



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

"SINTESIS Y EVALUACION ANTIANDROGENICA
DE NUEVOS DERIVADOS DE LA
17-ALFA-ACETOXIPROGESTERONA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A:

ADELFO NATALIO REYES RAMIREZ

ASESOR. M. EN C. IGNACIO REGLA

MEXICO, D. F.

1985.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Este trabajo se realizó en el
Laboratorio de Química Orgáni-
ca del M. en C. José Ignacio
Regla Contreras en la E.N.E.P.
ZARAGOZA

CONTENIDO

1. Introducción.
2. Fundamentación del tema.
 - 2.1. Andrógenos.
 - 2.2. Antiandrógenos.
 - 2.3. Antecedentes para la utilización de derivados de la progesterona.
3. Planteamiento del problema.
4. Objetivos.
5. Hipótesis.
6. Materiales y métodos.
 - 6.1. Equipo.
 - 6.2. Reactivos.
 - 6.3. Métodos.
7. Desarrollo experimental.
 - 7.1. Síntesis.
 - 7.2. Bioensayo para la actividad antiandrogénica.
8. Recopilación y análisis de resultados.
 - 8.1. Síntesis química.
 - 8.2. Evaluación antiandrogénica.
9. Conclusiones.
10. Espectros.
11. Bibliografía.

1. INTRODUCCION

A medida en que la humanidad crece, los problemas de salud aumentan con ella y por consiguiente surge la necesidad de crear productos que ayuden al mantenimiento y prolongación de la vida; la Industria Farmacéutica trata de cubrir esta necesidad desarrollando nuevos y mejores productos útiles para estos fines, utilizando los recursos naturales y humanos disponibles. De la amplia variedad de productos químicos que han sido o son utilizados como medicamentos, se ha observado que los productos esteroidales poseen una amplia gama de actividad biológica, de estos compuestos algunos poseen actividad antiandrogénica.

Recientemente los productos esteroidales con actividad antiandrogénica han adquirido gran importancia en clínica en el tratamiento de enfermedades tales como hipersexualidad, desviación sexual y en casos de pubertad precoz. Estos compuestos son generalmente obtenidos, estructurados parcialmente por síntesis química, partiendo de productos naturales que contienen el núcleo esteroideal más apropiado.

Este trabajo trata de la síntesis de derivados de la 17α -acetoxiprogesterona (VIII), por medio de la introducción de grupos con diferente electronegatividad en el C-6 del derivado 17α -acetoxi-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (IX); utilizando para este fin la 17α -acetoxiprogesterona que se encuentra como materia prima disponible en la Industria Quí-

Centro Farmacéutico. El diseño de estas modificaciones está fundamentado en la teoría de Ringold⁴. Como complemento de este trabajo, se realizó la evaluación antiandrogénica preliminar de los nuevos derivados sintetizados en ratas macho no castradas de 50 días de edad.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

2.1. ANDROGENOS

Se define a los andrógenos como un grupo de hormonas esteroi-
dales, biologicamente activas, responsables del desarrollo
y mantenimiento de las características sexuales masculinas²,
estas son sintetizadas a nivel de testículos, ovarios y su-
prarrenales^{3,4}. Se conoce desde hace mucho tiempo la rela-
ción existente entre los testículos y las características
sexuales secundarias masculinas. En 1771 se llevó a cabo el
primer trasplante de testículos de un gallo a una gallina, -
observándose la aparición de los efectos masculinizantes de
la operación. Según Forbes (1947) este experimento fue hecho
por John Hunter quien no lo publicó, lo que permite a Ber-
thold en 1849 ser el primero en demostrar que el testículo
es una glándula de secreción interna, al describir el tras-
plante de los testículos de un gallo a otro, previamente cas-
trado, evitando la aparición de los efectos de castración en
este último³; sin embargo, el esclarecimiento de la química
de las hormonas sexuales masculinas sólo fue posible por el
desarrollo de métodos de ensayo para determinar la actividad
androgénica, utilizando el procedimiento de Koch el cuál -
aprovecha la respuesta de crecimiento de la cresta del capón
empleado en el aislamiento químico de sustancias androgé-
nicas activas de la orina humana masculina. No fue sino has-
ta 1927 en que Loewe preparó por vez primera extractos testí-
culares activos, usando vesículas seminales de mamífero para

el ensayo. Laqueur en 1935 aisló en forma cristalina el principio activo del extracto testicular, la testosterona (figura 1).

La testosterona, el andrógeno natural más importante, es el producto principal de secreción de las células de Leydig de los testículos. La función de las células de Leydig está controlada por la adenohipófisis por medio de la hormona gonadotrópica que se conoce como la hormona luteinizante (LH).

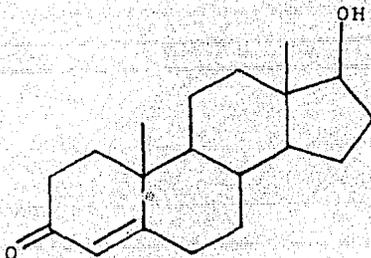


Figura-1. Testosterona (I)

La secreción mínima del testículo infantil inhibe la secreción de gonadotropina hasta que, a una edad variable, se modifica el umbral de los centros nerviosos a la acción inhibitoria de los andrógenos y se eleva la secreción gonadotrópica y como resultado de ello, la de andrógenos. Su acción se manifiesta por un conjunto de cambios muy notorios tanto en el funcionamiento como en la apariencia del individuo. El

testículo aumenta de tamaño, crece el pene, hay aumento marcado en peso corporal y talla, la estructura ósea se engrosa. Como parte de su acción estimulante del crecimiento, los andrógenos son altamente anabólicos, promoviendo la síntesis proteica². Además de las acciones metabólicas generales que poseen los andrógenos, actúan directamente en el control de la función del testículo y de la secreción de gonadotropinas.

2.2. ANTIANDROGENOS

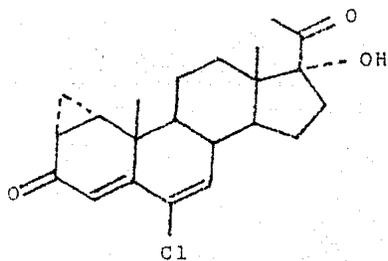
Los antiandrógenos son sustancias químicas que presentan antagonismo a la acción de un andrógeno endógeno o exógeno. O bien, según se considera actualmente, la acción antiandrogénica está basada en la competencia entre el andrógeno y el antiandrógeno sobre los sitios de acción en los órganos blanco. Esta definición excluye a los compuestos del tipo de los estrógenos, quienes bloquean la síntesis y liberación de los andrógenos, actuando sobre el eje hipotálamo-hipófisis-testículos, disminuyendo así la secreción de gonadotropinas y con ello la secreción de andrógenos por el testículo⁵.

Existe una excepción aparente en la supresión de la producción del sebo (como en el tratamiento del acné en mujeres).- La producción del sebo por las glándulas sebáceas está estimulada por andrógenos y la administración de estrógenos puede bajar la producción del sebo. Obviamente, parte de este efecto es por la supresión de la producción de la gonadotropina HL, pero no es todo. Se ha experimentado en ratas (ma-

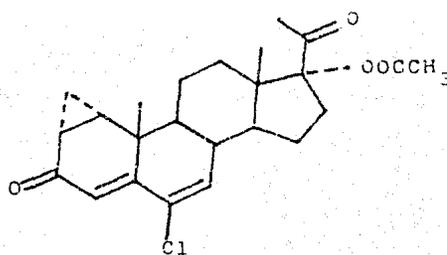
chos castrados y hembras sin glándulas suprarrenales para evitar la producción endógena de andrógenos) y se ha demostrado que existe antagonismo de los estrógenos. Sin embargo, los dos tipos de hormonas (estrógenos y andrógenos) actúan en diferentes sitios. El aumento en la producción del sebo iniciado por los andrógenos es el resultado de un aumento en la mitosis de las células de las glándulas sebáceas, mientras los estrógenos disminuyen la producción del sebo por inhibición de la síntesis intracelular de éste. Entonces, hay antagonismo al nivel del organismo pero no a nivel celular.

Los antiandrógenos son compuestos que recientemente están recibiendo atención por el uso potencial como anticonceptivos en el hombre y para otros propósitos médicos en procesos patológicos andrógeno-dependientes^{2,5}, como el cáncer de próstata, el acné en cuya patología se involucra a los andrógenos.

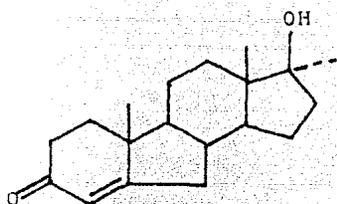
El mecanismo de acción de los antiandrógenos ha sido aclarado solamente para unos cuantos de estos compuestos los cuales han sido descritos en la literatura; entre estos se encuentran la ciproterona y acetato de ciproterona, y en menor extensión la 17 α -metil-B-nortestosterona y el compuesto no esteroidal, la flutamida (figura 2). De los cuatro compuestos, el mecanismo de acción principal es común: son inhibidores competitivos de los efectos que presentan los andrógenos



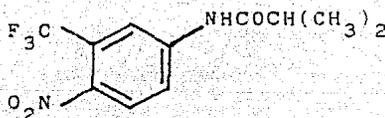
(II)



(III)



(IV)



(V)

Figura 2. Ciproterona (1,2 α -metilen-6-cloro-4,6-pregnadien-17 α -ol-3,20-diona) (II).

Acetato de ciproterona (III).

17-Metil-B-nortestosterona (17 α -metil-17-hidroxi-B-nor-4-androsten-3-ona) (IV).

Flutamida (α,α,α -trifluoro-2-metil-4'-nitro-m-propionotoluidina) (V).

en los órganos blanco. Mecanismos de acción adicionales, por ejemplo, inhibición de la biosíntesis de andrógenos, inhibición o estimulación de la secreción de gonadotropina, están asociados con algunos compuestos. De estos compuestos solamente el acetato de ciproterona está en el mercado en algunos países, recomendado para el tratamiento de hipersexualidad, desviación sexual y para pubertad precoz⁵.

En años recientes, el interés en la preparación de derivados del pregnano sustituidos en el C-6 ha aumentado, a causa de las propiedades antiandrogénicas exhibidas por estos compuestos. Desgraciadamente, estos fármacos presentan además actividad progestágena, antiestrógena e inhibición de la HL⁶. -- Muchos compuestos de esta serie han sido estudiados, algunos con buena actividad antiandrónica, pero siempre más baja que la actividad del acetato de ciproterona.

2.3. ANTECEDENTES PARA LA UTILIZACION DE DERIVADOS DE LA PROGESTERONA

La progesterona (figura 3) en sí, tiene propiedades antiandrogénicas y los antiandrónicos más potentes están relacionados estructuralmente con la progesterona y con frecuencia son también progestágenos potentes³.

Básicamente, la manera de sintetizar un esteroide antiandrónico es por la modificación estructural de sustratos tales como la testosterona y la progesterona, que por simple susti

ción de átomos o grupos de átomos en la posición y estereo-
química adecuada se han logrado en algunos casos obtener fár-
macos de interés. Con la modificación estructural de la molé-
cula de testosterona se espera producir un efecto de antago-
nismo a los andrógenos; mientras que el propósito de modifi-
car la molécula de progesterona es el lograr un aumento de
su actividad antiandrogénica y disminuir en grado máximo su
actividad progestacional.

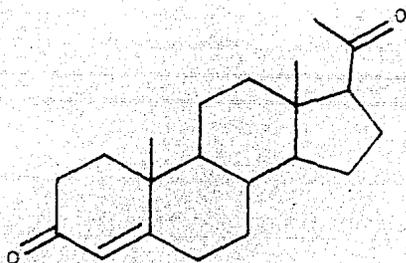


Figura 3. Progesterona (VI)

La modificación más efectiva hasta la fecha consiste en la -
introducción de un metileno en la posición alfa entre los -
C-1 y C-2 de la molécula de progesterona. Dicha modificación
está fundamentada en la teoría de Ringold¹; se provoca una -
respuesta androgénica clásica cuando interactúa la cara alfa
de una molécula androgénica con el receptor, lo cual puede -
atribuirse al efecto del grupo metileno en la posición 1-al-
fa, 2-alfa en la molécula de progesterona por bloqueo en la

interacción esteroide-receptor. El mejor representante de esta familia de compuestos es el conocido acetato de ciproterona. Sin embargo, en estudios preliminares realizados recientemente se ha encontrado que el compuesto 17α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (figura 4), posee actividad antiandrogénica y cuya actividad progestacional no es observable⁷, lo cual representa gran interés por la posible eliminación de la actividad progestacional -- que habían venido presentando estos compuestos. Consecuentemente, y en vista de los resultados satisfactorios que presenta el compuesto 17α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII) se intenta sintetizar análogos -- de ésta, variando el grupo electronegativo en el C-6 en la molécula de este esteroide.

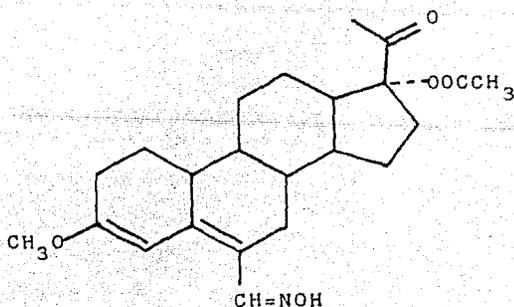


Figura 4. 17α -Acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII)

Para preparar los análogos requeridos se plantea la secuencia de reacciones representada en la figura 5. Se partirá de la 17α -acetoxiprogesterona (VIII), debido a que esta es una materia prima disponible de la Industria Nacional. La 17α -acetoxiprogesterona posee dos grupos funcionales cetona situados en el C-3 y en el C-20, de estos grupos la cetona que se encuentra en el C-3 es α, β -insaturada, la cual posee una importante contribución tautomérica de su forma enólica, que hace de este compuesto un sustrato activo para que al reaccionar con ortoformiato de metilo y ácido p-yoluensulfónico forme el 3-metil éter de enol de la 17α -acetoxiprogesterona, en una reacción de transesterificación^{8,9}.

Hoy en día la reacción de Vilsmeier es el método más común de formilación de anillos aromáticos y que es aplicable a heterocíclicos, olefinas y otros. Así el éter de enol de la 17α -acetoxiprogesterona (IX), posee un dieno conjugado en su estructura ($\Delta^{3,5}$) por lo que puede ser formilado en el C-6 si es tratado con oxiclóruo de fósforo y formamidas disustituidas^{9,10}.

Los grupos carbonilos de aldehídos y cetonas son polares; de las reacciones una de las más importantes sobre este grupo es la adición al doble enlace carbono-oxígeno de un nucleófilo. Los aldehídos son en general más reactivos que las cetonas frente a los nucleófilos, este hecho experimental puede atribuirse a una combinación de factores electrónicos y

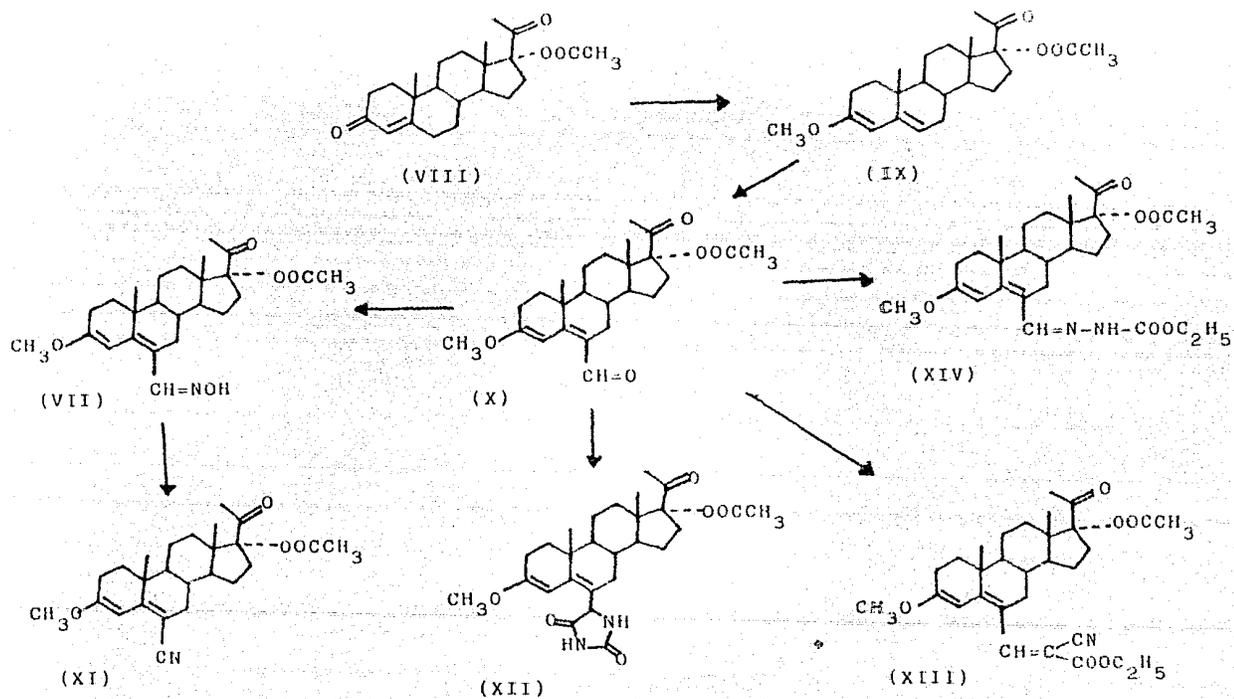


Figura 5. Ruta de síntesis propuesta para la obtención de intermediarios y productos finales de la serie de compuestos planteados.

estéricos. Cuando las aminas primarias se adicionan al grupo carbonilo forman productos denominados iminas (o bases de -- Schiff). Y cuando el aldehído o cetona no posee hidrogenos - alfa pueden reaccionar con compuestos que poseen hidrógenos activos en una reacción conocida con el nombre de condensación de Knoevenagel.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La búsqueda de compuestos inhibidores de la acción de los -- andrógenos fue indudablemente motivada por consideraciones - clínicas. El tratamiento del cáncer de próstata fue uno de - los primeros móviles. Hoy el uso de potentes antagonistas se aplica tanto a la virilización en mujeres como en la puber- tad precoz en jóvenes así como en el acné y la satiriasis. - Estos compuestos pueden también ser útiles como anticoncepti- vos en el hombre.

El prototipo de los antiandrógenos esteroidales es el aceta- to de ciproterona. Aun cuando este fármaco es probablemente el antiandrógeno más potente que existe tiene al mismo tiem- po una importante acción progestágena, efecto colateral que limita su aplicación en el tratamiento de pacientes del sexo masculino. Este problema plantea en la actualidad la necesi- dad de desarrollar nuevos fármacos con mayor separación de - estas actividades.

La demostración de que la progesterona posee acción antian- drogénica ha llevado a la búsqueda de productos derivados de esta, en que enfatizen la actividad antiandrogénica de la mo- lécula y se disminuya en grado máximo su actividad progesta- cional. Modificaciones ligeras hacen posible obtener en algu- nos casos fármacos de interés, que se logran tan sólo por la sustitución de algunos átomos o grupos de átomos en compues- tos naturales.

Por lo expuesto anteriormente se puede observar la importancia que tiene el seguir desarrollando compuestos derivados de la progesterona, por medio de síntesis cortas y de alto rendimiento; en este trabajo se plantea la modificación de la estructura de la 17α -acetoxiprogesterona (VIII) (figura 5), introduciendo grupos electronegativos en el C-6 y reemplazando la Δ^4 3-cetona por su $\Delta^{3,5}$ 3-éter metílico de enol.

4. OBJETIVOS

1. El objetivo de este trabajo es la síntesis de nuevos derivados de la 17α -acetoxiprogesterona, con la obtención de 17α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona, como intermediario, para la obtención de los nuevos derivados con posible acción antiandrogénica (figura 5).
2. Evaluación farmacológica preliminar de los nuevos derivados obtenidos.

5. HIPOTESIS

1. Los grupos sustituyentes en el C-6 de la 17α -acetoxi-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona planteados en este trabajo - son electronegativos; por lo que estos compuestos deberán presentar efectos farmacológicos similares a los que presenta la 17α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII).

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. EQUIPO

Espectrofotómetro I.R.	PYE UNICAM	SP-1050
Espectrofotómetro R.M.N.	VARIAN	EML-360
Espectrofotómetro U.V.		
Evaporador rotatorio	WERTHEIM	4915-102
Bomba de succión	FELI WELCH	1050
Parrilla de calentamiento y agitación mecánica	THERMOLYNE	1 000
Balanza granataria	SARTORIUS	2354
Balanza analítica	SARTORIUS	2463
Estufa	MAPSA	HDP-3342
Lámpara de luz U.V.	UVS 11	015553
Recirculador y compresor	MGW/LAMBDA	
Horno de vacío	OVENS	
Aparato para determinar punto de fusión	FISHER	
Refrigerador	IEM	12 "
Reostato	STACO	2 PF 1010
Mantillas para calentamiento	MCH-50,100,250	
Baño de vapor	PRECISION SCIEN- TIFIC GROUP	66731
Material de uso común en el laboratorio		

6.2. REACTIVOS

Acetato de etilo	SIGMA
Acido sulfúrico	MERCK
Acido clorhídrico	MERCK
Acido p-toluensulfónico	MERCK
Anhídrido acético	BAKER
17-Alfa-acetoxiprogesterona	ESTEROMEX
Carbonato de amonio	BAKER
Carbonato de potasio	BAKER
Cianoacetato de etilo	BAKER
Cianuro de potasio	BAKER
Cloroformo	MERCK
Clorhidrato de hidroxilamina	BAKER
1,4-Dioxano	BAKER
Etanol	SIGMA
Heptano	SIGMA
Hidrazinocarboxilato de etilo	ESTEROMEX
Metanol	SIGMA
Ortoformiato de metilo	BAKER
Piridina	MERCK
Sílica gel 60 para cromatografía en columna	MERCK
Sílica gel GF ₂₅₄ para cromatografía en capa fina	MERCK

6.3. METODOS

Para la síntesis de los intermediarios, hasta la obtención -
del compuesto 17 α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-

pregnadien-20-ona, se procedió de acuerdo con las técnicas -
descritas en la literatura para tales compuestos^{9,11,12}.

Para la síntesis de los demás compuestos, se ensayaron las -
reacciones bajo condiciones similares a los descritos para -
la síntesis de compuestos análogos. Siguiendo el curso de la
reacción por cromatografía en capa fina, usando como adsor--
bente Gel de sílice GF 254 tipo 60 de Merck; como revelado--
res: solución de ácido sulfúrico al 5 %, vapores de yodo y -
luz ultravioleta.

Las separaciones y purificaciones de los compuestos se reali-
zaron en cromatografía en columna o por recristalización.

Los análisis efectuados en cada una de las etapas del proyec-
to de síntesis fueron:

- a) Forma física.
- b) Punto de fusión.
- c) Cromatografía comparativa en capa fina.
- d) Espectro de U.V.
- e) Espectro de I.R.
- f) Espectro de R.M.N.¹H. (60 Mhz).
- g) Espectro de masas (sólo se determinaron los espectros de
masas para los compuestos XI, XII, XIII y XIV).

La evaluación antiandrogénica de los compuestos sintetizados
fueron realizadas en ratas macho de 50 días de edad, en el -
Bioterio de la ENEP-2, bajo la dirección del Dr. Roberto -
Dominguez C., investigador de esta Escuela.

7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

7.1. SINTESIS

17 α -ACETOXI-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (IX). A una suspensión de 1.0 g (2.66 mmol) de 17 α -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona (17 α -acetoxiprogesterona)(VIII) en 12.0 ml de tolueno, se adicionaron 0.5 ml (4.53 mmol) de ortoformiato de metilo, 0.05 ml (1.25 mmol) de metanol y 10.0 mg (0.06 mmol) de ácido p-toluensulfónico. Se calentó la mezcla a ebullición bajo reflujo por 45 minutos. Se concentró a la mitad del volumen y se adicionó 0.1 ml de piridina a la mezcla en frío. La mezcla se lavó dos veces con agua. Las fases acuosas se mezclaron y se extrajeron una vez con tolueno, se mezclaron las fases orgánicas y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se filtró la solución y se concentró a sequedad hasta obtener un residuo cristalino. La masa cristalina se disolvió en 10.0 ml de metanol que contenía 0.5 % de piridina y se destiló el disolvente hasta la mitad de su volumen. Cuando se enfrió la mezcla, el producto cristalizó. Se filtraron y lavaron los cristales con metanol. Se obtuvieron así 850 mg del éter de enol crudo. La recrystalización de éste en acetato de etilo-éter isopropílico (1:1) con 0.1 % de piridina -- produjo 800 mg (78 %) del producto puro (IX). pf: 168-169°C. UV (CH₃OH): λ max 245 nm (ϵ = 21 300; log ϵ = 4.33). IR (KBr): 1735, 1715 y 1655 cm⁻¹. RMN¹H (60 Mhz, CDCl₃) δ : 0.61 (s, 3H, CH₃, C-18), 0.92 (s, 3H, CH₃, C-19), 2.01 (s, 3H, COCH₃), 2.11 (s,

3H, OOCCH₃), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 5.10 (s, 1H, =CH, C-4) y 5.15 ppm (d, J=6 Hz, 1H, =CH, C-6).

17 α -ACETOXI-6-FORMIL-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (X). A 0.6 ml (7.5 mmol) de dimetilformamida en 2.0 ml de cloruro de metileno a -10 °C se agregaron 0.5 ml (5.5 mmol) de oxidloruro de fósforo, recién destilado, a una velocidad suficiente para mantener la temperatura abajo de 0 °C. Se añadió 1.0 g (2.59 mmol) de 17 α -acetoxi-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (IX) disuelto en 2.5 ml de cloruro de metileno, a una velocidad suficiente para mantener la temperatura abajo de 0 °C. Se agitó por dos horas a la misma temperatura y por una hora a temperatura ambiente. Se agregaron 2.2 g (26.8 mmol) de acetato de sodio anhidro disueltos en 7.0 ml de metanol acuoso al 90 %, se agitó por 30 minutos con agua y se extrajo tres veces con cloruro de metileno. Las fases orgánicas se mezclaron y lavaron tres veces con agua, una vez con con solución de carbonato de potasio al 10 % y de nuevo con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se evaporó la mezcla hasta sequedad y se disolvió el residuo cristalino en una mezcla de 2.0 ml de metanol y 0.01 ml de piridina. Cuando se evaporó la mayor parte del disolvente y se dejó enfriar, el producto cristalizó. Se obtuvieron 644 mg (60 %) del producto puro (X). pf: 217-218 °C. UV (CH₃OH): λ max 205 y 321 nm (ϵ = 16 200 y 15 300; log ϵ = 4.21 y 4.18). IR: 1600 cm⁻¹. RMN¹H (60 Mhz, CDCl₃) δ : 6.43 (s, 1H, =CH, C-4), 10.70 ppm (s, 1H, CHO).

17 α -ACETOXI-6-HIDROXIIMINOMETIL-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (VII). A una mezcla de 1.0 g (2.41 mmol) de 17 α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (X) y 0.2 g (2.67 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina, se adicionaron 0.4 g (4.80 mmol) de acetato de sodio disueltos en 50.0 ml de etanol acuoso al 80 %. Se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. A la solución así obtenida se le adicionó agua en exceso hasta que se observó la formación de un precipitado blanco, el cual se filtró y se secó bajo presión reducida. Se obtuvieron 0.88 g (85 %) del producto puro. pf: 151-152 °C. IR (KBr): 3600, 1890, 1865 y 1785 cm^{-1} . RMN¹H (60 Mhz, CDCl_3) δ : 0.65 (s, 3H, CH_3 , C-18), 1.00 (s, 3H, CH_3 , C-19), 2.02 (s, 3H, COCH_3), 2.07 (s, 3H, OOCCH_3), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 5.67 (s, 1H, =CH, C-4) y 8.39 ppm (s, 1H, HC=N).

17 α -ACETOXI-6-CIANO-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (XI). A 1.24 g (2.9 mmol) de 17 α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII), se añadió 10.0 ml de anhídrido acético recién destilado. La solución resultante se agitó a temperatura de reflujo durante 2.5 horas. La mezcla se vertió sobre 50.0 ml de agua destilada fría con agitación vigorosa, se formó un precipitado blanco el cual se filtró y lavó con agua. El sólido se secó y recrystalizó de acetato de etilo de donde se obtuvo 0.65 g (55 %) del producto puro. pf: 266-268 °C. UV (CH_3OH): λ max 205 y 282 nm ($\epsilon = 6170$ y 14200 ; $\log \epsilon = 3.79$ y 9.56). IR (KBr): 2240, 1745, 1650 cm^{-1} .

RMN¹H (60 Mhz, CDCl₃) δ: 0.64 (s, 3H, CH₃, C-18), 1.01 (s, 3H, CH₃, C-19), 2.03 (s, 3H, COCH₃), 2.08 (s, 3H, OOCCH₃), 3.67 (s, 3H, --OCH₃) y 5.69 ppm (s, 1H, -CH, C-4). EM (M⁺(%)): 411.4 (100.0) - de acuerdo para C₂₅H₃₃O₂N. Espectros No. 1 y 2.

17α -ACETOXI-6-(5'-IMIDAZOLIL-2,4-DIONA)-3-METOXI-3,5-PREG--NADIEN-20-ONA (XII). Una mezcla de 4.14 g (10.0 mmol) de --17α -acetoxi-6-formil-3,5-pregnadien-20-ona (X), 0.75 g (12.0 mmol) de cianuro de potasio y 2.8 g (29.0 mmol) de carbonato de amonio en 50.0 ml de metanol acuoso al 60 %. Se agitó la mezcla a una temperatura de 48 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico diluido al 10 %. Se concentró a la mitad del volumen y se añadió 50.0 ml de agua. La mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo, se mezclaron las fases orgánicas y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se filtró la solución y se concentró a sequedad, se obtuvo así 1.28 g del producto (XII) crudo. Se --purificó al pasar el producto por una columna de sílice, empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-heptano (1:1), se obtuvo así 0.302 g (6.24 %) del producto (XII). --pf: 197-200 °C. UV (CH₃OH): λ max 246 nm (ε =15 600; log ε = 4.22). IR (KBr): 3700, 1980, 1800, 1535 cm⁻¹. RMN¹H (60 Mhz, CDCl₃) δ: 0.68 (s, 3H, CH₃, C-18), 1.00 (s, 3H, CH₃, C-19), 2.08 (s, 3H, COCH₃), 2.15 (s, 3H, OOCCH₃), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 5.26 (s, 1H, =CH, C-4), 5.47 (d, J=7 Hz, 1H, -CH-, C-5'), 5.83 (d, J=7 Hz, 1H, HN-, N-1') y 9.01 ppm (s, 1H, HN-, N-3'). EM (M⁺(%)): 484.5 --

(10.3) de acuerdo para $C_{27}H_{36}O_6N_2$. Espectros No. 3 y 4.

17 α -ACETOXI-6-(β -(α -CIANOACRILATO DE ETILO))-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (XIII).

A una solución de 6.27 g (15.15 mmol) de 17 α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (X) en 50.0 ml de benceno que contiene 0.5 ml de piridina, se añadió 2.1 g (16.5 mmol) de cianoacetato de etilo. La solución resultante se calentó a ebullición bajo reflujo por 28 horas. La solución se concentró a sequedad, se obtuvo así 8.45 g del compuesto (XIII) crudo. El producto se pasó por una columna de sílice, empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-heptano (1:1), obteniéndose así 2.2 g (8.9 %) del producto (XIII) como cristales en forma de agujas de color amarillo. pf: 241-242 °C. UV (CH₃OH): λ max 245 y 400 nm (ϵ = 13 520 y 21 680; log ϵ = 4.13 y 4.33). IR (KBr): 2210, - 1730, 1715, 1620 cm⁻¹. RMN¹H (60 Mhz, CDCl₃) δ : 0.71 (s, 3H, CH₃, C-18), 1.12 (s, 3H, CH₃, C-19), 1.38 (t, J=7 Hz, 3H, CH₃, Et), 2.07 (s, 3H, COCH₃), 2.14 (s, 3H, OOCCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.35 (c, 2H, CH₂, Et), 5.92 (s, 1H, =CH, C-4) y 8.53 ppm (s, 1H, =CH, C- β). EM (M⁺ (%)): 509.5 (100.0) de acuerdo para C₃₀H₃₉O₆N. Espectros No. 5 y 6.

17 α -ACETOXI-6-IMINOMETIL-N-(N'-CARBAMATO DE ETILO)-3-METOXI-3,5-PREGNADIEN-20-ONA (XIV).

A una solución de 4.14 g (10.0 mmol) de 17 α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (X) en una mezcla de 25.0 ml de metanol y 15.0 ml de dioxano, se adicionaron 1.17 g (11.25 mmol) de hidrazinocarboxilato

de etilo y 0.2 ml de piridina. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, de donde un sólido blanco precipitó. La suspensión se concentró a la mitad de su volumen bajo presión reducida, se enfrió y se filtró con succipcn. El sólido se recrystalizó de metanol, obteniéndose 1.82 g (36.54 %) del compuesto (XIV) como cristales blancos. mp : 256-258 °C. UV (CH_3OH): λ max 314 y 226 nm ($\epsilon = 23\ 750$ y 11 500; $\log \epsilon = 4.37$ y 4.06). IR (KBr): 3290, 1750, 1735, 1700, 1635 cm^{-1} . RMN^1H (60 Mhz, CDCl_3) δ : 0.70 (s, 3H, CH_3 , C-18), 1.03 (s, 3H, CH_3 , C-19), 1.31 (t, 3H, CH_3 , Et), 2.07 (s, 3H, COCH_3), 2.11 (s, 3H, OOCCH_3), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 4.27 (c, 2H, CH_2 , Et), 5.74 -- (s, 1H, =CH, C-4), 8.20 (s, 1H, HC=N) y 8.30 ppm (s, 1H, HN-). EM - (M^+ (%)): 500.4 (67.0) de acuerdo para $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{N}_2$. Espectros No. 7 y 8.

7.2. BIOENSAYO PARA LA ACTIVIDAD ANTIANDROGENICA

Ratas macho de peso inicial entre 120 y 170 g de 50 días de edad. fueron separados en 7 grupos de 12 unidades cada uno, los cuales fueron inyectados con el compuesto de prueba (2 mg de compuesto en 0.2 ml de vehículo) en diferente lugar del tejido celular subcutáneo durante 14 días consecutivos. Cada rata tratada con el compuesto de prueba recibió un total de 28 mg del compuesto disuelto en el vehículo. Un grupo recibió la dosis equivalente de vehículo y otro no fué inyectado. El vehículo consiste de aceite de maíz y alcohol bencílico - (3:1 v/v). En el día 15 los animales fueron sacrificados y -

autopsiados. Se pesaron vesículas seminales y próstata ventral.

El tratamiento de los grupos de prueba fue:

GRUPO	No. DE ANIMALES	TRATAMIENTO
1	12	Compuesto (VII) *
2	12	Compuesto (XI)
3	12	Compuesto (XII)
4	12	Compuesto (XIII)
5	12	Compuesto (XIV)
6	12	Vehículo
7	12	No tratado

* Testigo positivo⁷.

8. RECOPILACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

8.1. SINTESIS QUIMICA

El primer paso de la síntesis química fue la conversión de la 17α -acetoxiprogesterona (VIII) al 3-metil éter de enol correspondiente (IX), se realizó vía las condiciones reportadas que consiste en el tratamiento de 17α -acetoxiprogesterona con ortoformiato de metilo en metanol y ácido p-toluensulfónico como catalizador^{8,9}; se obtuvo el 3-metil éter de enol deseado (IX) en un rendimiento del 78.0 %. Los datos espectrales coinciden con los reportados en la literatura⁹.

El compuesto (IX), fue sometido bajo condiciones de reacción de tipo Vilsmeier^{9,10}; para generar el derivado 17α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (X) con un rendimiento del 60.0 %. Los datos espectrales coinciden con los reportados.

El compuesto 17α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII), fue preparado por el tratamiento del compuesto (IX) con clorhidrato de hidroxilamina y acetato de sodio en etanol acuoso^{12,13}; se obtuvo la oxima deseada (VII) en un rendimiento del 85.0 %. Se encuentran reportados en la literatura datos acerca del punto de fusión, los cuales son de 135-137 °C¹² y 175-180 °C¹³ y el obtenido experimentalmente fue de 151-152 °C, esta discrepancia entre los puntos de fusión es debida a la diferente proporción de los isómeros Syn y Anti obtenidos bajo las mismas condiciones de

reacción, en este caso se utilizó la mezcla como tal dado que la separación de isómeros no está contemplado en los objetivos de este trabajo. Los datos espectrales de IR y RMN¹H, concuerdan con los reportados¹².

El compuesto 17 α -acetoxi-6-ciano-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XI), se preparó por deshidratación del compuesto (VII) en anhídrido acético a temperatura de reflujo¹³; se obtuvo el derivado 6-ciano deseado (XI) en un rendimiento del 54.75 %. Este compuesto presenta una λ max de 282 nm, que es característica de este cromóforo, dieno conjugado con un nitrilo. La λ max calculada para este sistema es de 271 nm. Se anexan algunos datos espectrales de UV, IR, RMN¹H y EM no descritos anteriormente, con los cuales se confirma la estructura del compuesto.

El compuesto 17 α -acetoxi-6-(5'-imidazolil-2,4-diona)-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XII), se obtuvo por adición nucleofílica al carbonilo aldehídico del compuesto (X) tratado con carbonato de amonio y cianuro de potasio en metanol acuoso. Por cromatografía de la mezcla, se logró separar el compuesto deseado (XIII) en un rendimiento del 6.24 %. El bajo rendimiento es debido a la gran inestabilidad de los reactivos bajo las condiciones de reacción por lo que se obtiene una mezcla de productos difíciles de separar por cromatografía en columna de sílice; la mezcla de reacción al ser eluida con una mezcla de acetato de etilo-heptano (1:1), se obtienen

fracciones de mezclas coloridas y una fracción principal de un producto, en esta fracción al eliminar el disolvente, se observo un sólido amorfo electrostático de color blanco que al ser recristalizado en acetato de etilo, se obtiene un sólido amorfo no electrostático de color amarillo, el cual fue caracterizado como el compuesto (XII). Este tiene una λ max de 246 nm, al cual se le ha calculado una λ max de 248 nm. - Se anexan algunos datos espectrales de UV, IR, RMN¹H y EM - con los cuales se confirma la estructura del compuesto.

Como resultado de la reacción entre el compuesto (X), cianoacetato de etilo y piridina en benceno (condensación de Knoe venagel) se obtuvo una mezcla de productos. Por cromatografía de la mezcla en columna de sílice, empleando como eluyente - acetato de etilo-heptano (1:1); se obtuvo una fracción principal, de donde por eliminación del disolvente aparece un -- sólido cristalino en forma de agujas de color amarillo en un rendimiento del 8.9 %, el cual fue caracterizado como el compuesto 17 α -acetoxi-6-(β -(α -cianoacrilato de etilo))-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XIII). Las otras fracciones estan constituidas por mezclas coloridas, difícil de separarlas -- por lo que fueron descartadas. Se anexan datos espectrales - de UV, IR, RMN¹H y EM, con los cuales se confirma la estructura del compuesto.

Como resultado de la reacción entre el compuesto (X) e hidrazinocarboxilato de etilo en una mezcla de metanol-dioxano -

(5:3), se generó el derivado 17α -acetoxi-6-iminometil-N-(N'-carbamato de etilo)-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XIV) en un rendimiento de 36.54 %. Se anexan datos espectrales de UV, IR, -RMN¹H y EM con los cuales se confirma la estructura del compuesto.

8.2. EVALUACION ANTIANDROGENICA

La próstata ventral y las vesículas seminales de la rata macho, fueron los órganos seleccionados para este estudio, porque de ambos es conocido su alta dependencia sobre los andrógenos y por su fácil obtención después de la autopsia.

La actividad antiandrogénica de los compuestos se determinó en ratas macho no castradas. La capacidad del compuesto para antagonizar el mantenimiento en peso por estímulo de los andrógenos endógenos en las vesículas seminales y la próstata, sirve como una medida de su actividad antiandrogénica.

La administración de la mezcla de isómeros obtenida del compuesto 17α -acetoxi-6-hidroxiiminometil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (VII) provocó disminución del peso de próstata y vesículas seminales, y sus resultados fueron tomados como una forma indirecta de medir potencia antiandrogénica (testigo positivo)⁷.

La dosis fue establecida tomando como base la utilizada por Revilla Best R. para la evaluación antiandrogénica del testigo positivo (compuesto VII).

El efecto antiandrogénico de los compuestos evaluados, son presentados en la tabla No. 1.

TABLA No. 1

EFFECTOS DE 28 mg DE COMPUESTO EN EL PESO DE LOS ORGANOS (mg DE ORGANOS/100 g DE PESO CORPORAL) EN RATAS MACHO NO CASTRADAS.

GRUPO	No. DE ANIMALES	ORGANO			
		PROSTATA		VESICULAS SEMINALES	
		PESO	VALOR DE "P"	PESO	VALOR DE "P"
1. Comp. (VII) *	12	37.3 ± 4.6	< 0.05	52.6 ± 3.8	< 0.05
2. Comp. (XI)	12	47.9 ± 5.6	< 0.005	60.0 ± 8.0	< 0.10
3. Comp. (XII)	12	+++		53.3 ± 7.1	< 0.01
4. Comp. (XIII)	12	+++		55.3 ± 7.2	< 0.05
5. Comp. (XIV)	12	53.0 ± 6.7	< 0.005	42.7 ± 10.9	< 0.01
6. Vehículo	12	80.5 ± 9.9		89.2 ± 12.4	

NOTAS:

* Testigo positivo.

+++ El peso de la próstata de los animales tratados no se modificó con respecto a los testigo.

"P" El valor de "P" se basa en la prueba "t" de Student e indica la probabilidad que la diferencia entre dos poblaciones no es significativa. Así un valor de "P" de < 0.01 indica que hay una probabilidad de menos de uno por ciento que las poblaciones no sean diferentes.

- La diferencia no alcanzó niveles de significación entre los grupos, tratado con vehículo y no tratado.

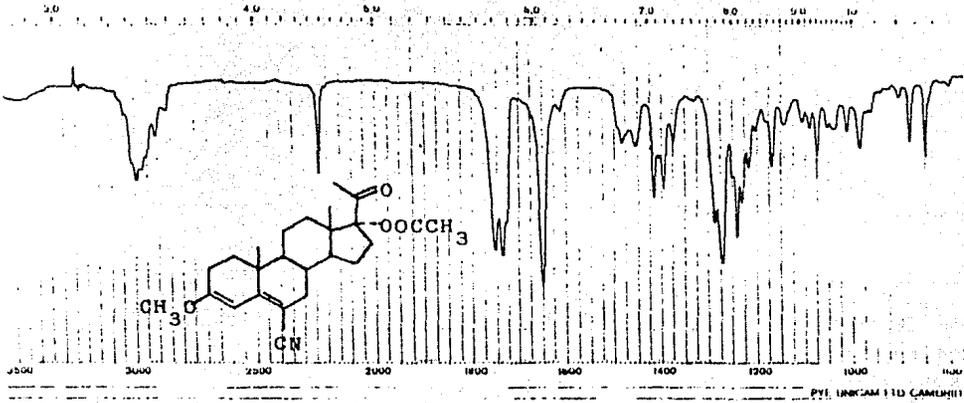
9. CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados experimentales se concluye que:

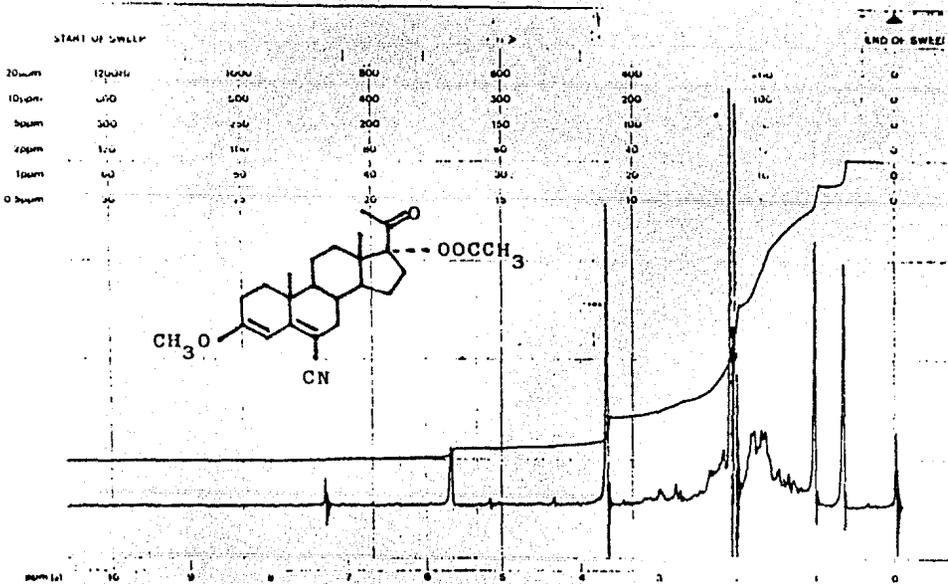
1. Se cumple con los objetivos establecidos para la síntesis química del 17α -acetoxi-6-formil-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona, como un intermediario para la síntesis de los cuatro --nuevos derivados de la 17α -acetoxiprogesterona propuestos.-- Estos compuestos contienen grupos electronegativos en el C-6. Dichos compuestos son: 17α -acetoxi-6-ciano-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XI), 17α -acetoxi-6-(5'-imidazolil-2,4-diona)-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XII), 17α -acetoxi-6-(cianoacrilato de etilo)-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XIII) y 17α -acetoxi-6-iminometil-N-(N'-carbamato de etilo)-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (XIV).

2. Los resultados indican que la actividad antiandrogénica se mantiene cuando el grupo funcional Oxima en el C-6 en el derivado 17α -acetoxi-3-metoxi-3,5-pregnadien-20-ona (IX) es sustituido por diferentes grupos electronegativos. Sin embargo el efecto antiandrogénico de estos compuestos sobre próstata y vesículas seminales se manifiesta en grado diferente.

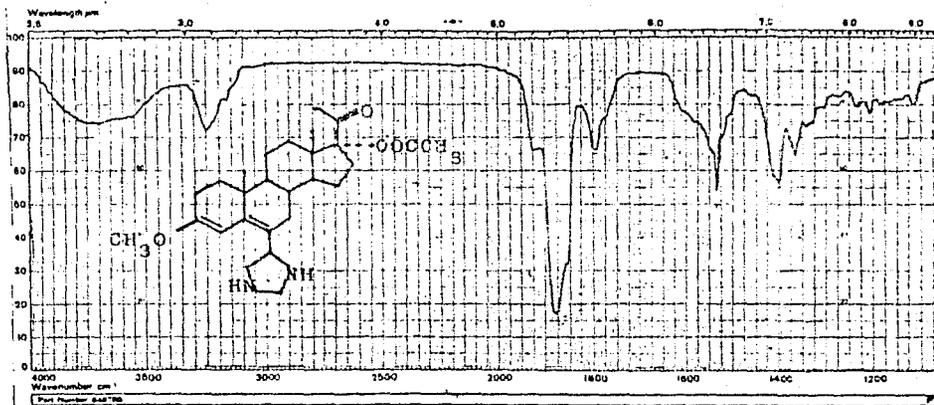
10. ESPECTROS



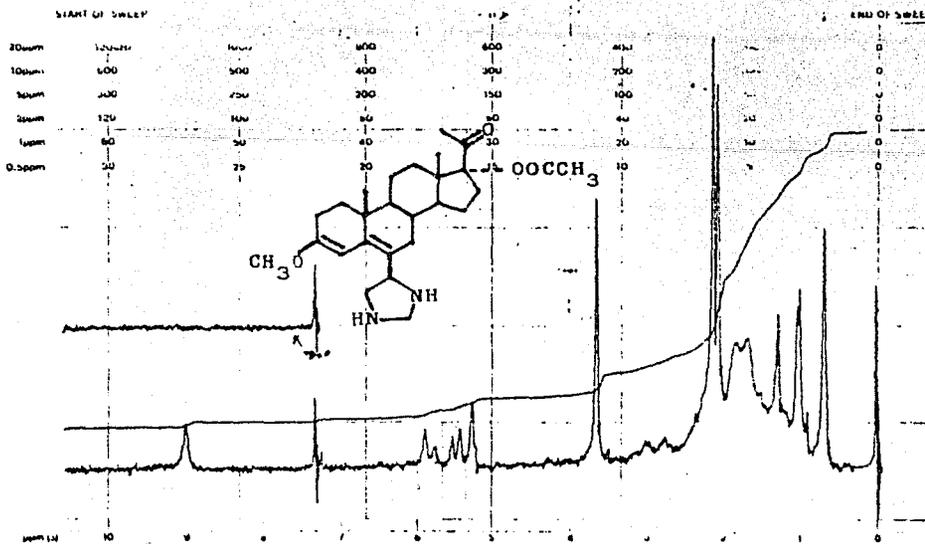
Espectro No. 1



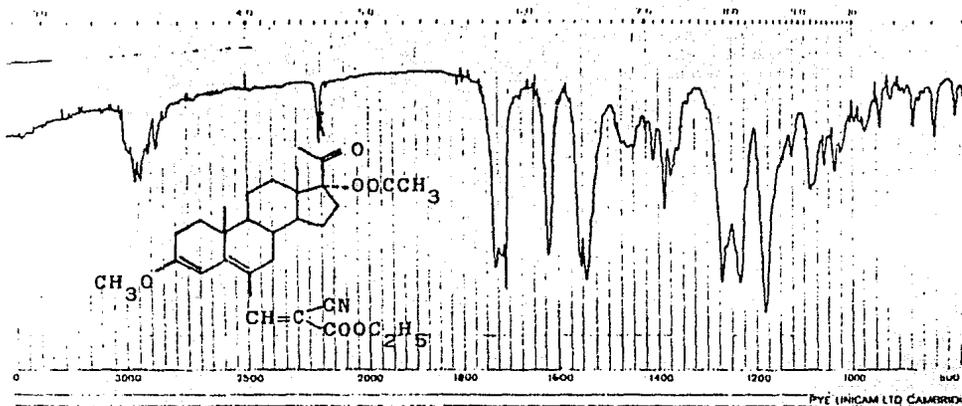
Espectro No. 2



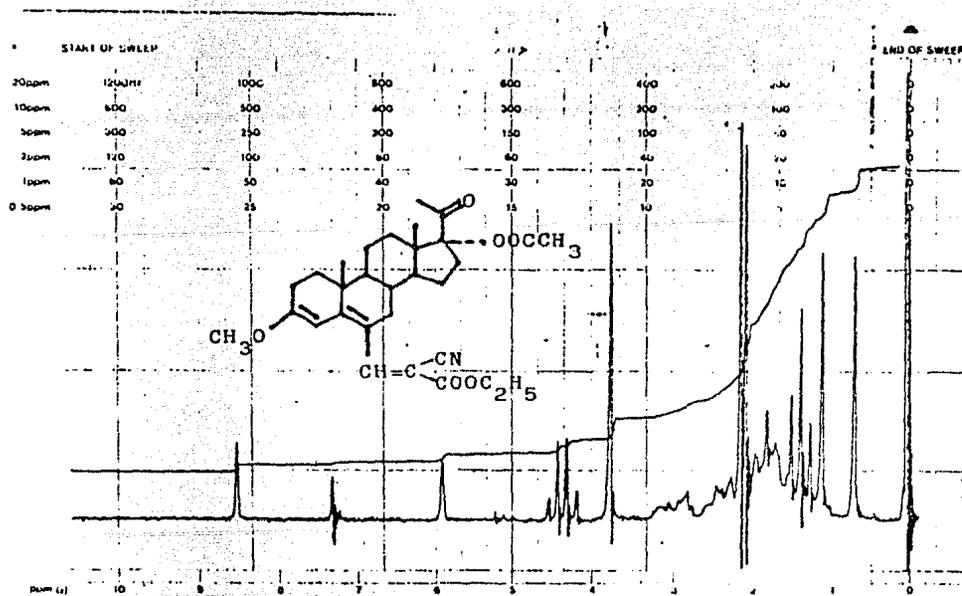
Spectro No. 3



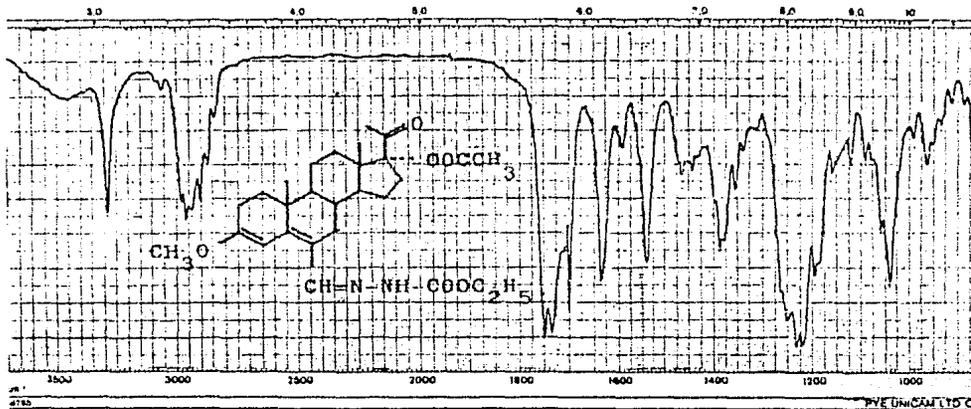
Spectro No. 4



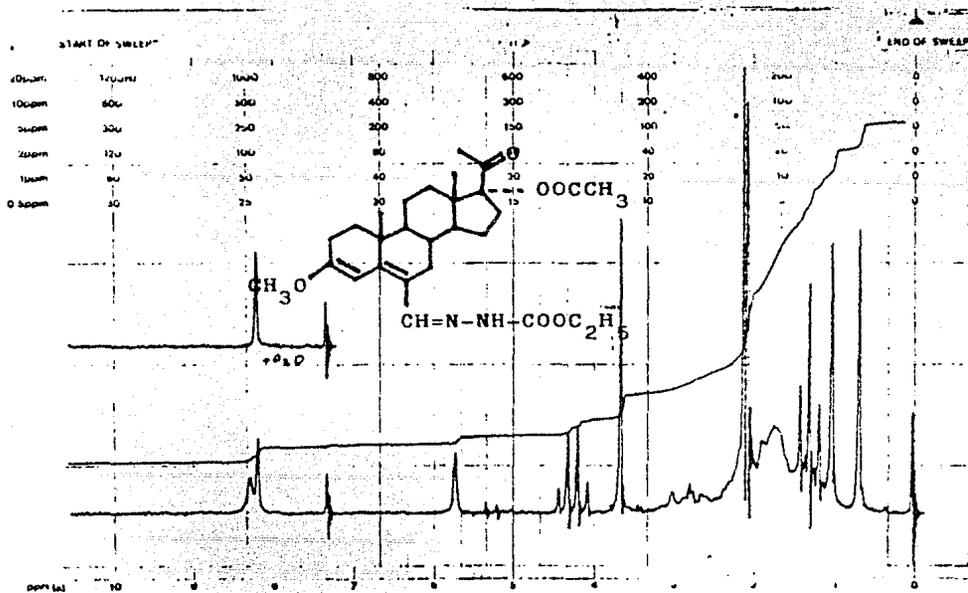
Espectro No. 5



Espectro No. 6



Espectro No. 7



Espectro No. 8

11. BIBLIOGRAFIA

1. Vida J. A. **Androgens and anabolic agents. Chemistry and pharmacology.** Acad. Press., New York and London (1969).
2. Dorfman R., Shipley R. **Androgens.** John Wiley & Sons, Inc. New York (1956). Cap. 1, 3, apendix C.
3. Goodman L., Gilman A. **Bases farmacológicas de la terapéutica.** Ed. Interamericana, 5a. Ed., México (1978). Cap. 69, pág. 1221.
4. **AMA Drug Evaluations.** Publishing Sciences Group, Fourth edition, Chicago, Illinois. Cap. 42, pág. 651.
5. Neuman F., Schenck B. **New Antiandrogens and Their Mode of Action.,** J. Reprod. Fert., Suppl. 24, 129-145 (1976).
6. Loving C. and Flickinger J. **Alterations in the Fine Structure of the Prostate and Seminal Vesicle of Rats Treated with Cyproterone Acetate.** Anat. Rec., 185 (1), 13-29 (1976).
7. Revilla R. **Alteraciones del desarrollo testicular en la rata prepuber inducidas por 3-metoxi-6-formil-3,5-pregna-dien 17-alfa-acetato-20-ona - oxima (Oxima).** Tesis UNAM, (1981).
8. Pratt and Draper, J. Am. Chem. Soc. 71, 2846 (1949).
9. Stanhope K. L. **"Síntesis de derivados de progesterona con acción antiandrogénica potencial".** Tesis UNAM, (1978).
10. Youssefyeh, J. Am. Chem. Soc. 85, 3901 (1978).

11. Syhora K. et. al., Coll. Czech Chem. 31, 3768 (1966).
12. Mateos L. J. Sintesis de 17^α-acetoxi-6-ciano-1,4,6-pregna-
trien-3,20-diona. Tesis UNAM, Fac. de Q., (1979).
13. Vladimir P. 6-Cyano steroidal enol ethers. Brit.1,005,891
(Cl. C 07c), Sept. 29, 1965, Appl. June 20, 1963; 21 pp.
en Chem. Abst. 63, 18226g (1965).