

Síntesis de derivados halogenados e insaturados del pregnano

Arelis Jaime Novas, Mayra Reyes Moreno, José Alberto Ruíz García, Hermán Vélez Castro y José Manuel Méndez Stivalet*

Centro de Química Farmacéutica, Apartado Postal 16 042, Ciudad de La Habana, Cuba, *División de Estudios de Postgrado, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Recibido: 18 de noviembre de 1999

Aceptado: 3 de febrero del 2000

Palabras clave: Antiandrogénica, pregnano, esteroidales, esterificación, halogenados.

Key words: Antiandrogenic, pregnane, steroidal, esterification, halogenated

RESUMEN. Los antiandrógenos son en su mayoría derivados esteroidales que tienen una amplia aplicación en el tratamiento de diversas enfermedades. Se conoce de la literatura que un átomo de halógeno produce cambios en la actividad androgénica, y que estos cambios son mayores con el átomo de bromo, ya que desestabiliza más el sistema 4-en-3-ceto, responsable en parte de esa actividad. Existen numerosos fármacos con propiedades antiandrogénicas tanto esteroidales como no esteroidales que son utilizados en el tratamiento de diferentes enfermedades asociadas a trastornos androgénicos. Uno de los más potentes es el acetato de ciproterona, pero su uso está limitado debido a su parcial actividad progestacional. Esta limitada utilidad clínica de las opciones existentes como antiandrógenos hace necesario el estudio de nuevas alternativas que en general disminuyan al máximo los efectos colaterales y expresen mayor potencia. El objetivo fundamental de este trabajo fue la síntesis de compuestos halogenados de la serie del pregnano que pudieran presentar actividad antiandrogénica.

ABSTRACT. Most of the antiandrogens are steroidal derivatives which have a wide use on the treatment of several illness. It is known that a halogen atom produces changes in the androgenic activity but these changes are bigger when a bromine atom is used. This atom affects more than 4-en-3-keto system which is partially responsible for the activity. There are many drugs with antiandrogenic properties that are useful on the treatment of many diseases related to androgenic disfunctions. One of the most important is the ciproterone acetate, but its employment is restricted due to its partial progestational activity. In fact, the study of new alternatives would help to improve their uses as antiandrogens in clinical therapy. These options have to decrease the side effects and increase their capacity-power. The synthesis of halogenated compounds of the pregnane's serie with possible antiandrogenic activity was the main objectives of this paper.

INTRODUCCION

La búsqueda de nuevos fármacos que presenten una mayor potencia y menores efectos secundarios, ha conllevado a la síntesis de diferentes compuestos, entre los cuales se encuentran los antiandrógenos.

Estos compuestos son sustancias sintéticas, en su mayoría derivados esteroidales, que han sido grandemente empleados en el tratamiento de diver-

sas enfermedades asociadas a los andrógenos.¹

La actividad de los mismos se plantea sea atribuida a la estructura casi plana de la molécula, la presencia de dobles enlaces en 4(5) y 6(7), la esterificación en el grupo hidroxilo del C-17 y la presencia de sustituyentes electro-negativos en el C-6.

Se ha encontrado que pequeñas modificaciones en la molécula esteroi-dal pueden producir importantes

cambios en la actividad fisiológica, como por ejemplo la introducción de un halógeno en la posición 6 hace que la reducción enzimática de la testosterona no transcurra de igual forma, ya que éste interfiere en la resonancia de la cetona α , β -insaturada, desestabilizando la molécula; así también, la insaturación en 6 le confiere resistencia al metabolismo de la progesterona, además de que la combinación 3-ceto-4,6-dien-6-halo-pregnano elimina la posibilidad de formación del metabolito 5 α -reducido.²

Por otra parte hay autores que plantean que el halógeno introducido en la posición 6 produce cambios en la actividad androgénica, encontrando que para Br, Cl, F se obtiene 73, 46 y 31% de actividad antiandrogénica, respectivamente.³

El bromo presenta mayor actividad desestabilizante del sistema 4-en-3-ceto y es menos susceptible a reacciones de deshalogenación. Este efecto antiandrogénico registrado en sistemas 4,6-dien-6-halo-3-ceto pregnano se ha explicado por la unión débil del compuesto con el receptor androgénico.

El objetivo fundamental de este trabajo fue la síntesis de compuestos halogenados de la serie del pregnano que pudieran presentar actividad antiandrogénica.

MATERIALES Y METODOS

Para la síntesis se empleó como materia prima la 17 α -acetoxiprogesterona (I) proveniente de la firma Diosynth By, con un punto de fusión de 241°-251°C y longitud de onda de 240 nm.

Los procesos de síntesis descritos se controlaron por cromatografía en capa delgada, utilizando placas pre-elaboradas de silicagel GF-254 de la Merck, con 0,1 mm de espesor. El sistema de disolventes empleado en cada uno de los métodos es cloroformo-metanol 9,8:0,2 y la observación de los cromatogramas se efectúa bajo la luz ultravioleta a 254 nm y a 366 nm luego de ser tratadas las placas con una disolución acuosa de ácido sulfúrico al 50 % y calentamiento a 105 °C por 5 min.

Para la determinación de las temperaturas de fusión (t.f.) de los compuestos sintetizados se empleó un equipo Electrothermal. Las mismas no fueron corregidas. Los análisis elementales se realizaron en un equipo Perkin Elmer 2400 (CHN). Los espectros ultravioleta se registraron en un Espectrofotómetro Py Unicam 8700.

Los espectros infrarrojos se registraron en un equipo Vector 22 Bruker en el intervalo de 200-4 000 cm⁻¹. Las muestras sólidas se prepararon en pastillas de bromuro de potasio a temperatura ambiente por el método estándar.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C fueron registrados indistintamente en un equipo Bruker AC 250F y Advance DX 300. Los corrimientos químicos se registraron en la escala δ (ppm). Las muestras fueron disueltas en cloroformo deuterado, empleando TMS como referencia interna. Las asignaciones de las señales se realizaron con ayuda de los espectros bidimensionales (COSY ¹H-¹H y COSY ¹H-¹³C). El desplazamiento químico de las señales se determinó empleando las técnicas de DEPT y COSY ¹H-¹³C y el empleo de las tablas existentes en la literatura.^{4,5}

PARTE EXPERIMENTAL

17α-acetoxi-4,6-pregnadien-3,20-diona (II)

Una mezcla de 1 g (0,0027 mol) de (I), 7,72 mL (0,135 mol) de ácido acético, 0,68 g (0,0028 mol) de cloranilo en tolueno, se calienta a reflujo por 7 h. Se enfría a 0 °C y el sólido obtenido se filtra. Los líquidos madres son vertidos en una solución de hidróxido de sodio, y el producto de interés se extrae de forma usual y se cristaliza de metanol-cloruro de metileno. Se obtienen 0,61 g. Punto de fusión 225-227 °C. Se obtiene un máxi-

mo de absorción en UV a una longitud de onda de 283 nm.

IR cm⁻¹: 3100, 1584, 876,5 (C-H), 1727 (C = O acetato), 1717 (C = O cetona en 20), 1660 (C = O α,β-insaturada), 1257 (C-O acetato).

RMN ¹H ppm: 0,70 (3H, s, CH₃-18); 1,15 (3H, s, CH₃-19); 2,06 (3H, s, CH₃-21); 2,15 (3H, s, CH₃CO); 5,70 (1H, s, H-4); 6,14 (1H, d, J₆₇=8,8Hz, H-6); 6,16 (1H, d, J₆₇=8,8Hz, H-7); 3,00 (1H, t ancho, H-16α).

RMN ¹³C ppm: C20, 203,9; C3, 199,4; C22, 170,7; C5, 163,2; C7, 140,1; C6, 128,3; C4, 123,9; C17, 96,4; C14, 50,1; C9, 48,9; C13, 47,6; C8, 37,5; C10, 36,0; C1, 33,9; C2, 33,9; C12, 31,7; C16, 30,2; C21, 26,4; C15, 23,4; C23, 21,2; C11, 20,3; C19, 17,3; C18, 14,3.

17α-acetoxi-6 α,7 α-epoxi-4-pregnen-3,20-diona (III)

Una mezcla de 1 g (0,0027 mol) de (II), 1,73 g (0,0058 mol) de ácido metacloroperbenzoico (MCPA) en cloroformo, es agitada durante 24 h. Finalizada la reacción la misma es tratada primero con una solución de sulfito de sodio al 10 % y después con solución de bicarbonato de sodio al 10 %. Se procede con la fase orgánica de forma usual y se obtiene un producto crudo que después de cristalizado de metanol se obtienen 0,32 g del α-epóxido con un punto de fusión de 238-241 °C. Se obtiene un máximo de absorción en UV a una longitud de onda de 237 nm.

IR cm⁻¹: 1734 (C = O acetato), 1716 (C = O cetona en 20), 1656 (C = O α,β-insaturada) 1600 (C = C), 1250 (C-O acetato), 865 (C-O epóxido).

RMN ¹H ppm: 0,70 (3H, s, CH₃-18); 1,11 (3H, s, CH₃-19); 2,05 (3H, s, CH₃-21); 2,22 (3H, s, CH₃O); 3,38 (1H, d, H-7); 3,52 (1H, d, H-6); 6,15 (1H, s, H-4); 3,00 (1H, t, H-16α).

RMN ¹³C ppm: C20, 203,9; C3, 198,2; C22, 170,8; C5, 162,1; C4, 131,3; C17, 96,2; C9, 54,5; C14, 52,6; C13, 47,2; C7, 46,9; C8, 40,2; C10, 35,5; C6, 34,7; C1, 34,0; C2, 33,9; C12, 30,5; C16, 30,5; C21, 26,3; C15, 23,4; C23, 21,3; C11, 19,5; C19, 17,2; C18, 14,2.

17α-acetoxi-6-bromo-4,6-pregnadien-3,20-diona (IV)

A una disolución de 0,5 g (0,0013 mol) de (III) en ácido acético en frío, se le añaden lentamente 2,46 mL (0,0044 mol) de ácido bromhídrico al 45 % en ácido acético, se agita por 2 h, y se deja que alcance la temperatura ambiente, temperatura a

la cual se agita por 2 h más. Terminada la reacción se neutraliza con solución de hidróxido de sodio al 10 % y se extrae de forma usual el producto con acetato de etilo. El producto obtenido pesó 0,3 g. Una parte fue purificado por cromatografía preparativa con fines analíticos. Punto de fusión 158-161 °C.

IR cm⁻¹: 3100 (C-H), 1730 (C=O acetato), 1712 (C = O cetona en 20), 1650 (C = O α,β-insaturada), 1250 (C-O acetato).

RMN ¹H ppm: 0,75 (3H, s, CH₃-18); 1,17 (3H, s, CH₃-19); 2,06 (3H, s, CH₃-21); 2,10 (3H, s, CH₃O); 6,32 (1H, s, H-4); 6,56 (1H, d, H-7); 3,00 (1H, t, H-16α).

RMN ¹³C ppm: C20, 203,9; C3, 194,2; C22, 170,7; C5, 159,4; C7, 142,7; C4, 126,7; C6, 121,5; C17, 96,2; C14, 49,5; C9, 48,5; C13, 47,5; C8, 40,1; C10, 38,4; C1, 34,2; C2, 33,8; C12, 30,9; C16, 30,3; C21, 26,4; C15, 23,3; C23, 21,2; C11, 20,2; C19, 16,4; C18, 14,2.

Obtención del 17α-acetoxi-6β,7α-dibromo-4-pregnen-3,20-diona (V)

A una disolución de 1 g (0,0027 mol) de (II) en tetracloruro de carbono a temperatura entre 0° y 5 °C, se le añade lentamente 0,15 mL (0,0028 mol) de bromo. Después de terminada la reacción la mezcla se trata con una disolución de hidróxido de sodio al 5 %, se separan fases y la fase orgánica se trata de la forma usual. El producto obtenido 1,4 g se purifica por cromatografía preparativa con fines analíticos. Punto de fusión 140-145 °C.

IR cm⁻¹: 1729 (C=O acetato), 1715 (C=O cetona en 20), 1600 (C=C), 1260 (C-O acetato).

RMN ¹H ppm: 0,78 (3H, s, CH₃-18); 1,55 (3H, s, CH₃-19); 1,60 (1H, m, H-14); 2,05 (1H, m, H-9); 2,08 (3H, s, CH₃-21); 2,25 (3H, s, CH₃O); 4,57 (1H, t, H-7); 5,12 (1H, d, H-6); 6,00 (1H, s, H-4); 3,00 ppm (1H, t ancho, H-16α).

RMN ¹³C ppm: C20, 203,6; C3, 198,6; C22, 170,6; C5, 160,8; C4, 130,3; C17, 96,3; C7, 59,4; C6, 52,1; C9, 48,3; C13, 46,7; C14, 44,6; C10, 38,0; C1, 37,4; C12, 34,1; C8, 34,1; C2, 30,4; C16, 30,1; C21, 26,4; C19, 23,4; C15, 22,7; C23, 21,2; C11, 20,3; C18, 14,8.

Obtención del 17α-acetoxi-4-bromo-4,6-pregnadien-3,20-diona (VI)

Una mezcla de 1 g (0,0019 mol) de (V) y 0,52 g (0,0038 mol) de carbonato de potasio en dimetilformamida se calienta entre 50 °-60 °C durante 3 h.

Culminada la reacción, se enfría a temperatura ambiente, se vierte sobre agua y se ajusta el pH con ácido clorhídrico, se filtra y se seca a vacío. Una muestra del producto obtenido (1,28 g) se destina a su purificación por cromatografía preparativa con fines analíticos. Punto de fusión 224-226 °C.

IR cm^{-1} : 3100, 1604, 1541 (C-H), 1729 (C=O acetato), 1717 (C=O cetona en 20), 1670 (C=O α,β -insaturada), 1260 (C=O acetato).

RMN ^1H ppm: 0,75 (3H, s, CH_3 -18); 1,17 (3H, s, CH_3 -19); 2,07 (3H, s, CH_3 -21); 2,11 (3H, s, CH_3 O); 6,30 (1H, dd, H-7); 6,80 (1H, dd, H-6); 3,00 (1H, t, ancho, H-16 α).

RMN ^{13}C ppm: C20, 203,8; C3, 190,7; C22, 170,6; C5, 159,4; C7, 143,1; C6, 127,8; C4, 121,6; C17, 96,2; C9, 50,3; C14, 48,5; C13, 47,5; C10, 39,8; C8, 37,5; C2, 33,9; C1, 32,8; C12, 31,0; C16, 30,3; C21, 26,4; C15, 23,2; C23, 21,1; C11, 20,3; C9, 16,0; C18, 14,2.

17 α -hidroxi-4-bromo-4,6-pregnadien-3,20-diona (VII).

Una mezcla de 0,9 g (0,0020 mol) de (IV), 70 mL de metanol, 20 mL de hidróxido de sodio al 10 % en metanol, se agita durante 2 h a temperatura ambiente. Completada la reacción se neutraliza con ácido acético y se destila la parte del disolvente. Posteriormente la solución se vierte sobre 120 mL de agua fría, se filtra el sólido obtenido y se seca. El rendimiento del producto es de un 85 %.

IR cm^{-1} : 3482 (OH del C17), 2945 (C-H), 1703 (C=O del C20), 1656 (C=O del C3) 1604 (C=H), 1538 (C=H).

RMN ^1H ppm: 0,80 (3H, s, CH_3 -18); 1,12 (3H, s, CH_3 -19); 2,30 (3H, s, CH_3 -21); 6,33 (1H, dd, H-7); 6,80 (1H, dd, H-6).

RMN ^{13}C ppm: C20, 211,2; C3, 190,7; C5, 159,6; C7, 143,6; C6, 127,7; C4, 121,5; C17, 89,4; C9, 50,4; C14, 48,9; C13, 47,5; C10, 39,8; C8, 37,3; C2, 33,9; C1, 33,6; C16, 32,9; C12, 30,1; C21, 27,8; C15, 23,3; C11, 20,2; C9, 16,1; C18, 15,2.

17 α -enantato-4-bromo-4,6-pregnadien-3,20-diona (VIII).

Una mezcla de 0,8 g (0,0020 mol) de (VII), 4 mL (0,00151 mol) de anhídrido enántico y 0,48 g (0,004 mol) de DMAP, se calientan a 100 °C por 2 h. Un vez concluida la reacción se añade cloruro de metileno y se realizan la-

vados con ácido clorhídrico 1N, bicarbonato de sodio al 5 % y agua hasta neutralidad. Se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora el disolvente, cristalizando de metanol. Rendimiento 37 %.

IR cm^{-1} : 2952 (C-H), 1721 (C=O del enantato en C17), 1721 (C=O del C20), 1670 (C=O del C3) 1605 (C=H), 1543 (C=H), 1255 (C-O del éster).

RMN ^1H ppm: 0,75 (3H, s, CH_3 -18); 0,90 (3H, s, CH_3 -enantato en C17) 1,15 (3H, s, CH_3 -19); 2,06 (3H, s, CH_3 -21); 6,33 (1H, dd, H-7); 6,82 (1H, dd, H-6).

RMN ^{13}C ppm: C20, 203,8; C3, 190,6; C22, 173,3; C5, 159,4; C7, 143,1; C6, 127,9; C4, 121,7; C17, 95,9; C9, 50,4; C14, 48,7; C13, 47,6; C10, 39,8; C8, 37,5; C2, 34,4; C1, 33,9; C16, 31,4; C12, 30,4; C21, 26,4; C15, 23,2; C11, 20,3; C9, 16,1; C18, 14,3. Los valores de los desplazamientos químicos de los carbonos pertenecientes al grupo enantato son 32,9; 31,1; 29,7; 28,8; 22,5 y 14,0, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

El esquema de la Figura 1 muestra las diferentes vías de síntesis para la obtención de los diferentes compuestos.

Primeramente se trabajó en la introducción del átomo de bromo en el sistema 4,6-dien-3-ceto por la formación de un doble enlace en 6(7) con el empleo de cloranilo, seguido de la epoxidación del doble enlace con ácido metacloroperbenzoico (MPCA) y su posterior apertura del epóxido con ácido bromhídrico en acético al 45 %.

En esta secuencia se obtiene el derivado bromado en la posición 6, aunque con bajo rendimiento (12 %), producto de que en la epoxidación el rendimiento cae apreciablemente.

Por tal motivo se trabajó en una segunda vía de síntesis que consistió en la introducción del doble enlace en 6(7) con el empleo de cloranilo, posterior dibromación del doble enlace en 6(7) con el empleo de bromo en tetracloruro de carbono y por último deshidrobromación del derivado dibromado con el uso de carbonato de potasio en dimetilformamida.

En esta secuencia los rendimientos del derivado bromado eran superiores (53 %) aunque se obtuvo el compuesto sustituido en el carbono 4 y no en el 6 como se esperaba.

Estudios anteriores realizados por Kocór y Gumulka sobre bromación de sistemas 1,4,6-trieno-3-ceto y de hidrobromación con bases orgánicas, muestran una transposición del átomo de halógeno de la posición 6 a la 4, donde proponen dos posibles mecanismos para su explicación.⁶

Por último se realizó la hidrólisis del grupo acetato en la posición 17 con solución de hidróxido de sodio en metanol al 10 % para posteriormente realizar la esterificación y obtención del enantato correspondiente como se muestra en la Figura 2.

La reacción de esterificación se realizó en diferentes condiciones, primeramente con el cloruro del ácido enántico y piridina a la temperatura ambiente y reflujo con diferentes relaciones de piridina y cloruro de ácido y los resultados no fueron buenos por lo que

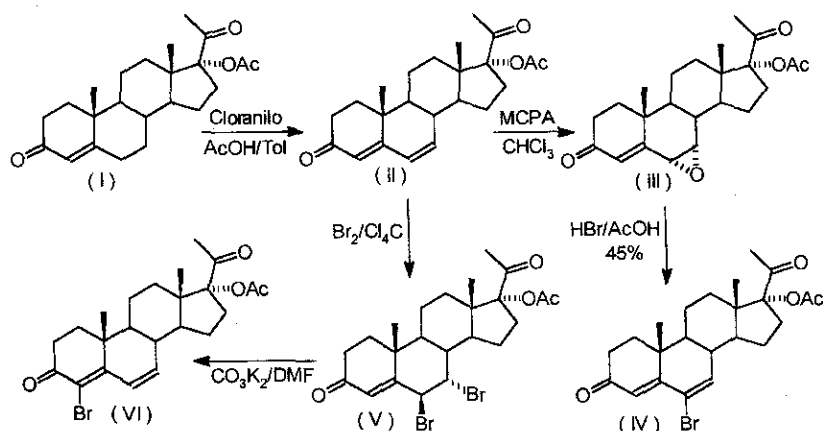


Fig. 1. Esquema general de síntesis

se decidió utilizar la dimetilaminopiridina (DMAP) como catalizador ya que la misma se emplea en el caso de alcoholes terciarios con impedimento estérico. Después de realizar diferentes experiencias con diferentes solventes como piridina, tolueno, benceno y diclorometano empleando diferentes relaciones molares de esteroide: DMAP: cloruro de ácido con tiempos superiores a las 72 h los esfuerzos para completar la reacción fueron inútiles. Las mejores condiciones para la obtención del éster fueron empleando el anhídrido enántico como disolvente y agente esterificante y dimetilaminopiridina como catalizador a la temperatura de 100 °C, en donde después de 3 h la reacción se completaba por cromatografía, no obstante el rendimiento del producto fue de un 37 %.

Se comprobó durante la elucidación estructural de los compuestos sintetizados que al desacetilar el compuesto (VI), la señal protónica que aparecía en $\delta = 3,0$ ppm se corre hasta 2,3 ppm, lo que indica que la

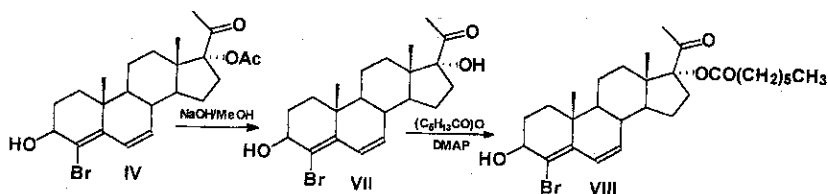


Fig. 2. Hidrólisis y esterificación

misma corresponde al H-16 α . Esto permitió en los espectros HC-COSY, asignar la posición correcta en todos los compuestos de la señal C-16.

CONCLUSIONES

En las condiciones de dibromación y deshidrobromación de II se produce la transposición del bromo de la posición 6 a la 4, cuyos antecedentes en la literatura muestran el mismo comportamiento para esteroides con el sistema conjugado 3-ceto-1,4,6-trieno.

Se logra la formación del éster enántico de VII variando las condiciones

de la reacción y con el uso del catalizador dimetilaminopiridina.

BIBLIOGRAFIA

1. Goodman G.A., Goodman L.S. y Gilman A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. III, 1 413-1 429, Ed. Revolucionaria, Cuba, 1984.
2. Tymoczko J. and Sato S. J. *Reprod. Fert. Suppl.*, **24**, 147, 1976.
3. Shapiro E., Weber L., Harris H., et al. *J. Med. Chem.*, **15**, 716, 1972.
4. Blunt J.W. and Stothers J. *Organic Magnetic Resonance*, **9**, 439, 1977.
5. Romer J., Scheller D. and Grossmann G. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **25**, 135, 1987.
6. Kocór M., Gumúlka M. *Tetrahedron Letters*, **37**, 3 227, 1970.