

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 379**

51 Int. Cl.:

C07J 41/00 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61P 13/08 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 5/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2008 E 08789929 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013 EP 2188301**

54 Título: **Nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3-beta-ol**

30 Prioridad:

24.08.2007 IN DE18052007

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.11.2013

73 Titular/es:

**COUNCIL OF SCIENTIFIC & INDUSTRIAL
RESEARCH (100.0%)
(An Indian registered body Incorporated under
the Registration of Societies Act (Act XXI of
1860)) Anusandhan Bhawan, 2, Rafi Marg
New Delhi 110 001, IN**

72 Inventor/es:

**BHARDWAJ, TILAK RAJ;
KUMAR, MANOJ;
DHINGRA, NEELIMA y
MEHTA, NEERAJ**

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 430 379 T3

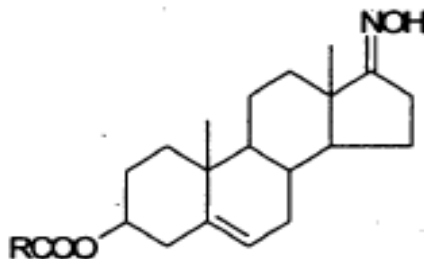
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol.

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol. En particular, la presente invención se refiere a ésteres esteroideos del compuesto de fórmula A donde R se selecciona de entre el grupo consistente en alquilo, arilo, o arilo sustituido.



Fórmula A

Los compuestos son útiles como inhibidores de la 5 α -reductasa y en trastornos andrógeno-dependientes para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna.

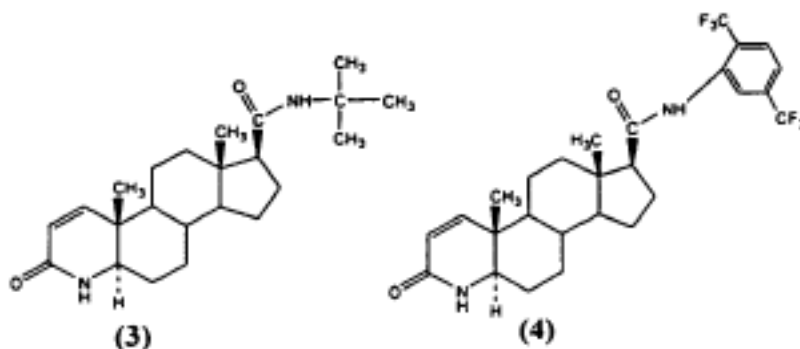
10 Antecedentes de la invención

- La hiperplasia es un término médico general que se refiere a la proliferación celular excesiva, consistiendo la hiperplasia prostática benigna en un agrandamiento no maligno de la glándula prostática provocado por un incremento de la cantidad de células estromales y epiteliales, que resulta en una obstrucción de la uretra proximal y, en consecuencia, provoca trastornos del flujo urinario [Roehrborn, C. G. BJU Int. 2006, 97, 7; Emberton, M. BJU Int. 2006, 97, 12 y Fitzpatrick, J. M. BJU Int. 2006, 97, 3]. Se trata de uno de los principales trastornos de la población masculina de edad avanzada y su prevalencia aumenta con la edad, afectando a aproximadamente un 80% de personas de unos 80 años. Prácticamente todos los hombres desarrollarán HPB (Hiperplasia Prostática Benigna) microscópica a la edad de aproximadamente 90 años [Berry, S. J. y col., Br. J. Urol., 1995, 5, 85].

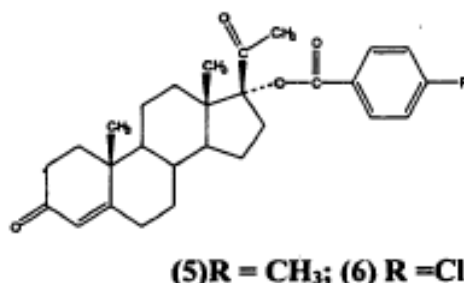
- 20 Entre las causas diferentes de la hipertrofia se incluyen la edad, activación tardía del crecimiento celular, aumento anormal de la expansión clonal de células de transición y cambios en las proporciones andrógeno-estrógeno, que promueven el crecimiento de tejido prostático [Theomher, M. y col., Prostate, 1996, 28, 392 y Jenkins, E.P. y col., J Clin. Invest., 1992, 89, 293]. Sin embargo, la hipótesis que tiene mayor aceptación es la hipótesis de la dihidrotestosterona, que postula que la HPB se produce después de un cambio relacionado con la edad en el metabolismo androgénico de la próstata que favorece la acumulación de dihidrotestosterona.

- 25 La dihidrotestosterona (DHT), la hormona androgénica circulante más potente, se produce por reducción estereoselectiva NADPH-dependiente de la testosterona (T), bajo catálisis de la enzima esteroide 5 α -reductasa (5AR) tal como muestran la Figura 1 y la Figura 2 [Hitoshi, T. y col., Chem. Pharm. Bull., 2000, 48, 552]. Dentro de la próstata, la dihidrotestosterona se une a la proteína receptora de andrógeno del citosol (AR) y el complejo DHT-AR entra en el núcleo e interactúa con los sitios de unión de ADN, donde estimula la síntesis de ARN (Figura 1) [Liao, S. Int. Rev. Cytol. 1975, 41, 87]. La concentración de dihidrotestosterona es 2,5 veces más alta que en una próstata normal. Por consiguiente, la inhibición de la acción androgénica mediante 5 α -reductasa es un tratamiento lógico para el trastorno de actividad de la 5 α -reductasa, es decir para la hiperplasia prostática benigna.

- 35 La supresión de andrógenos provoca una reducción del volumen prostático, lo que se cree disminuye el componente estático de la obstrucción de la salida vesical resultante de la hiperplasia prostática benigna (Figura 2) [Reid, P. y col., J. Clin Invest. New Drugs. 1999, 17, 271]. Con el descubrimiento de dos isoenzimas de 5 α -reductasa y sus papeles fisiológicos y farmacológicos en la HPB, se ha llevado a cabo una investigación considerable para sintetizar y evaluar compuestos no esteroideos [Marisa, C. y col. Chem. Pharm. Bull., 2001, 49, 525, Frye, J. Med Chem., 1994, 37, 2352] y esteroideos [Leny, M.A. y col., J Steroid Biochem. Mol. Biol., 1994, 48, 197, Toshiaki, K. y col., Chem. Pharm. Bull., 1996, 44, 115] como inhibidores competitivos [4-azaesteroides, 6-azaesteroides] o no competitivos [3-carboxiesteroides] de la 5 α -reductasa. Entre éstos, únicamente la Finasterida (**3**) (MK-906) [Foley, C.L. y col., Drugs of Today 2004, 40, 213.] y la Dutasterida (**4**) [Susumu, T. y col., Chem. Pharm. Bull., 2000, 48,1689] se están utilizando clínicamente para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna.



Existen informes que indican que diversos compuestos esteroideos tienen una alta afinidad por los inhibidores de la 5 α -reductasa, debido a su capacidad para formar un enlace coordinado con el hierro de hemo [Hartmann, R.W. y col.; J. J. Med. Chem. 2000, 43, 4266]. Por otro lado, los ésteres de progesterona (5, 6) sintetizados por el laboratorio Mexico presentaban una alta actividad antiandrogénica [Cabeza, M. y col.; Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 1999, 47, 1232 y Cabeza, M. y col., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 2001, 49, 1081].



En caso de una administración a largo plazo de Finasterida y Dutasterida, los efectos secundarios más comunes notificados incluyen disminución de la libido, disminución de la cantidad de eyaculado y disfunción eréctil. Se ha comprobado que los ésteres de progesterona tienen una buena actividad antiandrogénica, pero todavía están bajo investigación clínica.

En base a estas observaciones, se previó sintetizar ésteres de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (10-16). La hiperplasia prostática benigna también se describe por un aumento anormal de la cantidad de células prostáticas, que puede ser resultado no sólo de un aumento de la proliferación celular, sino también de una disminución del nivel de muerte celular programada (apoptosis). Estos análogos se evaluaron en cuando a la actividad inhibidora de la 5 α -reductasa y la actividad antiproliferativa. Estos compuestos pueden ser útiles en caso de hiperplasia prostática benigna dependiente de andrógenos, actuando no sólo a nivel molecular para la causa subyacente de la enfermedad, sino también disminuyendo el crecimiento de la próstata por la destrucción celular.

Objetos de la invención

El objeto principal de la presente invención es proporcionar nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol. Otro objeto de la invención es proporcionar un proceso para la preparación de los nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos útiles para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna.

Otro objeto más de la invención es proporcionar compuestos que tienen actividad antiproliferativa con más del 90% de inhibición del crecimiento de células DU-145.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a ésteres esteroideos derivados de 17-oximino-5-androsten-3-ol. Los compuestos se han sintetizado a partir de acetato de deshidroandrosterona. Los compuestos recientemente sintetizados se ensayaron en cuanto a su actividad antiproliferativa y a su actividad inhibidora de la 5 α -reductasa en comparación con la Finasterida. En suero de animales tratados con los compuestos recientemente sintetizados se han hallado niveles reducidos de andrógenos. Estos compuestos también han mostrado una mejor citotoxicidad en comparación con el fármaco de referencia Finasterida. Por consiguiente, estos compuestos pueden ser útiles en el tratamiento de

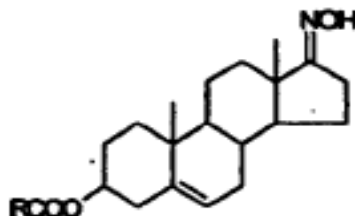
los trastornos de próstata dependientes de andrógenos solo o por efecto sinérgico pueden reducir el tamaño de la próstata debido a su actividad antiproliferativa.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1:** muestra la producción de dihidrotestosterona a partir de testosterona *in situ*.
- Figura 2:** muestra la reacción química implicada en la producción de dihidrotestosterona a partir de testosterona.
- Figura 3:** muestra la conversión de acetato de 17-oxo-5-androsten-3 β -ilo (**7**) en su oxima (**8**) sometiénolo a reflujo en etanol con clorhidrato de hidroxilamina y acetato de sodio.
- Figura 4:** muestra la esterificación e hidrólisis de la oxima (**8**). El acetato de 17-oximo-5-androsten-3 β -ilo (**8**) se hidrolizó con hidróxido de potasio metanólico para obtener acetato de 17-oximo-5-androsten-3 β -ol (**9**). Los productos mostrados 10-16 son los productos finales obtenidos por reacción con los ácidos correspondientes tal como se ilustra en los Ejemplos 1-7.
- Figura 5:** muestra la relación log dosis-respuesta con respecto a la citotoxicidad de los compuestos en la cantidad de células vivas (DU-145) con respecto al control. Cada punto representa el promedio $\pm$ EEM de tres experimentos independientes. Se trazó una línea de regresión lineal para calcular la IC₅₀. Se aplicó ANOVA seguido de Tukey's. Datos significativamente diferentes de los del fármaco de referencia ($p < 0,001$).
- Figura 6:** muestra el efecto de los compuestos en el nivel de testosterona en suero. Los resultados son el promedio $\pm$ EEM de cinco experimentos. * $p < 0,05$ significativo en comparación con el control, ^a $p < 0,05$ significativo en comparación con Finasterida.
- Figura 7:** muestra la toxicidad de los compuestos para macrófagos de ratón (Balb C). La viabilidad celular se determinó en base al ensayo MTT. Cada punto representa el promedio y la EEM de 3 experimentos independientes. * $p < 0,001$ son significativamente diferentes en comparación con Finasterida de acuerdo con ANOVA de una vía seguido por el ensayo Tukey's.

Descripción detallada de la invención

Así, la presente invención proporciona compuestos de fórmula general A, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,



Fórmula general A

- donde R se selecciona de entre el grupo consistente en arilalquilo, arilo sustituido, arilalquilo sustituido, fenoximetilo, 4-clorofenoximetilo, nitrofenoximetilo, 4-metilfenoximetilo y 4-aminofenoximetilo. En una realización de la invención, el grupo arilalquilo es bencilo o el grupo arilalquilo sustituido se selecciona de entre el grupo consistente en 4-clorobencilo, 4-nitrobencilo, 4-metilbencilo y 4-aminobencilo.

- En otra realización de la invención, el grupo arilo sustituido se puede seleccionar de entre el grupo consistente en (i) 4-clorofenilo (**10**); (ii) 4-nitrofenilo (**11**); (iii) 4-metilfenilo (*p*-tolilo) (**12**); (v) 4-aminofenilo (**14**); (vi) 4-hidroxifenilo (**15**); (vii) fenoximetilo (**16**).

En otra realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar de entre el grupo consistente en clorhidratos, sulfatos, fosfatos, acetatos, propionatos y sales de sodio, potasio y calcio de los grupos hidroxilo fenólicos contenidos en los sustratos.

- En una realización más de la invención, los compuestos representativos de fórmula A se seleccionan de entre el grupo consistente en:

(i) 4-clorobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**10**)

(ii) 4-nitrobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**11**)

(iii) 4-metilbenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**12**)

(v) 4-aminobenzoato de 11-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**14**)

(vi) 4-hidroxibenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**15**)

(vii) fenoxiacetato de 11-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**16**)

5 En otra realización de la invención, los compuestos son útiles como inhibidores de la 5 α -reductasa en trastornos dependientes de andrógenos.

En otra realización de la invención, los compuestos mostraron actividad antiproliferativa con más del 90% de inhibición del crecimiento de células DU-145 a una concentración de 5,0 μ g/ml.

En otra realización de la invención, los compuestos mostraron un aumento del nivel de testosterona en suero en ratas en comparación con el control a una dosis de 40 mg/kg.

10 En otra realización de la invención, los compuestos tienen valores IC50 de entre 19,5 y 89,4 μ m.

En otra realización de la invención, los compuestos no son tóxicos a una concentración entre 0,01 μ g/ml y 5,0 μ g/ml.

La presente invención proporciona un proceso para preparar los nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol de fórmula A, donde los pasos de proceso comprenden:

- 15 i. someter a reacción 17-oximino-5-androsten-3 β -ol con un ácido orgánico y diciclohexilcarbodiimida (DCC) en diclorometano anhidro durante un tiempo entre 24 y 48 horas a una temperatura entre 20 y 25°C;
- ii. filtrar la diciclohexilurea (DCU) precipitada, retirar el disolvente del filtrado bajo vacío y cristalizar el residuo para obtener el producto deseado.

20 Igualmente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende: una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente junto con vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

25 En el proyecto de investigación propuesto se sintetizaron nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol en dos pasos, a partir de acetato de deshidroepiandrosterona preparado a partir de diosgenina [Marker, R.E. y col.; J. Amer. Chem. Soc. 1939, 61, marzo, J. Advanced Organic Chemistry; John Wiley and Sons: New York, 2001, p 395; Lemeiux, U. y col., Can. J Chem. 1955, 33, 1701]. La parte oxima en C-17 del núcleo esteroide se incorporó tal como se propone en la Figura 3. El acetato de 17-oxo-5-androsten-3 β -ilo (**7**) se convirtió en su oxima (**8**) sometiéndolo a reflujo en etanol con clorhidrato de hidroxilamina y acetato de sodio. En el espectro infrarrojo se detectó alargamiento debido a NOH, C=O (éster) y C-O (éster) a 3400, 1740 y 1245 cm^{-1} , respectivamente. En el espectro RMN se registraron señales a δ 2,3 (s, 3H, CH_3COO), 4,60 (m, 1H, 3 α -H), 5,4 (br, 1H, 6-vinílico) y 8,43 ppm (1H, NOH).

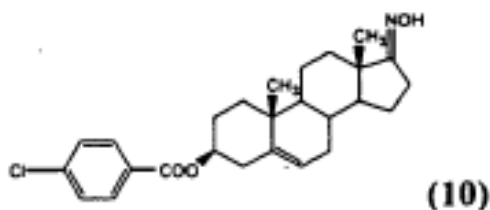
30 La oxima **8** se hidrolizó y esterificó tal como se muestra en la Figura 4.

35 El acetato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**8**) se hidrolizó con hidróxido de potasio metanólico para obtener 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**). En el espectro ^1H -RMN aparecieron señales para protones 3 α y 6-vinílicos a δ 4,54 y δ 5,22, respectivamente. El espectro IR mostró la desaparición del alargamiento debido al carbonilo del acetato a 1740 cm^{-1} . El 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**) se sometió a reacción con el ácido respectivo y diciclohexilcarbodiimida (DCC) en diclorometano anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La diciclohexilurea (DCU) precipitada se filtró, el disolvente se retiró bajo vacío y el residuo se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener el producto deseado.

40 Los siguientes ejemplos se dan a título ilustrativo y no han de ser interpretados como limitativos del alcance de la invención.

Ejemplo 1: 4-clorobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**10**)

45 A una solución agitada de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) se añadió ácido 4-clorobenzoico (0,26 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La diciclohexilurea (DCU) precipitada se filtró y el disolvente se retiró bajo vacío. El residuo resultante se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener 4-clorobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**10**) (0,30 g, 60,0%), p.f. 167-170°C.

**Anál.:**

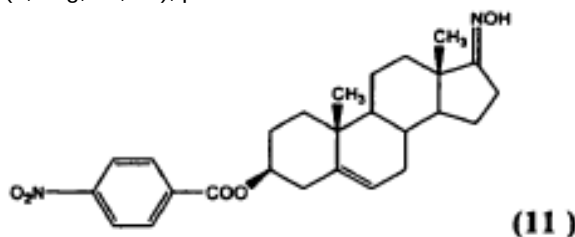
p.f. 167-170°C

IR (KBr): 3310, 2930, 1740, 1650 y 1235 cm⁻¹

5 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 1,03 (s, 3H, 18-CH₃), 1,04 (s, 3H 19-CH₃), 2,17 (1 H, NOH), 4,15 (m, 1H, 3α-H), 5,40 (br, 1H, 6-vinílico), 7,50 (d, 2H, 3-CH y 5-CH aromático) y 7,97 ppm (d, 2H, 2-CH y 6-CH aromático)
Calculado para C₂₆H₃₂NO₃Cl: N, 3,17. Hallado: N, 3,25.

Ejemplo 2: 4-nitrobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3β-ilo (11)

10 A una solución agitada de 17-oximino-5-androsten-3β-ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) se añadió ácido p-nitrobenzoico (0,27 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La diciclohexilurea (DCU) precipitada se filtró y el disolvente se retiró bajo vacío. El residuo resultante se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener 4-nitrobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3β-ilo (**11**) (0,34 g, 68,0%), p.f. 185-188°C.

**Anál.:**

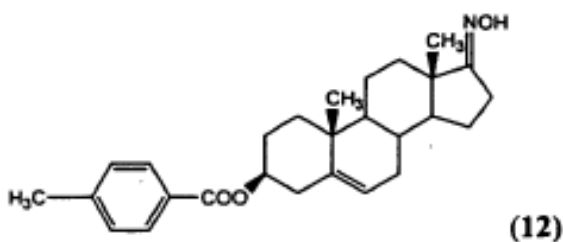
p.f. 185-188 °C

IR (KBr): 3300, 2930, 1700, 1650 y 1234 cm⁻¹

20 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 0,89 (s, 3H, 18-CH₃), 1,03 (s, 3H 19-CH₃), 3,85 (m, 1H, 3α-H), 5,4 (br, 1H, 6-vinílico), 6,65 (d, 2H, 3-CH y 5-CH aromático), 7,87 (d, 2H, 2-CH y 6-CH aromático)
Calculado para C₂₆H₃₂N₂O₅: N, 6,19. Hallado: N, 5,64.

Ejemplo 3: 4-metilbenzoato de 17-oximino-5-androsten-3β-ilo (12)

25 A una solución agitada de 17-oximino-5-androsten-3β-ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) se añadió ácido 4-metilbenzoico (ácido p-toluico) (0,22 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La diciclohexilurea (DCU) precipitada se filtró, el disolvente se retiró bajo vacío y el residuo se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener **12** (0,29 g, 58,0%), p.f. 135-139°C.

**Anál.:**

p.f. 135-139°C

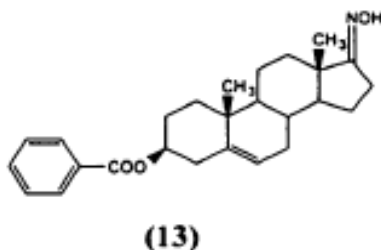
IR (KBr): 3310, 2930, 1700, 1650 y 1235 cm⁻¹

30 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 0,89 (s, 3H, 18-CH₃), 1,03 (s, 3H 19-CH₃), 2,41 (1H, NOH), 4,08 (m, 1H, 3α-H), 6,25 (br, 1H, 6-vinílico), 7,20 (d, 2H, 3-CH y 5-CH aromático) y 7,43 ppm (d, 2H, 2-CH y 6-CH aromático)

Calculado para $C_{27}H_{35}NO_3$: N, 3,32, Hallado: N, 3,77.

Ejemplo 4: benzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (13)

Se disolvió 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y dicitclohexil-carbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) y se agitó. A esta mezcla se añadió ácido benzoico (0,2 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. El material precipitado se filtró y el disolvente se retiró bajo presión reducida para obtener un residuo, que cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener benzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**13**) (0,32 g, 64,0%), p.f. 165-170°C.



Anál.:

p.f. 165-170°C

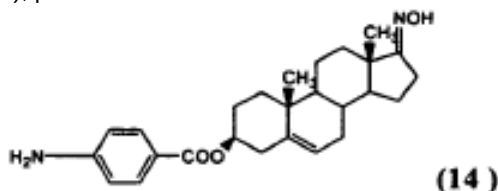
IR (KBr): 3300, 2930, 1700, 1650 y 1235 cm^{-1}

1H -RMN ($CDCl_3$): δ 0,89 (s, 3H, 18- CH_3), 1,1 (s, 3H 19- CH_3), 4,07 (m, 1H, 3 α -H), 5,40 (br, 1H, 6-vinílico) y 6,84-7,28 (m, 5H, aromático)

Calculado para $C_{26}H_{33}NO_3$: N, 3,44. Hallado: N, 3,74.

Ejemplo 5: 4-aminobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (14)

A una solución agitada de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y dicitclohexilcarbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) se añadió ácido p-aminobenzoico (0,22 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La dicitclohexilurea (DCU) precipitada se filtró, el disolvente se retiró bajo vacío y el residuo se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60 : 80) para obtener 4-aminobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**14**) (0,28 g, 56,0%), p.f. 165-168°C.



Anál.:

p.f. 165-168°C

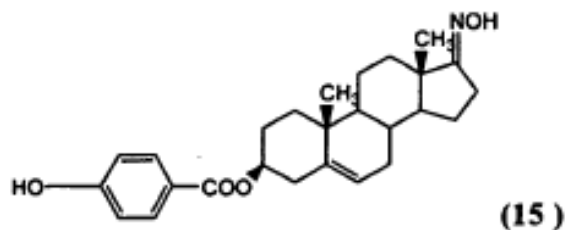
IR (KBr): 3330, 2930, 1700, 1630 y 1240 cm^{-1} ,

1H -RMN ($CDCl_3$): δ 0,93 (s, 3H, 18- CH_3), 1,05 (s, 3H 19- CH_3), 2,17 (1H, NOH), 4,08 (m, 1H, 3 α -H), 6,20 (br, 1H, 6-vinílico), 7,22 (d, 2H, 3-CH y 5-CH aromático) y 8,26 ppm (d, 2H, 2-CH y 6-CH aromático)

Calculado para $C_{26}H_{34}N_2O_3$: N, 6,63. Hallado: N, 6,79.

Ejemplo 6: 4-hidroxibenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (15)

Se recogió 17-oximino-5-androsten-3 β -ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml). Después se añadió dicitclohexilcarbodiimida (DCC) (0,34 g, 1,6 mmol) seguida de ácido p-hidroxibenzoico (0,23 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24-48 horas y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La mezcla de reacción se filtró para retirar la dicitclohexilurea (DCU) precipitada. El exceso de disolvente se retiró bajo vacío y el producto se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener 4-hidroxibenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (**15**) (0,31g, 62,0%) p.f. 177-182°C.



Anal. :

p.f. 177-182°C

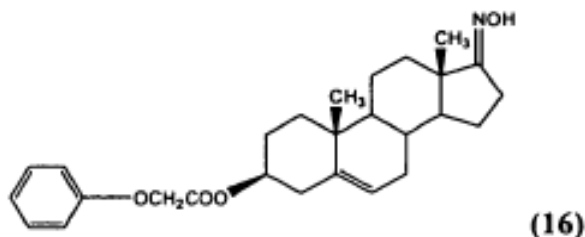
IR (KBr): 3310, 2930, 1710, 1680 y 1235 cm⁻¹

¹H-RMN (CDCl₃): δ 0,89 (s, 3H, 18-CH₃), 1,05 (s, 3H 19-CH₃), 2,17 (1H, NOH), 4,18(m, 1 H, 3α-H), 6,35 (br, 1H, 6-vinílico), 6,83 (d, 2H, 3-CH y 5-CH aromático) y 7,46 ppm (d, 2H, 2-CH y 6-CH aromático)

Calculado para C₂₆H₃₃ NO₄: N, 3,31, Hallado: N, 3,32.

Ejemplo 7: fenoxiacetato de 17-oximino-5-androsten-3β-ilo (16)

A una solución agitada de 17-oximino-5-androsten-3β-ol (**9**) (0,5 g, 1,6 mmol) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,342 g, 1,6 mmol) en diclorometano anhidro (30,0 ml) se añadió ácido fenoxiacético (0,24 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y la finalización de la reacción se controló mediante CCF. La diciclohexilurea (DCU) precipitada se filtró y el disolvente se retiró bajo vacío. El residuo resultante se cristalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo (60:80) para obtener fenoxiacetato de 17-oximino-5-androsten-3β-ilo (**16**) (0,27 g, 54,0%), p.f. 118-122°C.



Anal.:

p.f. 118-122°C

IR (KBr): 3200, 2940, 1750, 1650 y 1220 cm⁻¹

¹H-RMN (CDCl₃): δ 0,88 (s, 3H, 18-CH₃), 1,02 (s, 3H 19-CH₃), 4,60 (s, 2H, OCH₂), 4,7 (m, 1H, 3α-H), 5,40 (br, 1H, 6-vinílico) y 7,29 (m, 5H, aromático)

Calculado para C₂₇H₃₅ NO₄: N, 3,20. Hallado: N, 3,60.

Evaluación biológica

Los derivados esteroideos sintetizados se evaluaron en cuanto a la actividad antiproliferativa *in vitro* utilizando líneas celulares DU-145 y estudios *in vivo*, es decir, actividad inhibidora de la 5α-reductasa [George, F.W. y col., Endocrinology, 1989, 125, 2434].

a) Actividad antiproliferativa *in vitro* contra la línea celular de cáncer de próstata humano (DU-145)

Los compuestos se investigaron en cuanto a la actividad antiproliferativa contra la línea celular de próstata humana DU-145 en el National Centre of Human Genome Studies and Research, Panjab University, Chandigarh. Todos los compuestos (**10** a **16**), la Finasterida y el material de partida (**9**) se analizaron a cinco concentraciones diferentes: 0,01, 0,5, 1,0, 2,0 y 5,0 µg/ml. La Finasterida era el control positivo en este ensayo de inhibición del crecimiento.

Ensayo de la actividad inhibidora del crecimiento (ensayo MTT)

Se investigó el efecto de los compuestos recientemente sintetizados en la inhibición del crecimiento celular utilizando el ensayo MTT. Este ensayo cuantifica las células viables observando la reducción de sal de tetrazolio, MTT en cristales de formazán por las células vivas. Las células viables se pueden medir según la absorbancia de la muestra celular después de realizar el ensayo [Loveland, B.E.; Jones, T.G.; Mackay, I.R.; Vaillant, F.; Wang, Z.X.; Hertzog, P.J., Biochem. International 1992, 27, 501 y Wright, S.A.; Tomas, L.N.; Douglas, R.C.; Lazier, C.B.; Rittmaster, R.S., J. Clin. Invest. 1996, 98, 2558]. Las células se cultivaron a una densidad de 5·10³ células/pocillo en placas de 96 pocillos a 37°C bajo atmósfera de CO₂ 5,0% y se dejó que se unieran durante 24 horas. Las células se trataron por triplicado con una concentración graduada de la muestra y el fármaco de referencia Finasterida a 37°C durante 48

horas. Una parte alícuota de 20 µl de solución de MTT se añadió directamente a todos los pocillos apropiados. Después de 4 horas de incubación a 37 °C, el medio se retiró y los cristales de formazán, que resultan de la reducción del MTT por las células activas, se disolvieron en 100 µl de DMSO y se mezclaron intensamente para disolver el tinte reactivo. La absorbancia de cada pocillo se leyó en un lector de placas ELISA (Merck) a 570 nm. El espectrómetro se calibró a absorbancia cero utilizando el medio de cultivo sin células. La viabilidad celular relativa (%) en relación con el pocillo de control, que contiene medio de cultivo celular sin fármaco, se calculó mediante $[A]_{\text{ensayo}} / [A]_{\text{control}} \times 100$.

$$\% \text{ inhibición del crecimiento} = [\text{OD}]_{\text{control}} - [\text{OD}]_{\text{ensayo}} / [\text{OD}]_{\text{control}} \times 100$$

Resultados

Todos los compuestos recién sintetizados se analizaron en cuanto a la actividad antiproliferativa utilizando la línea celular DU-145. Los resultados se expresan en términos de porcentaje de inhibición del crecimiento (**Tabla 1**) y porcentaje de células viables (**Figura 5**).

Los ésteres de 17-oximino-5-androsten-3β-ol (**10-16**), sintetizados en nuestro laboratorio, revelaron una gran reducción del nivel de citotoxicidad celular en comparación con la Finasterida (**3**). El examen de datos de estos análogos **10** a **16** demostró una gran tolerancia del anillo fenilo y sus análogos *para*-sustituidos. Se comprobó que el análogo no sustituido **13** y los compuestos *para*-sustituidos (grupo donante de electrones) **12**, **14** y **15** eran los compuestos más activos con más del 90% de inhibición del crecimiento a una concentración de 5,0 µg/ml en relación con la Finasterida (78% a 5,0 µg/ml) (**Tabla 1**). Por otro lado, los análogos **10**, **11** con sustituyentes aceptores de electrones redujeron el crecimiento de las líneas celulares de cáncer DU-145 en un 81-84%, relativamente menos, pero todavía mejor que la Finasterida (78%). El compuesto precursor **9** no mostró ningún efecto inhibitorio significativo en la proliferación celular.

Tabla 1 Actividad antiproliferativa de la Finasterida y de los compuestos 9 a 16

Compuesto	% inhibición del crecimiento (promedio ± EEM) ^a				
	0,01 µg/ml	0,5 µg/ml	1,0 µg/ml	2,0 µg/ml	5,0 µg/ml
Finasterida	5,00±1,58	8,83±8,40	16,48±2,49	36,0±8,95	78,51±4,63
Compuesto precursor 9	N _i ^a	N _i ^a	N _i ^a	N _i ^a	N _i ^a
(10)	43,41±0,77	57,1±5,96	64,90±7,40	69,17±7,48	84,47±0,74
(11)	41,50±0,71	60,51±4,90	67,26±3,70	74,03±0,77	81,53±1,79
(12)	42,60±2,21	62,99±4,78	84,99±3,99	89,55±0,96	92,94±0,13
(13)	47,02±1,67	48,86±1,66	67,62±1,62	85,87±4,08	91,10±2,10
(14)	71,82±4,24	62,10±11,39	79,54±7,76	83,89±6,70	91,02±1,25
(15)	62,65±2,46	76,89±5,94	83,08±0,75	91,39±1,50	91,54±0,19
(16)	33,59±7,66	24,25±6,37	36,19±9,85	76,52±05,58	87,81±1,11

N_i = ninguna inhibición del crecimiento significativa

Se sintetizaron e investigaron *in vitro* una serie de derivados éster que portaban el grupo oxima (NOH) en C-17 conectados directamente con el anillo D esteroideo, (**Tabla 1** y **Figura 5**). El examen de datos de estos análogos **10** a **16** demostró una gran tolerancia del anillo fenilo y sus análogos *para*-sustituidos. Esto está en concordancia con los informes previos que han señalado la importancia de los ésteres aromáticos y aromáticos *p*-sustituidos. Se ha comprobado que el análogo no sustituido **13** y los compuestos *para*-sustituidos **12**, **14** y **15** con una fracción donadora de electrones en posición *para* son más potentes que la referencia Finasterida. Se comprobó que los compuestos **12**, **14** y **15** eran los más activos, con más del 90% de inhibición del crecimiento a una concentración de 5,0 µg/ml en relación con la Finasterida (78% a 5,0 µg/ml). Por otro lado, los análogos **10**, **11** con sustituyentes captadores de electrones mostraron relativamente menos actividad que los compuestos arriba indicados, pero todavía mejor que la de la Finasterida. El compuesto precursor **9** no mostró ninguna actividad antiproliferativa significativa.

b) *In vivo* (efecto en el nivel de andrógenos esteroideos)

Tratamiento de animales

Los animales (ratas macho Sprague Dawley con un peso de 150-200 g) se dividieron en 3 grupos: vehículo (control), Finasterida (estándar), tratados (muestra de ensayo), cada grupo compuesto por 5 animales. Las ratas Sprague Dawley se trataron vía intraperitoneal con Finasterida 40 mg/kg y una dosis equimolar de los compuestos. Después de 6 horas de tratamiento se extrajo sangre mediante punción cardíaca bajo anestesia con dietil éter y el suero se separó de las células por centrifugación. Los valores de testosterona en plasma se obtuvieron en un lector de placas ELISA a 550 nm y se indican en ng/ml.

ELISA

Se dispusieron partes alícuotas de 50 µl en cada caso de estándar, control y desconocido (muestras de suero) en pocillos revestidos con anticuerpo de testosterona. Después se añadieron 100 µl de conjugado de HRP-testosterona a todos los pocillos y las placas se agitaron suavemente sobre una agitadora para que los reactivos se mezclaran apropiadamente. Después de 4 horas de incubación a 37°C, la mezcla de incubación se retiró. Los pocillos se lavaron 5-6 veces con tampón fosfato (200 µl cada vez) y luego se añadieron 100 µl de sustrato TMB/H₂O₂ a cada uno de los pocillos. Las placas se incubaron durante otros 20 minutos a 37°C. Al final de la incubación, la reacción se detuvo utilizando 100 µl de H₂SO₄ 0,5M como reactivo de detención. La absorbancia de cada pocillo se leyó en un lector de placas ELISA a 4350 nm [Rassaie, M. J.; Kumari, G. L.; Pandey, P. K.; Gupta, N.; Kochupillai, N.; Grover, P. K. Steroids 1992, 57, 288 y Hosoda, H.; Yoshida, H.; Sakai, Y.; Miyairi, S.; Nambara, T. Chem. Pharm. Bull. 1980, 28, 3035].

Resultados

La **Tabla 2** y la **Figura 6** muestran el efecto de los compuestos (**10 a 16**) y la Finasterida en la concentración de testosterona en suero.

El nivel de 'T' en suero aumentó en las ratas tratadas con Finasterida (1,26±0,02) ng/ml en comparación con 0,742±0,07 ng/ml en las ratas de control). La **Tabla 2** y la **Figura 6** muestran claramente que casi todos los derivados de éster de 17-oximino-5-androsten-3β-ol aumentaron el nivel de testosterona en suero en comparación con el control, excepto el compuesto **15**. Los niveles de T en suero 6 horas después de la administración fueron de 1,05±0,08 ng/ml en el caso del compuesto **13**, con un grupo fenilo no sustituido. Se ha comprobado que los derivados de éster **12** y **14** con un grupo dador de electrones en posición *p* del anillo fenilo tienen actividad elevada, mientras que la presencia de una parte ávida de electrones en esta posición provoca la pérdida de actividad (**10**, **11**). En el compuesto **16** se detectó un aumento significativo del nivel de testosterona en suero.

Tabla 2 Niveles de testosterona en suero

	T(ng/ml)	EEM
Control	0,742	0,07301
Finasterida	1,26	0,02264
10	0,95	0,07759
11	1,01	0,10149
12	1,16	0,14835
13	1,05	0,08385
14	1,19	0,05975
15	0,73	0,02588
16	0,85	0,05489

Discusión

En el estudio designado, en el que diversos compuestos se compararon en cuanto a la potencia inhibidora de la 5α-reductasa *in vivo*, que se evaluó por la capacidad de éstos para atenuar la conversión de testosterona en dihidrotestosterona (DHT), se utilizaron ratas macho intactas (Sprague Dawley, 200-250 g). Se comprobó que el análisis ELISA de testosterona era adecuado para la determinación en suero de rata, ya que los niveles de DHT con reactividad cruzada eran sumamente bajos en los machos. El procedimiento mide la T igualmente bien, cumpliendo el método todos los requisitos de protección, exactitud, sensibilidad y selectividad.

c) Citotoxicidad *in vitro* utilizando macrófagos de ratón (toxicidad aguda)

Un ensayo de citotoxicidad *in vitro* utilizando células DU-145 en la evaluación preliminar de fármacos anticáncer nos permite seleccionar el compuesto más potente; sin embargo, los agentes citotóxicos con frecuencia presentan una toxicidad no específica. No obstante, la capacidad de destruir selectivamente una célula diana sigue siendo una propiedad muy deseable para nuevos agentes citotóxicos terapéuticos potenciales. En este estudio se ha demostrado la aplicabilidad del ensayo de absorción de tinte rojo (MTT) utilizando macrófagos de ratón (Balb C) para analizar la toxicidad *in vitro* de los compuestos recién sintetizados.

Preparación del material de ensayo

Todos los esteroides se disolvieron en etanol y se diluyeron a la concentración apropiada: 0,01, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 µg/ml de las dos soluciones madre de 1 mg/ml y 0,001 µg/ml. Las soluciones madre se mantuvieron a temperatura ambiente.

Ensayo de viabilidad celular

Aislamiento de macrófagos de ratón

Se sacrificaron ratones albinos (cepa laca) con un peso de 20-25 g de ambos sexos por dislocación cervical y se realizó un pequeño corte en la piel peritoneal con ayuda de unas tijeras. En la cavidad se inyectó aproximadamente 1 ml de solución salina con tampón fosfato preincubada a 37°C. El abdomen se lavó durante 10 minutos y se extrajo fluido junto con macrófagos utilizando una jeringuilla en tubo de polipropileno. La solución de fosfato se centrifugó a 800 rpm durante 5-10 minutos y las células se resuspendieron en 1 ml de medio RPMI. El número de células se contó utilizando un hemocitómetro.

$$\text{Recuento celular final} = \frac{\text{recuento celular total} \times 1000 \times \text{factor de dilución}}{0,1 \times 5}$$

0,1 = profundidad de la cámara; 5 = nº de cuadrados (cada cuadrado tiene 1 mm)

10 Ensayo MTT

Las células (macrófagos de ratón) se dispusieron a una densidad de $5 \cdot 10^3$ células/pocillo en una placa de 96 pocillos a 37°C con 5% CO₂. Las células se expusieron a una concentración graduada de los compuestos con diversas concentraciones designadas. Cada concentración se ensayó en pocillos por triplicado. Después de 48 horas se añadieron 20 µl (1 mg/ml) de MTT fresco directamente a todos los pocillos y el cultivo se incubó durante 4 horas a 37°C. Durante esta incubación, el MTT se convirtió en un complejo de formazán insoluble en agua por la actividad metabólica de las células viables. Los cristales de formazán se recogieron y se disolvieron en 100 µl de DMSO, produciendo un color rosa claro. La absorbancia de cada pocillo se leyó en un lector de placas ELISA (Merck) a 570 nm. El espectrómetro se calibró a absorbancia cero utilizando medio de cultivo sin células. La viabilidad celular relativa (%) en relación con el pocillo control, que contiene medio de cultivo celular sin fármaco, se calculó mediante $[A]_{\text{ensayo}} / [A]_{\text{control}} \times 100$.

$$\% \text{ viabilidad celular} = [A]_{\text{ensayo}} / [A]_{\text{control}} \times 100$$

$[A]_{\text{ensayo}}$ = absorbancia de muestra de ensayo; $[A]_{\text{control}}$ = absorbancia de muestra de control

Resultados: LC₅₀: Concentración del compuesto en µg/ml (µm), letal para el 50% de la población de células

El ensayo de absorción de tinte rojo (MTT) demostró la toxicidad de los compuestos frente a células normales utilizando macrófagos de ratón. El ensayo cuantifica las células viables después de 24 horas de incubación de las mismas a cinco concentraciones diferentes. Los resultados presentados en la **Tabla 3** y la **Figura 7** demostraron una relación directa y proporcional entre el número de células y la concentración.

Los resultados obtenidos en el ensayo MTT eran estadísticamente significativos ($p < 0,001$) y la ecuación lineal obtenida nos permitió determinar el índice de toxicidad (LC₅₀), es decir, la concentración del compuesto en µg/ml (µm) letal para el 50% de la población de células. La **Tabla 4** presenta los datos resumidos. Los datos de este estudio mostrados en la **Tabla 4** indicaban claramente que los compuestos **13** y **16** con altos valores LC₅₀ no eran tóxicos para los macrófagos de ratón. En cambio, la toxicidad aguda de los compuestos **10-12**, **14** y **15** era comparable a la de la Finasterida.

Tabla 3 % células viables de derivados (10 a 16)

Compuesto	% células viables (promedio ± EEM) ^a				
	0,01 µg/ml	0,5 µg/ml	1,0 µg/ml	2,0 µg/ml	5,0 µg/ml
Finasterida	96,45±0,36	94,20±1,72	93,32±0,59	81,18±0,20	79,14±0,312
(10)	88,22±0,41	87,21±0,46	77,40±0,43	77,4±0,21	73,149±0,13
(11)	88,79±0,19	86,50±0,107	76,74±0,107	76,30±0,46	75,85±0,259
(12)	79,39±0,77	77,46±0,75	73,03±0,36	69,10±0,84	65,26±2,79
(13)	87,71±0,19	84,74±0,27	83,61±0,20	83,85±0,28	82,99±0,36
(14)	85,75±0,28	77,69±0,38	76,80±0,23	75,82±0,33	72,82±0,28
(15)	89,80±2,95	81,02±2,83	63,99±0,91	56,88±0,39	55,36±0,19
(16)	80,79±2,30	78,32±0,89	77,04±0,23	77,31±0,37	77,37±0,16

Tabla 4: Toxicidad aguda de los compuestos

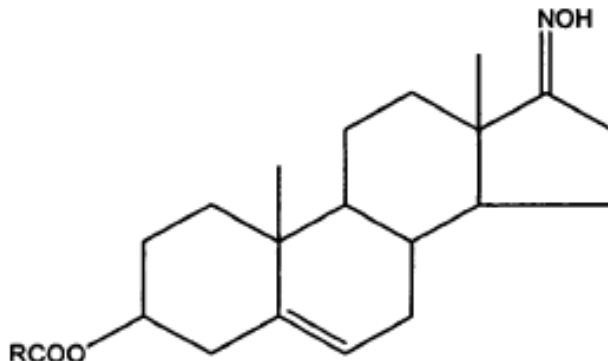
S. N°	Compuesto	LC ₅₀ (µm)
1.	Finasterida	28,2
2.	10	24,0
3.	11	19,5
4.	12	22
5.	13	89,4
6.	14	29,4
7.	15	22,0
8.	16	89

Un ensayo de citotoxicidad *in vitro* utilizando células DU-145 en la evaluación preliminar de fármacos anticáncer nos permite seleccionar el compuesto más potente; sin embargo, los agentes citotóxicos con frecuencia presentan una toxicidad no específica. No obstante, la capacidad de destruir selectivamente células diana sigue siendo una propiedad muy deseable para nuevos agentes citotóxicos terapéuticos potenciales. En este estudio hemos demostrado la aplicabilidad del ensayo de absorción de tinte rojo (MTT) utilizando macrófagos de ratón (Balb C) para analizar la toxicidad *in vitro* de los compuestos recién sintetizados. El ensayo cuantifica las células viables después de 24 horas de incubación de las mismas a cinco concentraciones diferentes. La **Figura 7** y la **Tabla 3** demostraron una relación directa y proporcional entre el número de células y la concentración. Los datos de este estudio mostrados en la **Tabla 4** indican claramente que los compuestos **13** y **16** con altos valores LC₅₀ no eran tóxicos para los macrófagos de ratón. La toxicidad aguda de los compuestos **10-12**, **14** y **15** era comparable a la de la Finasterida.

Se han sintetizado nuevos derivados de ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol a partir de acetato de deshidroandrosterona. Los compuestos recién sintetizados se analizaron en cuanto a su actividad antiproliferativa y su actividad inhibidora de la 5 α -reductasa en comparación con la Finasterida. En el suero de animales tratados con los compuestos recién sintetizados se detecta una reducción del nivel de andrógenos. Estos compuestos también han mostrado una mejor citotoxicidad en comparación con el fármaco de referencia Finasterida. Por consiguiente, dichos compuestos pueden resultar útiles solo en el tratamiento de los trastornos de próstata dependientes de andrógenos o, por efecto sinérgico, pueden reducir el tamaño de la próstata debido a su actividad antiproliferativa.

REIVINDICACIONES

1. Nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol de fórmula general A o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos;



Fórmula general A

- donde R se selecciona de entre el grupo consistente en arilalquilo, arilo sustituido, arilalquilo sustituido, fenoximetilo, 4-clorofenoximetilo, 4-nitrofenoximetilo, 4-metilfenoximetilo y 4-aminofenoximetilo.
2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque el grupo arilalquilo es bencilo o el arilalquilo sustituido se selecciona de entre el grupo consistente en 4-clorobencilo, 4-nitrobencilo, 4-metilbencilo y 4-aminobencilo.
3. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque el grupo arilo sustituido se selecciona de entre el grupo consistente en (i) 4-clorofenilo (10); (ii) 4-nitrofenilo (11); (iii) 4-metilfenilo (p-tolilo) (12); (v) 4-aminofenilo (14); (vi) 4-hidroxifenilo (15); (vii) fenoximetilo (16).
4. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona de entre el grupo consistente en clorhidratos, sulfatos, fosfatos, acetatos propionatos y sales de sodio, potasio y calcio de los grupos hidroxilo fenólicos contenidos en los sustratos.
5. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque los compuestos representativos de fórmula A según la reivindicación 1 se seleccionan de entre el grupo consistente en
- (i) 4-clorobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (10)
 - (ii) 4-nitrobenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (11)
 - (iii) 4-metilbenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (12)
 - (v) 4-aminobenzoato de 11-oximino-5-androsten-3 β -ilo (14)
 - (vi) 4-hidroxibenzoato de 17-oximino-5-androsten-3 β -ilo (15)
 - (vii) fenoxiacetato de 11-oximino-5-androsten-3 β -ilo (16)
6. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso como inhibidor de la 5-[alfa]-reductasa o en el tratamiento de trastornos dependientes de andrógenos.
7. Proceso para la preparación de nuevos ésteres esteroideos de 17-oximino-5-androsten-3 β -ol de fórmula A según la reivindicación 1, comprendiendo el proceso:
- (i) someter a reacción 17-oximino-5-androsten-3 β -ol con un ácido orgánico y dicitclohexilcarbodiimida (DCC) en diclorometano anhidro durante un período entre 24 y 48 horas a una temperatura entre 20 y 25°C;
 - (ii) filtrar la dicitclohexilurea (DCU) precipitada, retirar el disolvente del filtrado bajo vacío y cristalizar el residuo para obtener el producto deseado.
8. Composición farmacéutica que comprende: una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente junto con vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
9. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en terapia.

10. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso para aumentar el nivel de testosterona en suero.
11. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna.

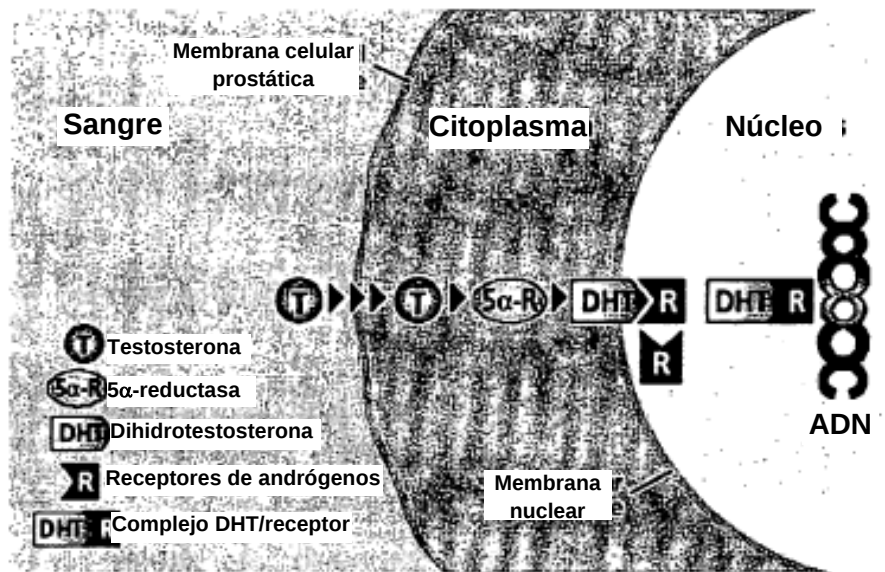


Figura 1

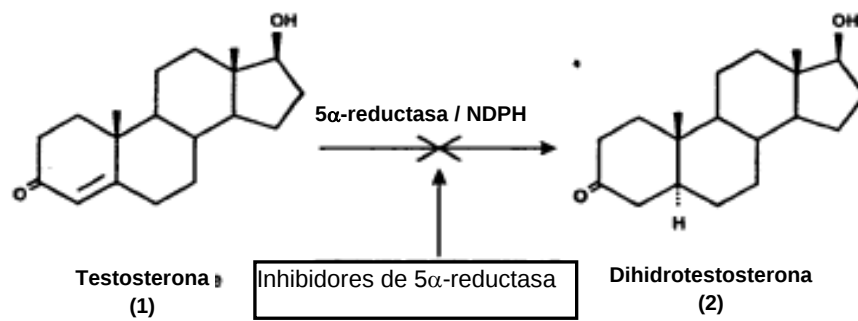


Figura 2



Figura 3

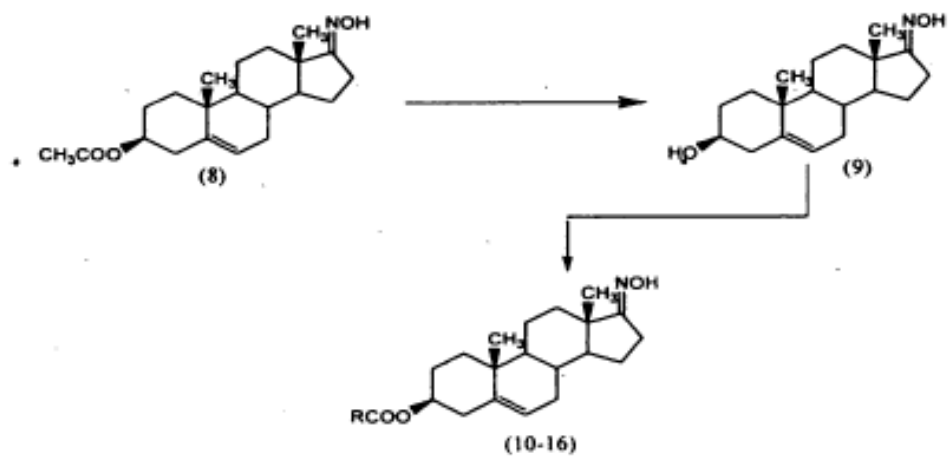


Figura 4

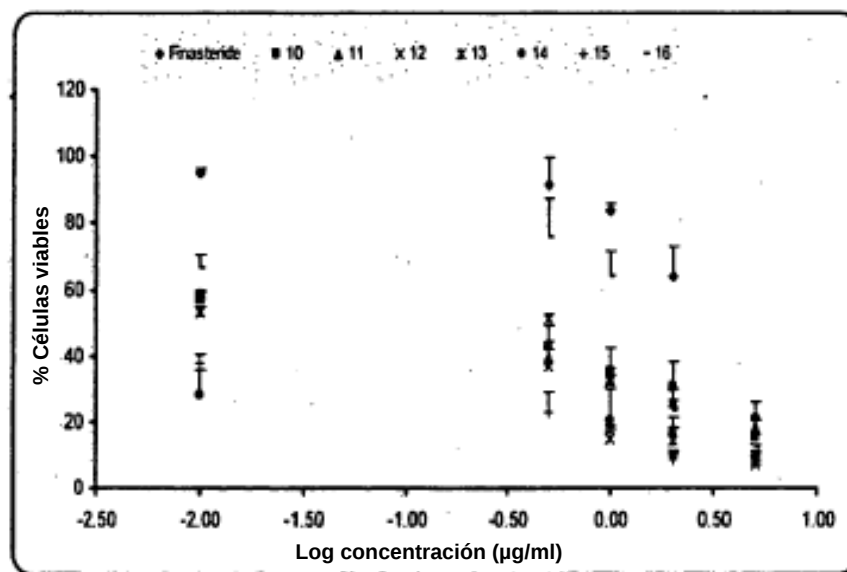


Figura 5

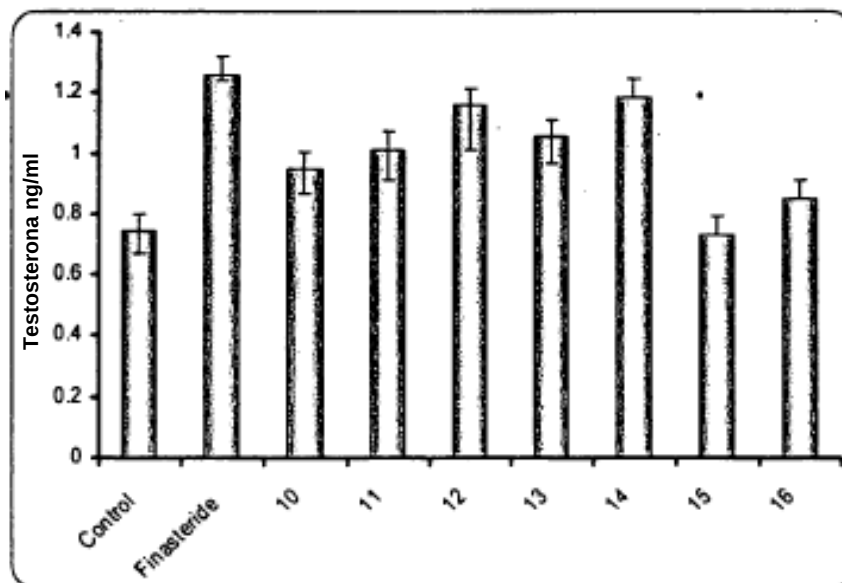


Figura 6

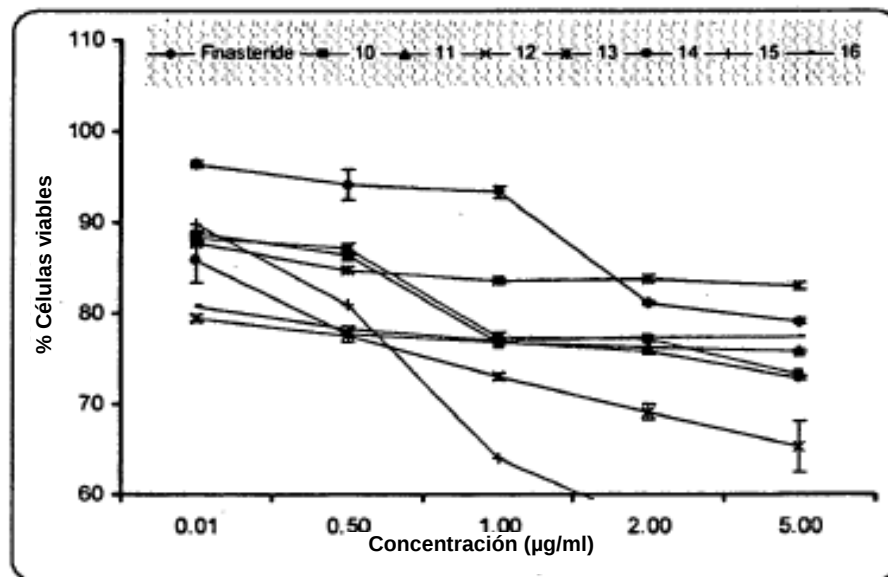


Figura 7