

AÑO

Expediente núm.



248928

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INVENCIÓN

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una **PATENTE DE INVENCIÓN** por 20 años, en España

a favor de

SYNTEX, S.A. entidad mejicana. , de nacionalidad

domiciliado en Kilómetro 13 1/2, Carretera,
carretera MEXICO-TOLUCA, Mejico D.F. núm.

por:

"Procedimiento para la obtención de nuevos compuestos
de halógenopregnano".

Nº 9776

Agente Sr. Gómez-Acebo y Modet.



PATENTE DE INVENCION
=====

Case CS₄

0 1 3 9 2 8

Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para la obtención de nuevos compuestos
"de halógenopregnano".

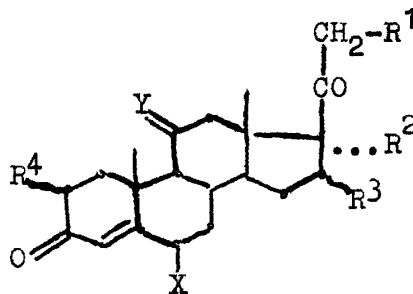
=====

Solicitante: SYNTEX, S.A., entidad mejicana, domiciliada en
kilometro 13 1/2, Carretera, MEXICO-TOLUCA, Mejico D.F.

=====

El objeto de la presente invención es un nuevo
procedimiento para la obtención de nuevos compuestos de
halógenopregnano de la fórmula

5.

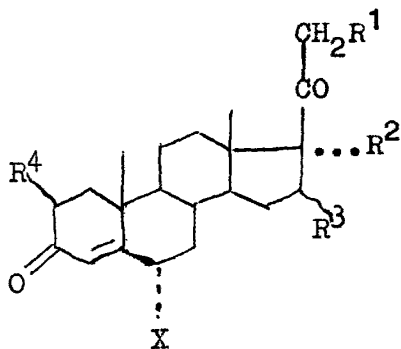




5. y de los correspondientes compuestos de 1-dehidro. En la fórmula indicada significan R^1, R^2 y R^3 hidrógeno ó un grupo hidroxil libre ó esterificado, R^4 hidrógeno ó un grupo metílico, X un átomo de cloro ó fluoro e Y un grupo oxo, ó hidrógeno y un grupo hidroxil α - ó β - constante libre ó esterificado.

El nuevo procedimiento se caracteriza porque los compuestos de la fórmula

10.



15. donde R^1, R^2 y R^3 significan hidrógeno ó un grupo hidroxil libre ó esterificado, R^4 hidrógeno ó un grupo metílico y X un átomo de cloro ó fluoro, y que en la posición 1,2 muestran otra unión doble, se someten a los efectos aeróbicos de encimas que puedan introducir oxígeno en la posición 11, y en los compuestos obtenidos, los grupos hidroxil, en caso

20. dado libres, se esterifican ó deshidratan a grupos oxo.

Las encimas empleadas pueden ser de origen microbiológico, incubándose aerobicamente las materias

25. introducir oxígeno en la posición 11. Los microorganismos empleados son, por ejemplo, aquellos de los grupos mucorales, penicillium, actinomycetos, tales como streptomycetos,



aspergillus, cunninghamella, curvularia, especialmente rhizopus nigricans, curvularia lunata, cunninghamella blakesleana, cunninghamella bainieri, cunninghamella elegans, cunninghamella echinulata.

5. Para la realización del procedimiento microbiológico se pueden incubar las materias iniciales con cultivos de los mencionados microorganismos bajo condiciones aeróbicas en sí ya conocidas. El crecimiento se efectua en cultivo de superficie ó, técnicamente ventajoso, submersivamente
10. moviendo ó agitando. Los cultivos contienen carbono asimilable, especialmente hidratos carbónicos, así como, en caso dado, materias de crecimiento, por ejemplo, agua de remojo de maiz ó mosto de cerveza, y sales inorgánicas. Se pueden emplear por lo tanto, caldos naturales, sintéticos ó semi-sintéticos. El procedimiento prácticamente más simple se
15. describe a continuación, sin que la invención quede limitada por estos datos: Se cultivan los organismos en aparatos y bajo condiciones similares como a las ya conocidas para la fabricación de antibióticos, por el así llamado procedimiento
20. de tanque profundo. Después de desarrollarse los cultivos se agregan los materiales iniciales mencionados en dispersión fina ó solución, por ejemplo en metanol, acetona ó glicol etilénico y se sigue incubando. Finalmente se separa del micelo, el filtrado y/o la masa micélica se extrae y del
25. extracto se aislan los compuestos 11-hidroxi, en forma en sí conocida, por ejemplo, por procedimiento desmezclador, absorción, cromatografía, cristalización, transformación en derivados funcionales, tales como éster y similares. Las mismas reacciones se pueden efectuar también, separando primeramente
30. los encimas eficaces de los cultivos aeróbicos correspondientes



de los organismos mencionados y empleandolos bajo exclusión de los cultivos crecientes. Así se puede, por ejemplo, separar el micelo formado de los cultivos aerobicos correspondientes a los organismos mencionados, suspenderlos en agua ó en soluciones tapón, agregar las mencionadas materias iniciales a estas suspensiones e incubar.

5. En lugar de encimas de origen microbiológico se pueden emplear también, por ejemplo, aquellos de organos animales, especialmente las cápsulas suprarrenales de reses ó cerdos. El procedimiento que aquí se debe seguir, en primer lugar el empleo de homogenatos, es asimismo en sí conocido y se describe con más detalles en los ejemplos.

10. Los compuestos obtenidos se pueden esterificar especialmente en posición 21. Para la obtención de los ésteres sirven anhídridos, halogenuros ó derivados tiólics ácidos carbónicos alifáticos ó cicloalifáticos, aromáticos ó heterocíclicos, saturados ó insaturados, por ejemplo, aquellos con 2 hasta 12 átomos de carbono.

15. Para la transformación de compuestos 11α - y 11β -hidroxi en las correspondientes 11-cetonas se emplean los agentes de deshidratación usuales, por ejemplo, trióxido de cromo en ácido acético o el complejo trióxido de cromo-piridina.

20. Los productos de este procedimiento se caracterizan por un elevado ^{efecto} biológico en el ensayo hepatoglicogénico y granulómico. Contrario a algunos corticosteroides no halogenizados en la posición 6, los nuevos productos del procedimiento no muestran el efecto secundario de la retención de sodio ó solo en una forma subordinada.

25. Los compuestos Δ^4 -pregneno- y $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno,



como que sirven/materiales iniciales, se pueden obtener según los procedimientos descritos en las solicitudes de patente españolas Nr. 240.518 (Case OS₁), Nr. 240.603 (Case CS₁), (Case CS₂) y (Case CS₃).

5. La invención se describe con más detalle en los ejemplos siguientes. Las temperaturas están indicadas en grados Celsio.

EJEMPLO I (M-317)

10. 1 litro de un caldo esterilizados, que contiene 20 g de peptona y 5 cm³ de Corn steep liquor, se mezcla con 30 cm³ de un cultivo creciente de rhizopus nigricans, que se obtiene por inyección de las esporas del hongo mencionado (criado sobre agar). La mezcla se agita durante 24 horas a 28° bajo ventilación. Al final del tiempo de incubación
15. asciende el valor PH del cultivo a 3 hasta 4, y el crecimiento del hongo está bien desarrollado. 33 cm³ de solución etanólica de Δ^4 -6 α -cloropregneno-17 α ,21-diol-3,20-dion, que contienen 330 mg del esteroide, es agregada entonces al cultivo y la mezcla se agita durante 24 horas a 28° bajo
20. ventilación. La mezcla de incubación se extrae con cloruro metilénico, el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra cuidadosamente en vacío. La solución estrechada se cromatografía en silicagel. La elución con cloroformo-éter da el Δ^4 -6 α -cloro-pregneno
25. -11 α ,17 α ,21-triol-3,20-dion puro.

El mismo producto de reacción se obtiene, si se parte de un 21-éster, por ejemplo, de uno con 2 hasta 12 átomos de carbono, de Δ^4 -6 α -cloro-pregneno-17 α , 21-diol -3,20-dion.

30. 1 g del triol obtenido se disuelve en 5 cm³ de pirridina, se enfria a 0°, se mezcla, a aprox. 0°, con 0,28



cm³ de anhídrido acético (aprox. 1,1 equivalentes) y la mezcla se deja reposar durante 1 hora a 0° y durante 4 horas a temperatura de ambiente.

5. Después se vierte en agua y se extrae con cloruro metilénico. El extracto se lava a continuación con ácido clorhídrico diluido, solución de sosa al 5% y agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se vaporiza hasta secar. La cristalización del residuo da el 21-acetato puro de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 α , 17 α , 21-triol-3, 20-dion.

10. Si para la esterificación, en lugar de anhídrido acético, se emplea anhídrido de ácido propiónico, entonces se obtiene como producto final el 21-propionato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 α , 17 α , 21-triol-3, 20-dion.

EJEMPLO II (M-317)

15. Una solución de 1 g del 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 α , 17 α , 21-triol-3, 20-dion, obtenido según el ejemplo 1, en 30 cm³ de ácido acético, se mezcla gota a gota y agitando con 5 cm³ de una solución al 80% de ácido crómico en ácido acético, se deja reposar durante 2 horas a temperatura de ambiente y se vierte en agua. El producto de oxidación se extrae con éster acético, el extracto se lava con agua, solución de sosa al 5% y agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se vaporiza hasta secar. La cristalización del residuo de acetona-hexano da el 21 acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 11, 20-trion.

20.

25.

EJEMPLO III (M-317)

1 litro de un caldo esterilizado que contiene 20 g de peptona y 50 cm³ de corn steep liquor, se mezcla con 30 cm³ de un cultivo creciente de curvularia lunata que se obtiene



inyectando con esporas del hongo mencionado (cultivado sobre agar). La mezcla se agita durante 48 horas a 28° bajo ventilación. Al final del plazo de incubación asciende el PH del cultivo a 3 hasta 4 y el crecimiento del hongo está

5. bien desarrollado. El agente de cultivo se mezcla entonces con 33 cm³ de una solución etanólica de Δ^4 -6 α -cloro-preg-
10. neno-17 α , -21-diol-3,20-dion que contiene 330 mg del esteroide, y se agita durante 48 horas bajo ventilación. El producto de reacción se extrae con cloruro metilénico y el extracto se lava, se seca, se concentra y se cromatografía en silicagel como descrito en el ejemplo 1, con lo que obtiene el Δ^4 -6 α -cloro-preg-
20. neno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion que es idéntico a una muestra auténtica.

15. Una solución de 1 g del triol obtenido en 5 cm³ de piridina se mezcla con 1 cm³ de anhídrido acético, se deja reposar durante 4 horas a temperatura de ambiente y se vierte en agua. A continuación se extrae con cloruro metilénico, y el extracto se lava con ácido clorhídrico diluido, solución de sosa al 5% y agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra
20. y en vacío se evapora hasta secar. La cristalización del residuo de acetona-hexano da el 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-preg-
25. neno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion que es idéntico a una muestra auténtica.

- Si en lugar del compuesto libre se emplea el
25. 21-propionato de Δ^4 -6 α -cloro-preg-
30. neno-17 α , 21-diol-3,20-dion, entonces se obtiene asimismo el Δ^4 -6 α -cloro-preg-
neno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion que al esterificar con anhídrido de ácido propiónico da el correspondiente 21-propionato.

EJEMPLO IV (M-317)

30. 1 g de Δ^4 -6 α -cloro-preg-
neno-17 α , 21-diol-3,20



- 8 -

-dion ó un 21-éster del mismo se incuba y elabora según las indicaciones en el ejemplo 3. El producto en bruto obtenido se esterifica en posición 21 con 5 cm³ de piridina y 1 cm³ de anhídrido acético. Para la limpieza se cromatografía en

5. 20 g de óxido de aluminio el 21-acetato en bruto obtenido. La elución con benzol-éter (60:40) da el 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion que es idéntico al preparado descrito en el ejemplo 3.

En forma análoga se obtiene el 21-propionato de

10. Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , -21-triol-3, 20-dion.

EJEMPLO V (M-317)

El 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion se oxida, según las indicaciones en el ejemplo 2, con ácido crómico. El 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 11, 20-trion obtenido, es idéntico al preparado descrito en el ejemplo 2.

15.

Partiendo del correspondiente 21-propionato se obtiene el 21-propionato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 11, 20-trion.

20.

EJEMPLO VI (M-339)

1 litro de un caldo esterilizado, que contiene 20 g de peptona y 50 cm³ de Corn steep liquor, se mezcla con 30 cm³ de un cultivo creciente de curvularia lunata, que se obtiene inyectando con esporas del hongo mencionado (cultivado sobre agar). La mezcla se agita entonces, durante 48 horas a 28° bajo ventilación. Al final de tiempo de incubación asciende el valor PH del cultivo a 3 hasta 4, y el crecimiento del hongo está bien desarrollado. Por 1/2 litro del cultivo obtenido se agregan 33 cm³ de una solución etanólica al 1% de $\Delta^{1,4}$ -2-metilo-6 α -cloro-pregnedios-17 α ,

30.



21-diol-3,20-dion. La mezcla se agita bajo ventilación durante 48 horas a 28°, se extrae con cloruro metilénico y el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y en vacío, sin sobrecalentar, se vaporiza a un volumen pequeño.

5.

Las soluciones concentradas de distintas incubaciones individuales se reúnen y se cromatografía en silicagel. La elución de la columna con mezclas de cloroformo-éter da fracciones cristalinas que se reúnen y cristalizan, obteniéndose así el $\Delta^{1,4}$ -2-metilo-6 -cloro-pregnadieno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion.

10.

Este compuesto se puede transformar como descrito en los ejemplos anteriores en su 21-éster.

En forma análoga se transforma el Δ^4 -2 α -metilo-6 α -cloro-pregneno-17 α , 21-diol-3,20-dion en el Δ^4 -2 α -metilo-6 α -cloro-pregneno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion.

15.

EJEMPLO VII (M-325)

Se obtiene un cultivo de *rhizopus nigricans* mediante inyección de un agente acuoso, que contiene 2% de peptona y 5% de corn steep liquor, con el hongo mencionado, incubación durante 24 horas bajo ventilación y agitación. Por cada litro de cultivo se agregan 30 cm³ de una solución etanólica de Δ^4 -6 -fluoro-pregneno-17 α , 21-diol-3,20-dion, que contenga 300 mg del esteroide. La mezcla se agita durante 24 horas a 20° bajo ventilación. El producto de incubación se extrae entonces con varias porciones de cloruro metilénico, el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y el vacío se estrecha a un volumen pequeño. La cromatografía del concentrado en silicagel da el Δ^4 -6 α -fluoro-pregneno-11 α , 17 α , 21-triol-3,20-dion.

20.

25.

30.



Una mezcla de 1 g del compuesto arriba mencionado, 10 cm³ de piridina y 1 cm³ de anhídrido acético se deja reposar durante la noche a temperatura de ambiente, se vierte entonces en agua y se calienta a durante 1/2 hora en el baño de vapor. Después de enfriar se filtra en vacío, la torta de filtrado se lava, se seca y se limpia por cristalización de acetona-hexano, con lo que se obtiene el 21-acetato de Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-11 α , 17 α , 21-triol-3, 20-dion.

5.

10.

1 g del acetato arriba mencionado, se disuelve en 50 cm³ de acetona, se enfría a 0° y se mezcla con una solución de ácido crómico 8-n que se obtiene disolviendo 1,6 g de ácido crómico en ácido sulfúrico diluido. La mezcla se agita durante 5 - 10 minutos a 0°, se vierte en agua, se extrae con éter, se lava con agua, se seca el éter sobre sulfato de sodio y se le vaporiza en vacío. Del residuo se obtiene por cristalización de acetona-hexano el Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 11, 20-trion.

15.

EJEMPLO VIII (M-325)

20.

Si en el ejemplo 7 se sustituye el cultivo de rhizopus nigricans por uno de curvularia lunata, que se obtiene bajo condiciones similares incubando durante 48 horas, entonces se obtiene, partiendo del Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 20-dion, después de 48 horas de incubación a 29° y elaboración según las indicaciones en el ejemplo 7, el Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion que, según los datos de los ejemplos anteriores se puede transformar en el 21-acetato ó en otro 21-éster y por oxidación de ácido crómico en el 21-acetato ó en otro 21-éster de Δ^4 -6 α -fluoro-17 α , 21-diol-3, 11, 20-trion.

25.

30.

EJEMPLO IX (M-340)



5. En agua destilada se preparan las soluciones A, B y C en la forma siguiente: Solución A mezclando 425 cm³ de una solución de hidrogenofosfato dipotásica al 1,742% con 75 cm³ de una solución de dihidrógenofosfato monosódica; solución B se obtiene diluyendo 1 litro de solución de cloruro sódico al 4,5%, 40 cm³ de una solución de cloruro potásico al 5,75% y 10 cm³ de solución de sulfato de magnesio al 19,1% a 5 litros; la solución C se obtiene disolviendo 20,9 g de ácido fumárico y 14,4 h de hidróxido sódico en 1 litro de agua y diluyendo a 1,2 litros. Después se mezclan 475 cm³ de solución A, 4,32 litros de solución B y 1,2 litros de solución C.

15. Capsulas suprarrenales de reses recién matadas se liberan de la grasa y después se tratan en una máquina de picar carne, hasta que se obtenga una masa homogénea. 3 kg de esta masa se introducen en 6 litros de la mezcla arriba mencionada de las soluciones A, B y C se agita fuertemente.

20. Después se agrega una solución de 3 g del 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion en 16 cm³ de glicol propilénico y la mezcla se agita a 28-37° durante 3 horas. A continuación se agregan 40 litros de acetona y se sigue agitando durante 1 hora a temperatura de ambiente. La masa sólida se retira por filtración y se lava dos veces, cada una con 10 litros de acetona. Los filtrados reunidos se estrechan en vacío bajo 30° a aprox. 5 litros. El residuo acuoso se lava ahora 3 veces con 4 litros de hexano. La solución acuosa, así tratada, se extrae 2 veces, cada una con 3 litros de cloruro metilénico, el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio y en vacío se estrecha por debajo

25.



228

- de la temperatura de ambiente a unos 300 cm³. La solución estrechada se vierte en una columna de una mezcla de 90 g de silicagel y 90 g de celita. La columna se lava ahora con una mezcla de 900 cm³ de cloruro metilénico y 100 cm³ de acetona y finalmente con una de 1600 cm³ de cloruro metilénico y 400 cm³ de acetona. Con la última mezcla de disolvente se eluye el Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion que se limpia por cristalización de éter. En forma análoga se obtiene, partiendo del Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α , 21-diol-3,20-dion el Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion.

15. 1 g del triol se disuelve en 10 cm³ de piridina y se mezcla con anhídrido acético. La mezcla se deja reposar durante la noche a temperatura de ambiente, se vierte en agua de hielo, se agita durante 1/2 hora y se filtra de la precipitación, se le lava y seca y cristaliza de acetona-hexano, con lo que se obtiene el 21-acetato de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion. En forma análoga se obtienen 21-ésteres más elevados de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion.

EJEMPLO X (M-341)

25. Análogo a los datos del ejemplo 9, se preparan 3 g de Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-17 α , 21-diol-3,20-dion en 16 cm³ de glicol propilénico con 3 kg de pasta de cápsulas suprarrenales y 6 litros de la mezcla de las soluciones A, B y C, y se elabora. El extracto cloruro metilénico se estrecha en vacío a unos 300 cm³ y se vierte en una columna de 90 g de silicagel y 90 g de celita. La columna se eluye entonces con 3 litros de cloruro metilénico y una mezcla de 900 cm³ de cloruro metilénico y 100 cm³ de acetona. El



producto de reacción se eluye con mezclas de cloruro metilénico-acetona (80:20 y 70:30). Vaporizando estos eluados y cristalización del residuo de éster acético se obtiene el Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion.

5.

Si en forma análoga se incuba el $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadios-17 α ,21-diol-3,20-dion entonces se obtiene el $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-11 β ,17 α -21-triol-3,20-dion.

10.

Los compuestos 11 β -hidroxi obtenidos, se pueden esterificar en posición 21, según los datos en el ejemplo 9, por ejemplo, con ácidos que contienen de 2 hasta 12 átomos de carbono.

EJEMPLO XI (M-341)

15.

Una solución agitada de 500 mg del 21-acetato de Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-11 β ,17 α ,21-triol-dion en 300 cm³ de ácido acético glacial se mezcla cuidadosamente con una solución de 130 mg de ácido crómico en 1 cm³ de agua y 8 cm³ de ácido acético glacial. La mezcla se deja reposar

20.

durante 2 horas a temperatura de ambiente, se vierte en agua, se filtra en vacío, se lava y seca el residuo y se le cristaliza de acetona-hexano, con lo que se obtiene el 21-acetato de Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-17 α ,21-diol-3,11,20-trion.

25.

En forma análoga se puede oxidar el 21-acetato de $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion al 21-acetato de $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,11,20-trion.

EJEMPLO XII (M-388)

30.

En forma análoga a los datos en el ejemplo 9, se



- incuban 2 g de Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-17 α , 21-diol-3,20-dion en 16 cm³ de glicol propilénico con 3 kg de pasta de cápsulas suprarrenales y 6 litros de la mezcla de las soluciones A,B y C. El extracto cloruro metilénico se estrecha en vacío a unos 300 cm³ y se vierte sobre una columna de 90 g de silicagel y 90 g de celita. La columna se eluye entonces con 3 litros de cloruro metilénico, una mezcla de 900 cm³ de cloruro metilénico y 100 cm³ de acetona y finalmente con una mezcla de 1600 cm³ de cloruro metilénico y 400 cm³ de acetona. Mediante elución con la última mezcla se obtiene el Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion, que se limpia por cristalización de acetona-hexano. Según los datos en los ejemplos anteriores se puede esterificar en posición 21, por ejemplo, transformar en el 21-acetato y 21-ciclopentilpropionato de Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion.
- 5.
- 10.
- 15.

- Por oxidación con ácido crómico, según los datos en el ejemplo 11, se obtiene del mismo el 21-acetato ó 21-ciclopentilpropionato de Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-17 α ,21-diol-3,11,20-trion.
- 20.

EJEMPLO XIII (M-388)

- Un cultivo de *cunninghamella bainieri* (ATCC 9244) se obtiene mediante la inyección de un agente acuoso, que contiene 2% de peptona y 5% de Corn steep liquor, con un cultivo creciente del hongo y agitando a 28° bajo ventilación durante 24 horas. Por litro del caldo de cultivo se agregan 300 mg de Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion en 30 cm³ de etanol y se agita bajo ventilación durante 24 horas a 28°. De esta forma se
- 25.
- 30.



emplean en total 3 g del esteroide. Después de la incubación se extraen los agentes de cultivo con cloruro metilénico, el extracto se lava con agua, se seca y vaporiza. Del residuo se obtiene la Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion, que es idéntico al producto del ejemplo 12.

5. Si en forma análoga se incuba Δ^4 -6 α -cloropregнено-17 α , 21-diol-3, 20-dion, $\Delta^{1,4}$ -6 α -cloro- y $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-17, 21-diol-3, 20-dion, así como $\Delta^{1,4}$ -2-metilo-6 α -pregnadieno-17 α , 21-diol-3, 20-dion con un cultivo de cunninghamella bainieri, entonces, después de la elaboración se obtiene el Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-11 β , 17 α -21-triol-3, 20-dion, el $\Delta^{1,4}$ -6 α -cloro-pregnadieno-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion, el $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion y el $\Delta^{1,4}$ -2-metilo-6 α -fluoro-pregnadieno-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dion.

10. En lugar del cultivo de cunninghamella bainieri se puede emplear también uno de cunninghamella blakesleana.

EJEMPLO XIV (M-376)

20. Un cultivo de cunninghamella bainieri 9244 ATCC se obtiene por inyección de un caldo acuoso, que contiene 2% de peptona y 5% de Corn steep liquor, con el hongo mencionado y agitando durante 24 horas a 28° bajo ventilación. Por cada litro de este cultivo se agregan 30 cm³ de una solución etanólica de Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α , 21-diol-3, 20-dion, que contenga 300 mg del esteroide y la mezcla se agita durante 24 horas a 28° bajo ventilación. El producto de incubación se extrae con cloruro metilénico y el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio y en vacío se estrecha a un volumen pequeño. De esta manera se reaccionan 3 g del material inicial.



Los extractos estrechados reunidos se emplean ahora para la impregnación de una columna lavada con cloruro metilénico de 60 g de silicagel y 60 g de celita, La 6 α -cloro-hidro cortisona se eluye de la columna con cloruro metilénico-acetona 80:20. Se puede limpiar por cristalización de cloruro metilénico-acetona.

5. En forma análoga se puede transformar el $\Delta^{1,4}$ -6 α -cloro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,20-dion en la 6 α -cloro-prednisolona. Para la hidroxilización 11 β se pueden, en lugar de cunninghamella bainiere, emplear los siguientes organismos ATCC: C.elegans 67956, 7929, 9246, 10028 a, 10028 b, C.blakesleana 86888 a, 8688 b, C. echinulata 1386.

EJEMPLO XV (M-377)

15. Si se procede en forma análoga a los datos del ejemplo 14, con la diferencia, de que los materiales allí empleados se sustituyen por Δ^4 -6 α -fluoro-pregneno-17 α ,21-diol-3,20-dion ó $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,20, entonces se obtienen como materias finales la 6 α -fluoro-hidro cortisona ó 6 α -fluoro-prenisolona.

N O T A

20. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a unas solicitudes de patentes, presentadas en Mejico, nºs 48730 de 3 septiembre 1957, 48898 de 23 septiembre 1957, 49114 de 15 octubre 1957, 49111 de 15 octubre 1957, 49166 de 21 octubre 1957, 50086 de 11 febrero 1958 y 50087 de 11 febrero 1958, acogiéndose



243 929

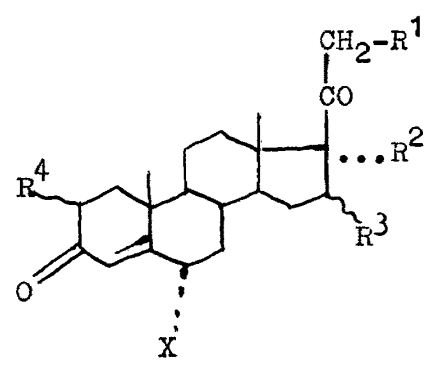
15

por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España: "Procedimiento para la obtención de nuevos compuestos de halógenopregnano";

5. caracterizándose por lo siguiente:

1º.- Procedimiento para la obtención de ^{nuevos} compuestos de halógenopregnano, caracterizado porque los compuestos de la fórmula

10.



15.

donde R¹, R² y R³ significan hidrógeno ó un grupo hidroxil libre ó esterificado, R⁴ hidrógeno ó un grupo metílico y X un átomo de cloro ó fluoro, y que en la posición 1,2

20.

pueden presentar otra unión doble, se someten a los efectos aerobicos de encimas que puedan introducir oxígeno en la posición 11, y en los compuestos obtenidos, los grupos hidroxil, en caso dado libres, se esterifican ó deshidratan a grupos oxo.

25.

2º.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1ª, caracterizado porque la 11-hidroxilización se efectúa mediante *rhizopus nigricans*, *curvularia lunata*, *cunninghamella blakesleana*, *cunninghamella bainieri*,



cunninghamella elegans ó cunninghamella echinulata.

5. 3º.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1ª, caracterizado porque la 11-hidroxilización se efectúa mediante homogenados de cápsulas suprarrenales de reses ó cerdos.
10. 4ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ^4 -6 α -cloro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.
10. 5ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ^4 -6 α -fluoro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.
15. 6ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea $\Delta^{1,4}$ -6 α -cloro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.
20. 7ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea $\Delta^{1,4}$ -6 α -fluoro-pregnadieno-17 α ,21-diol,3,20-dion ó un éster del mismo.
25. 8ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ^4 -2 α -metilo-6 α -cloro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.
30. 9ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ^4 -2 α -metilo-6 α -fluoro-pregнено-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.
- 10ª.- Procedimiento, según lo especificado en



243928

las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ 1,4-2-metilo-6 α -cloro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.

5. 11^a.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque como material inicial se emplea Δ 1,4-2-metilo-6 α -fluoro-pregnadieno-17 α ,21-diol-3,20-dion ó un éster del mismo.

10. 12^a.- Procedimiento para la obtención de nuevos compuestos de halógenopregnano; tal y como queda substancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de diecinueve hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, - 3 SEP. 1958

SYNTEX, S.A.

J. GOMEZ ACECO Y MOBEI
P.P.