

Caso 1699



322894

PATENTE DE INVENCION

por 20 años

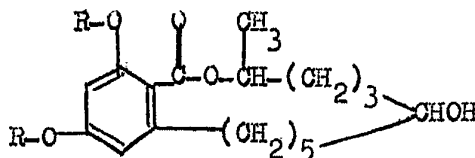
"Un procedimiento para la preparación del ácido mu-lactona
6-(5,10-dihidroxiundecilo)-beta-resorcílico y los éteres 2,4
del mismo" - - - - -

a favor de: COMMERCIAL SOLVENTS CORPORATION, de nacionalidad norte-
americana, domiciliada en: 260, Madison Avenue, New York, New York,
(Estados Unidos de América del Norte).

- - - - -

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a los compuestos que pre-
sentan actividad estrógena o ayudan a incrementar el grado de
de desarrollo de los animales productores de carne, por ejemplo
ganado, cordero y cerdo y tiene por objeto la obtención de unos
5 compuestos de este tipo cuya fórmula convencional es



en la cual R es hidrógeno o alquilo sustituido o insustituido
por ejemplo un alquilo inferior tal como metilo, etilo, hexilo,
entre otros, pero se prefiere hidrógeno. Los compuestos que tienen



la indicada fórmula en la cual R es un arilo substituído o in-
substituído, por ejemplo fenilo y bromofenilo; acilo, por ejem-
plo acetilo y valerilo; y aralquilo, por ejemplo bencilo, son
también estudiados por la presente invención. Hay dos diastereoi-
5 someros de los compuestos de la presente invención y cuando R es
hidrógeno, uno es tres o cuatro veces más activo que el otro.
Los diastereoisomeros pueden ser distinguidos por el punto de
fusión y puesto que el de punto de fusión más elevado es menos
soluble en, por ejemplo, mezclas de agua con alcohol isopropilí-
10 co, los diastereoisomeros son separables.

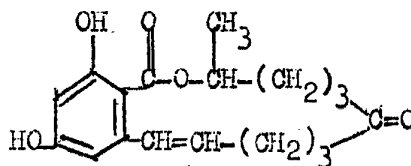
Los compuestos pueden ser administrados a los animales por
cualquier método incluido el oral y parenteral. Por ejemplo,
el compuesto puede ser mezclado con el usual alimento, conteniend-
do valores nutritivos en una cantidad suficiente para producir
15 el grado deseado de desarrollo y puede de este modo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

Cuando los nuevos productos son para ser administrados con
los alimentos; una composición de alimento para animales puede
ser preparada conteniendo las cantidades equilibradoras nutri-
25 cionalmente de carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales,
junto con los compuestos de la presente invención. Algunos de
estos usuales elementos dietéticos son granos, tal como grano
molido y productos de granos; substancias proteína animal tales
como aquellas fundadas en harina de pescado y pedazos de carne;



5 proteínas vegetales como harina y aceite de haba o harina y
aceite de cacahuate; materiales vitamínicos, por ejemplo mez-
clas de vitamina A y D, suplementos de rivotravina y otros ele-
mentos complejos de vitamina B; harina de hueso y piedra de cal
para suministrar minerales. Un tipo de material alimenticio
convencional para emplear con el ganado comprende forraje de
alfalfa y mazorcas de grano de maiz junto con sustancias vi-
tamínicas si se desea.

10 Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse
partiendo del compuesto



15 referido a continuación, como la substancia estrógena de fermen-
tación (F.E.S.) por reducción del enlace olefínico y el grupo
cetona en presencia de hidrógeno para adicionar cuatro átomos
de hidrógeno empleando procedimientos de reducción convenciona-
les, por ejemplo, en presencia de un catalizador de níquel Raney.
La nomenclatura usada aquí está basada en el compuesto F.E.S.
Por ejemplo, el compuesto producido por la reducción del enlace
olefínico y grupo cetona es referido como tetrahidro F.E.S. Los
compuestos de esta invención en los cuales ambas R's son alquilo
están referidos como dialquilo-, y en los que una de las R's
20 es alquilo como monoalquilo-, tetrahidro F.E.S.

La reducción de F.E.S. es de preferencia efectuada con el
F.E.S. en suspensión o disuelto en un disolvente apropiado, por
ejemplo un alcohol de preferencia un alcanol inferior tal como
metanol, etanol, entre otros. En general, la reducción puede ser



realizada a temperatura ambiente y a presión ambiente. De preferencia las temperaturas están comprendidas entre 15 y 40 grados centígrados y las presiones de preferencia lo están entre 1 a 100 atmósferas. En general, entre 0.1 a 5 gramos de catalizador se emplean por gramo de F.E.S.

En la obtención de compuestos de la presente invención en los que R es alquilo, puede emplearse un procedimiento de alquilación convencional para substituir el átomo de H de uno o ambos grupos OH en el anillo benceno de F.E.S. con un grupo alquilo.

Los compuestos tetrahidroalcoholados F.E.S. pueden obtenerse, por ejemplo, por alquilación del F.E.S. primero y luego reduciendo como se ha explicado antes. La alquilación puede ser por reacción con los correspondientes sulfatos dialquilo, por ejemplo sulfato de dimetilo, sulfato de dietilo, entre otros, para producir el dialquilo F.E.S. o un monoalquilo F.E.S. con el grupo alquilo substituyendo el hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo benceno orto del grupo ester. Además, un compuesto monometilo F.E.S. con el grupo metilo substituyendo el hidrógeno del grupo hidroxilo para por el grupo ester puede ser producido selectivamente empleando diazometano.

La substancia estrógena de fermentación (F.E.S.) es de esta manera denominada porque un método conveniente para producirla es por cultivo, en un medio nutritivo adecuado, el organismo Gibberella zeae (Gordon), depositada 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 pero no tienen carácter alguno limitativo de la misma respecto a los materiales en ellos especificados y cantidades. El primer



ejemplo ilustra la preparación de una conveniente inoculación que contiene el organismo Gibberella zeae (Gordon) NRRL-2830.

EJEMPLO I

Un cultivo de arena de esporas conteniendo Gibberella zeae (Gordon) NRRL-2830 fué acépticamente colocado en un tubo estéril conteniendo 15 mililitros de solución de Czapek's-Dox y una pequeña cantidad de agar. Este medio fué luego incubado durante cerca 168 horas a 25 grados centígrados. Al final del periodo de incubación, el medio fué lavado con 5 mililitros de agua desionizada estéril y transferido a un tubo estéril conteniendo 45 mililitros de solución de Czapek's-Dox. El contenido del tubo fué entonces incubado durante cerca 96 horas a cerca 25 grados centígrados, después de lo cual el material estuvo disponible para usarse en la inoculación de un medio de fermentación.

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

EJEMPLO II

En un frasco de 2 litros se colocaron 300 gramos de maiz finamente dividido. El frasco y su contenido fueron luego esterilizados y después de la esterilización le fueron adicionados 150 mililitros de agua desionizada estéril. A la mezcla del frasco le fueron entonces adicionados 45 mililitros del inoculador preparado por el procedimiento del Ejemplo I y el material fué mezclado a fondo. El material mezclado fué entonces incubado durante cerca 20 días a 25 grados centígrados en una cámara oscura en una atmósfera saturada de agua.

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



EJEMPLO III

Una porción de 300 gramos de material fermentado producido por el método del Ejemplo II fué colocada en 500 mililitros de agua desionizada y pastada. La pasta fué luego calentada durante cerca 15 minutos a 75 grados centígrados, 300 gramos de adyuvante de filtración fueron luego adicionados y el material fué filtra-
5 do. El material filtrado sólido conteniendo la substancia 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 etanol fué eva-
10 porado 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 en peso de carbonato sódico teniendo un pH ajustado a cerca 11.2. El proceso de extracción fué repeti-
15 do siete o más veces. El pH del extracto carbonato sódico fué entonces ajustado a 6.2 con ácido clorhídrico, para producir un precipitado conteniendo substancia 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
20 repetido tres o más veces para producir una solución etérea amarilla clara la cual fué entonces evaporada para producir 116 miligramos de substancia anabólica sólida. Este material fué entonces sometido a una distribución contracorriente de transferencia múltiple empleando 100 tubos y un sistema disolvente consistiendo de
25 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.

322894



- 7 -

Los siguientes ejemplos, Ejemplos IV a VI ilustran la reducción de F.E.S. para producir tetrahidro F.E.S.

EJEMPLO IV

El tetrahidro F.E.S. fué producido por disolución de 0.5 gramos de F.E.S. en 200 mililitros de etanol. El F.E.S. fué re-
 5 ducido por contactación de la solución con hidrógeno durante 3 horas a 30 grados centígrados y 70 kilogramos por centímetro cuadrado, empleando 2 gramos de níquel Raney como catalizador. Después de filtrada y concentrada la mezcla de reacción el pro-
 ducto fué lavado con 2 o 3 mililitros de 2-nitropropano y crista-
 10 lizado. Se ha comprobado tener un punto de fusión desde 143 a 160 grados centígrados.

EJEMPLO V

La reducción del F.E.S. fué conducida con metanol a 30 grados centígrados y una presión del hidrógeno de 70 kilogramos por centímetro cuadrado durante 5 horas empleando un catalizador
 15 de níquel Raney para suministrar un producto de fusión, después de varias cristalizaciones con 2-nitropropano y nitrometano, a 141-143 grados centígrados y analizando:

	Calculado ($C_{18}H_{26}O_5$)	Encontrado
% C	67.1	67.2
20 % H	8.14	8.28

EJEMPLO VI

La reducción de 1 gramo de F.E.S. fué conducida en 150 cen-
 tímmetros cúbicos de etanol a temperatura ambiente y a 3.51 kilo-
 gramos por centímetro cuadrado de presión de hidrógeno durante 4
 horas en presencia de una pequeña cantidad de níquel Raney (cer-
 25 ca de 1 centímetro cúbico de una suspensión densa en agua). El



producto fué concentrado, tratado con 5 mililitros de alcohol isopropílico, enfriado y filtrado. El filtrado fué mezclado con 5 mililitros de agua, dejado quieto a un lado durante la noche, enfriado y filtrado para suministrar 0.65 gramos de producto teniendo un punto de fusión de 147-157 grados centígrados. Este producto fué recristalizado desde mezclas de agua y alcohol isopropílico dos veces para suministrar 0.18 gramos de un producto teniendo un punto de fusión de 178-180 grados centígrados. Se recuperó también del filtrado un producto que tenía un punto de fusión de 146-148 grados centígrados, y que pesaba 0.22 gramos, después de la primera recristalización del producto que pesaba 0.65 gramos, La reducción del grupo cetona introduce un átomo de carbono asimétrico y hace posible los diastereoisómeros. Las actividades ópticas de los dos productos fueron (1) para el producto con punto de fusión de 178-180 grados centígrados $[\alpha]_D^{25} =$ cerca +46 grados, por ejemplo, +46.50 grados y (2) para el producto con punto de fusión de 146-148 grados centígrados $[\alpha]_D^{25} =$ cerca +39 grados, por ejemplo 38.75 grados, donde $[\alpha] = \frac{.100}{c.l}$, c = 1% de metanol y l = 2 decímetros.

El siguiente ejemplo ilustra la producción de monometilo y dimetilo tetrahidro F.E.S. El monometilo tetrahidro F.E.S. teniendo un grupo metilo el cual sustituye el hidrógeno del grupo hidróxilo en el anillo benceno orto por el grupo ester.

EJEMPLO VII

Sulfato de dimetilo (5 mililitros) fué adicionado a una solución de 2.24 gramos de F.E.S. en 80 mililitros de una so-



lución de hidróxido sódico al 10 por cien y 20 mililitros de agua. La mezcla fué agitada durante media hora a 18-20 grados centígrados (baño de enfriamiento) y se le añadió 5 mililitros adicionales de sulfato de dimetilo. Después de una agitación
 5 adicional de 70 minutos a 20-26 grados centígrados, el precipitado sólido, Sólido A, fué recogido por filtración, lavado con agua y secado. El filtrado de Sólido A fué acidificado con 25 mililitros de 12 N H_2SO_4 para producir un segundo precipitado, Sólido B, el cual fué recogido, lavado con agua, y secado.

10 El Sólido A (0.79 gramos teniendo un punto de fusión de 114-118 grados centígrados) fué recristalizado con 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.

15 El Sólido B (1.39 gramos teniendo un punto de fusión de 152-162 grados centígrados) fué recristalizado dos veces con 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 centígrados. El análisis del Sólido B mostró:

		Calculado ($C_{19}H_{24}O_5$)	Encontrado
20	% C	68.65	67.97
	% H	7.28	7.16
	% OMe	9.34	9.28

El enlace olefínico y grupo cetona del dimetilo F.E.S. y monometilo F.E.S. son reducidos según el proceder del Ejemplo VI.



EJEMPLO VIII

El monometilo F.E.S. con el grupo metilo sustituyendo el hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo benceno para por el grupo ester fué preparado por el siguiente procedimiento, y el enlace olefínico y grupo cetona fueron reducidos por el procedimiento del Ejemplo VI.

Nitroso-metilurea en una cantidad de 1.2 gramos fué lentamente adicionado a una mezcla fría de 3.6 mililitros de 50 por cien de hidróxido potásico y 17 mililitros de éter. Después de algunos minutos la capa amarilla de éter de la mezcla fué decantada, secada en hidróxido potásico, y luego adicionada a una solución de 0.30 gramos de F.E.S. con 17 mililitros de éter. La mezcla amarilla resultante fué dejada durante la noche en un amplio frasco tapado y luego el éter y diazometano fueron evaporados enteramente empleando un baño de vapor. El residuo restante gomoso fué cristalizado por adición de 3 mililitros de agua, calentando a 60 grados centígrados, y adicionando etanol casi para solución. Por enfriamiento se formaron cristales produciendo 0.137 gramos de un producto que tiene un punto de fusión de 111-116 grados centígrados, el cual fué recristalizado de la misma forma para producir 0.082 gramos de monometilo F.E.S. teniendo un punto de fusión de 120-122 grados centígrados y el siguiente análisis:

	Calculado (C ₁₅ H ₂₄ O ₅)	Encontrado
%C	68.7	68.3
%H	7.28	7.38
%OCH ₃	9.34	9.17

El siguiente ejemplo demuestra la actividad de los nuevos compuestos en la prueba uterino de ratón. Bajo la prueba uterino



de ratón; una solución de la substancia probada 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 ratón. Esta ración es
5 entonces alimentada para avarioctomizar 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
10 demuestra la presencia de actividad estrogénica de la substancia de prueba. 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 del estrógeno bajo examen.

15 En un ensayo empleando 10 ratones con ratones de control teniendo unos úteros con un peso por término medio de 11.6 miligramos, cuando el producto del Ejemplo VI que funde a 178-180 grados centígrados, fué adicionado a un nivel de 3.125 microgramos, por gramo de alimento, el peso de los úteros fué 21.4 miligramos por término medio. Con 6.25 microgramos por gramo de
20 alimento, el término medio del peso de los úteros fué 26.8 miligramos. Cuando comparado con F.E.S. a un nivel de 6.25 microgramos por gramo de alimento, éstos aumentan en 307.69 por ciento de la respuesta para F.E.S. Por extrapolación de un F.E.S. respuesta curva para un 3.125 microgramo por gramo de nivel de
25 alimento, la respuesta para el compuesto es 445.5 por ciento de la respuesta calculada para F.E.S.

En un ensayo separado empleando 10 ratones con ratones de control teniendo unos úteros de peso por término medio de 11.6



miligramos cuando el producto del Ejemplo VI, que funde a 146-
 148 grados centígrados, fué adicionado a un nivel de 3.125 mi-
 crogramos por gramo de alimento, el peso de los úteros fué 15.0
 miligramos en término medio. Cuando comparado con F.E.S. a un
 5 nivel de 6.25 microgramos por gramo de alimento, éstos aumentan
 en 123.9 por ciento de la respuesta para F.E.S. Por extrapolia-
 ción de un F.E.S. respuesta curva para un 3.125 microgramo por
 gramo de nivel de alimento, la respuesta para el compuesto es
 154.5 por ciento de la respuesta calculada para F.E.S.

10

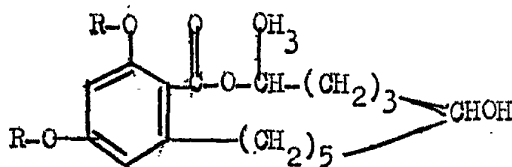
EJEMPLO IX

Seis cabezas de ganado son alimentadas con una ración
 diaria que comprende una mezcla de paja de alfalfa y mazarcas
 de grano de maiz conteniendo de 1 a 20 onzas de tetrahidro F.E.S.
 por cien libras de ración para incrementar la proporción de desa-
 15 rrollo del ganado.

N O T A

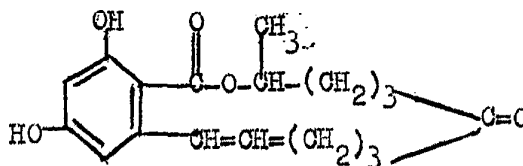
Por la patente de invención a que se refiere la presente
 memoria descriptiva se RESIVINDICA la propiedad y la explota-
 ción exclusiva de:

1.- Un procedimiento para la preparación del ácido mu-lac-
 20 tona 6-(6,10-dihidroxiundecilo)-beta-resorcíclico y los éteres
 2,4 del mismo, teniendo la fórmula





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



5 a hidrogenación bajo suficientes condiciones de reducción que solamente reduzcan el enlace olefínico y el grupo cetona por adición de cuatro átomos de hidrógeno; compuestos en los cuales el átomo de hidrógeno de a lo menos uno de los grupos hidroxilo del anillo de benceno es reemplazado por un grupo alquilo producido con un agente de alquilación bajo suficientes condiciones de alquilación.

10

2.- Un método, tal como el especificado en 1, en el que dichos compuestos el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo de benceno orto para el grupo éster es reemplazado por un grupo alquilo empleando como agente de alquilación sulfato dialquilo; comprendiendo las condiciones de reducción la presencia de un catalizador níquel Raney; y estando producidos dichos compuestos por conducción de la alquilación antes de dicha reducción.

15

3.- "Un procedimiento para la preparación del ácido mulactona 6-(6,10-dihidroxiundecilo)-beta-resorcíclico y los ésteres 2,4 del mismo".

Consta

322894



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

Barcelona, 1 de Febrero de 1966.

... ALBA
D. P.