

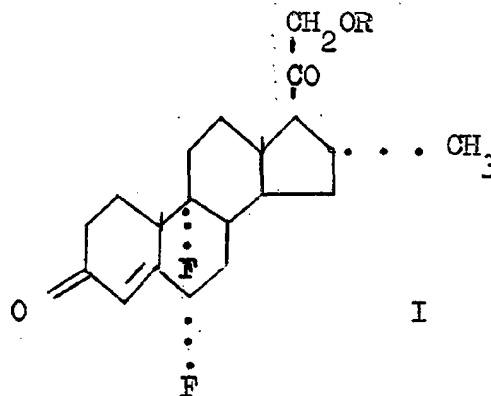


293 329

MEMORIA DESCRIPTIVA  
de un Certificado de primera adición por:  
"MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE LA  
PATENTE PRINCIPAL NUM. 273.764 SOBRE PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE NUEVOS  
 $\Delta^{1,4-16\alpha}$ -METILESTEROIDES" a nombre de:  
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, de nacionalidad alemana, domiciliada en Müllerstr. 170/  
172, BERLIN 65 (Alemania).

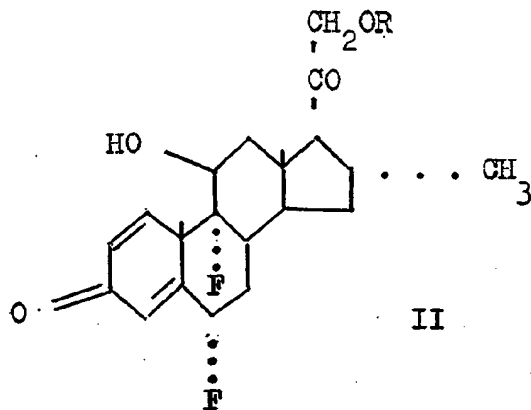


En la patente principal se describe un procedimiento para la fabricación de nuevos  $\Delta^{1,4-16\alpha}$ -metilesteroides, el cual entre otros, a partir de compuestos (I) de la fórmula



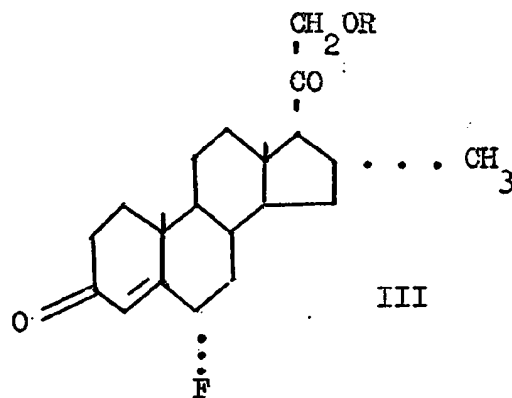


en la que R significa hidrógeno o un resto acilo inferior, conduce por hidroxilación en el átomo de carbono 11 por vía bioquímica, por deshidrogenación en la posición 1 con microorganismos de efecto deshidrogenante o con agentes químicos de deshidrogenación y, en caso que interese, por acilación selectiva del grupo hidroxilo 21-estable, en cualquier orden deseado a compuestos (II) de la fórmula general



Los mencionados productos del procedimiento tienen gran importancia terapéutica para el tratamiento de enfermedades flogísticas.

Se ha descubierto ahora que de un modo más ventajoso se puede llegar a los mismos compuestos (II), si en lugar de emplear el procedimiento de la patente principal en compuesto de la fórmula I, se le aplica en definitiva a compuestos (III) de la fórmula general





es decir, a sustancias de partida que no contienen el átomo de fluor  $9\alpha$ -estable y en el curso del procedimiento de la patente principal se introduce este último en el compuesto 11-hidroxiado sólo después de realizada la 11-hidroxiación especialmente por transformación del grupo hidroxilo introducido en la posición 11, en el agrupamiento  $9\alpha$ -fluor-11 $\beta$ -hidroxi, por métodos en sí conocidos.

A continuación se explica a título de ejemplo el procedimiento sugerido por el invento, con las siguientes series de fórmulas (cfr. pág. 3), en las que para mayor claridad se han omitido las etapas a realizar según el procedimiento de la patente principal, desde la sustancia de partida III hasta el pertinente producto intermedio 11-hidroxiado.

El procedimiento nuevo tiene todavía la ventaja frente al de la patente principal, de que es indiferente el que la 11-hidroxiación primaria dé por resultado un producto de hidroxilación 11 $\alpha$ - u 11 $\beta$ -estable.

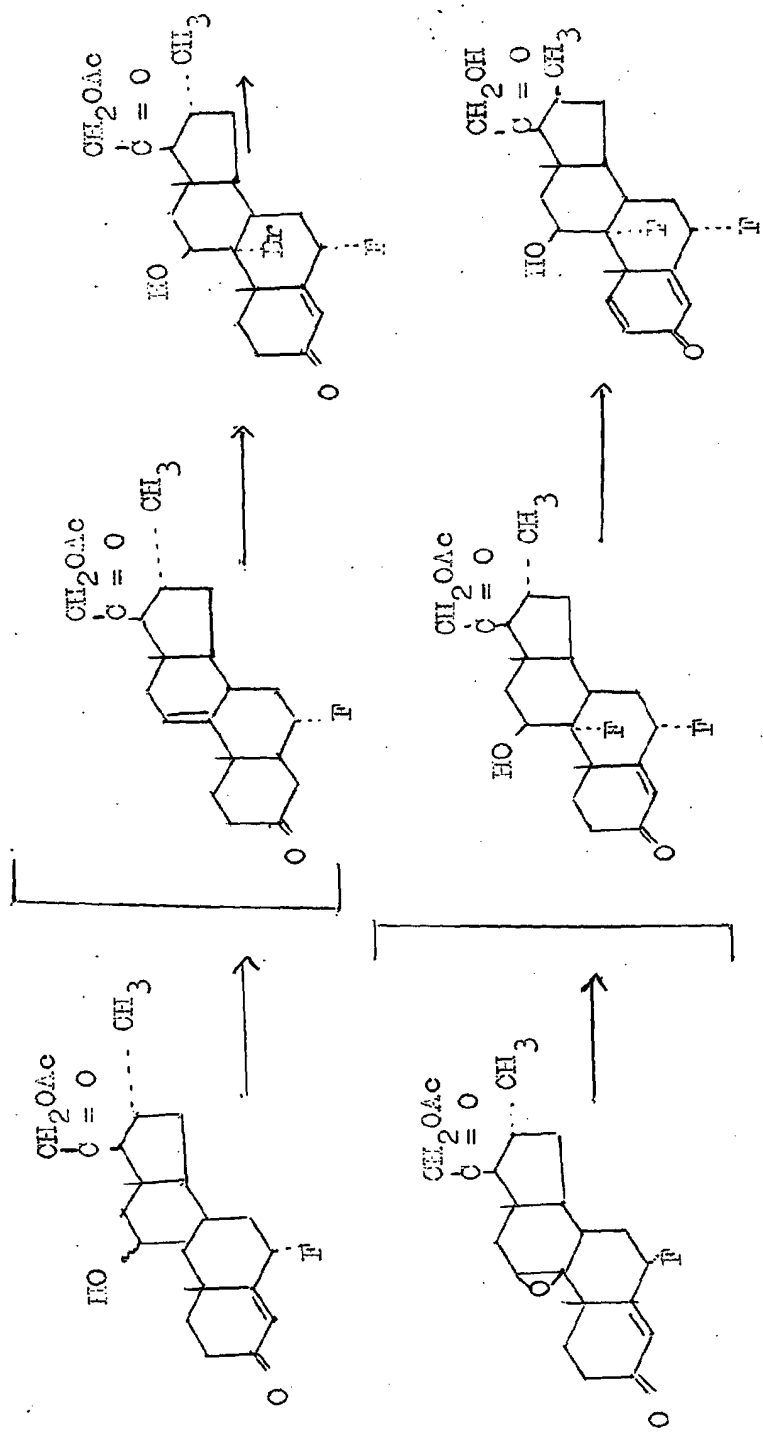
Los productos del procedimiento que se obtienen según la idea del invento tienen gran importancia terapéutica para el tratamiento de enfermedades flogísticas.

Es sorprendentemente grande, en particular, la acción antiflogística de los compuestos sugeridos por el invento después de la administración oral, como prueba la siguiente Tabla en el ejemplo de la 16 $\alpha$ -metil-6 $\alpha$ , 9 $\alpha$ -difluor-1-dehidrocorticosterona (I) en comparación con la 6 $\alpha$ , 9 $\alpha$ -difluor-1-dehidrocorticosterona (II) y la 16 $\alpha$ -metil-9 $\alpha$ -fluorprednisolona (III). La acción antiflogística fué determinada por el conocido pouch-test del granuloma en machos de rata de unos 150 g de peso después de la aplicación oral de la sustancia activa en forma de una suspensión de goma arábica, habiendo puesto los valores obtenidos del test en relación con acetato de

Procedimiento 1

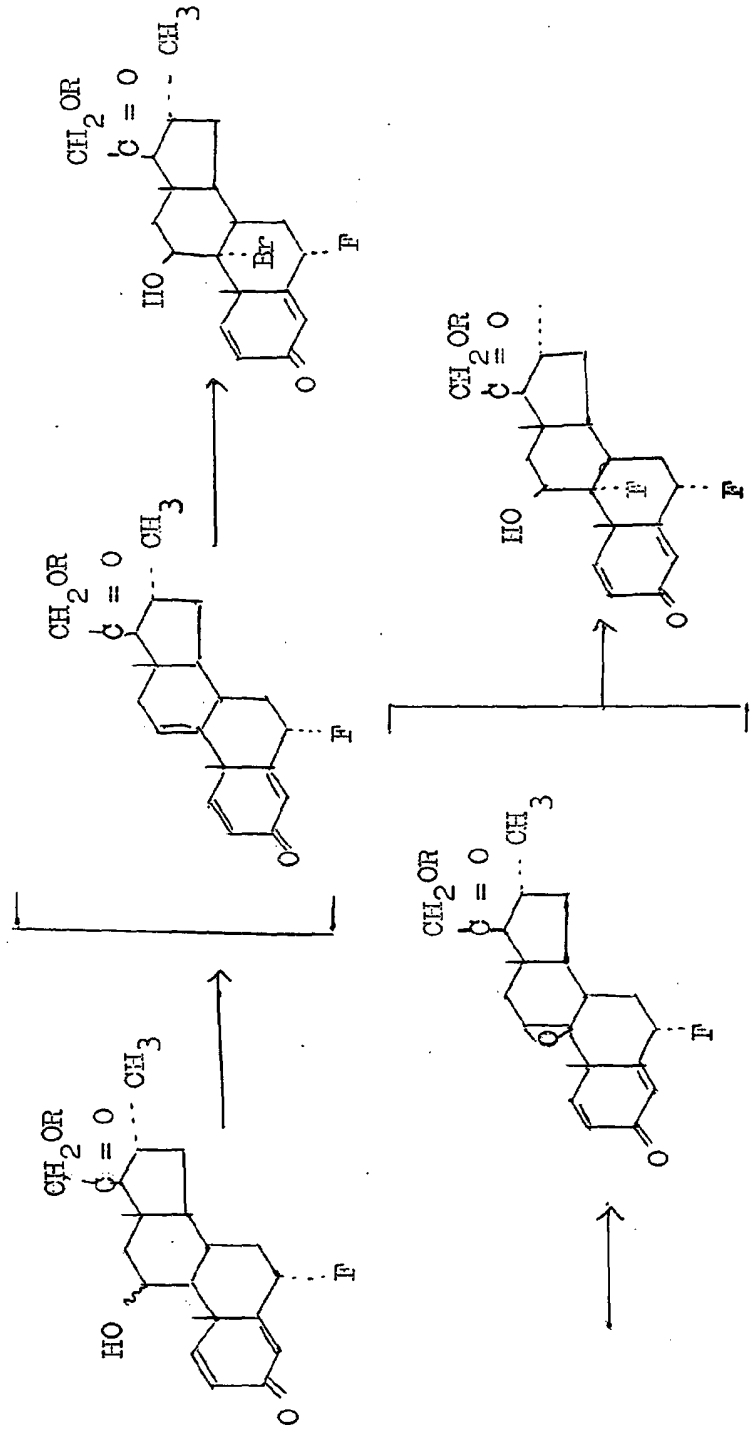


48 NOV 87





Procedimiento 2





hidrocortisona (IV) como sustancia standard (inhibición de la inflamación = 1).

T A B L A

Sustancia activa	A Inhibición de la inflamación.	B Acción del glucógeno		C Efecto catabólico		D Inhibición suprarrenal.	
		Comparación con IV	Cociente del efecto	Comparación con IV	Cociente del efecto	Comparación con IV	Cociente del efecto
I	1300 x IV	30xIV	0,023	110xIV	0,083	200xIV	0,154
II	3,8 x IV	6xIV	1,6	5xIV	1,3	40xIV	10,5
III	380 x IV	30xIV	0,079	80xIV	0,21	100xIV	0,416

La importancia de una sustancia activa no resulta, sin embargo, solamente del valor absoluto superior determinado del efecto deseado, por ejemplo antiflogístico, sino que está también determinada en esencia por la medida de los efectos secundarios no deseados, en lo cual como es sabido al conseguir un aumento de la acción hay que soportar también, por regla general, el correspondiente aumento de los efectos secundarios.

Por lo mismo en el caso que nos ocupa fué sorprendente el que con el importante aumento de la acción antiflogística de I no se observase en cuanto al indeseable efecto secundario glucogénico, catabólico e inhibidor suprarrenal más que un ligero aumento (cfr. la Tabla anterior, columnas B, C, D). La acción gluconeogénica fué determinada por el test corriente de glucogénesis en ratones. La acción catabólica e inhibidora suprarrenal fué examinada en ratas hembras adultas, de unos 40 a 50 g de peso, después de la administración subcutánea de la sustancia de comparación, al cabo de 14 días. La dosis aplicada para determi-



nar la magnitud de los efectos secundarios fué elegida de manera que con I, II y III se obtuviese el mismo efecto inhibidor de la inflamación. Como compuesto standard se volvió a utilizar aquí también el acetato de hidrocortisona. Los resultados, en particular los co-  
5 cientes del efecto sorprendentemente bajos, revelan que las sustancias sugeridas por el invento presentan propiedades claramente más favorables que las sustancias comparativas II y III en cuanto a los efectos secundarios no deseados.

10 Precisamente debido a los efectos secundarios decididamente inferiores, en particular sobre el efecto del consumo de glicógeno, el efecto catabólico e inhibidor suprarrenal, los compuestos sugeridos por el invento son aplicables, no solo para el tratamiento de enfermedades inflamatorias externas, por ejemplo enfermedades de  
15 la piel de toda clase, sino también para curar inflamaciones internas, tales como por ejemplo nefritis, hepatitis, poliartritis, entre otras, después de la aplicación por vía oral.

En la medicina práctica, las sustancias sugeridas por el invento se aplican en las formas corrientes de administración, por  
20 ejemplo en forma de pomada, polvo o tintura para la aplicación externa, o en forma de tableta, polvo, suspensión, cápsula, o también inyectable para la aplicación interna. Los medicamentos se preparan tratando la sustancia activa, por los métodos ya conocidos, con las sustancias de soporte corrientes en la farmacopea galénica.

25 EJEMPLO 1 (procedimiento 1)

a) Fabricación de acetato de 6- $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4,9(11)-pregnadien-21-ol-3,20-dion-21



10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11  $\beta$  ,  
21-diol-3,20-dion-21 se disuelven en 8,8 ml de piridina y 50 ml de  
dimetilformamida y, bajo nitrógeno, se calientan hasta + 70°. A  
este se añaden 4,42 ml de cloruro de metilo y se conserva 30 minutos  
5 a 80-85°. Después del enfriamiento hasta 20° se introduce la solu-  
ción, agitando en 900 ml de agua helada. El precipitado se aspira  
y se seca. Producto bruto 9,25 g ( rendimiento 97,5 % del teórico).  
Punto de fusión 160/64-67°  $\alpha_D + 112,3^\circ$  CHCl<sub>3</sub>  
 $\epsilon_{234} = 15 \ 100$

10 b) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-9 $\alpha$ -bromo-16 $\alpha$ -metil-4-preg-  
nen-11  $\beta$ ,21-diol-3,20-dion-21

A una solución de 10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-  
4,9 (11)-pregnadien-21-ol-3,20-dion-21 en 125 ml de dioxano se agre-  
ga, a + 20°C una solución de 6,02 g de dibromodimetilhidantoina en  
15 10 ml de agua destilada y 25,4 ml de dioxano, y se sigue removiendo  
durante 10 minutos. Luego se añade una solución de 0,845 ml de áci-  
do perclórico en 13,4 ml de agua destilada, y en intervalos de 15  
minutos se titula cada vez 2 ml de la mezcla reaccionante con solu-  
ción de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 1/10 n frente a almidón. El tiempo de reacción (60-  
20 75 minutos) termina cuando no se consume ya nada de HOBr. Para la neu-  
tralización se agregan 3,77 g de acetato sódico 3 H<sub>2</sub>O y 2,42 g de  
sulfito sódico disueltos en 25 ml de agua destilada, no debiendo pa-  
sar aquí la temperatura de 23° como máximo. Después de la neutraliza-  
ción, el ensayo con papel almidón de yoduro potásico tiene que resul-  
25 tar negativo, y el valor pH tiene que oscilar entre 5,6 y 7. Después se  
añaden 150 ml de metanol. El precipitado inorgánico se aspira y el  
residuo del filtro se lava con una mezcla de 26,8 metanol:dioxano  
(1:1). Al filtrado se añaden 442 ml de agua destilada, bajo remoción



simultánea, a + 15°C. El precipitado se agita durante 2 horas a + 5°, y la sustancia precipitada se aspira y a 20° se seca al vacío por intermedio de KOH.

Rendimiento 10,8 g (86,5 % del teórico) producto bruto

5 Punto de fusión: 162/164 disgregación.

c) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-9 $\beta$ ,11 $\beta$ -oxido- $\Delta^4$ -pregnen-21-ol-3,20-dion-21

A una solución de 8,7 g de acetato potásico en 104 ml de alcohol etílico se añaden a 50°C 10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-9 $\alpha$ -  
10 bron-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11  $\beta$ , 21-diol-3,20-dion-21 y se hierven durante 75 minutos al reflujo. Después del enfriamiento hasta 10°C se añade a gotas 247 ml de agua, de manera que la temperatura de la solución reaccionante no pase de + 15°C. A continuación se sigue removiendo durante 2 horas con refrigeración por hilo simultánea, y  
15 se aspira. El producto bruto es recristalizado a partir de metanol añadiendo al mismo tiempo carbón.

Rendimiento: 7,32 g (88 % del teórico)

$\xi_{237} = 13\ 000$ ; punto de fusión 153/154,5-156°  $\sqrt[3]{D} + 72,1^{\circ}$   
(CHCl<sub>3</sub>)

20 d) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11  $\beta$ , 21-diol-3,20-dion-21

A una mezcla de 90 ml de cloroformo y 10 ml de etanol se añaden a 0°C 8 ml de ácido fluorhídrico, y seguidamente en el transcurso de 15 minutos se agregan una solución de 10 g de acetato de  
25 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-9  $\beta$ , 11 $\beta$ -oxido-4-pregnen-21-ol-3,20-dion-21 en 90 ml de cloroformo. Luego se sigue removiendo durante 2 horas a 0 hasta 5°. Para la neutralización se añaden, a + 5°C como máximo, 30,75 g de carbonato potásico disuelto en 30 ml de agua. Por adi-



ción de una solución al 5% de bicarbonato sódico se completa la neutralización hasta pH 6,5. La solución de cloroformo se vuelve a lavar con agua, se seca y se concentra al vacío a sequedad. El residuo se recristaliza primero a partir de metanol-cloroformo añadiendo de paso carbón y seguidamente a partir de cloroformo-benzol.

Rendimiento: 5,0 g (47 % del teórico)

Punto de fusión: 229/32-34°  $\alpha_D + 133,8^\circ \text{CHCl}_3$

$$E_{233} = 16\ 000$$

e) Fabricación de 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluor-16 $\alpha$ -metil-1,4-pregnadien-11 $\beta$ ,

10 21-diol-3,20-dion

Con Bacillus lentus, Mutante MB 284 deshidrogena en posición 1,2 acetato de 16 $\alpha$ -metil-6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluor-4 pregnen-11 $\beta$ ,21-diol-3,20-dion-21 ( punto de fusión: 229/232-234° desintegración), con lo que al mismo tiempo se saponifica el grupo acetato 21. (No obstante, bajo las mismas condiciones se puede introducir también el compuesto libre 21-OH).

15 Para ello, un fermentador de acero inoxidable de 50 litros de capacidad se carga con 30 litros de caldo nutritivo compuesto de 0,1 % de extracto de levadura 0,5 % de cornsteep y 0,2 % de glucosa, se esteriliza por calentamiento de media hora hasta 120°C y después del enfriamiento se inocula con una suspensión bacteriana de Bacillus lentus MB 284.

25 Después de aumentar durante 24 horas a 28°C bajo remoción simultánea (220 rpm) y aireación (1,65 m<sup>3</sup>/hora) se toman 1,8 litros del cultivo producido, bajo condiciones estériles y se pasan a un fermentador de idéntico tamaño con 28 litros del mismo caldo nutritivo esterilizado.



Al mismo tiempo se añaden 6 g de acetato de  $16\alpha$ -metil- $6\alpha,9\alpha$ -difluor-4-pregnen- $11\beta,21$ -diol-3,20-dion-21 en 200 ml de dimetilformamida, y se fermentan durante 50 horas bajo las mismas condiciones.

5 El curso de la fermentación se va controlando con la toma de muestras, que se extraen con metilisobutilcetona. Los extractos fueron analizados por cromatografía de capa delgada (sistema: benzol/acetato de etilo 4:1).

10 Por tratamiento análogo al ejemplo 11 de la patente principal se obtiene un residuo oleoso-cristalino, que es cromatografiado en gel silíceo. Con acetato de etilo-cloroformo 1:2 se eluye el  $16\alpha$ -metil- $6\alpha,9\alpha$ -difluor-1,4-pregnadien- $11\beta,21$ -diol-3,20-dion, el cual se recrystaliza a partir de acetato de etilo/éter y luego funde a  $240/242-244^{\circ}\text{C}$  (rendimiento 60 %);

15  $\epsilon_{237} = 16.600$

EJEMPLO 2 ( Procedimiento 2)

a) Fabricación de acetato de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4,9(11)-pregnatrien-21-ol-3,20-dion-21

20 10 g de acetato de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4-pregnadien- $11\beta,21$ -diol-3,20-diona se deshidratan tal como se describe en el ejemplo 1 a).

Punto de fusión:  $164-165^{\circ}$  ( a partir de metanol)  $\epsilon_{238} = 16.750$

b) Fabricación de acetato de  $6\alpha$ -fluor- $9\alpha$ -brom- $16\alpha$ -metil-1,4-pregnadien- $11\beta,21$ -diol-3,20-dion-21

25 10 g de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4,9(11)-pregnadien-21-ol-3,20-dion-21-acetato se transforman en bromhidrina del modo que se describe en el ejemplo 1 b).



Producto bruto, punto de fusión: 120-126° desintegración

c) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-9 $\beta$ ,11 $\beta$ -óxido-1,4-pregnadien-21-ol-3,20-dion

5 10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-9 $\alpha$ -brom-16 $\alpha$ -metil-1,4-pregnadien-11 $\beta$ ,21-diol-3,20-dion-21 se tratan al estado de epóxido 9,11 $\beta$ , del modo que se describe en el ejemplo 1 c)

Producto bruto, punto de fusión: 145-149°

$$\epsilon_{239} = 14\ 300$$

10 d) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluor-16 $\alpha$ -metil-1,4-pregnadien-11 $\beta$ -diol-3,20-dion-21

10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-9 $\beta$ ,11 $\beta$ -óxido-1,4-pregnadien-21-ol-3,20-dion-21 se tratan con ácido fluorhídrico del modo que se describe en el ejemplo 1 d). El producto bruto fué recristalizado a partir de acetato de etilo.

15 Punto de fusión: 259/260-261,5°  $\epsilon_{237} = 16\ 400$

EJEMPLO 3 (Procedimiento 1)

a) Fabricación de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11 $\alpha$ ,21-diol-3,20-diona

20 Un fermentador de acero inoxidable de 50 litros de capacidad fué cargado con 30 litros de un caldo nutritivo compuesto de

- 4,4 % glucosa
- 1 % Cornsteep liquor
- 0,3 % NaNO<sub>3</sub>
- 0,1 % KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>



esterilizado por calentamiento de media hora hasta 120°, y después del enfriamiento fué inoculado con una suspensión esporífera de *Aspergillus ochraceus*, obtenida por lavado de un cultivo de mazorcas de 7 días ( 15 g maíz) aproximadamente con 100 ml de solución fisiológica.

Después de un aumento de 1 día a 30° bajo remoción (220 rpm) y aireación (1,65 m<sup>3</sup>/hora) simultáneas, se toman bajo condiciones estériles 1,8 litros del cultivo producido y se pasan a un fermentador de idéntico tamaño con 28,2 l de un caldo nutritivo de

1 % glucosa

1 % harina de soja.

7,5 g de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-21-ol-3,20-diona se disuelven al mismo tiempo en 100 ml de etanol, y bajo las mismas condiciones se fermentan durante unas 48 horas.

El curso de la fermentación se controla por tomas de muestra, las cuales se extraen con metilisobutilcetona. Los extractos se analizan por cromatografía de capa delgada.

Después de terminada la fermentación se termina la preparación del modo que se describe en el ejemplo 11 a) de la patente principal. El producto bruto puede ser recristalizado sin cromatografía a partir de acetato de etilo.

Punto de fusión: 178,5-179,5°       $\epsilon_{237} = 14\ 800$

b) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11 $\alpha$ , 21-diol-3,20-dion-21

10 g de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11 $\alpha$ ,21-diol-3,20-diona se disuelven en 20 ml de dimetilformamida, y bajo remoción simultánea se mezclan con 600 mg de  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y



8 ml de acetanhidrido. Después de remover reguidamente durante 2 horas a temperatura ambiente se vierte la solución reaccionante en agua. El precipitado resultante se aspira, se seca y se recristaliza a partir de acetato de etilo-éter isopropílico.

5 (Punto de fusión: 169,5-170°.  $\epsilon_{237} = 14\ 900$ )

c) Fabricación de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4,9-(11)-pregnadien-21-ol-3,20-dion-21

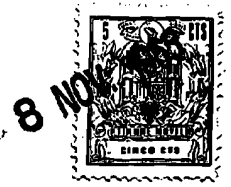
A una solución de 10 g de acetato de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-4-pregnen-11 $\alpha$ -21-diol-3,20-dion-21 en 100 ml de piridina se agregan a 20°C 4,22 g de bromoacetamida y luego se remueven durante 10 minutos. Después del enfriamiento hasta + 5°C, a esta temperatura se introduce gas SO<sub>2</sub> en la solución hasta que sea negativo el ensayo de la mezcla reaccionante con papel almidón de yoduro potásico. Durante la introducción de gas se precipita sustancia en la mezcla reaccionante. Se forma una espesa papilla cristalina. Para completar la precipitación, después de terminar la introducción de gas se agregan 200 ml de agua a - 10°. El precipitado se aspira después de reposar varias horas, se lava con ácido clorhídrico diluido para librarlo de la piridina y luego con agua a neutralidad. El producto bruto se recristaliza a partir de cloruro de metileno-acetato de etilo.

15  
20 Punto de fusión 160/65-68°  $\epsilon_{234} = 15\ 200$

Su tratamiento posterior se describe en el ejemplo 1 b) - e).

25 EJEMPLO 3 ( Procedimiento 2)

a) Fabricación de 6 $\alpha$ -fluor-16 $\alpha$ -metil-1,4-pregnadien-11 $\alpha$ ,21-diol-3,20-diona



7,5 g de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-4-pregnen- $11\alpha$ ,21-diol-3,20-diona se fermentan con *Bacillus lentus* tal como se describe en el ejemplo 1 c). El producto bruto puede ser recristalizado sin cromatografía a partir de acetato de etilo-éter isopropílico.

5 Punto de fusión: 255/257-260°  $\epsilon_{237} = 16\ 200$ )

b) Fabricación de acetato de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4-pregnadien- $11\alpha$ ,21-diol-3,20-dion-21

10 g de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4-pregnadien- $11\alpha$ ,21-diol-3,20-diona se acetilan selectivamente en posición 21 del modo que se explica en el ejemplo 3 b).

10 (Punto de fusión: 230/233-235°  $\epsilon_{237} = 15\ 800$ )

c) Fabricación de acetato de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4,9(11)-pregnatrien-21-ol-3,20-dion-21

15 10 g de  $6\alpha$ -fluor- $16\alpha$ -metil-1,4-pregnadien- $11\alpha$ ,21-diol-3,20-diona se deshidratan del modo que se describe en el ejemplo 3 c).

Punto de fusión: 164-165° ( a partir de metanol)  $\epsilon_{238} = 16\ 750$

El tratamiento posterior se realiza del modo que se describe en el ejemplo 2 c) - d).

20

N O T A

Se reivindica como nuevo y de propia invención.

1.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal núm. 273.764 sobre procedimiento para la fabricación de

$\Delta^{1,4}$ - $16\alpha$ -metil-esteroides, caracterizadas porque para la fabri-

25 cación de  $16\alpha$ -metil- $\Delta^{1,4}$ -pregnadien- $11\beta$ ,21-diol-3,20-dionas

$6\alpha$ ,  $9\alpha$ -difluoradas se someten al procedimiento de la patente prin



5 cipal a  $16\alpha$ -metil- $\Delta^4$ -pregnen-21-ol-3,20-dionas  $6\alpha$ -monofluoradas,  
y la introducción del fluor  $9\alpha$ -estable se realiza por métodos  
ya conocidos sólo después de realizada la 11-hidroxilación, espe-  
cialmente por transformación en el agrupamiento  $9\alpha$ -fluor-11 $\beta$ -  
hidroxi del grupo hidroxilo introducido en posición 11.

2.- MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE LA PATENTE FINE  
CIRAL NÚM. 273.764 SOBRE PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACIÓN DE ESTER-  
VOS  $\Delta^{1,4}$ - $16\alpha$ -ESTERANOIDES".

10 Tal como se describe y reivindica en la presente Memoria  
Descriptiva que consta de dieciseis hojas escritas a máquina por  
una sola cara.

Madrid, 8 de Noviembre 1.963

CARLOS FERNÁNDEZ CANDELA  
P. P.