

RAN 4104/109

40372



403723

SECCION TECNICA

CLASIFICACION I. P. C

CLASE _____

SUBCLASE _____

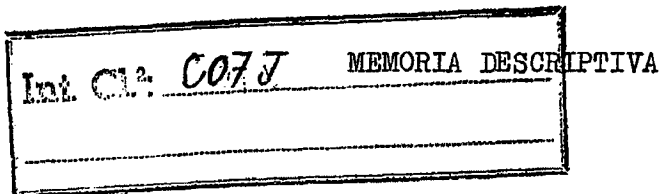
C E R T I F I C A D O

D E

A D I C I O N

por "MEJORAS EN EL OBJETO DE LA PATENTE PRINCIPAL Nº 386.503
por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE ESTEROIDES DE LA
SERIE DEL PREGNANO", a favor de la firma suiza F. HOFFMANN-LA
ROCHE & CIE. S.A., residente en BASILEA (Suiza).

= . =

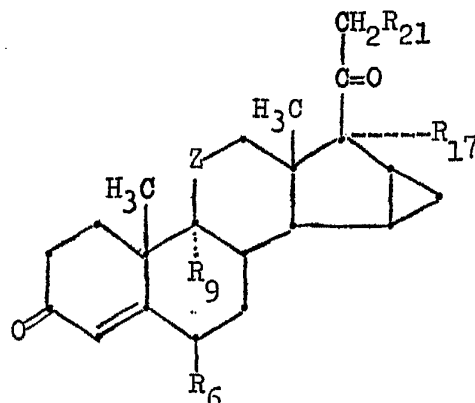


Este invento se refiere a un procedimiento
para la preparacion de esteroides de la serie pegnánica.

Más particularmente, el invento atañe a un
procedimiento para la preparacion de esteroides de la fór-

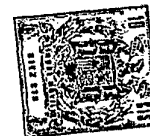
5. mula general

10.



(I)

403723



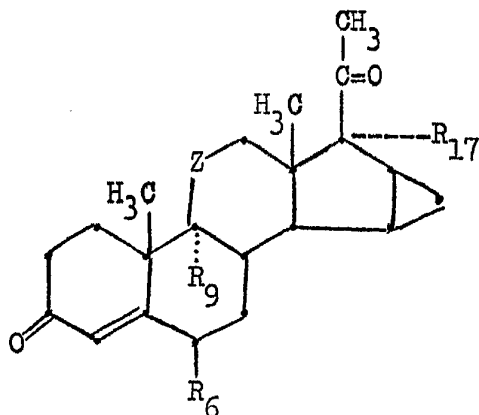
en la que

- R_6 y R_9 representan cada uno, independientemente, un átomo de hidrógeno, de flúor, de cloro o de bromo;
5. R_{17} y R_{21} representan cada uno, independientemente, un grupo de hidroxilo o aciloxilo;
- y
- Z representa un grupo de carbonilo o beta-hidroximetileno,
10. y de sus derivados 1,2-dehidro.
- Un grupo de aciloxilo contiene preferentemente el radical de un ácido carboxílico alifático o cicloalifático, saturado o insaturado, aralifático o aromático, que contiene a lo sumo 20 (y de preferencia a lo
15. sumo 12) átomos de carbono. Ejemplos de tales ácidos son el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido pivalico, el ácido propiónico, el ácido butírico, el ácido caproico, el ácido enántico, el ácido oleico, el ácido palmítico, el ácido esteárico, el ácido succínico, el ácido malónico,
20. el ácido fumárico, el ácido cítrico, el ácido ciclohexilpropiónico, el ácido fenilacético y el ácido benzoico.
- Según este invento, los esteroides de la fórmula I y sus derivados 1,2-dehidro se preparan:
- a) hidroxilando en la posición 21 un compuesto de la
25. fórmula general
-

403723



5.



(II)

en la que

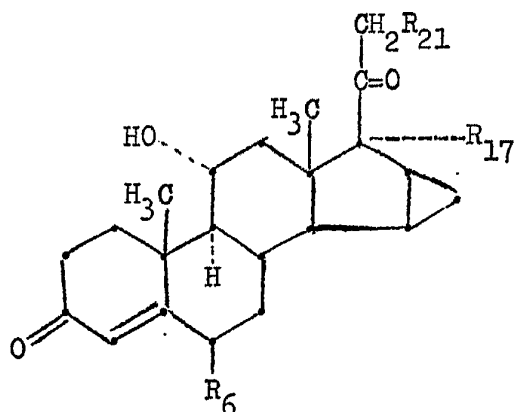
10. R_6 , R_9 , R_{17} y Z tienen el mismo significado que se les ha atribuido antes,

o un derivado 1,2-dehidro respectivo;

o bien

b) oxidando el grupo 11-hidroxílico de un compuesto de la fórmula general

15.



20.

(III)

en la que

25. R_6 , R_{17} y R_{21} tienen el mismo significado que se les ha atribuido antes,

o de un derivado 1,2-dehidro respectivo, para convertirlo en un grupo ceto.

403723

= 4 =

403723

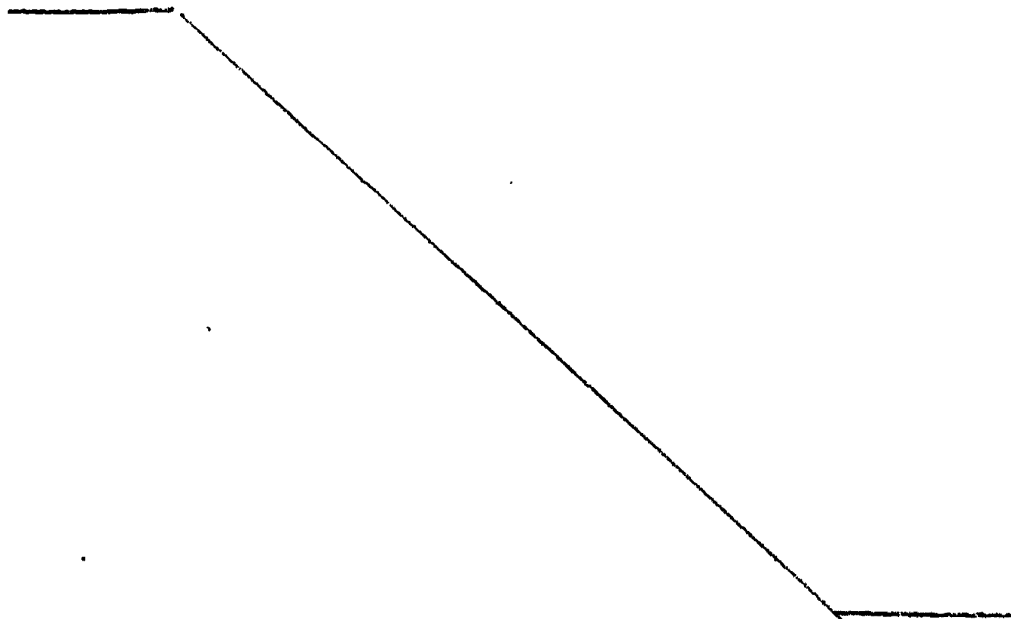
10 JUN 1967



La hidroxilación conforme a la modalidad a) del procedimiento puede realizarse convirtiendo un compuesto de la fórmula II, por tratamiento con yodo y una base (como el óxido de calcio), en el 21-diioduro y haciendo reaccionar éste con un acetato alcalino en ácido acético glacial. El compuesto 21-acetoxílico así obtenido puede luego saponificarse; por ejemplo, utilizando carbonato potásico metanólico.

La oxidación conforme a la modalidad b) del procedimiento puede realizarse utilizando agentes oxidantes como el ácido crómico (por ejemplo, reactivo de Jones) o utilizando piridina /trióxido de azufre (véase Fieser-Fieser, "Reagents for Organic Synthesis", Nueva York 1967, página 305).

Los materiales de partida de la fórmula II en los que R_6 representa un átomo de hidrógeno pueden prepararse según el Esquema Formulístico A:





Los respectivos materiales de partida de la fórmula II que están halogenados en la posición 6 se preparan halogenando un compuesto de la fórmula IV de manera conocida.

5. Los materiales de partida de la fórmula III pueden prepararse por hidroxilación microbiana de esteroides respectivos que estén insustituídos en la posición 11. Microorganismos apropiados para este fin son, por ejemplo:
10. Absidia regnieri y A. glauca
Aspergillus niger
Blakeslea trispora
Calonectria decora
Colletotrichum phomoides
15. Coniothyrium helleborine
Cunninghamella blakesleeana
Curvularia lunata y C. falcata
Fusarium solani, bulbigenum
Helicostylum piriforme
20. Helmistosporium sativum
Mucor hiemalis y M. parasiticus
Neurospora crassa
Nocardia lurida
Pestalotia foetans
25. Rhizopus arrhizus, Rh. nigricans, Rh. nidulans
Phycomyces blakesleeanus
Streptomyces fradiae
Trichothecium roseum
- La hidroxilación microbiana puede realizarse,



por ejemplo, de la manera siguiente:

- Un cultivo de agar inclinado, constituido por 10 % de azucar de caña en 100 cc de extracto de germen de malta y 2,2 % de agar, se inocula con Aspergillus ochraceus NRRL 405 y se incuba a 28°C durante 5 días.
5. Cuatro matraces de Erlenmeyer provistos de tabiques y que contienen 100 cc de un terreno nutritivo constituido por 5 % de glucosa, 2 % de Edamine y 0,15 % de corn steep liquor en agua desionizada se inoculan con una suspensión
10. de esporas del cultivo anterior. Antes de la inoculación, se esteriliza la glucosa separadamente del terreno. El pH se ajusta a 6,5 con hidróxido sódico. Estos cultivos, agitados, se incuban por 36 horas a 28°C.
- Se esteriliza un fermentador pequeño que
15. contiene 8 litros de terreno nutritivo de la misma composición que se ha usado en el cultivo agitado. Antes de la inoculación, se añaden estérilmente 400 g de glucosa en 1 litro de agua desionizada. Luego se inocula el fermentador con el contenido de los cuatro matraces sacudidos y a continuación se procede a incubar durante 36 horas,
20. agitando (400 rpm), a 28°C y aireando con 6 litros de aire por minuto. La formación de espuma que se produce se combate con aceite de maíz. Luego se disuelven 8 g de 17,21-dihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-
25. -diona en 60 cc de dimetilformamida y se añade la solución a la solución de cultivo. El curso de la fermentación se comprueba extrayendo muestras de la solución fermentante, por medio de acetato de etilo, y analizándolas por cromatografía de capa fina. La fermentación queda terminada al

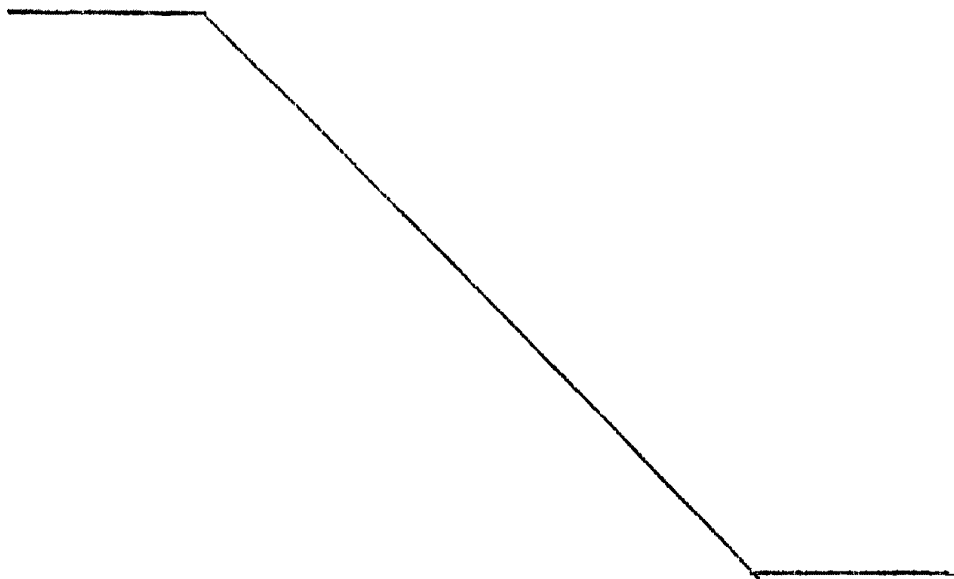
403723



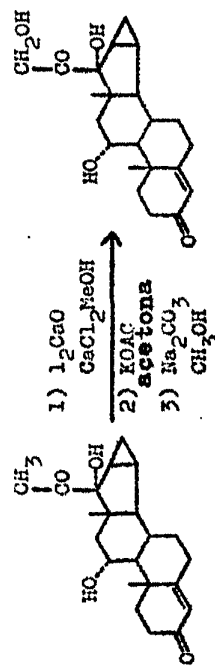
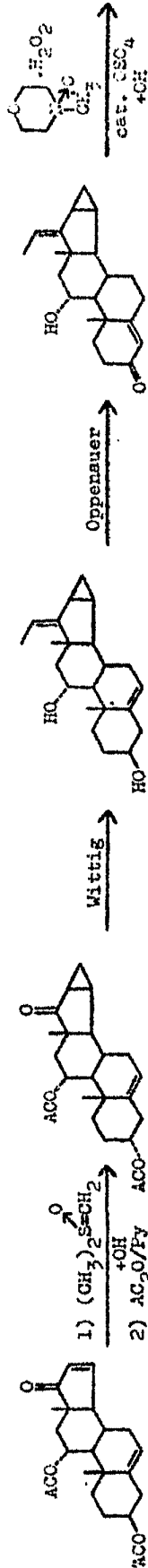
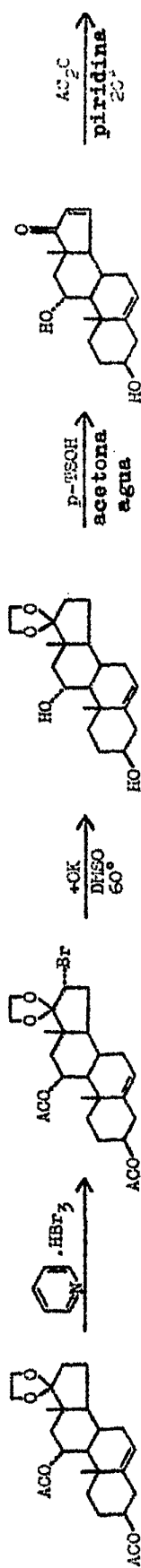
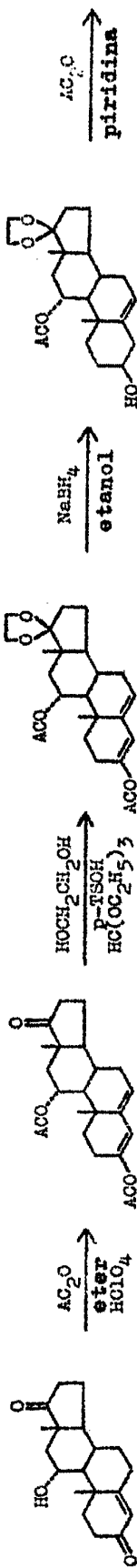
cabo de unas 37 horas.

- De la solución fermentativa se separa la masa de micelio por filtración del caldo de fermentación en Hyflo-Supercel, y se lavan los micelios seis veces con 1 litro de agua. El filtrado del cultivo que contiene el esteroide se une a las lavazas y se extrae todo ello cuatro veces con el mismo volumen cada vez de cloruro de metileno, en 15 minutos. Los extractos combinados se secan sobre sulfato sódico y se evaporan en vacío, a 45°C. Cromatografiando el residuo en una cantidad 30 veces mayor de gel de sílice, se obtienen 5,9 g de lialfa, 17,21-trihidroxi-15beta,16beta--metilen-pregn-4-en-3,20-diona pura eluyendo con éter/metanol (9:1); punto de fusión, 204-205°C (en acetona/éter isopropílico); $[\alpha]_D^{25} = +81^\circ$.

No obstante, los materiales de partida de la fórmula III pueden prepararse también por vía puramente química; por ejemplo, según el Esquema Formulístico B:



Esquema formulístico B



403723

10 JUN



11 10 11



Los esteroides de la fórmula I y sus derivados 1,2-dehidro tienen actividad endocrina, y en especial antiinflamatoria. Por ejemplo, en la prueba de fieltro y pella en la rata, se demuestra actividad inhibidora de la granulación por administración oral de 3 mg/kg de 11beta,17alfa,21-trihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-1,4-dien-3,20-diona y por administración subcutánea de 10 mg/kg de 11beta,17alfa,21-trihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona.

10. Los ejemplos que siguen ilustran este invento.

EJEMPLO 1

15. Agitando, se añadieron 10 g de óxido de calcio a una solución de 6,7 g de 11beta,17beta-dihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona en 50 cc de tetrahidrofurano y 30 cc de metanol. En el curso de una hora se añadió a gotas a esta mezcla una solución de 6,15 g de yodo en 17 cc de tetrahidrofurano, 7 cc de metanol y 2,0 cc de solución acuosa al 50 % de cloruro de calcio, mientras se enfriaba la mezcla a 0° y procediendo de modo que el yodo se fuera consumiendo continuamente. A continuación se agitó la mezcla a 0° por 4 horas más. Para la elaboración final, se la filtró, y el residuo retenido en el filtro se enjuagó bien con cloruro de metileno. Luego se virtió el filtrado en agua con hielo y se extrajo con cloruro de metileno. Este extracto se lavó con solución de tiosulfato sódico y con agua, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó en vacío. Se obtuvieron 9,2 g del 21-yoduro bruto, el cual se calentó en reflujo durante 2 horas con una mezcla de 200 cc de acetona, 60 cc de tri-



- tilamina y 40 cc de ácido acético. Se vertió la mezcla en agua con hielo, se extrajo con cloruro de metileno y el extracto se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó en vacío. Se obtuvieron 8,1 g del 21-acetato
5. bruto, que fué disuelto en 470 cc de metanol y tratado con una solución de 2,2 g de carbonato potásico en 70 cc de agua. Se agitó la mezcla a la temperatura del ambiente por 1 1/2 horas, se la trató luego con 3,5 cc de ácido acético glacial y se la vertió en solución saturada de
10. cloruro sódico. A continuación se extrajo con cloruro de metileno, se lavó neutramente con agua, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó en vacío. El residuo se trató en acetona con carbón activado y se recrystalizó en acetona/éter isopropílico. Se obtuvieron 4,0 g de 11beta,
15. 17alfa,21-trihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona pura, de punto de fusión 218-221°C.

EJEMPLO 2

- Se calentaron a 80°C por 10 horas 6,0 g de
20. 11alfa,17alfa,21-trihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona con 200 cc de dioxano, 4,5 cc de anhídrido acético y 2,0 cc de piridina. Se evaporó la mezcla en vacío, hasta sequedad, y se cromatografío el residuo en gel de sílice. Con hexano/acetona (3:1) se eluyeron 4,5 g de 11alfa,17alfa-dihidroxi-21-acetoxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona pura, de punto de fusión 219-
25. -221° C.

1,4 g de la 3,20-diona anterior de disolvieron en 20 cc de sulfoxido de dimetilo y se trató la solución con 7 cc de trietilamina. Se añadió a gotas,



- en el curso de 10 minutos, una solución de 4,3 g de complejo de piridina/trióxido de azufre en 20 cc de sulfóxido de dimetilo y se agitó la mezcla a la temperatura del ambiente por 2 horas. A continuación se la enfrió hasta
5. 5°C, se ajustó el pH a 4,5 por adición de ácido clorhídrico 5 N y se virtió la mezcla en agua. Se extrajo la mezcla con cloruro de metileno, se lavó el extracto con agua, se le secó sobre sulfato sódico y se evaporó el disolvente en vacío. Cromatografiando el residuo en SiO₂,
10. se aisló con hexano/acetona (3:1) 21-acetoxi-17alfa-hidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,11-20-triona pura.

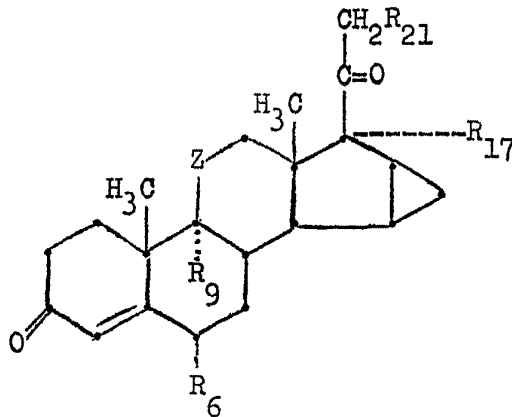
= .. =

REIVINDICACIONES

- Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente suiza nº 8514/71 del 11 de Junio de 1971.
- 15.

1. Mejoras en el objeto de la patente principal nº 386.503 por un procedimiento para la preparación de esteroides de la serie del pregnano de la fórmula general

20.



(I)

25.



en la que

R_6 y R_9 representan cada uno, independientemente, un átomo de hidrógeno, de flúor, de cloro o de bromo;

5. R_{17} y R_{21} representan cada uno, independientemente, un grupo de hidroxilo o aciloxilo;

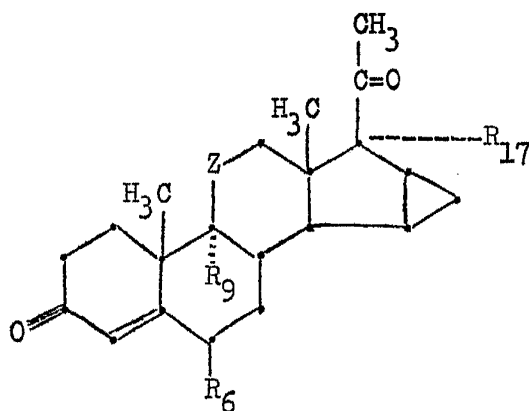
y

Z representa un grupo de carbonilo o beta-hidroximetileno,

10. y de sus derivados 1,2-dehidro, caracterizado por:

a) hidroxilarse en la posición 21 un compuesto de la fórmula general

15.



(II)

20. en la que

R_6 , R_9 , R_{17} y Z tienen el mismo significado que se les ha atribuido antes en esta reivindicación,

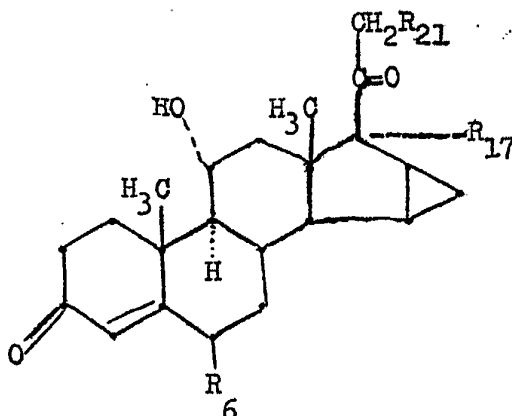
o un derivado 1,2-dehidro respectivo;

o bien

25. b) oxidarse el grupo 11-hidroxílico de un compuesto de la fórmula general



5.



10.

en la que

R_6 , R_{17} y R_{21} tienen el mismo significado que se les ha atribuido antes en esta reivindicación, o un derivado 1,2-dehidro respectivo, para convertirlo en un grupo ceto.

2. Mejoras, según la reivindicación 1, caracterizadas por usarse, en calidad de material de partida de la fórmula II, la 11beta,17beta-dihidroxi-15beta,16beta-metilen-pregn-4-en-3,20-diona o su derivado 1,2-dehidro.

3. Mejoras en el objeto de la patente principal nº386.503 por "Un procedimiento para la preparación de esteroides de la serie del pregnano".

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 14 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 10 de Junio de 1972

P.a.

JAIMÉ ISERN

Firmado: JOSE F. NIETO