



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE ESTEROIDES NITROGENADOS DE LA SERIE
DEL ANDROSTANO
(DE LA 6 N METIL AMINO 3 BETA, 17 BETA DIOL)

T E S I S

Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

EVA ALICIA SALDAÑA VILLALOBOS



MEXICO

1987



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 está 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.

I N D I C E

Capítulo I	Pag.
INTRODUCCION	1
Capítulo II	
DISCUSION	37
Capítulo III	
PARTE EXPERIMENTAL	39
Capítulo IV	
CONCLUSIONES	43
Capítulo V	
BIBLIOGRAFIA	44

INTRODUCCION

ESTEROIDES SINTETICOS NITROGENADOS.

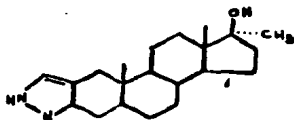
El amplio campo de actividad biológica de los esteroides indujo a los investigadores a hacer de ellos una de las más interesantes clases de compuestos.

En la actualidad se conocen muchos derivados de esteroides, a los cuales es posible introducir un átomo de nitrógeno en su estructura. Son importantes dichos compuestos ya que la influencia posible del átomo de nitrógeno en su estructura modifica en ciertos casos su actividad biológica original. Estos aspectos se han visto en la farmacología de los alcaloides del género *veratrum* (1,2,3,4), el trabajo más reciente está hecho por Krayner, Acheson, Voigt y Kallestrator (5,6), en donde dan a conocer propiedades biológicas de esteroides nitrogenados.

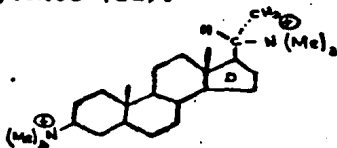
CORRELACIONES CLINICAS.

Se hicieron modificaciones en la estructura de las hormonas esteroidales introduciendo grupos o anillos heterocíclicos nitrogenados, mostrando alta especificidad ó acentuando una característica biológica menor o secundaria con el análogo natural. Hasta entonces no se creía que entre los nuevos esteroides nitrogenados hubiera compuestos con propiedades químicas carcinolíticas, mejorando las relaciones anabólicas a androgénicas, o los índices lipoides a estrogénicos. Ciertos (3-2-c) pirazoles esteroidales - (7,8) y (2-3-d) isoxazoles (9) se conocen por poseer una relación anabólica más favorable que la androgénica.

Estos derivados se ha visto que son activos por vía oral otro compuesto semejante es el 17 beta hidroxil, 17 alfa metil androstano (3-2-c) pirazol (I) (10). También se conocen esteroides nitrogenados en donde estan presentes las propiedades anabólicas, tal como el 17 beta hidroxil-17 alfa, 2' dimetil androstan-(3-2-b) tiazol y ciertos derivados N-substituidos como: los 2 aminometilen-17 alfa metil dihidro testosteronas — (11) y varios 16 alfa-aminopregnenos (12).



I

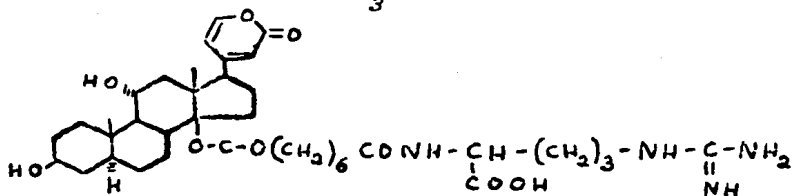


II

Se ha demostrado que el alcaloide esteroideal Malouetina (II), que se encuentra en la *Malouetia baquaertiana* (13), posee acción relajadora muscular y cierta actividad anestésica tres veces superior a la tubocurarina (14). Los tres posibles isómeros de la malouetina, comprende la orientación de la base bis-cuaternaria del átomo de nitrógeno que puede encontrarse en las posiciones 3 beta-20 beta, 3 alfa-20 alfa y 3 alfa-20 beta, los cuales se han preparado sintéticamente (15).

El alcaloide esteroideal juntamidina posee propiedades -- tranquilizadoras comparables con las de la reserpina (16).

Ciertos derivados encontrados en la naturaleza no se han usado porque se han aprovechado sustancias esteroideales sintéticas mas económicas y superiores; derivados de este tipo se encontraron en animales y plantas. En algunos batracios se -- han aislado derivados de la suberilarginina que provienen de los bufadienólidos tales como la bufotoxina y gama-bufotoxina (III) (parótidas del sapo) y la cual tiene actividad semejante a los glicósidos de la cardenólido y escilladienólido.



III

Los esteroides nitrogenados con más aplicaciones clínicas - son los del tipo de la protoveratrina la cual produce farmacológicamente un reflejo con hipotensión; mezcla de estos compuestos fueron usados y desechados después por sus efectos desagradables y alta toxicidad. El uso de estos compuestos, una vez ya purificados reaparecieron por ser útiles en el problema de la hipertensión, (17,18,19) pero es corto el margen entre dosis tóxica y dosis terapéutica produciendo en ciertos casos emesis, por lo que clínicamente no son usados aunque se cree pueden servir en el tratamiento de toxemias del embarazo (20,21,22); ésto hizo que se buscaran esteroides sintéticos con las mismas propiedades hipotensivas pero sin estos efectos indeseables. También se ha probado en tratamiento ya sea de hipertensión y disentería amebiana a los alcaloides de la corteza del kurchi y de varias especies vegetales de la holarrhina que han sido empleados en forma libre o como complejos en forma de yoduro de bismuto (23,24,25).

ESTEROIDES SINTETICOS NITROGENADOS Y SU COLOCACION EN LA - TEORIA MODERNA.

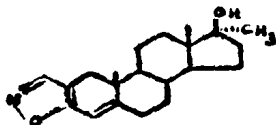
El conocimiento de la estructura química del núcleo esteroi- dal ha mostrado tener un papel importante relacionado con la ac- tividad biológica, el cual ha originado hacerle modificaciones a ésta para lograr más provechosas drogas entre las cuales muchas - poseen uno o varios átomos de nitrógeno.

Ahora no solo se observa su acción biológica puramente em- pírica, sino que hay conceptos como "la teoría receptora de la - acción de la droga", "teoría del desplazamiento del metabolismo, -

"el concepto de bioisosterismo o de la unidad de soporte", las cuales han dado lugar a una correcta visión de su acción fisiológica.

TEORIA RECEPTORA.

Esta teoría es extremadamente útil en la medicina química, para intentar así la explicación de la droga basándose en su estructura geométrica tridimensional y en la distribución electrónica de la misma. Tomando en cuenta esta teoría receptora se pensó sintetizar (3-2-c) pirazoles y (3-2-d) isoxazoles esteroidales, los que se supusieron como drogas relacionadas con las propiedades androgénicas y anabólicas de las hormonas masculinas naturales, diferenciando así en su estructura con estas últimas (8). Atendiendo a la alteración de la molécula con respecto a la distancia que existe entre los sustituyentes colocados en C_3 y C_{17} cuyo cambio primordial en C_3 de estos derivados pirazoles e isoxazoles esteroidales, muestran un carácter electrofílico muy pronunciado, lógicamente se podría esperar que estos compuestos tuvieran una actividad interesante. Así por ejemplo se probó mediante la administración por vía oral del 17 beta, hidroxil-17 alfa, metilandrostan (3-2-c) pirazol, cuya fórmula aparece anteriormente (I). Este compuesto mostró ser 30 veces más potente de la actividad anabólica de la 17 alfa metiltestosterona (26) en ratas sometidas a esta prueba viéndose que solamente poseía una cuarta parte de la actividad androgénica de la testosterona (27). La acetilación del anillo del pirazol imparte estrogenismo y cuando se coloca un grupo 6 alfa metil en estos derivados decrece la propiedad androgénica y anabólica (8). Los derivados del isoxazol sintetizados en estos laboratorios muestran similitud en su actividad a los compuestos pirazólicos (8,11) antes descritos aún cuando el 17 beta hidroxil-17 alfa metil-19 norandrostan 4 eno (2-3-d) isoxazol (IV) mostró falta de especificidad.



IV

Ya que éste exhibió actividad progestacional igual a la progesterona por administración intramuscular y a la etisterona cuando se administra por vía oral, así como también mostró propiedades anabólicas, micotrópicas, androgénica y estrogénica (9).

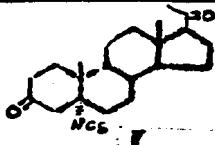
Van Rossun y Ariens (1957) sugirieron que el complejo droga receptor es básicamente una interacción iónica que se origina entre la molécula de la droga y el tejido.

Las fuerzas electrostáticas de Van der Waals también juegan un papel y es posible que cierta interacción específica determine la habilidad de la droga a evocar la respuesta biológica.

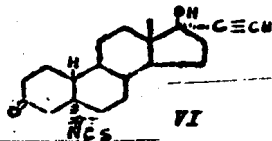
Si ésto es correcto el sostén de interacción con variación coexiste con la densidad electrónica en ciertas áreas de la molécula, podría producir cambios en la actividad intrínseca, sin apreciables cambios en la afinidad del receptor. En el campo de los glucocorticoides esta situación aparecerá como una elevación de su potencia con la introducción de un sustituyente atrayente de electrones; por ejemplo un átomo de flúor en algunas posiciones como en la 9 alfa, eleva la potencia iónica mediante el bloqueo de la biodegradación. Este notable suceso hizo pensar a los investigadores en introducir otros grupos electrofílicos en varias posiciones del núcleo esteroide y entre los compuestos así preparados incluían grupos que contenían nitrógeno.

Así por ejemplo se han sintetizado varios derivados esteroideos que poseen el grupo tiocianato en las posiciones 5-alfa, 7 alfa, 9 alfa, y 11 beta (28,29,30), pero se descubrió que los compuestos representados por las fórmulas (V, VI) tenían actividad progestacional igual a sus originales progesterona

pons y 19 noretinil testosterona respectivamente. Similarmente el análogo 4,5 dihidro 5 alfa tiocianato del acetato de cortisona na mostró actividad semejante a la del acetato de cortisona.



3,20 dioxo 5 alfa tiocia
to pregnano.



17 alfa etinil, 17 beta hidro
xi, 3 oxo, 5 alfa tiocianato
19 norandrostando.

No obstante el derivado 4,5 dihidro 5 alfa tiocianato - del acetato de la hidrocortisona mostró insignificante actividad biológica. Sin embargo hay duda en este punto ya que no se sabe si los derivados tiocianato poseen actividad o éstos son reconvertidos a las hormonas originales que son las que - producirían esta actividad.

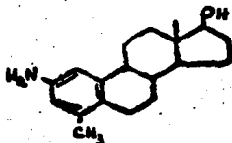
Otras hormonas esteroidales con grupos electrofílicos en la molécula incluyen varios derivados ciano y varios compuestos nitrados; todos éstos preparados por Bowers y colaboradores.

(31, 32, 33) Así se encontró que la 6 alfa-nitro-17 alfa - acetoxi-progesterona ensayada por vía oral en la prueba de - Claiberg demostró ser de 3 a 4 veces más activa que la 17 alfa acetoxiprogesterona, como un agente progestacional.

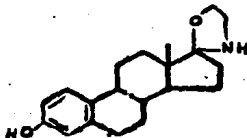
En otros ensayos se probó con la 6 alfa y 6 beta nitro-testosterona y estas demostraron ser inactivas como agentes - anabólicos, androgénicos o inhibidores gonado - tróficos (31, 32). Las progesteronas isoméricas 6 alfa y 6 - beta nitradas presentaron menos de la octava parte de la actividad progestacional (32) en la prueba copulatoria del cu - yo y la 21 nitro progesterona fue inactiva (33).

Se conocen varios derivados 2 nitro, 4 nitro y 2,4 dinitro de la estrona y del estradiol (34), así como también un derivado 16 isonitroso del metil éter de la estrona y todos ellos en la actualidad no han sido probados biológicamente.

Se han estudiado varios esteroides nitrogenados en donde el nitrógeno forma parte de un grupo donador de electrones. En particular han llamado mucho la atención varios derivados del estrano y del estradiol; entre estos compuestos puede mencionarse al 2 amino 4 metil estra-1,3,5 (10) trieno 17 beta ol (34) (VII); el 3 amino, 4 metil estra-1,3,5 (10) trieno-17 beta ol (35) y ciertos derivados 2 dialquil amino metilicos (Patton 1959-1960) (36,37), los cuales no poseen actividad. Sin embargo se ha descrito un derivado de la estrona que posee un agrupamiento en C_{17} siendo éste la spiro-oxazolidina representada por la fórmula (VIII); la cual exhibe actividad por vía oral 10 veces mayor que la de la estrona (38).



VII

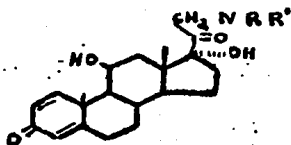


VIII

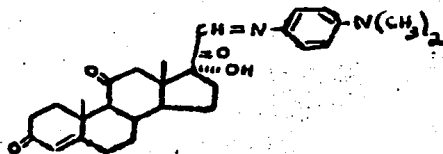
Otros ejemplos de la introducción nitrogenada donadora de electrones en la cadena lateral esteroidea del pregnano, han mostrado cierto interés, así por ejemplo: la 21 amino 17 beta, 17 alfa dihidroxi pregna-1,4 dieno 3,20 diona, compuesto representado por la fórmula (IX) retuvo la actividad glucocorticoide de la prednisolona, de la cual se deriva este compuesto (39,40) otro compuesto de este tipo que posee actividad glucocorticoide está representado por la fórmula (X), los cuales contienen agrupamientos nitrogenados en la posición 21.

La fórmula (X) corresponde a la 17 alfa hidroxi 3,11,20 tri-oxo pregn 4 eno-21 p dimetil amino fenil triona.

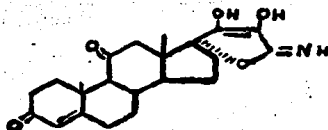
Sin embargo la iminolactona (XI) a pesar de tener agrupamiento nitrogenado no conservó la actividad glucocorticoide (XI) (39,40).



II



X



XI

ESTEROIDES NITROGENADOS COMO ANTIMETABOLITOS.

En el campo de los esteroides se ha trabajado con mucho interés sobre antimetabolitos, tales como la spiro lactona - que es antagónico de aldosterona (41,42).

Se han probado varios esteroides nitrogenados como antibactericidas y antifungicidas, entre los sintéticos se tienen los coesteroides 7 alfa y 7 beta aminados, varios derivados mono y di aminados del colestano en las posiciones 3,6 y 7 - (43,44) y varios derivados hidroxilados del 23 amino colestano, entre los que se incluye el 23 guanido 3,5,7,12 tetrahidroxi norcolestano (46).

Los derivados del mono amino colestano muestran actividad contra microorganismos gram-positivos (43,44).

Los compuestos diaminados presentan una actividad muy -- grande, actuando también contra los microorganismos Gram-neg tivos.

Entre otros esteroides mas complejos que poseen actividad bacteriana se encuentran los derivados N-16 amino sustituidos (45) y el acido 3,3-di(N-acetil-p-aminofenilmercapto)-7,12-di estocolónico. También algunos 22 amino bis norcolano N sustituidos y sus yodo metilatos cuaternarios poseen actividad fun gicida probada en el hongo Candida albicans (47) pero las am idas de estos compuestos muestran actividad insignificante.

Se han sintetizado varios alcaloides esteroidales inspi-- rados en la actividad amebicida del alcaloide Conessina pero ninguno ha sido tan activo como la Conessina misma, ciertos -- compuestos de este tipo han mostrado actividad antibacteriana alrededor de la vigésima parte de la actividad de la estrepto micina (48,49).

DROGAS ABSORBENTES.

Los esteroides nitrogenados han jugado un pequeño pero -- no menos significativo papel en la absorción de las drogas -- (50) donde un derivado químico de una droga activa se adminis tra para que venza las relaciones desfavorables de biotrans formación o de solubilidad impropia, característica de distribución transporte y absorción; la droga activa será regenera da in vivo. Algunas veces el agrupamiento esteroideal tiene -- función como agente absorbente y otras veces el esteroide ac-- tivo ha sido absorbido.

Algunos ejemplos de los usos de esteroides como agentes absorbentes incluye la preparación de aminas esteroidales in-- solubles, sales de penicilina capaces de mantener prolongadas concentraciones terapéuticas de los antibióticos en la co-- rriente sanguínea (51,52,53).

Son muy numerosos los ejemplos de agrupamientos nitroge--

nados usados para que los esteroides biológicamente activos - se absorban, por ejemplo se ha desarrollado mucho la atención en la preparación de sales aminadas de ésteres sulfónicos de hormonas esteroidales. Para incrementar así la solubilidad en agua de la hormona original, entre estos compuestos se podría mencionar sales de etilen diamínicas de los ésteres de sulfato de estrona, estradiol, equilenina, androsterona, pregnenolona, sales de piperazina de ésteres de sulfato de estradiol y sales de procaína, anfetamina y 2 amino piridina de ésteres de sulfato de varios estrógenos esteroidales. De estos - compuestos por ejemplo el piperazin sulfato de estradiol ha sido usado clínicamente; en cambio varios ésteres de alquil aminosulfúrico de la dehidro androsterona y androstendiol - pierden su actividad biológica (54), por otra parte varios de rivados de amonio cuaternarios de la hidrocortisona, prednisona y dexametasona se ha visto que retienen su actividad y - sobre todo este tipo de derivados son bastante solubles en - agua, por lo que se facilita la preparación de sus colirios, inyecciones, ungüentos y otras formulaciones farmacéuticas - en las que se requiera esta propiedad de disolución en agua. Ciertos esteroides en forma de ésteres de amino ácidos conser van su actividad y absorción, un ejemplo de ello se tiene en la hidrocortisona que al convertirla en el clorhidrato del dietil amino acetato la hace más soluble y facilita su empleo en dermatología (55).

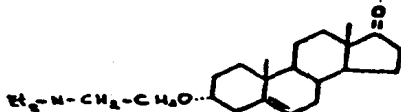
Un ejemplo importante de una droga de fácil administra - ción y absorción en los organismos superiores en el campo de los esteroides y que posee propiedades anestésicas es la hidroxi diona que es la sal sódica del 21 hemisuccinato de la - 21 hidroxi-pregnano-3,20 diona. En este compuesto el agrupamiento hemisuccínico confiere incremento en la solubilidad en agua sobre un predominio de la molécula soluble en lípidos y la rápida hidrólisis por la estearasa inespecífica del suero re

genera el producto original (56). A estos compuestos lo -- que los diferencia entre sí es el tiempo en que tardan en hacer su efecto.

TEORIA DE AGRUPAMIENTO DE SOPORTE.

Aquí también los esteroides nitrogenados tienen un papel importante; esta teoría dice que las moléculas con actividad farmacológica dependen de un agrupamiento que determina el tipo de actividad desarrollada y de una porción soportadora que le confiere afinidad por el sitio de acción (57, 58):

Los compuestos actuales incluyen éteres beta dietil amino etílicos de estrona, testosterona y del 3 alfa hidroxil 17 oxo andros 5 eno (XII), y los bis beta dietil amino etil, éteres del estradiol y del 3,17 dihidroxil andros-5-eno.



XII

La combinación de este radical unitario nitrogenado (59) (dietil amino etanol) y el esteroide de soporte producen potentes drogas con propiedades vasodilatadoras de la coronaria, -- la sal bicuaternaria derivada de los di éteres compuestos, -- mostraron actividad como la del curare, in vitro mostraron actividad anticolinesterásica y las sales mono dietil amino etil éter tuvieron actividad ganglio-bloqueadora (57).

Un agrupamiento puede no solo causar diferencias en las características de solubilidad, también favorece las propiedades de absorción. Estos estudios se hicieron primero en sulfonamidas en donde -

superaron la desfavorable solubilidad bípídica (60).

El rígido núcleo de los esteroides posee en muchos casos el anillo A en forma bencenoide o también unión trans en los anillos A/B; es desde otro punto de vista un agrupamiento soportador, así que puede funcionar como un esqueleto arriba - del cual 2 ó más radicales pueden ser fijados en relación estable espacial a uno y a otro.

La hipótesis de Patton y Zaimis (61,62) dice: que el amonio bicuaternario de los agentes bloqueadores neuromusculares reacciona por dos puntos, atacando en sitios aniónicos normalmente e involucrando la función fisiológica de la acetil colina; tiene primacía sobre un número de ensayos para definir conjuntamente la distancia interiónica real en el momento de formación del complejo entre la droga y el receptor. Desafortunadamente la mayoría de los compuestos son conformacionalmente no rígidos y son incapaces de producir el estímulo deseado, así como tampoco hay razón para suponer que la conformación más estable termodinámicamente de la molécula aislada es la que se adopta actualmente en el receptor. Aunque el mismo receptor podría no ser rígido; la demostración de actividad de una sal bicuaternaria rígida y su ausencia de actividad en otra con una distancia interiónica diferente podría representar un gran adelanto. Estas sales de amonio son de interés en la hipótesis de Gill (63) la cual dice que: "moléculas completamente rígidas pueden presentar inactividad debido a la variación en los receptores". (Esto se apoya en la ausencia de actividad de los ganglios bloqueadores, en un número limitado de compuestos, por ejemplo en el yoduro de N-N'-N'-tetrametil-p-fenilén dimetil diamina, completamente rígida y ciertos derivados rígidos del furano todavía reteniendo un grado limitado de flexibilidad, es decir, requieren posterior absorción como droga (64)). Moléculas rígidas muestran actividad farmacológica

pronunciada por ejemplo: los estrógenos naturales, la testosterona y el Cis-1-hidroxi-2-trimetilamonio ciclopentano que muestran actividad depolarizante sobre el diagrama del nervio frénico de gatos pequeños (65). Más aún, la teoría de los dos puntos de unión no está aceptada universalmente en la actualidad.

Loewe y Harvey (66) han postulado una teoría con un punto de ataque en el cual el tamaño de la molécula defiende al receptor.

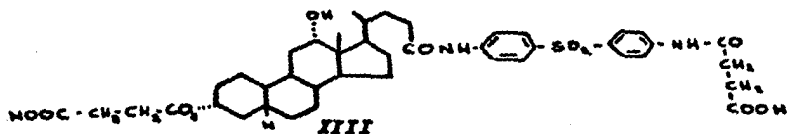
Los experimentos conductimétricos han demostrado la estabilidad extrema del par tónico comprendiendo un anión sencillo y un catión amonio bicuaternario, los cuales dan la posibilidad de que el receptor complejo pudiera ser del tipo A en vez del tipo B. (67).



Se notó que la malouetina (II) no es completamente rígida debido a la rotación cerca de la ligadura del C_{17} y C_{20} y la posibilidad de isomerismo conformacional de silla o de bote en el anillo A, estos efectos permiten alguna variación intertónica.

Las propiedades antituberculosas de 4,4' diamino difenil sulfona tiosemicarboxonas e hidrazonas incluyendo algunos derivados esteroidales en los cuales la porción esteroideal puede ser considerada como un agrupamiento de soporte. Algunos de estos compuestos mostraron tener actividad, como los derivados amido del ácido biliar de diamino difenil sulfona (63). Un compuesto de esta serie es: la-(3-hemisuccinildesoxi-

colamino)-4'hemisuccinilaminodifenilsulfona (XIII), la cual - también demostró ser un inhibidor activo de la multiplicación de la cepa PR8 del virus A de influenza en el embrión de pollo (68).



Las hidrazonas e isonicotinil hidrazonas de testosterona, estrona y dehidroandosterona poseen actividad contra el - bacilo de tuberculosis in vitro (69).

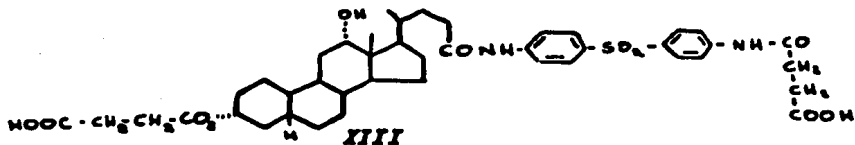
Las tiosemicarbazonas de testosterona, progesterona y de hidrandrosterona (70) no poseen las propiedades fisiológicas de los compuestos originales.

La esperanza mostrada por las mostazas nitrogenadas como potentes agentes anticancerígenos, inspiraron el uso del esteroide (núcleo) como un agrupamiento de soporte y se han obtenido varios mono y bis-(cloroetil) amino esteroides, solamente tres de estos compuestos parece que han sido probados como antitumor, sobre todo esteroides de mostazas nitrogenadas (71, 72).

Varios grupos naturales de esteroides nitrogenados pueden citarse como ejemplo de la teoría de agrupamiento de soporte, así que en algunos casos es difícil distinguir una función de este tipo, de una función absorbente. Una ilustración de esta teoría se encuentra en los compuestos conjugados de la taurina y glicina de los ácidos biliares cuyos antoncos son la sal aniónica del verdadero ácido biliar.

Otro ejemplo está dado por la rápida hidrólisis de los ésteres de alcaloides del género veratrum tal como la protove

colamino)-4'-hemisuccinilaminodifenilsulfona (XIII), la cual - también demostró ser un inhibidor activo de la multiplicación de la cepa PR8 del virus A de influenza en el embrión de pollo (68).



Las hidrazonas e isonicotinil hidrazonas de testosterona, estrona y dehidroandosterona poseen actividad contra el bacilo de tuberculosis *in vitro* (69).

Las tiocsemicarbazonas de testosterona, progesterona y de hidroandrosterona (70) no poseen las propiedades fisiológicas de los compuestos originales.

La esperanza mostrada por las mostazas nitrogenadas como potentes agentes anticancerígenos, inspiraron el uso del esteroide (núcleo) como un agrupamiento de soporte y se han obtenido varios mono y bis-(cloroetil) amino esteroides, solamente tres de estos compuestos parece que han sido probados como aditumor, sobre todo esteroides de mostazas nitrogenadas (71, 72).

Varios grupos naturales de esteroides nitrogenados pueden citarse como ejemplo de la teoría de agrupamiento de soporte, así que en algunos casos es difícil distinguir una función de este tipo, de una función absorbente. Una ilustración de esta teoría se encuentra en los compuestos conjugados de la taurina y glicina de los ácidos biliares cuyos aniones son la sal aniónica del verdadero ácido biliar.

Otro ejemplo está dado por la rápida hidrólisis de los ésteres de alcaloides del género *veratrum* tal como la protove

ratrina, la cual es 6000 veces más tóxica que su derivado -- alquil-amínico que es la protoverina (73).

OTRAS INTERESANTES TEORIAS SOBRE ESTEROIDES NITROGENADOS.

Los derivados nitrogenados esteroidales han servido para comprender con más claridad la naturaleza de los procesos biológicos, una de tales sustancias comprende la aplicación de derivados de esteroides complejos en el estudio de antígenos artificiales (74).

Otras hipótesis dicen que ciertos esteroides interactúan con enzimas y otras proteínas por formación de spirooxalidinas, así que los 3 oxo esteroides que les falta un doble enlace entre C_4 y C_5 forman esta doble ligadura antes de interactuar con la cisteína bajo una gran variedad de condiciones (75) pero este estudio no se ha comprobado.

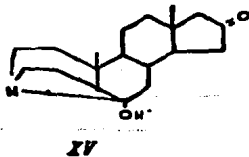
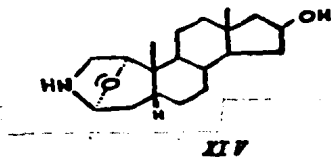
Los alcaloides esteroidales forman un grupo complejo, algunos se han encontrado en la naturaleza conjugados como alcalaminas y otros en estado libre así como también se encuentran varios en forma de glicósidos y ésteres. Se acostumbraba clasificarlos por el grupo botánico de donde provenían pero ahora se hace por la naturaleza del esqueleto de la alcalamina y son cuatro grupos principales:

- 1.- Derivados del 3-oxo- Δ^1 -androstano.
- 2.- Bases regularmente derivadas del esqueleto del pregnano.
- 3.- Bases regularmente derivadas del esqueleto sin arreglo del colestano.
- 4.- Bases poseyendo el esqueleto "Jervano".

PRIMER GRUPO.

Los compuestos que constituyen este grupo son pocos y solamente se conocen los 4 alcaloides encontrados en la Salaman

dra: samandarina (XIV), samandarona, samandaridina y cicloneo samandiona (XV).



Estos compuestos presentaron actividad analéptica en ratones y de acción antagonica a los efectos narcóticos de los barbituratos (etil uretano y tribromo etanol) (en larvas de salamandras y pequeños pescados); su acción en el músculo estriado es variable, teniendo propiedades vasoconstrictoras - (Löwen Trendelenburg vasos de la rana) relaja la arteria carótida de los becerros, relaja el útero del cuyo, antagoniza la acción de la adrenalina en el hombre, por vía subcutánea produce dolor e hiperemia.

SEGUNDO GRUPO.

Se encuentran en las apocináceas y se caracterizan por que poseen funciones amino en C_3 ó C_{20} ó en ambas. Generalmente los miembros de este grupo se encuentran en la naturaleza en forma de una alcalina libre, por lo menos se ha encontrado un representante en combinación glicosídica (76) y por lo menos otros dos se han encontrado en forma de ésteres conjugados del ácido piroterebítico (77) entre otros alcaloides de este grupo tenemos:

1o. 3 amino pregnanos;

a) La funtumina $C_{21} H_{35} NO$ (3-alfa amino-20-oxo-5-alfa pregnano) encontrado en la *Funtumia latifolia*.

b) La funtumidina $C_{21} HNO$ (3 alfa amino-20-alfa hidroxil 5 alfa pregnano) encontrado en el mismo recurso vegetal.

c) La holamina $C_{21}H_{33}NO$ (3 alfa amino-20-oxo pregn-5-eno) encontrada en la *Holarrhena floribunda*.

d) La paravalerina $C_{22}H_{33}NO_2$ cuya estructura es lactona del 3-beta-metil-amino-20-alfa-hidroxi-pregn-5-eno-18-ácido carboxílico, cuyo recurso vegetal es *Paravallaris microphylla*.

2o. Los 20 amino pregnanos:

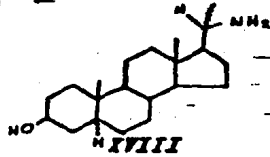
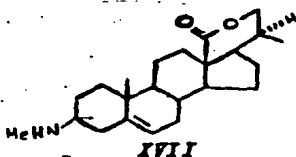
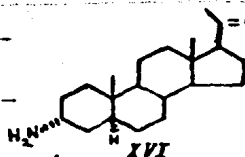
a) Funtufilamina A y B; $C_{21}H_{37}NO$, $C_{22}H_{39}NO$ respectivamente (20-alfa-amino-3-beta-hidroxi-5-alfa-pregnano) y la - B (20-alfa-metil-amino-3-beta-hidroxi-5-alfa-pregnano), extraídos de la *Malouetia bequaertiana* y *Funtumia africana*.

3o. Alcaloides todavía no caracterizados en su estructura:

a) Holadisamina; estructura no conocida, proviene de la holarrhena antidisentérica ($C_{22}H_{37}NO$).

b) Holadisina. ($C_{23}H_{37}NO$).

Son ejemplos de los monoácidos con un átomo de nitrógeno en la posición 3: la funtumina (XVI); paravalerina (XVII) que posee un anillo lactónico saturado y tiene semejanza en su estructura a los dihidro cardenólidos (78) en la posición 20 es la funtufilamina A (XVIII).

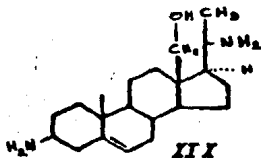


Los alcaloides con 2 átomos de nitrógeno en la molécula.

pueden ser subdivididos en tres grupos:

a).- Donde el átomo de C_{20} no está incorporado al anillo pertenecen a la clase de la holarrhina, la cual tiene como ejemplo la holarrhina misma (IX).

b y c).- Cuando el átomo de nitrógeno sobre el C_{20} forma un puente con el C_{18} resultan los grupos de la conarrhina y conkurchina.



En la primera el anillo nitrogenado está completamente saturado, en el de la conkurchina éste posee una doble ligadura en la posición 17-20 (79) de estos dos grupos las más conocidas son la conessina (XIII) y conessidina (XIV) respectivamente.

Los alcaloides diacídicos más conocidos del grupo del --pregnano son los que a continuación se enuncian:

a).- El grupo de la holarrhina cuyos ejemplos que más adelante se citan provienen de la *Holarrhena* antidi-sentérica. Holarrhidina ($C_{21}H_{36}N_2O$) cuya estructura pertenece al 3 alfa, 20 alfa diamino-18 hidroxi-pregn-5-eno.

Holarrhina ($C_{21}H_{36}N_2O$) que es el 3 beta, 20 alfa diamino 18 hidroxi-pregn-5-eno.

3-N-metil-holarrhina ($C_{22}H_{38}N_2O$) cuya fórmula es 20 alfa amino-18-hidroxi-3-beta metilamino-pregn-5-eno.

20-N-metil-holarrhina ($C_{22}H_{38}N_2O$) su estructura es 3-beta amino-18-hidroxi-20-alfa-metilamino-pregn-5-eno.

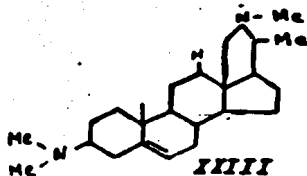
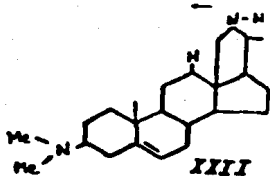
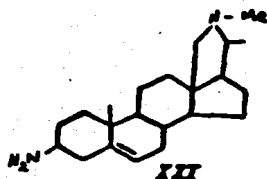
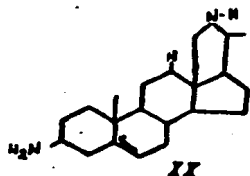
b).- Grupo de la conarrhimina, los ejemplos siguientes también se encuentran en la *H. antidysentérica* y son:

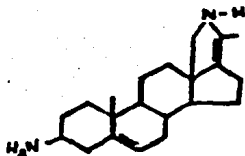
La conarrhimina ($C_{21}H_{34}N_2$) (IX), la conamina ($C_{23}H_{36}N_2$) (XII), la conessimina ($C_{23}H_{38}N_2$) (XIII) y la conessina ($C_{24}H_{40}N_2$) (XIV).

c).- El grupo de alcaloides de la konkurchina proviene al igual que los demás de la *H. antidysentérica*, de la cual tenemos los siguientes ejemplos: konkurchina ($C_{21}H_{32}N_2$) (XV), conessidina ($C_{22}H_{34}N_2$) (XVI), trimetil konkurchina ($C_{24}H_{38}N_2$) (XVII).

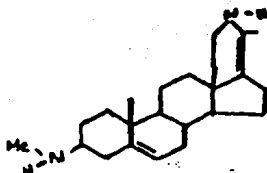
d).- Alcaloides no completamente caracterizados en su estructura, provenientes de la *H. antidysentérica*.

Conkurchinina ($C_{25}H_{36}N_2$), holarrhina ($C_{20}H_{38}N_2O_3$), kurchina ($C_{23}H_{38}N_2$), kurchesina ($C_{24}H_{40}N_2$).

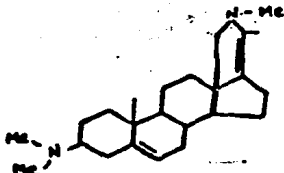




XIII



XIV



XVI

Dos características farmacológicas parecen tener los alcaloides del pregnano: hipotensiva y anestésico local y ambas propiedades no parecen estar dependientes del número o la posición de los átomos de nitrógeno. Por ejemplo la actividad hipotensiva se ha reportado en la kurchesina (80,81) y conestina (82,83,84) así como también en la juntuina y juntuindina (85) y alcaloides relacionados con el beta-D-glucósido del 20 alfa amino, 3 beta hidroxí-5-pregnen (77). La actividad de este último compuesto inspiró la síntesis de varios glicósidos relacionados con estos alcaloides y algunos de estos compuestos sintéticos solo mostraron actividad hipotensiva cuando se administraron por vía intravenosa a perros, no obstante algunos alcaloides parecidos a estos glicósidos fueron inactivos por vía oral. Por razones similares fué preparado sintéticamente para estudios farmacológicos el 20-glucósido de juntuindina (glucofuntuindina) (85).

La conessina y la holarrhina (82) presentaron elevación de la presión sanguínea antes de una depresión prolongada en el gato anestesiado. Estas sustancias también han mostrado estimulación intestinal y contracciones uterinas (80, 82); trabajos posteriores (87) mostraron que la conessina tiene acción como la quinidina y antagoniza a la acetil colina sobre el músculo liso y cardíaco; la funtumidina ha mostrado inhibición peristáltica del intestino del perro in situ (86).

La actividad anestésica local en alcaloides del pregnano (80, 84, 86) está más pronunciada que la de la cocaína (85, 87, 88, 89) pero producen una necrosis en el sitio de la inyección, por lo que no se utilizan clínicamente (87, 88). También han mostrado actividad antipirética (85) y aumentan la hipnosis de los barbitúricos.

La acción narcótica de la holarrhina y conessina solo se presenta en ranas pero no en mamíferos (82, 84).

La funtumidina está clasificada como tranquilizadora -- (90).

La conessina ha sido probada de una manera general como veneno protoplásmico, así que exhibe una toxicidad marcada hacia varios microorganismos, especialmente protozoarios (91, 92, 93, 94) también se ha visto que posee una ligera actividad contra parásitos de la Malaria ó helmintos. También se ha encontrado que tiene propiedades debilmente antituberculosas (95). Su toxicidad hacia la Entamoeba dysenteriae ha sido limitada en su uso desde el punto de vista clínico y se han hecho varios estudios en la India y otros lugares en los cuales se ha

comparado la eficacia con la emetina, los resultados indican que es inferior a ésta desde el punto de vista de amebicina - pero no como un potente emético.

En el hombre y el mono se han hecho estudios sobre su - distribución y es muy lenta (96,97). Varios autores sin embar - go, creen que la conessina no es una droga conveniente (98,99, 100).

TERCER GRUPO.

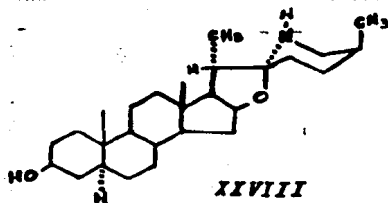
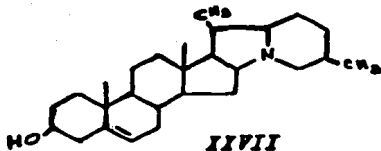
Se han aislado varios miembros de este grupo como alcali - nas libres ó glicósidos de mono, di y tetra sacáridos, pero - es posible que por lo menos alguna de las alcalinas y glicósi - dos inferiores se produzcan por hidrólisis de glicósidos supe - riores durante su aislamiento.

El grupo comprende alcaloides esteroidales en varias es - pecies de *Solanum* y por lo menos tres de estos se localizan - en varias especies del *Veratrum*; a saber:

Rubijervina que es la 12-beta-hidrox-solanidina, la iso - rubijervina (18-hidroxi-solanidina) y la isorubijervosina cü - ya estructura es el 3-glicósido de la isorubijervina. Estos - alcaloides están caracterizados por un esqueleto hexacíclico que contiene un anillo de piperidina; pueden ser subdivididos de acuerdo con la cercanía del átomo de nitrógeno de la piperidina y son:

A) Solanidano y

B) Spirisolano, representadas respectivamente por Soja - nidina (XIVVII) y Tomatidina (XIVVIII).



Entre los representantes de los alcaloides del grupo de la Solanidina están:

a).- Denitidina ($C_{27}H_{45}NO$) cuya estructura es ácido-3-beta hidroxil-5-alfa solanidano derivado alcaloidal; Denitina ($C_{50}H_{83}NO_{20}$) comprende una molécula de D-xilosa, d-galactosa y dos de D-glucosa, proviene de la *Solanum denitatum*.

b).- Rubiervina ($C_{27}H_{43}NO_2$) que está representada por la 3 beta, 12 alfa dihidroxil solanid-5-eno, se le encuentra en el *Veratrum album*.

c).- Solanidina ($C_{27}H_{43}NO$) su fórmula es 3 beta hidroxil-solanid-5-eno, su derivado alcaloidal: alfa Chaconina ($C_{45}H_{73}NO_{14}$) sus azúcares.- alfa L-Ramnopiranosil (1-2 glucosa), — alfa L-Ramnopiranosil (1-4 glucosa)-D-glucosa, su recurso natural deriva de varias plantas: *Solanum tuberosum*, *S. nigrum*, *S. dulcanara*, *S. chacoense*.

d).- Isorubiervina ($C_{27}H_{43}NO_2$) que es la 3 beta, 16-dihidroxil-solanid-5-eno. Su derivado alcaloidal: Isorubiervosina ($C_{33}H_{53}NO_7$) su azúcar la D-glucosa y su fuente botánica el *Veratrum album*.

El grupo representativo del Spirisolano:

a).- Solasodina ($C_{27}H_{43}NO_2$) su estructura es la 3 beta, — hidroxil 22 a, 25 L-spirosol-5-eno, derivado alcaloidal; Solasodamina ($C_{51}H_{83}NO_{20}$) que contiene: L-rhamnósido-, D-galactósido, D-glucosa, se le ha aislado en el *Solanum sodomeum*, *S. auriculatum*, *S. marginatum*, *S. aviculare*.

b).- Tomatidina ($C_{27}H_{45}NO_2$) cuya fórmula es: 5 alfa, 22b 25 L-spirosolan, 3 beta ol. El derivado alcaloidal: Tomatina, ($C_{50}H_{83}NO_2$) la que está constituida por el siguiente grupo — glicosídico una molécula de D-xilosa y D-galactosa y dos moléculas de D-glucosa; se le encuentra en el *Lycopersicon pimpinellifolium*, *L. esculentum*, *L. peruvianum*, *L. polyadenum*.

En los estudios que se han hecho se citan numerosos venenos naturales de varias especies del *Solanum* atribuibles a la presencia de alcaloides del tipo del colestano (101, 102, 103, - 104, 105); por ejemplo en las papas germinadas que por medio de la luz solar se han enverdecido contienen una cantidad de solanina y su aglicon solanidina, cuando son ingeridos estos brotes los que junto con otros casos han sido descubiertos por Willimott (106).

Se han hecho la más extensiva investigación en alcaloides del grupo del colestano desde el punto de vista biológico en la alfa solanina (solamina) pero se ha visto que están constituidas por seis componentes en las muestras comerciales (107).

El grupo de alcaloides del colestano muestra cierta semejanza en propiedades farmacológicas a los del grupo del pregnano.

La solanocapsina que también pertenece al grupo del Spirosolano ($C_{27}H_{46}N_2O_2$) cuya fórmula perteneciente es la 3-alfa-amino-X-hidroxi-spirosolano, su recurso vegetal: *S. pseudo-capsicum*; se ha demostrado que estimula el ritmo del corazón (108).

La solanina así como la conessina han demostrado tener propiedades de anestésico local (109). La rubijervina y varios de sus ésteres sintéticos tienen propiedades hipotensas (110). La solanina y solasonina producen hemólisis (111, 112, 113), la solanina disminuye la catalasa sanguínea e inhibe la colinesterasa (114) es también un veneno miótico (115).

El descubrimiento de que los extractos de hojas de tomate presentaban actividad antifúngica y antibacteriana, llevaron al aislamiento de la tomatina (116). Las hojas de *Solanum demissum* fueron resistentes al escarabajo de la papa, *Lep tinotarsa decemlineata* y dió como resultado la separación de la demissina (117), otros alcaloides glicósídicos del tipo del

colestano, tienen también la habilidad de prevenir el ataque - por el escarabajo de la papa, por orden de potencia son: leptina, tomatina, demisina, alfa solanina y alfa chaconina (118).

Varios estudios se han dedicado a la investigación de propiedades antimicrobianas. La tomatina y varios de sus alcaloides son antifúngicas (119,120), y la solanocapsina se dice - que posee actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* (121). Se han preparado un gran número de compuestos del tipo de glicósidos de la solanina, pero no han aparecido sus estudios farmacológicos y no han sido investigados biológicamente (122).

CUARTO GRUPO.

Los alcaloides completamente caracterizados que poseen - el esqueleto modificado ó "Jervi" en el cual el anillo C es - de 5 miembros y el anillo D es de 6 miembros. Se dividen estos alcaloides convenientemente en dos grupos; además de los - alcaloides cuya constitución química no está conocida, por ejemplo los alcaloides de la fritillaria y que forman una tercera - subclase.

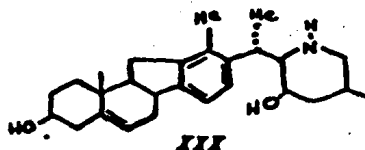
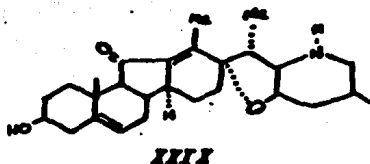
El primer grupo que consiste de alcaloides cuyo núcleo - es una alcamina posee un átomo de nitrógeno secundario y contiene solamente de dos a tres átomos de oxígeno.

Se encuentran en la naturaleza como alcaminas libres ó - como su D-glucósidos y pueden ser nombrados como:

a) Alcaloides derivados del *Jerveratrum* (123) de este tipo tenemos la jervina y veratramina.

La jervina ($C_{27}H_{39}NO_3$) (XXIX) el derivado alcaloidal, - pseudojervina ($C_{33}H_{49}NO_8$) provienen de los *Veratrum album*, *V. viride*, *Schoenocaulon officinale*.

La veratramina (XXX) ($C_{27}H_{49}NO_2$) su derivado alcaloidal - la veratrosina ($C_{23}H_{49}NO_7$), se encuentra en el *Veratrum album* y *V. viride*.



b).- La otra subclase a los que pertenecen el grupo Cev
eratrum, consiste de alcaloides cuyas alcalinas son bases ter-
ciarias polihidroxiladas que poseen de 7 a 9 átomos de oxíge-
no e incorporando al sistema un anillo de la quinolizidina.
Los alcaloides del Ceveratrum se encuentran en una variedad
de especies del Veratrum Zygadenus y son los agentes respon-
sables de la naturaleza venenosa de estas plantas (124,125).

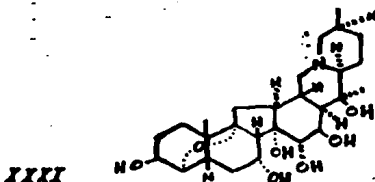
El grupo Ceveratrum ha sido aislado como alcalina libre
o como mono, di, tri o tetra ésteres de varios ácidos orgáni-
cos. En este grupo se encuentran:

La germina, protoverina y sabina.

La germina ($C_{27}H_{43}NO_9$) algunos derivados éster alcaloi-
des de ella; germerina ($C_{37}H_{59}NO_{11}$), germitrina ($C_{39}H_{61}NO_{12}$)
protoveratridina ($C_{32}H_{51}NO_9$).

La protoverina ($C_{27}H_{43}NO_9$) sus derivados éster alcaloi-
des son: escolerina ($C_{41}H_{61}NO_3$), protoveratrina A ($C_{41}H_{63}O_{14}$),
protoveratrina B ($C_{41}H_{63}NO_{15}$).

La alcalina mas representativa del grupo del Ceveratrum
es la germina (XXX) la cual presenta además un grupo alfa-
epóxido entre C_4 y C_9 .



Se ha encontrado que ésteres de alcaloides del *Veratrum*; mas particularmente los tri y tetra ésteres son los agentes responsables de las propiedades hipotensivas presentes en los extractos crudos de los alcaloides del *Veratrum*.

Los alcaloides del *Veratrum* (tanto alquil aminas como glicósido) se caracterizan por su habilidad para antagonizar la acción cardio aceleradora de la estimulación del nervio simpático o de aminas simpático-miméticas (126).

Este efecto se pensó que tiene una acción altamente selectiva por elevar el ritmo del corazón, que no es mostrado por agentes bloqueantes-adrenérgicos; de acuerdo con el termino agente antiacelerador que ha sido inventado para describir aquellos compuestos que exhiban esta acción farmacológica particular, así que la actividad antiaceleradora está ausente en los alcaloides terciarios del *veratrum* y se concluye que tal actividad está asociada con su átomo de nitrógeno secundario, incorporado a un anillo de piperidina (127) y entendiendo a este tipo de propiedades se prepararon esteroides sintéticos poseyendo un anillo de piperidina en la cadena lateral (128).

Entre los cuales estan incluidos varios compuestos que se prepararon por ruptura de la ligadura éster, en derivados del spirazolano.

Estos compuestos se probaron por demostrar actividad, pero investigaciones posteriores demostraron que la actividad antiaceleradora está presente en esteroides con un grupo amino terciario y en los esteroides con un grupo amino secundario, en los cuales el átomo de nitrógeno no forma parte del anillo de la piperidina.

Se demostró que la veratrina disminuye el consumo de oxígeno del tejido arterial sin ningún aumento en la compresión, en altas dosis la veratrina produce excitación del sis

tema nervioso central (129) mientras que la jervina produce hipotensión (130).

Los alcaloides sintéticos de la germina fueron desprovistos de acción hipotensiva.

La esterificación de la posición 16 disminuye altamente la actividad, las posiciones 6 y 7 necesitan no estar esterificadas para su actividad, la esterificación de una cadena ácida en la posición 15 es ventajosa; y no de gran importancia en la posición 3 y desventajosa en la posición 7.

En los alcaloides de los ésteres del *Ceveratrum* es compleja su farmacología, el efecto más pronunciado en dosis terapéutica es la producción de hipotensión; en forma diferente de todos los demás hipotensores, no actúa sobre los vasos sanguíneos, la depresión va acompañada de depresión respiratoria (131).

Otras acciones del éster *Ceveratrum*. Se le ha encontrado actividad insecticida al grupo *Ceveratrum*, a polvos y extractos preparados de la semilla de varias especies de *Schagocaulon* (semilla sabadilla) (132,133,134,135) esto se ha propagado a los alcaloides del *Ceveratrum* a partir de varias especies de *Veratrum* (136,137).

Las semillas de sabadilla con cal presentaron actividad hipotensiva, las alcaninas fueron inactivas como insecticidas; se cree que su acción como insecticida de los ésteres de *Ceveratrum* es sobre sistemas enzimáticos (138,139,140,141).

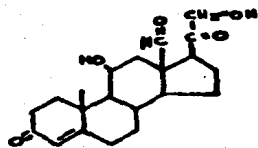
ALCALOIDES DE LA FRITILLARIA.

Este grupo parece tener el mismo esqueleto del *Ceveratrum* pero solo posee 2 ó 3 grupos hidroxilados (142). Entre otros alcaloides pertenecientes a este grupo se encuentran: la alginina ($C_{23}H_{39}NO_3$); peimina ($C_{27}H_{45}NO_3$); peimicina ($C_{27}H_{43}NO_4$); peimifina ($C_{27}H_{43}NO_3$).

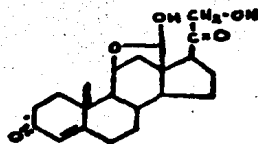
Teniendo en cuenta todos estos antecedentes se pensó en sintetizar esteroides nitrogenados de la serie del androsta - no, en el cual el grupo básico para la modificación del esteroide es un agrupamiento metil amino colocado en la posición 6 del núcleo esteroidal.

Hasta hace poco tiempo eran totalmente desconocidos los procedimientos químicos para hacer que los grupos metilo angulares de C_{18} y C_{19} del núcleo esteroidal entraran en reacción química, sin embargo se conoce que este tipo de transformaciones se verifican por procesos de vía enzimática en la naturaleza.

La posición C_{18} de la molécula de los esteroides se ha considerado de gran importancia ya que ésta es una posición básica relacionada con la actividad de muchos esteroides de origen natural; así por ejemplo es la aldosterona (XXXII) - que está en equilibrio con la fórmula hemiacetalica (XXXIII) - tiene la posición C_{18} oxigenada y debido a esta causa tiene ciertas características importantes relacionadas con la actividad de los compuestos mineralocorticoides (145).



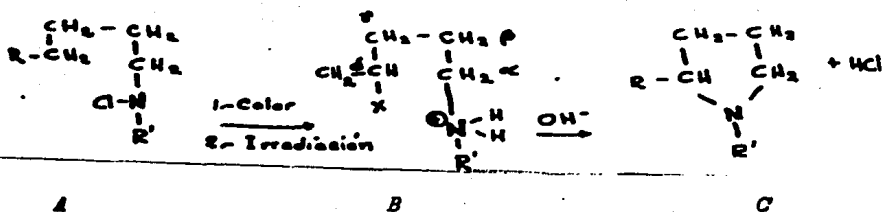
XXXII



XXXIII

En igual forma la conessina (XVIII) que es un alcaloide esteroideal posee en el átomo de C_{18} un agrupamiento nitrogenado, el cual junto con el átomo en C_{20} de la cadena del pregnano forma un heterociclo de 5 miembros el cual se ha considerado como principal causante de las propiedades farmacológicas de este esteroide, las que ya se mencionaron anteriormente - (146). Considerando lo último, varios investigadores han sintetizado este tipo de esteroides, los cuales por varios métodos han logrado que la posición en C_{18} sea reactiva. La cual comprende la introducción de una función nitrogenada en la posición 18 del esteroide. Estos métodos descritos por Corey (147) y Jeger (148) muestran una aplicación de la reacción de Hofmann-Löffler-Freytag (150). Esta reacción es utilizada para convertir una cloramina alifática cuya fórmula general está representada por (A). En su correspondiente derivado heterocíclico representado por la fórmula (C) en la cual la función nitrogenada está incorporada al nuevo anillo de la pirrolidina ó piperidina; este procedimiento se efectúa en medio fuertemente ácido.

Tratando en estas condiciones la *N*-halo-amina (A) inicialmente con calentamiento seguido por irradiaciones para dar así: (C).



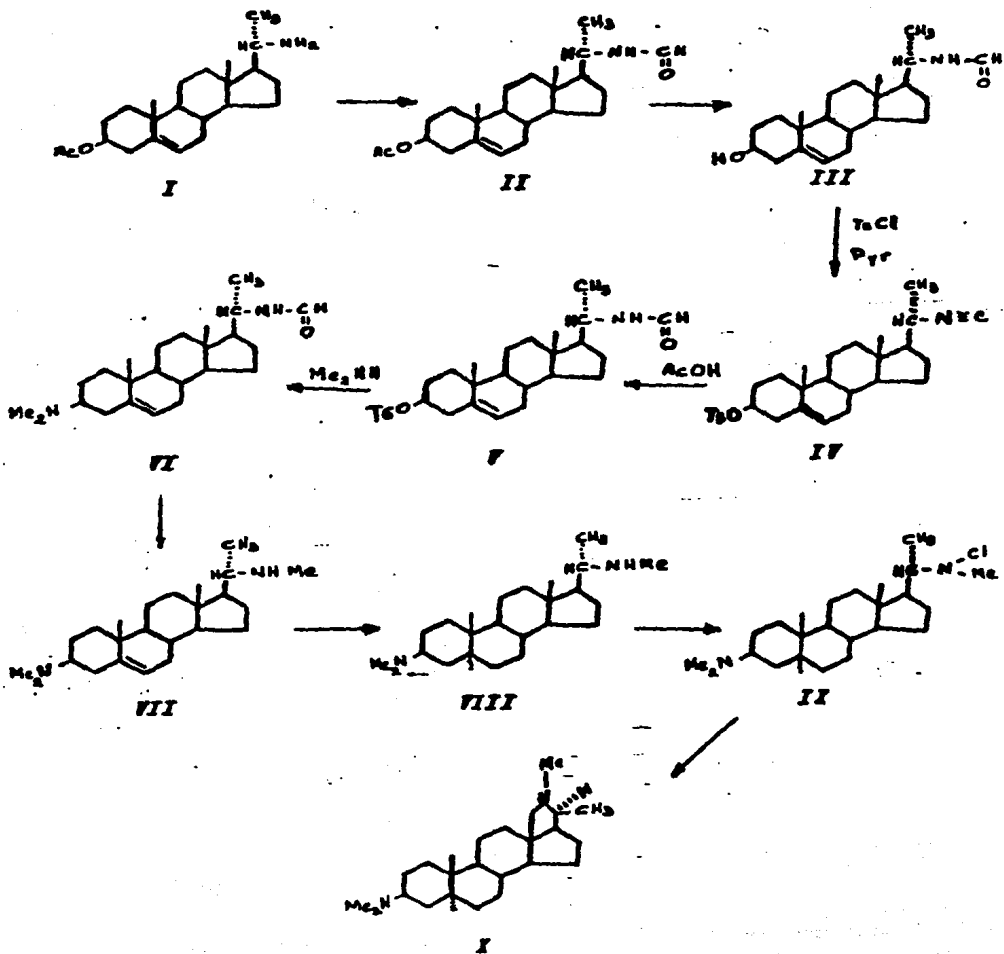
La correspondiente gama δ delta, haloamina, la cual se puede aislar bajo condiciones especiales. Sin embargo generalmente este halogenuro de alquilo intermediario (B), se cl l i s a directamente por tratamiento con álcali para dar así el compuesto nitrogenado heterocíclico (C).

Una aplicación de esta reacción en el campo de los este roides fué efectu ada por Corey (147) para obtener la dihidro conessina (I), el cual es un alcaloide esteroideal cuyo átomo en C_{18} está unido al átomo en C_{20} por medio de un átomo de nitrógeno, el cual a su vez posee un grupo metilo considerando este compuesto como un derivado del ciclo-pentano-perhidro fenantreno, el cual posee el anillo heterocíclico de cinco miembros de la N-metil-pirrolidona, fusionado al núcleo esteroideal.

Es interesante esta síntesis efectuada por estos inves tigadores, ya que por aplicación de la reacción de Hofmann-Löffler, logran activar el metilo angular en C_{18} a partir del núcleo del pregnano. Esta síntesis se encuentra en el ES QUEMA I consiste primeramente en tratar el compuesto 20 alfa aminado, del 3 acetato del delta 5 pregnen 3 beta ol (I) con ácido fórmico mezclado en anhídrido acético a temperatura de reflujo de la mezcla susodicha, para dar así: el 3 acetato del 20 alfa formamido delta 5 pregnen-3beta-ol (II), este compuesto subséquentemente se saponifica en C_3 por reacción

con carbonato de potasio en solución etanólica, para dar el correspondiente derivado: 3-beta-hidroxiado libre (III). El tratamiento de este compuesto formamido-3beta-alcohólico (III) con un exceso de cloruro de p-toluen-sulfonil en solución piridínica, produjo la esterificación en el oxhidrilo de C₃ - pero simultáneamente en esta reacción hay eliminación de agua correspondiente al grupo 20 alfa formamido para producir en su lugar un grupo isonitrilo; en esta forma se obtuvo el 3-tosilato del 20 alfa isociano, delta-5-pregnen-3-beta ol (IV). Mediante posterior tratamiento de este compuesto isociánico esteroideal con una mezcla de ácido acético y éter, se produce la hidratación del agrupamiento isonitrilo para dar el compuesto 3-tosiloxi-20-alfa-formamido (V); por tratamiento de este producto con dimetil amina en presencia de dimetil formamida se obtuvo el 3-beta-dimetil-amino-20-alfa-formamido-delta-5-pregneno (VI) la reducción de este compuesto con hidruro de litio y aluminio dió el 3-beta-dimetil-amino-20-alfa metil-amino-delta-5-pregneno (VII), este compuesto 3,20-diaminado se hidrogenó, con ácido acético en presencia de óxido de platino como catalizador; se obtuvo el 3-beta-dimetil-amino 20-alfa-metil-amino-alo-pregnano (VIII), el cual mediante tratamiento con N-cloro-succinimida dió el correspondiente derivado N-clorado (IX). Por subsecuente irradiación en solución de ácido sulfúrico con luz ultravioleta produjo finalmente la Dehidro-conessina (X) con un rendimiento aceptable. Esta dehidro conessina resultó idéntica a la obtenida por hidrogenación catalítica de Conessina.

ESQUEMA I.



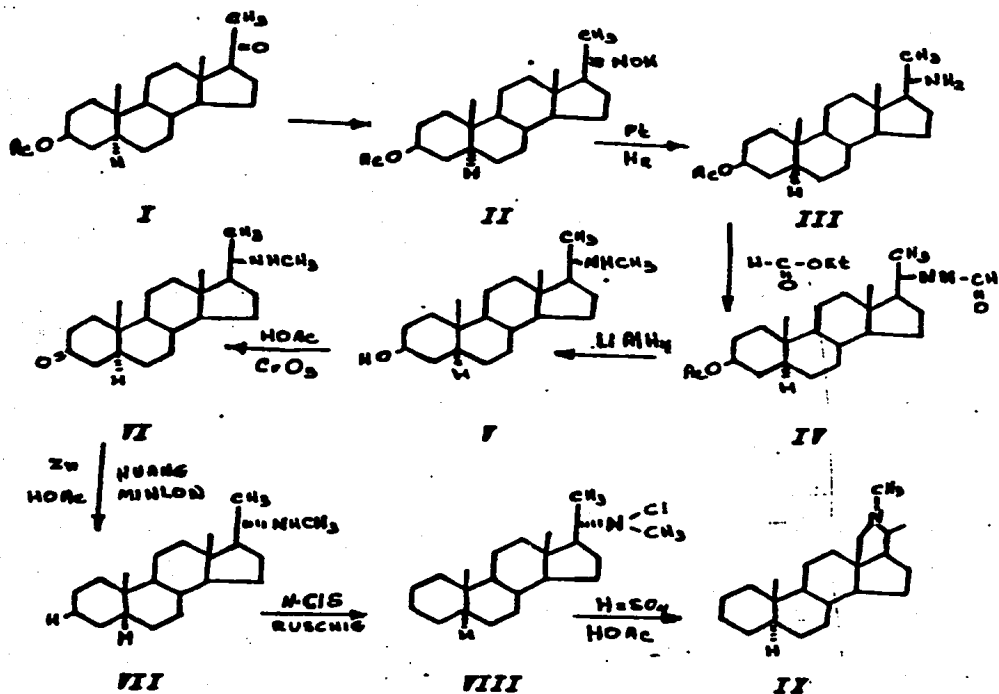
Otra aplicación de la reacción de Hoffmann-Löffler para introducir una función nitrogenada en C_{18} de un esteroide - fue hecha por O. Jeger y colaboradores relacionados con la - síntesis del alcaloide esteroideal conamina (148) la cual se - representa en el esquema 2. El material de partida fué el - acetato de la 5-alfa-pregnan-3-beta-ol-20-ona (I) el cual - se convirtió por medio de la oxima (II) al acetato 3 beta - 20-alfa-amino, 5-alfa-pregnan-3-beta-ol (III) el que con for- miato de etilo produce su derivado *N*-formílico (IV) mediante posterior reducción de este compuesto con hidruro de litio y aluminio produce el 20-alfa- *N*-metil-amino-5-alfa-pregnan-3 beta-ol (V).

La oxidación de este derivado 3-hidroxilado-20-alfa-*N*- metil-amino-esteroideal con trióxido de cromo en ácido acético se obtiene el derivado 3 cetónico (VI), el cual por re - ducción por el procedimiento de Huan-Minlon produce el 20-al fa-*N*-metil-amino-5-alfa-pregnano (VII) el hidrógeno residual del correspondiente grupo aminado de C_{20} es sustituido por - un átomo de cloro de acuerdo con el procedimiento de Ruschig y colaboradores (149) para producir así el correspondiente - derivado 20-alfa-*N*-cloro.-metilamino-5-alfa-pregnano (VIII) finalmente este compuesto fue ciclizado por tratamiento con - una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y ácido acético, - para dar así la conamina (IX). Como se ve estos investigado - res hicieron posible activar la posición angular en C_{18} del núcleo esteroideal mediante la formación de su derivado hete - rocíclico nitrogenado (IX).

Basándose en estas antecedentes, se pensó hacer la in - troducción directa de una función nitrogenada en C_{19} de la - molécula del androstano, ya que los trabajos de Corey y Je - gér anteriormente descritos lograron hacer la funcionaliza - ción del grupo metilo angular en C_{19} mediante un agrupamien -

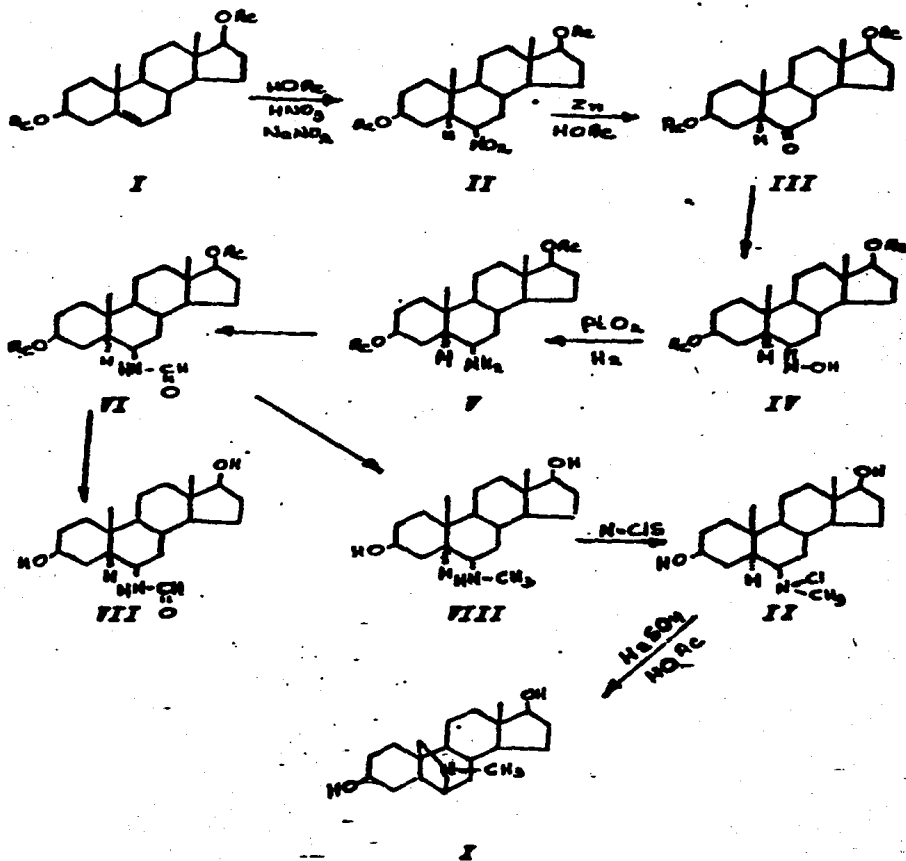
to *N*-metilamino colocado en la posición adyacente en C₂₀ de la cadena lateral del pregnano.

ESQUEMA 2.



Así que tomando en cuenta estas consideraciones se pensó sintetizar el compuesto intermediario básico que posea el agrupamiento *N*-metilamino susodicho en C₆ adyacente al anillo angular en C₁₉ de la molécula del androstano. Y la secuencia de reacciones efectuadas para ello está representado en el ESQUEMA 3.

ESQUEMA 3.



DISCUSION.

De acuerdo con la síntesis de Jeger anteriormente bosquejada fué necesario para introducir un agrupamiento nitrogenado en la molécula esteroidal, un agrupamiento cetónico - el cual mediante su transformación a la correspondiente oxima produce el respectivo derivado aninado, por reducción de este mismo.

En la presente tesis el compuesto de partida fué el diacetato del delta 5 androsten 3 beta, 17 beta diol (I) del esquema 3 el cual se convirtió a su correspondiente derivado 6 beta nitrado (II), de acuerdo con el procedimiento de Garnaise y Shoppe (151) por tratamiento del diacetato susodicho (I) con nitrito de sodio, en una mezcla de ácido acético. El diacetato del 6 beta nitro androsten 3 beta, 17 beta diol - (II) así obtenido se redujo con zinc en ácido acético para producir el correspondiente derivado 6 cetónico desado (III). La reacción de este último compuesto con clorhidrato de hidroxilamina en solución piridínica, produjo (IV) que es una oxima esteroidal, la cual por reducción subsecuente mediante hidrogenación catalítica en ácido acético y usando como catalizador óxido de platino dió el 3,17 diacetato del 6 beta amino 5 alfa androsten-3 beta, 17 beta diol (V). Por calentamiento a la temperatura de reflujo del compuesto 6 beta aninado con formiato de etilo, se obtuvo el correspondiente derivado formamido esteroidal (VI); el que mediante tratamiento a temperatura ambiente o temperatura de reflujo con hidruro de litio y aluminio en solución de tetrahydrofurano, produjo el respectivo derivado: 3,17 dihidroxilado libre (VII) sin lograrse la reducción del grupo 6 beta formamido al grupo metil como lo realizaron los investigadores mencionados con anterioridad. Tomando en cuenta este resultado se sustituyo el tetrahydrofurano por dioxano, el cual posee un punto

de ebullición más elevado y la reacción de reducción del esteroide se efectuó con el mismo hidruro, prolongando además el tiempo de la reacción para dar el 6-beta-N-metilamino-5-alfa androstan-3-beta-17-beta-ol (VIII).

Obteniendo este último derivado en el cual el agrupamiento 6-beta-metil adyacente a la posición 19 del androstan; se pensó sintetizar finalmente el compuesto N-metil-heterocíclico del androstan 3,17-beta diol (X) el cual podría poseer cierta actividad de importancia biológica relacionada con la de los alcaloides esteroidales enunciados en la parte introductoria para ésto se trató de obtener el compuesto intermediario: 3 beta-N-Cl-metil aminado (IX) de acuerdo con el procedimiento de Ruschig (149) el que consistió en hacer reaccionar el derivado 6-beta-metil-aminado (VIII) con N-Cl-succinimida, para producir el derivado N-clorado (IX), el que a su vez por subsecuente reacción de Hofmann-Löffler (irradiación con luz ultravioleta en mezcla de ácido sulfúrico y ácido acético) podría producir el compuesto heterocíclico deseado.

Pero todos los intentos efectuados para obtener el compuesto N-clorado fueron negativos. Así que como producto final de este trabajo realmente obtenido e identificado, fué el compuesto 6-beta-metil-amino-5-alfa androstan-3-beta-17-beta-diol el cual presenta un agrupamiento nitrogenado con posibles influencias en la actividad biológica de esta hormona sintética. La cual se está ensayando biológicamente en los laboratorios y en el futuro se darán a conocer los resultados obtenidos.

PABTE EXPERIMENTAL.

3,17 DIACETATO 6 NITRO 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL.

Este compuesto 6 nitrado se preparó fundamentalmente como lo describe Garmaise y Shoppe (151).

A una solución de 20 g del diacetato del delta 5 androsten 3 beta, 17 beta diol en 300 ml de ácido acético se le agregaron en pequeñas porciones 200 ml de ácido nítrico fumante, cuidando que la temperatura de la mezcla no excediera de 20°C. Posteriormente se adicionaron 12 g de nitrito de sodio en la misma forma; la mezcla resultante se agitó durante una hora más, se diluyó con agua fría. La cantidad de producto crudo fué de 20 g con punto de fusión 100-105 °C el cual se usó en el siguiente paso sin posterior purificación.

DIACETATO DE LA 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL 6 ONA.

Se disolvieron 20 g del derivado crudo 6 nitrado esteroi dal precedente, en 96 ml de ácido acético, el cual contenía 20 ml de agua y se agregaron 40 g de polvo de zinc, mientras se mantenía una agitación constante de tal manera que la temperatura no excediera de 40°C. La mezcla obtenida se calentó durante 4 horas, se enfrió y se filtró. La totalidad del ácido acético excedente se eliminó por destilación al vacío y el residuo resultante se diluyó con agua fría, el producto se filtró, se lavó a neutralidad y se secó. La recristalización de metanol produjo 14.5 g del diacetato de la 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol 6 ona con punto de fusión de 167-170 °C. (dato en la literatura 164-176 °C).

3,17 DIACETATO DE LA 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL, 6-ONINA.

A una solución de 15 g de la 6 cetona esteroi dal obtenti-

da en la reacción anterior, en 375 ml de piridina se le agregó una solución de 15 g de clorhidrato de hidroxil amina en 90 ml de agua y la mezcla se calentó a reflujo durante 18 horas. Después de enfriar la mezcla se diluyó con agua fría y se filtró. El producto se lavó con agua hasta reacción neutra y se secó obteniendo 13.2 g de la oxima cruda con p.f. - 233-240 °C. La muestra analítica de esta misma se preparó mediante varias cristalizaciones de metanol dando así un p.f. de 250-251 °C. $[\alpha]_D^{25} \text{CHCl}_3 -68^\circ$.

Análisis calculado:

Para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{N}$: C = 68.12; H = 8.70; O = 19.73; N = 3.45

encontrado: C = 67.89; H = 8.70; O = 19.83; N = 3.70

3,17 DIACETATO DEL 6 BETA AMINO 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL.

Se hidrogenaron 10.6 g de la oxima del diacetato de la 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol 6 ona; disueltos en 150 ml de ácido acético en atmósfera de hidrógeno y empleando como catalizador 1.3 g de dióxido de platino. Inicialmente la presión dentro del hidrogenador fué de 50 p.s.i. y la reacción se continuó a temperatura ambiente durante 16 horas al final de las cuales se observó que la presión debida al hidrógeno disminuyó a 5 p.s.i..

El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró a un volumen pequeño por destilación al vacío. Posteriormente al residuo se le agregó agua caliente en cantidad suficiente para su disolución y se trató cuidadosamente con una solución saturada de bicarbonato de sodio en agua. La oxima precipitada se filtró, se lavó a neutralidad y se secó para dar 10.3 g del 3,17 diacetato del 6 beta amino 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol con p.f. 135-138°C. Recristalizando con hexano se obtuvo una muestra analítica con p.f. 145-147°C. $[\alpha]_D^{25} \text{CHCl}_3 -29^\circ$.

Análisis calculado:

Para $C_{23}H_{37}O_4N$: C = 70.57; H = 9.53; O = 16.35; N = 3.58

Encontrado C = 70.45; H = 9.58; O = 16.10; N = 3.79

DIACETATO DEL 6 BETA FORMANIDO 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 - BETA DIOL.

Se calentó a reflujo durante 4 horas una mezcla de 3.4g de 3,17 diacetato del 6 beta amino 5 alfa androstan 3 beta - 17 beta diol y 60 ml de formiato de etilo. El solvente se eliminó por destilación bajo presión reducida para producir - así 3.4 g de un producto cristalino que corresponde al compuesto 6 formamido esteroidal con p.f. 241-243 °C.

Por sucesivas recristalizaciones de este compuesto de - acetona-hexano se obtuvo la muestra analítica con p.f. 247-250°C. $[\alpha]_D^{25} CHCl_3 -62^\circ$.

6 FORMANIDO 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL.

Se agregó gota a gota y con agitación constante una solución de 5g del 3,17 diacetato del 6 beta formamido 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol, en 50 ml de tetrahidrofurano anhidro sobre una suspensión de 3 g de hidruro de litio y aluminio también en 50 ml del mismo solvente, después que se terminó la adición, la mezcla se mantuvo a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 horas. El exceso de hidruro de litio y aluminio se destruyó por la adición cuidadosa de acetato de etilo. Se agregó una solución saturada de sulfato de sodio en agua, seguida del mismo compuesto inorgánico sólido. La mezcla se filtró y el material inorgánico se lavó perfectamente bien con éter y los filtrados orgánicos - combinados se evaporaron a sequedad. El residuo crudo se recristalizó en acetona para producir 2.5 g del 6 formamido 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol con p.f. 249-250°C. Mediante posteriores recristalizaciones de metanol se obtuvo -

la muestra analítica con p.f. 251-252 °C. $[\alpha]_D^{25} \text{CHCl}_3 -34$.

Análisis calculado:

Para $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}_3$: C = 71.70; H = 9.92; O = 14.31; N = 4.18

Encontrado: C = 71.34; H = 9.87; O = 14.85; N = 4.29.

6 BETA N-METIL AMINO 5 ALFA ANDROSTAN 3 BETA, 17 BETA DIOL.

A una suspensión de 3 g de Nitruro de litio y aluminio en 60 ml de dioxano anhidro se le agregó gota a gota mientras se mantenía en agitación intensa, una solución de 2 g del 3,17 diacetato del 6 beta formamido 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol en 60 ml de dioxano anhidro.

La mezcla se calentó a reflujo durante 48 horas. El producto orgánico esteroideal se aisló siguiendo la técnica descrita en el experimento anterior, produciendo así 2.0 g del 6 beta N-metil amino 5 alfa androstan 3 beta, 17 beta diol, grado con p.f. 173-177°C el cual se elevó a 180-181°C mediante varias recristalizaciones de acetona.

Análisis calculado:

para $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{O}_2$: C = 74.71; H = 10.97; O = 9.97; N = 4.36

Encontrado: C = 74.32; H = 11.09; O = 9.56; N = 4.66.

CONCLUSIONES.

El objeto principal de este estudio fué la síntesis de un derivado del androstano con una función nitrogenada en el grupo metil angular del C_{19} . Se esperaba realizar la conversión del derivado 6 beta *N*-metil amino a su derivado *N*-cloroaminado, necesario para la ciclización de acuerdo con la reacción de Hofmann-Löffler-Freytag (150). Sin embargo se desarrolló una síntesis satisfactoria de la hasta ahora desconocido 6-*N*-metil androstan 3 beta, 17 beta diol.

La preparación accesible de este derivado 6 aminado secundario sustituido esteroidal, hace posible un estudio más amplio para la reacción destinada a producir su derivado *N*-cloroaminado y la ciclización posterior del producto, de acuerdo con la reacción antes mencionada.

Además este compuesto 6-*N*-metilaminado, es de gran interés para su estudio biológico, el cual se está realizando en la actualidad, ya que es un esteroide nitrogenado el que quizás posea ciertas actividades farmacológicas muy semejantes a la de ciertos alcaloides esteroidales.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abreu, B.E. (1959) in hipertension, editor J. Mayer, p.p. 327-339, Philadelphia: Saunders.
- 2.- Hoobler, S.W. and Donta, A. (1953) *Pharmacol. Rev.* 5, — 151-157.
- 3.- Krayer, O. (1958) in *Pharmacology in Medicine*, 2nd. Ed., Editor V.A. Drill, p.p. 515-526, New York; Mc. Graw-Hill.
- 4.- Stoll, A. (1954) *Gazz. Chim. Ital.* 84, 1190-1209.
- 5.- Krayer, O. and Acheson, G.H. (1946) *Physiol. Rev.*, 26, — 383-446.
- 6.- Voigt, K.D. and Kallistrator, G. (1957) *Endokrinologic*, — 35, 56-64.
- 7.- Clinton, R.O., Hanson, A.J., Stonner, F.V., Beyler, A.L., Potts, G.O. and Arnold, A. (1959) *J. Amer. Chem. Soc.* 81, 1513-1514.
- 8.- Clinton, R.O., Hanson, A.J., Stonner, F.V., Neumann, H.C., Christiansen, R.G., Clarke, R.L., Ackerman, J.E., Page, D. F., Dean, J.V., Dickenson, W.B. and Carabateas, C. (1961b) *J. Amer. Chem. Soc.* 83, 1478-1491.
- 9.- Clinton, R.O., Hanson, A.J., Stonner, F.V., Christiansen, R.G., Beyler, A.L., Potts, G.O. and Arnold, A. (1961a) *J. Org. Chem.* 26, 279.:
- 10.- Howard, R.P., Norcia, L.N., Peter, J.A. and Furman, R.H. (1959) *J. Amer. Chem. Soc.* 81, 1513-1514.
- 11.- Zderic, J.A, Halpern, O., Carpio, N., Ruiz, A., Limón, D. C., Magaña, L., Jimenez, N., Bowers, A. and Ringold, H.J. (1960) *Chem. and Ind.* 1625-1626.
- 12.- Rhong-Poulenc (1960) *Derivent Fine Chemicals Patent J.*, 207, (6) 3 A, No. 847,445.
- 13.- Janot, M.M., Lainé, P. y Goutarel, R. (1960) *Ann. Pharm. Franc.* 18, 673-677.

- 14.- Quevauviller, A. and Lainé, F. (1960) *Ann Pharm. Franc.* 18, 678-680.
- 15.- Goutarel, R. (1961) *Tetrahedron*, 14, 126-137.
- 16.- La Barre, J. and Desnazes, J.J. (1959) *Arch. Int. Pharmacodyn* 119, 514-516.
- 17.- Neilman, E. and Krayer, O. (1952) *Circulation* 6, 212-221.
- 18.- Neilman, E. (1959) in *hipertension*, Editor J. Moyer, p.p. 395-399. Philadelphia: Saunders.
- 19.- Robson, J.H. and Keels, C.A. (1956) *Recent Advances in -- Pharmacology*, p.p. 82-86, 2nd. Ed., London: Churchill.
- 20.- Finnerty, P.A. and Fuchs, C.J. (1953) *Amer. J. Obst. Gy-- nec.* 66, 830-841.
- 21.- Neilman, E. (1953) *J. Clin. Invest.*, 32, 80-89.
- 22.- Krupp, P.J., Farris, C., Pierce, C. and Jacobs, A. (1956) *Amer. J. Obst. Gynec.* 71, 247-254.
- 23.- Acton, H.W. and Chopra, R.N. (1933) *Indian Med. Gaz.*, 68, 6.
- 24.- Tanguy, F., Robin, C. and Raoult, A. (1948) *Med. Trop.*, 8, 12.
- 25.- Lavier, G., Crosnier, R. and Nerle, F. (1948) *Bull. Soc. Path. Exot.* 41, 548.
- 26.- Arnold, A., Beyler, A.L. and Potts, G.O. (1959) *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, 102, 184-187.
- 27.- Potts, G.O., Beyler, A.L. and Burnham, D.F. (1960) *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, 103, 383-384.
- 28.- Kawasaki, T. and Mosetting, E. (1959) *J. Org. Chem.*, 24, 2071-2072.
- 29.- Schaub, R.E. and Weiss, N.J. (1961) *J. Org. Chem.* 26, -- 3915-3925.
- 30.- Takeda, K., Kubota, T. and Kawanami, J. (1960) *Pharm. -- Bull., Tokio* 8, 615-620.
- 31.- Bowers, A., Ibañez, L.C., and Ringold, H.J. (1959) *J. -- Amer. Chem. Soc.* 81, 3707-3710.
- 32.- Bowers, A., Sánchez, N.B. and Ringold, H.J. (1959) *J. -- Amer. Chem. Soc.* 81, 3702-3706.

- 33.- Bowers, A. and Ringold, H.J. (1959) *J. Amer. Chem. Soc.* 81, 3710-3712.
- 34.- Dannenberg, H., Dannenberg Von Dresler, D. and Köhler, T. (1960) *Chem. Ber.* 93, 1989-1998.
- 35.- Dannenberg, H., Doering, C.H. and Dannenberg, Von Dresler, D. (1959) *Hoppe Seyl. Z.*, 317, 174-181.
- 36.- Patton, T.L. (1959a) *Chem. and Ind.* 923-924.
- 37.- Patton, T.L. (1960) *J. Org. Chem.* 25, 2148-2152.
- 38.- Hebo, H. (1951) U.S. Patent 2,557,655 in *Chem. Abstr.* --- (1952) 46, 3094.
- 39.- Toth, J., Tuba, Z. and Szporny, L. (1961) *Nature*, London, 191, 607.
- 40.- Leanza, V.J., Conbers, J.P., Rogers, E.F. and Pfister, K. (1954) *J. Amer. Chem. Soc.* 76, 1691-1694.
- 41.- Atwater, N.V., Bible, R.H., Brown, E.A., Burtner, R.H. W i n i n a, J.S., Nysted, L.N. and Sollman, P.B. (1961) *J. Org. Chem.* 26, 3077-3083.
- 42.- Barter, F.C. (1960) *The Clinical U.S. of Aldosterone Antagonists* Springfield, Illinois: Thomas.
- 43.- Barnett, J., Ryman, B.E. and Smith, F. (1946a) *J. Chem. Soc.* 524-526.
- 44.- Barnett, J., Ryman, J., Ryman, B.E. and Smith, F. (1946b) *J. Chem. Soc.* 528-530.
- 45.- Schering (1955) *Brit. Patent* 735,568 in *Chem. Abstr.* --- (1956) 50, 7872.
- 46.- James, S.P., Smith, F., Stacey, K. and Tebb, H. (1946) *J. Chem. Soc.* 665-670.
- 47.- Herzog, H.L., Payne, C.C. and Hershberg, E.B. (1955) *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 5324-5327.
- 48.- Dodgson, D.P. and Haworth, R.D. (1952) *J. Chem. Soc.* 67-71.
- 49.- Joska, J., Cerny, V. and Sorn, P. (1954) *Coll. Trav. Chim. Tchecosl.* 19, 551-558.
- 50.- Harper, N.J. (1959) *J. Med. Pharm. Chem.* 1, 467-500.
- 51.- Coghill, R.D., Weston, A.F. and Mac Corquodale, D.W. ---

- (1950) U.S. Patent 2,519,112 in Chem. Abstr. (1951) 45, 666.
- 52.- Nedinavettia, J.L. (1955) Brit. Patent 729,160 in Chem. Abstr. (1956) 50, 2128.
- 53.- Vaidya, S.S. and Boyce, S.P. (1959) Antibiot. Ann. 9, - 364-368.
- 54.- Goisis, N. and Polvani, P. (1955) Biol. Latina, 8, 86-106.
- 55.- Welsh, A.L. (1956) Int. Rec. Med. Gen. Pract. Clinics, 168, 775-777.
- 56.- UHle, P.C. and Schröter, H. (1961) J. Org. Chem. 26, 4169 -4171.
- 57.- Cavallini, G. and Nessarini, E. (1959) J. Med. Pharm. Chem. 1, 365-370.
- 58.- Cavallini, G. and Nessarini, E. (1951b) Pharm. Sci. E. - Tec. (Pavia) 6, 291-299.
- 59.- Gero, A. and Withrow, C.L. (1957) Nature, Lond., 180, --- 1354-1355.
- 60.- Redel, J., Bouteville, A., Gouthier, B. and Nguyen-Huu-Quy (1951) Bull. Soc. Chim. France, 524-526.
- 61.- Paton, W.D.H. and Zaimis, E.J. (1949) Brit. J. Pharmacol. 4, 381-400.
- 62.- Paton, W.D.H. and Zaimis, E.J. (1951) Brit. J. Pharmacol. 6, 155-168.
- 63.- Gill, E.F. (1959) Proc. Roy. Soc., B 150, 381-402.
- 64.- Gill, E.F. and Ing, H.R. (1958) J. Chem. Soc. 4728-4731.
- 65.- Standaert, P.G. and Friess, S.L. (1960) J. Pharmacol., 128, 55-64.
- 66.- Loewe, S. and Harvey, S.C. (1952) Arch. Exp. Path. Pharmac., 214, 214-226.
- 67.- Cavallito, C.J. and Gray, A.P., (1960) in Fortschritte der Arzneimittelforschung, Editor E. Juckes, Vol. 2, p. 135 Basel: Birkhauser.
- 68.- Berczeller, A. (1958-1959) Antibiot. Ann., 88-94.

- 69.- *Maategassa, P. and Tommasini, R. (1952) Atti. Soc. Lombarda Sci. Med. E. Biol., 7, 496-503.*
- 70.- *Maategassa, P. and Tommasini, R. (1951) Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 27, 631-633.*
- 71.- *Havranck, R.E. and Doorenbos, N.J. (1960) J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. 49, 328-329.*
- 72.- *Rao, G.V. and Price, C.C. (1962) J. Org. Chem. 27, 205-210.*
- 73.- *Krayer, O., Mos, G.K. and Méndez, R. (1944) J. Pharmacol. 82, 167-186.*
- 74.- *Grob, C.A. and Golberg, V.A. (1949) Helv. Chim. Acta, 32, 191-197.*
- 75.- *Lieberman, S. (1946) Experientia, 2, 411-412.*
- 76.- *Gessner, O. (1948) Arch. Exp. Path. Pharmac., 205, 1-20.*
- 77.- *Dickel, D., Lucas, R. and Phillamy, H.B. (1959) J. Amer. Chem. Soc., 81, 3154-3155.*
- 78.- *Janot, M.M., Qui Khuong Huu and Goutarel, R. (1959) C.R. Acad. Sci., Paris, 248, 982-984.*
- 79.- *Tschesche, R. and Roy, A.C. (1956) Chem. Ber., 89, 1288-1295.*
- 80.- *Chopra, R.N., Gupta, J.C. and Chopra, G.S. (1933) Ind. J. Med. Res., 21, 277-281.*
- 81.- *Bertho, A. (1939) Arch. Pharm., 277, 237-257.*
- 82.- *Baksh, I. (1936) J. Pharmacol., 58, 373-392.*
- 83.- *Burn, J.H. (1915) J. Pharmacol., 6, 305-321.*
- 84.- *Paris, R. (1938) Bull. Sci. Pharmacol., 45, 453-457.*
- 85.- *Quevauviller, A. and Blanpin, O. (1960) Semaine des Hopitaux Semaine Therapeutique, 36, 895-898.*
- 86.- *Quevauviller, A. and Blanpin, O. (1958) J. de Physiol., 50, 1123-1127.*
- 87.- *Stephenson, R.P. (1948) Brit. J. Pharmacol. 3, 237-245.*
- 88.- *Stephenson, R.P. and Dutla, N.K. (1948) Brit. J. Pharmacol., 3, 326-327.*

- 89.- Trevan, J.W. and Boock, E. (1927) *Brit. J. Exp. Path.*, 8, 307-315.
- 90.- Le Barre, J. and Desnarez, J.J. (1959) *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 119, 514-516.
- 91.- Chopra, R.N., Gupte, J.C., David, J.C. and Ghosh, S. -- (1927) *Ind. Med. Gaz.*, 62, 132-140.
- 92.- Bertho, A. (1944b) *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 203, 41-46.
- 93.- Goyal, R.K. (1935) *C.R. Soc. Biol. Paris*, 120, 296-297.
- 94.- Henry, T.A and Brown, H.C. (1923) *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 17, 61-71.
- 95.- Lambin, S. and Bernard, J. (1954) *C.R. Soc. Biol., Paris* 147, 638-641.
- 96.- Aufret, C. and Tanguy, F. (1950) *Med. Trop.*, 10, 530-536.
- 97.- Pluchon, J.P. and Pille, G. (1950) *Ann. Pharm. Franc.*, 6, 460-462.
- 98.- Dubian, G. (1953) *J. Med. Bordeaux*, 130, 44-51.
- 99.- Kerny, M. (1948) *Ann. Pharm. Franc.*, 6, 534-539.
- 100.- Leake, C.D. (1932) *J. Amer. Med. Ass.*, 98, 195-199.
- 101.- Griebel, C. (1923) *Z. Nahr. Genussm.*, 45, 175-183.
- 102.- Lowe, H. (1929) *Analyst*, 54, 153-154.
- 103.- Rühl, R. (1951) *Arch. Pharm.*, 284, 67-74.
- 104.- Schowalter, E. and Hartmann, V. (1924) *Z. Nahr. Genussm.*, 47, 251-257.
- 105.- Strotina, O.N. and Spirina, A.P. (1948) *Gigiena i Sanit.* : 13, No. 10, 42-43.
- 106.- Willimott, S.G. (1933) *Analyst*, 58, 431-439.
- 107.- Kuhn, R., Löw, I. and Trischmann, H. (1955b) *Chem Ber.* 88, 1492-1507.
- 108.- Vatt, J.M., Heimann, H.L. and Epstein, E. (1932) *Quart. J. Pharm.*, 5, 649-656.
- 109.- Veill, J. (1913) *C.R. Soc. Biol., Paris*, 74, 1014-1015.
- 110.- Posthke, W. and Kuntze, M. (1958) *Planta Med.* 6, 92-94.

- 111.- De Lavergne, F. and Kiesel, P. (1935) *C.R. Soc. Biol. Paris*, 120, 149-150.
- 112.- Fischer, R. (1929) *Biochem. Z.*, 209, 319-325.
- 113.- Nacht, D.I. (1933) *Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y.*, 30 -- 988-990.
- 114.- Pokrovskii, A.A. (1956) *Biokhimiya*, 21, 683-688.
- 115.- Dannenberg, P. and Schmal, D. (1953) *Arzneimittelforsch.*, 3, 151-161.
- 116.- Fontaine, T.D. Irving, G.W., Na, R.N., Poole, J.B. and Doolittle, S.P. (1948) *Arch. Biochem.*, 18, 467-475.
- 117.- Kuhn, R. and Gauhe, A. (1947) *Z. Naturforsch.*, 2b, 407-409.
- 118.- Kuhn, R. and Lüs, I. (1961a) *Chem. Ber.*, 94, 1088-1095.
- 119.- Chanussat, P. (1957) *Annales Assoc. Chim. Arg.*, 45, 113-120.
- 120.- Sackmann, F., Kern, H. and Wiesmann, E. (1959) *Schweiz. s. Allgem. Path. Bacteriol.*
- 121.- Boll, P.H., Lillevik, H.A., Gottshall, R.F. and Lucas, E. H. (1955-56) *Antibiot Ann.*, 255-259.
- 122.- Schreiber, K. (1955) *Angew. Chem.* 67, 127.
- 123.- Fieser, L.P. and Fieser, M. (1959) *Steroids*, p.p. 847-895. New York; Reinhold.
- 124.- Bealch, O.A., Eppson, H.F., Draise, J.H. and Justice, R. S. (1933) *Eyo. Agr.* 2, 162-177.
- 125.- Reinhardt, L. (1909) *Munch. Med. Wochr.*, 56, 2056-2057.
- 126.- Krayer, O. (1952) *J. Mt. Sinai Hosp., N.Y.*, 19, 53-69.
- 127.- Krayer, O., Uhle, F.C., and Ourisson, P. (1951). *J. Pharmacol.*, 102, 261-268.
- 128.- Krayer, O., Briggs, L.H. (1950) *Brit. J. Pharmacol.*, 5, 517-525.
- 129.- Krayer, O. (1949) *J. Pharmacol.*, 96, 422-437.
- 130.- Wood, H.C. (1906) *J. Amer. Med. Ass.*, 47, 2061-2065.
- 131.- Rothlin, E. and Cerletti, A. (1954) *Schweiz. Med. Wochr.* 84, 137-142.

- 132.- Anderson, R.F. (1945) *J. Econ. Ent.*, 38, 564-566.
- 133.- Frazier, N.W. (1945) *J. Econ. Ent.*, 38, 720.
- 134.- Ikawa, H., Dicke, R.J., Allen, T.C. and Linck, K.P. (1945) *J. Biol. Chem.*, 159, 517-524.
- 135.- Walton, R.R. (1946) *J. Econ. Ent.* 39, 273.
- 136.- Fisher, R.A. (1940) *J. Econ. Ent.* 33, 728-734.
- 137.- Jaretsky, R. and Janecke, H. (1940) *Arch. Pharm.*, 278, 34-42.
- 138.- Allen, T.C. and Brunn, L.K. (1945) *J. Econ. Ent.*, 38, 291-293.
- 139.- Walton, R.R. (1945) *J. Econ. Ent.*, 38, 713-714.
- 140.- Collias, E.C., Mc. Shan, W.H. and Lilly, J.H. (1952) *J. Cell. Comp. Physiol.*, 40, 507-527.
- 141.- Bartley, J.B. and Brown, A.W.A. (1955) *J. Econ. Ent.*, 48, 265-269.
- 142.- Chu, T.T. and Soh, J.Y. (1956b) *Acta Chim. Sinica* 22, 210.
- 143.- Chi, Y.F., Kao, Y.S. and Chang, K.J. (1936) *J. Amer. Chem. Soc.*, 58, 1306-1307.
- 144.- Chen, K.K., Ling Chen, A. and Chou, T.Q. (1933) *J. - Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, 22, 638-641.
- 145.- Pieser, L.F. and Pieser, M. (1959) *Steroids*, Reinhold Publishing Corporation, New York, p. 703.
- 146.- Laber, L., Curry, V. and Soun, F. (1955) *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 20, 1484.
- 147.- Corey, R.J. and Hertler, W.R. (1959) *J. Amer. Chem. Soc.* 81, 5209. (1958), *Ibid.*, 80, 2903.
- 148.- Buchschacher, P., Kalvada, J., Arigoni, D. and Jeger, O. (1958) *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 2905.
- 149.- Ruschig et al. (1955) *Ber.* 88, 883.
- 150.- Hofmann, W.A. (1883) *Bu.*, 16, 558. Löffler, K. and Freytag, C. (1909) *J. Am. Chem. Soc.*, 42, 3427.
- 151.- Garmaise, D.L. and Shoppe, C.W. (1953) *J. Chem. Soc.*, 245.