



282576

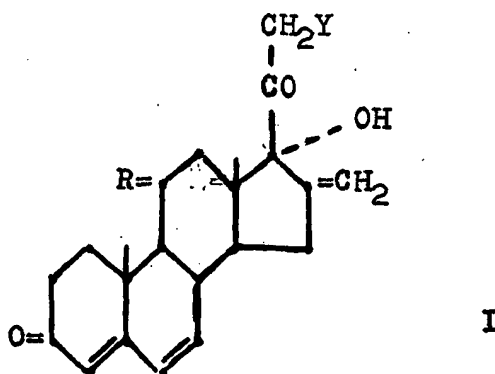
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR 16-METILEN-3-CETO-ESTEROIDES
INSATURADOS", a favor de la firma alemana E. MERCK, A.G.,
domiciliada en DARMSTADT (Alemania).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Se ha descubierto que los 16-metilen-3-ceto-esteroi-
des insaturados de la fórmula I



10. en que



576

R = alfaH, betaOH o bien =O e

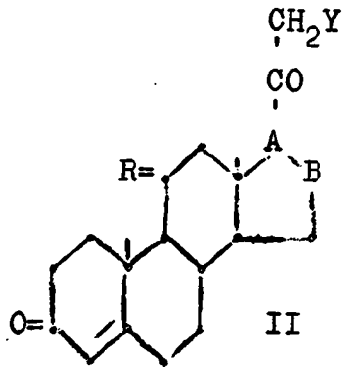
Y = grupo hidroxilo libre o esterificado,

así como sus derivados 1-dehidro, poseen excelentes propiedades corticoides. Sorprendentemente, estos compuestos,

5. en contra de los conocimientos que hasta ahora se tenían, actúan más intensamente que los 16-metilen-esteroides de análoga estructura saturados en posición 6,7.

10. El objeto de este invento es por lo tanto un procedimiento para preparar 16-metilen-3-ceto-esteroides insaturados de la fórmula I, el cual consiste en hacer reaccionar con cloranilo un compuesto de la fórmula II

15.

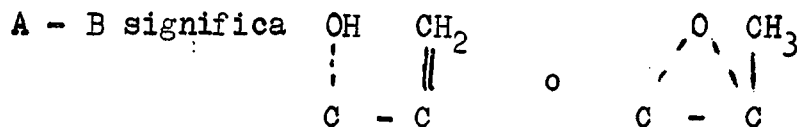


20.

en que

25.

Y y R tienen el significado expuesto antes, y



= 3 =



282576

5. y, para preparar los correspondientes derivados 1-déhidro, introducir adicionalmente en posición 1,2 un enlace doble, por tratamiento con 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona o con microorganismos deshidrogenantes en posición 1,2.

10. La deshidrogenación en 6 de un compuesto de la fórmula II con cloranilo se realiza ventajosamente en presencia de un disolvente inerte, como el benceno, el tolueno, el xileno, el cloroformo, el cloruro de metileno, la acetona, el metanol, el etanol, el dioxano, el éster etílico del ácido acético, el butanol terciario, el tetrahidrofurano o el ácido acético glacial. De conveniencia se opera en caliente, eventualmente a la temperatura de ebullición del disolvente empleado. El cloranilo se suele emplear en la proporción molecular de 1:1. El exceso no es perjudicial. De ordinario la reacción se termina al cabo de algunas horas. Si como material de partida se emplea un compuesto de la fórmula II que posee en posición 16 un grupo metilo y un anillo 16alfa,17alfa-oxídico, no sólo se produce una deshidrogenación en la posición 6, sino que sorprendentemente se disocia al mismo tiempo el anillo oxídico con formación del grupo 17alfa-hidroxi y del grupo 16-metile-
15.
20.
25. no.

De conveniencia se utilizan para esta reacción compuestos de la fórmula II en que Y representa un grupo hidroxilo esterificado. Después de la deshidrogenación en 6,

17 NOV. 19



282576

los ésteres así obtenidos pueden, como es lógico, convertirse en los 21-alcoholes por saponificación según los métodos normales corrientes, por ejemplo mediante un tratamiento con una solución acuosa de hidrocarbonato sódico, carbonato sódico e hidróxido sódico.

5.

Los compuestos de las fórmulas I o II en que Y significa un grupo OH esterificado son ésteres fisiológicamente compatibles, que se derivan, por ejemplo, de los ácidos siguientes: ácidos carboxílicos como el ácido acético, el propiónico, el butírico, el trimetilacético, el ciclopentilpropiónico, el fenilpropiónico, el fenilacético, el caprónico, el caprílico, el palmítico, el undecilénico, el benzoico, el hexahidrobenczoico, el cloroacético, el fosfórico, el sulfúrico, el succínico, el oxálico o el dietilaminoacético.

10.

15.

Para la deshidrogenación en 1,2 de un esteroide de la fórmula I pueden emplearse todos los microorganismos usuales hasta el día, por ejemplo los de los géneros *Alternaria*, *Didymella*, *Calonectria*, *Colletotrichum*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Ophiobolus*, *Septomyxa*, *Vernicularia*; *Acetobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus* (en particular, el *Bacillus sphaericus*), *Corynebacterium* (en particular, el *Corynebacterium simplex*), *Erysipelothrix*, *Listeria*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Protaminobacter*, *Pseudomonas* y

20.

25.



17 2576

- Streptomyces. La fermentación requiere alrededor de 4 a 40 horas, según el microorganismo que se emplea. Sumamente aptos son los cultivos de *Bacillus sphaericus* var. fusiformis y *Corynebacterium simplex*. Para la deshidrogenación,
5. se somete el material de partida a un cultivo sumergido del microorganismo correspondiente, que se desarrolla en una solución nutritiva apropiada, a temperatura óptima y con aireación intensa, según los métodos corrientes de la técnica de la fermentación. En lugar de cultivos en crecimiento, son también utilizables, con la misma técnica en todo lo demás, las suspensiones de los microorganismos en solución tampón. La reacción se sigue cromatográficamente y la solución fermentativa se extrae, por ejemplo
10. con cloroformo, después de transformado por completo el material de partida.
- 15.
- Según el invento, la deshidrogenación en 1,2 de un esteroide de la fórmula I puede efectuarse además por vía química, mediante tratamiento con 2,3-dicloro-5,6-diciano-
20. -p-benzoquinona. Para ello se actúa de conveniencia en presencia de un disolvente con punto de ebullición de 30 a 150°C aproximadamente. En concepto de disolventes son
25. apropiados, por ejemplo: el etanol, el butanol, el butanol terciario, el éster metílico del ácido tercibutilacético, el éster butílico del ácido acético, el dioxano, el ácido acético glacial, el benceno, el tetrahidrofurano, la acetona, etc.

17 NOV. 1966



= 6 =

282576

Es ventajoso agregar a la mezcla reaccional pequeñas cantidades de nitrobenzeno. Los tiempos de reacción son de 5 a 48 horas, según el disolvente y el esteroide de partida que se utilicen. De conveniencia, la reacción se realiza a la temperatura de ebullición del disolvente empleado.

5. Para las reacciones microbiológicas, los compuestos de la fórmula I se emplean casi siempre en forma de 21-alcoholes, pero a veces también en forma de 21-ésteres, mientras que para realizar la deshidrogenación con 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona se utilizan de conveniencia los 21-ésteres.

10. En la patente norteamericana 2.865.808 se describen ya mediante fórmula 16-metilenesteroides que están englobados en la fórmula general I. Pero en esta patente norteamericana no se indican constantes físicas de ninguna clase ni para los productos intermedios ni para los productos finales. Además se ha comprobado, al investigar el procedimiento allí expuesto, que diversos ejemplos no son reproducibles. Así, verbigracia, la eliminación reductiva del átomo 9-alfa-bromo prescrita para preparar el 16-metilen-esteroide insustituído en posición 9, no proporciona los productos finales indicados. Por otra parte, la deshidrogenación en 1,2 con dióxido de selenio allí indicada no puede realizarse en los 16-metilen-esteroides. Por lo tanto, estos compuestos no pueden prepararse



282576

en absoluto según el procedimiento descrito en la patente norteamericana 2.865.808. En esta situación, no pueden valer como conocidos.

5. Los nuevos compuestos pueden utilizarse en la medicina humana o veterinaria en mezcla con los vehículos ordinarios para medicamentos. Como sustancias vehiculares entran en consideración las materias orgánicas o inorgánicas aptas para aplicación parentérica, entérica o tópica,
10. como por ejemplo el agua, los aceites vegetales, los polietilenglicoles, la gelatina, la lactosa, el almidón, el estearato de magnesio, el talco, la vaselina, la coles-terina, etc. Para la aplicación parentérica sirven en
15. particular las soluciones, de preferencia soluciones oleosas o acuosas, así como las suspensiones, las emulsio-nes o los implantados. Para la aplicación entérica pueden emplearse además comprimidos o grageas, y para el empleo
20. tópico, pomadas o cremas, que eventualmente pueden estar esterilizadas o mezcladas con sustancias auxiliares, como agentes de conservación, de estabilización o de humecta-ción, sales para influir la presión osmótica o sustancias amortiguadoras.
25. Siempre que los productos finales de este invento se apliquen en formas de confección sólidas, las dosis in-dividuales son de 0,3 a 5 mg. Para la aplicación de solucio

282576



nes inyectables se utilizan dosis individuales de 5 a 25 mg.

282576

EJEMPLO 1.

5. a) Se hierven en reflujo durante 7 horas, con 335 cc de butanol terciario y 5,9 g de cloranilo, 8,5 g de 21-acetato de 16-metilen-4-pregnen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona. Se concentra la mezcla reaccional hasta un volumen de 100 cc, se la mezcla con 380 cc de agua y se la extrae a fondo con cloroformo. Los extractos clorofórmicos reunidos
10. se sacuden con solución de hidróxido sódico (2-n) enfriada con hielo, se lavan con agua hasta neutralidad y se concentran bajo presión reducida. El residuo se cristaliza del éster acético, con lo que se obtiene el 21-acetato de 16-metilen-4,6-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona en
15. forma de cristales incoloros. Punto de fusión, 222°C; (alfa_D²⁴ en cloroformo = + 91°. lamda_{max} 282 milimicras, épsilon = 27.000.

20. El acetato puede saponificarse por los métodos corrientes, formando así 16-metilen-4,6-pregnadien-11beta, 17alfa,21-triol-3,20-diona. Punto de fusión, 234-236°C; (alfa_D²⁴ + 88° (dioxano); lamda_{max} 282 milimicras, épsilon = 26.200)°.

b₁) Se hierven en reflujo durante 20 horas, en 75 cc de dioxano, 5 g de 21-acetato de 16-metilen-4,6-pregnadien-



282576

- 11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona con 4,8 g de 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona. Luego se diluye con cloroformo la mezcla reaccional y se la sacude consecutivamente con agua, con solución diluida de hidróxido sódico y otra vez con agua. La solución clorofórmica se seca y se concentra. Del residuo cristaliza el 21-acetato de 16-metilen-1,4,6-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, que se puede purificar por recristalización del metanol. λ_{max} 221, 254, 298 milimicras, $\epsilonpsilon = 15.820, 11.550, 14.750$; punto de fusión, 223°C; $(\alpha)_D^{24} + 33^\circ$ (dioxano).
5. b₂) Un fermentador de 10 litros, con una solución nutritiva a base de 0,1% de basamina Bush que se ha neutralizado a pH 6,8 con solución tampón de fosfato Sørensen, se inocula con 500 cc de un cultivo sacudido de *Corynebacterium simplex*. Se deja que el cultivo se desarrolle a 28°C y al cabo de 5 horas se añaden 5 g de 16-metilen-4,6-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona en 200 cc de metanol. La cromatografía en capa tenue no revela al cabo de 14 horas nada del material de partida. Entonces se sacude la solución de cultivo, por tres veces, con 10 litros de cloroformo cada vez. Los extractos reunidos se concentran y el residuo se recristaliza del éster acético. Se obtiene así 16-metilen-1,4,6-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona pura. λ_{max} 220,5, 253, 298 milimicras, $\epsilonpsilon = 13.600, 10400, 13400$; punto de fusión, 223°C; $(\alpha)_D -4^\circ$ (dioxano).
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



E J E M P L O 2.

282573

De manera análoga a la del ejemplo 1 a), se obtiene a partir del 21-tercibutilacetato de 16-metilen-4-

5. -pregnen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona el correspondiente 4,6-pregnadieno. Punto de fusión, 207°C; $(\alpha)_D^{24} + 74^\circ$ (cloroformo); λ_{\max}^{282} milimicras, $\epsilon = 25450$.

10. E J E M P L O 3.

a) 3 g de 21-acetato de 16-metilen-4-pregnen-17alfa, 21-diol-3,11,20-triona se disuelven en 90 cc de dioxano y se hierven en reflujo durante 7 horas con 2,1 g de clora-

15. nilo. La solución, de color pardo claro, se vierte, después del enfriamiento, en agua y se sacude con cloroformo. La solución clorofórmica se lava primeramente con agua, luego con 210 cc de solución n/10 de hidróxido sódico y por
20. último otra vez con agua, se seca con sulfato sódico y se concentra. Del metanol cristaliza el 21-acetato de 16-metilen-4,6-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona. Punto de fusión, 225-226°C; $(\alpha)_D^{24} + 198^\circ$ (cloroformo); $\lambda_{\max}^{280,5}$ milimicras, $\epsilon = 25400$.

25.

Por saponificación ordinaria se sintetiza a partir de este producto el 16-metilen-4,6-pregnadien-3,11,20-trion-17alfa,21-diol. Punto de fusión, 201-202°C; $(\alpha)_D^{24} + 180^\circ$ (cloroformo); $\lambda_{\max}^{280,5}$ milimicras, $\epsilon = 25800$.

30.

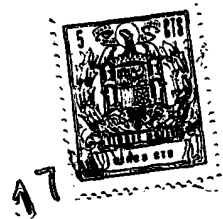


282576

- b₁) De manera análoga a la del ejemplo 1 b₁), se deshidrogenan 3,5 g de 21-acetato de 16-metilen-4,6-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona por reacción con 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona, convirtiéndolo en
5. 21-acetato de 16-metilen-1,4,6-pregnatrien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona. Punto de fusión, 226-227°C; (alfa)_D²⁴ +184° (cloroformo); λ_{\max} 221, 254, 298 milimicras, ϵ psilon = 10 830, 10 500, 13 950.
10. b₂) Un fermentador de 10 litros, con una solución nutritiva a base de 1% de basamina Bush, de pH 6,5, se inocula con 500 cc de un cultivo sacudido de Bacillus sphaericus. Se deja que el cultivo se desarrolle a 28° y
15. al cabo de 8 horas se añaden 5 g de 16-metilen-4,6-pregnadien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona o de su 21-acetato, en 200 cc de metanol. La reacción se vigila por cromatografía en capa tenue y está terminada al cabo de 22 horas. Se sacude por tres veces la solución de cultivo con 8 litros
20. de cloroformo cada vez y el residuo que se obtiene del extracto concentrado se recristaliza en éster acético. Se obtiene 16-metilen-1,4,6-pregnatrien-17alfa,21-diol-3,11,20-triona pura. Punto de fusión, 219-223°C; (alfa)_D²⁴ + 163°
25. (cloroformo); λ_{\max} 221, 254, 298 milimicras, ϵ psilon = 11500, 10500, 13400.

E J E M P L O 4.

Después de añadirle 1,58 g de cloranilo, la solución de 2 g de 21-acetato de 16beta-metil-16alfa,17alfa-



282576

- oxido-4-pregnen-11beta,21-diol-3,20-diona en 60 cc de tetrahydrofurano se calienta 12 horas en reflujo. A continuación la mezcla reaccional se diluye con agua y se extrae con cloroformo. Los extractos se lavan con solución diluida de hidróxido sódico y luego con agua y se seca. De los extractos concentrados cristaliza con metanol el 21-acetato de 16-metilen-4,6-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona. Punto de fusión, 222°C; $(\alpha)_D^{20} +91^\circ$ (cloroformo);
- 5.
10. λ_{\max} 282 milimicras, $\epsilon = 27000$.

282576



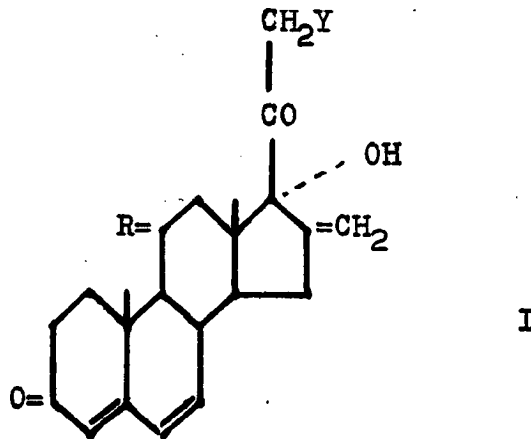
N O T A

282576

5. Descrito el invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de las demandas de patentes alemanas Nº M 50.922 del 18 de noviembre de 1.961 y Nº M 50.923 del 18 de noviembre de 1.961, existiendo en ambas unidad de invención.

1. Procedimiento para preparar 16-metilen-3-ceto-
-esteroides insaturados de la fórmula I

10.



15.

en la que

20.

Y = grupo OH libre o esterificado, y

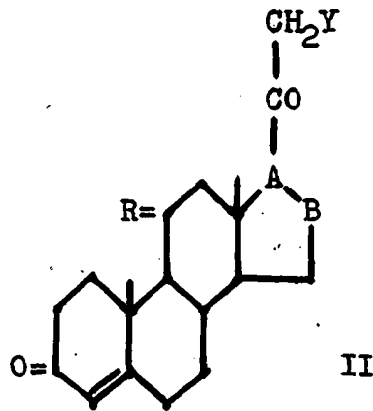
R = alfa-H, beta-OH o =O,

25.

y sus derivados 1-dehidro, caracterizado por el hecho de que se hace reaccionar con cloranilo un compuesto de la fórmula II



5.

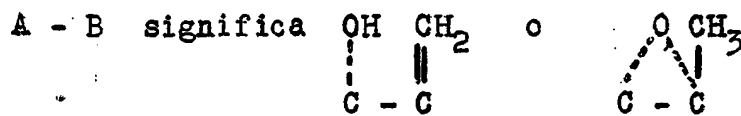


282576

10.

en la que

Y y R tienen el significado expuesto antes, y



15.

y, para preparar los correspondientes derivados 1-dehidro, se introduce un enlace doble en posición 1,2 por tratamiento con 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona o con microorganismos dehidrogenantes en posición 1,2.

20.

2. Procedimiento para preparar 16-metilen-3-ceto-esteroides insaturados.

Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de 14 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

25.

Madrid, a 17 de noviembre de 1.962.

E. MERCK A.G.

p. a.

JAI ME ISE RN BIR ALLES

P. R.