

26/x/2010

SINTESIS DE THEVETOSIDOS

DE LA DIGITOXIGENINA

MODIFICADOS EN C 17  $\beta$



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.

TESIS QUE PRESENTA EL Q.I. JOSE IGNACIO  
REGLA CONTRERAS PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRIA EN CIENCIAS (OPCION QUIMICA  
FARMACEUTICA)

PRESIDENTE

DR. EUGENE A. BRATOEFF

1er VOCAI.

DR. RAFAEL CASTILLO B.

SECRETARIO

DRA. RACHEL MATA DE ESPINDOLA

SUPLENTE

M. EN C. MA. TERESA REGUERO

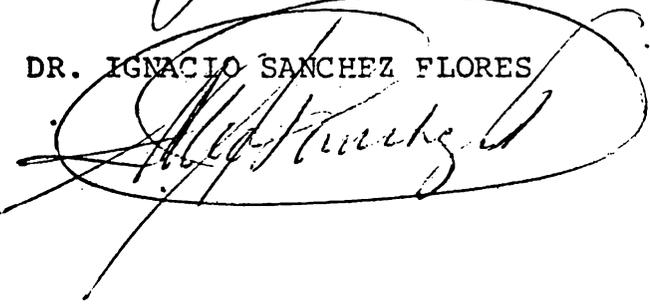
SUPLENTE

M. EN C. ANGELA SOTELO

SUSTENTANTE

  
JOSE IGNACIO REGLA CONTRERAS

ASESOR DEL TEMA

DR. IGNACIO SANCHEZ FLORES  


SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

— LABORATORIO A 5 DEL INSTITUTO  
DE QUIMICA UNAM Y  
LABORATORIO DE QUIMICA ORGANI  
CA Y PRODUCTOS NATURALES DE  
LA ENEP ZARAGOZA UNAM.

A : Paty y Moisés

## R E S U M E N

Recientemente se ha descrito la síntesis de una serie de glucósidos de la digitoxigenina modificados en C 17  $\beta$  por reemplazo del anillo de la lactona por aceptores de Michael de cadena abierta; la mayoría de estos compuestos presentó actividad inotrópica positiva. En el presente trabajo se sintetizó una serie de compuestos análogos que presenta dos variaciones estructurales : 1) Una unión glucosídica  $\alpha$  L en C 3 con la thevetosa en lugar de la unión  $\beta$  D con la glucosa. 2) Un aceptor de Michael con dos grupos electroatrayentes en lugar del aceptor normal de Michael con un solo grupo. Para obtener estos derivados se partió del thevetósido natural más abundante de la digitoxigenina llamado nerifolina, que se obtiene por hidrólisis enzimática de los glucósidos contenidos en diversas especies de Thevetia distribuidas ampliamente en la República Mexicana; posteriormente se degradó la lactona de la nerifolina hasta el 17 carboxaldehído, el cual se condensó, en condiciones básicas, con diversos compuestos que contienen un metileno activo unido a dos grupos electroatrayentes del tipo X-CH<sub>2</sub>-Y.

## A B S T R A C T

The synthesis of a series of digitoxigenin C 17  $\beta$  modified glucosides was described in recent years replacing the lactone ring by open chain Michael acceptors. Most of these compounds showed positive inotropic activity. In the present work there were synthesised a number of analogs bearing two structural variations : 1) A glucosidic bond  $\alpha$  L in C 3 with thevetose in place of  $\beta$  D with glucose. 2) A Michael acceptor with two electron-withdrawing groups instead of the normal Michael acceptor with a single grouping. In order to obtain these compounds we started with the most abundant thevetoside of digitoxigenin called nerifolin, which is obtained by enzymatic hidrolisis of the natural glucosides present in several especies of *Thevetia* and which are widely spread in Mexico. The lactone ring in nerifolin was then degradated to the corresponding 17  $\beta$  aldehyde, which was then condensed under basic catalysis, with several compounds bearing an active methylene attached to two electron withdrawing groups of the type  $X-CH_2-Y$ .

—

## I N T R O D U C C I O N

Los glucósidos digitálicos han sido usados terapéu-  
ticamente en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares  
desde hace casi 200 años (1). Por su capacidad para incremen-  
tar la contractilidad del músculo cardíaco (efecto inotrópi-  
co positivo), combinado con la disminución del ritmo cardíaco  
(actividad cronotrópica) originan una mejoría en la efecien-  
cia del corazón, esto los mantiene actualmente entre los 6  
fármacos de mayor prescripción en los Estados Unidos de Nor-  
teamérica (2).

Estos glucósidos exhiben una acción tan notable  
que permiten el restablecimiento a una vida normal y activa  
de pacientes con falla crónica congestiva del corazón y que  
de otra manera estarían condenados a la invalidez y con una  
corta expectativa de vida. Sin embargo, el uso de estos fár-  
macos presenta grandes riesgos debido al estrecho margen te-  
rapéutico (3) y a las diferentes respuestas de los pacientes  
(4); se ha establecido también que estos fármacos son los res-  
ponsables de casi un 50 % de las muertes inducidas por medi-  
camentos en pacientes hospitalizados (5). Así mismo, el 20  
% de los pacientes sometidos a tratamiento con digitálicos  
presenta reacciones secundarias tales como depresión, mareo,  
fatiga, debilidad, nerviosismo, jaquecas, disturbios visuales,  
irritación gástrica, vómito y disturbios del ritmo cardíaco,

los cuales pueden ser atribuidos a los efectos tóxicos de esta clase de fármacos (6); esto se explica porque cuando se ha administrado la dosis terapéutica también se ha alcanzado el 60 % de la dosis tóxica (7).

Aunque la búsqueda de nuevos compuestos cardiotónicos naturales o sintéticos ha sido realizada intensamente, no ha producido hasta la fecha resultados satisfactorios. Para el éxito de estas investigaciones son necesarios dos requisitos: 1) el conocimiento de las relaciones estructura-actividad biológica de tales moléculas y 2) la separación de los efectos tóxicos de los terapéuticos. Es posible separar estos dos efectos solamente si existen : dos diferentes mecanismos de acción o dos diferentes receptores de estos efectos.

Como se discutirá más adelante, existen evidencias de que en efecto operan dos diferentes mecanismos para los efectos cardiotónicos y carditóxicos y en principio, es posible encontrar un compuesto con mayor margen de seguridad.

Es evidente entonces la gran importancia que enmarca la búsqueda de nuevos fármacos cardiotónicos con mejores cualidades terapéuticas.

---

## A N T E C E D E N T E S

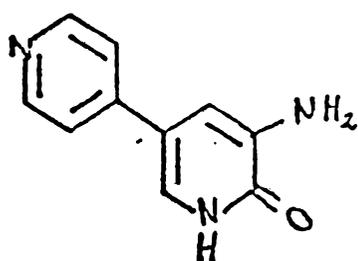
Aunque la investigación de los mecanismos de acción de los glucósidos digitálicos está lejos de ser concluida -- (8,9) hay grandes evidencias de que los efectos cardiotónicos y cardiotóxicos no necesariamente están relacionados. De acuerdo a la teoría de Repke (10,11) los mecanismos bioquímicos para ambos efectos se basan en la inhibición de una misma enzima, la ATPasa Na, K.; sin embargo, Okita y colaboradores (12) han demostrado que la inhibición de la ATPasa Na, K no es la causa del efecto inotrópico positivo. Empleando una preparación de corazón de conejo Langendorff comprobó que el tiempo necesario para lavar el efecto inotrópico no coincide para nada con el necesitado para lavar la inhibición de la ATPasa Na, K; de hecho después de haber lavado totalmente el efecto inotrópico positivo el tejido aún mostraba inhibición de la ATPasa Na, K en un 40%.

Estos estudios cinéticos no son la única evidencia de que es improbable una relación causal entre la inhibición de la ATPasa Na, K y el efecto inotrópico positivo. La quinidina, la oligomicina, agentes bloqueadores del grupo sulfhidrilo, y la azida de sodio son inhibidores de la ATPasa Na, K pero carecen de actividad inotrópica positiva (8). Murthy y colaboradores (13) demostraron con varios esteroides digitálicos que un porcentaje dado de inhibición de la ATPasa -

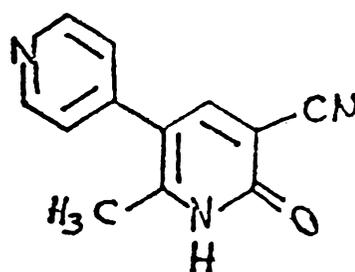
$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  no coincide con la potencia inotrópica positiva. -- Lullman y colaboradores (14,15) demostraron a su vez que los metabolitos de la digitoxina y digoxina tienen exclusivamente efecto inotrópico positivo en dosis que normalmente están acompañados de efectos tóxicos.

Por otro lado Kutzung y colaboradores (16) demostraron que el efecto inotrópico de cardenólidos en aurícula izquierda de cobayo puede ser inhibido o retardado por tratamiento preliminar con Acetilisodigitoxigenina o su correspondiente lactama, mientras que el efecto inhibidor de la ATPasa Na, K y las acciones tóxicas permanecen inalteradas.

Recientemente Farah y colaboradores (17, 18) sintetizaron una serie de compuestos no esteroideos que presentaron actividad inotrópica positiva, de estos la Amrinona I y la -- Milrinona II resultaron los más eficaces agentes inotrópicos conocidos a la fecha que no inhiben a la ATPasa Na, K a dosis terapéuticas máximas.



AMRINONA I



MILRINONA II

## RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

El estudio de las relaciones entre la estructura de los glucósidos digitálicos y sus efectos cardiotónicos y tóxicos proporcionan medios para aprender algo acerca de las propiedades de sus receptores y así poder diseñar nuevos compuestos con mayor probabilidad de éxito.

Se han hecho intentos para determinar qué elementos estructurales son absolutamente indispensables para presentar actividad inotrópica y cuáles intensifican los efectos tóxicos (19). También se ha investigado acerca de si un efecto dado puede ser alterado modificando la estructura de los glucósidos naturales (20).

Hace años parecían estar claros los requisitos estructurales para un esteroide cardioactivo, pero estos han sido cuestionados severamente en investigaciones recientes (19). Tamm propuso un esqueleto  $14\beta$  hidroxiesteroide en el cual, existen dobles enlaces en los carbonos 4 o 5, la fusión de los anillos A/B debe ser cis, la de los anillos B/C trans y la de los anillos C/D cis, además estos esteroides deben contener una lectona insaturada como cadena lateral unida al carbono 17 en disposición y una función oxigenada orientada en el carbono 3, ya sea un grupo oxhidrilo o un enlace glucosídico (19).

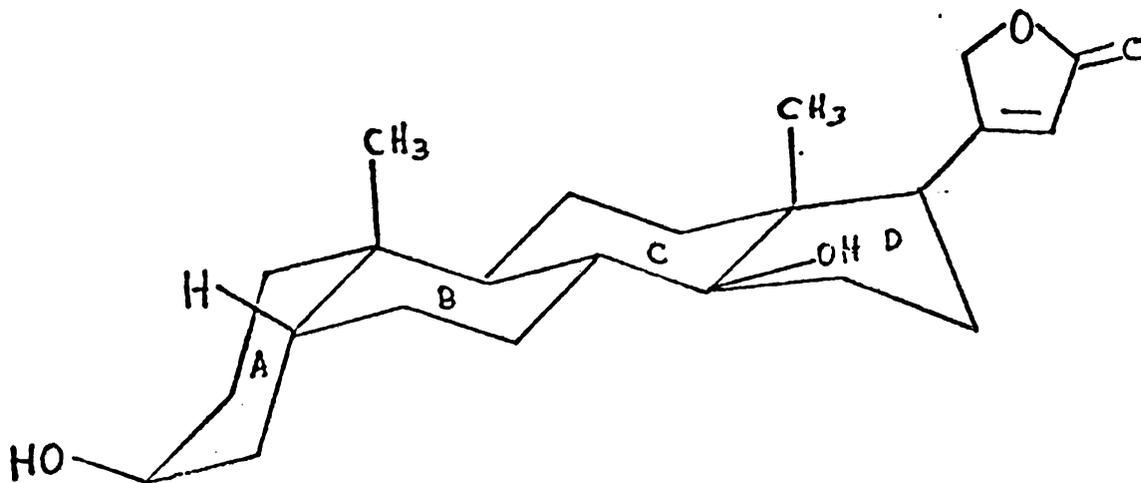


Figura 1.- estructura de la Digitoxigenina.- III

Tamm supuso que la presencia de otros grupos oxhidrilo son de menor importancia para el efecto cardiotónico y consideró que la distancia entre el carbonilo de la lactona y la función oxigenada en 3, era crítica para la actividad (19,21)

Los azúcares que forman parte de los glucósidos naturales intervienen en la absorción de los glucósidos en el organismo, pero las geninas libres también son activas (22); -- las geninas con una lactona insaturada de 5 miembros unida al carbono 17 en disposición B (cardenólidos), en contraste con aquellas de 6 miembros (bufadienólidos) son menos activas que sus correspondientes glucósidos según pruebas de determinación de su toxicidad.

Varias modificaciones sintéticas en la estructura de los glucósidos cardíacos refutan algunos de los requisitos antes mencionados para un efecto inotrópico positivo; algunas de estas modificaciones se discuten a continuación.

#### Modificación de la función oxigenada en C 3

Saito y colaboradores sintetizaron la 3 desoxidigitoxigenina y encontraron que en la preparación de Straub (corazón aislado de rana), tiene una actividad comparable a la de la digitoxigenina (22). Zurker y colaboradores demostraron que en la prueba de la ATPasa, este derivado pierde solo el 50% de la actividad (23); Witty y colaboradores confirmaron este resultado (24). La inversión de la configuración del grupo 3B hidroxilo en la digitoxigenina, disminuye la propiedad de inhibir a la ATPasa Na, K en 1/30 de la digitoxigenina natural (23), el mismo cambio en la bufalina, reduce en 1/7 su toxicidad.

#### Modificaciones en la fusión de los anillos A/B

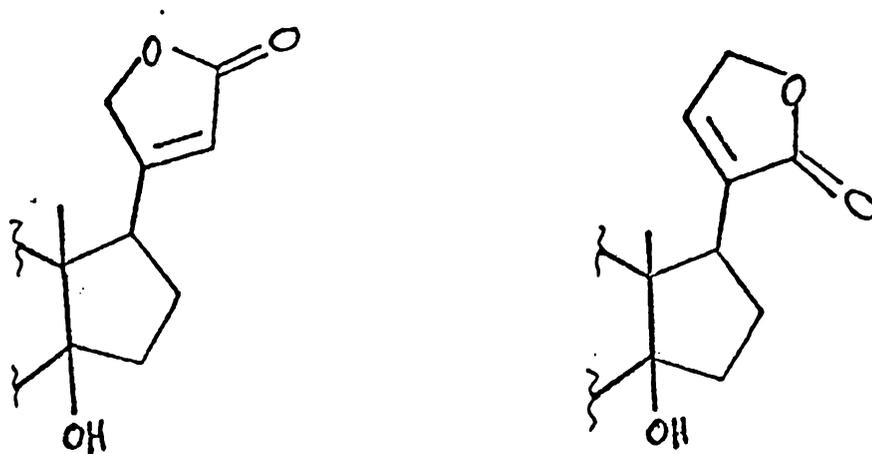
Los anillos A/B de los glucósidos naturales muestran generalmente una fusión cis; un cambio de la configuración del carbono 5 conduce a compuestos con solo 1/10 de la actividad original. La pérdida de actividad por esta modificación parece ser menos pronunciada en los cardenólidos que en los bufadienólidos.

Modificación en la fusión de los anillos C/D.

Así como el oxhidrilo en 3, el 14  $\beta$  oxhidrilo no es esencial para la actividad cardiotónica, pero la sustitución de este último por un átomo de hidrógeno es acompañada por una considerable pérdida de actividad; así la 14  $\beta$  H-digitoxigenina, mostró en corazón aislado de rana solo 1/10 de la actividad de la digitoxigenina (20); más importante que el 14  $\beta$  hidroxilo es la fusión cis de estos anillos, puesto que los derivados 14  $\alpha$  H, son completamente inactivos.

Modificaciones sobre la cadena lateral unida a C 17

Una lactona insaturada unida como cadena lateral al carbono 17 del esteroide a través del carbono 3 del anillo de la lactona, fué considerada como el grupo esencial para la actividad de los glucósidos digitálicos, además debería estar orientada en  $\beta$ , un cambio de configuración produce compuestos inactivos (19, 21, 22). Pastelín y Mendez demostraron que algunos cardenólidos isoméricos sintetizados por Deghenghi y Weisner, son también activos (25, 26, 27, 28), en estos glucósidos el punto de unión de la lactona con el carbono 17 es el carbono 2 y no el 3 como en los glucósidos naturales, además estos glucósidos semisintéticos mostraron un mayor margen de seguridad en pacientes hospitalizados (29); desafortunadamente estos compuestos no pudieron usarse clínicamente debido a que algunos de los pacientes mostraron reacciones eméticas.



(a) lactona en glucósidos naturales.      (b) lactona isomérica

Figura 2.- Representación del punto de inserción del anillo de la lactona con el C 17 $\beta$  del esteroide en los glucósidos naturales (a) y glucósidos semisintéticos de Deghenghi (b)

La reducción del doble enlace de la lactona  $\alpha,\beta$  insaturada ocasiona pérdida de actividad biológica, pero esta disminución es mayor en la toxicidad que en el efecto inotrópico positivo (30).

Guzmán y Muchowsky, sintetizaron una serie de derivados de la digitoxigenina en los cuales reemplazaron el anillo de la lactona por diversos receptores cíclicos de Michael, cuyas estructuras se muestran en la figura 3; cabe recalcar que de todos los compuestos preparados el más activo (la tiolactona) presentó el 5% de la actividad inotrópica de la digitoxigenina (31).

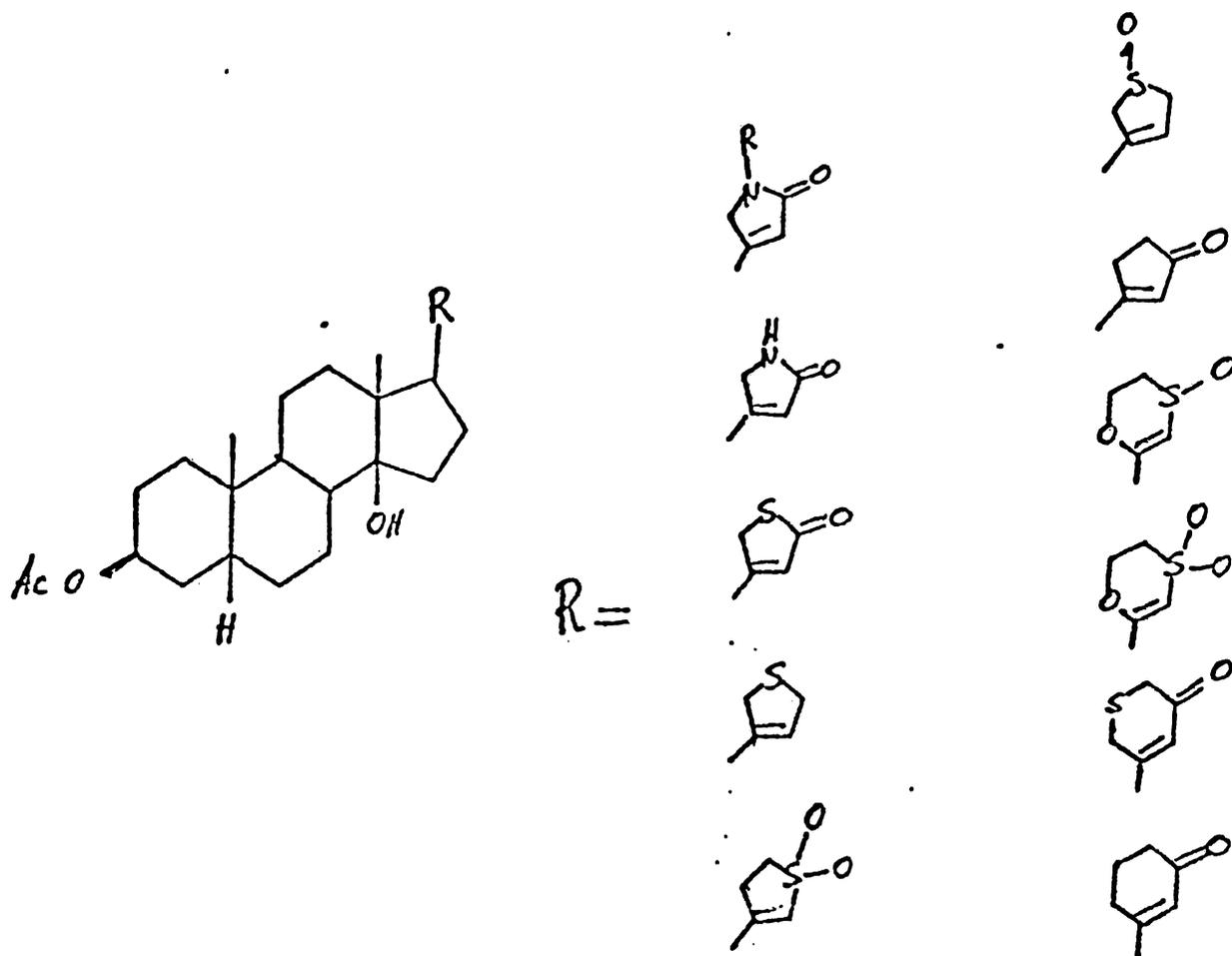


Figura 3.- Compuestos sintetizados por Guzmán y Muchowsky en los cuales el anillo lactónico es sustituido por aceptores cíclicos de Michael.

Butagy y Thomas, encontraron que reemplazando el anillo lactónico de la digitoxigenina por aceptores de Michael - de cadena abierta de fórmula general  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Z}$  donde  $\text{Z} = -\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}$ ,  $-\text{COCH}_3$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$  y  $-\text{CONH}_2$ , se obtienen compuestos con actividad inotrópica positiva (32), los estudios biológicos de estos compuestos se interrumpieron debido a la baja solubilidad en agua que presentaron; siguiendo el esquema de síntesis mostrado en la figura 4, estos mismos autores prepararon recientemente los glucósidos de los mismos derivados sin sintetizados con anterioridad (33).

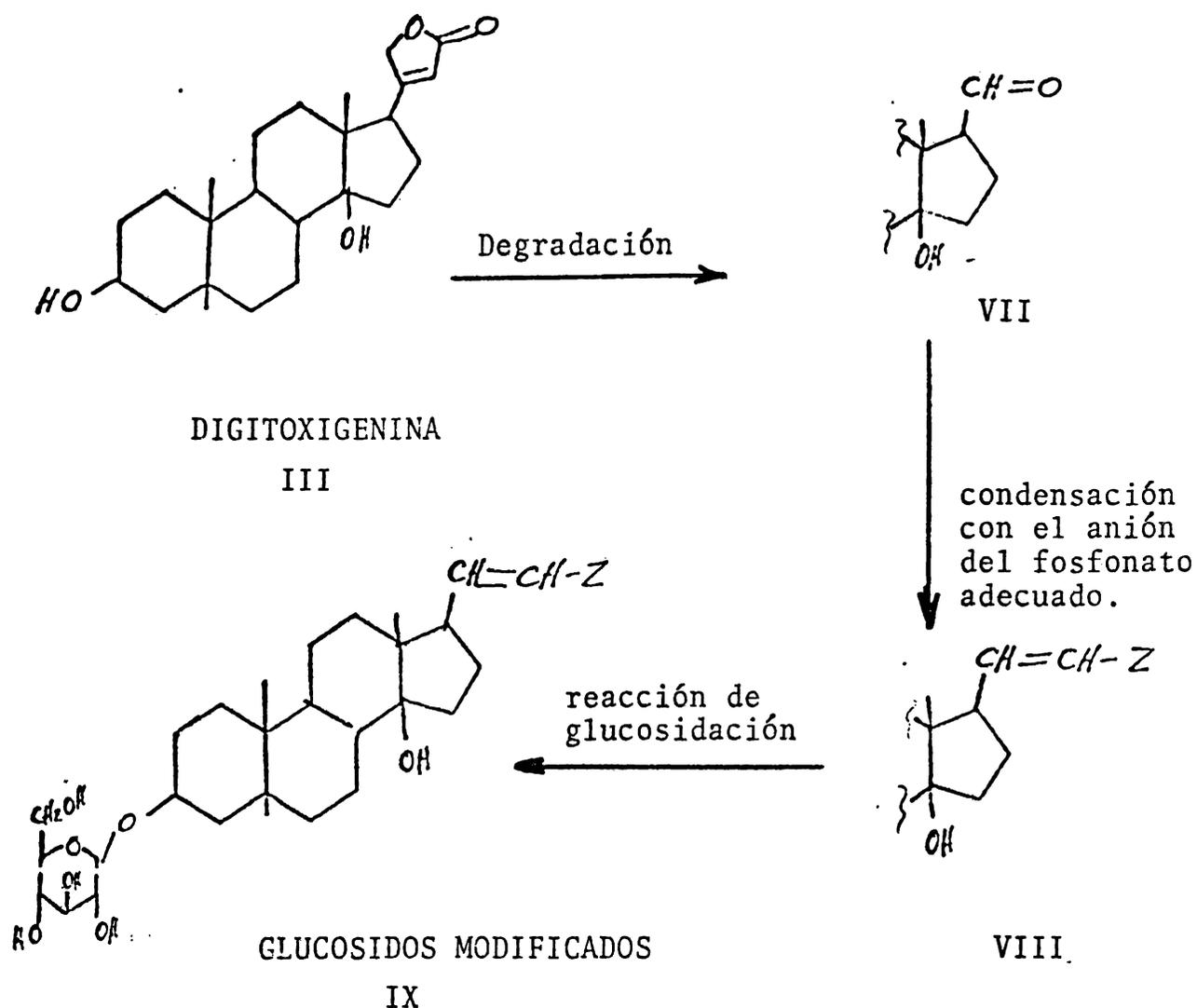


Figura 4.- Secuencia de la síntesis seguida por Butagy y Thomas para la preparación de los glucósidos de la digitoxigenina modificados en c 17

De todos los glucósidos sintetizados por Butagy y Thomas, el ácido y la amida resultaron inactivos; de los restantes, el nitrilo fué el más activo y presentó actividad inotrópica positiva a la misma dosis que la digitoxigenina (33).

Eberlein y colaboradores, reemplazaron el anillo lactónico de glucósidos y geninas 14 β hidroxiladas C/D cis, por cadenas abiertas; obtuvieron también resultados similares con los nitrilos, ácidos y ésteres acrílicos (34).

Algunos compuestos que no contienen las características de los glucósidos digitálicos como las 3,20 bisguanilhidrazonas de la prednisona fig. 5 a y la prednisolona fig 5 b, han presentado actividad cardiotónica (35).

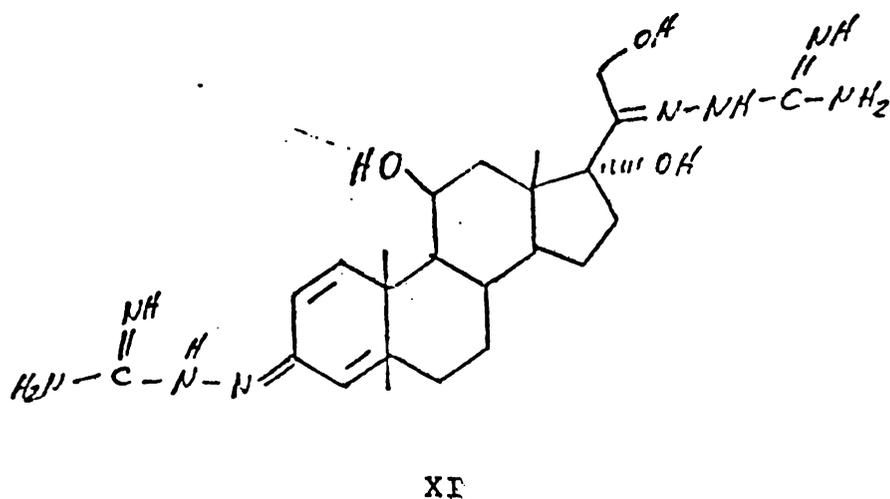
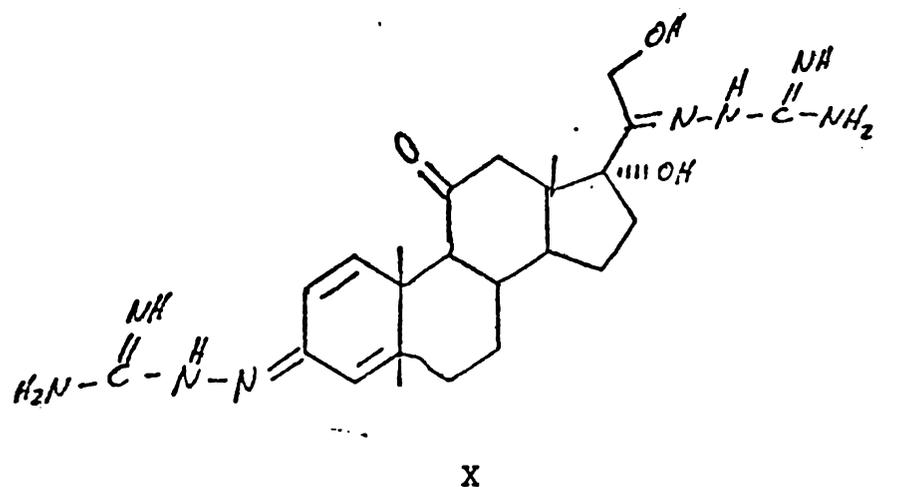
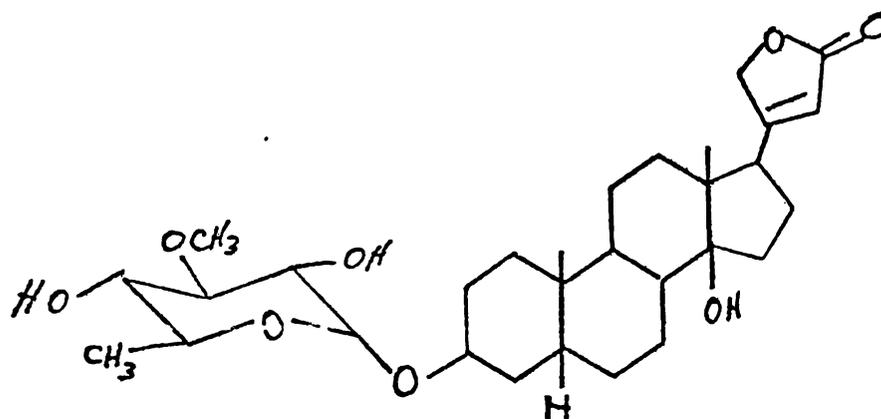


Figura 5.- Estructura de las bisguanilhidrazonas de la prednisona (a) y la prednisolona (b) que presentan actividad cardiotónica sin poseer las características estructurales de los glucósidos digitálicos.

## O B J E T I V O S

a). El objetivo de este trabajo es realizar la síntesis de thevetósidos de la digitoxigenina modificados en C-17  $\beta$  a partir de la Nerifolina, que es su thevetósido natural más accesible, que se obtiene por extracción de las semillas de Thevetia Thevetoides previamente fermentadas (36,38)

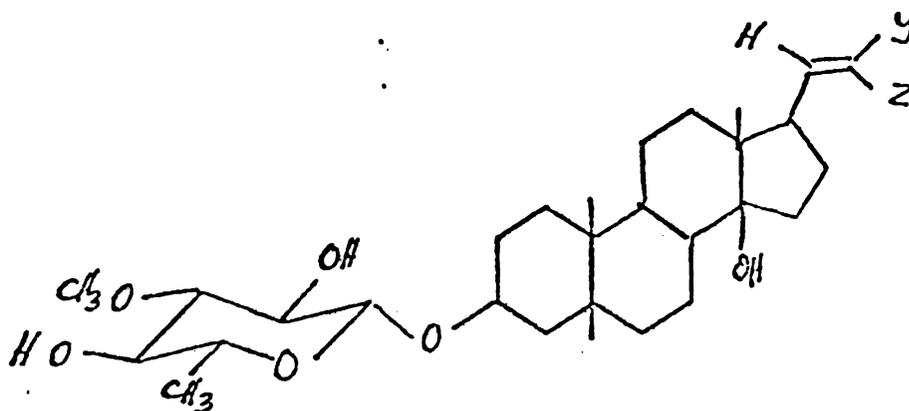


XII

Figura 6.- Estructura de la nerifolina, el thevetósido más accesible de la digitoxigenina.

b) Emplear los thevetosidos aislados de thevetia thevetoides para la síntesis de los thevetósidos de la digitoxigenina modificados en C-17. Dado que la nerifolina se encuentra mezclada con 2' monoacetilnerifolina y otros thevetósidos en menor proporción, la mezcla original de thevetósidos fué acetilada, facilitando el aislamiento como diacetilnerifolina, - siendo esta última el material de partida para la síntesis de los thevetósidos modificados.

La figura 7 muestra la estructura general de los thevetósidos modificados que se sintetizaron.




---

ACEPTORES DE MICHAEL DE CADENA ABIERTA

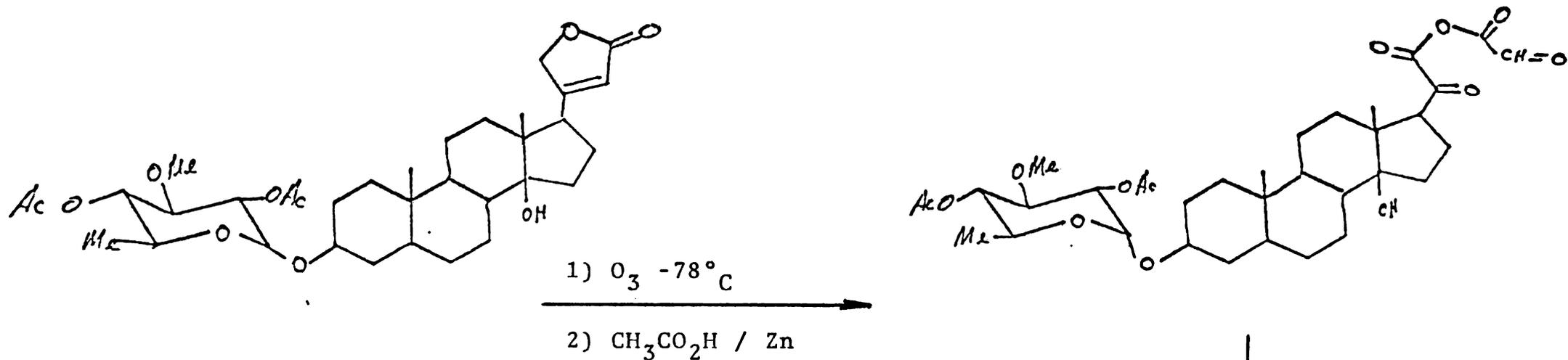
---

COMPUESTO	X	Y
XVI	-CN	-CO <sub>2</sub> Et
XVII	-CN	-CONH <sub>2</sub>
XVIII	-C-CH <sub>3</sub> O	-CO <sub>2</sub> Et
XIX	-C-CH <sub>3</sub> O	-C-CH <sub>3</sub> O
XX	-CO <sub>2</sub> Et	-CO <sub>2</sub> Et
XXI	-CN	
XXII	-CN	

---

Figura 7.- Estructura general de los Thevetósidos de la digitoxigenina modificados en C 17  $\beta$  por reemplazo del anillo lactónico por aceptores de Michael con dos grupos electroatrayentes.

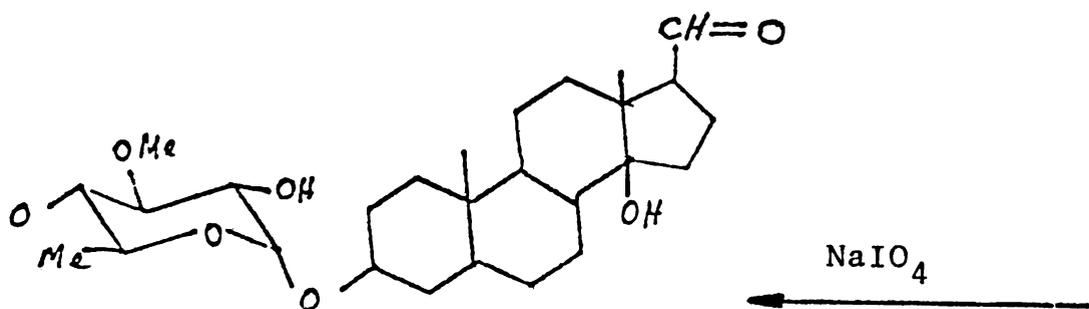
La preparación de estos derivados se realizó por condensación del thevetósido del etianalدهido XV con el correspondiente compuesto conteniendo un metileno activo unido a -- dos grupos electroatrayentes del tipo  $X-CH_2-Y$ , catalizando con base, ya sea Tritón B o etóxido de sodio. El esquema general de síntesis se muestra en las figuras 8a 8b.



DIACETATO DE NERIFOLINA XIII

XIV

- 1)  $NaBH_4$   
 2)  $K_2CO_3 / MeOH$



THEVETOSIDO DEL 3, 14 -DIHIDROXI ANDROSTAN, 5 -17 CARBOXALDEHIDO. XVI

XV

Figura 8a.- Secuencia de reacciones para realizar la degradación del anillo lactónico de la diacetilnerifolina hasta el 17 carboxaldehido.

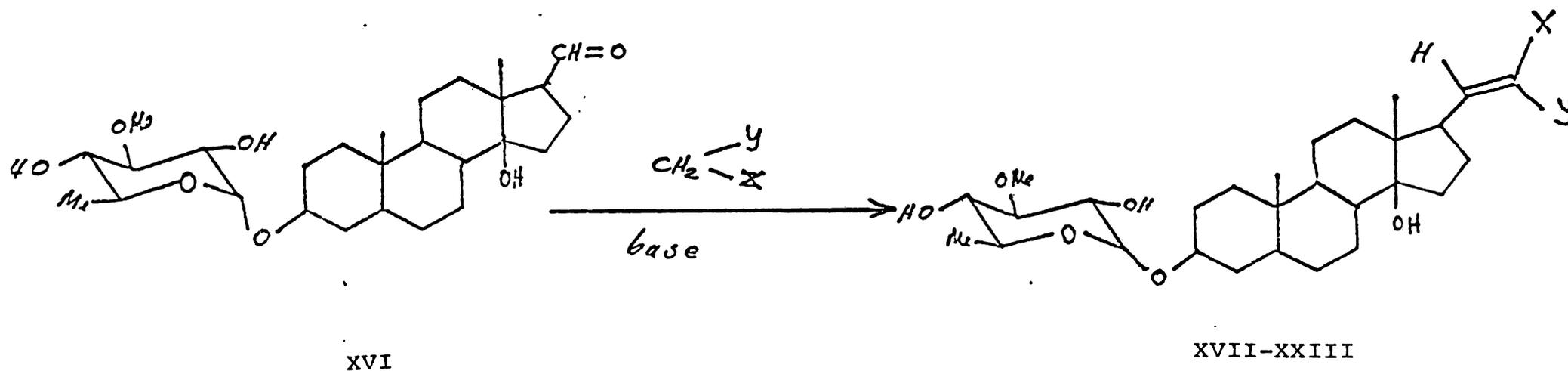


Figura 8b.- Transformación del thevetósido del 3  $\beta$ , 14  $\beta$ -dihidroxi androstan- 5  $\beta$ -17 carboxaldehído en los thevetósidos modificados en C 17

COMPUESTO	X	Y	Base
XVII	-CN	-CO <sub>2</sub> Et	1
XVIII	-CN	-CONH <sub>2</sub>	1
XIX	-C-CH <sub>3</sub> 0	-CO <sub>2</sub> Et	3
XX	-C-CH <sub>3</sub> 0	-C-CH <sub>3</sub> 0	2
XXI	-CO <sub>2</sub> Et	-CO <sub>2</sub> Et	3
XXII	-CN		2
XXIII	-CN		1

1= Tritón B al 40% en metanol  
 2= etóxido de sodio  
 3= no condensó con ninguna base

## R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N .

Como lo muestra la figura 8b, la reacción de condensación del aldehído XV con diversos compuestos que contienen un metileno activo unido a dos grupos electroatrayentes, se lleva a cabo con buenos resultados empleando tritón B como catalizador solo cuando el compuesto con metileno diactivado -- contiene por lo menos un grupo ciano, el cual aumenta considerablemente la acidéz de los hidrógenos  $\alpha$  , en mayor grado que el resto de los grupos probados; en el caso del malonato de dietilo y el acetoacetato de etilo, la condensación no se logró en ninguna de las condiciones probadas, incluso reemplazando el Tritón B por etóxido de sodio. Figura 8b.

Además, cabe recalcar el hecho de que este tipo de modificaciones químicas a compuestos naturales con actividad biológica es de gran importancia, no solo por preparar nuevos compuestos con potencial actividad cardiotónica. Además para el presente caso, la materia prima para la preparación de este tipo de compuestos es la digitoxigenina, la cual tiene un alto costo en el mercado internacional; pero en nuestro país se ha encontrado una fuente natural de digitoxigenina o de sus thevetósidos a muy bajo costo y en cantidades prácticamente ilimitadas (36).

En este trabajo se logró paralelamente optimizar la obtención del thevetósido de la  $3\beta$  ,  $14\beta$  -dihidroxiandrostan

17 -carboxaldehído XV (intermediario clave para nuevos thevetósidos) a partir de la mezcla cruda de thevetósidos obtenida directamente de la hidrólisis enzimática de las semillas de Thevetia thevetoides, evitando la separación cromatográfica de la diacetilnerifolina, ya que la degradación de la lactona se puede realizar con la mezcla de diacetatos de los thevetósidos y por cristalización el aldehído XV se puede separar del resto de los cardanólidos y cardenólidos que no reaccionan de la misma manera que la diacetil nerifolina en la secuencia de reacciones de degradación.

Las pruebas farmacológicas de los thevetósidos modificados fueron realizados por el departamento de farmacología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Los compuestos se disolvieron en una mezcla de DMSO-agua (1:1) para la prueba con la aurícula aislada de cobayo y en etanol al 50% (disolución parcial) para la prueba en la preparación cardiopulmonar de Sterling modificada por Krayner y Mendez. Los resultados se muestran en la tabla 1.

TABLA 1 Resultados de las pruebas farmacológicas

compuesto	Aurícula aislada de cobayo	preparación cardiopulmonar de Sterling
XVII	inactivo	no probado
XVIII	activo <sup>1</sup>	"
XX	activo <sup>1</sup>	activo <sup>2</sup>
XXII	activo <sup>1</sup>	activo <sup>2</sup>
XXIII	no probado	no probado

1 activo a concentración de  $1 \times 10^{-5}$  g/ml

2 Esta prueba no es significativa debido a que se inyectó en suspensión y no es posible determinar la dosis.

## P A R T E   E X P E R I M E N T A L

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato BUCHI modelo SMP 20 y no fueron corregidos. Los espectros de IR se obtuvieron en un aparato PYE UNICAM modelo SP 1050 en pastillas de KBr; los espectros de UV se obtuvieron en un espectrofotómetro PYE UNICAM modelo SP 8; los espectros de RMN'H se obtuvieron en un aparato VARIAN modelo EM 360 de 60 MHz en deuteriocloroformo usando TMS como referencia interna. La ozonólisis se realizó en un ozonizador modelo STYLE T-23. La mezcla de thevetósidos se obtuvo a partir de las semillas de Thevetia thevetoides siguiendo el procedimiento de Cruz y colaboradores (36).

DIACETATO DE NERIFOLINA XII. Se disolvieron 100 g de la mezcla cruda de thevetósidos en 100 ml de piridina, se adicionaron 100 ml de anhídrido acético y se dejó a 25° C durante 24 hs. Al cabo de este tiempo, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad bajo presión reducida, el residuo se disolvió en 300 ml de acetato de etilo y se lavó con HCl2N y con agua hasta neutralidad, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se evaporó a sequedad y el residuo (109 g) se purificó por cromatografía en columna (Gel de sílice Merck 70-230) empleando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo 6:4, obteniéndose 54 g del diacetato de nerifolina, la recristalización de este material de diclorometano-hexano dió un producto con punto de fusión de -127-129° C  $[\alpha]_D = -83^\circ$  UV  $\frac{\max}{\text{meOH}} = 219 \text{ nm.}$ ; [ p.f. = 136-138°C  $[\alpha]_D^{20} = -79^\circ$  ] . (38)

(3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 14 $\beta$ , 17 $\beta$ ) - 3 - (6desoxi-3-metoxi- $\alpha$ -1-glucopiranosil-oxi-14-hidroxiandrostan-17-carboxaldehido XVI A una solución de 0.88 g (1.45 mmol) de diacetato de nerifolina en 50 ml de acetato de etilo a 78° C se pasó corriente de oxígeno azonizado durante 30 minutos lograndose una coloración azul intensa, se suspendió la adición del ozono y se dejó a la misma temperatura durante 20 minutos más. Se evaporó a sequedad bajo presión reducida y el residuo se disolvió en una mezcla de 50 ml de acetato de etilo y 5 ml de ácido acético, se adicionó 1g de zinc en polvo, se agitó durante 30 minutos y se filtró sobre celita, se evaporó bajo presión reducida hasta completa eliminación del ácido acético, se obtuvieron 0.88 g de un sólido amorfo con punto de fusión = 92-96° C; este producto se disolvió en una mezcla de 50 ml de dioxano-agua 4:1, a esta solución se le adicionaron 0.2 g de borohidruro de sodio disueltos en 5 ml de la misma mezcla dioxano-agua estabilizada con una gota de solución 2 N de NaOH, se agitó a 25° C durante 2 hs. al cabo de este tiempo se adicionaron 15 ml de agua y se aciduló con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N. Se evaporó bajo presión reducida, se extrajo (3 X 20 ml) con CHCl<sub>3</sub>, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se evaporó a sequedad obteniéndose 0.83 g del compuesto reducido con p.f.= 110-112°C; este producto se disolvió en 50 ml de metanol y se adicionó 1g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> disuelto en 1 ml de agua se agitó a 25° C durante 16 hs. Se eliminó el metanol bajo presión reducida y se extrajo (3 X 15 ml) con CHCl<sub>3</sub> se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se evaporó a sequedad obteniéndose 0.61 g del intermediario XIV con p.f.= 132°C; este compuesto se disolvió en 50 ml de metanol y se adicionaron 0.6 g de NaIO<sub>4</sub> disueltos en 10 ml de

agua, se agitó durante 3 hs. a 25°C, se filtró el  $\text{NaIO}_3$ , se lavó con metanol, se evaporó la mayor parte del metanol bajo presión reducida y se adicionaron 40 ml de agua, se dejó durante 16 hs. a 4° C se filtró el aldehído cristalizado (0.45g) con p.f. = 170-172°C IR $_{\text{max}}^{\nu}$  3480, 2950, 2730, 1710  $\text{cm}^{-1}$  RMN  $^1\text{H}$  -- ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 9.7 (d, J = 3 Hz, H formilo), 4.73 (d, J = 3 Hz 1' H) 3.9 (m, 3- $\alpha$ -H), 3.62 (s, 3'- $\text{CH}_3\text{O}$ -), 1.15 (d, J = 6 Hz, 5'- $\text{CH}_3$ ), 0.97 (s, 18- $\text{CH}_3$ ), 0.94 (s, 19- $\text{CH}_3$ ).

(3 $\beta$ ,5 $\beta$ , 14 $\beta$ , 17 $\beta$ )-3-(6-desoxi-3-metoxi- $\alpha$ -1-glucopiranosil)-oxi-14-hidroxi-21-etoxicarbonil-pregнено-20 XVII. Se disolvieron 0.30 g (0.54 mmol) del aldehído XV en 25 ml de metanol. Se adicionaron 68 mg (0.60 mmol) de cianoacetato de etilo y dos gotas de Tritón B, se agitó a 25° C durante 24 hs, al cabo de este tiempo, se evaporó el disolvente bajo presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Gel de sílice Merck 70-230) empleando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (2:1), obteniéndose 140 mg del compuesto XVI con p.f. = 99-101° C IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3450, 2920, -- 2210, 1720, 1250  $\text{cm}^{-1}$ , RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.92 (s, 18- $\text{CH}_3$ ), 1.0 (s, 19- $\text{CH}_3$ ), 1.3 (d, J = 6 Hz, 5'- $\text{CH}_3$ ), 3.7 (s, 3' - $\text{CH}_3\text{O}$ -), 4.35 (c, J = 6 Hz, - $\text{CH}_3$  - $\text{CH}_2$ - $\text{OCO}$ ), 4.9 (d, J = 2 Hz, 1'-H), 7.25 (d, J = 3 Hz 20-H, (Z)), 8.0 (d, J = 11 Hz, 20-H (E)), MASAS, m/z 557 [M-18] 1.6%.

(3 $\beta$ ,5 $\beta$ , 14 $\beta$ ,17 $\beta$ )-3-(6desoxi-3-metoxi- $\alpha$ -1-glucopiranosil)-oxi-14-hidroxi-21-ciano-21-carboxiamido-pregncno-20. XVIII. Se disolvieron 0.3 g (0.54 mmol) del aldehído XV en 25 ml de eta-

nol, se adicionaron 50mg (0.60 mmoles) de cianoacetamida y 2 gotas de Tritón B, se agitó a 25° C durante 36 h. Se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Gel de sílice Merck 70-230) empleando como eluyente acetato de etilo, obteniendo 290 mg (86%) del compuesto XVII p.f. = 124-126°C, IR  $\nu_{\max}$  3420, 2920, 220, 1675, 1370  $\text{cm}^{-1}$ , RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.92 (s, 18- $\text{CH}_3$ ), 1.0 (s, 19- $\text{CH}_3$ ), 1.26 (d, J= 6 Hz, 5'  $\text{CH}_3$ ), 3.72 (s, 3'- $\text{OCH}_3$ ), 4.87 (d, J= 4 Hz, 1' H), 6.17 (s,  $\text{CONH}_2$ ), 7.3 (d, J= 3 Hz, 20-H (Z)), 8.0 (d, J=11 Hz 20-H (E)).

(3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 14 $\beta$ , 17 $\beta$ )-3-(6-desoxi-3-metoxi- $\alpha$ -1-glucopiranosil)-oxi-14-hidroxi-21-etoxicarbonil-21-metilcarbonil-pregнено 20 XIX

No se logró la condensación del aldehído XVI con acetoacetato de etilo en ninguna de las condiciones que se probaron.

(3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 14 $\beta$ , 17 $\beta$ )-3-(6-desoxi-3-metoxi- $\alpha$ -1-glucopiranosil)-oxi-14-hidroxi-21-dimetil carbonil-pregнено 20 XX

Se disolvieron 300 mg (0.54 m moles) del aldehído XV en 25 ml de metanol anhidro y se adicionaron 60 mg (0.6 m moles) de sodio. Se calentó a reflujo durante 30 h. Se virtió en agua y se extrajo (3X20 ml) con acetato de etilo. Se evaporó a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 70-230), usando como eluyente hexano acetato de etilo 2:1). Se obtuvieron 156 mg (45%) del producto con p.f. 95-97° IR  $\nu_{\max}$  3450, 2940, 1380, 1025  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.0 (s, 18- $\text{CH}_3$ ), 1.1 (s, 19- $\text{CH}_3$ ), 2.0 (s, 21- $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.7 (s, 3'  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.8 (d, J= 3Hz, 1'-H), 7.2 ppm (d, J= 6Hz, 20-H) MASAS, m/z 544.7 [M-18] 0.5%.

(3<sup>β</sup>, 5<sup>β</sup>, 14<sup>β</sup>, 17<sup>β</sup>)-3-(6desoxi-3-metoxi-α-1-glucopiranosil)-oxi-14-hidroxi-21-dietoxicarbonil-pregnenó 20 XXI No se logró la condensación del aldehído XV con el malonato de dietilo en ninguna de las condiciones que se probaron.

(3<sup>β</sup>, 5<sup>β</sup>, 14<sup>β</sup>, 17<sup>β</sup>)-3-(6desoxi-3-metoxi-α-1-piranosil)-oxi-14-hidroxi-21-ciano-21-(3piridil)-pregnenó 20 XXII. Se disolvieron 100 mg (0.18mmol) del aldehído XV en 20 ml de etanol absoluto y se adicionaron 21 mg (.18 mmol) de 3-piridilacetónitrilo y 4.2 mg (0.18 mmol) de sodio. Se dejó 2 h. a temperatura ambiente. Se neutralizó con ácido acético a pH=4.5, se vertió sobre agua y se extrajo (3 x 20 ml) con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró hasta sequedad y el residuo se disolvió en 5 ml de piridina y se adicionaron 10 ml de anhídrido acético. Se dejó a temperatura ambiente durante 24 h. y se vertió sobre ácido clorhídrico 0.1 N. Se extrajo (3 x 20 ml) con acetato de etilo, se secó, se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (70-230) empleando como eluyente acetato de etilo-exa-nó 2:1 se obtuvieron 70 mg del aducto acetilado (60%) con PF=102-104° C; IR  $\nu_{\max}$  3500, 2950, 2220, 1750, 1390, 1230, -- 1440  $\text{cm}^{-1}$ . RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.93 (s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.96 (s, 19-CH<sub>3</sub>) 2.1 (s, 2' CH<sub>3</sub>CO), 2.05 (s, 4' CH<sub>3</sub>CO), 3.4 (s, 3' CH<sub>3</sub>O-), 5.1 (d, J= 3Hz, 1'H), 7.35 (d, J= 10Hz 20-H), 7.7-8.7 (m, H-piridina).

(3 $\beta$ ,5 $\beta$ ,14 $\beta$ , 17 $\beta$ )-3-(6 desoxi-3-metoxi- $\alpha$  -1-glucopiranosil)- -  
oxi-14-hidroxi-21-ciano-21-(3,4-metilendioxifenil)-pregneno 20  
-3no XXIII Se disolvieron 300 mg (0.54 mmol) del aldehido XV  
y 96.6 mg (0.60 mmol) de cianuro de piperonilo en 25 ml de e  
tanol, se adicionaron 2 gotas de tritón B. Se agitó a 25°C  
durante 24 h. Se evaporó a sequedad bajo presión reducida y  
se purificó el residuo por cromatografía en columna (gel de --  
sílice Merck 70-230) eluyendo con una mezcla de hexano-acetato  
de etilo (2:1) obteniendose 100 mg del compuesto XXII con p.f.  
= 125-127°C, IR  $\nu_{\max}$  3450, 2950, 2215,1390, 1040  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$   
( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.0 (s,18- $\text{CH}_3$ ), 1.08 (s, 19- $\text{CH}_3$ ), 3.7 (s, 3' $\text{CH}_3\text{O}$ -)  
4.9 (d, J= 3Hz  $^1\text{H}$ ), 6.0 (s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.6. (d, J=10 Hz 20-H)  
6.9-7.3 (m, H:fenilo).

Tabla No. 2.- DATOS DE RMN 'H PARA LOS TEVETHOSIDOS MODIFICADOS

COMPUESTO	1' H	3' CH <sub>3</sub> O-	5' CH <sub>3</sub>	18 CH <sub>3</sub>	19 CH <sub>3</sub>	20 H	17 CH=O
XVI	4.73, d J = 3 Hz	3.62 s	1.15, d J = 6 Hz	0.97 s	0.94 s	—	9.7, d J = 3 Hz
XVII	4.9, d J = 2 Hz	3.7 s	1.3, d J = 6 Hz	0.92 s	1.0 s	8.0, d J = 11 Hz	
XVIII	4.87, d J = 4 Hz	3.72 s	1.26, d J = 6 Hz	0.92 s	1.0 s	8.0, d J = 3 Hz	
XX	4.8, d J = 3 Hz	3.7 s	1.20, d J = 6 Hz	1.0 s	1.1 s	7.2, d J = 6 Hz	
XXII	5.1, d J = 3 Hz	3.4 s	1.12, d J = 6 Hz	0.93 s	0.96 s	7.35, d J = 10 Hz	
XXIII	4.9, d J = 3 Hz	3.7 s	1.29, d J = 6 Hz.	1.0 s	1.8 s	6.6, d	

## C O N C L U S I O N E S

Como se discutió en la parte de relaciones estructura-actividad biológica, el doble enlace de la lactona es muy importante para la actividad cardiotónica de la digitoxigenina y en general para los glucósidos digitálicos. En este trabajo, se planteó la preparación de derivados que presentaran un centro aceptor de nucleófilos más potente que la lactona original, este objetivo fué logrado como lo muestra la tabla 2 de los datos de RMN <sup>1</sup>H para los thevetósidos modificados; el protón vinílico unido a C 20 aparece desplazado a campo bajo debido al poderoso efecto inductivo ejercido por los dos grupos electro-atrayentes. Así las señales para el hidrógeno van desde 6.6 ppm para el compuesto XXII, hasta 8.0 para los compuestos XVI y XVII. Sin embargo, el hecho de tener a la thevetosa en lugar de la glucosa formando el glucósido, disminuye su solubilidad en agua ya que la thevetosa contiene dos grupos oxhidrilo menos que la glucosa, siendo esta probablemente la principal causa de la baja solubilidad en agua de estos thevetósidos.

De los compuestos sintetizados, el XX fué el más activo en la prueba de la aurícula aislada de cobayo, sin embargo su baja solubilidad en medio acuoso dificultó su correcta evaluación en la preparación cardiopulmonar de Sterling.

No obstante, se plantea la preparación de un derivado similar en el que se reemplaza uno de los grupos 21-metil-carbonil por 3 o 4-piridilcarbonil, condensado el aldehído XV

con la 4-(3-piridil)-2,4-butanodiona , en lugar de la pentano-  
diona-2,4 pudiendo así preparar su correspondiente clorhidrato  
que tendrá una mayor solubilidad en agua, o bien preparar un -  
triglucósido por reacción de acetobromogentobiosa y posterior  
desprotección de los grupos oxhidrilo.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- W. Withering "AN ACCOUNT FOR THE FOX GLOBE AND ITS MEDICAL USES" 1785, "IN READINGS OF PHARMACOLOGY" Shuster L. Ed. Little Braan, Boston, 1962, p. 109
- 2.- "Top 200 products" in Drug Store news Marzo de 1983.
- 3.- M.A. Kimble y R.M. Elenbaos., J. Am Pharm Ass. 14: 362, (1974).
4. G.K. Moe y A.E. Farah. The Pharmacologic Basis of Therapeutics. 5a. ed. pág. 653. Ed. by L.S. Goodman y Gilman, McMillan Publishing Co. Inc. New York, 1975.
- 5.- R.I. Oglivie y J. Ready, J. Can. Med. Assoc. 97 : 1450 - (1967).
- 6.- AMA department of Drugs AMA DRUG EVALUATIONS 4a. Ed. -- (1981).
7. L.S. Dreyfus, Y Watanabe, Seminars in Drug Tretment 2 -- 179, (1972).
- 8.- K.S. Lee y W. Klaus, Pharmac Rev. 23: 193 (1971)

- 9.- F. Godfraid, Biochem Pharmac. 24 823 (1975)
- 10.- K. Repke, Internist 7 418 (1966).
- 11.- K. Repke, R. Schoñ, W. Henke, YW. Schönfeld, Ann New York Acad Sci 242 203 (1974).
- 12.- G. Okita, F. Richardson y B.F. Roth-Schechter, J. Pharmac. Exp. Ther. 185 1 (1973).
- 13.- R.V. Murthy A.M. Kidwai y E. Daniel, J. Pharm. Exp. Ther. 188 575 (1974)
- 14.- H. Lullman T. Petters y K.U. Seiler, Dt. Med. Wschr. 96 1018 (1971).
- 15.- H. Lullman y T. Petters, Europ. J. Pharm. 14 204 (1971).
- 16.- B.G. Katzung, J.A. Muñoz, D.Y. Shirachi, A. J. Trevor, - H. H. Chang y M. E. Wolff, Experientia 26. 1189 (1970).
- 17.- Farah A.E. y A.A. Alousi, Life Sci 22 1139.
- 18.- G. Pastelin. R. Mendez. E. Kabelá y A. Farah, Life Sci 33 1787 (1983)

- 19.- Ch. Tamm in Proc. Ist International Pharmac. Meeting, --  
Stockholm Vol. 3 pág. 71 Ed. W. Willbrandt Pergamon Press  
Oxford (1963).
- 20.- T. Shigei, H. Tsuru, Y. Saito y M. Okeda, Experientia 29  
449 (1973).
- 21.- K.R. H. Repke, Pharmazie 27 693 (1972).
- 22.- Y. Saito y Kanemusa y M. Okeda, Chem Pharm. Bull. 18 629  
(1970).
- 23.- W. Zürker, H. Weiss-Berg y Ch. Tamm, Helv. Chim. acta 52  
2149 (1969)
- 24.- T.R. Witty W.A. Remers y H. R. Besch. J. Pharmac. Sci. -  
64 1248 (1975).
- 25.- G. Pastelin y R. Mendez, Europ. J. Pharmacol. 19 291  
(1972).
- 26.- R. Mendez G. Pastelin y E. Kabelá, J. Pharmacol exp. --  
Ther. 188 189 (1974).
- 27.- G. Pastelin y R. Mendez, Life Sci 32 1905 (1983).

- 28.- R. Deghenghi, Pure and Applied Chem. 21 153 (1970).
- 29.- R. Bojorges, M. Cardenas G. Pastelin y R. Mendez, Arch. del Inst. de Cardiología de México 44 615 (1974).
- 30.- M. Taeschler y A. Cerlenti, Biochem Pharmacol 8 35 (1961).
- 31.- A. Guzman, J.M. Muchowsky, A.M. Strosberg y J. M. Sims, Can. J. Chem 59 3241 (1981).
- 32.- J.S. Butagy Y R.E. Thomas, Aust. J. Chem 2723 (1971).
- 33.- P. Smith, L. Brown, J.S. Butagy and R.E. Thomas J. Med. Chem 25 1222 (1982).
- 34.- W. Elerbein J. Heinder y H. Marhlend, Chem. Ber. 107 -- 1275 (1974).
- 35.- S. Schutz, K. Myer y H. Kratzer, Arzneim-Forsch., 19, 69 (1969).
- 36.- a) A. Cruz, I. Garcia, J.. Iriarte, J.M. Muchowsky y I. Regla, J. Org. Chem 42 3580 (1977).  
b) A. Cruz, A. Guzmán, J. Iriarte, R. Medina y J.M. Muchowsky, J. Org. Chem. 44 3511 (1979).

37.- Butagy y Thomas. Aust. J. Chem. 24 2723 (1971).

38.- H. Helfenberger y T. Retschtein, Helv. Chim. Acta 31 --  
1470 (1948).