



P.- 19.171

US. Serial Nº 788264

254960

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

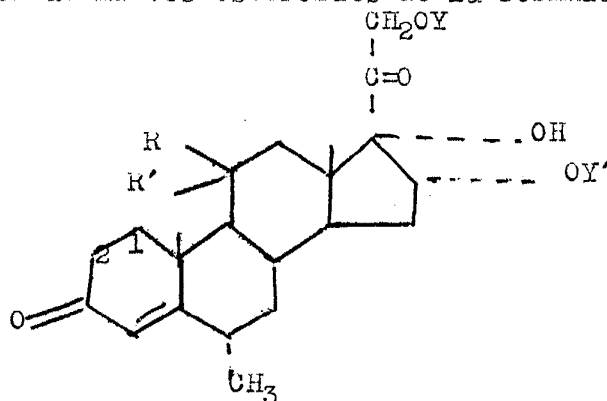
por VEINTE años

a nombre de OLIN MAPHIESON CHEMICAL CORPORATION, entidad norteamericana, establecida en 460 Park Avenue, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América,

por:

" UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION
DE COMPUESTOS ESTEROIDES "

La invención se refiere a la síntesis de esteroides valiosos y, más particularmente, a la preparación de nuevos esteroides de la fórmula general



234960



5 donde la posición 1,2 es saturada ó de doble enlace, R es hidrógeno, R' es hidroxibeta ó R y R' juntos son ceto, e Y e Y' son hidrógeno o ácido, particularmente el radical acilo de un ácido carboxílico hidrocarbonado de menos de 10 átomos de carbono.

10 Estos nuevos esteroides son sustancias fisiológicamente activas que poseen actividad glucocorticoides y anti-inflamatoria.- Así, pues, pueden administrarse en lugar de hidrocortisona y cortisona, y de la misma manera que ellas, por ejemplo, en el tratamiento de artritis reumatoide, para cuyo fin se formulan preferiblemente en preparaciones peroralmente aceptables (p. ej., tabletas). Los esteroides de ésta invención son también útiles como productos intermedios en la preparación de los correspondientes 16,17-acetal y cetal-derivados.

15 Los materiales de partida para los esteroides de ésta invención comprenden:

6 α -metil- Δ^4 -pregneno-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona;
6 α -metil- Δ^4 -pregneno-17 α ,21-diol-3,11,20-triona;
20 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,17 α 21-triol-3,20-diona y 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-17 α ,21-diol-3,11,20-triona.- Para preparar los esteroides de ésta invención, se somete dicho material de partida a la acción de los enzimas de Streptomyces roseochromogenus Waksman No. 3689 (Instituto de Microbiología, Universidad de Rutgers, 25 New Brunswick, New Jersey) en un medio acuoso que contiene una fuente de factores nitrogenados y una fuente asimilable de carbono y energía, en presencia de oxígeno, y se recupera el 16 α -hidroxi esteroide formado.

30 Si el producto deseado es un 16,21-dies-



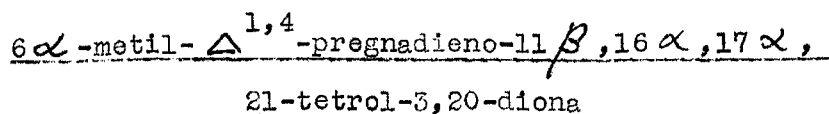
254960

ter, puede acilarse de la manera usual el 16 α , 21-hidroxi
esteroide inicialmente formado.- Así, para preparar los
derivados 21-aciloxi preferidos en los que el radical aci-
lo corresponde al radical acilo de un ácido carboxílico hi-
drocarbonado de menos de 10 átomos de carbono, se emplea có-
mo reaccionante el haluro de acilo ó el anhídrido de ácido
de un ácido alcanoico inferior (p. ej. ácido acético, pro-
piónico y butírico), un ácido arilcarboxílico monocíclico
(p.ej. ácido benzóico y tolúico), un ácido arilalcanoico
inferior monocíclico (p.ej. ácido fenacético y ácido -
fenilpropiónico), un ácido alquenóico inferior, un ácido
cicloalcano carboxílico ó un ácido cicloalqueno carboxí-
lico.

Si se desea un producto 11-ceto esteroide,
puede obtenerse directamente empleando un sustrato esteroi-
de que contiene totalmente grupos ceto en la fermentación,
pero se obtiene preferiblemente a partir del correspondien-
te 11 β -hidroxi esteroide derivado por oxidación con ácido
crómico después de proteger los grupos hidroxilo en posi-
ciones 16 α y 21 por esterificación.- Los grupos ester
pueden hidrolizarse después de la manera usual para dar
el 11-ceto-16 α , 21-dihidroxiderivado, si se desea.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de
la invención (todas las temperaturas se dan en grados cen-
tígrados).

E J E M P L O 1.



a).- FERMENTACION



254560

Cinco matraces, conteniendo cada uno 50 ml.

del siguiente medio esterilizado

A):

- 5 Harina de soja 15 grs.
- Glucosa 10 "
- Aceite de soja 2,2 grs.
- CaCO₃ 2,5 "
- Agua destilada hasta hacer un litro.

10 se inoculan cada uno con 0,4 ml. de una suspensión obteni-
 da añadiendo 5 ml. de Duponal al 0,01% (agente humectante)
 sobre un cultivo de placa inclinada, de una semana, de
Streptomyces roseochromogenus Waksman No. 3689 sobre agar
 de Bennett (extracto de levadura, 1%; extracto de carne de
 buey, 1%; amina NZ A, 2%; glucosa 10%; agar 15%.- Después
 15 de 67 horas de incubación a 25° con agitación mecánica ro-
 tatoria (280 r.p.m., radio 5,08 cm.), se hace un pase de 10%
 (vol./vol.) a 39 matraces de medio estéril de la misma com-
 posición A.- Después de 2 horas de incubación, se añade un
 total de 975 mg. de 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,
 20 17 α , 21-triol-3,20-diona en 39 ml. de solución metanóli-
 ca.- De ésta manera se alcanza una concentración de 0,05%
 de esteroide en el medio de fermentación.- La incubación
 se continúa durante 92 horas.- El contenido de los matra-
 ces se reune, se ajusta a pH desde 8,2 a 3,9 con ácido sul-
 25 fúrico 12 N y se filtra a través de tela y un tampón clari-
 ficador Seitz con succión.- Los matraces de cualquier tor-
 ta de micelio se lavan aproximadamente con 300 ml. de agua.
 El volúmen de filtrado incluyendo los lavados es de unos
 2335 ml.

30 b).- AISLAMIENTO

El filtrado del cultivo y los lavados se



5 extraen con tres porciones de 800 ml. de metilisobutilceto-
na y los extractos reunidos se evaporan a sequedad en vacío.
El residuo se disuelve en alcohol de 95% y los cristales re-
sultantes se separan por filtración.- La recristalización
del mismo disolvente dá 6α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,
16 α ,17 α ,21-tetrol-3,20-diona pura.

E J E M P L O 2.-

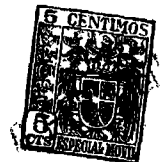
10 6α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,16 α ,17 α -21-
tetrol-3,20-diona 16 α ,21-diacetato.

Sobre una solución de 394 mg. de 6α -metil-
 $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,16 α ,17 α -21-tetrol-3,20-diona en 5
ml. de piridina se añaden 2,5 ml. de anhídrido acético y la
solución resultante se deja a la temperatura ambiente duran-
te 18 horas.- La mezcla se evapora después a sequedad en
vacío y el 16 α ,21-diacetato residual se cristaliza de ace-
tona-hexano.

E J E M P L O 3.-

20 6α -Metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-16 α ,17 α ,21-triol-
3,11,20-triona 16 α ,21-diacetato.

25 Sobre una solución de 40 mg. de 6α -metil
 $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrol-3,20-diona
16 α ,21-diacetato en 5 ml. de acetona se añade a la tempe-
ratura ambiente, agitando, durante un período de una hora,
1 ml. de solución de 200 mg. de ácido crómico y 320 mg. de
ácido sulfúrico en 1 ml. de agua y 9 ml. de acetona.- Des-
pués de añadir unas pocas gotas de alcohol, se añade agua
y se elimina la acetona en vacío.- La suspensión acuosa
30 se extrae con cloroformo, el extracto cloroformico se lava



254660
con agua, con bicarbonato diluido y otra vez con agua, y se seca sobre sulfato sódico.- La evaporación del disolvente en vacío deja un residuo cristalino constituido por 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-16 α ,17 α ,21-triol-3,11,20-triona 16 α ,21-diacetato, que se purifica después por 5
recristalización de acetona-hexano.

EJEMPLO 4.-

10 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-16 α ,17 α ,
21-triol-3,11,20-triona.

Sobre una solución de 50 mg. de 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-16 α ,17 α ,21-triol-3,11,20-triona 16 α ,21-diacetato en 3 ml. de metanol se añade, bajo una 15
capa de nitrógeno, 0,50ml. de una solución al 10% de carbonato potásico, exento de oxígeno, en agua, y la mezcla se deja a la temperatura ambiente durante una hora.- La mezcla se neutraliza añadiendo ácido acético, se añade agua y el metanol se elimina en vacío. El esteroide se extrae con 20
acetato de etilo, el extracto se lava con agua, se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina en vacío. La 6 α -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadieno-16 α ,17 α ,21-triol-3,11,20-triona residual se cristaliza de etanol de 95%.

EJEMPLO 5.-

25 6 α -metil- Δ^4 -pregneno-11 β ,16 α ,17 α ,
21-tetrol-3,20-diona.-

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando 6 α -metil- Δ^4 -pregneno-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona en vez del sustrato esteroide empleado en 30
el ejemplo, se obtiene 6 α -metil- Δ^4 -pregneno-11 β ,16 α ,



17 α , 21-tetrol-3, 20-diona. 254080

La 6 α -metil Δ^4 -pregneno-11 β , 16 α ,
17 α , 21-tetrol-3, 20-diona puede convertirse en el 16 α ,
21-diacetato, después en la 6 α -metil- Δ^4 -pregneno-16 α ,
5 17 α , 21-triol-3, 11, 20-triona 16 α , 21-diacetato y, final-
mente, en la 6 α -metil- Δ^4 -pregneno-16 α , 17 α , 21-triol-
3, 11, 20-triona por los procedimientos de los ejemplos 2, 3
y 4 respectivamente.

Además, si se emplea otro agente de acila-
10 ción, tal como anhídrido propiónico o cloruro de benzóilo,
en lugar del anhídrido acético en el procedimiento del
Ejemplo 2, se obtiene el derivado diester respectivo.

La invención puede variarse de otros modos
incluidos dentro del alcance de las reivindicaciones que
15 figuran a continuación.

Esta solicitud, que corresponde a la pre-
sentada en Estados Unidos de América, el 23 de Enero de
1959, bajo el número 788.264 se acoge a los beneficios del
artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

20

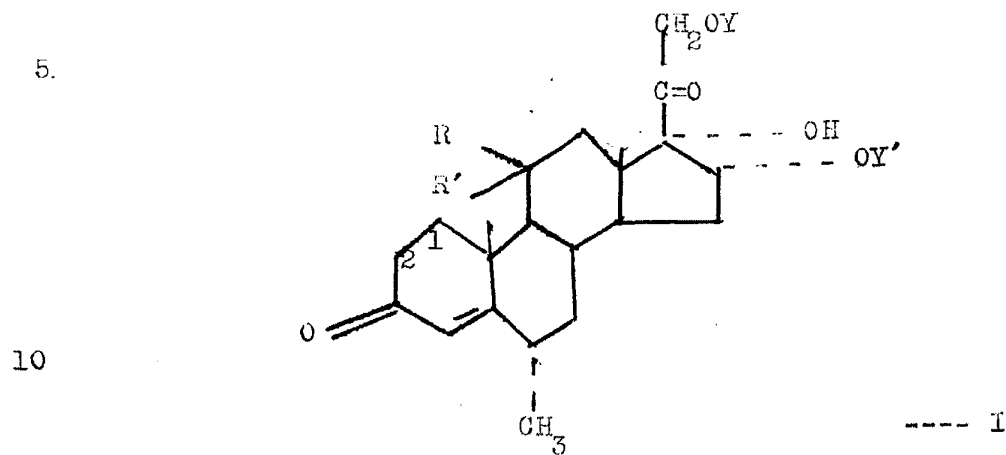
U

25

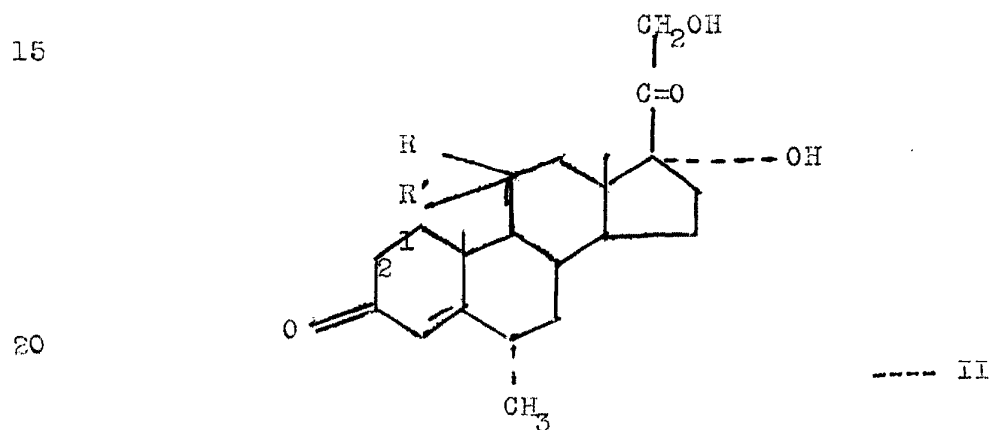
-o-o- M O T A -o-o-

Los puntos de invención propia y nueva que
se presentan para que sean objeto de ésta Patente de Inven-
30 ción en España, por VEINTA años, son los siguientes:

1º.- Un procedimiento para la preparación de compuestos que tienen la fórmula general



en el cual un compuesto de la fórmula general



donde la posición 1,2 está saturada o provista de un doble enlace, R es hidrógeno, R' es beta-hidroxi y, juntos R y R' son ceto, e Y e Y' se eligen cada uno del grupo consistente en hidrógeno y el radical acilo de un ácido carboxílico hidrocarbonado que tenga menos de 10 átomos de carbono se somete a la acción de los enzimas de streptomyces roseochromogenus en un medio acuoso que contiene una fuente de factores nitrogenados, en presencia de oxígeno, acilando, si se desea, el producto formado.

25

30

254960-678



2º.- Un procedimiento según el punto 1º,
en el cual el producto formado se hace reaccionar con halu-
ro de acilo ó anhídrido de ácido de un ácido alcanoico
inferior, un ácido monocíclico aril carboxílico, un ácido
5 alcanoico inferior arílico monocíclico, un ácido alquenoí-
co inferior, un ácido cicloalcano carboxílico ó un ácido
cicloalqueno carboxílico.

3º.- Un procedimiento según los puntos 1º
ó 2º, en el cual en la fórmula II R es hidrógeno y R' es
10 beta-hidroxi y en el cual el producto formado se acila y
luego se oxida con ácido crómico.

4º.- UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN
DE COMPUESTOS ESTEROIDES.

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

Esta Memoria consta de nueve hojas escritas
por una sola de sus caras.

Madrid, 6 FEB. 1960

P. A.

Alfredo del Elzaburo
Mer. Gen.