



280807

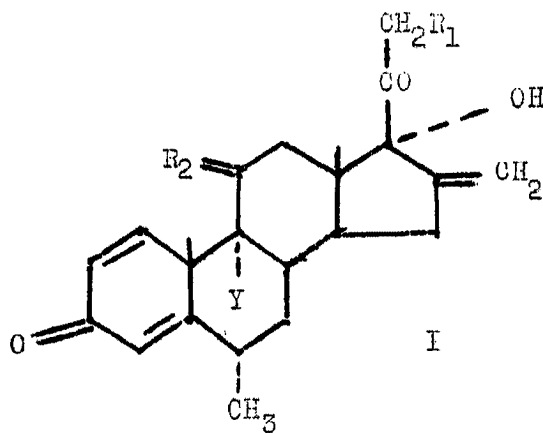
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR 6ALFA-METIL-16-METILEN-
ESTEROIDES" a favor de la firma alemana E. MERCK AKTIEN-
GESELLSCHAFT, residente en DARMSTADT (Alemania).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Se ha descubierto que los 6alfa-metil-16-metilen-
esteroides de la fórmula I





280807

en que

R_1 = grupo hidroxilo libre o esterificado

R_2 = alfaH, betaOH o bien =O e

Y = H o bien F

5. tienen interesantes propiedades glucocorticoides y antiinflamatorias. Los nuevos compuestos sirven en particular de agentes terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades reumáticas y se distinguen por una compatibilidad estomacal sumamente buena, así como por la ausencia de toda retención de sodio.

10. El objeto de este invento es un procedimiento para la obtención de 6alfa-metil-16-metilen-esteroides de la fórmula I, que consiste en deshidrogenar microbiológicamente en posición 1,2 el esteroide fundamental, saturado en posición 1,2, o en introducir en posición 21 un grupo O-acilo en el correspondiente compuesto 21-desoxi, o eventualmente en esterificar un grupo hidroxilo situado en posición 21 o bien saponificar un grupo 21-éster, u oxidar un grupo 11- hidroxil por tratamiento con un oxidante suave, transformándolo en grupo 11-ceto, o, para la preparación de los compuestos en que Y = F, tratar con ácido fluorhídrico el 9beta,11beta-oxido-esteroide fundamental.

15. Para la deshidrogenación microbiológica en 1,2 pueden emplearse todos los microorganismos usuales para ello, por ejemplo microorganismos de los géneros:

25. Alternaria,
Calonectria,
Colletotrichum,
30. Cylindrocarpon,



14

280807

- 5. Didymella,
- Fusarium,
- Ophiobolus,
- Septomyxa,
- Vermicularia,
- Micromonospora,
- Nocardia,
- Streptomyces,
- Aloaligenes,
- 10. Bacillus,
- Corynebacterium,
- Mycobacterium,
- Protaminobacter,
- Pseudomonas.

15. Particularmente aptos son el *Bacillus sphaericus* var. *fusiformis*, el *Corynebacterium simplex* y el *Fusarium solani*.

20. Para la deshidrogenación, el material de partida se agrega a un cultivo sumergido del microorganismo correspondiente, desarrollado en una solución nutritiva apropiada, a temperatura óptima y con aireación intensa, por los métodos corrientes de la técnica de fermentación. En lugar de cultivos en crecimiento son utilizables, con la misma técnica en todo lo demás, también las suspensiones de microorganismos

25. en solución tampón. La transformación se sigue cromatográficamente y la solución fermentativa, después de transformado por completo el material de partida, se extrae, por ejemplo, con cloroformo.

30. La introducción de un grupo O-acilo en la posición 21 de un 21-desoxiesteroide puede efectuarse, por ejemplo,



280807

14 Set

mediante tratamiento con yodo en solución alcalina y reacción consecutiva del 21-yodo-esteroide obtenido con un acetato alcalino, de preferencia con acetato potásico.

Según el invento también es posible esterificar,

5. por métodos ya de sí conocidos, el grupo 21-hidroxilo de un galfa-metil-16-metilen-esteroide de la fórmula I (R_1 = grupo hidroxilo libre). Como agentes de esterificación son utilizables todos los ácidos, o sus derivados aptos para la esterificación, que dan ésteres compatibles fisiológicamente. Pueden emplearse, por ejemplo, los siguientes ácidos o derivados de ellos aptos para la esterificación:
- 10.

- ácidos carboxílicos como

15. el ácido acético
el ácido propiónico,
el ácido butírico,
el ácido trimetilacético,
el ácido terciobutil-acético,
el ácido ciclopentil-propiónico,
20. el ácido fenil-propiónico,
el ácido fenil-acético,
el ácido caprónico
el ácido caprílico,
el ácido palmítico,
25. el ácido undecilénico, y asimismo
el ácido benzoico o
el ácido hexahidrobencico, lo mismo que
- ácidos halogencarboxílicos, como por ejemplo
30. el ácido cloroacético.



280807

14 S

Eventualmente se puede también, para preparar derivados solubles en agua, esterificar el grupo 21-hidroxilo con ácidos dicarboxílicos, ácidos amino- o alquilamino-carboxílicos o ácido fosfórico o sulfúrico. De esta manera pueden obtenerse, por ejemplo: succinatos, oxalatos o las sales de adición de ácido de los ésteres aminocarboxílicos, como por ejemplo el éster asparagínico o el éster dietilaminoacético.

5. Por otra parte, puede saponificarse por los métodos corrientes un grupo 21-éster que se halle en los productos finales. Para agente saponificador es apta, por ejemplo, una solución acuosa de hidrocarbonato sódico, carbonato sódico o hidróxido sódico. De conveniencia la saponificación se realiza con exclusión del oxígeno.

10. La oxidación de un grupo 11alfa- u 11beta-hidroxilo se realiza de manera conocida, por ejemplo mediante tratamiento del 11-hidroxiesteroide correspondiente con anhídrido crómico, en presencia de piridina. Para agente oxidante es apropiada además una mezcla de ácido cromosulfúrico y acetona. Este tipo de reacciones requieren por lo general de 30 minutos a 24 horas. Se actúa con ventaja a temperatura ambiente o con ligera refrigeración. Eventualmente puede añadirse otro disolvente inerte.

15. La preparación de los compuestos 9alfa-flúor de la fórmula I puede efectuarse también por desdoblamiento del anillo 9beta,11beta-oxido del esteroide fundamental. Se actúa ventajosamente en presencia de un disolvente inerte y empleando ácido fluorhídrico anhidro. La reacción se lleva a cabo a temperaturas bajas, más o menos en la zona de -70° a +15° C. El acabado se realiza como de ordinario, es decir, se vierte sobre hielo, por ejemplo, la mezcla reaccional y a continua-



14 SEP

30807

ción se la extrae con un disolvente orgánico apropiado, por ejemplo con un hidrocarburo halogenado. Del extracto desecado se aísla el 9alfa-flúor-11beta-hidroxi-esteroide correspondiente.

5. Los 6alfa-metil-16-metilen-esteroides necesarios para material de partida pueden obtenerse a partir de los 16alfa,17alfa-oxido-16beta-metil-esteroides fundamentales por tratamiento con ácidos fuertes.

10. Los nuevos compuestos pueden utilizarse en la Medicina humana y en Veterinaria mezclados con los vehículos corrientes para medicamentos. En concepto de sustancias portadoras entran en consideración las materias orgánicas o inorgánicas apropiadas para aplicación parentérica, entérica o tópica y que no reaccionan con los nuevos compuestos, como

15. el agua, los aceites vegetales, los polietilenglicoles, las gelatinas, la lactosa, el almidón, el estearato de magnesio, el talco, las vaselinas, la colesteroína, etc. Para la aplicación parentérica sirven sobre todo las soluciones oleosas u acuosas, así como las suspensiones, las emulsiones o los

20. injertos. Para aplicación entérica pueden utilizarse pastillas o grageas; para la aplicación tópica, pomadas o cremas, que pueden estar esterilizadas o bien mezcladas con agentes de conservación, estabilización o humectantes, o con sales para influir en la presión osmótica o sustancias amortiguadoras.

25.

E J E M P L O 1

6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

30. A un cultivo agitado de Bacillus sphaericus de 6



230897

horas de antigüedad, que se ha desarrollado a 28° C en 2000 cc de una solución nutritiva a base de 1 % de basamina Bush, se añaden 700 mg de 6alfa-metil-16-metilen-hidrocortisona o de su 21-acetato en 40 cc de metanol. Al cabo de 24 horas más de agitación a 28° C, se sacude el cultivo por tres veces con el mismo volumen de cloroformo y los extractos, combinados, se evaporan hasta sequedad. Por cromatografía de capa tenue no se percibe ya material de partida: aparece exclusivamente 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona. Punto de fusión, 236-237° C; $(\alpha)_D^{20} +5,3^\circ$ (dioxano); λ_{max} 241 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 393.

5.

10.

EJEMPLO 2.

21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

15.

Se calientan en baño de vapor, durante 2 horas, en 200 cc de anhídrido acético y 200 cc de piridina, 20 g de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona. Se deja enfriar, se agita en 3 litros de agua helada y se separa por filtración el éster que se ha precipitado en forma cristalina. Punto de fusión, 238-239° C; $(\alpha)_D^{20} +18^\circ$ (dioxano); λ_{max} 241 milimicras. $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 351.

20.

EJEMPLO 3.

Clorhidrato del 21-dietilaminoacetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

25.

5 g de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona se disuelven en 110 cc de dioxano absoluto, se mezclan con 1,55 cc de cloruro de cloroacetilo y 2 cc de piridina y se dejan en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Luego se

30.



807 14 SE

vierte en agua la mezcla reaccional, se separa por succión el precipitado y se lava éste con agua.

5. El 21-cloroacetato bruto, una vez seco, se disuelve en 400 cc de acetona y se deja en reposo durante la noche, a 0°, con 55 cc de dietilamina y 4 cc de agua. Concentrando a presión reducida, se separa por cristalización el 21-dietilaminoacetato.

10. 3,6 g de 21-dietilaminoacetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona se disuelven en 85 cc de tetrahidrofurano absoluto y se mezclan con 70 cc de una solución de ácido clorhídrico en cloroformo. El clorhidrato precipitado se separa por succión, se lava con tetrahidrofurano y se seca.

EJEMPLO 4

15. 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisona

20. A un cultivo agitado de *Corynebacterium simplex* de 16 horas de antigüedad que se había hecho crecer en 2000 cc de una solución nutritiva a base de 0,1 % de extracto de levadura a 28° C, se añaden 700 mg de acetato de 6alfa-metil-16-metilen-cortisona en 40 cc de metanol. Se sigue la reacción por vía cromatográfica de capa tenue hasta que ha desaparecido el material de partida y sólo se percibe el acetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisona. Al cabo de 8 horas se sacude el cultivo por tres veces con el mismo volumen de cloroformo, se evaporan los extractos combinados y se purifica con éter de petróleo. Punto de fusión, 195-196° C;

25. $(\alpha)_D + 105^\circ$ (dioxano); λ_{\max} 240 milimicras, $D_{1\%}^{1\text{cm}}$ 343.

280807¹⁴



EJEMPLO 5

6alfa-metil-16-metilen-prednisona

5. En un fermentador pequeño se inoculan con 0,5 litros de cultivo agitado de *Bacillus sphaericus* 15 litros de una solución nutritiva a base de 1 % de extracto de levadura, con pH 6,8. El cultivo se desarrolla con agitación constante y fuerte aireación a 28° C y al cabo de unas 10 horas recibe una adición de 7,5 g de 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-
10. cortisona disueltos en 300 cc de metanol. Se sigue la deshidrogenación por cromatografía de papel y se comprueba su terminación al cabo de 28 a 36 horas. Se extrae la solución de cultivo, por tres veces, con el mismo volumen de cloroformo y se evaporan las soluciones clorofórmicas reunidas. De la
15. acetona cristaliza la 6alfa-metil-16-metilen-prednisona.
- λ_{max} 239,5 milimicras, $\epsilon_{1\%}^{1\text{cm}}$ 378.

EJEMPLO 6

20. Sal sódica del 21-ortofosfato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

25. Se dejan en reposo durante 10 días, en recipiente cerrado, 10 g de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona en 20 cc de piridina absoluta con 9,3 g de cloruro de fosforildimorfolido. Luego se vierte la preparación en la cantidad calculada de ácido sulfúrico diluido y se extrae con cloroformo el 21-dimorfolidofosfato.

30. Se disuelve el residuo clorofórmico en 40 cc de etanol, se mezcla con agua hasta la primera turbidez



280807

constante y, después de añadir 110 g de Amberlite IR-120, se agita durante 36 horas. Se separa por filtración, se lava el cambiador con etanol, se neutraliza el filtrado con lejía sódica y se concentra fuertemente a presión reducida. Se deja

5. enfriar, se extraen con cloroformo todas las porciones neutras, se acidifica luego la fase acuosa con ácido sulfúrico diluido y se extrae con n-butanol. El extracto se seca con sulfato sódico, se neutraliza con metilato sódico y se concentra un poco. Al enfriar cristaliza la sal sódica. Se separa ésta por filtración, se la extrae en caliente con metanol, se mezcla el extracto con butanol y se concentra fuertemente, con lo que se precipita la sal sódica pura.

10.

15. EJEMPLO 7

6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-prednisolona

En un fermentador pequeño se inoculan con 800 cc de cultivo sumergido de *Corynebacterium simplex* 12 litros de una solución nutritiva a base de 0,1 % de basamina Bush, amortiguada a pH 6,8 con fosfato Sörensen. El cultivo se desarrolla con intensa aireación y agitación a 28° C y al cabo de 6 horas recibe una adición de 6 g de 6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-hidrocortisona en 200 cc de metanol. Durante la

20. ulterior aireación a 28° C se sigue la reacción mediante cromatografía de capa tenue. Al cabo de 9 horas no se percibe ya más material de partida. Se extrae la solución de cultivo, por tres veces, con el mismo volumen de cloroformo, se evaporan los extractos hasta sequedad y se purifica con

25. éter de petróleo. Después de recrystalizar, quedan 3,9 g de

30.

25.

30.



280807¹⁴

6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-prednisolona pura. λ_{max}
239 milimicras, n_D^{20} 1.360.
1 cm

E J E M P L O 8

5.

6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-prednisona.

En un fermentador pequeño se inoculan con 800 cc de cultivo sumergido de Bacillus sphaericus 12 litros de una solución nutritiva a base de 1 % de basamina Busch, de pH 6,5.

10.

El cultivo se desarrolla con intensa aireación y agitación a 28° C y al cabo de 10 horas recibe una adición de 6 g de 6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-cortisona en 200 cc de metanol. La reacción se sigue por cromatografía de capa tenue durante la ulterior aireación a 28° C. Al cabo de 26 ho-

15.

ras no puede percibirse ya material de partida. Se extrae la solución de cultivo, por tres veces, con el mismo volumen de cloroformo, se concentran los extractos hasta sequedad y se purifica con éter de petróleo. Después de la recristalización quedan 4,2 g de 6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-meti-

20.

len-prednisona pura. λ_{max} 238 milimicras, n_D^{20} 1.352.
1 cm

E J E M P L O 9

21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

25.

En 30 cc de metanol que contienen 0,6 g de cloruro de calcio anhidro se suspenden 6 g de 6alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-3,20-dion-11beta,17alfa-diol y se tratan con 3 g de óxido de calcio. En el curso de 30 minutos y agitando se instila una solución de 9 g de yodo en 30 cc de metanol, que también contiene 0,6 g de cloruro de calcio

30.



80807

14

anhidro, mientras se mantiene la temperatura a 25-28° C.

Se prosigue la agitación durante 30 minutos más, se enfría hasta 0° C y se vierte en una mezcla de 150 cc de agua helada y 4,5 cc de ácido acético glacial.

5. Se separa por succión el yoduro precipitado, se le lava con agua y se le seca a 50° C.

Luego se le disuelve a 40° C en 100 cc de acetona que contiene 1 cc de agua, 0,5 cc de ácido acético glacial y 20 g de acetato potásico, se calienta durante 2 horas en re-

10. flujo, hasta ebullición, y se introduce la mezcla, agitando, en 1,5 litros de agua helada. Se separa por succión y se lava con 200 cc de agua. El material, húmedo, se disuelve en calien-

te en 120 cc de metanol y, después de añadirle una solución de 3,1 g de piro-sulfito sódico en 45 cc de agua, se calienta durante 2 horas en reflujo, hasta ebullición. A continuación se separan por destilación 35 cc, con lo que cristaliza el 21-acetato. Punto de fusión, 238-239° C; $(n)_D^{20} + 18^\circ$ (dioxano);

15. λ_{\max} 241 milimicras, $n_D^{20} 1,5135$

20. E J E M P L O 10

6alfa-metil-16-metilen-prednisolona

7,9 g de 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-prednisolona se disuelven en 250 cc de metanol hirviente,

25. se mezclan con una solución caliente de 2,18 g de hidrocabonato sódico en 34 cc de agua y se calientan en reflujo hasta ebullición, durante 15 minutos, en corriente de nitrógeno. Se neutraliza con ácido acético glacial, se concentra hasta un tercio bajo presión reducida y se vierte en agua,

30. con lo que se precipita el producto en forma cristalina.

28087



Punto de fusión, 236-237° C; $(\alpha)_D +5,3^\circ$ (dioxano); λ_{max} 241 milimicras, $\frac{1}{1 \text{ cm}}$ 393.

E J E M P L O 11

5.

21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona

- 2 g de acetato de 6-alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-3,20-dion-11beta,17alfa,21-triol se disuelven en 70 cc de acetona y se tratan gota a gota, a 10° C y en agitación, con 1,5 cc de solución oxidadora. La solución oxidadora se prepara por disolución de 5 g de trióxido de cromo en 4,4 cc de ácido sulfúrico concentrado y completación con agua hasta 20 cc. Se agita la preparación oxidadora durante 30 minutos, a temperatura ambiente, y se acaba la elaboración con cloroformo y agua, como de ordinario. La solución clorofórmica, lavada hasta neutralidad y secada, se destila hasta sequedad bajo presión reducida. Se obtienen 1,7 g de 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona. Punto de fusión, 195-196° C; $(\alpha)_D +105^\circ$ (dioxano); λ_{max} 240 milimicras, $\frac{1}{1 \text{ cc}}$ 343.

E J E M P L O 12

25.

21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona

- A 150 cc de piridina enfriada se agregan 1,5 g de anhídrido crómico. Agitando, se añade a temperatura ambiente una solución de 2,5 g de 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-

30.



280807

- 1,4-pregnadien-3,20-dion-11alfa,17alfa,21-triol en 200 cc de piridina y se deja la mezcla en reposo a temperatura ambiente durante 20 horas. Luego se vierte en 500 cc de agua, se destila durante 30 minutos con vapor de agua y se extrae con cloroformo. El extracto se lava con agua, se seca y se libera del disolvente. Se obtienen 1,9 g de 21-acetato de 6alfa-metil-16-metilen-1,4-pregnadien-17alfa,21-diol-3, 11,20-triona. Punto de fusión, 195-196° C; $(\alpha)_D +105^\circ$ (dioxano); $\lambda_{\max} 242-244$ milimicras, $n_D^{20} 1.5343$.

10.

EJEMPLO 13

21-acetato de 6alfa-metil-9alfa-fluoro-
16-metilen-prednisolona

15.

Se disuelven en 42 cc de cloroformo absoluto 4,2 g de 21-acetato de 6alfa-metil-9beta,11beta-oxido-16-metilen-1,4-pregnadien-17alfa,21-diol-5,20-diona y se añaden, a -60° C, a 25 cc de una mezcla de 40 cc de tetrahidrofurano, 15 cc de cloroformo y 25 g de ácido fluorhídrico. Se deja en

20.

reposo la solución reaccional durante 4 horas, a -30° C, y luego se la vierte en solución de hidrocarbonato sódico, se extrae el esteroide con cloroformo, se seca la solución cloroformica y se concentra. El residuo, que es el 21-acetato de 6alfa-metil-9alfa-fluoro-16-metilen-prednisolona, es re-

25.

cristalizado en acetona. $\lambda_{\max} 238$ milimicras, $n_D^{20} 1.5332$.



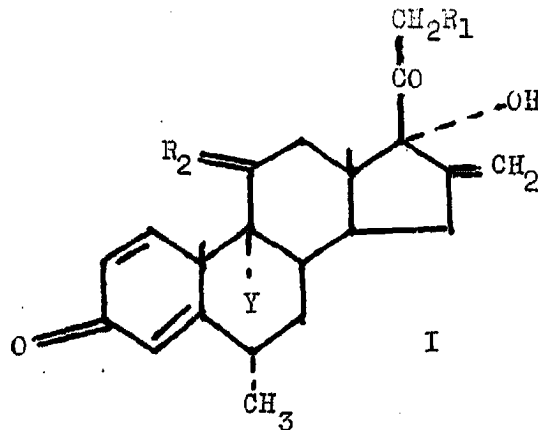
28 807

NOTA

5. Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas las siguientes reivindicaciones, con prioridad de las solicitudes de patentes alemanas números 50307 y 50308 del 15-9-61 y 50353 del 21-9-61, existiendo en ellas unidad de invención.

Procedimiento para preparar 6alfa-metil-16-metil-
len-esteroides de la fórmula I

10.



en que

20.

- R_1 = grupo hidroxilo libre o esterificado
- R_2 = alfaH, betaOH o bien =O e
- Y = H o F,

25.

caracterizado por el hecho de que el esteroide fundamental, saturado en posición 1,2, se deshidrogena en la posición 1,2 por vía microbiológica, o bien se introduce en el compuesto 21-desoxi correspondiente un grupo O-cilo en la

280807

14 S



5. posición 21, o eventualmente se esterifica un grupo hidroxilo situado en la posición 21, o respectivamente se saponifica un grupo 21-éster, o bien se oxida un grupo 11-hidroxilo, por tratamiento con un oxidante suave, para convertirlo en grupo 11-ceto, o bien, para la preparación de compuestos en los que Y = F, se trata con ácido fluorhídrico el 9beta,11beta-oxido-esteroide fundamental.

10. Procedimiento para preparar 6alfa-metil-16-metil-16-esteroides.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 16 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 14 de Septiembre de 1.962.

B. MERCK AKTIENGESELLSCHAFT

p.a.

JAIMÉ ISEERN MIRALLES
P.F.