

433677

Int. Cl.: A61K, C07C

MEMORIA DESCRIPTIVA

Correspondiente a la solicitud de registro de Patente de -
Invención que, por veinte años, se solicita para todo el -
territorio nacional, a favor de la firma SOCIETE THERAMEX,
de nacionalidad francesa, residente en PARIS (Francia), -
11 Bd Lannes, con prioridad de la Patente inglesa núm. -
2211/74, de fecha 17 de Enero de 1.974, - - - - -

P O R

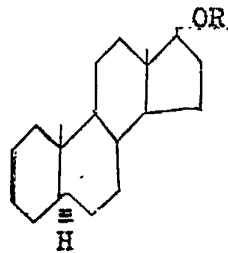
"PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION EN ESTADO PURO DEL COM-
PUESTO 17α -ETHINYL (5α)-2 - ANDROSTENE, 17β -OL, Y DE
SU ACETATO 17β , DE APLICACION EN TERAPEUTICA HUMANA"

La presente invención concierne a un producto indus-
trial nuevo, el compuesto 17α -ethinyl (5α) 2-androstene
 17β -ol (y su acetato 17β) correspondiente a la estructu-

POOR
QUALITY

ra siguiente:

5



C = CH

R = H; R = Ac

10

en estado puro, y se refiere a un procedimiento que permite la obtención de dicho producto en estado puro, de variada aplicación en terapéutica humana.

15

Ciertos autores, y principalmente M. Huffman (Patente USA núm. 2.996.524 y Patente francesa 3084 M); J.S. Edwards & A. Bowers (Chemistry and Industry 1.961, pp.1962-63); G. Pomonis (Cancer Chemotherapy Reports, 1.962 (sept.) 31-32), han descrito un procedimiento que permite obtener una sustancia a la que ellos han creído poder atribuir la estructura y la denominación química de 17 α -ethinyl (5 α) 2-androstene 17 β -ol (y de su acetato) y que poseía unas propiedades,

20

- estimulantes sobre el sistema retículo-endotelial
- inhibitorias gonádicas, por supresión de las gonadotropinas hipofisarias.

25

La firma solicitante ha hecho el sorprendente descubrimiento de que, en realidad esta sustancia, en razón misma de la naturaleza del procedimiento en cuestión, no es el compuesto químico 17 α -ethinyl (5 α) 2-androstene, 17 β -ol, sino de hecho una mezcla de isómeros de actividades biológicas muy desiguales, aunque de polaridad idéntica, y por ello imposibles de separar por los medios cromatográficos usuales.

30

La presente invención reside, en primer lugar, en un mo

do de preparación que permite realmente la obtención del -
35 compuesto 17α -ethinyl (5α) 2-androstene, 17β - ol, no -
contaminado con isómeros. En segundo lugar, reside en el -
propio compuesto considerado como un producto industrial -
nuevo que se obtiene por primera vez en estado puro.

Además, ocurre que se ha descubierto que las propieda-
50 des de este compuesto son diferentes e incluso contradicto-
rias de las que inicialmente se atribuyeron a la mezcla -
precitada.

En esta mezcla, además del 17α -ethinyl (5α) 2-andros-
tene, 17β - ol (que será designado en adelante con la abru-
45 viatura "DELTA-2"), se encuentra el isómero 17α -ethinyl -
(5α) 3-androstene, 17β - ol, en proporciones no desprecia-
bles (el cual compuesto será designado en adelante con la
abreviatura "DELTA-3"; la mezcla de los dos isómeros, tal
como fué descrita por los precitados autores, será desig-
50 nada por la abreviatura "MIX".

La invención reside igualmente en la demostración de la
superioridad biológica del isómero $\Delta 2$ sobre su análogo $\Delta 3$
y, por consecuencia, en el interés suplementario que hay -
en obtener el producto designado en su estado puro.

55 Finalmente, la invención concierne a la utilización te-
rapéutica del compuesto, tal como se obtiene según ella y
en los dominios descritos por la misma.

Seguidamente va a ser descrito con un mayor detalle to-
do lo que se refiere a cada uno de los objetos.

60 A.- PREPARACION DEL COMPUESTO SEGUN LA INVENCION

La polaridad casi idéntica de los dos isómeros delta-2
y delta-3 hace imposible la separación de estos cuerpos -
por los métodos clásicos de cromatografía y es por ello -

65 que el modo de preparación indicado por ejemplo en la patente USA núm. 2.996.524 conduce inevitablemente a una mezcla de isómeros.

70 La invención se basa en el descubrimiento de la gran sensibilidad del isómero delta-3 frente al reactivo de Jones, contrastando en esto con la inercia del isómero delta-2 respecto al mismo reactivo (que es una solución de anhídrido crómico en acetona, en presencia de H_2SO_4 ; cf BODEN, K. HEILBRON, L.N. JONES E.R.H., WEDON, E. Journal Chem. Soc. 1.946:39).

75 El procedimiento de preparación del cuerpo delta-2 en su estado puro, según la presente invención, consiste pues en su primera etapa, en el tratamiento de la primera materia (que es en sí una mezcla de isómeros) con el reactivo de Jones; el isómero delta-3 del 17 ceto-(5-alfa) 2-androstene es oxidado verosimilmente en diácido o en dialdehído correspondientes y adquiere así una polaridad muy diferente de la del isómero delta-2; ello permite recoger este último en estado prácticamente puro por cromatografía sobre sílice.

80

85 A partir de aquí, el delta-2, 17-ceto(5 alfa)-2-androstene puro, sometido en una segunda etapa a una reacción ya conocida (descrita en el ejemplo núm. 8 de la Patente USA 2.996.524), conduce al 17-ethinyl (5 alfa)-2-androstene 17-ol, pero en estado puro, lo cual constituye el producto según la invención.

90 A continuación se describe un modo operatorio ilustrando, en una primera etapa según la invención, la puesta en práctica del proceso de separación de los isómeros 17-ceto (5 alfa) androstene-2 y -3, después, en una segunda etapa,

95 la preparación del producto propiamente dicho y, finalmente, en una tercera etapa la de su acetado, que tiene la ventaja de ser más activo cuando es utilizado por vía oral

EJEMPLO

Etapa 1 = Separación de una mezcla de isómeros 17-ceto (5 alfa)-androstene-2 y -3-.

100 En un balón de 1 litro dotado de agitación magnética, se introducen 20 g. de esteroide en solución con 400 cc. de acetona. El medio es enfriado a -20° y se introducen 60 cc. de reactivo de Jones gota a gota. Se deja que el balón vuelva a la temperatura ordinaria agitando durante
105 1 h. 15 min. Seguidamente se añaden 100 cc. de metanol y se agita durante 15 min. Los disolventes son separados y el residuo es vuelto a pasar por 700 cc. de agua. El precipitado es secado y lavado con agua y después disuelto en 500 cc. de cloruro de metileno. La solución orgánica es secada al sulfato de sosa y destilada. El residuo (18,5 g.)
110 es purificado por cromatografía sobre columna de sílice. La elución por medio de benceno proporciona 11 g. de derivado Δ^2 puro. El examen del espectro RMN ($CDCl_3$, tetrametilsilano) de este derivado muestra los protones olefinicos en C_2 y C_3 bajo forma de un singulete alargado a 334 Hz (anchura a media altura 5 Hz), mientras que en el derivado Δ^3 los protones olefinicos aparecen bajo forma de cuatro
115 macizos entre 312 y 348 Hz.

Etapa 2 = Preparación del 17-alfa ethinyl (5 alfa)-2-androstene 17-beta-ol exento de isómero delta-3-.

120 Se disuelven 1,2 g. de potasio en 30,5 ml. de alcohol amílico anhidro. Se añade una solución de 1,1 g. de 2-androstene-17-one puro, obtenido según se ha indicado en la

125 anterior Etapa 1, en 40 ml. de tolueno anhidro y se hace
pasar nitrógeno a través de la mezcla a fin de eliminar el
aire. La solución que resulta es agitada durante 15 horas
130 haciendo pasar constantemente nitrógeno a través de la mez-
cla para eliminar el aire. La solución que resulta es agi-
tada durante 15 horas mientras que se hace pasar un flujo
lento de acetileno anhidro purificado. Al final de este
lapso de tiempo, se añaden 300 ml. de agua helada. El pH
es ajustado a 1 con una solución acuosa al 50% de ácido
135 clorhídrico. La solución que resulta es destilada a fin de
eliminar todas las materias orgánicas volátiles. Seguida-
mente, es enfriada a 0 °C, extractada al éter y este ex-
tracto lavado con agua, secado al sulfato de sodio y evapo-
rado. El residuo de 17 α -ethinyl (5 α)-2-androstene
17 beta ol, es recristalizado en hexano.

140 Etapa 3 - Preparación del 17 β acetato del 17 α -ethinyl (5
alfa) 2-androstene 17 β -ol.

En una solución de 600 mg. de 17 α -ethinyl-2-androstene
17 β -ol, en 10 cm³ de anhídrido acético, se añaden 600 mg.
de ácido p-tolueno sulfónico. Se deja reposar la solución
así obtenida a 20 °C durante 18 horas al abrigo del aire.
145 Seguidamente es vertida en 200 cm³ de agua helada y la mez-
cla es refrigerada durante 3 horas. Se recoge sobre filtro
el precipitado de acetato de 17 α -ethinyl (5 α) 2-androste-
ne 17 β -ol, se le lava con agua y después se seca y se re-
cristaliza en metanol.

150 B.- CARACTERISTICAS DEL COMPUESTO SEGUN LA INVENCION.

El producto obtenido en la anterior etapa 2 se presenta
bajo la forma de cristales blancos en forma de plaquetas
que funden a 160 - 162 ° (Kofler).

Estas características son a confrontar con las de la
mezcla obtenida mediante el proceso descrito por los auto-
res antes citados: según la proporción más o menos grande
del isómero delta-3, el punto de fusión medido en las mis-
mas condiciones se eleva, variando entre 158 ° y 163 °,
aproximándose así al punto de fusión del isómero delta-3
puro, que es de 198 - 199 °C (Kofler). De igual forma, el
acetato del isómero Δ 2 obtenido en la etapa 3 anterior, se
presenta bajo la forma de cristales blancos que funden a
130 - 131 °C (Kofler).

Se sobreentiende que, en todas las partes de la presen-
te descripción, con la abreviatura única "DELTA-2" se hace
referencia indistintamente al 17^α-ethinyl (5^α) 2-andros-
tene, 17^β - ol, y a su 17^β acetato.

C.- APLICACIONES TERAPÉUTICAS.

Sobre el plan biológico y terapéutico, el producto se-
gún la invención debe ser considerado como nuevo en la me-
dida donde,

a) - la sustancia (así como su éster acético), descrita ba-
jo la misma denominación en la Patente USA antes citada
era en realidad una mezcla que podía contener hasta un
25% del isómero Δ 3, que es de mucho el menos activo, y
donde

b) - el compuesto según la invención es utilizado en unos
dominios terapéuticos inesperados, diferentes e incluso
contrarios a los que le han sido atribuidos por los preci-
tados trabajos anteriores.

La firma solicitante aporte aquí una selección de traba-
jos biológicos sobre los que se fundan las propiedades te-
rapéuticas del compuesto según la invención.

185 I. El compuesto DELTA-2, contrariamente a lo que afir-
man las publicaciones anteriores (que conciernen de hecho
al "MIX"), es un estimulante gonádico que posee, en deter-
minadas condiciones y cualquiera que sea la diferente vía,
un efecto "clomiphéne-like" de estimulación de gonadotropi-
nas pituitarias.

190 Este descubrimiento es útil para el tratamiento de las
perturbaciones del funcionamiento ovárico o testicular, -
comprendidas ciertas formas de esterilidad.

195 El clomifeno, estimulante gonadotrópico clásico utiliza-
do en el tratamiento de las perturbaciones hipofiso-gonadi-
cas que consisten en las esterilidades femeninas por enovu-
lación, ha sido naturalmente empleado como standard de re-
ferencia en varias series de experimentaciones destinadas
a buscar la actividad "clomiphéne-like" del 17 α -ethinyl -
(5 α) 2-androstene, 17 β acetato.

200 1/ - Sobre rata adulta, una dosis apropiada de clomife-
no inyectada en el momento preciso del ciclo impi-
de que se produzca la ovulación en el 100 % de los
animales (DOCKE J. *Reprod. Fertility* 1971, 24 : 45-
54). La siguiente Tabla demuestra que el compuesto
205 DELTA-2 manifiesta en esta metodología unos efec-
tos cualitativos análogos a los del clomifeno.

TABLA I

	% de animales ovuladores	Número de huevos		
		ovario izquierdo	ovario derecho	total medio
210 4 animales testigos	100 %	5 a 9	5 a 9	13,5
clomifeno S.O. 3mg/kg dosis única (4 animales)	0	0	0	0
215 DELTA-2 : 1,8 mg/kg/d x 3 días vía S.O. (5 animales)	40 %	7 a 8	6 a 8	14,5
DELTA-2 : 5,4 mg/kg /d x 3 días vía S.O. (5 animales)	60 %	6 a 10	5 a 8	14

220 Esta primera experiencia, realizada de hecho inicialmente con un fin selectivo, ha permitido comprobar además la realidad del efecto "clomiphénelike" cualitativo y el hecho de que, desde el punto de vista cuantitativo, la dosis de 3 días x 1,8 mg/kg produce ya un efecto máximo. La reanudación del estudio con inyecciones únicas de DELTA-2 de únicamente 1,8 mg y de 5,4 mg/kg administrado en diferentes momentos del ciclo, ha permitido constatar que la eficacia del DELTA-2 se acerca todavía más a la del clomifeno desde el doble punto de vista cualitativo y cuantitativo, si el esteroide es administrado a "metestrus" y a "proestrus":

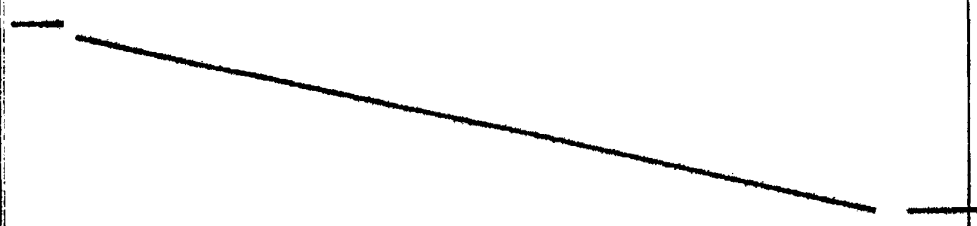


TABLA II

		% de ovulación si se inyecta:	
		en metestrus	en proestrus
235	DELTA-2	1,8 mg/kg	25
		5,4 mg/kg	40
			80
			20

240 ii/ - Sobre la rata impúbera, se puede provocar la ovulación en el 80% de los animales inyectando una cantidad relativamente pequeña (4 U.I.) de gonadotropinas (PMS). En esta metodología, tanto el clomifeno como el DELTA-2 en pequeña dosis, provocan una reducción del porcentaje de los animales ovuladores.

TABLA III

245	Testigos : 4 UI. PMS80% de ovulación
	4 UI. PMS + Clomifeno (3mg/kg)	...30% de ovulación
	4 UI. PMS DELTA-2(0,6mg/kg)20% de ovulación
250	4 UI. PMS + DELTA-2 (1,8mg/kg)	...100% de ovulación

255 El mecanismo del fenómeno es el siguiente: el PMS provoca la secreción por el ovario de una cantidad adecuada de estrógenos que producen la liberación de la gonadotropina hipofisaria LH, la cual provoca la ovulación.

El clomifeno anti-estrógeno, impide a los estrógenos segregados bajo el efecto del PMS actuar sobre la hipófisis: no hay descarga de LH y, por tanto, tampoco de ovulación.

260 El DELTA-2 no es un anti-estrógeno. Por ello, el efecto anti-ovulatorio que él ejerce con la débil dosis (0,6 mg/kg) no se puede explicar teóricamente más que por uno de -

Los tres mecanismos siguientes:

- a) - frenado de la liberación por la hipófisis, de la gonadotropina LH;
 - 265 b) - inhibición, a nivel de ovario, de la respuesta secretora a la solicitud del PMS;
 - c) - y/o inhibición, siempre a nivel de ovario, de la respuesta ovulatoria al respecto de la LH eventualmente liberada después de estimulación estrogénica.
- 270 Se observará que con la dosis fuerte (1,8 mg/kg), el compuesto DFMTA-2 mantiene e incluso favorece la ovulación, y ello porque se comporta como un liberador de FSH y de LH, o bien como un liberador de la hormona hipotalámica LH-RH.

275 Ahora bien, en clínica humana, el compuesto DFMTA-2 se comporta como el LH-RH, aumentando de manera espectacular la liberación de FSH y de LH, incluso allí donde ella es excesiva (enfermedad de Klinefelter) e incluso en donde su excesc está en relación con la ausencia genética de las gónadas (enfermedad de Turner).

280 Una variante de la misma metodología, que pone en aplicación unas dosis más fuertes de PMS (8 U.I.), permite confirmar en sentido inverso el efecto "clomiphéne-like" del DFMTA-2 y de retener, como siendo el más probable, el segundo de los tres mecanismos teóricos evocados anteriormente, o sea la inhibición a nivel de ovario de la respuesta secretora a la solicitud de la PMS.

285

La siguiente Tabla reúne los resultados de cuatro series de experiencias:

TABLA IV

290

PORCENTAJE DE RATAS OVULADORAS

Inyección SO única	1a serie	2a serie	3a serie	4a serie	Resultados acumulados	nº de animales	nº medio de huevos
TESTIGOS PMS 8 UI	0	0	25	14	9,5	21	# 1
0,75 mg/kg	-	50	25	14	27	15	# 7
+ CLOMI 1,5 mg/kg	-	25	-	-	25	4	3
FSHO 3 mg/kg	20	0	-	-	11	9	3
6 mg/kg	-	0	-	-	0	4	0
0,6 mg/kg	0	-	75	43	37	16	5
+ DEITA -2 1,8 mg/kg	20	-	50	-	30	10	8
5,4 mg/kg	0	-	50	-	50	4	1,5

295

300

La analogía es perfecta entre los dos cuerpos. En cuanto al modo de acción,

- el clomifeno, en cuanto que antiestrógeno, reduce el efecto inhibitor de los estrógenos al respecto de la liberación de la gonadotropina LH.

305

- el esteroide DEITA-2 impide al ovario segregar la cantidad de estrógenos solicitada por la importante estimulación FSH.

310

II. El compuesto 17 α -ethinyl (5 α)-2-androstene, 17 β -ol (bajo forma de acetato) es un inhibidor gonádico directo; en ciertas circunstancias, y en contra de lo que podría esperarse según los mecanismos fisiológicos de retroacción (feed-back), el efecto gonado-inhibidor de DEITA-2 se acompaña de una inhibición de las gonadotropinas pituitarias.

315

La aplicación práctica de estas actividades concierne al tratamiento de ciertos tumores endocrinos, no solamente hi

hipofiso-dependientes (lo que se desprendería lógicamente de las publicaciones anteriores) sino también no hipofiso-dependientes.

320 a) - Los efectos gonado-inhibidores directos de DELTA-2 coexisten con el frenado de la función gonadotrópica hipofisaria.

325 El auto-injerto, en la rata, de un fragmento de ovario en el redañó, inmediatamente después de la ovariectomía bilateral, produce la derivación hepática de las hormonas gonádicas y su destrucción en este órgano. De ésto resulta un aumento reaccional, intenso y permanente, de la producción de las gonadotropinas pituitarias que provocan la proliferación tumoral del injerto ovárico (las imágenes histológicas de la hipófisis así estimulada son características)

330 La introducción, en este modelo experimental, de una sustancia específicamente hipofiso-frenadora, como el metalliburo, tiene por resultado el paro del desarrollo del injerto y la desaparición de los aspectos microscópicos de hiperestimulación al nivel de la hipófisis (BER, A. Endocrinologie, 1.968, 53 : 62; *ibid.* 1.958, 53 : 237; Acta Endocrinologica 1.972, 70 : 167).

335 La adición de una cantidad apropiada de gonadotropinas hipofisarias exógenas (P.M.S.) produce la reanudación del desarrollo tumoral que había sido parado con el metalliburo.

340 La introducción, en este modelo experimental, de una sustancia "X" cuyo efecto es gonado-inhibidor directo, provoca la involución del injerto tumoral e impide la reanudación de su actividad después de la estimulación con P.M.S.

345 El compuesto DELTA-2 ha sido comprobado en esta metodo-

logía. Los resultados figuran en la siguiente Tabla:

TABLA V

Tratamiento	Dosis/día (mg/kg o U.I. ani- mal)	Peso del injer- to/mg.	Peso del úte- ro (mg)
Testigos injertados	-	217,4 ± 16,4	58,6 ± 8
355 metalliburo	120	22,6 ± 2,4 ^{***}	29 ± 4,5 ^{**}
+ metalliburo + P.M.S.	120 20	136,5 ± 24,5 [*]	77 ± 9,7
+ Δ 2	3	156,7 ± 10,7 ^{**}	119,5 ± 14,9 ^{**}
360 + Δ 2	6	62,4 ± 9,9 ^{***}	139,4 ± 10,4 ^{***}
+ metalliburo + P.M.S. + Δ 2	120 20 3	153,7 ± 55,2 ⁽¹⁾	128 ± 23,8 [*]
+ metalliburo + P.M.S. + Δ 2	120 20 6	69,7 ± 9,8 ^{**} (1)	124,8 ± 9,7 ^{***}

365 (1) La comparación está hecha con respecto al lote: "meta-
lliburo + P.M.S."

Pueden deducirse las siguientes conclusiones:

370 1.- DELTA-2 sólo produce una involución del injerto -
ovárico, estadísticamente significativo y proporcional a -
las dosis.

2.- DELTA-2, añadido al sistema metalliburo + P.M.S. produ-
ce igualmente la involución estadísticamente significativa
del injerto.

375 Y ello prueba que este compuesto posee bien el efecto -
gonado-inhibidor directo, reivindicado como un descubrimien

to inesperado por la presente invención.

Por lo demás, las confirmaciones son aportadas por el exámen histológico del injerto ovárico y de las hipófisis de los animales sujetos de esta experiencia.

380 Este mecanismo antigonádico directo del compuesto DFMTA-2 coexiste de manera sorprendente con un efecto de inhibición gonadotrópica hipofisaria.

385 Esto es otro elemento, nuevo e inesperado, de la presente invención, puesto que es lo contrario de lo que habría podido esperarse: según las leyes fisiológicas, todo freno directo de la gónada provoca automáticamente, por "feed-back" positivo, la estimulación de la producción y/o liberación de las gonadotropinas hipofisarias.

390 b) - Búsqueda de actividades antitumorales directas, por las técnicas de oncogénesis experimental no hipofiso-dependientes.

396 El compuesto DFMTA-2 se ha mostrado muy activo contra ciertos tumores gonádicos experimentales, inducidos por las técnicas de estimulación gonadotrópica hipofisaria prolongada análogas a la seguidamente descrita.

400 Después de 45 días de tratamiento por vía oral, el peso medio del tumor testicular desarrollado en la rata después de un año de latencia, era de $45 \pm 18,9$ mg contra $2553,3 \pm 260,3$ mg, peso medio del tumor en el testigo ($p < 0,001$) y la desaparición total en estado constatado en la mitad de los casos tratados, en los que todos los testigos conservaban su tumor.

405 Esta diferencia entre los tumores del testigo y del animal tratado (peso y desaparición) es tan considerable que se explicaría difícilmente por el solo efecto del frenado

gonadotrópico; ella sugiera de modo importante la inter-
vención complementaria de un mecanismo antitumoral directo
tal como el que ha sido demostrado durante los ensayos in-
formados anteriormente.

410 La existencia de este efecto directo ha sido además pro-
bada sobre los tumores trasplantados o inoculados, tenien-
do un carácter maligno cierto y en los que el desarrollo -
no exige la intervención de las gonadotropinas hipofisa-
rias.

415 Uno de estos modelos es el adenocarcinoma mamario del -
ratón hembra (A. RIVENZON & A. MACRINEANU -Néoplasma 1.968
15 : 2) que, bajo la acción del DELTA-2 ha desaparecido en
el 33,3 % de los animales (presente en todos los testigos)
y ha visto su peso reducido a $436,66 \pm 147,23$ mg (contra -
420 $1713 \pm 189,19$ en los testigos; $p < 0,001$).

Otro modelo es un tumor ovárico ascítico, de evolución
sobreaguda que, en la rata, mata generalmente a la totali-
dad de los testigos en los 16 días que siguen a la inocu-
lación intra-peritoneal (E. FOGOSIANZ & al., Voprosi Onko-
425 logii, 1.962, 8,11: 29-26).

Bajo el efecto del compuesto DELTA-2, hay a los 16 días
el 93,3 % de sobrevivientes (contra el 20,6 % entre los -
testigos) y, después del sacrificio de los sobrevivientes
tratados, a los 27 días se ha comprobado la rareza de las
430 células tumorales en el peritoneo y el redañó y la ausen-
cia de metástasis ganglionares, igual que la desaparición
de la fluorescencia que, intensa en los testigos, atesti-
gua la importancia de la actividad enzimática unida a la -
oncogénesis.

435 III.- El compuesto 17α -ethinyl (5α) 2-androstene, 17B

-ol (bajo forma de acetato) produce a nivel del útero modi-
ficaciones morfológicas, cualitativas y cuantitativas, di-
ferentes de las producidas por las hormonas sexuales, que
440 son susceptibles de ser utilizadas en la práctica como un
método contraceptivo de nuevo tipo. La última columna de -
La anterior Tabla V indica que DELTA-2, que no posee pro-
iedades estrógenas, produce un aumento de peso del útero,
claro, proporcional a las dosis y altamente significativo,
445 en los animales de los que los injertos ováricos, por lo -
demás fuertemente inhibidos, no pueden en ningún estado de
causa liberar los estrógenos que no escaparían a la inacti-
vación hepática.

Esta estimulación del útero, que concierne simultáneamen-
te al músculo, al estroma y a la mucosa, no es caracterís-
tica ni de los aspectos provistos por los estrógenos ni de
450 los producidos por los andrógenos o los progestativos; -
ella se asocia a las modificaciones histo-enzimológicas pe-
culiares. Resulta por tanto evidente que el compuesto -
DELTA-2 ejerce sobre el útero de ciertos animales de labo-
455 ratorio unos efectos cualitativos susceptibles de modifi-
car las condiciones requeridas para una fertilidad normal.

IV.- Las propiedades anti-paratiroides del acetato de
17 α -ethinyl (5 α) 2-androstene, 17 β -ol se manifiestan tan
to sobre la hiperplasia experimental de las glándulas pa-
460 ratiroides como al nivel del hueso.

A este último respecto, se sabe que la hormona parati-
roidea (PTH) produce la destrucción del hueso con, como -
consecuencia, la liberación de una cantidad proporcional -
de calcio. El efecto y su eventual inhibición pueden ser -
465 medidos en un sistema de cultivo de tejido óseo (FELL, -

H.B. & L. WEISS J. Exp. Med. 1.965, 121 551-560).

470 Entre los cuerpos susceptibles de oponerse al efecto de la PTH sobre el hueso, hay ciertos estrógenos (D. ATKINS - al J. Endocr. 1.972, 54 : 117), el más potente a este respecto entre ellos, el ethinyl-estradiol, que es utilizado preferentemente como standard cuando se desea evaluar la actividad anti-osteolítica de otra sustancia.

475 La liberación del calcio, por la bóveda craneana del ratón, bajo el efecto de 0,6 U de PTH, en el medio de cultivo de tejido óseo, es inhibido:

- de 137 p.cent. \pm 2 p. cent. por 200 μ g de ethinyl-estradiol, y

- de 96 p.cent. \pm 6 p.cent. por 200 μ g de DELTA-2.

480 La aparente superioridad del standard desaparece cuando se comparan las posologías humanas usuales de los dos esteroides confrontados aquí.

- 10 a 100 μ g por día, para el ethinyl-estradiol.

- 5 a 50 mg por día, para el DELTA-2.

485 En clínica humana, las dosis cotidianas del orden de 10 mg de DELTA-2, han permitido atenuar la destrucción excesiva del hueso, lo que es deducido por la reducción del valor de la relación entre calcio y creatinina urinarios en ayunas (B. NORDIN & al) y por la disminución de la tasa sérica del calcio, por debajo de 100 mg/l.

490 V.- El cuerpo "DELTA-2" ejerce unos efectos anti-sebáceos que conciernen esencialmente a los parámetros histológicos : el producto actúa por lo tanto tan ventajosamente como los anti-andrógenos y los estrógenos. Esta es otra propiedad inesperada ya que el DELTA-2 está desprovisto de toda actividad anti-andrógena (igual que de toda ac-

495

tividad estrógena).

La búsqueda anti-seborréica ha sido realizada según el método de D.J. EBLING (J. Embryol. exp. Morph. 1.957, 5, - 1 : 74 - 82; capítulo XIII, tomo 4, páginas 200 - 219 en -
500 "Hormonal control of sebaceous glands in experimental animals", "Advances in biology of the skin", editado por N. -
Montagna, R.A. Ellis, A.F. Silver 1.964, etc.), en donde el principio consiste en provocar, sobre la rata macho -
adulta, castrada, una aportación androgénica de intensidad
505 conocida que estimula los diferentes parámetros cutáneos -
que la castración había destruido:

- a) - producción de lípidos cutáneos,
- b) - proliferación de las células en las glándulas sebáceas, se conoce por el número de las imágenes de mitosis,
510
- c) - número de células espumosas que componen las glándulas sebáceas, determinado por el número de los núcleos,
- d) - número de las mitosis en el epitelio epidérmico,
- 515 e) - espesor del epitelio epidérmico.

La tabla siguiente resume los resultados obtenidos en una de las experiencias efectuadas:

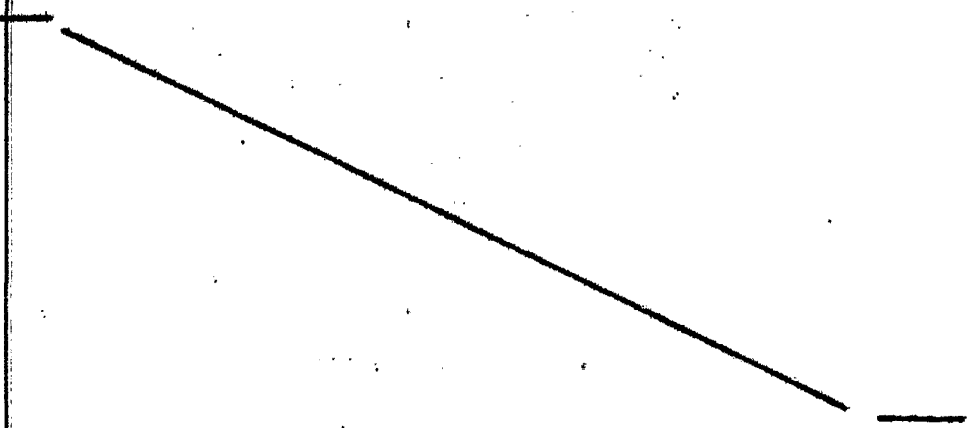


TABLA VI

520	Tratamiento	Testigos enteros	Testigos castrados	Castrados + testosterona			
				Testigos	+estra-diol s.c.	+ DELTA-2 per os	+ DELTA-2 per os
	Dosis	-	-	-	20 µg	1800 µg	2400 µg
525	Número de animales	9	9	10	9	7	10
	Lípidos mg/g día	1,20±0,199	0,97±120	1,27±0,188	0,89±0,129	1,52±0,184	1,39±0,162
	Número de mitosis en las glándulas	33,2±7,8	20,6±4,5	29,5±4,8	16,5±2,6 ^o	10,8±9 ^{oo}	16,4±2,8 ^o
530	Número de mitosis en el epitelio	37,2±14,4	49,5±8,1 ^{oo}	91,2±10,6	51,7±9,1 ^{oo}	30,2±9,9 ^{ooo}	40±8,4 ^{ooo}
535	Número de núcleos de las células espumosas 20 GS	105,4±6,7	89±7,3 ^o	108,5±7,1	68,7±5,1 ^{ooo}	97,8±8,5	83±6,3 ^{oo}
540	Espesor epitelio	11,5±0,5 ^o	10,7±0,5 ^{ooo}	12,9±0,6	8,3±0,3 ^{ooo}	10,1±0,4 ^{ooo}	8,9±0,3 ^{ooo}

ns=no significativo; ^o=p<0,05; ^{oo}=p<0,01; ^{ooo}=p<0,001

Comparación entre los dos casos sucesivos.

GS = glándula sebácea.

545

Parece por tanto que el DELTA-2 administrado por vía oral, inhibe de forma estadísticamente significativa los parámetros b), c), d), e) anteriores. La aplicación de es-

ta propiedad al tratamiento sistemático de las hipersebo--
rreas humanas es de una utilidad evidente.

550

c.- Superioridad biológica del compuesto "DEITA-2" so--
bre su isómero "DEITA-3" y, por consecuencia, sobre la mez-
cla de los dos isómeros ("MIX") talés como los obtenidos -
por los procedimientos anteriormente descritos.

555

La ovariectomía unilateral produce en la rata joven una
hipertrofia compensadora del ovario restante, consecuencia
del "feed-back" positivo provocado por la intervención.

560

El tratamiento por una sustancia exclusivamente gonado-
trópica puede, como máximo, anular la totalidad de la hi--
pertrofia reaccional : el peso del ovario restante es en--
tonces llevado al peso de un ovario de rata testigo entera
lo que equivale a cifrar en un 100 % el valor de la inhibi-
ción. Una sustancia que rebaje el peso del ovario restante
por debajo del peso de un ovario testigo (inhibición 100%)
actúa necesariamente, aunque no sea más que parcialmente,
a nivel del ovario; así es como se comporta el esteroide -
DEITA-2, confirmando con ello que su actividad se ejerce -
en los dos polos del eje hipofiso-gonádico.

565

570

Esta metodología ha sido elegida por evaluación compara-
tiva de los efectos de los isómeros 2 y 3 puesto que pro--
porciona unos resultados particularmente reproducibles, ho-
mogéneos y cuantificables.

575

Durante un primer trabajo, ha sido posible establecer -
que "MIX", tal como resulta del método de preparación indi-
cado en la literatura precitada, a partir de la dosis de -
120 µg/animal/día/per os, produce una inhibición del 121 %
del ovario restante, que es altamente significativo ($p <$
0,001) puesto que el isómero $\Delta 3$ en estado puro no produce

hasta la dosis de 240 µg más que inhibiciones inferiores al 50 % y que no son estadísticamente significativas.

580 Siempre por os, un segundo trabajo ha confrontado los efectos de "MIX" y los de cada uno de los dos isómeros Δ^2 y Δ^3 administrados en estado puro.

En la Tabla siguiente, se dan los resultados:

TABLA VII

585

Tratamiento (mg/animal/día)	PESO MEDIO			% de inhibición	
	del cuerpo (g)	de los cuernos uterinos (mg)	del ovario (mg)		
590 Testigos 1/2 castrados	108,6	103,0	20,7		
Testigos enteros	106,8	81,3	12,4 **	100	
Estradiol subcutáneo 0,2	113,2	131,9	13,9 *	81,9	
595 Mezcla	120	104,1	113,5	12,5	99,1
	240	104,4	114,3	9,4 ***	136,5
3 puro	120	110,0	122,1	16,2 (NS)	54,9
	240	106,7	110,0	15,2 (NS)	66,9
600 2 puro	120	98,3 +	103,2	8,0 ***	153,2
	240	101,6	116,9	9,7 ***	132,8

La superioridad del compuesto 2 puro queda en evidencia y ella está confirmada por la menor actividad de la mezcla de los isómeros "MIX" y por la inactividad del compuesto Δ^3 , en las dosis utilizadas.

605 D.- Aplicación de 17 α -ethinyl (5 α) 2-androstene 17 β -ol (acetato) en terapéutica.

El 17α -ethinyl (5 α) 2-androstene 17β -ol, particular-
mente bajo la forma de 17β -acetato, tal como se describe
en la presente invención, es útil en terapéutica para las
610 indicaciones siguientes, no siendo esta lista limitativa:

- a) - perturbaciones del funcionamiento ovárico o testi-
cular, comprendidas ciertas formas de esterilidad;
- b) - ciertos tumores hormono-sensibles, de naturaleza -
benigna (adenoma prostático, adenoma o fibro-adenoma
615 mamario) o maligna (seno, ovario, útero, testículo -
próstata, etc...);
- c) - una modalidad nueva de contracepción medicamentosa
por vía oral;
- d) - ciertos estados de destrucción ósea (osteoporosis,
620 por ejemplo) unidos a una hiperparatiroiditis primi-
tiva o secundaria;
- e) - el hiperfuncionamiento de las glándulas sebáceas -
(seborrea, acné).

El compuesto según la invención está esencialmente pero
625 no exclusivamente destinado a la administración por vía -
oral bajo cualquiera de las formas usuales, comprimidos, -
grageas, cápsulas, píldoras o, incluso, en un vehículo lí-
quido, bajo forma de suspensión o solución en aceite de -
oliva, bajo cápsulas de gelatina o en jarabe o poción.

630 Las concentraciones por unidad de toma serán, de prefe-
rencia, 5, 10 y 25 mg.

El compuesto puede igual aunque accesoriamente ser admi-
nistrado bajo la forma de supositorios conteniendo 5 y 10
mg, de utilización rectal o vaginal, o bajo la forma de lo-
635 ción o spray conteniendo, en un vehículo adecuado (alcohol
o esencias volátiles) 10 mg/ml; estas formas serán reserva

das de preferencia para el tratamiento de las afecciones de la piel.

640 Finalmente y de manera excepcional, el compuesto podrá ser utilizado bajo una forma inyectable por vía intramuscular, o la concentración de 10 a 25 mg por ampolla, incorporados en un solvente lipídico conveniente (aceite de oliva, alcohol bencílico, aceite de sésamo, etc...).

645 Cualquiera que sea la vía de administración elegida, las dosis cotidianas necesarias se sitúan entre 10 y 50 mg, excepcionalmente más, dependiendo de la afección a tratar la cantidad adecuada y la duración de los tratamientos. Así, por ejemplo:

650 En ciertas perturbaciones funcionales ováricas, con o sin esterilidad, los tratamientos durarán de 5 a 10 días por ciclo y la dosis cotidiana media será del orden de los 40 mg;

655 - los tratamientos de los tumores serán necesariamente prolongados o, incluso, de duraciones indeterminadas en los casos de tumores malignos, y las dosis cotidianas serán habitualmente del orden de 30 a 50 mg;

660 - para la contracepción (tratamientos clínicos) y las hiperparatiroiditis (tratamientos muy prolongados, interrumpidos), las dosis no sobrepasarán los 15 o 20 mg por día;

- el tratamiento de las manifestaciones seborréicas será de gran duración y la posología cotidiana se situará entre 10 y 30 mg, sin distinción de la vía de administración elegida: oral, rectal o percutánea.

665 El compuesto 17α -ethinyl (5 α) 2-androstene 17β -ol (acetato) puede ser igualmente útil en medicina veterinaria, -

en las indicaciones, bajo las formas farmacéuticas y en --
unas posologías análogas a las de utilización descritas an --
teriormente para la terapéutica humana.

670

N O T A

EN RESUMEN: La Patente de Invención que, por veinte --
años, se solicita para todo el territorio nacional, con --
prioridad de la Patente inglesa núm. 2211/74, de fecha 17 --
de Enero de 1.974, ha de recaer sobre las siguientes rei--
vindicações:

675

1a.- "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION EN ESTADO PURO --
DEL COMPUESTO 17 α - ETHINYL (5 α)-2-ANDROSTENE, 17 β -OL, Y --
DE SU ACETATO 17 β , DE APLICACION EN TERAPIUTICA HUMANA", --
especialmente para el tratamiento de las perturbaciones --
del funcionamiento ovárico o testicular, comprendidas cier --
tas formas de esterilidad, para el tratamiento de ciertos --
tumores hormo-sensibles de naturaleza benigna (adenoma --
prostático, adenoma o fibro-adenoma mamario) o maligna (se --
no, ovario, útero, testículo, próstata, etc.), para el tra --
tamiento de ciertos estados de destrucción ósea (osteoporo --
sis, por ejemplo) unidos a una hiperparatiroiditis primiti --
va o secundaria, para el tratamiento del hiperfuncionamien --
to de las glándulas sebáceas (seborrea, acné), bajo todas --
las formas farmacéuticas y las dosis adecuadas para utili --
zar cualquiera de las vías de administración oral, rectal, --
vaginal e inyectable por vía intramuscular, y como medica --
mento contraceptivo por vía oral, caracterizado por el he --
cho de que, en una primera fase, se somete una mezcla de --
17-ceto (5 alfa)-2-androstene y de 17-ceto (5 alfa)-3-an --
drostene a la acción oxidante del reactivo de Jones; en --
una segunda etapa, se hace pasar la mezcla reaccional oxi-

680

685

690

695

700 cada por una columna de cromatografía sobre sílice y se recoge el resultado benéfico de la elución en esta columna que, en una tercera etapa, es hecho reaccionar con el acetileno en el seno de una solución de potasio en alcohol ~~t~~-amílico, recogiendo el producto de la reacción por extracción y recristalización.

705 2a.- "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION EN ESTADO PURO DEL COMPUESTO 17~~α~~-ETHINYL (5~~α~~)-2-ANDROSTENE, 17~~β~~-OL, Y DE SU ACETATO 17~~β~~, DE APLICACION EN TERAPEUTICA HUMANA", según la reivindicación anterior, caracterizado por el hecho de que el producto se obtiene sin contaminación de su isómero el 17-alfa-ethinyl-(5~~α~~)-3-androstene-17 beta-ol, que es separado durante el proceso.

710 3a.- Por último, se reivindica como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que, por veinte años, se solicita para todo el territorio nacional, - - - - -

p o r

715 "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION EN ESTADO PURO DEL COMPUESTO 17~~α~~-ETHINYL (5~~α~~)-2-ANDROSTENE, 17~~β~~-OL, Y DE SU ACETATO 17~~β~~, DE APLICACION EN TERAPEUTICA HUMANA"

Todo conforme queda expresado en la presente Memoria descriptiva, que consta de veintiseis páginas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 9 de Enero de 1.975

ANTONIO ARICHA



Firmado: JUAN GUERRERO