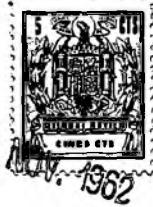


23



282759

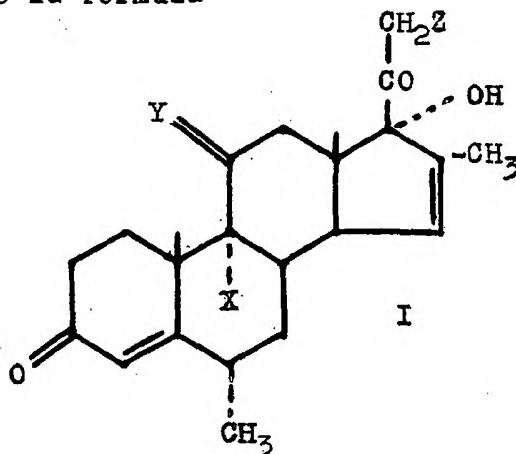
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 6,16-DIMETIL-15-
-DEHIDRO-ESTEROIDES", a favor de la firma alemana E. MERCK
A.G., domiciliada en DARMSTADT (Alemania).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Se ha descubierto que los 6,16-dimetil-15-dehidro-
esteroides de la fórmula



10. en la que significan



282759

X = H o F

Y = alfa H, beta OH o = O

Z = grupo hidroxil libre o esterificado, así como sus derivados Δ^1 , Δ^6 y $\Delta^{1,6}$ poseen excelentes propiedades antiinflamatorias.

5.

Los nuevos compuestos pueden prepararse según procedimiento de por sí conocido en la química de esteroides. Una materia de partida adecuada es, por ejemplo la 6,16-dimetil-16-alfa, 17-alfa-oxido-progesterona, descrita en J. Chem. Soc.

10.

1.961 página 2821, de la cual pueden prepararse los compuestos de la fórmula I mediante una serie de reacciones, que pueden efectuarse en forma sucesiva en casi cualquier sucesión.

15.

Así por ejemplo, puede desdoblarse en forma de por sí conocida la 6,16-dimetil-16 alfa, 17 alfa-oxido-progesterona para llegar a la 6,16-dimetil-15-dehidro-17 alfa-hidroxi-progesterona. El compuesto 15-dehidro así obtenido puede hidroxilarse seguidamente en la posición 11 de un modo de por sí conocido o deshidrogenarse en la posición 1 y/o 6.

20.

La sucesión de estas reacciones pueden ser cualquiera y puede variarse, pero en general se efectúa la deshidrogenación en 1,2 como última fase de reacción. La transformación de un producto intermedio así obtenido en el correspondiente compuesto 21-hidroxi o bien 21-O-acilo se efectúa asimismo sobre cualquier fase de reacción y es especialmente ventajoso cuando se lleva a cabo sobre el 21-yodoesteroide correspondiente.

25.

De los productos 11-hidroxilados pueden prepararse además según una forma de por sí conocida los correspondientes derivados 2-alfa-flúor. El grupo 11-hidroxi de un producto intermedio o de un producto acabado puede además ser oxidado en cualquier fase de reacción para formar el grupo 11-ceto.

30.



282759

Además - y convenientemente en los productos acabados se pueden saponificarse en posición 21 los grupos 21-acilo presentes, de acuerdo con métodos standard o bien se pueden esterificar los grupos 21-hidroxílico de acuerdo con cualquier procedimiento usual para ello.

5.

Los diversos procedimientos se describen a continuación:

a) Desdoblamiento del 16 alfa, 17 alfa-epóxido:

10.

El desdoblamiento se efectúa mediante un tratamiento de un 16 beta-metil-16alfa, 17 alfa-oxido-esteroide con un ácido en presencia de agua y un disolvente miscible con agua. Como ácidos pueden emplearse, por ejemplo ácido perclórico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fluorhídrico, ácido sulfúrico, y otros ácidos muy fuertes. Como disolventes entran en consideración, por ejemplo, acetona, tetrahidrofurano, metanol, etanol, aceto-nitrilo, dimetilformamida, dioxano o ácido acético gacial. El desdoblamiento se efectúa ventajosamente dentro de una temperatura de 0 hasta 100°C. En general la reacción requiere aproximadamente desde 30 minutos hasta 24 horas, según el esteroide de partida, la clase de ácido y disolvente utilizados. En muchos casos es suficiente, dejar la mezcla de reacción a temperatura ambiente.

15.

20.

b). 11-Hidroxilación

25.

La 11-hidroxilación se efectúa microbiológicamente. Pueden introducirse todos los microorganismos utilizados usualmente para tales reacciones. Para la 11 beta-hidroxilación son especialmente adecuadas, por ejemplo microorganismos de los géneros:

Absidia,

30.

Coniothyrium,

Cunninghamella,



32759

Curvularia,
Mucor,
Stachylidium,
Streptomyces,

5. Para la 11 alfa-hidroxiación son adecuados por ejemplo microorganismos de las series,

Absidia,
Aspergillus,
Coryneum,

10. Fusarium,
Glomerella,
Metarrhizium,
Mucor

(y otras series de la clase de los Mucorales), Penicillium y

15. Rhizopus.

La fermentación se efectúa según los métodos usuales y requiere aproximadamente de 10 horas hasta 48 horas. El 11-hidroxi-esteroide originado se extrae de la mezcla de reacción mediante extracción con un disolvente adecuado, por ejemplo con cloroformo o cloruro de metileno.

20.

e). 1-Deshidrogenación

La 1-deshidrogenación puede efectuarse por vía química o microbiológica en cualquier fase de reacción. Como agente químico de deshidrogenación es, por ejemplo adecuada la 2,3-dicloro-5,6-dicianbenzoquinona. La reacción se efectúa convenientemente en presencia de un disolvente con un punto de ebullición entre 30 y 150°C. Como disolventes son adecuados por ejemplo:

25.

etanol,

30.

butanol,

tercibutanol,



282759

metiléster tercibutilacético,

metiléster acético,

dioxano,

ácido acético glacial,

5. benceno,

tetrahidrofurano,

acetona, etc.

Es ventajoso añadir a la mezcla de reacción pequeñas dosis de nitrobenceno.

10.

Los tiempos de reacción son entre 5 y 48 horas. Es conveniente efectuar la reacción a la temperatura de ebullición del disolvente utilizado.

Para la 1,2-deshidrogenación microbiológica pueden emplearse microorganismos, que pertenecen por ejemplo a los géneros siguientes:

15.

Alternaria,

Calonectria,

Colletotrichum,

Cylindrocarpon,

20.

Didymella,

Fusarium,

Ophiobolus,

Septomyces,

Vermicularia,

25.

Micromonospora,

Nocardia,

Streptomyces;

Alcaligenes,

Bacillus,

30.

Corynebacterium,



22759

Micobacterium,
Protaminobacter,
Pseudomonas.

5. Son especialmente adecuados los *Bacillus sphaericus* var. *fusiformis*, *Corynebacterium simplex* y *Fusarium solani*.

10. Para la deshidrogenación, se añade la materia de partida a un cultivo sumergido del microorganismo correspondiente desarrollado con una solución nutritiva adecuada, 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 en soluciones tampón. La transformación se sigue cromatográficamente y luego se extrae la solución fermentativa después de transformada por completo, la materia de partida, por ejemplo, con cloroformo.

15. d). 6-deshidrogenación

20. La deshidrogenación en posición 6 se efectúa con cloranilo. Es ventajoso trabajar en presencia de un disolvente inerte, como benceno, tolueno, xileno, cloroformo, cloruro de metileno, acetona, metanol, etanol, butanol terciario, tetrahidrofurano e ácido acético glacial.

25. Convenientemente se efectúa la reacción en caliente eventualmente a temperatura de ebullición del disolvente empleado. El cloranilo se utiliza generalmente en una proporción molecular de 1:1. El exceso no es perjudicial.

e). 21-Acilación

30. La 21-acilación de un 21-desoxi-esteroide puede llevarse a cabo de acuerdo con todos los métodos conocidos y en cualquier fase de reacción. Así puede transformarse un 21-desoxi-esteroide en una mezcla de tetrahidrofurano/metanol mediante el tratamien-

282759



to con una solución alcalina de yodo, en primer lugar en el correspondiente 21-yodo-esteroide, que se hace reaccionar seguidamente con un acilato alcalino, ventajosamente con acetato potásico, por ejemplo en acetona.

5. f). Introducción de un átomo 9 alfa-flúor.

Esta reacción se efectúa sobre los correspondientes 9,11-dehidro-esteroides, que pueden obtenerse de los 11-hidroxi-esteroides mediante deshidratación usual. Los 11 beta-hidroxi-esteroides pueden deshidratarse por ejemplo mediante un tratamiento con oxiclорure fosfórico o cloruro de tionilo en piridina. Los 11 alfa-hidroxi-esteroides pueden transformarse sencillamente mediante la esterificación con el ácido p-toluolsulfónico y desdoblamiento posterior del ácido en los 9,11-dehidro-esteroides. Un tratamiento sucesivo con HOBr o bien N-bromo-succinimida y medios alcalinos, por ejemplo acetato potásico da los correspondientes 9 beta, 11 beta-epóxidos, que serán luego, mediante una reacción con ácido fluorhídrico, los correspondientes 9 alfa-flúor-11 beta-hidroxi-esteroides. La reacción con ácido fluorhídrico se efectúa convenientemente en presencia de disolventes inertes, por ejemplo cloroformo, o cloruro de metileno, tetrahidrofurano, o dioxano. Las temperaturas de reacción empleadas se hallan aproximadamente entre -70° y + 15°C.

g). Oxidación.

Los 6,16-dimetil-15-dehidro-esteroides obtenidos como productos intermedios o acabados, que contienen un grupo 11-hidroxilo, pueden transformarse mediante un tratamiento con un agente de oxidación, por ejemplo mediante reacción con ácido crómico, una mezcla de ácido crómico y piridina o ácido crómico y acetona o con ácido crómico-sulfúrico o, ácido hipobromoso, en los correspondientes 11-ceto-esteroides.

282759

23 Nov



h). Saponificación

Los grupos de ésteres existentes en posición 21 en los productos intermedios o acabados, pueden saponificarse según métodos standard. Como agentes de saponificación pueden entrar

5. en consideración, por ejemplo soluciones acuosas de bicarbonato sódico, carbonato sódico o hidróxido sódico, a cuyo efecto se trabaja ventajosamente bajo exclusión de oxígeno.

i). Esterificación

Los grupos hidroxil presentes en los productos intermedios o acabados pueden esterificarse según métodos usuales.

10. Como agentes de esterificación pueden utilizarse todos los ácidos o bien sus derivados adecuados para la esterificación, que dan ésteres compatibles fisiológicamente, por ejemplo:

ácidos carboxílicos,

15. como ácidos acético glacial,

ácido propiónico,

ácido butírico,

ácido trimetilacético,

ácido ciclopentilpropiónico,

20. ácido fenilpropiónico,

ácido fenilacético,

ácido caprónico,

ácido caprílico,

ácido palmítico,

25. ácido undecilénico,

ácido benzoico,

ácido hexahidrobenczoico o ácido cloroacético.

Eventualmente, para la preparación de derivados solubles en agua, puede esterificarse también el grupo 21-hidroxil con

30. ácidos dicarboxílicos, ácidos amino o alquileminocarboxíli-



282759

cos o con ácido fosfórico o sulfúrico. De este modo pueden prepararse por ejemplo: succinatos, oxalatos o las sales de adición ácidas de ésteres de ácido aminocarboxílicos, como por ejemplo éster del ácido aspártico o del ácido dietilaminoacético.

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 todas las materias auxiliares que se emplean de costumbre, como por ejemplo agua, aceites, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, vaselina, colessterina etc. Para la aplicación parenteral

10.

sirven especialmente soluciones acuosas u oleosas, así como emulsiones o suspensiones. Para la aplicación entérica pueden utilizarse pastillas o grageas, y para el empleo tópico cremas e pomadas, que se esterilizan eventualmente o se mezclan con materias auxiliares, como agentes de conservación, de estabilización o de humectación o sales para influir la presión osmótica o sustancias amortiguadoras.

15.

20.

Siempre que los productos finales de la presente invención se apliquen en formas de confección sólidas, las dosis individuales son de 0,1 a 10 mg. Para la aplicación de soluciones inyectables, se emplean dosis entre 2 y 25 mg.

E J E M P L O 1.

25.

a) Se dejan a temperatura ambiente durante 24 horas en 500 cc de dimetilformamida con 10 cc de ácido clorhídrico concentrado, 10 g de 6 alfa, 16-beta-dimetil-16 alfa, 17 alfa-óxido-4-pregnen-3,20-diona. Se vierte luego la mezcla de reacción en agua y se filtra el precipitado de la 6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-17 alfa-ol-3,20-diona cruda.

30.

lenda μ max 241 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 395, punto de fusión 201-205°C.

b) En un fermentador pequeño se inoculan 15 litros de

282759



- una solución nutritiva a base de 5% de glucosa, 0,2% de extracto de levadura, 0,3% de nitrato sódico, 0,05% de sulfato sódico, 0,001% de sulfato de hierro (II) y 1/30 moles de fosfato tampón según Sørensen (PH 5,6) con 800 ml de cultivo agitado de *Metarrhizium amisobliae*. El cultivo se desakrella bajo agitación y aireación intensa y recibe al cabo de 24 horas, una adición de 5 g de 6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-17 alfa-ol-3,20-diona, disueltos en 40 ml de dimetilformamida. La hidroxilación se sigue mediante cromatografía de papel. Después de finalizar la reacción se extrae la mezcla de reacción con cloroformo. Tras evaporado del disolvente se obtiene, mediante recristalización en acetona, la 6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-11 alfa, 17-alfa-diol-3,20-diona.
10. λ_{\max} 242 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 412.
15. c) Se disuelven en 40 cc de cloroformo y 55 cc de piridina, tras desecado 9,2 g de 6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-11 alfa, 17 alfa-diol-3,20-diona y se mezclan bajo enfriado con hielo y agitación con 11,2 g de cloruro p-toluol-sulfúrico. La mezcla de reacción se deja durante la noche, luego se vierte en agua, se extrae con cloroformo y se acaba en forma usual. El 11-tosilato cristaliza en lejía de cloroformo y recristaliza en metanol.
20. Se calientan bajo reflujo y durante 30 minutos, 11 g del tosilato en 125 cc de ácido acético glacial junto con 10,3 g de acetato sódico exente de agua. La mezcla de reacción se vierte en agua, la 6 alfa, 16-dimetil-4,9-(11), 15-pregnatrien-17 alfa-ol-3,20-diona precipitada se succiona y recristaliza en éster acético.
25. λ_{\max} 238 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 530.
30. d) Se disuelven en 250 cc de dióxano y 27,2 cc de agua, 6,5 g de 6 alfa, 16-dimetil-4,9-(11), 15-pregnatrien-17 al-



282759

fa-ol-3,20-diona y se mezclan con 4,45 g de N bromosuccinimida al 98,3% y 1,75 cc de ácido perclórico al 70%. Después de finalizar la transformación se vierte la mezcla de reacción en agua, se succiona lo precipitado, se lava con agua y se seca. La 9 alfa-bromo-6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-11 beta, 17 alfa-diol-3,20-diona bruta así obtenida se transforma ulteriormente sin purificación posterior.

5.

e) Se calientan bajo reflujo durante 2 horas con 20 g de acetato potásico en 550 cc de etanol absoluto, 9,8 g de 9 alfa-bromo-6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-11 beta, 17 alfa-diol-3,20-diona. Luego se diluye la mezcla con agua y se extrae a fondo con cloroformo. Los extractos de cloroformo se lavan con agua, se secan y concentran. La 9 beta,11beta-óxido-6 alfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-17 alfa-ol-3,20-diona cristaliza en metanol.

10.

lamba max. 243,5 milimicras, $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 480.

15.

f) En 30 cc de metanol, que contiene 0,6 g de cloruro cálcico exento de agua, se suspenden 6 g de 6 alfa, 16-dimetil-9 beta, 11 beta-oxido-4,15-pregnadien-17 alfa-ol-3,20-diona y se mezcla con 3 g de óxido cálcico. En el término de 30 minutos se añade gota a gota y bajo agitación una solución de 9 g de yodo en 30 cc de metanol, que contiene asimismo 0,6 g de cloruro cálcico exento de agua, para lo cual la temperatura se mantiene entre 25-28°C. Se agita otros 30 minutos, se enfría a 0°C y se vierte en una mezcla de 150 cc de agua helada y 4,5 cc de ácido acético glacial. El yeduro precipitado se succiona, se lava con agua y se seca a 50°C.

20.

25.

El producto obtenido se 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 2 horas a reflujo hasta ebullición y se introduce agitando en 1,5 L de

30.

282759



agua helada. Se succiona y se lava con 200 cc de agua. El producto húmedo se disuelve caliente en 120 cc de metanol y tras adición de una solución de 3,1 g piro-sulfuro sódico en 45 cc de agua se calienta 2 horas a reflujo hasta ebullición. Luego se extraen por destilación 35 cc., después de lo cual recristaliza el compuesto 21-acetoxi. Tras filtración y secado se obtiene el 21-acetato puro de 6 alfa, 16-dimetil-9 beta, 11 beta-oxido-4,15-pregnadien-17 alfa, 21-diol-3,20-diona mediante recristalización en éster acético.

10. λ_{max} 243 milimicras, $E_{1\%}^{1cm}$ 430.

g) 5,45 g de 21-acetato de 6 alfa, 16-dimetil-9 beta, 11-beta-oxido-4,15-pregnadien-17 alfa, 21-diol-3,20-diona se disuelven en 55 cc. de cloroformo absoluto y se entregan a -40°C. a 32 cc de una mezcla de 52 cc de tetrahidrofurano, 20 cc de cloroformo y 32 cc de ácido fluorhídrico. La solución de reacción se deja 6 horas a -20°C y luego se vierte en solución de bicarbonato sódico.

20. El 21-acetato de 6 alfa, 16-dimetil-9 alfa-fluor-4,15-pregnadien-11 beta, 17 alfa, 21-triol-3, 20-diona se extrae con cloroformo. El extracto se lava cuatro veces, se seca y concentra; el residuo así obtenido recristaliza en metanol.

λ_{max} 239,5 milimicras, $E_{1\%}^{1cm}$ 403.

25. h) Se disuelven en 25 cc de metanol, 1,0 g de 21-acetato de 6 alfa, 16-dimetil-9 alfa-fluor-4,15-pregnadien-11 beta, 17 alfa, 21-triol-3, 20-diona. Esta solución, tras adición de 0,36 g de



282759

bicarbonato sódico, disuelto en 5 cc de agua, se calienta 10 minutos hasta ebullición y luego se vierte en unos 300 cc de agua. El producto de saponificación bruto se succiona y recristaliza en una mezcla de cloroformo y metanol. La 6 alfa,16-dimetil-9alfa-
5. -fluor-4,15-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20 diona muestra un máximo a los ultravioletas a 239 milimicras, $E_1^{1\%}$ cm. 425.

i) 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 una solución tampón de fosfato Sörensen, se inocula con
10. 500 cc de un cultivo sacudido de *Corynebacterium simplex*, se deja que el cultivo se desarrolle a 28°C. Al cabo de 16 horas se añaden a la solución de fermentación 5 g de 9alfa-fluor-
-6alfa,16-dimetil-4,15-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-
-diona en 200 cc de metanol. La cromatografía en capa tenue
15. no revela al cabo de 14 horas, al lado del producto de reacción, 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 9alfa-fluor-6alfa,16-
20. dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20 diona λ_{max} . 239 milimicras, $E_1^{1\%}$ cm. 410.

E J E M P L O 2.

a) Se inocula, con 500 cc de una suspensión de esporas de
25. *Curvularia lunata*, un fermentador de ensayo de 10 litros con una solución nutritiva a base de 3% de extracto de malta, 0,5% de glucosa y 0,3% de peptona de caseína. El hongo se desa-

202739



- desarrolla a 28°C. Bajo fuerte aireación y agitación y recibe al cabo de 24 horas una adición de 5 g de Galfa, 16-metil-4,15-pregnadien-17alfa-ol-3,20-diona en 200 cc de metanol. La descomposición se sigue por cromatografía en capa tenue.
5. Al cabo de 30 horas no puede apreciarse nada del material de partida. El cultivo se extrae tres veces con 10 litros de cloroformo cada vez. Se concentran los extractos reunidos y se ceden encima de una pequeña columna con gel de sílice activado. Tras recristalización en acetona se obtiene la Galfa, 16-dimetil-4,15-pregnadien-11beta,17alfa-diol-3,20-diona.
10. λ_{max} 242 milimicras, $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 432.
- b) 12 litros de una solución nutritiva de 1% de extracto de levadura (pH 6,8) se inoculan en un fermentador pequeño con 0,5 litros de cultivo sacudido de Bacillus sphaericus. El cultivo se desarrolla a 28°C. Bajo fuerte aireación y agitación y recibe al cabo de 9 horas una adición de 6 g de Galfa,16-dimetil-4,15-pregnadien-11beta,17alfa-diol-3,20-diona en 200 cc de metanol. La deshidrogenación se sigue cromatográficamente en capa tenue y finaliza al cabo de 25-30 horas. El caldo de fermentación se extrae por tres veces en 12 litros de cloroformo cada vez. Los extractos combinados se evaporan, el residuo se digiere con éter de petróleo y recristaliza en acetona.
15. 20. 25. Se obtiene la Galfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta, 17alfa-diol-3,20-diona.
- λ_{max} 243 milimicras, $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 405.
- c) Una suspensión de 6,5 g de Galfa,16-dimetil-1,4,15-preg-
- 30.

28275

23



5. natrien-11beta,17alfa-diol-3,20-diona en 98 cc de tetrahidrofurano y 59 cc de metanol se mezclan en forma de porciones en el término de 3 horas con 9,8 g de yodo y 9,8 g de óxido cálcico. Luego se vierte la mezcla de reacción en 2 litros de agua helada, que contiene 32 cc de ácido acético glacial, el precipitado se succiona y se seca.

10. Los 11 g de 21-yoduro bruto así obtenido se disuelven en 550 cc de acetona y se hierven durante 12 horas bajo reflujo con 33 g de acetato potásico. Luego se decanta la acetona bajo presión disminuida y la mezcla se disuelve con agua. El precipitado se succiona y todavía húmedo se hierve a reflujo durante dos horas en una mezcla de 130 cc de metanol, 3,25 g de piro-sulfito sódico y 48,5 cc de agua. Después del enfriado se disuelve la mezcla de reacción con agua, el precipitado originado se succiona y se seca. Tras recristalización en acetona/éter

15. se obtiene el 21-acetato de 6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11-beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

20. λ_{\max} 241 milimicras, punto de fusión 255-257°C; $(\alpha)_D^{20} +32^\circ$ (cloroformo).

25. d) Se disuelven en 10 cc de piridina 2 g de 6alfa, 16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11-beta,17alfa,21-triol-3,20-diona y se mezcla con 0,36 g de anhídrido acético. Al cabo de 15 horas de permanencia a temperatura ambiente se vierte la mezcla de reacción en agua, se extrae tres veces con cloroformo, se neutraliza la solución de cloroformo mediante agitación con solución de bicarbonato sódico, se seca y se concentra en vacío. El residuo amorfo del 21-acetato de 6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona se

30.

282759



5. disuelve en 70 cc de acetona y se mezcla en forma de gotas, a 10° y bajo agitación con 1,5 cc de una solución de oxidación. (La solución de oxidación se prepara mediante solución de 6 g de anhídrido crómico en 4,4 cc de ácido sulfúrico concentrado y se completa con agua hasta 20 cc). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente y se acaba con cloroformo y agua en forma usual. La solución de cloroformo lavada neutra y seca se decanta bajo presión reducida hasta secado, Se obtiene en metanol el 21-

10. -acetato de 6alfa,16-dimetil-1,4,25-pregnatrien-17alfa-21-dioI-3,11,20-triona.

lambda $\frac{1\%}{\text{max.}}$ 240 milimicras, E 367; punto de fusión 244-246°C;
1 cm

(alfa)_D + 112° (cloroformo).

E J E M P L O 3.

15. a) Se disuelven en una mezcla de 10 cc de tetrahidrofurano y 12 cc de metanol, 4,6 g de 6alfa,16-dimetil-4,15-pregnadien-17alfa-oI-3,20-diona y se mezclan a 0°C. Bajo agitación con 7,3 g de yodo. En el término de una hoara se adiciona gota a gota una solución acuosa al 10% de hidróxido sódico hasta que el color del yodo desaparece. Al cabo de otra hora se vierte la

20. mezcla de reacción en agua, sel precipitado resionco separado se fija en éter, los extractos de éter unidos se lavan con agua, se seca sobre sulfato sódico y se evapora a temperatura ambiente, en vacio hasta desecado. El compuesto 21-yodo bruto se

25. calienta a reflujo durante 24 horas en 300 cc de acetona con 13,5 g de acetato potásico exento de agua. A continuación se concentra la mezcla de reacción en un pequeño volumen y se

282759



mezcla con agua. El 21-acetato de 6alfa,16-dimetil-4,15-preg-
nadien-17alfa,21-diol-3,20-diona precipitado se succiona y re-
cristaliza en acetona o metanol.

5. lambda 240 milimicras, E ^{1%} 412; punto de fusión 226-
max. I cm
228° C; (alfa) _D +40,7° (cloroformo).

10. b) Se inocula 15 litros de una solución nutritiva a base
de 5% de extracto de malta, 1% de sacarosa, 0,2% de nitrato
sódico, 0,1% de fosfato bipotásico, 0,05% de sulfato magné-
sico, 0,05% de cloruro potásico y 0,005% de sulfato de hiee-
rro (II) μ H regulado a 7,0 en un fermentador pequeño con

800 cc de un cultivo sacudido de curvularia lunata (Wakker)
Boadijn y se incuba a 28° bajo agitación y fuerte aireación.
Al cabo de 24 horas de desarrollo se adicionan 5 g de 6alfa,
16-dimetil-4,15-pregnadien-17alfa,21-diol-3,20-diona o su
15. 21-acetato en 40 cc de dimetilformamida. La reacción se si-
gue en papel cromatográfico. Si en el cromatograma del papel
no es perceptible nada de material de partida, se extrae la
solución de cultivo 3 veces con el mismo volumen de cloroformo.

20. Las soluciones de cloroformo unidas se concentran y se
cromatografía el residuo en gel de sílice. El eluato obte-
nido con cloroformo-éster acético (1:3) contiene la 6alfa,
16-dimetil-4,15-pregnadien-11-beta,17alfa,21-triol-3,20-
-diona deseada, que recristaliza en acetona/éter.

25. lambda 241 milimicras, E ^{1%} 412; punto de fusión 238-
max. I cm
-240° C; (alfa) _D +45° (etanol).

282759



5. c) Se hierven a reflujo durante 10 horas 10 g de 21-acetato de 6alfa,16-dimetil-4,15-pregnadien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona en 300 cc de etiléster acético y 30 cc de ácido acético con 7 g de cloranilo. La mezcla de reacción se enfría, se vierte en agua y se extrae con cloroformo. El extracto se lava en primer lugar con agua, y luego con solución de bicarbonato sódico hasta que se termina totalmente el ácido acético, luego se renueva con agua y seguidamente se agita con 225 cc de NaOH al 1%, se lava nuevamente con agua y se seca con sulfato sódico. Después de la concentración cristaliza en éster acético el 21-acetato de 6,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

10. λ_{\max} . 288 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 567; punto de fusión 201-202°C; (alfa)_D + 111° (dioctano).

15. De este se obtiene mediante saponificación usual la 6,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona. Punto de fusión 235-239°C; (alfa)_D+68° (dioxano); λ_{\max} . 288 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$. 630.

20. d₁) Se inoculan 15 litros de una solución nutritiva a base de 1% de extracto de levadura, pH 6,8, en un fermentador pequeño, con 0,5 litros de un cultivo sacudido de Bacillus sphaericus. El cultivo se desarrolla a 28°C bajo agitación permanente y fuerte aireación y al cabo de unas 10 horas recibe una adición de 7,5 g de 21-acetato de 6,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona disueltos en 300 cc de metanol. La deshidrogenación se sigue en papel cromatográfico y se completa al cabo

25.



282759

de 28 a 36 horas. La solución de cultivo se extrae tres veces con el mismo volumen de cloroformo, las soluciones de cloroformo reunidas se concentran. En acetona cristalina el 6,16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

5. λ_{max} 227, 254, 304 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 402, 260, 332; punto de fusión 251-253° C; (alfa)_D +2° (dioxano)

- d₂) Se hierven a reflujo durante 20 horas 5 g de 21-acetato de 6alfa,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona con 4,8 g de 2,3-dicloro-5,6-dician-p-benzoquinona en 75 cc de dioxano. Luego se diluye la mezcla de reacción con cloroformo, y sucesivamente con agua, solución de hidróxido sódico diluido y se extrae nuevamente con agua, la solución de cloroformo se seca y se concentra. En el residuo cristaliza el 21-acetato de 6,16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, que se puede purificar mediante recristalización en metanol.
- 10.
- 15.

- λ_{max} 227, 254, 304 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 370, 240, 307.

- e) Se disuelve en 160 cc de metanol 5,8 g de 21 acetato de 6alfa, 16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona y se hierve durante 14 minutos a reflujo tras adición de una solución caliente de 1,28 g de bicarbonato sódico en 19 cc de agua. La mezcla enfriada se introduce agitando en 900 cc de agua, en los que están adicionados 3 cc de ácido acético glacial, y se extrae con cloroformo. Los extractos de cloroformo reunidos se lavan con
- 20.
- 25.

282759



agua y se concentran bajo presión reducida. El residuo re-
cristaliza en metanol, con lo cual precipita en cristales
incolores la 6,16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11-beta,17al-
fa-21-triol-3,20-diona.

5. λ_{max} 227, 254, 304 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 402, 260, 332;
punto de fusión 251-253^o C.; (alfa) $[\alpha]_D^{20}$ (dioxano).

E J E M P L O 4.

10.

a) Se disuelven en 90 cc de dioxano 3 g de 21-acetato de
6alfa,16-dimetil-4,15-pregnadien-11beta-,17alfa,21-triol-3,20-
-diona y se hierve durante 7 horas a reflujo con 2,1 g de clo-
ranilo. La solución pardo clara se vierte tras el enfriado en
agua, se extrae con cloroformo y el extracto de cloroformo se
lava primero con agua, luego con 210 cc de lejía de sosa n/10
y seguidamente otra vez con agua, se seca con sulfato sódico
y se destila. Cristaliza en metanol el 21-acetato de 6,16-di-
metil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

15.

λ_{max} 287,5 milimicras, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 560; punto de fusión 200-
201^o C; (alfa) $[\alpha]_D^{110}$ (dioxano).

20.

b) Se disuelven en 300 cc de piridina 2,5 g de 21-ace-
tato de 6alfa,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-
triol-3,20-diona, se mezcla con 4,25 cc de cloruro de tioni-
lo y se calienta durante 30 minutos a 100^o C. La mezcla de
reacción se vierte luego en agua, el precipitado se succiona,



282759

se lava y se seca. El 21-acetato de 6,16-dimetil-4,6,9-(11), 15-pregnatetraen-17alfa,21-diol-3,20-diona obtenido recristaliza en éster acético.

5. lamda max. 283 milimicras.

c) Analogamente al ejemplo 1 d) se prepara del 21-acetato de 6,16-dimetil-4,6,9(11),15-pregnatetraen-17alfa,21-diol-3,20-diona, el 21-acetato de 6,16-dimetil-9alfa-bromo-4,6,9(11),15-pregnatetraen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, que mediante tratamiento con acetato potásico en forma análoga al ejemplo 1 e) se transforma en el 21 acetato de 6,16-dimetil-9beta,11beta-oxido-4,6,15-pregnatrien-17alfa,21-diol-3,20-diona.

15. lamda max. 289 milimicras.

d) Se disuelven en 21 cc de cloroformo absoluto 2,42 g del 21-acetato de 6,16-dimetil-9beta,11beta-oxido-4,6,15-pregnatrien-17alfa,21-diol-3,20-diona y se adiciona a la solución 14,5 cc de una mezcla de 27 cc de tetrahidrofurano, 87 cc de cloroformo y 14,5 g de ácido fluorhídrico bajo una temperatura de -50°C. La solución de reacción se deja durante 8 horas a 0°C. Y luego se vierte en una solución de bicarbonato sódico. El esteroide se extrae con cloroformo, la solución de cloroformo se seca y evapora. El residuo consta de 21-acetato de 6,16-dimetil-9alfa-fluor-4,6,15-pregnatrien-11-beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, que se purifica mediante recristalización en acetona.

25. lamda max. 285 milimicras.



282759

e) Se inoculan 15 litros de una solución nutritiva a base del 1% de extracto de levadura, pH 6,8, en un fermentador pequeño, con 0,5 litros de cultivo sacudido de *Bacillus sphaericus*. El cultivo se desarrolla a 28°C. bajo agitación constante y fuerte aireación y recibe al cabo de unas 10 horas una adición de 7,5 g de 6alfa-fluor-6,16-dimetil-4,6,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, disueltos en 300 cc de metanol. La deshidrogenación se sigue en papel cromatográfico y se completa al cabo de 28 a 36 horas. La solución de cultivo se extrae durante 3 veces con el mismo volumen de cloroformo, las soluciones de cloroformo reunidas se concentran. La 6alfa-fluor-6,16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11-beta, 17alfa,21-triol-3,20-diona cristaliza en acetona.

15. EJEMPLO 5.

Se disuelven en 120 cc de dioxano absoluto 5 g de 6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, se mezcla con 1,55 cc de cloruro de cloroacetilo y 1,5 cc de piridina y se deja durante la noche a temperatura ambiente. Luego se vierte la mezcla de reacción en agua, se succiona el precipitado, se lava con agua y se seca. El 21-cloroacetato de 6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta, 17alfa, 21-triol-3,20-diona bruto así obtenido se disuelve en 400 cc de acetona y se deja durante la noche a temperatura ambiente con 55 cc de dietilamina y 4 cc de agua. La mezcla de reacción se concentra a 20°C en vacío. Por otra parte se separa por cristalización el 21-dietilaminoacetato de 6 alfa, 16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

30.



282

lamba 242,5 milimicras, E 400.
max. 1%
I cm

5. Se disuelven en 17 cc de tetrahidrofurano absoluto 0,7 g de éste dietilaminoacetato y se mezcla con 15 cc de cloroformo saturado con ácido clorhídrico. Con ello se separa el clorhidrato de 21-dietilaminoacetato de 6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona, que se lava con tetrahidrofurano y seguidamente se seca.

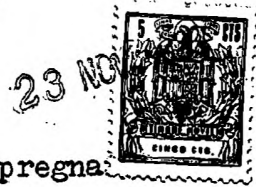
E J E M P L O 6

10. Se dejan en reposo durante 10 días en 20 cc de piridina absoluto con 9,3 g de cloruro de fosforildimorfólida, 10 g de 6 alfa,16-dimetil-1,4,6,15-pregnatetraen-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona. La mezcla de reacción se vierte en la dosis calculada de ácido sulfúrico diluido y se extrae el 21-dimorfolidofosfato con cloroformo.

15. El residuo de cloroformo se disuelve en 40 cc de etanol se mezcla con agua hasta la primera turbidez constante y después de añadir 110 g de una resina intercambiadora de cationes-ácido sulfónico, se agita durante 36 horas. Se separa por filtración se lava el cambiador con etanol, se neutraliza el filtrado con hidróxido sódico y se concentra fuertemente a presión reducida.

20. Tras el enfriado se extrae con cloroformo; la fase acuosa se acila 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

25. 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 precipita puro el 21-orto-



fosfato-sódico de 6alfa,16-dimetil-1,4,6,15-pregna-
-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona.

282759

E J E M P L O 7.

Se disuelven en 10 cc de cloroformo absoluto y 3 cc de piridina absoluta 0,5 g de 9alfa-fluor-6alfa,16-dimetil-1,4,15-pregnatrien-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona y se mezcla a 0°C en el curso de 5 minutos bajo agitación con una solución de 0,5 cc de cloruro terciario butilacético en 5 cc de cloroformo. Se agita otros 5 minutos a una refrigeración helada y luego 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vierte sobre hielo y se extrae con cloroformo. El extracto se lava con ácido sulfúrico diluido y solución de bicarbonato sódico, se seca y concentra. El residuo se filtra en cloroformo sobre 10 g de "Florisil" y se evapora hasta desecado. El 21-butilacetato terciario puro cristaliza en metanol.

= . =

282759

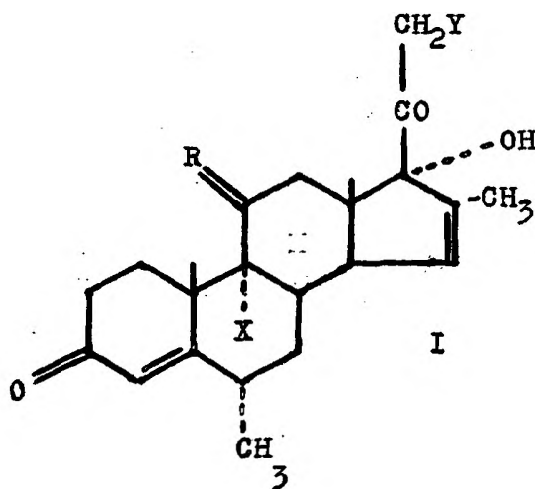
N O T A

Descrito el invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridades de las demandas de patentes alemanas N° M 50979 del 24 de noviembre de 1.961, N° M 51015 del 29 de noviembre de 1.961, N° M 51048 del 2 de diciembre de 1.961 y N° M 51103 del 7 de diciembre de 1.961, existiendo en todas ellas unidad de invención.

1. Procedimiento para la preparación de 6,16-dimetil-15-dehidro-esteroides de la fórmula I

10.

15.



20.

en la que

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

X = H o F

Y = grupo hidroxil libre o esterificado

25.

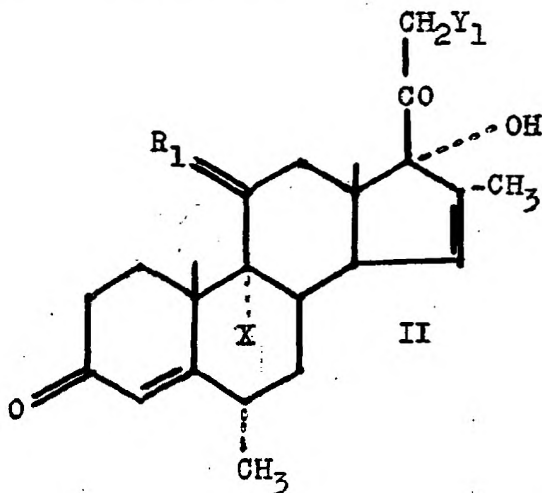
así como sus derivados Δ^1 , Δ^6 y $\Delta^{1,6}$, caracterizado

282759



porque en un 6,16-dimetil-15-dehidro-esteroide de la fórmula II.

5.



10.

en la que

X = H o F

Y₁ = H o grupo hidroxil libre o esterificado

15.

R₁ = H,H; H,OH o = O

se introduce uno o bien dos dobles enlaces en posición 1 y/o 6 mediante tratamiento con un agente que deshidrogena, y en caso que R₁ signifique hidrógeno se introduce un grupo 11-hidroxilo por tratamiento con microorganismos 11-hidroxilantes y, en caso que Y₁ signifique hidrógeno se introduce un grupo 21-ester

20.

mediante tratamiento consecutivo con solución alcalina de yodo y acilato alcalino, así como, eventualmente, en caso que X signifique hidrógeno, se introduce un átomo 9alfa-fluor mediante desdoblamiento del 9beta,11beta-epóxido correspondiente con ácido fluorhídrico y un 11-hidroxi-esteroide así obtenido se transforma eventualmente mediante tratamiento con un agente de oxidación suave en el ceto-esteroide correspondiente y eventualmente se esterifica un grupo 21-hidroxi o bien se saponifica un grupo 21-ester.

25.

30.

282759



2. Procedimiento para la preparación de 6,16-dimetil-15-~~hidro~~-esteroides.

Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de 27 hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

5.

Madrid, a 23 de Noviembre de 1.962

E. MERCK A.G.

p. a.

JAI ME ISE RN MIR ALLES
P P.