

Caso 1761



322893

PATENTE DE INVENCION

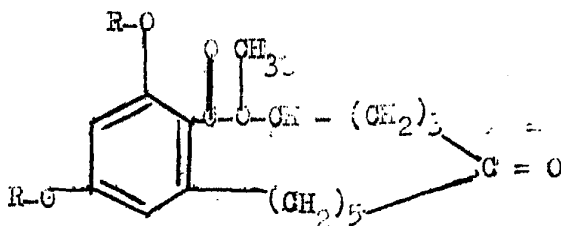
por 20 años

por "Un procedimiento para la preparaci3n del 6cido mu-lactona
6-(10-hidroxi-6-oxoundecilo)-beta-resorc6clico y los 6teres
2,4 del mismo" - - - - -

a favor de: COMMERCIAL SOLVENTS CORPORATION, de nacionalidad
norteamericana, domiciliada en: 260, Madison Avenue, NEW YORK,
New York (Estados Unidos de Am6rica del Norte).

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invenci3n se refiere a los compuestos que pre-
sentan actividad estr3gena o ayudan a incrementar el grado de
desarrollo de los animales productores de carne, por ejemplo
ganado, cordero, cerdo y tiene por objeto la obtenci3n de un
5 compuesto de este tipo cuya f3rmula convencional es





en la cual R es hidrógeno, alquilo sustituido o insustituido, por ejemplo alquilo inferior tal como metilo, etilo, hexilo, entre otros, pero se prefiere el hidrógeno. Son también estudiados compuestos que tienen la fórmula citada en la cual R es
5 arilo sustituido o insustituido, por ejemplo fenilo y bromofenilo, acilo, por ejemplo acetilo y valerilo y aralquilo, por ejemplo bencilo.

Los compuestos pueden ser administrados a los animales por cualquier método incluido el oral y parenteral. Por ejemplo, el
10 compuesto puede ser mezclado con el usual alimento conteniendo valores nutritivos en una cantidad suficiente para producir el grado deseado de desarrollo y puede de este modo ser directamente alimentado a los animales, o el compuesto puede ser suspendido en un conveniente medio de suspensión inyectable tal como acei-
15 te de cacahuete e inyectado parenteralmente. La cantidad de compuestos alimentado a un animal, por supuesto, varía dependiendo del mismo animal, el grado deseado de desarrollo, entre otras cosas.

Cuando los nuevos compuestos son para ser administrados con los alimentos, una composición de alimento, para animales puede
20 ser preparada conteniendo las cantidades equilibradoras nutricionalmente de carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, junto con el compuesto de la invención. Algunos de estos usuales elementos son granos, tal como grano molido y productos de granos; substancias proteína animal, tales como aquellas fundadas
25 en harina de pescado y pedazos de carne; proteínas vegetales como harina y aceite de haba, o harina y aceite de cacahuete; materiales vitamínicos, por ejemplo mezclas de vitamina A y D; suplementos de rivo flavina y otros elementos complejos de vitamina B; y harina de hueso y piedra de cal para suministrar minerales.



centígrados a 40 grados centígrados, y presiones normales ya que solamente se requiere la presencia de hidrógeno; no obstante se prefiere emplear una presión elevada, por ejemplo de cerca 1 a 50 atmósferas de hidrógeno.

5 En los compuestos obtenidos por el método de la presente invención en los cuales R es alquilo, puede emplearse un procedimiento convencional de alquilación para substituir el átomo de H de uno o ambos grupos OH del anillo de benceno de F.E.S. con un grupo alquilo. Los compuestos dihidroalcoholados F.E.S. 10 pueden obtenerse, por ejemplo, por alquilación primero del F.E.S. y luego reduciendo como se ha explicado antes, o por reducción primero y luego alquilación. La alquilación puede ser por reacción con los correspondientes sulfatos dialquilo, por ejemplo, sulfato de dimetilo, sulfato de dietilo, entre otros, 15 para producir el dialquilo F.E.S. o un monoalquilo F.E.S. con el grupo alquilo sustituyendo el hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo de benceno orto para el grupo éster. Además, un compuesto monometilo F.E.S. con el grupo metilo sustituyendo el hidrógeno del grupo hidroxilo para para el grupo éster puede ser 20 producido selectivamente empleando diazometano.

La substancia estrógena de fermentación (F.E.S.) es así denominada porque un método conveniente para la producción es por cultivo, en un medio nutritivo adecuado, del organismo Gibberella 25 zeae (Gordon) depositado bajo el nº NRRL-2830 en el Northern Utilization Research and Development División del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América.

Los ejemplos siguientes se dan para ilustrar esta invención no obstante, el método de la invención no se limita a los materiales y cantidades especificados. El primer ejemplo ilustra la

322893



- 5 -

preparación de una inoculación conveniente conteniendo el organismo Gibberella zeae (Gordon) NRRL-2830.

EJEMPLO I

Un cultivo de arena de esporos conteniendo Gibberella
5 zeae (Gordon) NRRL-2830 fué asépticamente colocado en un tubo
estéril conteniendo 15 mililitros de solución Czapek's-Dox y una
pequeña cantidad de agar. Este medio fué luego incubado durante
168 horas a aproximadamente 25 grados centígrados. Al final del
10 periodo de incubación, el medio fué lavado con 5 mililitros de
agua desionizada estéril y transferido a un tubo estéril conte-
niendo 45 mililitros de solución Czapek's-Dox. Los contenidos del
tubo fueron entonces incubados durante cerca 86 horas a cerca 25
grados centígrados después de lo cual el material fué utilizable
para usar en la inoculación del medio de fermentación.

15 El ejemplo siguiente ilustra la fermentación del organismo
Gibberella zeae (Gordon) NRRL-2830 para producir F.M.S.

EJEMPLO II

En un frasco de 2 litros fueron adicionados 300 gramos de
grano finamente dividido. El frasco y sus contenidos fueron lue-
go esterilizados y después se añadieron 150 mililitros de agua
desionizada estéril. A la mezcla del frasco fueron entonces adi-
20 cionados 45 mililitros del inculador preparado por el proceso
del Ejemplo I y el material fué totalmente mezclado. El material
mezclado fué luego incubado durante 20 días a 25 grados centígra-
dos en una cámara oscura en una atmósfera saturada de humedad.

El ejemplo siguiente ilustra la recuperación del F.M.S.
25 del medio de fermentación.



EJEMPLO III

Una porción de 300 gramos de material de fermentación producido por el método del Ejemplo II fué colocada en 500 mililitros de agua desionizada y pastada. La pasta fué entonces calentada durante 15 minutos a 75 grados centígrados, 300 gramos de adyuvante de filtración fueron luego adicionados y el material fué filtrado. El material filtrado sólido conteniendo la sustancia anabólica fué luego secado al aire, y 333 gramos de la torta secada fueron entonces extraídos con 500 mililitros de etanol. Este proceder fué repetido tres o más veces. El extracto de etanol fué evaporado por sequedad bajo vacío para dar 6,84 gramos de material sólido. Este material sólido fué luego disuelto en 20 mililitros de cloroformo y extraído con 30 mililitros de una solución acuosa conteniendo 5 por ciento por peso de carbonato sódico teniendo un pH ajustado a cerca 11.2. El proceso de extracción fué repetido siete o más veces. El pH del extracto carbonato sódico fué entonces ajustado a 6.2 con ácido clorhídrico, para producir un precipitado conteniendo sustancia anabólica. El precipitado y el extracto acuoso carbonato sódico fueron entonces cada uno en turno extraídos con 75 mililitros de éter etílico. Este proceder fué repetido tres o más veces para producir una solución etérea amarilla clara, la cual fué entonces evaporada para producir 116 miligramos de sustancia anabólica sólida. Este material fué entonces sometido a una distribución contracorriente de transferencia múltiple empleando 100 tubos y un sistema disolvente de dos partes de cloroformo y dos partes de tetracloruro de carbono como la fase inferior y cuatro partes de metanol y una parte de agua como la fase superior, todas las partes por volumen. El material sólido obtenido de la distribución contracorriente de transferencia



múltiple fué F.E.S.

EJEMPLO IV

Dos porciones de 10 gramos de F.E.S. cada una de 200 mililitros de ácido acético fueron reducidas a temperatura normal en presencia de 1.2 gramos de catalizador PdO a una presión de hidrógeno de cerca 3.16 kilogramos por centímetro cuadrado. Las mezclas de reducción combinadas fueron calentadas hasta la ebullición, filtradas y la torta de filtro fué lavada con 50 mililitros de ácido acético caliente. El filtrado enfriado fué adicionado, con agitación, a 2 litros de agua. La mezcla fué agitada durante 15 minutos y el sólido blanco fué recogido por filtración, lavado y secado en un desecador de vacío para producir 19.1 gramos de dihidro F.E.S. teniendo un punto de fusión de 191-193 grados centígrados.

EJEMPLO V

En un aparato que consiste en un frasco Erlenmeyer de 50 mililitros con un brazo lateral que comunica con un manómetro a través de una llave de cierre de tres vías fueron colocados 20 mililitros de etanol, 0.5 mililitros de ácido cloroplatínico al 10 por ciento, 2.5 mililitros de solución de borohidruro sódico 1M etanólico, y luego 2 mililitros de ácido 6N hidróclórico para formar un catalizador activo de platino. Al cabo de un minuto fueron adicionados 0.20 gramos de F.E.S., y luego una adición de borohidruro sódico 1M en una proporción tal como para mantener la presión atmosférica. Alrededor de 4 mililitros fueron adicionados. Esto fué repetido dos veces, y el etanol de cada una de las veces pasadas fué filtrado, concentrado a cerca 2 mililitros, y filtrado para dar 0.14 gramos de cristales fundiendo a 180-186 grados centígrados. Los cristales



de las dos veces fueron combinados, disueltos en 5 mililitros de etanol caliente, un poco del etanol fué evaporado, y los cristales filtrados para dar 0.10 gramos de dihidro F.E.S. teniendo un punto de fusión de 189-190 grados centígrados. El análisis fué el siguiente:

	Calculado ($C_{18}H_{24}O_5$)	Encontrado
% C	67.5	67.4
% H	7.50	7.68

EJEMPLO VI

La reducción de F.E.S. fué conducida con etanol empleando 50 psi de hidrógeno y una pequeña cantidad de 5% Pd en carbón catalizador durante cerca 3 horas para producir dihidro F.E.S.

La producción de dimetilo dihidro F.E.S. es ilustrada por el Ejemplo siguiente.

EJEMPLO VII

Dihidro F.E.S. (556 miligramos) fué disuelto en 25 mililitros al 10% de NaOH y 10 mililitros de agua y la solución fué agitada. A la solución agitada fueron adicionados en tres veces dos mililitros de sulfato de dimetilo con media hora de intervalos seguidos de agitación durante una hora adicional. La mezcla fué ácida y fué hecha alcalina por adición de 10 mililitros de 10 por ciento de NaOH y la mezcla alcalina fué agitada durante media hora. El sólido formado fué recogido por filtración, lavado con agua y secado en un desecador de vacío. El producto pesaba 526 miligramos y fundía a 115-117 grados centígrados. La re-cristalización de una mezcla de 10 mililitros de agua y 25 mililitros de etanol proporcionó 371 miligramos de material teniendo un punto de fusión de 124-125,5 grados centígrados, el cual fué analizado con los siguientes resultados.

322893



- 9 -

	Calculado ($C_{20}H_{28}O_5$)	Encontrado
% C	68.95	69.02
% H	8.10	8.12
% CH_3O	17.81	17.81

5 El ejemplo siguiente ilustra la producción de monometilo y dimetilo dihidro F.E.S. teniendo el monometilo dihidro F.E.S. un grupo metilo que sustituye el hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo de benceno orto para el grupo ester.

EJEMPLO VIII

Sulfato de dimetilo (5 mililitros) fué adicionado a una
 10 solución de 2.24 gramos de F.E.S. en 80 mililitros de una so-
 lución 10 por ciento de NaOH y 20 mililitros de agua. La mez-
 cla fué agitada durante media hora a 18-20 grados centígrados
 (baño frío) y una adición de 5 mililitros de sulfato de dime-
 tilo fué adicionada. Después de una agitación adicional de 70
 15 minutos a 20-26 grados centígrados, el sólido precipitado, Sólido
 A fué recogido por filtración, lavado con agua y secado.
 El filtrado de Sólido A fué acidificado con 25 mililitros
 12N H_2SO_4 para producir un segundo precipitado, Sólido B, el
 cual fué recogido, lavado con agua y secado.

20 El Sólido A (0.79 gramos teniendo un punto de fusión 114-
 118 grados centígrados) fué recristalizado de una mezcla de
 10 mililitros de agua y 15 mililitros de etanol para producir
 0.66 gramos de dimetilo F.E.S. teniendo un punto de fusión de
 108-110 grados centígrados.

25 El Sólido B (1.39 gramos teniendo un punto de fusión de
 152-162 grados centígrados) fué recristalizado dos veces de una
 mezcla de agua y alcohol para producir 0.80 gramos de monometilo
 F.E.S. teniendo un punto de fusión de 169-174 grados centígra-



dos.

El análisis del Sólido B mostró:

	Calculado ($C_{19}H_{24}O_5$)	Encontrado
% C	68.65	67.97
5 % H	7.28	7.16
% OMe	9.34	9.28

El enlace olefínico de cada uno de dimetilo F.E.S. y monometilo F.E.S. es reducido según el proceder del Ejemplo VI.

EJEMPLO IX

El monometilo F.E.S. con el grupo metilo sustituyendo
 10 el hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo de benceno para
 para el grupo ester fué preparado por el proceder siguiente.

Nitrosometilurea en una cantidad de 1.2 gramos fué lentamente
 adicionada en una mezcla fría de 3,6 mililitros de 50
 por ciento de hidróxido potásico y 17 mililitros de éter. Después
 15 de pocos minutos la capa de éter amarilla de la mezcla fué
 decantada, secada sobre hidróxido potásico, y luego adicionada
 a una solución de 0.30 gramos de F.E.S. en 17 mililitros de
 éter. La mezcla amarilla resultante fué dejada durante la noche
 en un amplio frasco tapado y luego fueron evaporados el
 20 éter y el diazometano empleando un baño de vapor. El residuo
 gomoso restante fué cristalizado por adición de 3 mililitros
 de agua, calentando a 60 grados, centígrados, y adicionando
 etanol casi a solución. Con enfriamiento, se formaron cristales
 produciendo 0.37 gramos de un producto teniendo un punto de
 20 fusión de 111-116 grados centígrados, el cual fué recristalizado
 del mismo modo para producir 0.082 gramos de monometil F.E.S.
 teniendo un punto de fusión de 120-122 grados centígrados, y



analizando dió lo siguiente:

	Calculado (C ₁₉ H ₂₄ O ₅)	Encontrado
% C	68.7	68.3
% H	7.28	7.38
% OCH ₃	9.34	9.17

5 El enlace olefínico de este compuesto es reducido según el proceder del Ejemplo VI.

El ejemplo siguiente demuestra la actividad de los nuevos compuestos de acuerdo con la prueba de uterino de ratón. Bajo la prueba uterino de ratón una solución de la substancia de prueba es colocada en una parte tipo ratón pulverizada y el disolvente es separado por evaporación para suministrar una ración seca conteniendo un conocido peso de la substancia por gramo de ración. Esta ración es entonces alimentada para ova-

10 rictomizar ratones pesando cerca 20 gramos a un nivel de 3 gramos por ratón por día durante un periodo de 5 días, después de lo cual los ratones son pesados y los úteros separados y pesados. Un incremento en el peso de los úteros respecto al peso de los úteros de un animal de control demuestra la presencia de actividad estrogénica de la substancia de prueba.

15 La magnitud del aumento es proporcional al peso del estrógeno consumido. El método puede ser empleado como un ensayo cuantitativo por comparación con respuestas obtenidas con una forma pura de estrógeno bajo examen.

20

EJEMPLO X

La actividad estrogénica del dihidro F.E.S. se muestra por la prueba uterino de ratón siguiente implicando 10 ratones con los ratones control teniendo un peso de úteros por término medio de 11.6 miligramos. Cuando el compuesto fué adicionado a un ni-

25

322893



- 12 -

vea de 6.25 microgramos por gramo de alimento, el peso de los
úteros fué 16.7 miligramos por término medio. Por 12.5 microgra-
mos por gramo de alimento, el peso de los úteros por término
medio fué 25.4 miligramos. Mientras que comparado con F.E.S.
5 a niveles de 6.25 y 12.5 microgramos por gramo de alimento, es-
tas cantidades aumentan el peso de los úteros por término medio
en cerca, 16 miligramos con el nivel de 6.25 y 2.9 miligramos con
el nivel de 12.5. El aumento de respuesta como un por ciento de
la respuesta para F.E.S. al mismo nivel fué 103.24 por ciento
10 al 6.25 de nivel y 126.6 por ciento al 12.5 de nivel.

EJEMPLO XI

El compuesto dihidro F.E.S. fué dado a ratones siguiendo
la prueba uterino de ratón del Ejemplo I. A un nivel de 25 micro-
gramos por gramo de alimento, el peso de los úteros por término
15 medio fué 39.4 miligramos el cual era 178.05 por ciento de la
respuesta para F.E.S. al mismo nivel.

EJEMPLO XII

Seis cabezas de ganado son alimentadas con una ración dia-
ria que comprende una mezcla de paja de alfalfa y mazorcas de
20 grano de maiz conteniendo de 1 a 20 onzas de dihidro F.E.S. por
cien libras de ración para incrementar la proporción de desarro-
llo del ganado.

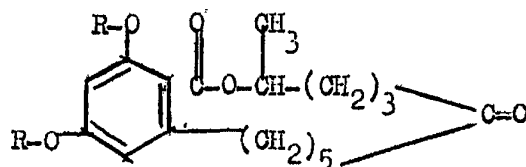
N O T A

Por la patente de invención a que se refiere la presente
25 memoria descriptiva se REIVINDICA la propiedad y la explotación
exclusiva de:

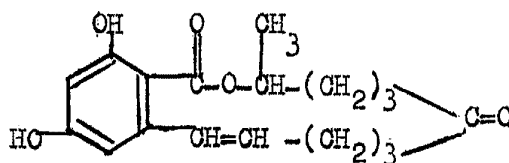
322893



1.- Un procedimiento para la preparación del ácido mu-lactona 6-(10-hidroxi-6-oxoundecilo)-beta-resorcíclico y los éteres 2,4 del mismo teniendo la formula:



5 en la cual R es elegida de un grupo que consiste de hidrógeno y un alquilo inferior el cual comprende el sometimiento de un compuesto A que tiene la fórmula:



10 a hidrogenación bajo condiciones de hidrogenación suficientes que solamente reduzcan el enlace olefínico por adición de dos átomos de hidrógeno, compuestos en los cuales a lo menos uno de los átomos de hidrógeno de los grupos hidroxilo en el anillo de benceno es sustituido por un grupo alquilo empleando un agente de alquilación bajo suficientes condiciones de alquilación.

15 2.- Un método, tal como el especificado en 1, en el que la hidrogenación es conducida en presencia de un metal del grupo VIII; compuestos en los cuales el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo de benceno orto para el grupo ester es sustituido por un grupo alquilo empleando como agente de alquilación sulfato dialquilo en un medio líquido; compuestos en los cuales el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo de benceno para para el grupo éster es sustituido por un grupo alquilo empleando como agente de alquilación un diazoalcano.

20

25

322893



- 14 -

3.- "Un procedimiento para la preparación del ácido mu-lac-
tona 6-(10-hidroxi-6-oxoundecilo)-beta-resorcíclico y los éteres
2,4 del mismo".

Consta la presente memoria descriptiva de catorce hojas
foliadas, escritas por una sola cara.

Barcelona, 1 de Febrero de 1966.

E. J. M. M. D. O.
p. p.