19 MASAS de la 17 α -hidroxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (11a)



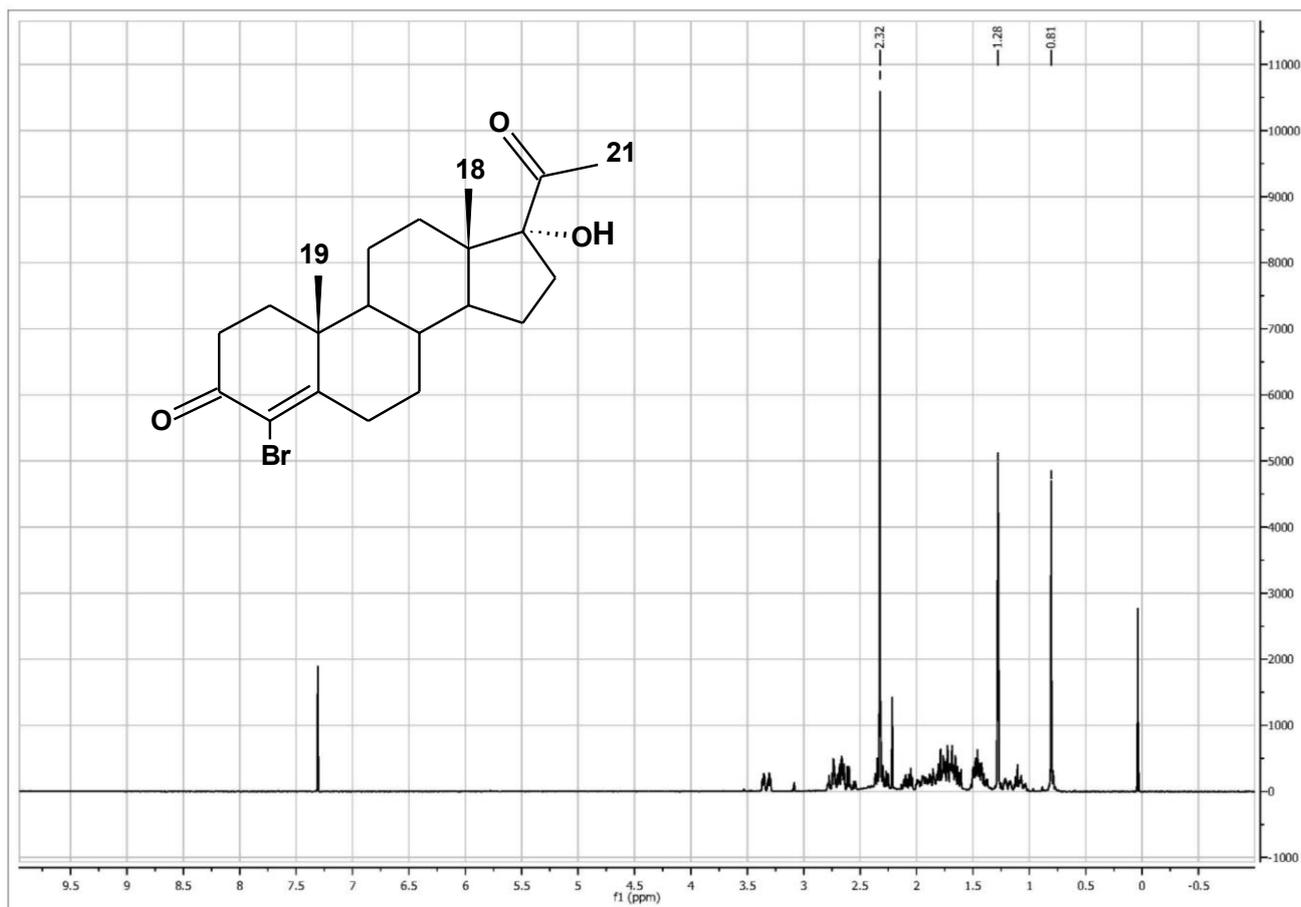
ESPECTRO 20 UV-VIS de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)



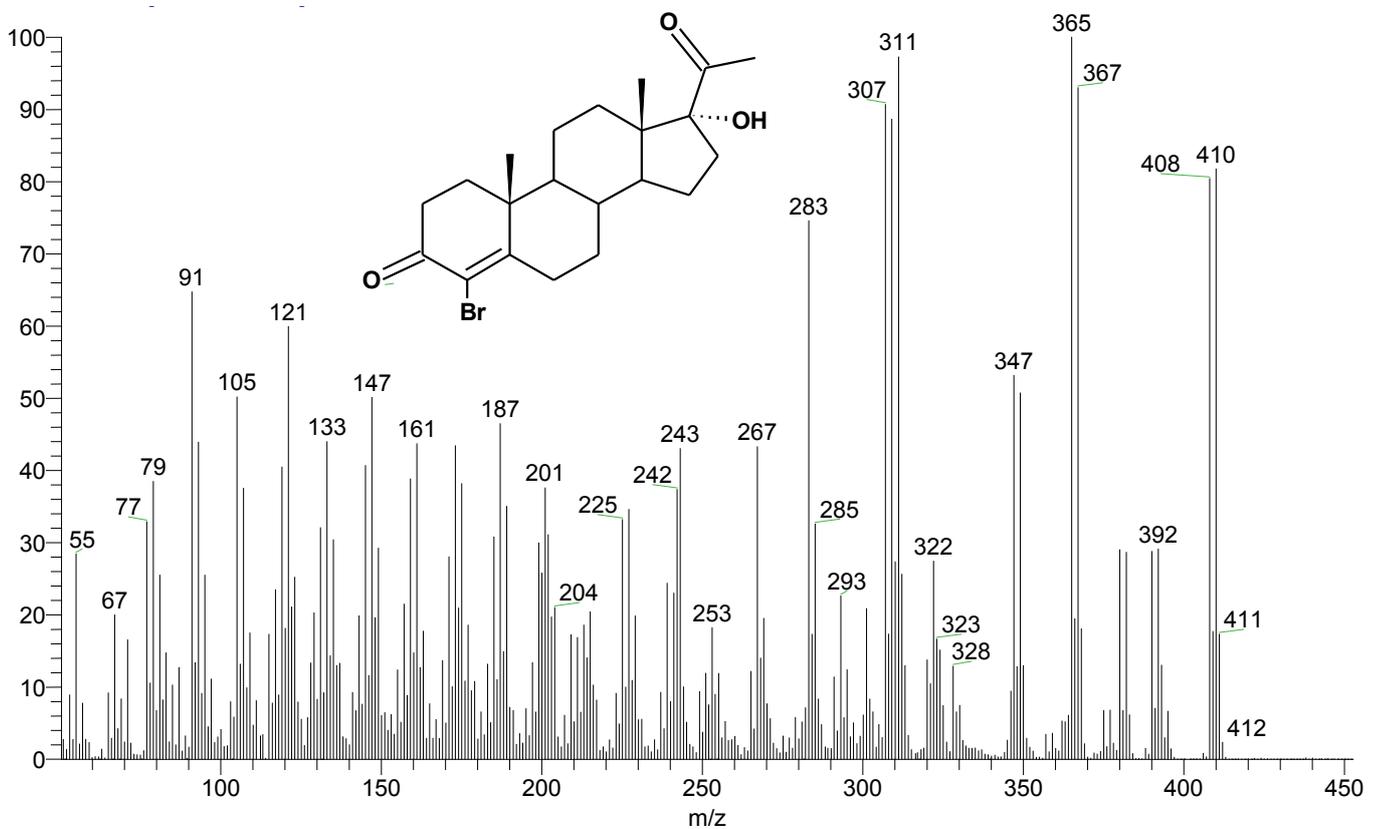
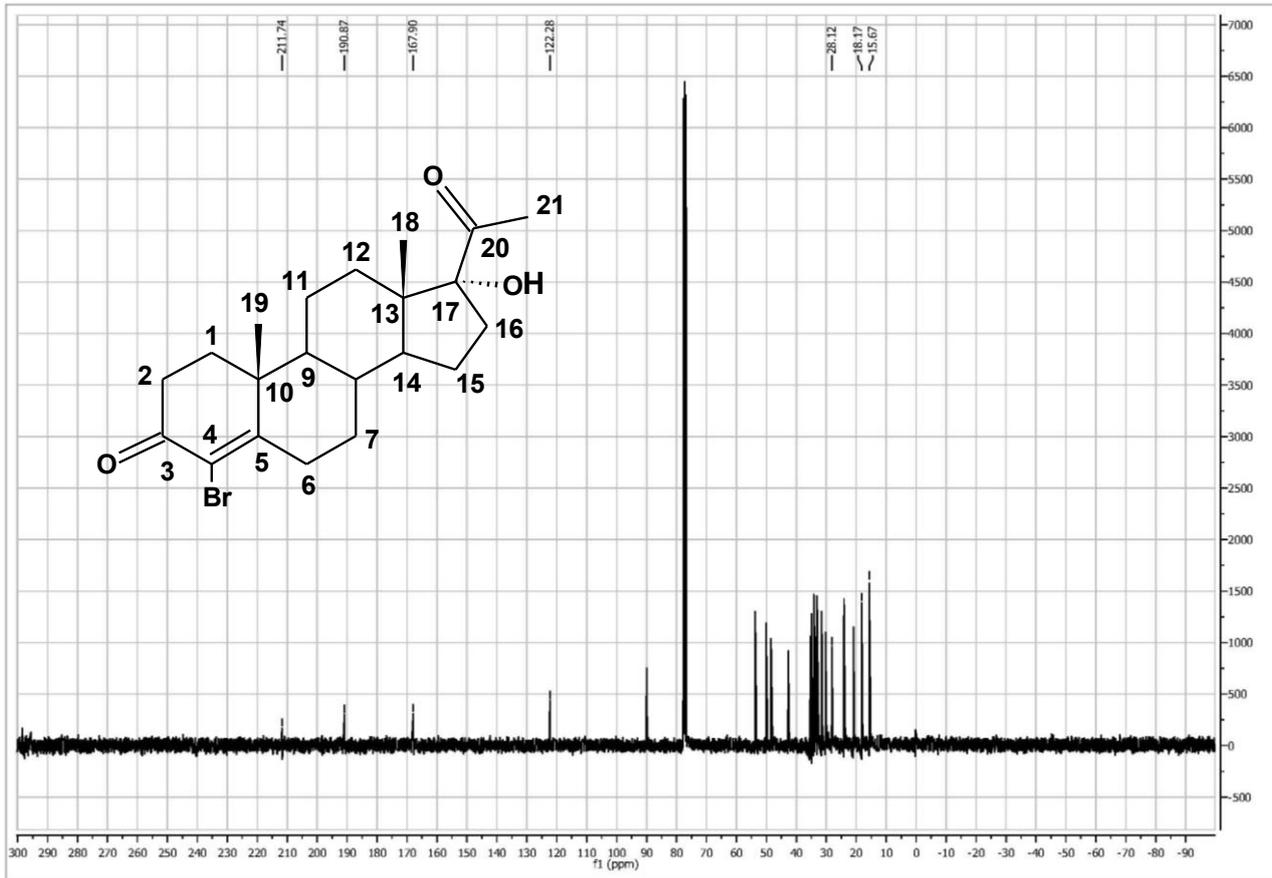
ESPECTRO 21 IR de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)

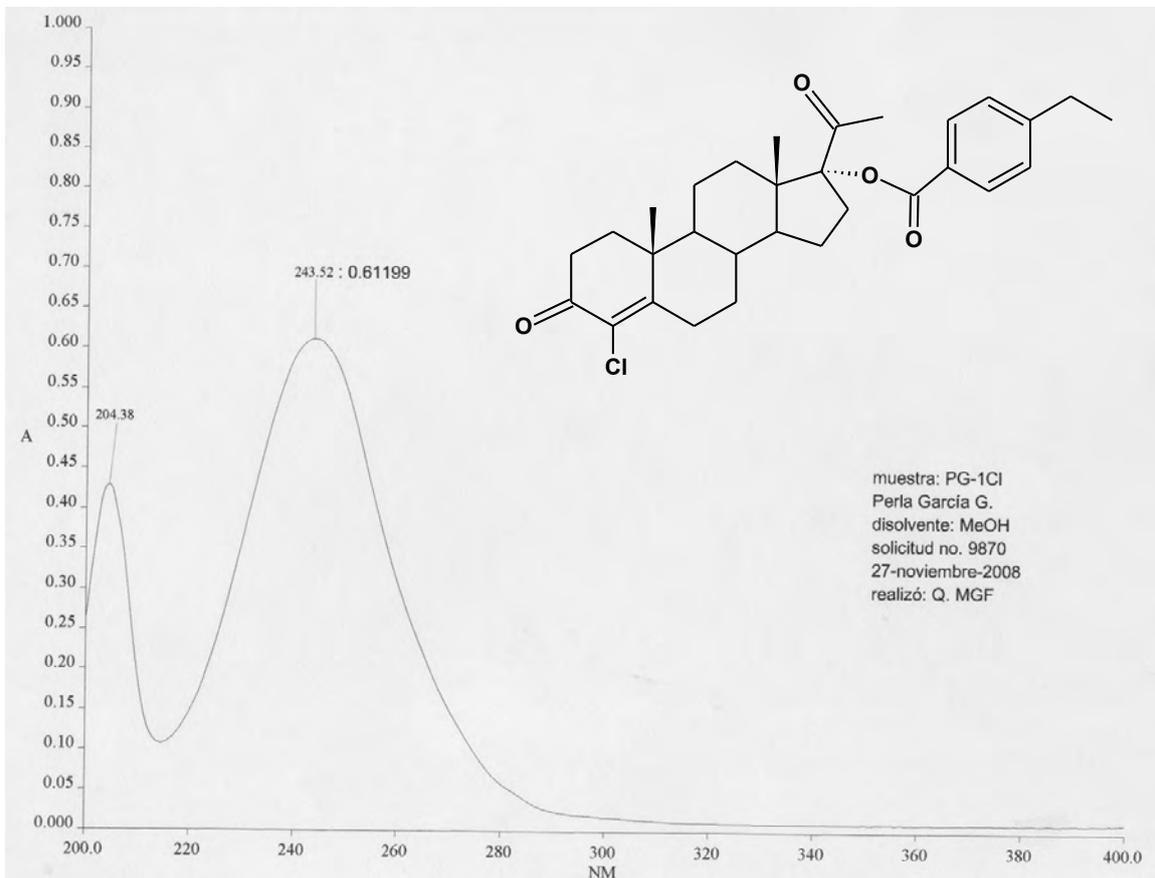


ESPECTRO 22 RMN¹H de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)

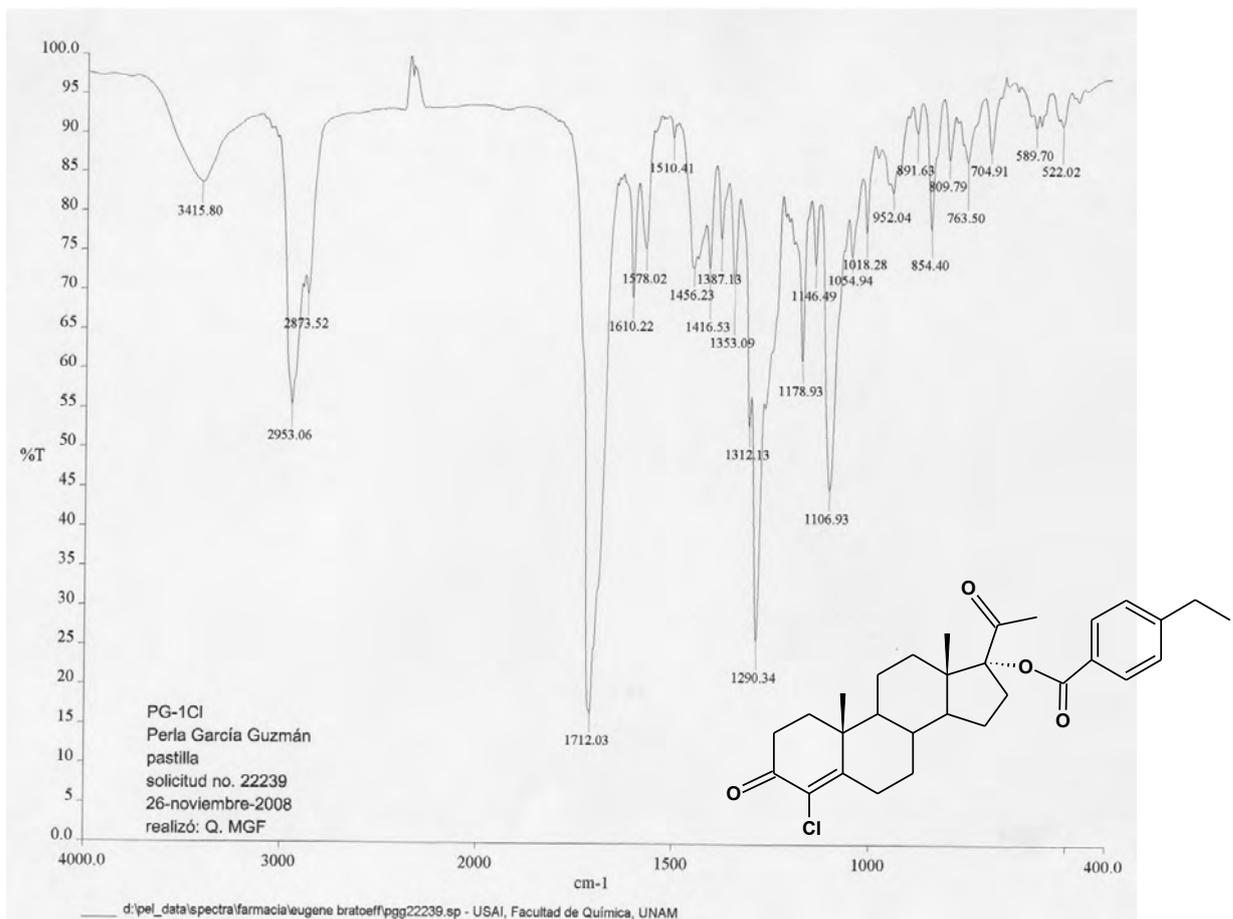


ESPECTRO 23 RMN¹³C de la 17 α -hidroxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (11b)

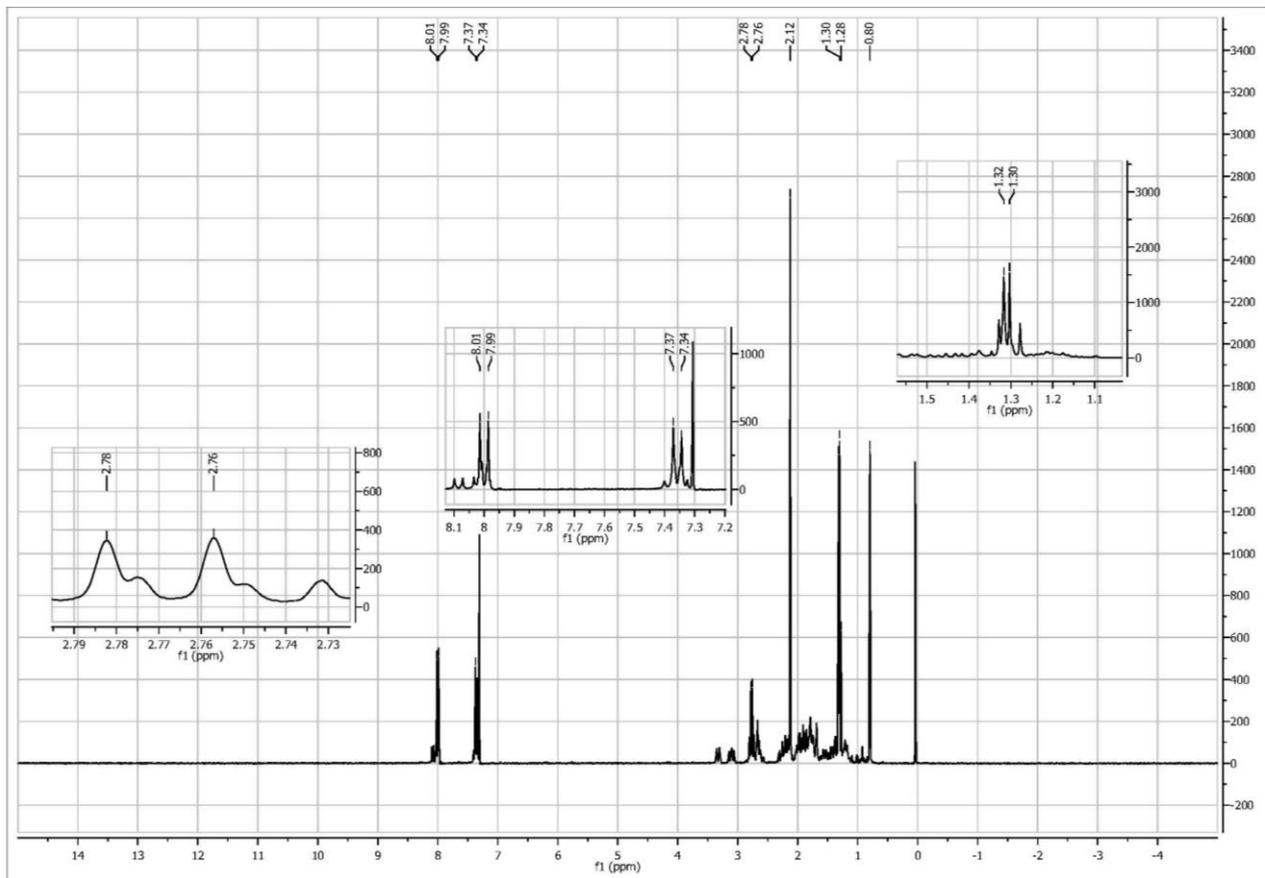




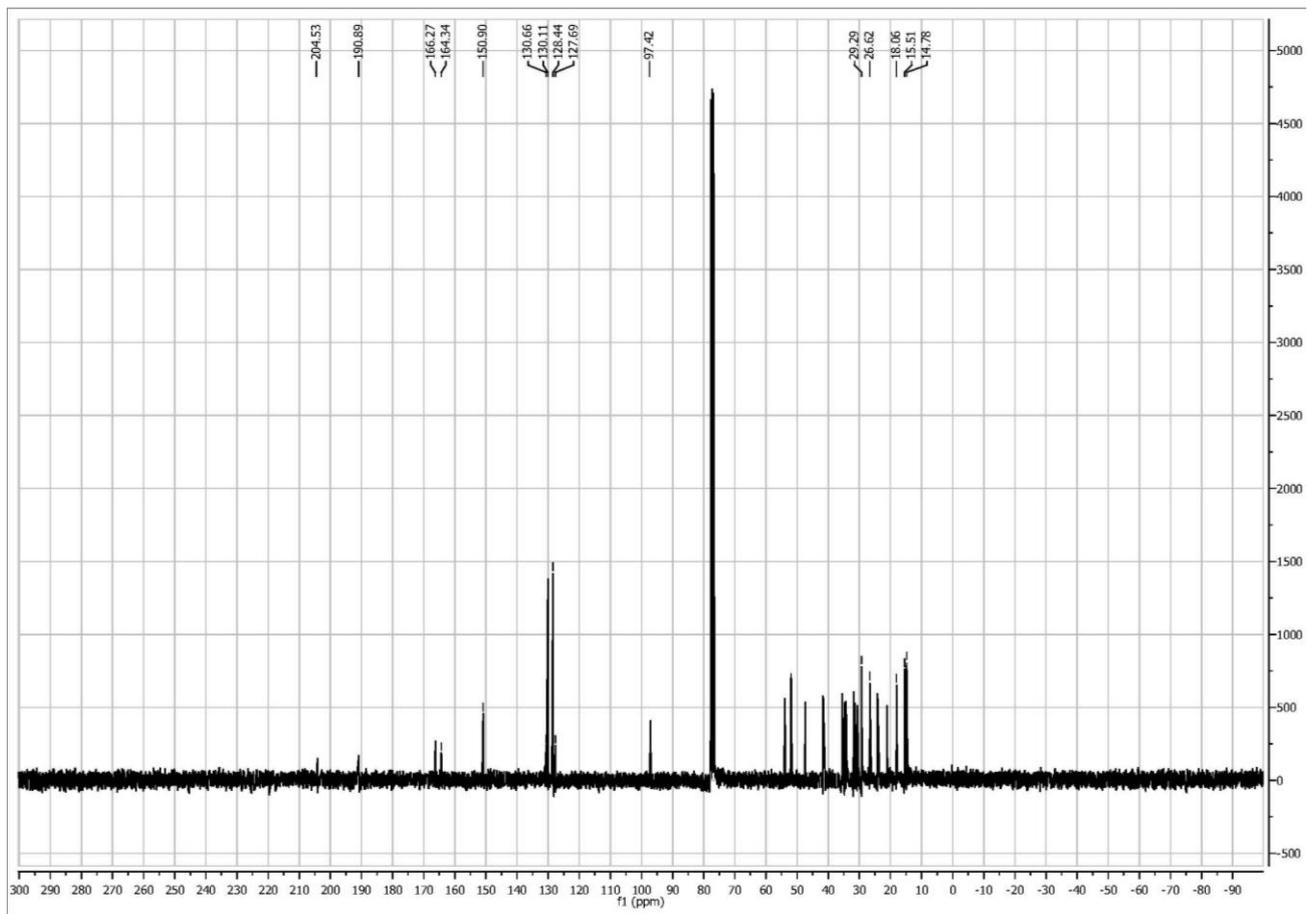
ESPECTRO 26 IR de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)



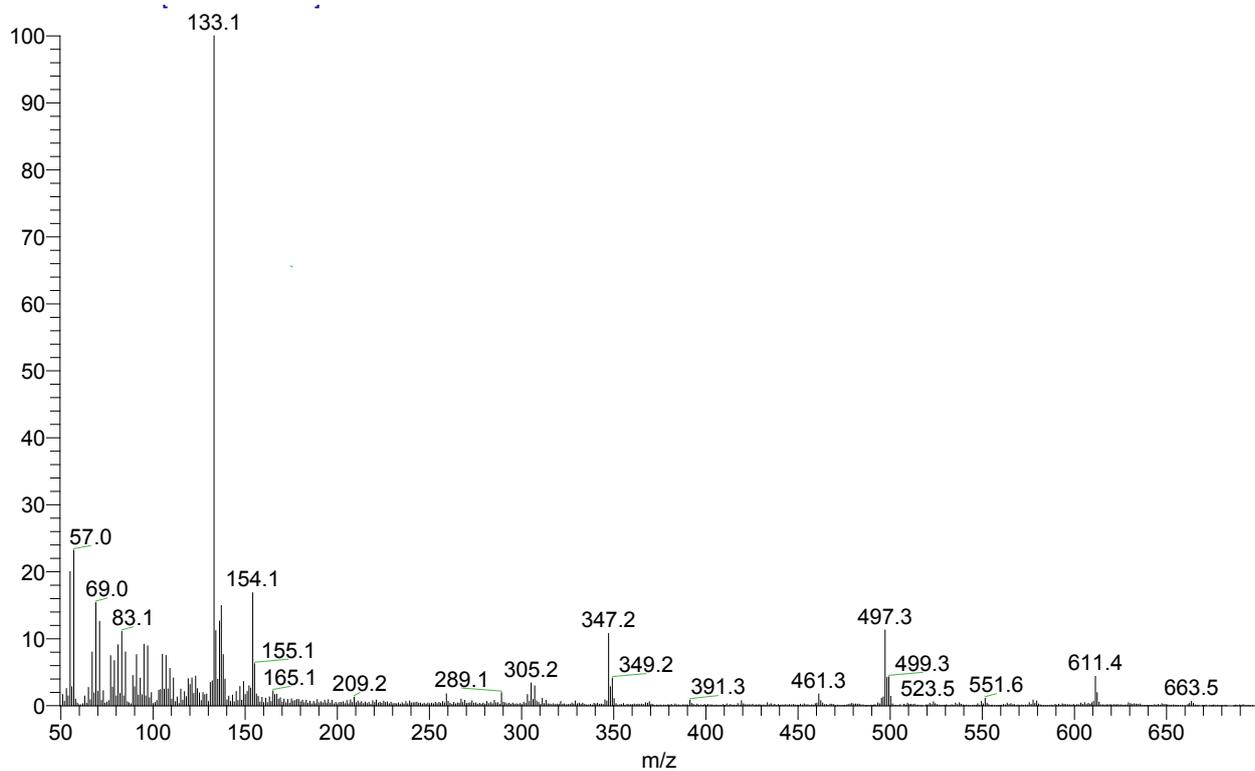
ESPECTRO 27 RMN¹H de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)



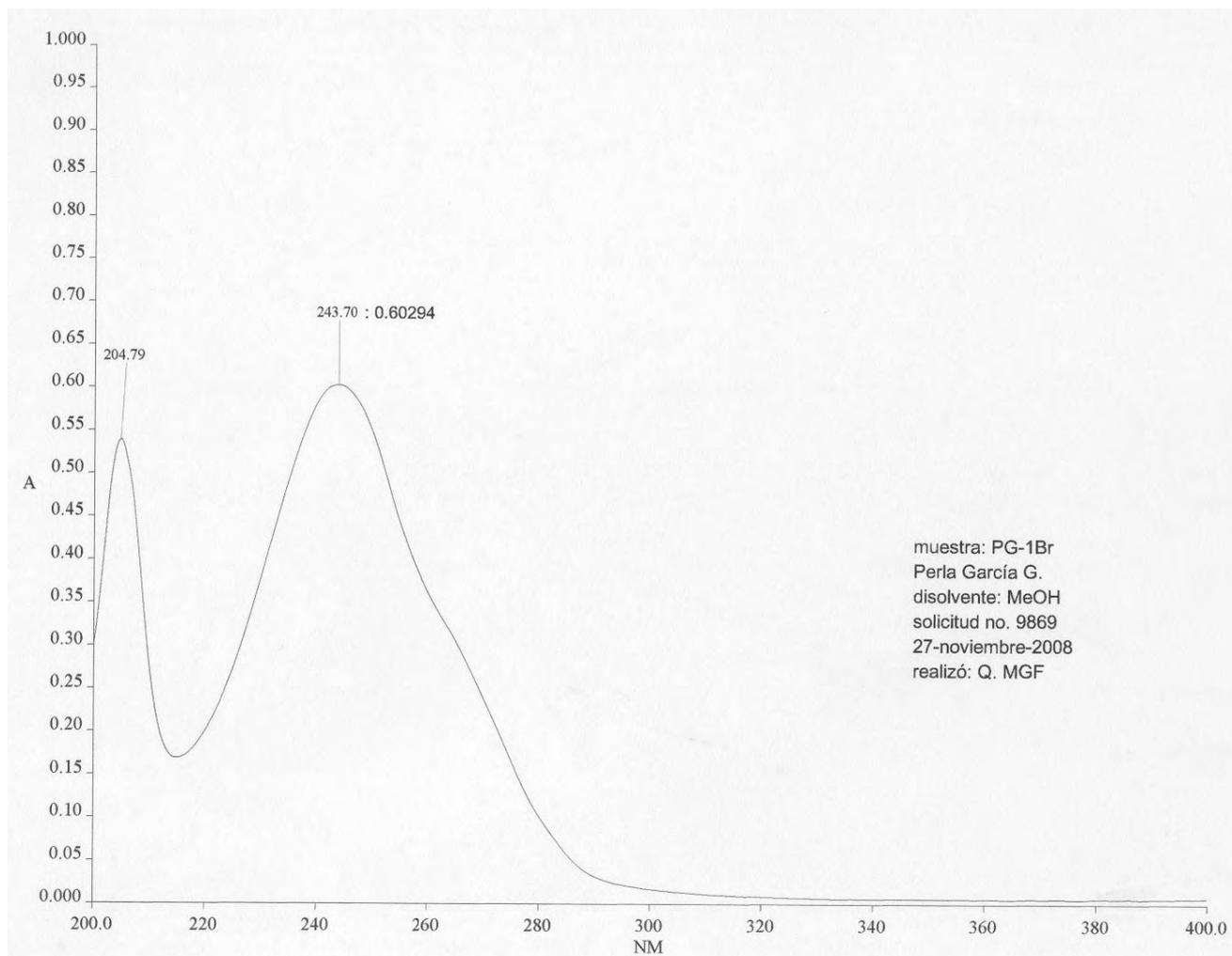
ESPECTRO 28 RMN¹³C de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)



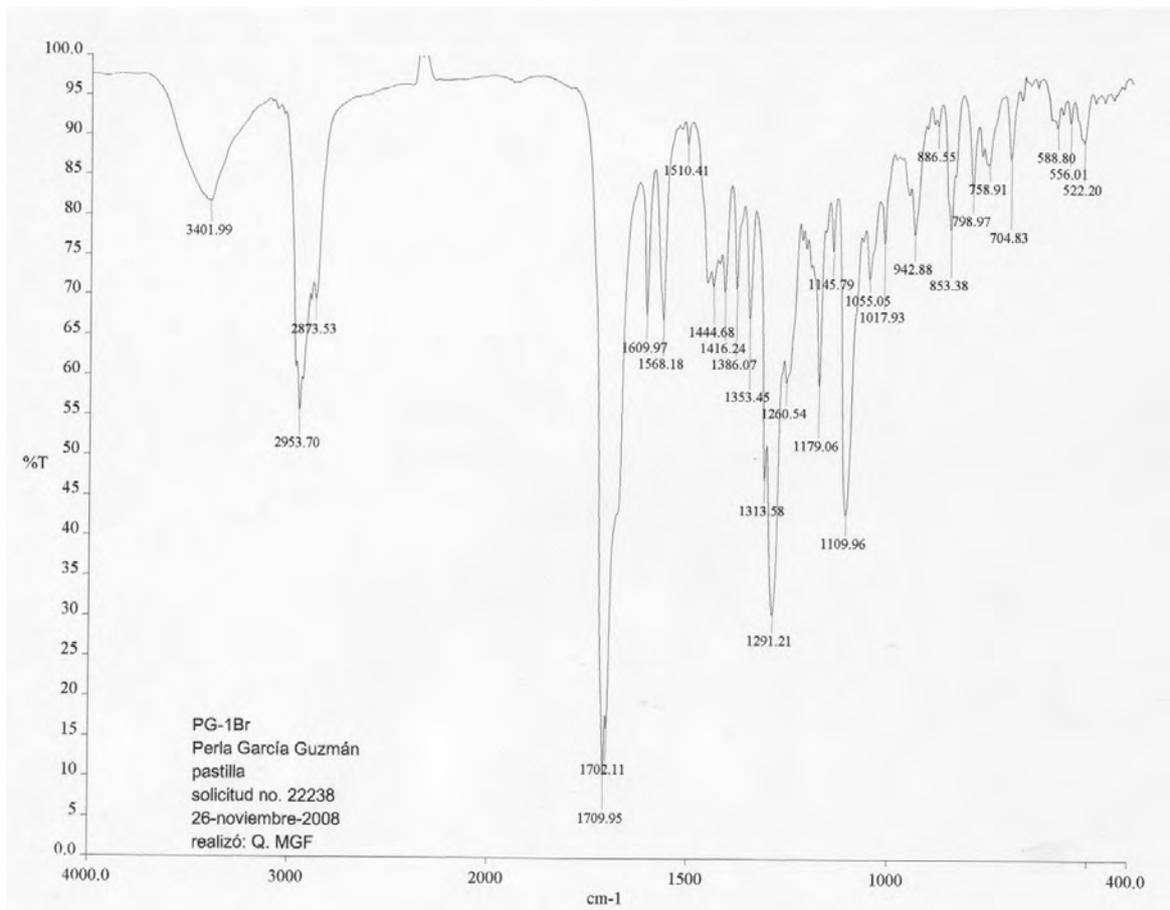
ESPECTRO 29 MASAS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-cloro-4-pregnen-3,20-diona (12a)



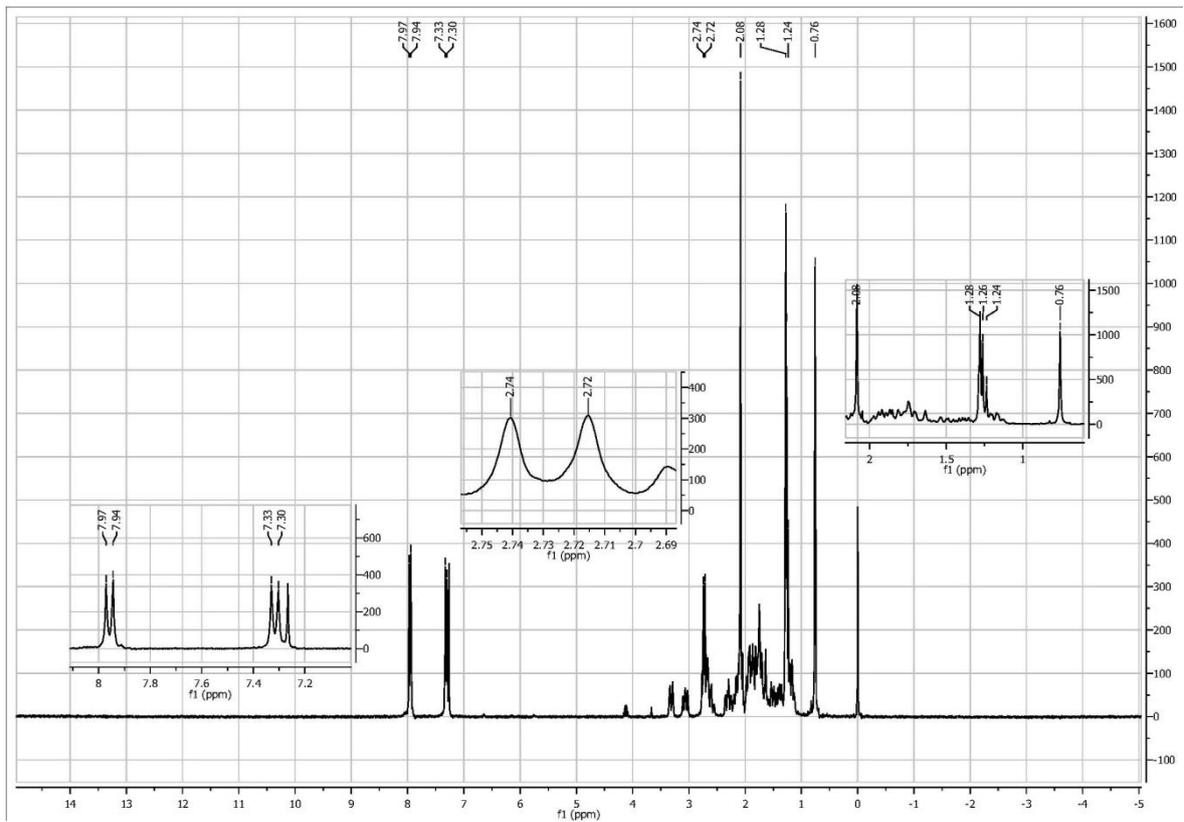
ESPECTRO 30 UV-VIS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)



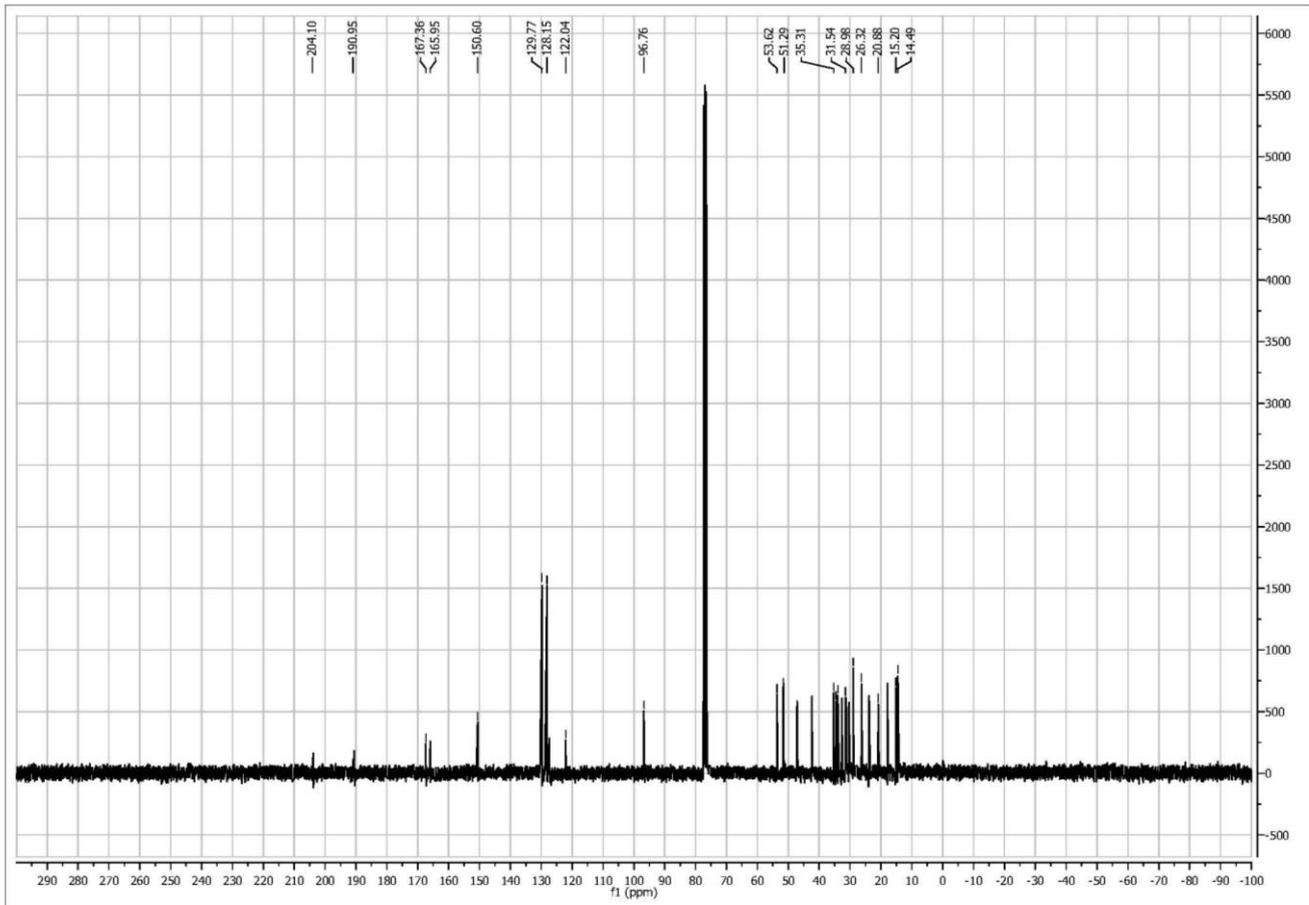
ESPECTRO 31 IR de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)



ESPECTRO 32 RMN¹H de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)



ESPECTRO 33 RMN¹³C de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)



ESPECTRO 34 MASAS de la 17 α -(4-etil)benzoiloxi-4-bromo-4-pregnen-3,20-diona (12b)

