

# MIS AÑOS ENTRE HORMONAS, ESTEROIDES Y OTRAS YERBAS

**Palabras clave:** Química orgánica, química medicinal, esteroides.  
**Key words:** Organic chemistry, medicinal chemistry, steroids.

## ■ Gerardo Burton

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Orgánica  
CONICET – Universidad de Buenos Aires, UMYMFOR, Buenos Aires, Argentina.

[burton@qo.fcen.uba.ar](mailto:burton@qo.fcen.uba.ar)

*No existe una categoría de ciencia a la que se pueda llamar ciencia aplicada. Hay ciencias y aplicaciones de la ciencia, unidas como el fruto al árbol que lo lleva.*

Louis Pasteur (1871)

### ■ 1. LOS COMIENZOS

Nací en el barrio de Olivos, en el Gran Buenos Aires, en una familia de clase media, una hermana mayor que yo, mi padre empleado bancario y mi madre egresada del colegio normal que ocasionalmente daba clases a alumnos particulares. Vivíamos con mis abuelos maternos y teníamos un pequeño campo en Capilla del Señor donde íbamos todos los fines de semana. A los 3 años podía leer (según me contaron, aprendí con las revistas de historietas) y comencé los estudios con una profesora de inglés que también me enseñaba matemáticas. A diferencia de los demás chicos, no comencé la escuela a los 6 años cuando debía ingresar a “primer grado inferior”. Aunque nunca supe la razón exacta sospecho que mi madre, que era

bastante aprensiva y temerosa de las enfermedades y los contagios que podían ocurrir en la escuela, decidió que los primeros años estudiara con maestras particulares. La epidemia de poliomielitis que ocurrió en Argentina cuando yo tenía 3 años seguramente tuvo una fuerte influencia en esa decisión. A los 9 años me inscribieron en un colegio privado del barrio y luego de tomarme un examen de nivel, acordaron que si bien podía ingresar en 6º grado (en ese entonces el último grado de la escuela primaria), adelantarme 3 años podía ser “excesivo” y así comencé la escuela en 5º grado. Continué el secundario con la orientación “comercial” en el mismo colegio sin problemas, excepto en los primeros años de educación física donde los 2 años de diferencia con el resto de mis compañeros se notaban en mi rendimiento. También, gracias a la insistencia de mi madre, continué los estudios de inglés con la misma profesora que tenía desde los 3 años, (esos estudios no eran mis favoritos) y si bien nunca obtuve un título que acreditara mis conocimientos de inglés, ya desde antes

de finalizar la escuela secundaria lo hablo, leo y escribo con fluidez. Me gradué de Perito Mercantil a los 15 años y ya a esa altura hacía rato que había decidido estudiar química. La química y la física me atrajeron desde edad temprana; había en mi casa 2 viejos libros, uno de química y uno de física en los que recuerdo haber leído sobre los experimentos de Gay Lussac con gases y también sobre la generación de electricidad estática que se lograba frotando una piel de gato. La química y la física fueron mis materias favoritas en la escuela secundaria (a diferencia de la mayoría de mis compañeros) y en algún momento estuve en duda sobre cuál de esas carreras seguiría; finalmente en la elección de química tuvieron que ver las posibilidades de salida laboral, ya que en ese tiempo no se me ocurría que podía dedicarme a la investigación científica.

A los 16 años me inscribí en el curso de ingreso (anual) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA, que aprobé sin problemas, y 1 año después comencé la carrera de Licenciatura en Quími-

ca. Si bien la duración de la carrera era de entre 5 y 6 años cursando 2 materias por cuatrimestre, el plan de estudios permitía combinar las correlatividades para hacer 3 materias por cuatrimestre. De esa forma completé los estudios en 3 años y medio y me gradué a los 20 años. Luego de finalizado el 1er año me ofrecieron incorporarme como Ayudante de 2da *ad honorem* en Química Inorgánica y ya a fines de 1971 concursé y gané un cargo regular. A mediados de 1972, concursé y gané también un cargo regular de Ayudante de 2da en el Departamento de Química Orgánica. Siempre tuve vocación docente, ya en el secundario les enseñaba a varios de mis compañeros y más adelante daba clases particulares, así que mi incorporación a la docencia universitaria fue una continuación natural. Para mis estudios de grado elegí la orientación Química Industrial porque mantenía la idea de ir a trabajar en la industria química, sin embargo, eso estaba por cambiar. Mi ingreso como Ayudante de 2da al Departamento de Química Orgánica coincidió con un momento en que el Departamento llevaba un tiempo sin incorporar nuevos estudiantes de doctorado y ese año se había decidido ofrecerles a los nuevos ayudantes (habíamos ingresado 5), trabajar un cuatrimestre en un laboratorio de investigación (además de cumplir con la tarea docente). Me asignaron al laboratorio de Eduardo Gros que en ese momento era Profesor Asociado. Mi tarea consistía en aislar las lactonas esteroidales del veneno de sapo (bufadienólidos) que se usaban en el laboratorio para estudios de biosíntesis. En aquella época Gros pasaba la mayor parte del tiempo trabajando en el laboratorio y tuve la oportunidad de trabajar a su lado. Gros tenía una habilidad y manualidad excepcional para el trabajo de laboratorio y gran paciencia para enseñar, fue una experiencia que me

abrió a la idea de hacer un doctorado y dedicarme a la investigación. Al finalizar el cuatrimestre de trabajo, Gros me dijo *las puertas de este laboratorio siempre estarán abiertas para usted* y eso me decidió. Al año siguiente (1973) cursaba las últimas 3 materias de la Licenciatura y elegí como optativa Química Orgánica B que consistía en espectrometría de masa y de RMN. La primera la dictaba Jorge Comín y la segunda Eduardo Gros. Allí volví a hablar con Gros para que me aceptara como estudiante de doctorado y acordamos que empezaría apenas aprobara el último final. Ese último cuatrimestre (marzo a julio de 1973) fue complejo debido a los cambios políticos que se daban en el país y en la Universidad, con muchas clases suspendidas y asambleas. A pesar de eso, en el mes de agosto rendí el último examen final y estaba listo para comenzar mi doctorado. Para esa época yo seguía con las 2 ayudantías de 2da (una en Química Inorgánica y otra en Química Orgánica) pero a poco de empezar a trabajar en el laboratorio de Gros concursé y obtuve un cargo de Ayudante de primera dedicación exclusiva en el Departamento de Química Orgánica.

## ■ 2. EL DOCTORADO

Durante su posdoctorado con Edward Leete, Gros había trabajado con una familia de lactonas esteroidales llamadas cardenólidos que se encuentran en plantas del género *Digitalis*. Venancio Deulofeu (su director de tesis) había estudiado los componentes del veneno de los sapos, entre los que se encontraba otro grupo de lactonas esteroidales similares a los cardenólidos llamadas bufadienólidos. Aprovechando su experiencia en el laboratorio de Leete, y la disponibilidad de los animales (sapos *Bufo paracnemis* que le enviaban de Tucumán) Gros comenzó a estudiar la biosíntesis de estos

compuestos. Mi llegada coincidió con algunos hallazgos recientes que mostraban analogías entre el proceso biosintético de los bufadienólidos y el de los cardenólidos, y Gros me propuso como tema de tesis sintetizar un posible precursor marcado con  $^{14}\text{C}$  y ensayarlo en los animales. En los 3 años que siguieron adquirí experiencia en química de esteroides, espectroscopía y en síntesis en general. También tuve mis primeras experiencias en estudios de biosíntesis y en el manejo de radioisótopos.

Esos años (1973-1976) fueron complejos por los vaivenes políticos que también afectaron a la Universidad y a la ciencia en general. El dinero disponible para investigación era muy escaso y el instrumental era limitado. El laboratorio subsistía en gran medida gracias a un subsidio de la OEA a través del cual cada tanto, llegaban reactivos, algo de equipamiento y material de vidrio, mientras que el mantenimiento general del Departamento y de los equipos de uso común (IR, RMN, espectrómetro de masa) se complementaba con servicios esporádicos a la industria, que se prestaban a través de la "sección espectroscopía" del Departamento que estaba a cargo de Gros. Presenté mi tesis a comienzos de 1977 y para entonces estaba absolutamente seguro de seguir una carrera científica, aunque no tenía claro si sería en el país o en el exterior. Fue así que empecé a planear mi siguiente paso que era un posdoctorado en el exterior.

Durante mi doctorado conocí a Ana, estudiante de química en un curso de Química Orgánica en el que yo estaba a cargo de una de las clases de problemas. Nos casamos en 1975, 1 mes antes de la crisis económica conocida como "el Rodrigazo" y en agosto de 1976 nació nuestra primera hija. La situación

política luego del golpe cívico-militar de 1976 nos instó a irnos del país cuando terminara mi doctorado pero quedaba un problema por resolver, ya que yo había pedido una prórroga del servicio militar obligatorio mientras hacía el doctorado. Así a mediados de 1976 comencé los trámites para finalizar esa prórroga y cumplir con el servicio militar al año siguiente. Afortunadamente, un cambio en las condiciones de la prórroga me permitió pedir la excepción como padre de familia, que fue aceptada a principios de 1977.

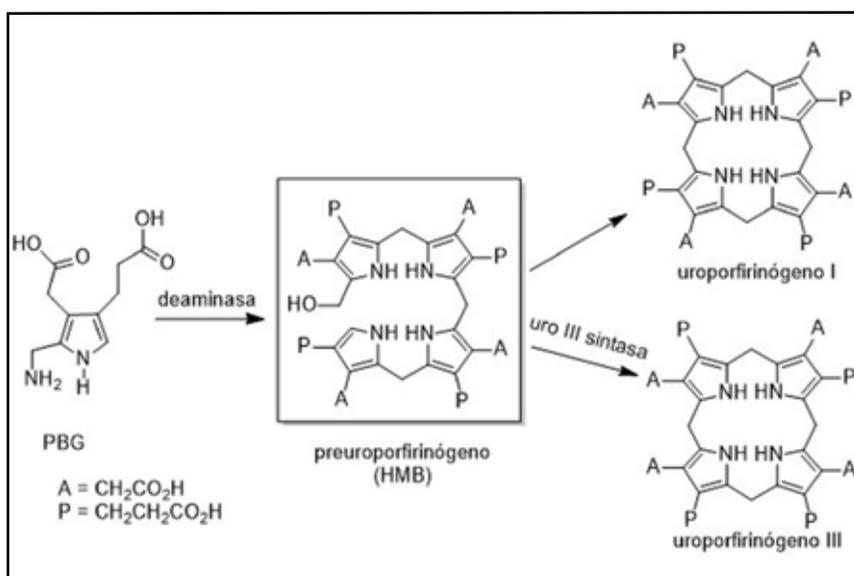
### ■ 3. EL POSDOCTORADO EN TEXAS

Gros me propuso que fuera a trabajar en biosíntesis con Edward Leete en la Universidad de Minesota, para aprender el uso de marcación con isótopos estables ( $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ ) que podían seguirse por espectrometría de RMN y de masa. En el país no había ningún espectrómetro de RMN con capacidad multinuclear en funcionamiento (sólo teníamos un Varian A-60 de onda continua), pero el Departamento de Química Orgánica contaba con un espectrómetro Varian XL-100 donado por el gobierno alemán, que se esperaba poder poner en funcionamiento cuando la situación económica mejorara. Edward Leete aceptó recibirme en su laboratorio y me presenté a una beca externa de CONICET; sin embargo, a poco de enterarme que había ganado la beca, Leete nos avisó que le habían denegado el subsidio que había solicitado para ese proyecto y que no tendría fondos para llevarlo adelante. Gracias a la intermediación de Benjamín Frydman, conseguí en tiempo record que Ian Scott me aceptara en su laboratorio con el mismo tema de beca "Uso de isótopos estables en estudios metabólicos en organismos vivos". CONICET aceptó el cambio de lugar y las modificaciones al plan de

trabajo (que por cierto era bastante genérico) y en octubre de 1977 partimos con mi esposa y nuestra hija de 1 año hacia Texas. Ian Scott recién se mudaba de la Universidad de Yale a la de Texas A&M y estaba comenzando a rearmar su grupo de investigación formado casi en su totalidad por "posdocs", más 2 profesores asistentes (sólo tenía un estudiante de doctorado para cubrir las obligaciones docentes que le exigía la Universidad). En mi primer día allí, me reuní con Scott y me comentó su idea de seguir el curso de un proceso biosintético en tiempo real por RMN utilizando precursores marcados con  $^{13}\text{C}$ . El tema encajaba perfectamente con el de mi beca y me propuso que yo desarrollara ese proyecto con el nuevo espectrómetro que la Universidad le había comprado (un Varian FT-80 de 80 MHz con capacidad multinuclear). Así me relacioné con enzimólogos y bioquímicos, por un lado, y con un experto espectroscopista, por otro, de quienes aprendí bioquímica y RMN. Junto con Peter Jordan (bioquímico de Southampton) y Paul Fagerness (con un doctorado en RMN dirigido por David Grant) logramos por primera

vez seguir una reacción enzimática por RMN y detectar un intermediario en la biosíntesis del uroporfirinógeno III a partir de porfobilinógeno. Ese descubrimiento cambió las ideas que se tenían hasta ese momento sobre los pasos iniciales de la biosíntesis de porfirinas y vitamina B12, al demostrar que las enzimas actuantes en el proceso lo hacían en forma secuencial y no como un complejo sintetasa/cosintetasa (Burton y col. 1979; Jordan y col. 1979) (Figura 1).

En paralelo a esto realicé las primeras observaciones por RMN  $^{13}\text{C}$  de procesos metabólicos en células vivas trabajando en principio con bacterias, y luego con eritrocitos y hepatocitos (Scott y col. 1979; Burton y col. 1980). Nuestros primeros resultados fueron objeto de mucha publicidad con notas y comentarios en *Chemical & Engineering News* (Fox 1979) y en el *New York Times*, entre otros. En una ocasión Peter Jordan había "capturado" una cucaracha en su casa y decidimos probar si podíamos usarla en nuestros experimentos. La alimentamos varios días con glucosa marcada con  $^{13}\text{C}$  y luego la pusimos en un tubo para



**Figura 1.** Formación de los uroporfirinógenos a partir de PBG. En el recuadro se muestra la estructura del intermediario que detectamos por RMN- $^{13}\text{C}$ , al que llamamos preuroporfirinógeno.

RMN con algo de agua deuterada en el fondo (teníamos tubos de 10 mm de diámetro pero no fue sencillo "convencer" a la cucaracha que entrara dejando la cabeza hacia arriba, fuera del líquido). A pesar de lo precario del sistema, pudimos detectar algunos metabolitos de la glucosa y si bien nunca publicamos nada de esto, Scott se entusiasmó con el experimento y nos hizo preparar una serie de diapositivas con los espectros y fotos de la cucaracha para su próxima conferencia. Durante los poco más de 2 años que viví en Texas tuve, además, la oportunidad de realizar 2 estadias cortas en el laboratorio de David Grant en Utah y acceder a uno de los pocos espectrómetros de RMN de "alto campo" disponibles en esa época, un equipo Varian "experimental" de 300 MHz. Junto a Paul Fagerness, que había hecho allí su doctorado, viajábamos con las enzimas y las bacterias en hielo (entonces los controles de seguridad en los aeropuertos eran mínimos) y corríamos los experimentos que requerían un campo más alto que el del equipo de 80 MHz que teníamos en Texas.

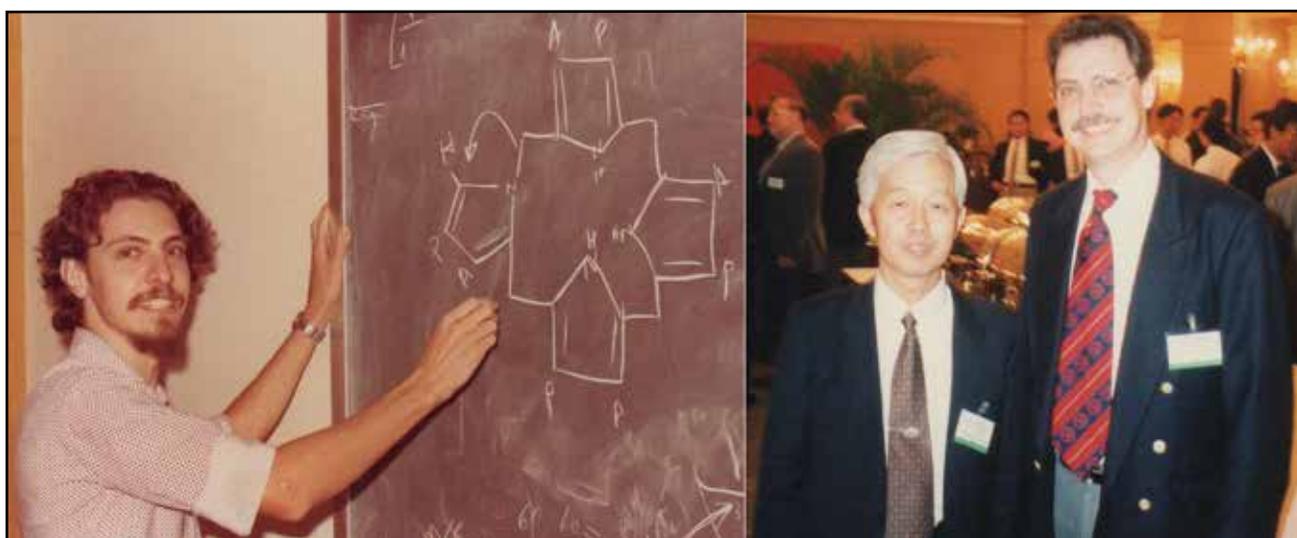
A finales de 1979, Ian Scott recibió una oferta para mudarse a Edinburgo y yo decliné su invitación a acompañarlo ya que con mi esposa habíamos decidido retornar a la Argentina. Cuando nos reunimos el día antes de mi partida, Ian Scott me dijo refiriéndose a lo que habíamos logrado en esos 2 años, *cuando le propuse este tema nunca pensé que iba a funcionar*. La estadia en Estados Unidos y en particular en el grupo "internacional" de Ian Scott, fue una de las experiencias más gratificantes que haya vivido tanto en lo personal como en lo que hizo a mi formación.

En años posteriores realicé 2 estadias cortas con Scott, una en 1983 a su regreso a Texas, donde junto a Jeremy Evans participé en los primeros experimentos de caracterización de un complejo enzima-sustrato por RMN (Evans y col. 1986), y otra en 1989 de la que hablaré más adelante.

#### ■ 4. EL REGRESO A ARGENTINA

A mi regreso a Buenos Aires en diciembre de 1979 obtuve un cargo

de Profesor Adjunto con dedicación exclusiva en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), y poco tiempo después ingresé a la Carrera del Investigador de CONICET como Investigador Asistente. Cabe aquí mencionar que mis antecedentes (12 publicaciones, posdoctorado en el exterior) daban para ingresar como Investigador Adjunto pero según me informaron, se consideró que con 27 años era "demasiado joven" para ingresar en esa categoría; como excepción me concedieron que si mi desempeño era bueno podía solicitar la promoción al cabo de 1 año. Así se hizo y al año siguiente logré la promoción a la categoría "Adjunto con director" (hoy inexistente). Mis años de posdoctorado me dieron una excelente formación en RMN, no solo a nivel de su aplicación en química orgánica y en bioquímica sino en los aspectos instrumentales y teóricos, que me han apasionado desde entonces. Una primera consecuencia fue hacerme cargo del espectrómetro de RMN Varian XL-100-15 del Depto. de Química Orgánica que, luego de varios años de abandono,



**Figura 2.** A la izquierda, yo en el laboratorio de Ian Scott junto a una de las estructuras propuestas para el preuroporfirinógeno (fotografía tomada por Peter Jordan). A la derecha, con Toshifumi Hirata, mi compañero de laboratorio en Texas, cuando nos reencontramos 19 años después, en el 21st IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products en Beijing, China (octubre 1998).

había sido modernizado y convertido en espectrómetro pulsado pero aún con innumerables problemas. Lograr que este equipo funcionara adecuadamente llevó muchas horas de trabajo en los primeros años y me introdujo al mundo de la electrónica y de la computación. No obstante, para fines de 1980 el XL-100 estaba en funcionamiento y poco después con algunas modificaciones y mejoras adicionales ya se podían medir espectros RMN de  $^{13}\text{C}$  por primera vez en el Departamento y en el país.

A propuesta de Eduardo Gros (mi director), inicié un proyecto en catabolismo de alcaloides indólicos en cebada; Alberto Ghini se incorporó como becario para trabajar en este tema, desarrollando su tesis doctoral bajo mi dirección. En esas etapas iniciales, también colaboré con Gros en estudios de biosíntesis de bufadienólidos en plantas de *Scilla maritima*, supervisando el trabajo de tesis de Lydia Galagovsky. A los pocos meses de mi regreso, le propuse a Gros desarrollar estudios de biosíntesis sobre otro tipo de lactonas esteroideas con las que él había trabajado recientemente, los withanólidos. Adriana Veleiro se había acercado a nuestro laboratorio con interés en hacer una tesis doctoral y le entusiasmó trabajar en ese tema, que comenzó en 1981 gracias a una beca de CONICET. Los proyectos en biosíntesis y metabolismo de productos naturales de esta primera etapa, dieron lugar a las tesis doctorales de Alberto Ghini (1980-1987), Adriana Veleiro (1981-1985) y Edith Monteagudo (1985-1989). Entre los resultados principales de ese período figuran la elucidación completa del proceso catabólico del alcaloide gramina en plantas de cebada (Ghini y col. 1990), la elucidación del proceso de biosíntesis de la cadena lateral de los withanólidos (Veleiro y col. 1985a) y el descubrimiento de un metabolismo sumamente activo

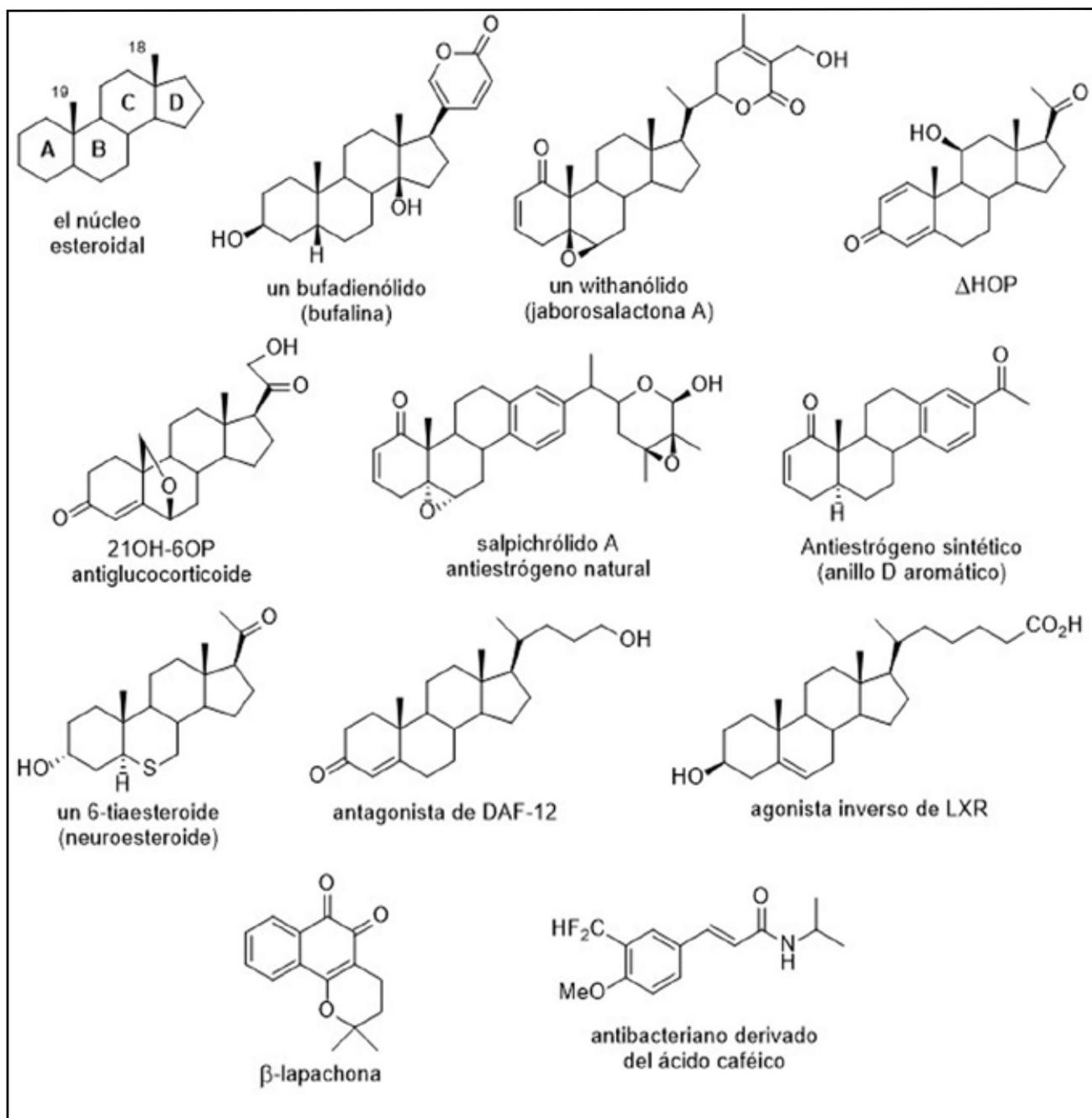
de formación y degradación de los withanólidos (Veleiro y col. 1985b) que nos llevó más adelante a estudiar los withanólidos de una planta en distintas épocas del año con implicancias en cuanto a su función.

Era claro, sin embargo, que para desarrollar mi carrera científica debía encarar un proyecto totalmente independiente y la primera oportunidad se dio a pocos días de mi retorno a Argentina a partir de una charla con Carlos Lantos, profesor del Departamento de Química Biológica de nuestra Facultad con un amplio conocimiento de bioquímica de esteroides y en busca de un químico que pudiera sintetizar algunos esteroides para ensayos de actividad. Mi experiencia interdisciplinaria durante el posdoctorado había resultado muy enriquecedora y me atrajo la posibilidad de hacer algo de ese tipo en Argentina. Carlos Lantos estaba especialmente interesado en la  $\Delta^1$ -11 $\beta$ -hidroxiprogesterona (luego bautizada  $\Delta\text{HOP}$ ) que, pensaba, podía tener actividad de glucocorticoide. Se sabía que algunos análogos de glucocorticoides naturales con un doble enlace adicional en el anillo A como la prednisolona, tenían mayor actividad y existía la idea no comprobada que ese incremento podía relacionarse con la mayor curvatura del núcleo esteroideal que se había observado por cristalografía de rayos X en esos análogos. La idea era introducir ese doble enlace en un esteroide de estructura similar a los glucocorticoides naturales pero que no fuera activo (por ejemplo la 11 $\beta$ -hidroxiprogesterona) y ver si adquiriría propiedades de glucocorticoide. Los primeros resultados de actividad biológica fueron bastante sorprendentes ya que  $\Delta\text{HOP}$  no se comportaba como otros análogos sintéticos conocidos de glucocorticoides, sino que manifestaba alta actividad a altas dosis sin el efecto típico de saturación de las hormo-

nas naturales (Castillo y col. 1983). Con Carlos Lantos decidimos que valía la pena profundizar este estudio sintetizando otros análogos con el doble enlace adicional y eso dio lugar al trabajo de tesis doctoral de Mario Gonzalez (1981-1985). Mario fue el primero de varios tesis de grupo que hicieron un doctorado "multidisciplinario", trabajando en síntesis orgánica en mi laboratorio y en los estudios de la actividad en el laboratorio de Carlos Lantos. Los resultados de ese trabajo donde se sintetizaron análogos que presentaban disociación de los efectos genómicos y no-genómicos de los glucocorticoides, también apoyaban la idea de la correlación entre la curvatura del núcleo esteroideal y la actividad glucocorticoide y parecía razonable encarar un estudio sistemático de estas modificaciones estructurales. En particular nos planteamos como interrogante si había una relación entre la conformación global del núcleo esteroideal y la actividad y especificidad de dos grupos de hormonas esteroideas estructuralmente muy similares, los glucocorticoides y los mineralocorticoides. En los años que siguieron estos proyectos derivaron en mis líneas principales de investigación y la consolidación de un grupo de trabajo multidisciplinario.

## ■ 5. LA INCURSIÓN EN LA QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES

Durante la tesis de Adriana Veleiro habíamos trabajado en separación de withanólidos por HPLC (no usual en esa época) y aislado un par de nuevos withanólidos de la planta *Acnistus breviflorus*, la misma en la que hacíamos las experiencias de biosíntesis. En 1985 cuando comenzaba su tesis doctoral Edith Monteagudo, Juan Carlos Oberti de la Universidad de Córdoba me facilitó un extracto de *Jaborosa bergii* en el



**Figura 3.** Un resumen de las estructuras con las que me he visto involucrado desde mi regreso al país. Arriba a la izquierda el núcleo de los esteroides indicando los anillos A a D.

que había detectado withanólidos. Aprovechando la experiencia adquirida con estas estructuras y los conocimientos de RMN, comencé entonces, en paralelo con los estudios de biosíntesis, a trabajar en la separación y elucidación estructural de estos compuestos que resultaron ser la primera familia de  $14\beta,17\beta$ -dihidroxi-withanólidos (Monteagudo y col. 1988). Este resultado nos

llevó a estudiar los withanólidos de otras plantas del género *Jaborosa* y eventualmente de un gran número de Solanaceas sudamericanas. A esa altura acordamos con Gros que si este tema prosperaba yo lo desarrollaría en forma independiente. La fascinante diversidad estructural que encontramos en estos compuestos (que hasta ese momento habían mostrado una variación estructural muy

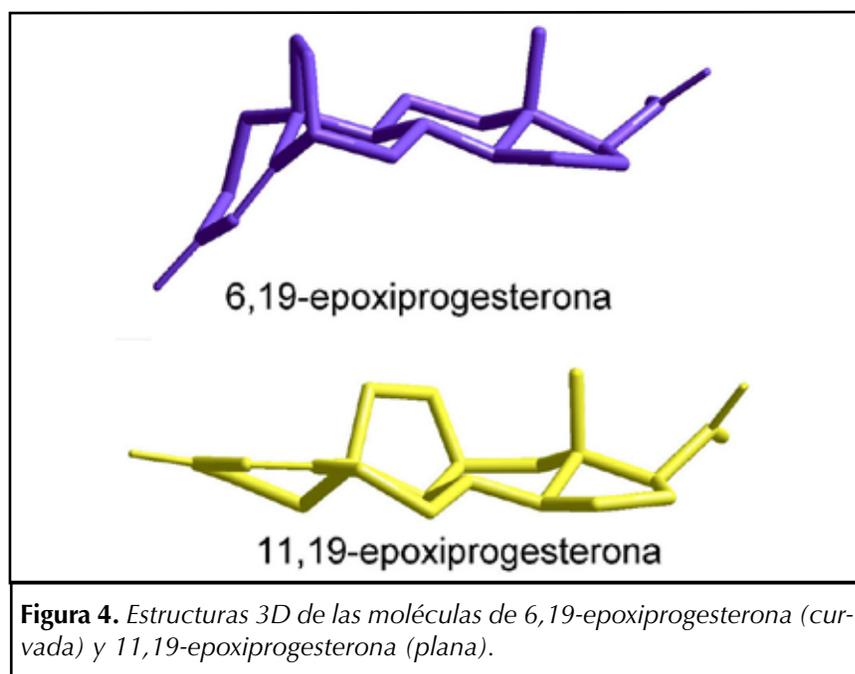
limitada) y las interesantes propiedades biológicas derivaron en una fructífera colaboración con el grupo de Juan Carlos Oberti quien además del aporte químico agregaba sus conocimientos de botánica y taxonomía. A lo largo de 20 años aislamos y elucidamos las estructuras de 97 nuevos withanólidos, principalmente de plantas de los géneros *Jaborosa* y *Salpichroa*, incluyendo varias fa-

milias de estructuras totalmente novedosas (Veleiro y col 2005a; Mísico y col 2011). En 1991 se reincorporó al grupo Adriana Veleiro luego de un posdoctorado en Francia y con ella elucidamos las estructuras de un grupo particularmente interesante de withanólidos aislados de la planta *Salpichroa organifolia*, llamada "uvita de campo", en los que el anillo D del núcleo de esteroide era un anillo aromático (Veleiro y col. 1992); los withanólidos de esa planta luego continuaron siendo estudiados por María Cristina Tettamanzi como parte de su tesis doctoral. Sólo se habían aislado unos pocos withanólidos con un anillo aromático de la planta *Nicandra physalodes*, conocida por su actividad insecticida, y eso nos llevó a hacer pruebas de este tipo de actividad en colaboración con Eduardo Zerba (CIPEIN) y Graciela Mareggiani de la Facultad de Agronomía (UBA). Así, encontramos una potente actividad insecticida contra *Musca doméstica* (mosca común), *Tribolium castaneum* (gorgojo de la harina), *Ceratitis capitata* (mosca de la fruta) y *Anticarsia gemmatalis* (oruga de las leguminosas) estas últimas, plagas de especial interés por el daño que causan en los frutales y la soja (Mareggiani y col. 2000; Bado y col. 2004). También encontramos una variación estacional en los withanólidos presentes en la planta, con un aumento de los que presentaban mayor actividad insecticida en el período de verano, cuando los insectos están más activos, lo que sugería una posible función de defensa para estos compuestos. A partir del año 2000 este tema comenzó a ser desplazado por nuestra línea principal que requería toda mi atención y ya desde mediados de esa década no tuve más estudiantes trabajando en el tema. La colaboración con Juan Carlos Oberti ya no sigue, pero perdura la amistad.

## ■ 6. DE SINTETIZAR ESTEROIDES A ESTUDIAR LOS RECEPTORES NUCLEARES

A principios de la década del '80 era poco lo que se sabía de la estructura de los receptores de hormonas esteroideas y existía una visión bastante simplista del mecanismo de acción. Un problema recurrente en el diseño de análogos de estas hormonas para uso terapéutico es la inespecificidad debida a la existencia de afinidad por varios receptores, que se asociaba a la similitud estructural entre estos últimos. En ese contexto y a partir de los resultados de la tesis de Mario Gonzalez, con Carlos Lantos decidimos evaluar cuánto contribuía a la selectividad por los receptores de glucocorticoides y mineralocorticoides la curvatura del núcleo esteroidal, sintetizando análogos de hormonas esteroideas que presentaran cambios en la forma global, pero con mínima variación en los grupos funcionales. La primera idea fue sintetizar un análogo de progesterona que fuera totalmente plano. Si se observaba actividad mineralocorticoide solo con los grupos funcionales de la progesterona (que no posee actividad mineralocorti-

coide significativa) tendríamos una indicación de que la forma global de la molécula era determinante para la actividad y que otros grupos funcionales "típicos" como por ejemplo hidroxilos en ciertas posiciones, presentes en los mineralocorticoides, tendrían una participación secundaria. Nuestra molécula blanco fue la 11,19-epoxiprogesteroína cuya síntesis fue desarrollada como parte de la tesis doctoral de Adriana Brachet-Cota (1985-1989). Encarar esta síntesis nos puso en contacto con las reacciones radicalarias y fotoquímicas, imprescindibles para lograr la funcionalización del metilo angular del esteroide. Uno de los intermediarios en la síntesis de 11,19-epoxiprogesteroína, era un 6,19-epoxipregnano, y a partir de él decidimos sintetizar también la 6,19-epoxiprogesteroína (Figura 4). Por esa época comenzaban a estar disponibles los primeros paquetes de modelado molecular para "no especialistas" que podían correrse en computadoras tipo PC. Las predicciones corroboraban que la 11,19-epoxiprogesteroína debía ser plana mientras que la 6,19-epoxiprogesteroína debía ser una molécula con una fuerte curvatura en la



**Figura 4.** Estructuras 3D de las moléculas de 6,19-epoxiprogesteroína (curvada) y 11,19-epoxiprogesteroína (plana).

fusión de anillos A/B, algo que casi una década después confirmamos por cristalografía de rayos X. Este par de compuestos con funcionalidades casi idénticas y con mínimas características desde el punto de vista de grupos "relevantes para la actividad mineralocorticoide" nos darían una primera respuesta a nuestra pregunta.

La síntesis de ambos compuestos llevó varios años, en los que debimos aprender a usar reacciones radicalarias y a obtener estos análogos fuertemente tensionados. Finalmente lo logramos (Brachet-Cota y Burton 1990) y los resultados fueron gratamente sorprendentes: la 11,19-epoxiprogesterona era tan activa como el mineralocorticoide natural aldosterona, mientras que la 6,19-epoxiprogesterona era prácticamente inactiva (Burton y col. 1995). Con la experiencia que íbamos adquiriendo en reacciones de funcionalización remota tipo hipiodio, decidí incursionar también en la síntesis de análogos que además estuvieran funcionalizados en el otro metilo angular de los esteroides (C-18). Esto amplió nuestra experiencia en el uso de reacciones radicalarias y nos introdujo al uso de reactivos de iodo hipervalente (diacetoxiidobenceno/iodo, etc.) como alternativa a los métodos basados en metales pesados (óxido de mercurio, tetraacetato de plomo), para efectuar funcionalizaciones remotas (Benedetti-Doctorovich y col. 1996). Resultado de estos trabajos fue la tesis doctoral de Violeta Benedetti (1987-1991), una de cuyas derivaciones fue la obtención de 17,18-ciclopregnanos como subproductos, que unos años después nos resultarían muy útiles.

Este período fue particularmente complejo a nivel país, tanto en lo político como en la economía, culminando en los estallidos hiperinfla-

cionarios de 1989-1990 y el adelantamiento de la asunción de Carlos Menem como presidente luego de las elecciones de 1989. En 1988 Ian Scott había visitado la Argentina invitado al *V Simposio Nacional de Química Orgánica (SINAQO)* y me ofreció una posición permanente en el *Center for Biological NMR* que él dirigía en la *Texas A&M University*. Como prueba, acordamos que iría 3 meses a comienzos de 1989 pero que luego debía volver unos meses ya que ese año presidía la Sociedad Argentina de Investigación en Química Orgánica y me había comprometido a organizar el *VI SINAQO* al año siguiente. Así fue que, en enero de 1989, partimos una vez más hacia Texas con mi esposa y nuestras dos hijas y regresamos 3 meses después cuando comenzaba la debacle económica. A pesar de los inconvenientes pude organizar el Simposio y la investigación seguía dando resultados interesantes, por otra parte empezaban a surgir dudas sobre la conveniencia de abandonar el país. Cuando se acercaba el fin de año y ya debíamos encarar el traslado a Estados Unidos, decidimos con mi esposa e hijas quedarnos en Argentina en forma definitiva. Hubo en esta decisión, además de razones familiares y afectivas, el sentimiento que abandonar el esfuerzo de casi 10 años era darme por vencido y no estaba dispuesto a eso. Una larga charla con José Barluenga (invitado al *VI SINAQO*), también influyó en esta decisión que al día de hoy celebro haber tomado.

Superada esta etapa tumultuosa, en 1991 se daba la ya mencionada reincorporación al grupo de Adriana Veleiro y también regresaba Alberto Ghini, luego de un posdoctorado en Gif-sur-Yvette donde se había perfeccionado en síntesis orgánica. Por esa época también se acercó al grupo un estudiante de Física con cierto interés por la química, Eduardo

Sproviero, con quien empezamos a profundizar en el modelado molecular, ahora ya usando métodos cuánticos cada vez más sofisticados y dinámica molecular, y cuya tesis doctoral (1996-2003) codirigí con Rubén Contreras (Departamento de Física, FCEN-UBA). Del lado biológico-bioquímico, se incorporó Mario Galigniana cuya tesis doctoral (1992-1996) codirigí con Carlos Lantos. Se empezaba a vislumbrar aquí un grupo multidisciplinario que abarcaba la química computacional, la síntesis orgánica y la bioquímica y que poco más adelante incorporaría la biología molecular. También a finales de 1991 se instaló el espectrómetro de RMN de 200 MHz en el Departamento (que reemplazó al ya obsoleto XL-100) y poco después se instaló el espectrómetro de masa de alta resolución con lo cual mejoraba sustancialmente nuestro acceso a equipamiento moderno de gran porte.

Los resultados obtenidos en acción mineralocorticoide nos llevaron a formular una nueva pregunta ¿si el análogo plano 11,19-epoxiprogesterona es un mineralocorticoide, el análogo curvo (6,19-epoxiprogesterona) será un glucocorticoide? La respuesta llegó rápidamente y fue negativa, la 6,19-epoxiprogesterona era inactiva como gluco- y como mineralocorticoide. Sin embargo, pensé que valdría la pena hacer un intento más y ver qué ocurría si introducíamos un hidróxilo en el carbono 21 de esta molécula, ya que esa funcionalidad está presente en la gran mayoría de los glucocorticoides. La síntesis de 21-hidroxi-6,19-epoxiprogesterona se completó en 1995 (Veleiro y col. 1995) y los resultados de actividad llegaron poco después, 21-hidroxi-6,19-epoxiprogesterona no era un glucocorticoide sino un antiglucocorticoide y lo más interesante era que esa actividad era muy selectiva, ya que el compuesto

carecía de acción mineralocorticoide, estrogénica y progestágena (Vicent y col. 1997). Este hallazgo cambió radicalmente el enfoque futuro que hasta aquí no había contemplado posibles aplicaciones directas de nuestros compuestos. No existían a la fecha antigluocorticoides puros, el único antigluocorticoide que se usaba clínicamente, la mifepristona, había sido desarrollado por el laboratorio Roussel-Uclaf a principios de la década del '80 y era además un potente abortivo. Otros antigluocorticoides que se desarrollaron después tomaron como líder a la mifepristona pero en ningún caso se pudo eliminar totalmente la acción antiprogéstágena. Nos encontramos entonces con el primer antigluocorticoide puro en nuestras manos y esto coincidió con la visita de Jesús Fernández Tresguerres, un profesor español amigo de Carlos Lantos. Él nos recomendó contactar a varios laboratorios farmacéuticos previo a la publicación de estos resultados y uno de ellos, *Serono International* con sede en Ginebra (Suiza), se interesó en el compuesto y adquirió los derechos de patentamiento en 1997

(Burton y Lantos 2001). En los años que siguieron (1998-2003), Serono financió un proyecto en mi laboratorio y el de Carlos Lantos, para el desarrollo de nuevos análogos y el estudio de la actividad biológica de 21-hidroxi-6,19-epoxiprogesterona (bautizada de aquí en más "21OH-6OP" por esa aversión de los biólogos y bioquímicos a llamar a los compuestos por sus nombres químicos). Cabe destacar que el flujo de dinero que llegaba a través del convenio con Serono fue crucial para el avance de los demás proyectos del grupo, especialmente durante y después de la crisis económica del 2001.

Desarrollar este proyecto requirió adaptar el laboratorio y la organización del grupo de modo de poder producir varios gramos de nuestro antigluocorticoide (Burton y col. 2006a) para ensayos *in vitro* e *in vivo* y a su vez encarar la síntesis de derivados y análogos (Veleiro y col. 2005b; Burton y col. 2006b), sin que esto afectara las restantes tareas de investigación. La participación de Adriana Veleiro en esta parte del

proyecto, supervisando a numerosos pasantes, fue crucial para alcanzar el éxito. También este proyecto atrajo a Adalí Pecci (Departamento de Química Biológica, FCEN-UBA e IFIBYNE) que aportó su experiencia en biología molecular. En años posteriores y luego de la jubilación de Carlos Lantos, Adalí continuó con esta línea de investigación y mantiene desde entonces una estrecha colaboración y proyectos en común con nuestro grupo.

Cuando el proyecto con Serono llegaba a su fin, en parte por cambios en la orientación de ese laboratorio a partir de su asociación y finalmente adquisición por Merck, decidimos con Adalí Pecci continuar nosotros con el tema. La situación del país había cambiado y el apoyo a la investigación y a la ciencia en general que se dio durante el gobierno de Néstor Kirchner abría nuevas oportunidades. El CONICET se despertaba de su letargo y se multiplicaban las posibilidades de becas y el ingreso de investigadores. Con Lautaró Álvarez nos aventuramos a empezar a estudiar las interacciones

### UN BREVE RECORRIDO POR LAS QUINONAS

Luego de su posdoctorado en el exterior donde había trabajado con análogos de p-naftoquinonas, Violeta Benedetti regresó al grupo con la propuesta de sintetizar análogos de  $\beta$ -lapachona, una ortoquinona natural con actividad antitumoral que se encuentra en la madera del lapacho. Un posible blanco de la  $\beta$ -lapachona era la enzima NADPH quinona oxidoreductasa que está sobreexpresada en ciertos tumores, decidimos entonces sintetizar iminoquinonas derivadas de la  $\beta$ -lapachona que tendrían alteradas las características de ciclado redox de la ortoquinona. Pablo Di Chenna, estudiante próximo a recibirse se interesó en el tema y comenzó a trabajar con intenciones de hacer su tesis doctoral una vez graduado. Sin embargo, hacia el fin de la década del '90 las posibilidades de ingresar a la Carrera del Investigador eran casi inexistentes, ante esa situación Violeta decidió abandonar la investigación y volcarse a la actividad privada y Pablo hizo su doctorado en nuestra línea principal de esteroides. A poco de irse Violeta recibimos los resultados de actividad de las iminoquinonas que se habían sintetizado y enviado al *National Cancer Institute* para su evaluación. A diferencia de la  $\beta$ -lapachona que solo es activa *in vitro*, dos de nuestros derivados habían mostrado muy buena actividad *in vivo* (Di Chenna y col. 2001). Para esa época se incorporaba a nuestro grupo Rosana Misico, que había hecho su doctorado en Córdoba con Juan Carlos Oberti. Además de participar en alguno de los proyectos de esteroides, le propuse a Rosana que retomara el tema de los análogos de  $\beta$ -lapachona. De allí surgieron la tesis doctoral de Evelyn Bonifazi dirigida por Rosana, donde se sintetizaron nuevos análogos de o- y p-naftoquinonas con muy buena actividad antitumoral (Bonifazi y col. 2010) y el tema que Rosana desarrolla ahora en forma independiente en análogos de quinonas naturales con actividad biológica.

de nuestros compuestos con el receptor de glucocorticoides utilizando dinámica molecular y contamos para esto con la invaluable ayuda de Darío Estrín (INQUIMAE) (Álvarez y col. 2008a). La investigación con el receptor de glucocorticoides se cerró alrededor de 2010, por las razones que expondré más adelante, pero 21OH-6OP sigue siendo a la fecha un compuesto de interés por su selectividad y sus particulares actividades biológicas (Orqueda y col. 2014), que hemos revisado recientemente (Pecci y col. 2018). También ese compuesto nos ha ayudado a entender mejor el mecanismo de acción del receptor de glucocorticoides y refutar algunos dogmas (Presman y col. 2014).

## ■ 7. UNA INCURSIÓN CON NEUROESTEROIDES Y EL RECEPTOR GABA<sub>A</sub>

La incorporación de Alberto Ghini en 1991 con su experiencia en síntesis nos llevó a encarar proyectos orientados a la síntesis de nuevos esteroides. En su tesis doctoral Violeta Benedetti había obtenido como subproducto en una de sus síntesis una ciclopropilcetona en la cual el metilo 18 se unía al C-17 para dar un ciclopropano fusionado al anillo D de 5 miembros del núcleo esteroideal. Para esa época habíamos aislado los primeros withanólidos con anillo D aromático ya mencionados, que tienen el anillo D expandido por inclusión del C-18; se había propuesto que la biosíntesis de esos compuestos ocurría a través de un intermediario con un ciclopropano fusionado al anillo D similar a nuestra ciclopropilcetona. La facilidad con que se obtenía esa ciclopropilcetona llevó entonces a tratar de aprovecharla e intentar reordenarla por un método radicalario para obtener esteroides con el anillo D expandido por inclusión de C-18 (17(13→18)abeopregnanos) que

eventualmente podíamos convertir en análogos de los withanólidos (Ferrara y col. 1993). Esto dio origen al trabajo de tesis de Andrés Ferrara (1992-1996), con quien logramos este reordenamiento con una variedad de esteroides usando métodos tanto radicalarios como aniónicos (Ferrara y Burton 1996). Este tema fue continuado luego en la tesis de Pablo Di Chenna (1998-2002) donde extendimos la metodología al uso de hidruros de alquilmercurio como intermediarios en reacciones de expansión de diversas ciclopropilcetonas por vía radicalaria (Di Chenna y col. 2002).

En su tesis doctoral Adriana Brachet-Cota había encontrado una fragmentación poco usual que se producía al tratar un 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroxipregnano con el sistema HgO/I<sub>2</sub> y luz. En esas condiciones en vez de obtenerse el puente epóxido entre los carbonos 6 y 19, la reacción continuaba dando un producto de ruptura (un secoesteroide). Inmediatamente surgió la idea de utilizar ese compuesto como un precursor de 6-oxaesteroides, es decir, esteroides donde el C-6 del anillo se reemplaza por un átomo de oxígeno. Estos compuestos resultaban muy interesantes pues introducen un centro polar en el anillo B con una mínima alteración de la estructura global de la molécula. Había antecedentes de algunos heteroesteroides con actividad biológica interesante, pero en general los métodos de obtención eran complicados y esto era especialmente cierto para el caso de los 6-oxa y 6-tia esteroides. En su tesis doctoral (1994-1998) Daniel Nicoletti desarrolló la metodología para obtener el secoesteroide con buen rendimiento y lograr la ciclación estereoselectiva a 6-oxaesteroides A/B cis y trans (Nicoletti y col. 1995; Nicoletti y col. 1996). Esas reacciones fueron luego extendidas como parte de la tesis doctoral de Fernando Du-

rán (2002-2006), para obtener 6-tia y 6-aza esteroides (Durán y col. 2006; Martínez y col. 2013).

Hacia 1997 comencé a interesarme en un grupo de esteroides íntimamente relacionados a las hormonas esteroideas, los esteroides endógenos del SNC y periférico denominados neuroesteroides. Algunos de estos neuroesteroides se encuentran entre los ligandos más activos de uno de los receptores del neurotransmisor GABA, el GABA<sub>A</sub>, superando en ese sentido a barbituratos y benzodiazepinas. Los heteroesteroides y los esteroides con anillo D expandido que habían obtenido Daniel Nicoletti y Andrés Ferrara, podían convertirse muy fácilmente en análogos de los neuroesteroides naturales pregnanolona y allopregnanolona y decidí iniciar un proyecto de síntesis de estos compuestos. Para esa época tomamos contacto con un compañero del posdoctorado de Alberto Ghini, Robert Dodd del Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) en Gif-sur-Yvette. Robert estaba trabajando en la síntesis de compuestos activos sobre el receptor GABA<sub>A</sub> y tenía acceso a los ensayos biológicos por una colaboración con Werner Sieghart de Austria. Nos presentamos a un proyecto de cooperación internacional SCyT-ECOS donde combinábamos la química que desarrollaba Robert con la nuestra y aprovechábamos su colaboración con Werner Sieghart para los ensayos de actividad. Los primeros análogos surgieron de los 6-oxaesteroides que había sintetizado Daniel Nicoletti, pero resultaron menos activos que los neuroesteroides naturales sugiriendo que el incremento de polaridad en la zona del anillo B era desfavorable para la actividad (Nicoletti y col. 2000). Eso nos llevó a sintetizar los análogos con un átomo de azufre en reemplazo del oxígeno (6-tiaesteroides) que, como mencioné antes, fueron

parte de la tesis doctoral de Fernando Durán. Por otra parte, Robert Dodd terminó su colaboración con Werner Sieghart y nuestro proyecto conjunto derivó a la aplicación de una reacción de aziridinación desarrollada por Robert en nuestros esteroides. De allí surgieron varias publicaciones y una serie de esteroides interesantes incluyendo un grupo de esteroides con puentes sulfamidato entre el C-2 y el metilo 19 (Durán y col. 2005). Nos quedaba pendiente, sin embargo, evaluar la actividad de esos compuestos y para ello iniciamos una colaboración con Héctor Coirini de IBYME que trabajaba en ese tema. En los años que siguieron encontramos que algunos de los esteroides con puentes sulfamidato y los tiaesteroides, todos sintetizados por Fernando Durán, tenían actividad comparable o superior a los neuroesteroides naturales (Durán y col. 2006; Durán y col. 2009); a poco de publicar los primeros resultados, se contactó conmigo Alexander Kasal (IOCB, República Checa) que trabajaba en neuroesteroides desde hacía varios años, ofreciendo que trabajá-

ramos en colaboración. Aproveché un viaje a Atenas donde había sido invitado a dar una conferencia en el *12th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer* y a mi regreso pasé por Praga y me reuní con Kasal. Decidimos presentarnos a un llamado a proyectos de cooperación entre CO-NICET y la Academia de Ciencias de la República Checa que obtuvimos y resultó en una muy fructífera colaboración, que se extendió desde 2007 hasta 2010 y dejó una amistad que perdura hasta hoy.

En paralelo y aprovechando la experiencia que teníamos en la síntesis de esteroides con puentes 6,19-epoxi y 11,19-epoxi, con Adriana Veleiro sintetizamos los análogos de neuroesteroides con esos puentes, que se obtenían fácilmente con una pequeña modificación de la síntesis de los correspondientes análogos de hormonas esteroidales. Los resultados de actividad fueron muy prometedores, la 6,19-epoxipregnenolona que tiene una conformación global curvada del núcleo

esteroidal, similar al neuroesteroide natural pregnanolona, resultaba más potente que éste y gracias a una colaboración con Ruth Rosenstein encontramos también una excelente actividad anticonvulsiva *in vivo* en estudios con ratones (Veleiro y col. 2003). Por otra parte la 11,19-epoxipregnanolona con conformación global plana similar a la allopregnanolona tenía una actividad comparable a este neuroesteroide. Sintetizamos además otros análogos con puentes oxigenados entre C-11 y C-1 como parte de la tesis doctoral de Lautaro Alvarez que también dieron buenos resultados de actividad (Álvarez y col. 2008b). La mayor parte de nuestros resultados están resumidos en un trabajo de revisión que escribimos con Adriana Veleiro para *Current Medicinal Chemistry* (Veleiro y Burton 2009).

Los últimos trabajos que hicimos en esta línea fueron parte de la tesis doctoral de Virginia Dansey (2007-2012). Ese trabajo lo dirigimos en conjunto con Pablo Di Chenna, quien se había reincorporado al gru-

### DE CÓMO UN ERROR LLEVÓ A UNA NUEVA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

A mediados de los '90, cuando estábamos tratando de sintetizar el análogo con puente azufre de la 11,19-epoxiprogesterona, obtuvimos un producto al que erróneamente le asignamos la estructura de un dímero basándonos en el resultado de un espectro de masa obtenido con ionización FAB. Ese producto quedó en el olvido un tiempo y cuando Valeria Edelsztejn se acercó para hacer un doctorado en el grupo, con Pablo Di Chenna pensamos que sería interesante reflotar ese tema y además sintetizar otros esteroides diméricos y oligoméricos que podrían participar en procesos de autoensamblaje supramolecular. Sin embargo, cuando Valeria estaba por comenzar su trabajo de tesis, obtuvimos un cristal del supuesto dímero y la difracción de rayos X nos mostró que en realidad el supuesto dímero no era tal sino un cicloesteroide con una unión directa entre el C-6 y el metilo angular C-19 (Di Chenna y col. 2007), el espectro de masa nos había engañado y el supuestamente dímero se formaba en el proceso de ionización del espectrómetro (algo no del todo inusual en la ionización FAB). El plan de tesis siguió adelante ya que habíamos planteado la síntesis de otros dímeros que se pudieron obtener utilizando reacciones de metátesis (Edelsztejn y col. 2009) pero además encontramos que uno de los intermediarios de síntesis, gelificaba en contacto con solventes orgánicos. Curiosamente ese compuesto no era un dímero sino un 6,19-epoxiesteroide sililado, una estructura que una vez más nos deparaba sorpresas. Este hallazgo reorientó el trabajo al diseño de organogelificantes (Edelsztejn y col. 2010), tema que desarrolla desde entonces Pablo Di Chenna de manera independiente y que él ha convertido en una exitosa línea de investigación ya alejada de los esteroides. Retrospectivamente uno puede concluir que de no haber asignado erróneamente la estructura de ese primer subproducto, no habríamos pensado en hacer dímeros y tal vez nunca habríamos llegado al gelificante.

po como Investigador Asistente de CONICET luego de un posdoctorado en Francia. En su tesis, Virginia extendió las reacciones de expansión de anillos del sistema esterooidal para obtener A-homoesteroides y a partir de ellos también obtuvo análogos de neuroesteroides (Dansey y col. 2010).

## ■ 8. UNA BREVE VUELTA A LAS HORMONAS ESTEROIDALES

Los últimos trabajos que hice con hormonas esteroideas involucraron a los receptores de progesterona y de estrógenos, en ambos casos relacionados a esteroides con anillos expandidos. Dos intermediarios en las síntesis de A-homoesteroides realizadas por Virginia Dansey resultaban análogos de la progesterona con el anillo A expandido a 7 miembros. Esos compuestos resultaron agonistas selectivos del receptor de progesterona libres de actividad estrogénica y mineralocorticoide. Este resultado era muy interesante, ya que la mayoría de los progestágenos (incluida la progesterona que es el ligando natural) tienen también actividad como mineralocorticoide. (Álvarez y col. 2011).

En el caso del receptor de estrógenos, Adriana Veleiro junto con Viviana Nicotra (colaboradora de Juan Carlos Oberti) había encontrado que algunos de los withanólidos con anillo D aromático aislados de *Salpichroa organifolia* tenían actividad antiestrogénica. Con Adriana decidimos retomar una vieja idea de aplicar las reacciones de expansión de ciclopropilcetonas que habían desarrollado Andrés Ferrara y Pablo Di Chenna en sus tesis doctorales, para sintetizar análogos de estos withanólidos con cadenas laterales más sencillas. En su trabajo de tesis (dirigido por Adriana Veleiro), Juan Manuel Sonogo (2008-2013) desarrolló las reacciones de expansión y aromati-

zación para obtener pregnanos modificados con un anillo D aromático y obtuvo un análogo con actividad antiestrogénica mejorada respecto del withanólido natural (Sonogo y col. 2014). Posteriormente con Lautaro Álvarez estudiamos en detalle el modo de unión de este análogo y del withanólido natural mediante dinámica molecular y encontramos que había una orientación invertida del esteroide en el bolsillo de unión del receptor, que desestabilizaba la conformación agonista del receptor (también aromático) del estradiol que es el ligando natural (Álvarez y col. 2015a).

## ■ 9. EL PROYECTO ACTUAL

Como ya mencioné, alrededor de 2010 comencé a abandonar los trabajos en hormonas esteroideas y en neuroesteroides. Llevábamos alrededor de 30 años trabajando con las hormonas y más de 10 con los neuroesteroides y ya hacía un par de años que quería ampliar el horizonte de investigación. En 2009 llegó a mis manos un trabajo sobre un grupo de derivados oxidados del colesterol llamados ácidos dafacrónicos que a través de un receptor nuclear (DAF-12) regulaban el ciclo de vida y la longevidad de algunos nematodos. Los ligandos de este receptor habían sido difíciles de identificar y la estructura del más activo, el ácido dafacrónico A, había sido confirmada por su síntesis, realizada por E. J. Corey (Giroux y Corey 2007). Controlar el ciclo de vida de nematodos parásitos a través de este receptor parecía un desafío interesante en el que se podía aplicar mucha de la experiencia acumulada. Comenté esto en una reunión del grupo donde también estaba Adalí Pecci y cuando nos volvimos a reunir me comentaron que este receptor DAF-12 parecía tener una relación evolutiva y una alta homología con el receptor X de hígado (LXR) de los mamíferos,

que también es activado por derivados oxidados de colesterol y funciona como un sensor de colesterol activando los genes que conducen a su eliminación. Por su relación directa con las enfermedades cardiovasculares este receptor nuclear también afectaba en forma directa a la expectativa de vida en humanos. Indagando un poco más encontramos que el receptor de ecdisteroides (que también son derivados oxidados de colesterol) que regula el desarrollo de los insectos, también tenía una alta homología con DAF-12, con lo cual estábamos ante un tipo de receptores nucleares activados por oxisteroles, altamente conservados a lo largo de la evolución. Como los ligandos de DAF-12 y LXR eran similares comenzamos a vislumbrar un proyecto donde desarrolláramos análogos de ligandos para ambos receptores a través de intermediarios sintéticos comunes; sin embargo, embarcarse en ese proyecto requería financiamiento y tiempo para poner en marcha los ensayos biológicos y las síntesis que habría que comenzar desde cero. Fue entonces cuando la ANPCYT abrió el llamado a los PICT Bicentenario que se orientaban a proyectos nuevos y de envergadura, con un financiamiento importante y una duración de 4 años. Decidimos con Adalí que esa era la oportunidad para presentar nuestro proyecto sobre receptores de oxisteroles e incorporamos a Darío Estrín para el apoyo computacional (Lautaro Álvarez todavía era becario) y a Olga Castro (en ese entonces, en la Fundación Instituto Leloir, ahora en el IQUIBICEN) que trabajaba con el nematodo *Caenorhabditis elegans* y podía hacer los ensayos de actividad biológica del DAF-12 in vivo. El proyecto fue aprobado y en 2011 comenzamos a trabajar. Fue necesario poner a punto las síntesis de los precursores, desarrollar modelos computacionales de los receptores DAF-12 y LXR, poner a punto los

ensayos de actividad *in vitro* usando genes reporteros (hubo que contactar a grupos del exterior para que nos cedieran los plásmidos) y los ensayos de actividad *in vivo* con *C. elegans*. Desde nuestro lado se incorporaron con becas posdoctorales primero Gisela Samaja (2011-2013) que con Adriana Veleiro pusieron a punto las primeras síntesis de análogos de ácidos dafacrónicos y de ácidos colestenoicos (ligandos del LXR), y más recientemente Cristian Rodríguez (desde 2015) que desarrolló las síntesis de análogos fluorados. En 2014 comenzó su tesis doctoral Celeste del Fueyo, que está sintetizando análogos con cadenas laterales rígidas con orientaciones específicas. Para cuando finalizó el PICT bicentenario a fines de 2015, con Lautaro Álvarez y Darío Estrín habíamos desarrollado y validado modelos computacionales del DAF-12 y de la isoforma  $\beta$  del LXR que nos permitían estudiar la interacción con los ligandos mediante dinámica molecular. El grupo de Adalí Pecci junto a Virginia Dansey que había ingresado como Investigador Asistente de CONICET tenía estable-

cidos ensayos de genes reporteros para el receptor DAF-12 y los receptores LXR  $\alpha$  y  $\beta$ , además de ensayos específicos de activación por el LXR de genes relacionados al transporte reverso de colesterol y a la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. Habíamos sintetizado 2 nuevos agonistas del receptor DAF-12 y un antagonista que resultaba particularmente interesante por su posible aplicación al control de nematodos parásitos (Dansey y col. 2015). También habíamos obtenido un agonista inverso del receptor LXR y establecido las bases de su mecanismo de acción (Álvarez y col. 2015b). Hoy la investigación continúa con nuevos desafíos y se mantiene la colaboración con los grupos de Adalí Pecci y Olga Castro. Nuestros objetivos son lograr ligandos del LXR que conserven la capacidad de inducir el transporte reverso de colesterol pero no la lipogénesis (o bien que sean antagonistas selectivos de esta última) por ejemplo, favoreciendo la interacción del receptor con determinantes coactivadores o corepresores o bien exhibiendo selectividad hacia una de las isoformas del receptor

(Martínez y col. 2018). El grupo de Olga Castro, por su parte, está extendiendo los estudios de actividad al receptor DAF-12 de nematodos parásitos de plantas de interés económico, que podría llevar a aplicaciones de nuestros antagonistas para el control de esos organismos.

## ■ 10. LA VINCULACIÓN CON LA INDUSTRIA

Poco antes de mi regreso al país, en 1978, por un convenio entre CONICET y la FCEN-UBA se había creado la Unidad de Microanálisis y Métodos Físicos Aplicados a Química Orgánica (UMYMFOR), que incorporaba el flamante equipo de cromatografía gaseosa-espectrometría de masa usado en los análisis antidoping del Campeonato Mundial de Fútbol de ese año. Gros era el coordinador de esta unidad de servicios que tomó a su cargo además, el resto del equipamiento del Departamento de Química Orgánica (RMN, infrarrojo, cromatógrafo gaseoso) y el laboratorio de microanálisis. El objetivo era prestar servicios a otros investigadores y a



**Figura 5.** El grupo de investigación a fines de 2010, cuando estábamos por comenzar el proyecto actual sobre receptores nucleares de oxisteroles.

la industria con equipamiento que era escaso o único en el país y, a la vez, generar recursos para mantener ese equipamiento. Mi participación inicial en UMYMFOR al regreso de mi estadía posdoctoral fue hacerme cargo del espectrómetro de RMN Varian XL-100 y poco a poco empecé a involucrarme en algunos trabajos para empresas que requerían de RMN. Unos años después incorporamos los primeros equipos de cromatografía líquida y también me hice cargo de su mantenimiento y de los servicios que se prestaban con ellos. Debo confesar que desde chico me gustaba la mecánica y la electrónica; siempre he tenido una cierta habilidad para reparar artefactos muy variados que devino en un particular gusto por interactuar con espectrómetros y otros equipos que solemos utilizar los químicos orgánicos.

En los primeros años UMYMFOR funcionó básicamente como una unidad de servicios, en los que estábamos involucrados Gros, Alicia Seldes y yo como investigadores, 3-4 técnicos que operaban los equi-

pos y algunos ocasionales pasantes que asistían en tareas de laboratorio. Sin embargo hacia fines de los '80 con la consolidación de los grupos de investigación que compartíamos con Alicia Seldes junto al grupo de Gros, UMYMFOR comenzó a tomar forma como un instituto de investigación. La prestación de servicios y el asesoramiento a la industria continuaban, a pesar que en esos tiempos la colaboración con la industria no era "bien vista" en el ámbito académico-científico; es así que todas estas actividades las hacíamos en "tiempo extra", no se reflejaban en nuestros informes, ni se tomaban en cuenta en los concursos de la Universidad. A pesar de ello Gros, Alicia y yo estábamos convencidos de la importancia de la colaboración entre academia e industria y, además, los recursos que se generaban nos permitían mantener el equipamiento en condiciones para los proyectos de investigación, en una época en que los fondos escaseaban. El equipamiento de UMYMFOR fue incrementándose poco a poco y renovándose, incorporando equipos de cromatografía líquida y el es-

pectrómetro de RMN de 200 MHz. Los nuevos espectrómetros de masa que llegaron a principios de los '90, fueron asignados al flamante Laboratorio Nacional de Instrumentación y Servicios de espectrometría de masa (LANAIS-EMAR) que también dirigía Gros con Alicia Seldes, pero en la práctica fueron administrados y mantenidos por UMYMFOR. A comienzos de 2001 fui designado Director interino de UMYMFOR, propuesto por los investigadores del instituto; Gros ya jubilado, falleció poco después y Alicia Seldes luego de una larga enfermedad también falleció a comienzos de 2003. La responsabilidad que habíamos compartido durante muchos años para llevar adelante el instituto quedaba en mis manos con una nueva crisis económica (fin del 2001) de por medio. Para facilitar el mantenimiento del equipamiento, a poco de asumir la dirección del instituto solicité al CONICET que se incorporara el LANAIS de espectrometría de masa a UMYMFOR y en 2003 logré que se incorporara también el LANAIS de RMN (ubicado en el Departamento de Física de nuestra Facultad),



**Figura 6.** Todo el equipo de UMYMFOR a fines de 1991. Eduardo Gros es el primero sobre la izquierdas; en la segunda fila (desde abajo) Alicia Seldes. Yo estoy en la fila de atrás de pie (segundo desde la derecha).

que tenía el único espectrómetro de RMN de alto campo del país (un 500 MHz) y cuyo director, Valdemar Kowalewski, se había jubilado hacía ya tiempo. A partir de 2003, junto con Marta Maier en la vicedirección y con el apoyo de los demás investigadores de UMYMFOR encaramos una reorganización del instituto con la idea de fortalecer la estructura de investigación, incrementar la vinculación con la industria y a la vez modernizar el equipamiento que ya estaba tornándose obsoleto. Aprovechando los programas de modernización de equipamiento y la disponibilidad de dinero adicional generado por los servicios y convenios con la industria, renovamos la totalidad del equipamiento e incorporamos nuevas prestaciones. Desde 2009 contamos además con un sistema de gestión de la calidad certificado bajo la norma IRAM-ISO 9001.2008, para todo lo relacionado con transferencia y vinculación con la industria. En investigación, triplicamos la planta de investigadores y se abrieron nuevas líneas de investigación con la incorporación de becarios y doctorandos. También incorporamos nuevo personal de apoyo para la operación y mantenimiento de los equipos. Mientras

escribo estas líneas, se está embarcando nuestra última adquisición, un nuevo espectrómetro de RMN de 500 MHz de última generación que reemplazará al actual en la segunda mitad de 2018. Desde UMYMFOR mantengo una relación fluida con la industria (principalmente farmoquímica y agroquímica) brindando asesoramiento, servicios tecnológicos y también realizando desarrollos específicos que han resultado en patentes internacionales. La experiencia de gestión en UMYMFOR y ese contacto casi diario con la industria, me han dado muchas satisfacciones. En parte me permite además seguir en contacto estrecho con los espectrómetros de RMN, por los que sigo teniendo un afecto especial. Sin embargo, extraño el “trabajo de mesa” en el laboratorio, que tuve que ir dejando a medida que las tareas administrativas y las obligaciones y compromisos se multiplicaban.

### ■ 11. UNA MIRADA HACIA ATRÁS... Y HACIA ADELANTE

Este año se cumplirán 50 años desde la primera vez que entré al edificio de la Facultad de Ciencias Exactas, cuando aún cursaba el último año de la escuela secundaria.

Escribir esta reseña me ha hecho repasar el camino recorrido. Ocupé todos los cargos de la escala docente desde ayudante de 2da hasta el de Profesor Titular Plenario que ejerzo desde 2001. Ingresé al CONICET en 1980 como Investigador Asistente y recorrí todos los estamentos hasta Investigador Superior en 2004. En 2005 fui honrado con mi designación como Académico de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba. En tareas de gestión, además de ejercer la dirección de UMYMFOR desde 2001, fui director del Departamento de Química Orgánica de la FCEN-UBA en 2 períodos consecutivos y miembro por el Claustro de Profesores del Consejo Directivo de la Facultad desde 2000 hasta marzo de 2018. He participado en numerosas comisiones y jurados, pero destaco los 3 años que integré la Junta de Calificación y Promoción de CONICET entre 2013 y 2015, el último año en la tarea de coordinador. Fue una experiencia muy enriquecedora, en la que tomé contacto con todas las disciplinas que hacen a la ciencia y la tecnología en nuestro país y con sus investigadores.

Mirando hacia atrás lo hecho en investigación, debo reconocer que

### EN BUSCA DE NUEVOS ANTIBACTERIANOS Y LEJOS DE LOS ESTEROIDES

Mario Martínez comenzó a trabajar en el grupo de investigación como estudiante y al graduarse me manifestó su interés en hacer el doctorado con nosotros pero no en un tema que involucrara esteroides. A partir de allí una serie de hechos se encadenaron para combinar el interés de un laboratorio farmacéutico por encarar un desarrollo novedoso, con un proyecto que empezaba Fernando Durán relacionado a derivados de ácido caféico con actividad biológica y mis ensayos de utilizar el grupo difluorometilo en esteroides como un reemplazo isostérico lipofílico del hidroxilo. El resultado fue la propuesta de desarrollar antibacterianos derivados del ácido caféico donde se reemplazarían hidroxilos fenólicos por grupos difluorometilo. Gracias al financiamiento de Laboratorios Richmond, que además realizó los primeros ensayos de actividad biológica, el proyecto avanzó exitosamente y dio como resultado una serie de análogos fluorados de amidas del ácido caféico con buena actividad y muy alta selectividad hacia bacterias del género *Mycobacterium*, que fueron objeto de patentes internacionales (Burton y col. 2016). Como parte de su trabajo de tesis, Mario desarrolló además una serie de análogos fluorados del ácido caféico que tenían excelentes propiedades antioxidantes en medios no polares (Martínez y col. 2016). Al día de hoy, Fernando y yo seguimos trabajando en este tema con el apoyo de Laboratorios Richmond y del MINCYT.

en varias oportunidades tomé decisiones intuitivas o me encontré con resultados no esperados, que luego dieron lugar a hallazgos importantes o abrieron nuevas posibilidades en la investigación. Si bien puede atribuirse eso a casualidad o suerte, no puedo dejar de mencionar una frase de Louis Pasteur que más de una vez hemos compartido con Alberto Ghini y que estoy seguro le gustará encontrar aquí, si alguna vez lee esta reseña: *dans les champs de l'observation le hasard ne favorise que les esprits préparés* (en los campos de la observación el azar favorece sólo a los espíritus preparados, Pasteur 1854).

Compartí muchos de estos años con 3 personas excepcionales que me brindaron su amistad, Eduardo Gros, Carlos Lantos y Alicia Seldes. También he tenido la suerte de contar con excelentes colaboradores y con estudiantes inquietos y por sobre todo, con el apoyo y la comprensión de Ana, mi esposa. El futuro está abierto y trae nuevos desafíos, en un país cambiante como el nuestro, es difícil planificar a largo plazo, aunque sí es seguro que deberé adaptarme a la nueva etapa de la jubilación que llegará dentro de 2 años; el resto no ha sido escrito aún.

## ■ BIBLIOGRAFIA

- Alvarez L.D., Martí M., Veleiro A.S., Presman D.M., Estrín D., Pecci A., Burton G. (2008a) *Exploring the molecular basis of action of the passive antiglucocorticoid 21-hydroxy-6,19-epoxyprogesterone*, J. Med. Chem. **51**, 1352-1360.
- Alvarez L.D., Veleiro A.S., Baggio R.F., Garland M.T., Edelsztein V.C., Coirini H., Burton G. (2008b) *Synthesis and GABA<sub>A</sub> receptor activity of oxygen-bridged neurosteroid analogues*. Bioorg. Med. Chem. **16**, 3831-3838.
- Alvarez L.D., Dansey M.V., Martí M.A., Bertucci P.Y., Di Chenna P.H., Pecci A., Burton G. (2011) *Biological activity and ligand binding mode to the progesterone receptor of A-homo analogues of progesterone*. Bioorg. Med. Chem. **19**, 1683-1691.
- Alvarez L.D., Veleiro A.S., Burton G. (2015a) *Exploring the molecular basis of action of ring D aromatic steroidal antiestrogens*. Proteins: Struct. Func. Bioinf. **83**, 1297-1306.
- Álvarez L.D., Dansey M.V., Grinman D.Y., Navalesi D., Samaja G.A., del Fueyo M.C., Bastiaensen N., Houtman R., Estrin D.A., Veleiro A.S., Pecci A., Burton G. (2015b) *Destabilization of the torsioned conformation of a ligand side chain inverts the LXR $\beta$  activity*, Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids **1851**, 1577-1586.
- Bado S., Mareggiani G., Amiano N., Burton G., Veleiro A.S. (2004) *Lethal and Sublethal Effects of Withanolides from Salpichroa organifolia and analogues on Ceratitis capitata*. J. Agric. Food. Chem. **52**, 2875-2878.
- Benedetti-Doctorovich M.O.V., Ghini A.A., Burton G. (1996) *Synthesis of oxido-bridged analogs of 18-hydroxyprogesterone*. Steroids **61**, 345-348.
- Bonifazi E.L., Ríos-Luci C., León L.G., Burton G., Padrón J.M., Misico R.I. (2010) *Antiproliferative activity of synthetic naphthoquinones related to lapachol. First synthesis of 5-hydroxylapachol*. Bioorg. Med. Chem. **18**, 2621-2630.
- Brachet-Cota A.L., Burton G. (1990) *An improved preparation of 11,19-oxidopregn-4-ene-3,20-dione and 6,19-oxidopregn-4-ene-3,11,20-trione*. Z. Naturforsch. **45b**, 711-715.
- Burton G., Fagerness P.E., Hosozawa S., Jordan P.M., Scott A.I. (1979) *<sup>13</sup>C-NMR evidence for a new intermediate, preuroporphyrinogen, in the enzymatic transformation of porphobilinogen into uroporphyrinogens I and III*. J.C.S. Chem. Commun. 202-204.
- Burton G., Baxter R.L., Gunn J.M., Sidebottom P.J., Fagerness P.E., Lee J.Y., Shishido K., Scott A.I. (1980) *Direct non-invasive observation of metabolism in living cells by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Can. J. Chem. **58**, 1839-1846.
- Burton G., Galigniana M., de Lavallaz S., Brachet-Cota A. L., Sproviero E. M., Ghini A. A., Lantos C. P., Damasco M. C. (1995) *Sodium retaining activity of some natural and synthetic 21-deoxysteroids*. Mol. Pharmacol. **47**, 535-543.
- Burton G., Lantos C.P. (2001) *21-Hydroxy-6,19-oxidoprogesterone (21OH-6OP) and its use as a medicament for treating excess of glucocorticoids*. Patente US 6303591 B1; EP 1033990 B1.
- Burton G., Lantos C.P., Veleiro A.S. (2006a) *Method for the preparation of 21-hydroxy-6,19-oxidoprogesterone (21OH-6OP)*. Patente EP 1325022 B1; US 7071328 B2.
- Burton G., Lantos C.P., Veleiro A.S. (2006b) *Sulphur analogues of 21-hydroxy-6,19-oxidoprogesterone (21OH-6OP) analogues for treating excess of glucocorticoids*.

- ds. Patente US 7053228 B2; EP 1330468 B1.
- Burton G., Durán F.J., Martínez M.D., Zini E., Mora Muñoz V., Bertocello L. (2016) *Compounds having antibacterial activity process for their preparation and pharmaceutical compositions comprising them*. Patente US 9255071 B2; EP 2802558 B1.
- Castillo M.B., Gonzalez M.D., Burton G., Lantos C.P., Roldán A. (1983) *Dissociation of glucocorticoid effects of C-21 steroids at high concentrations in thymocytes*. *Experientia* **39**, 617-618.
- Dansey M.V., Di Chenna P.H., Veleiro A.S., Kristofiková Z., Choudounská H., Kasal A., Burton G. (2010) *Synthesis and GABA<sub>A</sub> receptor activity of A-homo analogues of neuroactive steroids*. *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 3063-3069.
- Dansey M.V., Alvarez L.D., Samaja G., Escudero D.S., Veleiro A.S., Pecci A., Castro O.A., Burton G. (2015) *Synthetic DAF-12 modulators with potential use in controlling nematodes life cycle*. *Biochem. J.* **465**, 175-184.
- Di Chenna P.H., Benedetti-Doctorovich M.O.V., Baggio R.F., Garland M.T., Burton G. (2001) *Preparation and cytotoxicity toward cancer cells of mono(arylimino) derivatives of  $\beta$ -lapachone*. *J. Med. Chem.* **44**, 2486-2489.
- Di Chenna P.H., Ferrara A., Ghini A.A., Burton G. (2002) *Cleavage of cyclopropylketones mediated by alkylmercury(II) hydrides*. *J. C. S. Perkin Trans. I*, 227-231.
- Di Chenna P.H., Veleiro A.S., Sonego J.M., Ceballos N.R., Garland M.T., Baggio R.F., Burton G. (2007) *Synthesis of 6,19-cyclopregnanes. Constrained analogues of steroid hormones*. *Org. Biomol. Chem.* **5**, 2453-2457.
- Durán F.J., Ghini A.A., Dauban P., Dodd R.H., Burton G. (2005) *Synthesis of 6,19-sulfamidate bridged pregnanes*. *J. Org. Chem.* **70**, 8613-8616.
- Durán F.J., Ghini A.A., Coirini H., Burton G. (2006) *Synthesis of 6-thia analogs of the natural neurosteroid allopregnanolone*. *Tetrahedron* **62**, 4762-4768.
- Durán F.J., Edelsztejn V.C., Ghini A.A., Rey M., Coirini H., Dauban P., Dodd R.H., Burton G. (2009) *Synthesis and GABA<sub>A</sub> receptor activity of 2,19-sulfamoyl analogues of allopregnanolone*. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 6526-6533.
- Edelsztejn V.C., Di Chenna P.H., Burton G. (2009) *Synthesis of C-C bonded dimeric steroids by olefin metathesis*. *Tetrahedron* **65**, 3615-3623.
- Edelsztejn V.C., Burton G., Di Chenna P.H. (2010) *Self-assembly of a silylated steroid organogelator and its use as template for the in situ sol-gel polymerization of tetraethyl orthosilicate*. *Tetrahedron* **66**, 2162-2167.
- Evans J.N.S., Burton G., Fagerness P.E., Mackenzie N.E., Scott A.I. (1986) *Biosynthesis of porphyrins and corrins II. Isolation, purification and NMR investigation of PBC-deaminase covalent complex*. *Biochemistry* **25**, 905-912.
- Ferrara A., Benedetti M. O. V., Ghini A. A., Burton G. (1993) *17(13 $\rightarrow$ 18)abeopregnanes. Synthesis of progesterone analogues*. *J. Chem. Res.* 276-277.
- Ferrara A., Burton G. (1996) *Ring expansion of fused cyclopropylketones. Synthesis of a 12(13 $\rightarrow$ 18)abeopregnane*. *Tetrahedron Lett.* **37**, 929-932.
- Fox J.L. (1979) *Whole-cell metabolism studied with NMR*. *Chem. Eng. News* **57**, 9, 27-28.
- Ghini A.A., Burton G., Gros E.G. (1990) *Catabolism of gramine in *Hordeum vulgare**. *Phytochemistry* **29**, 1781-1783.
- Giroux S., Corey E.J. (2007) *Stereocontrolled Synthesis of Dafachronic Acid A, the Ligand for the DAF-12 Nuclear Receptor of *Caenorhabditis elegans**. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 9866-9867.
- Jordan P.M., Burton G., Nordlov H., Schneider M., Pryde L.M., Scott A.I. (1979) *Pre-uroporphyrinogen: a substrate for uroporphyrinogen III cosynthetase.*, *J.C.S. Chem. Commun.* 204-205.
- Mareggiani G., Picollo M.I., Zerba E., Burton G., Tettamanzi M.C., Benedetti-Doctorovich M.O.V., Veleiro A.S. (2000) *Antifeedant activity of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Musca domestica**. *J. Nat. Prod.* **63**, 1113-1116.
- Martínez M.D., Edelsztejn V.C., Durán F.J., Di Chenna P.H., Burton G. (2013) *Synthesis of 6-azaprogestone and 19-hydroxy-6-azasteroids*. *Steroids* **78**, 34-37.
- Martínez M.D., Luna L., Tesio A.Y., Feresin G.E., Durán F.J., Burton G. (2016) *Antioxidant properties in a non-polar environment of difluoromethyl bioisosteres of methyl hydroxycinnamates*. *J. Pharm. Pharmacol.* **68**, 233-244.

- Martinez M.D., Ghini A.A., Dansey M.V., Veleiro A.S., Pecci A., Alvarez L.D., Burton G. (2018) *Synthesis and activity evaluation of a series of cholanamides as modulators of the liver X receptors*. *Bioorg. Med. Chem.* **26**, 1092-1102.
- Misico R.I., Nicotra V., Oberti J.C., Barboza G., Gil R.R., Burton G. (2011) *Withanolides and related steroids* en: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (Zechmeister)*, Vol. 94, Ed. Kinghorn D.A., Falk H., Kobayashi J.; Springer Verlag GmbH, Vienna - New York, pp. 127-229.
- Monteagudo E.S., Burton G., Gonzalez C.M., Oberti J.C., Gros E.G. (1988) *14b,17b-dihydroxywithanolides from Jaborosa bergii.*, *Phytochemistry* **27**, 3925-3928.
- Nicoletti D., Ghini A.A., Brachet-Cota A.L., Burton G. (1995) *A simple synthetic approach to 6-oxasteroids. Synthesis of 6-oxa-5 $\beta$ -pregnane-3,20-dione*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1089-1093.
- Nicoletti D., Ghini A. A., Burton G. (1996) *Oxidative cyclization of iodoketones. Synthesis of 6-oxa-5 $\alpha$ -pregnane-3,20-dione*. *J. Org. Chem.* **61**, 6673-6677.
- Nicoletti D., Ghini A.A., Furtmüller R., Sieghart W., Dodd R.H., Burton G. (2000) *Synthesis and GABA<sub>A</sub> receptor activity of 6-oxa-analogs of neurosteroids*. *Steroids* **65**, 349-356.
- Orqueda A.J., Dansey M.V., Español A., Veleiro A.S., Bal de Kier Joffe E., Sales M.E., Burton G., Pecci A. (2014) *The rigid steroid 21-hydroxy-6,19-epoxyprogesterone (21OH-6,19OP) is a dissociated glucocorticoid receptor modulator potentially useful as a novel* *coadjuvant in breast cancer chemotherapy*. *Biochem. Pharmacol.* **89**, 526-535.
- Pasteur L. (1854) Conferencia, Universidad de Lille.
- Pecci A., Alvarez L.D., Presman D.M., Burton G. (2018) *21-Hydroxy-6,19-epoxyprogesterone: A promising therapeutic agent and a molecular tool for deciphering glucocorticoid action*. *Mini-Rev. Med. Chem.* **18**, 428-438.
- Presman D.M., Ogara M.F., Stortz M., Alvarez L.D., Pooley J.R., R.L. Schiltz, Grøntved L., Johnson T.A., Mittelstadt P.R., Ashwell J.D., Ganesan S., Burton G., Levi V., Hager G.L., Pecci A. (2014) *Live cell imaging unveils multiple domain requirements for in vivo dimerization of the glucocorticoid receptor*. *PLoS Biol.* 12(3): e1001813.
- Scott A.I., Burton G., Fagerness P.E. (1979) *Direct observation of porphyrinogen biosynthesis in living cells by <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy*. *J.C.S. Chem. Commun.* 199-202.
- Sonego J.M., Rivero E.M., Gargiulo L., Lüthy I., Alvarez L.D., Veleiro A.S., Burton G. (2014) *Synthesis and biological evaluation of salpichrolide analogues as antiestrogenic agents*. *Eur. J. Med. Chem.* **82**, 233-241.
- Veleiro A.S., Burton G., Gros E.G. (1985a) *Biosynthesis of withanolides in Acnistus breviflorus*. *Phytochemistry* **24**, 2263-2265.
- Veleiro A.S., Burton G., Gros E.G. (1985b) *Biosynthesis of withanolides in Acnistus breviflorus: biogenetic relationships among the main withanolides*. *Phytochemistry* **24**, 2573-2575.
- Veleiro A. S., Oberti J. C., Burton G. (1992) *A ring D aromatic withanolide from Salpichroa organifolia* *Phytochemistry* **31**, 935-937.
- Veleiro A.S., Nevado M.V., Monteserín M.C., Burton G. (1995) *Synthesis of 21-hydroxy-11,19-oxidopregn-4-ene-3,20-dione and 21-hydroxy-6,19-oxidopregn-4-ene-3,20-dione* *Steroids* **60**, 268-271.
- Veleiro A.S., Rosenstein R.E., Jalliffa C.O., Grilli M.L., Speroni F., Burton G. (2003) *Synthesis and GABA<sub>A</sub> receptor activity of a 6,19-oxido analogue of pregnanolone*. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **13**, 343-346.
- Veleiro A.S., Oberti J.C., Burton G. (2005a) *Chemistry and bioactivity of withanolides from southamerican Solanaceae* en *Bioactive Natural Products (Part L)*, Ed. Atta-ur Rahman. *Serie Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 32, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 1019-1052.
- Veleiro A.S., Pecci A., Monteserín M.C., Baggio R.F., Garland M.T., Lantos C.P., Burton G. (2005b) *6,19-Sulfur-bridged progesterone analogues with antiimmunosuppressive activity*. *J. Med. Chem.*, **48**, 5675-5683.
- Veleiro A.S., Burton G. (2009) *Structure-Activity Relationships of Neuroactive Steroids Acting on the GABA<sub>A</sub> Receptor*. *Curr. Med. Chem.* **16**, 455-472.
- Vicent G.P., Monteserín M.C., Veleiro A.S., Burton G., Lantos C.P., Galigniana M. D. (1997) *21-Hydroxy-6,19-oxidoprogesterone. A novel synthetic steroid with specific antiglucocorticoid properties in the rat*. *Mol. Pharmacol.* **52**, 749-753.

¡¡Oferta!!  
Pipetas y  
Artículos  
Plásticos



**Thermo**Forma

**Thermo**Labsystems



**Nikon**



**Thermo**Sorvall



**Thermo**Sorvall



Oferta promocional Thermo exclusiva de pipetas y artículos plásticos y artículos laboratorio hasta el 30/06/2007

Para encontrar todas las soluciones  
en instrumental, no hace falta investigar.

 **microlat**  
instrumental científico

Carlos Pellegrini 755 - Piso 9 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Tel/Fax 4326 5205 - 4322 6341 - [www.microlat.com.ar](http://www.microlat.com.ar)



Thermo

TMC



BIODYNE

environ

HITACHI

TELEDYNE ISO



Molecular Devices