

12 DIC. 1959

954144

P. 18.550.-

375 n



MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E   D E   I N V E N C I O N

e n

E S P A Ñ A

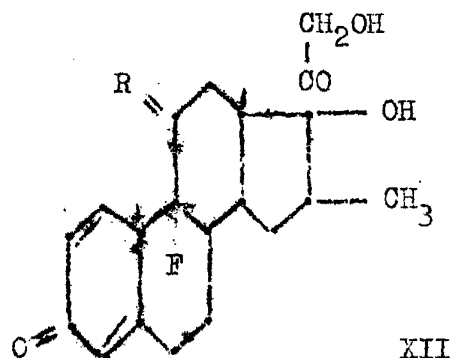
por VEINTE años

a nombre de LES LABORATOIRES FRANCAIS DE CHIMIOETHERAPIE,  
entidad francesa, establecida en 35, Boulevard des Inva-  
lides, Paris, Francia, por:

"UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE CORTICOSTEROIDES  
SUSTITUIDOS"

El objeto de la presente invención es un nuevo proce-  
dimiento para la preparación de corticosteroides sustituidos,  
a saber, de 17 $\alpha$ ,21-dihidroxi 9 $\alpha$ -fluoro 16 $\alpha$ -metil  $\Delta$ 1,4-  
pregnadieno 3,20 dionas de fórmula XII

5



10



254144

en la cual R =  $\begin{matrix} \nearrow H \\ \searrow OH \end{matrix}$  u O.

Estos compuestos, que ya están descritos en la bibliografía, presentan una actividad cortisónica extraordinariamente elevada, pero necesitan para su elaboración una serie muy larga de operaciones que comprende aproximadamente 30 etapas a partir de materias primas tales como los ácidos biliares o las sapogeninas de Méjico. Una disminución de rendimientos en una o varias de estas etapas consecutivas acarrea luego, dado el gran número de etapas, disminuciones importantes del rendimiento global. Además, para la industria es importante disponer como productos intermedios de productos estables que no se alteran durante las operaciones, como sucede con los esteroides cortisónicos que contienen una función cetol (  $\begin{matrix} 20 & 21 \\ -CO & -CH_2OH \end{matrix}$  ) en su cadena lateral.

Los procedimientos hasta ahora publicados (Sarett y col., J. Am. Chem. Soc. 1958, 80, 3160 y 3161. Hershberg. Oliveto y col., ib. pág. 4428 y 4431) introducen esta función cetol al principio de las etapas permitiendo la transformación de un 3-aciloxi 16 $\alpha$ -metil pregnano o alo pregnano 20-ona en compuestos de la fórmula I. Los productos finales se obtienen, cuando se trabaja en serie normal, para el isomero 16 $\beta$ -metilado, introduciendo los dos dobles enlaces del núcleo A en dos operaciones bien distintas. Se forma el doble enlace 4,5 por eliminación de HBr de la correspondiente 4-bromo pregnano 3-ona, y el doble enlace en 1,2, separadamente por procedimiento microbiológico o por deshidrogenación con selenio. Esta última operación no da rendimientos cuantitativos y, además, el selenio es difícil de separar. Por otra parte, cuando se trabaja en serie normal, es necesario formar, con vistas a



254144

la reducción de la función cetónica en 11 al correspondiente derivado 11  $\beta$ -hidroxilado, semicarbazonas o cetales de la función cetónica en posición 20 del producto intermediario. Ahora bien, esta formación suele ser muy difícil, como han demostrado Wondler y Tishler (J. Am. Chem. Soc., 1951, 73, 3818) debido al impedimento estérico en 21, si el alcohol en 21 está protegido bajo forma de derivado acilado. Como las reducciones se realizan en medio alcalino, este derivado acilado se saponifica durante la reducción, siendo necesario proteger después nuevamente el hidroxilo en posición 21, lo que supone operaciones adicionales. Por otra parte, según demuestra la patente belga No. 568.694, las semicarbazonas de las  $\Delta^{1,4}$  pregnadieno 3,20-dionas son difíciles de hidrolizar, a no ser que se apliquen precauciones especiales. Así por ejemplo, Herzog y col. (J. Am. Chem. Soc., 77, 4781-4784) no han podido transformar la 3,20-disemicarbazona de la prednisolona en prednisolona, más que con un rendimiento de 5 %.

Por último, la oxidación de un hidroxilo en posición 3 de ciertos esteroides es difícil de efectuar y exige el empleo de reactivos particulares tales como el complejo anhídrido crónico-piridina. El procedimiento de acuerdo con la invención evita todos los inconvenientes antes citados a saber: permite la introducción simultánea de los dos dobles enlaces del núcleo A, la formación fácil de la semicarbazona en posición 20, una hidrólisis cómoda de una disemicarbazona diónica y una oxidación fácil del hidroxilo en 3 para pasar a cetona. Como lo demuestra el esquema que se adjunta al final de la descripción, se distingue, además, de los procedimientos conocidos por el hecho de que la síntesis se termina por la formación del hidroxilo en 21, mientras que los procedimien-

254144



tos conocidos se terminaban, bien sea por la formación del doble enlace 1,2 o bien por la introducción del fluor en 9.

5 Para obtener los compuestos de la fórmula XII, se utiliza de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, como producto de partida, la 3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -metilpregnano 11,20-diona I. Este producto I es fácilmente accesible por la serie de operaciones bien conocidas en la química de los esteroides, gracias a los trabajos de Marker (J. Am. Chem. Soc., 1942, 64, 1280), y de Gallagher (J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 882). Según estos autores, se hace reaccionar el yoduro de metil magnesio sobre una 3 $\alpha$ -acetoxi  $\Delta^{16}$ -pregneno 20-ona, se hidroxila en 17 la 3 $\alpha$ -acetoxi 16 $\alpha$ -metilpregnano 20-ona obtenida, por intermedio del epóxido 17-20. La sa-  
15 ponificación de éste conduce, si el producto sobre el cual se hace reaccionar el yoduro de metil magnesio es la 3 $\alpha$ -acetoxi  $\Delta^{16}$ -pregneno 11,20-diona, al compuesto I del esquema adjunto.

20 Por oxidación de esta 3 $\gamma$ ,17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -metilpregnano 11,20-diona con ácido crómico en acetona, se forma la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metilpregnano 3,11,20-triona, II, que, en dioxano o en acetato de etilo, por la acción del bromo, suministra, con rendimientos excelentes, la 2,4-dibromotriona correspondiente, III. De acuerdo con el procedimiento des-  
25 crito en la patente número 232.433, se elimina HBr del compuesto III por acción del per halogenuro de litio-carbonato de litio, y se llega a la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metilpregnadieno 3,11,20-triona, IV, la cual, por no tener impedimento estérico en posición

254144

120



21, se puede transformar fácilmente en la 3,20-dicemicarba-  
 zona correspondiente, V. Por reducción con borohidruros al-  
 calinos, se reduce la función cetónica en posición 11 del  
 compuesto V a alcohol secundario, cuyo hidróxilo está orien-  
 5 tado en  $\beta$ , VI, y libera la 11  $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -metil  
 $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona, VII por hidrólisis pirúvica.  
 Esta se transforma en 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4,9}$ -preg-  
 natrieno 3,20-diona, VIII, por acción de un deshidratante co-  
 mo el cloruro de tionilo, sobre un derivado como el 11-metano-  
 10 sulfonato, o también por deshidratación directa. Por acción  
 de la N-bromosuccinimida en presencia de ácido perclórico,  
 el trieno VIII da la bromhidrina IX. Se transforma este com-  
 puesto por acción de los álcalis en epóxido 9 $\beta$ , 11 $\beta$ , X, el  
 cual, tratado por ácido fluorhídrico anhidro en disolvente  
 15 neutro suministra la fluorhidrina XI. Este último compuesto,  
 sometido a la hidroxilación biológica por el procedimiento des-  
 crito en la solicitud de patente francesa de la sociedad soli-  
 citante, titulada "procedimiento de oxidación de esteroides",  
 de 21 de Julio de 1955, por la acción de diastasas secretadas  
 20 por *Colletotrichum lindemuthianum* (ATCC 12611) da el compuesto  
 XII (R =  $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{matrix}$ ), Para llegar al compuesto XII (R = O) se oxida  
 XI de acuerdo con los métodos usuales en química esteroide,  
 por ejemplo por la acción del anhídrido crómico o de la  
 N-bromocetanida y después se hidroxila en 21.

25 Se sobrentiende que el modo de puesta en práctica del  
 procedimiento que aquí se describe no es más que una forma  
 de realización preferente. Puede hacerse variar la naturale-  
 za de los disolventes así como también de los agentes de oxi-  
 dación, de reducción, o de acilación empleados, a condición  
 30 de conservar el orden de la sucesión de operaciones que figu-

ran en la descripción, sin apartarse por esto del marco de la invención.

El ejemplo siguiente ilustra la invención sin limitarla, sin embargo.

5 EJEMPLO: Preparación de la 11 $\Delta$ ,17 $\times$ -21 trihidroxi 16 $\times$ -metil  $\Delta$ 1,4-pregnadiono 3,20-diona XII (R =  $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{matrix}$ ).

Etapas 1: Preparación de la 3 $\times$ ,17 $\times$ -dihidroxi 16 $\times$ -metilpregnano 11,20-diona, I.

Se recristalizan en diclorometano, dos veces, 76 gr. del compuesto I bruto descrito por Sarett y col. p. de f. 185-187° C.  $\alpha_D^{20} = + 60^\circ$  (cloroformo) (J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 3160) y constituido por una mezcla en partes iguales de I y de 3 $\times$ -hidroxi 16 $\times$ -metilpregnano 11,20-diona. Se llega así al compuesto I solvatado con 20 % de dicloro-

15 metano. Después de desolvatación por calentamiento en vacío a unos 100°, da p. de f. 190° C.,  $\alpha_D^{20} = + 25 \pm 5^\circ$  (c = 0,5%, cloroformo). Soluble en acetona, cloroformo, diclorometano, muy poco soluble en éter, insoluble en agua, en los ácidos y en los álcalis diluidos.

20 Análisis:  $C_{22}H_{34}O_4 = 362,49$   
 Calculado: C% 72,89 H% 9,45 O% 17,66  
 Encontrado: 72,8 9,5 17,8

Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

25 Etapas 2: Preparación de la 17 $\times$ -hidroxi 16 $\times$ -metilpregnano 3,11,20-triona, II

Se disuelven 30 gr. del compuesto I, hirviendo a reflujo, en 360 cc. de acetona. Se enfría a 0° y se añade, agitando enérgicamente, en un plazo de media hora, unos 47 cc. de una solución sulfocrónica obtenida por disolución de 25 gr. de anhídrido crónico en una mezcla de 37 gr. de ácido sul-

30

254144



fúrico concentrado y 100 cc. de agua. Durante la oxidación, se mantiene la temperatura a  $+ 5^{\circ}$  como máxima. Se agita todavía durante algunos minutos, se vierte sobre dos litros de agua, se enfría con hielo durante  $1/4$  hora, se aspira a la trompa la triona II precipitada, se lava con agua, se aspira y se purifica por recristalización en metanol hirviente. Se obtienen así 26,6 gr. de triona II (o sea un rendimiento de 88%). P. de f.  $204-205^{\circ}\text{C}$ .  $\frac{D_{20}}{D} = + 35^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $d = 0,5\%$ , cloroforno) suficientemente para para continuar las operaciones; las aguas madres dan todavía 6% de producto II, Soluble en acetona y cloroforno, poco soluble en metanol y éter, insoluble en agua.

Para el análisis se recristaliza en metanol, p. de f.  $205^{\circ}\text{C}$ .

15 Análisis:  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4 = 360,48$   
 Calculado: C% 73,30 H% 8,95  
 Encontrado: 73,2 9,0

Este producto no está descrito en la bibliografía.

20 Etapa 3: Preparación de la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\beta$ -metil 2,4-dibromoprogano 3,11,20-triona III

Se disuelven a ebullición 24 gr. de triona II en 700 cc. de acetato de etilo. Se enfría a  $0^{\circ}$  y se añade 1 cc. de ácido acético al 30 % de ácido bromhídrico y después, manteniendo la temperatura entre  $-2^{\circ}$  y  $0^{\circ}$  se añade en algunos minutos 145 cc. de ácido acético al 16 % de bromo, y se deja en reposo todavía durante 2 a 3 minutos a  $0^{\circ}$ , y se vierte en agua helada. Se decolora por adición de algunas gotas de solución de bisulfito sódico y se lava la solución en acetato de etilo de dibromo triona III, con agua, después con una solución diluida de bicarbonato sódico hasta pH 7, se seca sobre sulfato

254144



to magnésico, se filtra y se evapora el extracto orgánico a sequedad en vacío. El residuo cristaliza por adición de éter y rascando. Después de aspirar a la trompa y secar, se obtienen 31,7 gr., o sea, un rendimiento de 91 % de 2,4-dibromotriona III,  $\alpha/20_D = -30^\circ, \pm 7^\circ$  ( $\rho = 0,5$  % cloroformo). El producto funde con descomposición a  $200^\circ$ . Soluble en acetona y cloroformo, muy poco soluble en éter, insoluble en agua.

Análisis:  $C_{22}H_{30}O_4Br_2 = 518,3$ .

Calculado: Br % 30,8 (29,7 % con 1 mol  $H_2O$ ).

10 Encontrado: 29,8

Este producto no está descrito en la bibliografía.

Etapa 4: Preparación de la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona, IV

Se calienta a reflujo con agitación mecánica una mezcla de 24,5 gr. de bromuro de litio, de 49 gr. de carbonato de litio y de 150 cc. de dimetilformamida, se destilan unos 10 cc. y, sin parar el calentamiento a reflujo, se introducen muy rápidamente en 2-3 minutos, 49 gr. de dibromotriona III disuelta a la temperatura ordinaria en 110 cc. de dimetilformamida y se destila durante 10 minutos aproximadamente dimetilformamida, después se enfría el contenido del balón a  $40-50^\circ$  y se vierte sobre agua helada que contenga aproximadamente 100 cc. de ácido acético. Se aspira a la trompa, se lava con agua y se redissuelve la torta en 250 cc. de diclorometano, se decanta la fase acuosa que se extrae nuevamente con diclorometano, se reúnen los extractos orgánicos, se seca sobre sulfato magnésico, se filtra, se concentra a 50 cc., aproximadamente, se añaden 300 cc. de éter, se concentra a 100 cc., se enfría con hielo, se aspira, se lava con éter y se seca. Se obtienen así 28,5 gr., o sea, un rendimiento de 84 % de triona no saturada, IV, p. de f.

254144



234° C.,  $n_D^{20} = + 140^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,5 \%$ , cloroformo). El producto es soluble en acetona y cloroformo, muy poco soluble en éter, insoluble en agua y en los álcalis acuosos diluidos.

Análisis:  $C_{22}H_{28}O + 1/4 H_2O = 356,44 + 4,5$ .

5	Calculado:	C %	73,2	H%	7,96	O%	18,84
	Encontrado:		73,0		7,8		18,7

Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

Etapa 5: Preparación de la disemicarbazona 3,20 de la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona, V.

10 Se agitan mecánicamente bajo corriente de nitrógeno 29 gr. de triona no saturada, IV, con 34,8 gr. de clorhidrato de semicarbazida y 348 cc. de ácido acético; después se introduce lentamente en 1/4 hora aproximadamente 69,5 gr. de fosfato disódico en polvo. Se produce un ligero calentamiento y se mantiene 15 16 horas a 50° sin interrumpir la agitación ni la corriente de nitrógeno. Se enfría después a + 10°, se añade 1 litro de agua y 1 kg. de hielo, y después de enfriamiento exterior, se neutraliza con amoníaco hasta reacción alcalina. Después de aspirar a la trompa la disemicarbazona V formada, se la lava 20 con agua primero sobre el filtro, después por enpastado, y se aspira a fondo. El producto húmedo, que pesa 124 gr., se utiliza tal cual para la reducción consecutiva.

25 Etapa 6: Preparación de la 3,20-disemicarbazona de la 11  $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona VI.

Los 124 gr. de disemicarbazona V húmeda, obtenidos en la etapa anterior se disuelven en 390 cc. de tetrahidrofurfano a la temperatura ordinaria. Se añaden 305 cc. de agua, se calienta a 60° y se añade con agitación mecánica en forma de 30 chorro delgado una solución de 13 gr. de borohidruro de pota-

254144



sio en 78 cc. de agua y 13 cc. de sosa acuosa N. Después de mantener la mezcla reaccional durante 3 horas a 60°, se destila el disolvente en vacío hasta formación de espuma, se añaden unos 300 cc. de agua helada, se filtra, se lava con agua hasta neutralidad y se aspira a la trompa. Este producto húme-

5

do que pesa 68 gr. se utiliza directamente para la hidrólisis.  
Etapa 7: Preparación de la 11/3,17/4-dihidroxi 16/1-metil $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona, VII

Los 68 gr. de disomicarbazona húmeda VI obtenidos según la etapa anterior, 47 cc. de ácido pirúvico y 41 cc. de agua se calientan, con buena agitación, durante 30 minutos, a 30°. Se produce disolución. La mezcla reaccional se pone una hora a 60° y luego se aumenta de 5° la temperatura de media en media hora, diluyendo la mezcla reaccional por adición de 60 a 100 cc. de agua. Cuando se ha calentado así finalmente media hora a 75°, se vierte en agua fría, se enfria con hielo, se aspira a la trompa y se lava el compuesto diónico VII con una solución acuosa diluida de bicarbonato sódico y después con agua. Después de aspirar se redisuelve el compuesto VII bruto en 100 cc. de acetona caliente, se enfria, se añaden 200 cc. de diclorometano y se lava la fase orgánica con una solución acuosa de bicarbonato sódico, con agua, después se seca sobre sulfato magnésico, se filtra y se pasa sobre negro. Se evapora entonces el extracto orgánico a sequedad, se empasta con acetato de etilo, se aspira a la trompa y se seca. Se obtienen así 16 gr. de compuesto VII (o sea un rendimiento de 54 %), p. de f. 220° C. El producto es suficientemente puro para continuar las operaciones. Las aguas madres pirúvicas se extraen con diclorometano y la resina obtenida se reúne al líquido madre de la primera recogida. Esta materia amorfa se somete después a un nuevo trata-

15

20

25

30

254144



nimiento piruvico según esta etapa 7. El rendimiento final es entonces de 75 %.

Para el análisis, se recristaliza el compuesto VII en diclorometano. P. de f. 224° C.  $\alpha_D^{20} = +36^\circ$  ( $c = 0,5\%$ , cloroforno). Soluble en acetona, cloroforno y en 10 a 15 volúmenes de diclorometano a 40°. Casi insoluble en el acetato de etilo, insoluble en el éter.

Análisis: C H O = 358,46  
22 30 4

Calculado: C % 73,71 H % 8,44

10 Encontrado: 73,9 8,3

Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

Etapa 8: Preparación de la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil $\Delta^{1,4,9}$ -pregnatrieno 3,20-diona, VIII

Se disuelven 10 gr. del compuesto dihidroxilado VII en la mezcla de 100 cc. de dimetilformamida y de 12 cc. de piridina. Se enfria a -12° y se añade una mezcla de 10 cc. de cloruro de metano sulfonilo y de 0,2 cc. de cloruro de tionilo, se deja la temperatura de la mezcla reaccional subir hasta -5°, y se mantiene allí durante media hora. Se recalienta a continuación la mezcla reaccional a +20°, se mantiene en esta temperatura durante 1 hora, se enfria nuevamente a -5° y se añaden 500 cc. de agua helada de manera que no se pase de 0°. Se aspira a la trampa el trieno VIII formado, se lava con agua, se empasta con 30 cc. de metanol, se aspira a la trampa, se lava con metanol, se aspira y se seca. Se obtienen 8,6 gr., o sea un rendimiento de 89 %. P. de f. 222° C. suficientemente puro para seguir las operaciones. Para el análisis, se le recristaliza por disolución en diclorometano seguida de adición de éter. El producto VIII puro, p. de f. 224° C.,  $\alpha_D^{20} = -28^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,5\%$ , cloroforno) es soluble en acetona, cloroforno,

254144



diclorometano, y muy poco soluble en éter.

Análisis:  $C_{22}H_{28}O_3 = 340,44$

Calculado: C% 77,61      H % 8,29

Encontrado: 77,5              8,3

5              Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

Etapa 9: Preparación de la 9 $\alpha$ -bromo 11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -  
netil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona, IX

Se adicionan 9,3 gr. de trieno VIII, p. de f. 222° C.,  
obtenido según el procedimiento descrito en la etapa 8, con  
10 185 cc. de dioxano y 37 cc. de ácido perclórico al 10%. Se  
enfria a + 5°, se añaden 5,1 gr. de N-bromosuccinimida y se  
agita mecánicamente durante 45 minutos a 18°, después se añaden  
185 cc. de agua, se aspira a la trampa y se lava la brom-  
hidrina IX formada con agua. El producto escurrido a la trampa  
15 sobre filtro todavía húmedo se utiliza tal cual para la etapa  
siguiente.

Etapa 10: Preparación de la 16 $\alpha$ -netil 9 $\beta$ ,11 $\beta$ -epoxi 17 $\alpha$ -hi-  
droxi  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona, X.

La bromhidrina, IX, todavía húmeda, obtenida a partir  
20 de 9,3 gr. de trieno se pone en suspensión en 93 cc. de metanol.  
Se enfria a +10° y se añaden 47 cc. de potasa alcohólica  
normal agitando durante 40 minutos a 20-25°. A medida que va  
progresando la reacción, se ve al microscopio que la forma  
cristalina característica del epóxido X va sustituyendo a la  
25 poco definida de la bromhidrina. Se añade entonces 140 cc. de  
agua, se aspira a la trampa el epóxido X, se lava con agua,  
después con metanol y se seca. Se obtiene así un rendimiento  
de 7,7 gr. (79 % del teórico) de epóxido X, p. de f. 252° C.,  
suficientemente puro para continuar las operaciones. Para el  
30 análisis se recristaliza en acetona; p. de f. 253° C.,  $\frac{1}{\alpha} \frac{20}{D} =$

254144



-24° ( $c = 0,5 \%$ , cloroforno), soluble en cloroforno, poco soluble en acetona, muy poco soluble en alcohol, insoluble en el agua.

Análisis:  $C_{22}H_{48}O = 356,44$

5 Calculado: C % 74,13 H % 7,92

Encontrado: 74,4 7,9

Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

Etapas 11: Preparación de la 11/3, 17% -dihidroxi 16% -metil 9 -fluoro 1,4 -pregnadieno 3,20 -diona, XI

10 Se disuelven 1,2 gr. de epóxido en 25 cc. de cloroforno. Se enfría a -12°, se añaden 0,6 cc. de ácido fluorhídrico anhidro, se enfría a -70° y se agita 20 minutos mecánicamente a una temperatura inferior o igual a -10°. La mezcla reaccional toma un color violáceo con formación de dos capas. Se vierte

15 sobre 50 cc. de solución acuosa de bicarbonato sódico enfriado con hielo. Se decanta la capa clorofórmica y después se inicia una cristalización abundante de la fluorhidrina XI. Se extrae varias veces con acetato de etilo al 20 % de acetona, se lava el extracto orgánico con agua, se seca sobre sulfato magnésico,

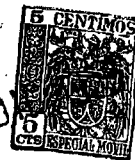
20 se filtra, se evapora a sequedad y se tritura el residuo con diclorometano y después se aspira a la trompa. Se obtienen así 655 mg. de fluorhidrina XI, p. de f. 285° C., dispuesta para someterla a hidroxilación biológica en 21. Por recristalización en la mezcla acetona-éter, el punto de fusión no varía.

25  $\alpha_D^{20} = + 73^\circ \pm 10^\circ$  ( $c = 0,25 \%$ , acetona). El producto XI es muy poco soluble en cloroforno y en diclorometano, poco soluble en acetona, casi insoluble en éter e insoluble en el agua.

Análisis:  $C_{22}H_{29}O_2F = 376,45$

30 Calculado: C % 70,18 H % 7,76 F % 5,05

254144



Encontrado: 70,1 7,9 4,8

Este compuesto no está descrito en la bibliografía.

Etapa 12: Preparación de la 11/3,17%, 21-trihidroxi 16% -metil  
9% -fluoro  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-diona, XII

5 Se cultiva el *Colletotrichum lindemuthianum* (ATCC 12.611) durante 10 días a 24° sobre un medio gelosado a base de 2 % de sacarosa y de 20 % de decocción de patatas. Se recogen las conidias en agua destilada. La suspensión obtenida sirve para sembrar en condiciones estériles un matraz Erlenmeyer de 1 litro  
10 que contiene 100 cc. de un medio compuesto como sigue:

15

Glucosa pura . . . . .	10 gr.
Extracto de malta . . . . .	5 gr.
Harina de soja . . . . .	10 gr.
Cloruro sódico . . . . .	5 gr.
Líquido de maceración de maíz seco	5 gr.
Carbonato cálcico . . . . .	1 gr.
Agua, c.s. para 1000 cc.	

El pH de este medio se ha ajustado previamente a 6,8-7,0  
20 por la potasa y se ha esterilizado calentando 30 minutos a la temperatura de 120°. Después de 5 días de cultivo a 24° sobre un aparato de sacudir (85 sacudidas por minuto, carrera 8 cm.) se añade a 1000 cc. de cultivo, 10 cc. de una solución acetónica al 1% del compuesto XI preparado como acaba de indicarse  
25 en la etapa anterior. Una nueva incubación de 24 horas conduce al derivado trihidroxilado 12 buscado, con un rendimiento de 50 a 60 %, según se desprende de las determinaciones cromatográficas sobre papel que se efectúan como sigue sobre 50 cc. de caldo de cultivo. El caldo se filtra y el micelio se lava  
30 dos veces con 5 cc. de acetona que se junta al filtrado. Se



agota a continuación el micelio 2 veces con 50 cc. de cloro-  
forno y se agota el filtrado anterior con estos 100 cc. de  
cloroforno y después dos veces todavía con 20 cc. de cloro-  
forno cada vez. Los extractos clorofórmicos reunidos se lavan  
5 primero con una solución acuosa de bicarbonato sódico, des-  
pués con agua, se seca sobre sulfato magnético y se evapora  
a sequedad en vacío. El residuo se recoge por 1 cc. de metan-  
ol y sirve para la cromatografía sobre papel. Antes de la  
cromatografía, la hoja de papel se sumerge en una solución  
10 de propileno-glicol al 30 %. Después de haber dejado escurrir,  
se efectúa la cromatografía utilizando para el esteroide to-  
lueno saturado de propileno-glicol con un desarrollo de 8 a  
15 horas. El revelado de las manchas se realiza por la reacción  
coloreada de Mader y Buck (Anal. Chem. 1952, 24, 666) con el  
15 cloruro de trifeniltetrazolio que da una coloración roja sobre  
fondo blanco con los esteroides que poseen la función cetol  
 $R-CO-CH_2OH$ . Se comprueba por ensayos comparativos que el ín-  
dice de transformación del producto de partida XI en cetol  
XII alcanza 50 a 60 %.

20 Otro ensayo idéntico en el que el extracto clorofórmi-  
co obtenido después de fermentación, evaporado a sequedad,  
se somete a la cromatografía sobre alúmina, permite aislar  
el cetol XII idéntico en todo al producto descrito por Sarett  
y col. (J. Am. Chem. Soc. 1958, 80, 3160).

25 EJEMPLO 2: Preparación de la 17 $\alpha$ , 21-dihidroxi 16 $\alpha$ -metil 9 $\alpha$ -  
fluoro- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona XII (R = O)

Etapa a) - Preparación de la 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil 9 $\alpha$ -fluo-  
ro- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona

170 mg. de 16 $\alpha$ -metil 9 $\alpha$ -fluoro- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 11  $\Delta$ ,

30 17 $\alpha$ -diol 3,20-diona, se adicionan con

254144



4 cc. de ácido acético, se calienta para disolver, se pone a 16°, se añade gota a gota en 10 minutos

0,35 cc. de una solución de ácido crómico al 9,5 % en ácido acético, se agita a 20° durante 30 minutos, se añade

5 agua, se rasca, se aspira a la trompa, se lava con agua y se seca en la estufa.

Rendimiento, 140 ng. = 80 % de 17 $\lambda$ -hidroxi 16 $\lambda$ -metil 9 $\lambda$ -fluoro- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20 triona bruta.

Por recristalización en el metanol se separan: 80 ng., p. 10 de f. 262-264° (descomposición),  $\lambda / \substack{20 \\ D} + 102° \pm 10°$  (0,5 %, acetona).

El espectro I.R. demuestra la presencia de un solo hidróxilo y la curva característica es concordante.

Análisis: C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub>F = 374,44

15	Calculado:	C % 70,6	H % 7,3	F % 5,1
	Encontrado:	71,0	7,2	5,1

Este compuesto no está descrito en la bibliografía

Etapa b) - Hidroxilación biológica de la triona XII (R = 0)

Se hidroxila biológicamente, como se ha descrito en la 20 etapa 12, la 17 $\lambda$ -hidroxi 16 $\lambda$ -metil 9 $\lambda$ -fluoro- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona obtenida según la etapa a). Después de fermentación en las condiciones indicadas de 100 mg. de este producto, extracción con cloroformo como se ha mencionado y cromatografía de este extracto sobre alúmina, se aísla el compuesto 25 XII (R = 0) que se purifica por intermedio de su derivado acetilado, preparado por acetilación con ayuda de anhídrido acético en presencia de piridina. El 21-acetato de XII así obtenido funde a 166° después de recristalización en la mezcla diclorometano-éter isopropílico.

30 Esta solicitud que corresponde a la presentada en Francia

el 16 de Diciembre de 1958, bajo el número PV. 781.777, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

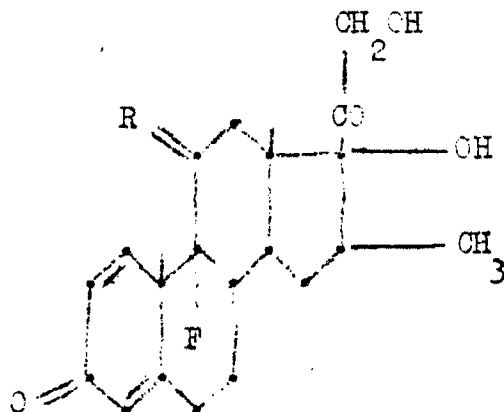
5

- N O T A -

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

- 10 1.º.- Un procedimiento de preparación de corticosteroides sustituidos y particularmente de 17 $\alpha$ ,21-dihidroxi 9 $\alpha$ -fluoro 16 $\alpha$ -etil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,20-dionas de fórmula

15



20

- que se caracteriza especialmente por la serie de operaciones siguientes consideradas en conjunto: a) Se oxida la 3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -etil pregnano 11,20-diona a triona correspondiente por los procedimientos conocidos, se la transforma en  
25 derivado 2,4-dibromado por acción del bromo en dioxano o acetato de etilo, se elimina HBr por el par carbonato de litio-bromuro de litio a 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -etil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno 3,11,20-triona, que se reduce a derivado 11 $\beta$ -hidroxilado por acción  
de los borohidruros alcalinos después de bloquear las funciones  
30 cetónicas 3,20 en forma de semicarbazona, se libera por hidró-

254144



lisis pirúvica la 11  $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4}$ -pregna-  
dieno 3,20-diona que se deshidrata por la acción de un cloru-  
ro de ácido mineral u orgánico a 17 $\alpha$ -hidroxi 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4,9}$ ,  
-pregnatrieno 3,20-diona, que se transforma según los procedi-  
5 nientos conocidos, en 11  $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihidroxi 9 $\alpha$ -fluoro 16 $\alpha$ -ne-  
til  $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-3,20-diona, que se suete a la hidroxi-  
lación biológica en 21 por la acción de las diastatas de  
Colletotrichum Linderuthianum.

2º.-Un procedimiento según se reivindica en el punto 1º,  
10 caracterizado porque se opera según el punto 1, pero se oxida  
la 11  $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihidroxi 9 $\alpha$ -fluoro 16 $\alpha$ -metil  $\Delta^{1,4}$ -pregnadi-  
eno 3,20-diona a 3,11,20-triona correspondiente antes de suete-  
terla a la hidroxilación biológica en 21.

3º.- Un procedimiento de preparación de corticosteroides  
15 sustituidos.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede  
y con los fines que se han especificado.

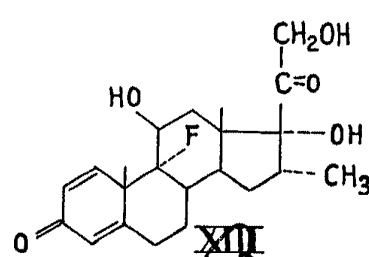
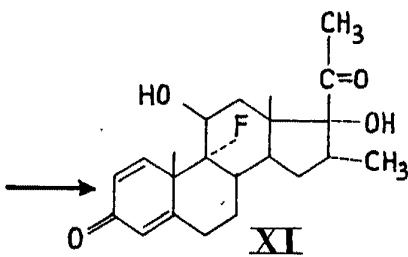
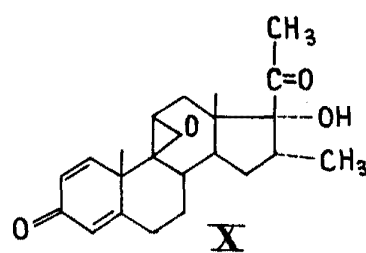
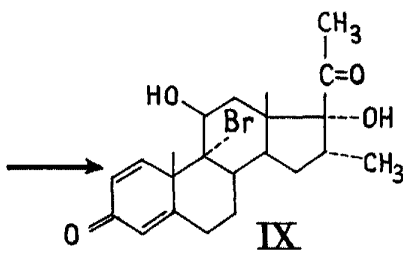
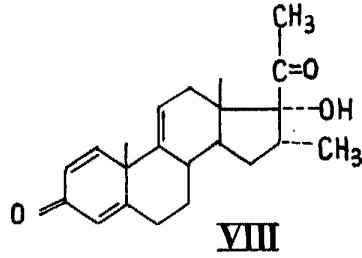
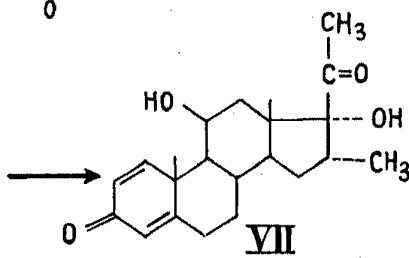
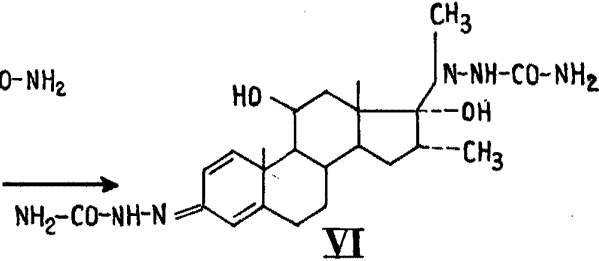
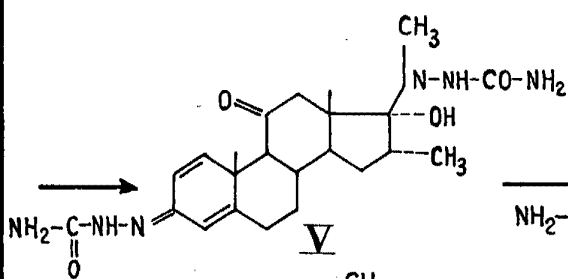
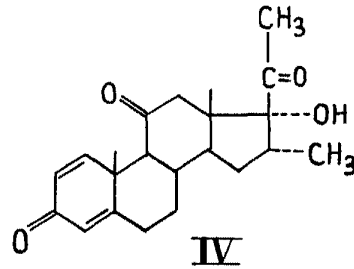
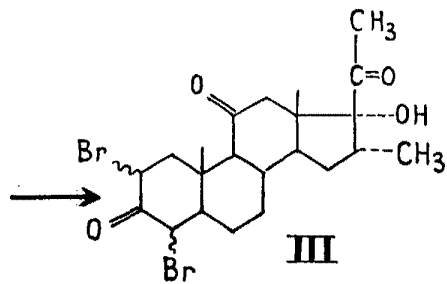
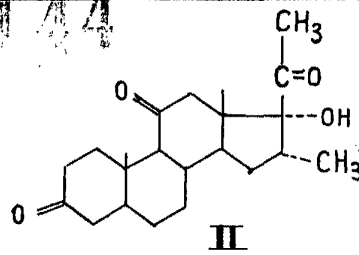
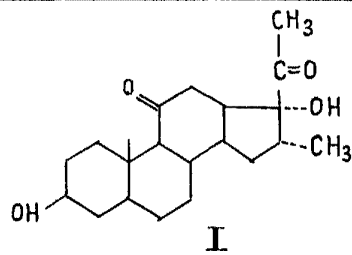
Esta Memoria consta de dieciocho hojas escritas a má-  
quina por una sola cara.

12 DIC. 1959

Madrid,

P.A.  
Alfredo de Lizasoain  
Por. Folio

254144



*W. L.*