

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

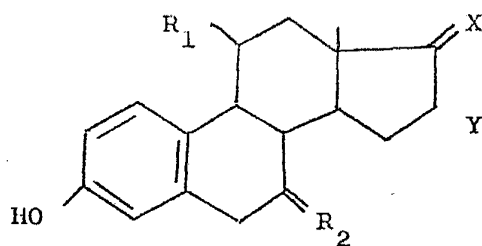
19 ES	11 21	NUMERO 448013	10 A1
	22	FECHA DE PRESENTACION 17. MAR. 1976	

P.- 63.076

PATENTE DE INVENCION

20 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
73-22114	18-6-73	Francia
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07J	Nº 427.318
54 TITULO DE LA INVENCION		
"PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE HAPTENOS ESTEROIDES"		
71 SOLICITANTE (S)		
ROUSSEL-UCLAF		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
35, Boulevard des Invalides, Paris 7 ^e , Francia.		
72 INVENTOR (ES)		
Vesperto Torelli y André Pierdet.		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE		
DON FERNANDO DE ELZABURU MARQUEZ		

El presente invento tiene por objeto la preparación de nuevos haptenos esteroideos de fórmula I:



(I)

en la cual X representa un átomo de oxígeno o el grupo

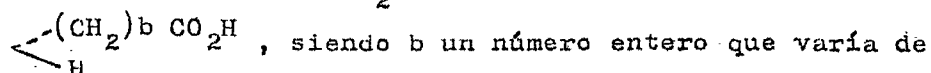


, Y representa un átomo de hidrógeno o el grupo OH

y bien R_1 representa un grupo $-(CH_2)_a CO_2H$, siendo a un número entero igual a $2n + 3$, siendo n igual a 0, 1 ó 2

y R_2 representa un grupo $\begin{array}{l} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$, o bien R_1 representa un

átomo de hidrógeno y R_2 representa un radical



3 a 18 o bien R_2 representa un grupo $=NZ-(CH_2)_c CO_2H$, representando Z un átomo de oxígeno o un grupo $-NHCONH-$, siendo c un número entero que varía de 1 a 8.

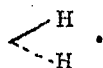
El radical $-(CH_2)_a CO_2H$ representa preferiblemente el resto de ácido butírico, pentílico o hexílico.

El radical $-(CH_2)_b CO_2H$ representa preferiblemente el resto de un ácido alcanóico que comprende de 4

a 12 átomos de carbono como ácido butírico, isobutírico, pentílico, undecílico o dodecílico.

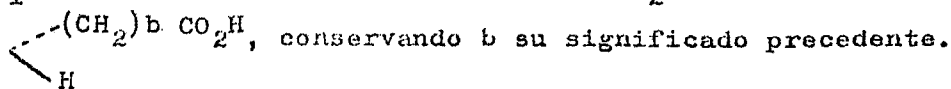
El radical $(\text{CH}_2)_c \text{CO}_2\text{H}$ representa preferiblemente el resto de un ácido carboxílico alifático, que contiene de 2 a 5 átomos de carbono por ejemplo ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico o pentílico.

El invento se refiere más particularmente a la preparación de haptenos que responden a la fórmula I en la cual R_1 representa un radical $-(\text{CH}_2)_a \text{CO}_2\text{H}$, a conserva su significado precedente y R_2 representa el grupo



Entre estos haptenos se pueden citar particularmente el ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico y el ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico.

El invento se refiere igualmente a la preparación de haptenos que responden a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo



Entre estos haptenos, se pueden citar más particularmente:

- el ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico

- el ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -

butírico

- el ácido 3,16 α -17 β -trihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico
- el ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico.

El invento también se refiere a la preparación de haptenos que responden a la fórmula I en la cual R₁ representa un átomo de hidrógeno y R₂ un grupo =NZ-(CH₂)_cCO₂H.

Entre estos haptenos, se pueden citar más especialmente:


- la 7-carboximetoxiimino-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol
- la 7-carboximetoxiimino-3-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-17-ona
- la 4'-carboximetil-2'-semicarbazona de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7-ona.

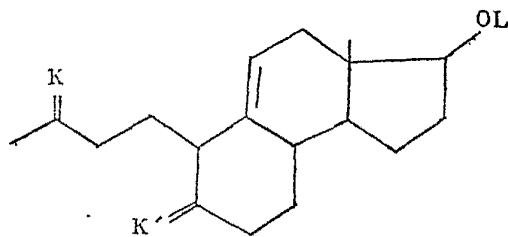
El invento se refiere igualmente a la aplicación de los haptenos de fórmula I a la preparación de antígenos.

El invento se extiende principalmente a la aplicación de haptenos de fórmula I, caracterizado porque se transforma un hapteno de fórmula I en anhídrido mixto con ayuda de un haloformiato de alcohol y particularmente con ayuda de cloroformiato de isobutilo y porque se fija este anhídrido sobre albúmina de suero de vaca.

Nás adelante en la parte experimental se da un ejemplo de preparación de tal antígeno. A partir de estos antígenos es posible preparar anticuerpos según los métodos clásicos y principalmente el método de ERLANGER J. Biol. Chem. 228, 7 13.

Los anticuerpos así obtenidos son específicos de los esteroides de fórmula I, en la cual R_1 , X, Y y R_2 son como se han definido anteriormente; por ejemplo pueden ser específicos de la estrona, del estradiol o del estriol. Esta especificidad se pone de manifiesto según los métodos clásicos y principalmente el método de diálisis en el equilibrio. Esta especificidad hace a los anticuerpos así obtenidos utilizables como agentes de valoración de los productos de fórmula I, y más particularmente la estrona, el estradiol o el estriol, y ya se sabe cuanto interés hay en poder valorar el índice de estriol en la sangre y la orina de la mujer embarazada, lo que permite descubrir eventualmente ciertas anomalías del feto.

El procedimiento de preparación de los compuestos de fórmula I, en la cual R_1 representa un grupo $-(CH_2)_n$ a COOH y R_2 un grupo , se caracteriza porque se somete un compuesto de fórmula II:

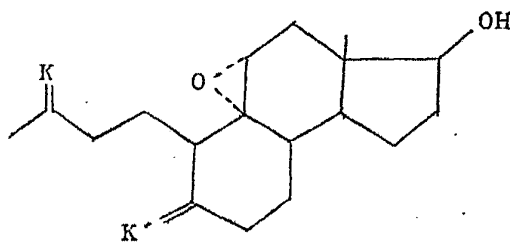


(II)

5

en la cual K y K' representan una función cetona bloqueada en forma de cetal y L representa a un radical acilo, a la acción de un agente de epoxidación, y luego a la de un agente de saponificación, obteniéndose el compuesto de fórmula III:

10



(III)

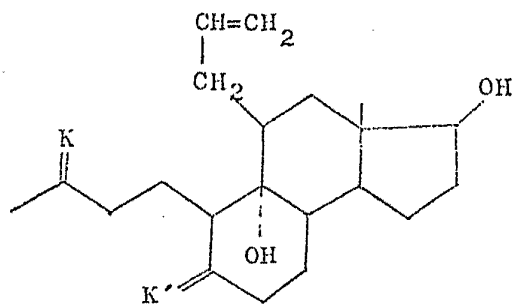
15

que se somete a la acción de un halogenuro de alil-magnesio, obteniéndose el compuesto de fórmula IV:

20

25

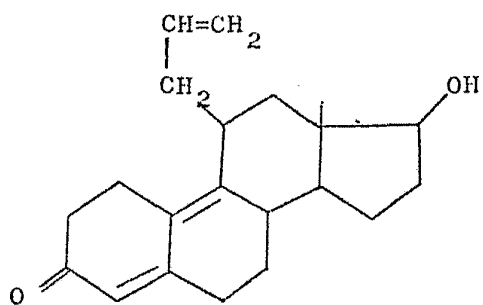
6.6.74



(IV)

5

que se somete a la acción de un agente de descetalización y luego a la de un agente de ciclización, obteniéndose el compuesto de fórmula V:

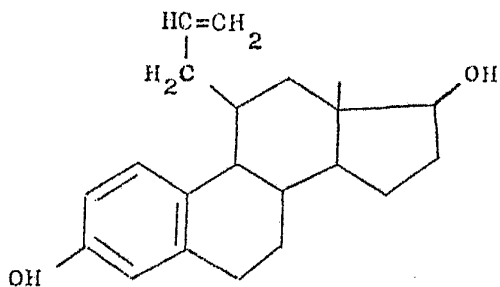


(V)

10

15

que se somete a la acción de un agente de aromatización, obteniéndose el compuesto de fórmula VI:

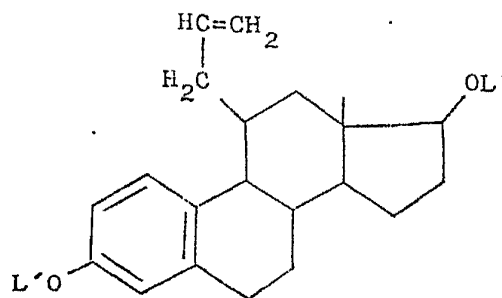


(VI)

20

25

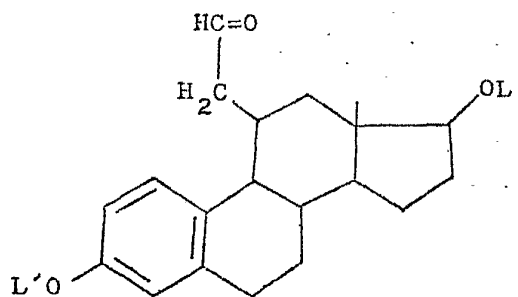
en el cual se bloquean las funciones hidroxilos en forma de éster, obteniéndose el compuesto de fórmula VII:



(VII)

10

en la cual L' representa un radical acilo, se somete el compuesto de fórmula VII a una reacción de ozonólisis, obteniéndose el compuesto de fórmula VIII:

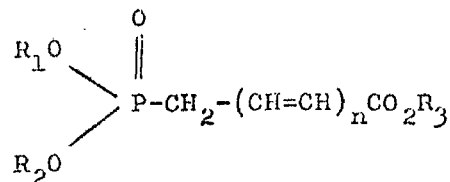


(VIII)

20

que se somete a la acción de un dialcoholfosfono-acilato de alcoholilo de fórmula:

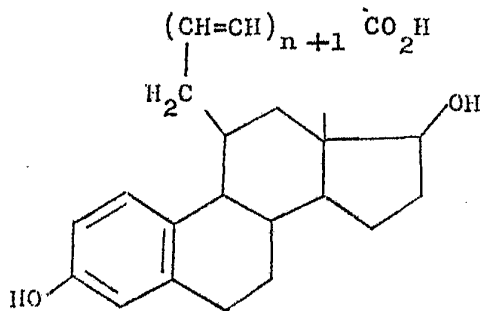
25



5

en la cual R_1 , R_2 y R_3 idénticos o diferentes representan un radical alcoholo que contiene de 1 a 8 átomos de carbono y n conserva el mismo significado que anteriormente, y luego a la de un agente de saponificación, obteniéndose el compuesto de fórmula IX:

10

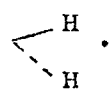


15

(IX)

que se somete a la acción de un agente de hidrogenación, obteniéndose un compuesto de fórmula I, en la cual R_1 representa un grupo $(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$, siendo n un número entero igual a $2n + 3$, X representa un grupo $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{array}$, y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{array}$, que se somete si se de-

25

sea a la acción de un agente de oxidación para obtener el compuesto de fórmula I en la cual R_1 representa un grupo $-(CH_2)_a CO_2H$, siendo a un número entero igual a $2n + 3$, representando X un átomo de oxígeno, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo .

5

10

Los sustituyentes K y K' idénticos o diferentes representan preferiblemente un grupo alcoholcetal cíclico que tiene de 2 a 4 átomos de carbono y principalmente etilencetal o propilencetal o bien un dialcoholcetal por ejemplo dimetil o dietilcetal.

15

20

L representa preferiblemente el resto acilo de un ácido alifático o cicloalifático saturado o insaturado y principalmente el resto de un ácido alcanóico tal como ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico o undecílico, un ácido cicloalcoholcarboxílico o cicloalcoholalcanóico tal como por ejemplo ácido ciclopropil, ciclo-pentil o ciclohexilcarboxílico, ciclo-pentil o ciclohexil-acético o propiónico, ácido benzoico o un ácido fenilalcanóico tal como ácido fenilacético o fenilpropiónico, un aminoácido tal como el ácido dietilaminoacético o aspártico o ácido fórmico.

25

El agente de epoxidación utilizado es preferiblemente un perácido por ejemplo ácido peracético, perftálico o metacloroperbenzoico.

El agente de saponificación utilizado es preferiblemente una base alcalina como la sosa o la potasa, el amiduro de sodio, terbutilato de potasio o acetiluro de litio en etilendiamina, y la reacción de saponificación se realiza preferiblemente en el seno de un alcohol inferior como metanol o etanol.

El halogenuro de alilmagnesio es preferiblemente cloruro o bromuro de alilmagnesio.

El agente de descetalización utilizado es preferiblemente un agente ácido por ejemplo ácido clorhídrico, sulfúrico, acético, cítrico o paratoluensulfónico. Esta descetalización puede efectuarse en el seno de uno o varios disolventes tales como un alcohol como metanol, etanol o isopropanol, una cetona como acetona, un hidrocarburo, como benceno o tolueno.

El agente de ciclización utilizado puede ser un agente ácido o básico, preferiblemente es un agente básico principalmente un alcoholato alcalino tal como metilato de sodio, etilato de sodio, terbutilato de sodio o de potasio.

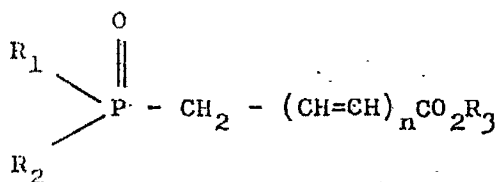
El agente de aromatización es preferiblemente un halogenuro de acilo por ejemplo un halogenuro de acetilo, preferiblemente bromuro de acetilo o bien un anhídrido acético. La acción de este agente de aromatización viene seguida de la de un agente de saponificación, siendo preferiblemente utilizado el agente de saponificación

utilizado uno de los mencionados anteriormente.

El agente de esterificación utilizado es preferiblemente un ácido o un derivado funcional de ácido por ejemplo un halogenuro de ácido por ejemplo bromuro o cloruro o bien un anhídrido de ácido.

Los valores preferidos de L' son los valores preferidos de L.

El agente de ozonolisis es ozono y la temperatura de ozonolisis está comprendida entre -50°C y -100°C. El dialcoholfosfonoacilato de alcoholo utilizado de fórmula:



es preferiblemente un compuesto en el cual R₁ y R₂ son idénticos y representan un radical alcoholo que contiene de 1 a 6 átomos de carbono y en el cual R₃ representa un radical alcoholo que contiene igualmente de 1 a 6 átomos de carbono. El agente de saponificación utilizado es preferiblemente una base alcalina como sosa o potasa, amiduro de sodio, terbutilato de potasio o acetiluro de litio

en etilendiamina. El agente de hidrogenación utilizado es preferiblemente hidrógeno en presencia de un catalizador por ejemplo paladio. El agente de oxidación utilizado es preferiblemente anhídrido crómico, carbonato de plata, silicato de plata o tetraacetato de plomo.

En un modo de realización preferido del procedimiento de preparación del invento:

- el agente de epoxidación es ácido perftálico.
- el halogenuro de alilmagnesio es bromuro de alilmagnesio
- el agente de descetalización es ácido sulfúrico
- el agente de ciclización es sosa
- el agente de aromatización es anhídrido acético
- el agente de saponificación que se utiliza después del agente de aromatización es sosa
- el agente de esterificación es el cloruro de benzoilo
- el dialcoholfosfonoacilato de alcoholilo es dietilfosfonoacetato de metilo
- el agente de hidrogenación, hidrógeno en presencia de paladio
- el agente de saponificación, potasa
- el agente de oxidación, anhídrido crómico

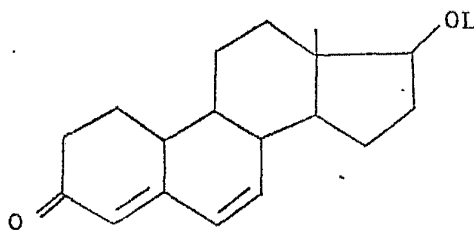
Los productos de fórmula general II utilizados al comienzo del procedimiento del invento pueden prepararse según el método indicado en la patente francesa 1497593.

El invento se refiere igualmente a un procedimiento de preparación de haptenos que responden a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $(CH_2)_b CO_2H$, conservando b el significado

5

precedente, caracterizado porque se somete un compuesto de fórmula XII:

10

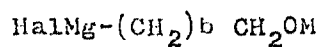


(XII)

15

en la cual L representa un radical acilo, a la acción de un compuesto de fórmula

20

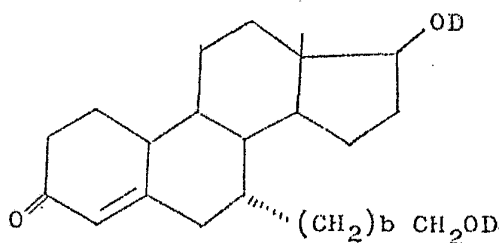


25

en la cual Hal representa un átomo de cloro o bromo y OM un grupo hidróxilo bloqueado en forma de éter, y luego el producto resultante se somete a la acción de un agen-

te ácido, y luego el producto resultante a la de un ácido de fórmula DOH en la cual D representa un radical acilo o un derivado funcional de este ácido, obteniéndose el compuesto de fórmula XIII:

5

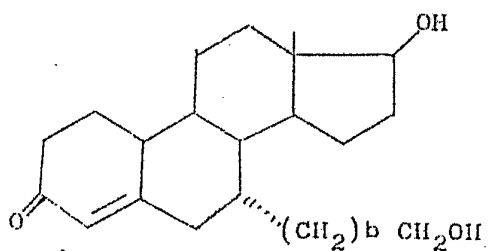


10

(XIII)

que se somete a la acción de un agente de saponificación, obteniéndose el compuesto de fórmula XIV:

15

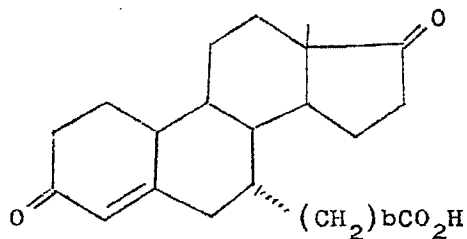


20

(XIV)

que se somete a la acción de un agente de oxidación, obteniéndose el compuesto de fórmula XV:

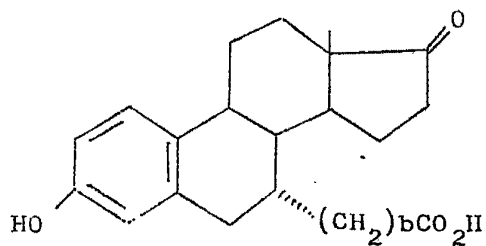
25



(XV)

5

que se somete a la acción de un agente de deshidrogenación, obteniéndose el compuesto de fórmula XVI:



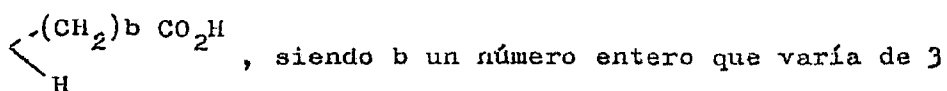
(XVI)

10

15

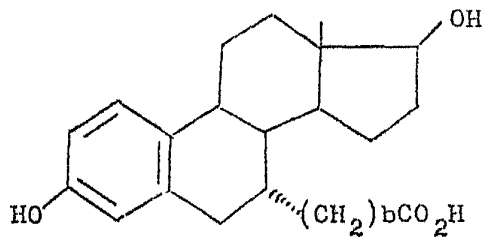
es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un átomo de oxígeno, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo

20



a 18, se somete dicho compuesto de fórmula XVI, bien a la acción de un agente de reducción, y se obtiene el compuesto de fórmula XVII:

25

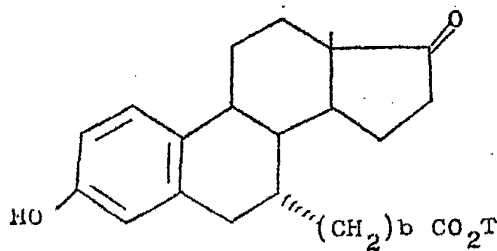


(XVII)

es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un grupo $\begin{matrix} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$,

Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $\begin{matrix} \text{---}(\text{CH}_2)_b \text{CO}_2\text{H} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$

siendo b un número entero que varía de 3 a 18, o bien a la acción de un alcohol de fórmula TOH en la cual T representa un radical alcohilo o un derivado funcional de este alcohol, obteniéndose el compuesto de fórmula XVIII:

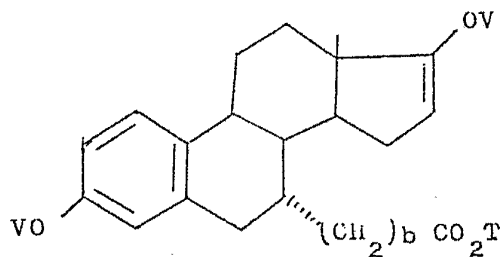


(XVIII)

que se somete a la acción de un ácido de fórmula VOH en la cual V representa un radical acilo o un derivado funcional de este ácido para esterificar las funciones hidro

xilo en la posición 3 y enólica en la posición 17, obteniéndose el compuesto de fórmula XIX:

5

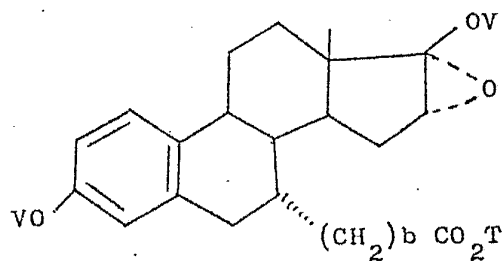


(XIX)

10

que se somete a la acción de un agente de epoxidación, obteniéndose el compuesto de fórmula XX:

15

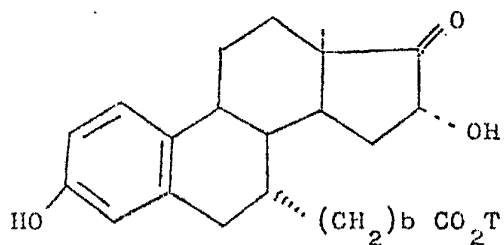


(XX)

20

que se somete a una hidrólisis, obteniéndose el compuesto de fórmula XXI:

25

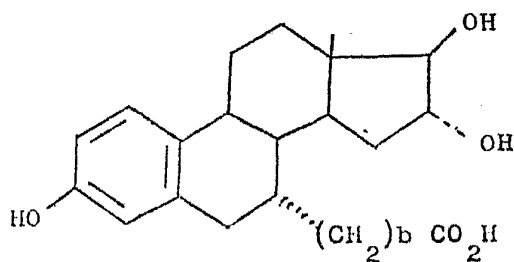


(XXI)

5

que se somete a la acción de un agente de reducción y luego a la de un agente de saponificación obteniéndose el compuesto de fórmula XXII:

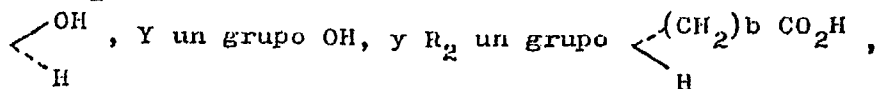
10



(XXII)

15

es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un grupo



20

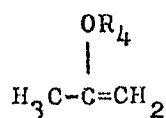
siendo b un número entero que varía de 3 a 18.

L conserva los mismos valores preferenciales que se han indicado anteriormente. Hal representa un átomo de cloro o bromo. M representa preferiblemente un radical bencilo o tetrahidropiranilo.

25

El agente ácido utilizado es preferiblemente ácido clorhídrico, sulfúrico, cítrico, acético o paratoluensulfónico, el agente de esterificación utilizado es preferiblemente un ácido o un derivado funcional de un ácido SOH, pudiendo tomar D uno cualquiera de los valores dados para L anteriormente. El agente de saponificación es preferiblemente uno cualquiera de los agentes de saponificación anteriormente mencionados, y principalmente una base alcalina como sosa o potasa, amiduro de sodio, 5 terbutilato de potasio o acetiluro de litio en etilendiamina y la reacción de saponificación se realiza en un alcohol inferior como metanol o etanol. El agente de oxidación utilizado es uno cualquiera de los agentes de oxidación mencionados anteriormente y principalmente anhídri- 10 co crómico. La deshidrogenación se hace preferiblemente por vía bioquímica y principalmente por utilización de la bacteria "Arthrobacter Simplex" U. C. 1 047. El agente de reducción es preferiblemente hidrógeno en presencia de un catalizador como paladio. El agente de este- 15 rificación del compuesto de fórmula XVI es preferiblemente un alcohol TOH, representando T un radical alcohilo que contiene de 1 a 8 átomos de carbono. El agente de esterificación capaz de esterificar la función hidroxilo en la posición 3 y la forma enólica de la función cetona 20 en la posición 17 es preferiblemente un anhídrido de áci-

do, por ejemplo anhídrido acético o bien un derivado de fórmula:



10 representando R_4 un radical acilo que contiene de 1 a 8 átomos de carbono y preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono. El agente de epoxidación utilizado es preferiblemente un perácido como ácido perclórico o perftálico e incluso hidropéroxido de hexafluoroacetona. La hidrólisis se realiza en medio ácido principalmente en medio sul

15 fúrico o acético. El agente de reducción es preferiblemente un hidruro mixto por ejemplo borohidruro de sodio o de litio. El agente de saponificación utilizado es uno cualquiera de los agentes de saponificación antes mencionados.

20 En un modo de realización preferido del procedimiento del invento:

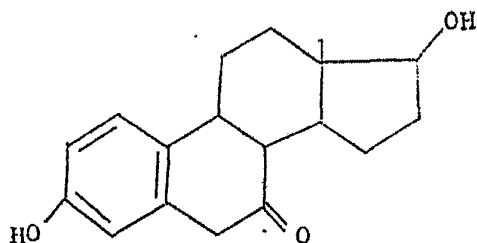
- L representa un radical acetilo
- Hal representa un átomo de cloro
- 25 - M representa un radical tetrahidropiranylo

- el agente ácido es ácido clorhídrico
- el agente de esterificación, anhídrido acético
- el agente de saponificación, potasa en medio metanólico
- el agente de reducción, borohidruro de sodio
- 5 - el agente de esterificación de la función ácida es preferiblemente alcohol etílico
- el agente de esterificación de la función hidroxilo en posición 3 y de la forma enólica de la cetona en posición 17 es acetato de isopropenilo
- 10 - el agente de epoxidación es hidroperóxido de hexafluoroacetona
- la hidrólisis se realiza en medio sulfúrico
- el agente de hidrogenación es borohidruro de sodio
- el agente de saponificación, potasa en medio metanólico.

15 Los compuestos de partida que responden a la fórmula XII pueden prepararse según el método indicado en la patente francesa 1180907.

El invento se refiere igualmente a un procedimiento de preparación de haptenos que responden a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $=NZ-(CH_2)_c CO_2H$, conservan de Z y c su significado precedente, caracterizado porque se somete un compuesto de fórmula XXIII:

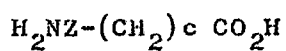
25



(XXIII)

5

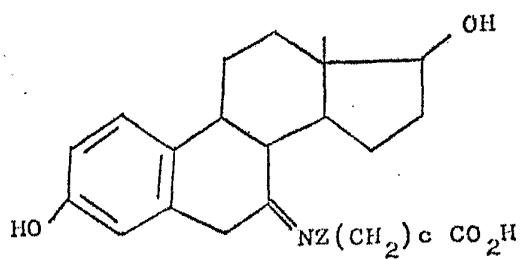
a la acción de un compuesto de fórmula:



10

en la cual Z y c conservan el mismo significado que anteriormente obteniéndose un compuesto de fórmula XXIV:

15



20

(XXIV)

es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un grupo

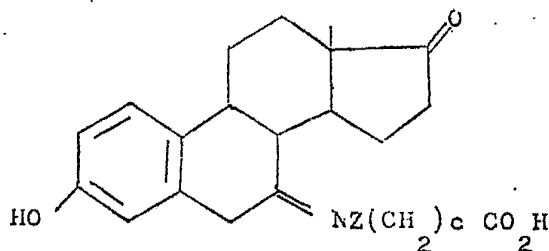
25



, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $=NZ-(CH_2)_c$

CO_2H . Z representa un átomo de oxígeno o un grupo $NHCONH$

y siendo c un número entero que varía de 1 a 8, que se somete eventualmente a la acción de un agente de oxidación y se obtiene el compuesto de fórmula XXV:

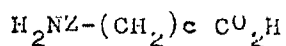


(XXV)

es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un átomo de oxígeno, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $\text{=NZ}(\text{CH}_2)_c \text{CO}_2\text{H}$, representando Z un átomo de oxígeno o un grupo -NHCONH- y siendo c un número entero que varía de 1 a 8.

15

En un modo de realización preferido el compuesto de fórmula:



se utiliza en forma de su clorhidrato y el agente de oxidación utilizado es uno cualquiera de los agentes de oxidación utilizados anteriormente y preferiblemente anhídrido crómico.

25

El 7-ceto-estradiol utilizado al comienzo del procedimiento del invento puede prepararse según el método indicado en la patente de Estados Unidos 2418603.

Los ejemplos siguientes ilustran el invento sin limitarlo sin embargo.

Ejemplo 1:

Preparación del ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico:

Etapa I: bis-3,3,5,5-etilendioxi-9 α ,11 α -epoxi-4,5-seco-estra-17 β -ol:

Etapa A: Se introducen 21,9 g de benzoato de bis-3,3,5,5-etilendioxi-4,5-seco-estra-9(11)-en-17 β -ol (preparado como se indica en la patente francesa 1497 593) en 220 cm³ de tetrahidrofurano. Se añadieron con agitación y a 20°C, 22 g de ácido monoperftálico. Se dejó reposar la mezcla reaccionante durante dieciseis horas aproximadamente y luego se vertió en una solución saturada de bicarbonato. Se filtró con succión y lavó el precipitado obtenido. Así se obtuvieron 22,2 g de un producto que fundía a 160°C que se utilizó tal cual en la etapa siguiente.

Etapa B: Se introdujeron 31,98 g del producto obtenido preparado en la etapa anterior en 130 cm³ de alcohol metílico. Se añadió a la suspensión obtenida 130 cm³ de potasa metanólica 1,74 N. Se calentó a reflujo durante una hora, se enfrió, diluyó con agua y extrajo con cloruro de

metileno. Se secó y concentró la fase orgánica. Se obtuvieron así 23,6 g de resina que se recristalizó en éter isopropílico. Se obtuvieron entonces 22,3 g de bis-3,3,5,5-etilendioxi-9 α -11 α -epoxi-4,5-seco-estra-17 β -ol que fundía a 148°C.

Etapa II: bis-3,3,5,5-etilendioxi-11 β -alil-4,5-seco-estra-9 α ,17 β -diol:

Se introdujeron con agitación y entrada de nitrógeno 32,4 g de bis-3,3,5,5-etilendioxi-9 α ,11 α -epoxi-4,5-seco-estra-17 β -ol en 1105 cm³ de una solución de bromuro de alilmagnesio (0,65 M en tetrahidrofurano. Se calentó la solución a 60°C durante cuatro horas treinta minutos. Se dejó enfriar y se abandonó una noche a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se enfrió a 0°C y se añadieron lentamente 45 cm³ de metanol y 100 cm³ de éter. A continuación se añadieron 5 cm³ de agua y se vertió la mezcla reaccionante en 1.000 cm³ de una solución saturada de cloruro de amonio. Se decantó y extrajo con éter. Se secó y destiló hasta sequedad bajo presión reducida. Se obtuvieron 45 g de un producto cristalizado que se volvió pastoso en una mezcla de éter y bencina B. (P. de Eb. 60-68°C). Se filtró con succión y lavó el producto obtenido con bencina B. Se obtuvieron 34 g de bis-3,3,5,5-etilendioxi-11 β -alil-4,5-seco-estra-9 α ,17 β -diol que fundía a 140°C.

Etapa III: 11 β -alil-17 β -hidroxi-estra-4,9-dieno-3-ona:

Etapa A: Hidrólisis:

Se introdujeron con agitación 34 g de bis-3,3, 5,5-etilendioxi-11 β alil-4,5-seco-estra-9 α ,17 β -diol en una mezcla de 340 cm³ de acetona y 68 cm³ de ácido sulfúrico N. Se mantuvo bajo agitación durante cuatro horas a la temperatura ambiente. Se añadió entonces medio litro de agua y se extrajo con cloruro de metileno. Se obtuvieron 38 g de un producto que se utilizó tal cual en la etapa siguiente.

Etapa B: Ciclización:

Se introdujeron con agitación y burbujeo de nitrógeno los 38 g del producto preparado en la etapa anterior en 760 cm³ de metanol anhidro. Se enfrió la solución bajo burbujeo de nitrógeno y se añadieron 85 g de potasa a una temperatura inferior a 20°C. A continuación se dejó la mezcla reaccionante bajo burbujeo de nitrógeno a la temperatura ambiente durante cuatro horas. Se añadieron 100 cm³ de ácido acético. Se diluyó con agua, se extrajo con cloruro de metileno y se obtuvieron 25 g de producto que se cromatografió y se obtuvo la 11 β -alil-17 β -hidroxi-estra-4,9-dieno-3-ona.

Espectro U.V. etanol:

Max. 215 nm $E_1^{1\%}$ 171
cm

Max. 238 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 157

Inflexión 248 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 148

Max. 305 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 491 ξ : 15 300

5

Etapa IV: 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol:

1. Aromatización: Se introdujeron con agitación y burbujeo de nitrógeno 25 g de 11 β -alil-17 β -hidroxi-estra-4,9-
10 -dieno-3-ona en 125 cm³ de anhídrido acético. Se calentó la solución a 100°C durante dos horas. A continuación se enfrió la solución y se añadieron gota a gota a una temperatura inferior a 10°C, 62,5 cm³ de bromuro de acetilo. Se dejó reaccionar durante dos horas a 20°C y se vertió sobre hielo. Se extrajo con cloruro de metileno y se
15 lavó con agua. Se secó y destiló hasta sequedad. Se obtuvieron 36 g de un producto que se cromatografió sobre sílice y se obtuvo 27 g de resina que se utilizó tal cual en la etapa siguiente.

20 2. Saponificación: Se disolvieron a 25°C y bajo burbujeo de nitrógeno los 27 g de resina obtenidos en la etapa anterior en 540 cm³ de metanol. Se añadieron 27 cm³ de lejía de sosa. Se dejó reaccionar la mezcla durante cuatro horas a la temperatura ambiente, se añadieron 16 cm³ de
25 ácido acético y 2,5 litros de agua. Se filtró con succión

y lavó el precipitado obtenido. Se secó obteniéndose 19,65 g de un producto que fundía a 195°C. Después de volver pastoso a reflujo con dicloroetano, se obtuvo la 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol, que funde a 200°C.

5

Etapa V: 3,17-dibenzoato de 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol:

Se introdujeron con agitación 9,286 g de 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol, en 93 cm³ de piridina anhidra. Se añadieron 9,3 cm³ de cloruro de benzoílo. Se dejó en agitación durante cuatro horas a temperatura ambiente y se añadió agua hasta obtener un volumen total de dilución de 250 cm³. Se filtró con succión, lavó con agua y secaron los cristales obtenidos. Se obtuvieron 12,6 g de 3,17-dibenzoato de 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol, que fundía a 198°C.

10

15

Etapa VI: 3,17-dibenzoato de 11 β -2'-oxoetil/estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol:

20

Se introdujeron con agitación y corriente de nitrógeno 12,3 g de 3,17-dibenzoato de 11 β -alil-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol en 370 cm³ de cloruro de metilo. Se enfrió la solución obtenida a -65°C haciendo burbujear oxígeno ozonizado en la proporción de 0,2 a 0,3 L/minuto durante una hora y treinta minutos. Se añadieron entonces 25 g de zinc en polvo y 50 cm³ de ácido acético.

25

Se dejó volver la mezcla reaccionante a la temperatura ambiente y se agitó además durante treinta minutos. Se filtró el zinc, se lavó el filtrado, se secó y destiló hasta sequedad. Se obtuvieron 12,89 g de resina que se cromatografió sobre sílice obteniéndose 11,15 g de 3,17
5 -dibenzoato de 11 β -[2'-oxoetil]estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol que fundía a 148°C.

Etapa VII: Acido 3,17 β -hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-
10 -11 β -crotónico:

Se introdujeron con agitación y bajo corriente de nitrógeno 1,2 g de dispersión de hidruro de sodio en aceite al 50 por ciento, en 20 cm³ de tetrahidrofurano anhidro. Se enfrió la suspensión a 15°C y se añadieron
15 gota a gota sin sobrepasar 20°C, 5 cm³ de dietilfosfonacetato de metilo. Se dejó reaccionar una media hora y se añadieron gota a gota 1,305 g de 3,17-dibenzoato de 11 β -[2'-oxoetil]estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol, en solución en 20 cm³ de tetrahidrofurano. Se mantuvo bajo agitación durante cuarenta minutos a temperatura ambiente,
20 se añadió agua y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua, se secó y destiló bajo vacío. Se obtuvieron 2,23 g de resina. A los 2,23 g de resina se les añadió 20 cm³ de sosa N, y 10 cm³ de etanol. Se
25 calentó a reflujo durante una hora y treinta minutos. Se

enfrió la mezcla reaccionante y se extrajo con cloroformo y luego con acetato de etilo. Se lavaron y secaron las fases orgánicas. Se empastaron con éter, se filtró con succión y se lavaron los cristales obtenidos. Se obtuvieron 830 mg de ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -crotónico, que fundía a 272°C.

Etapa VIII: Acido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico:

10 1. Hidrogenación: Se introdujeron 726 mg de ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -crotónico en una solución que contenía 30 cm³ de alcohol metílico y 2 cm³ de cloroformo. Se añadieron 150 mg de negro de humo con 10% de paladio y se agitó bajo hidrógeno hasta saturación. Se filtra el catalizador y se evapora el filtrado. Se recogieron 750 mg de resina.

15 2. Saponificación: Se disolvieron los 750 mg de resina obtenida anteriormente en una mezcla de 7,5 cm³ de alcohol metílico y 0,75 cm³ de lejía de potasa. Se calentó a reflujo la solución reaccionante, se acidificó, diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó con agua, secó y destiló hasta sequedad bajo vacío. Se obtuvieron 674 mg de un producto cristalizado que se recristalizó obteniéndose 604 mg de ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico que fundía a 262°C.

20

25

Ejemplo 2:

Acido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico:

5 Se introdujeron 2,1 g de ácido 3,17 β -dihidroxi-extra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico en 100 cm³ de acetona. La suspensión así obtenida se llevó hasta 0°C y se añadieron 25 cm³ de solución 8N de anhídrido crómico en ácido sulfúrico diluido. Se añadieron 400 cm³ de
10 agua al cabo de treinta minutos. Se filtró con succión y el producto cristalizado obtenido se lavó con agua. Se obtuvieron así 1,386 g de un producto que fundía a 240°C, se extrajeron las aguas madres con acetato de etilo y se obtuvieron 0,580 g de un producto que fundía a
15 240°C. Las dos cosechas así obtenidas se recrystalizaron en isopropanol. Se obtuvieron así 770 g de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico que fundía a 256°C.

20 Ejemplo 3:

Acido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico

25 Etapa I: Diacetato de 7 α -(4'-hidroxibutil)-17 β -hidroxi-estra-4-en-3-ona

Se introdujeron 575 cm³ de una solución 0,62 M de magnesio del éter tetrahidropirranílico de 4-clorobutanol, en tetrahidrofurano. Esta solución se enfrió bajo nitrógeno a -30°C y se añadieron 2,6 g de cloruro cuproso. Se agitó durante veinte minutos y después se añadió en una hora y diez minutos una solución de 95 g de acetato de 6-deshidro-19-nor-testosterona en 300 cm³ de tetrahidrofurano. Se mantuvo luego la solución durante una hora a 30°C y se añadieron 40 cm³ de ácido acético y 300 cm³ de agua. Se extrajo con éter, se lavó la fase orgánica con agua, se secó y evaporó hasta sequedad bajo presión reducida. Se obtuvieron así 174 g de un aceite al que se adicionaron 350 cm³ de metanol y 88 cm³ de ácido clorhídrico N/2. Se calentó dos horas a reflujo. Se enfrió, diluyó con agua, extrajo con cloruro de metileno, lavó, secó y destiló. Se recogieron 122 g de resina que se cromatografió obteniéndose un producto que se sometió durante una noche a temperatura ambiente a la acción de 2 volúmenes de anhídrido acético y 2 volúmenes de piridina. La mezcla reaccionante se concentró hasta sequedad y se obtuvo así el diacetato de 7 α -[4'-hidroxibutil]-17 β -hidroxi-estra-4-en-3-ona que fundía a 113°C.

Etapa II: 7 α -[4'-hidroxibutil]-17 β -hidroxi-estra-4-en-3-ona:

Se introdujeron 5 g del producto preparado en

la etapa anterior en 10 cm³ de metanol. Se añadieron a la solución precedente bajo burbujeo de nitrógeno 1.2 cm³ de potasa metanólica 2N. Se neutralizó con ácido acético al cabo de una media hora, se diluyó y extrajo con cloruro de metileno. Se obtuvieron así 4,3 g de 7 α -[4'-hidroxibutil]-17 β -hidroxi-estra-4-en-3-ona que se utiliza tal cual en la etapa siguiente.

Etapa III: Acido 3,17-dioxo-estra-4-eno-7 α -butírico:

Se disolvió el producto obtenido en la etapa anterior en 250 cm³ de acetona. Se agitó a 0°C. Se añadieron 10 cm³ de solución 8N de anhídrido crómico en ácido sulfúrico diluido. Se prosiguió la agitación después durante una media hora, se añadió metanol y agua. Se eliminó la acetona por destilación bajo vacío. Se congeló, filtró con succión, lavó con agua y secó. Se obtuvieron así 3,9 g de ácido 3,17-dioxo-estra-4-eno-7 α -butírico que fundía a 250°C, después de recristalización en etanol de 95°.

Etapa IV: Acido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico

Se introdujeron bajo agitación y entrada de aire 3 g de hiflosurpercel en 1.500 cm³ de una solución tampón a pH = 7, obtenida neutralizando a pH = 7 con sosa N, una solución de 19 g de fosfato monopotásico en 1.450 cm³ de agua destilada y completando hasta un volumen de 2.800 cm³ con agua destilada. A continuación se añadieron 3 g

de ácido 3,17-dioxo-estra-4-en-7 α -butírico, y luego 30 mg de menadiona y 30 g de polvo acetónico de Arthrobacter y 35 cm³ de metanol. La suspensión se mantuvo a 34°C durante ciento doce horas añadiendo al cabo de sesenta y cinco horas 15 g de polvo acetónico y 15 cm³ de metanol y al cabo de ochenta y seis horas, 15 g de polvo acetónico. Al cabo de ciento doce horas se llevó la solución hasta pH = 14, por adición de sosa concentrada, se añadieron 500 cm³ de acetato de etilo y se filtró. Se acidificó el filtrado con ácido clorhídrico concentrado, se saturó con sulfato de amonio. Se decantó y volvió a extraer con acetato de etilo, los extractos se lavaron, secaron y llevaron hasta sequedad. La fracción insoluble se lavó con metanol y agua. Se llevó el filtrado hasta pH = 1 por adición de ácido clorhídrico concentrado y se evaporó hasta sequedad. Los dos extractos secos se purificaron por cromatografía. Se obtuvieron así 1,92 g de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico que fundía a 206°C, después de recristalización en ácido acético acuoso.

20 Espectro I.R. cloroformo

C = O 17 cetona	1733 cm ⁻¹
ácido	1710 cm ⁻¹
OH libre	1710 cm ⁻¹
Aromático	1613 cm ⁻¹
	1589 cm ⁻¹
	1499 cm ⁻¹

25

Ejemplo 4:

Acido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico

5 Se introdujeron 900 mg de ácido 3-hidroxi-17-
-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico en 6 cm³ de so-
sa 0,5N y 1 cm³ de metanol. Se enfrió bajo agitación y
burbujeo de nitrógeno, añadiéndose 100 mg de borohidruro
de sodio. Al cabo de una hora se añadieron de nuevo 100
mg de borohidruro de sodio. Se mantuvo luego la agitación
10 durante 30 minutos y se añadieron 4 cm³ de ácido clorhí-
drico 2N. Se diluyó, extrajo y lavó. Se secó y llevó has-
ta sequedad bajo presión reducida. Se purificó el residuo
por cromatografía. Se recogieron 816 mg de ácido 3,17 β -
dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico en forma
15 de un producto amorfo.

Espectro I.R.

C = O 1706 cm⁻¹
Aromático 1610 cm⁻¹
 1584 cm⁻¹
20 1503 cm⁻¹

Ejemplo 5:

25 Acido 3-16 α ,17 β -trihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -
butírico:

Etapa I: Ester etílico del ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico:

5
Se introdujeron 100 mg de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico en 3 cm³ de etanol. Se hizo burbujear ácido clorhídrico gaseoso hasta saturación y se llevó a reflujo durante una hora. Se destiló hasta sequedad bajo presión reducida y recogió con acetato de etilo. Se lavó, secó y llevó hasta sequedad. Se cromatografió la resina obtenida produciéndose así 81
10 mg del éster etílico del ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico, en forma de un producto amorfo.

Etapa II: Ester etílico del ácido 3,17-diacetoxi-estra-1,3,5(10)-16-tetraeno-7 α -butírico:

15 Se introdujeron 1,41 g del éster etílico del ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico en 30 cm³ de acetato de isopropenilo bidestilado. A la solución así obtenida se añadieron 150 mg de ácido para-
20 toluensulfónico monohidratado. Se llevó a reflujo y destiló manteniendo un volumen constante por adición de acetato de isopropenilo. Después de ocho horas de destilación, se llevó la mezcla reaccionante a temperatura ambiente, añadiéndose una solución saturada de carbonato ácido de sodio, se extrajo con cloruro de metileno y se lavó. Se
25 secó y llevó hasta sequedad. Se aisló 1,1 g de un produc-

to que se utilizó tal cual en la etapa siguiente.

Etapa III: Ester etílico del ácido 3,17 β -diacetoxi-16 α , 17 α -epoxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico:

5 Se disolvieron 936 mg de producto preparado en la etapa anterior en 10 cm³ de cloruro de metileno. A la solución así preparada se añadió una gota de piridina y luego en baño de hielo y en quince minutos, 2,5 cm³ de solución clorometilénica 1,2 molar de hidróperóxido de hexafluoroacetona. Se dejó volver a la temperatura ambiente y se agitó durante dos horas y treinta minutos bajo atmósfera de nitrógeno. Se diluyó con cloruro de metileno, lavó, secó y llevó hasta sequedad. Se obtuvo 1 g de un producto que se utilizó tal cual en la etapa siguiente.

10 Etapa IV: Ester metílico del ácido 3,16 α -dihidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico.

15 Se introdujo 1 g del éster etílico del ácido 3,17 β -diacetoxi-16 α , 17 α -epoxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico en 10 cm³ de metanol. Se añadió a la solución así obtenida 1 cm³ de ácido sulfúrico 6N. La solución obtenida se mantuvo con agitación durante treinta minutos a la temperatura ambiente, y luego se llevó a reflujo durante dos horas. Se enfrió a la temperatura ambiente, diluyó con agua, extrajo con acetato de etilo, lavó secó y se llevó hasta sequedad. Se obtuvieron así 882 mg de éster metílico del ácido 3,16 α -dihidroxi-17-oxo-estra-1,3,

20

25

(10)-trieno-7 α -butírico.

Etapa V: Acido 3,16 α -17 β -trihidroxí-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico:

5 Se disolvieron los 882 mg de resina obtenida en la etapa anterior en 10 cm³ de metanol y luego con burbujeo de nitrógeno se añadieron 900 mg de borohidruro de sodio. Al cabo de una hora y quince minutos, se añadieron 450 mg de borohidruro de sodio. Se mantuvo después una hora a temperatura ambiente y se añadió 1 cm³ de agua
10 destilada y 1 cm³ de lejía de potasa. Se llevó a reflujo durante quince minutos dejándola volver a la temperatura ambiente, se diluyó con agua, acidificó con ácido clorhídrico concentrado, se extrajo con acetato de etilo y se lavó. Se secó y llevó hasta sequedad. Se obtuvieron 795
15 mg de resina que se purificó por cromatografía. Se aislaron así 575 mg de ácido 3,16 α ,17 β -trihidroxí-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -butírico, que fundía a 160-170°C. $[\alpha]_D^{20} = + 42^{\circ}$ (1 por ciento, en etanol).

Ejemplo 6:

20 Acido 3,17 β -dihidroxí-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico.

Etapa I: Preparación de una solución del magnesiano de éter tetrahidropirauílico del 11-bromo-undecanol

25 Se introdujeron 5 g del magnesiano desmenzado

en 40 cm³ de tetrahidrofurano. A la solución así obtenida se añadió, en dos horas, una solución que contenía 65 g de éter tetrahidropiránílico del 11-bromo-undecanol en 200 cm³ de tetrahidrofurano. Se obtuvo así una solución 0,4 molar del magnesiano de éter tetrahidropiránílico del 11-bromo-undecanol.

Etapa II: Diacetato de 17 β -hidroxi-3-oxo-estra-4-eno-7 α -undecanol

Se diluyeron 150 cm³ de solución 0,4M del magnesiano de éter tetrahidropiránílico del 11-bromo-undecanol en tetrahidrofurano con 50 cm³ de tetrahidrofurano. La solución así obtenida se llevó hasta -30°C y se añadieron 500 mg de cloruro cuproso. La solución así obtenida se mantuvo en agitación a -25, -30°C y se añadió en cinco horas una solución de 16 g de acetato de 6-deshidro-19-nortestosterona en 150 cm³ de tetrahidrofurano.

La suspensión así obtenida se agitó después durante una hora a -30°C y luego se añadieron 10 cm³ de ácido acético.

Se dejó volver a la temperatura ambiente y se añadió agua. Se decantó, extrajo con éter sulfúrico, lavó, secó y llevó hasta sequedad bajo presión reducida. Se obtuvieron así 44 g de una resina que se disolvió en 330 cm³ de metanol. A la solución así obtenida se añadieron 90 cm³ de ácido clorhídrico N/2. La solución así ob-

5
10
tenida se llevó a reflujo durante una hora y cuarenta y cinco minutos, se evaporó hasta sequedad bajo presión reducida, se recogió con agua y extrajo con cloruro de metileno. Se filtró, secó el filtrado y llevó hasta sequedad. Se obtuvieron así 34 g de una resina que se purificó por cromatografía. Se recogieron 24 g del producto que se acetilaron con 2 volúmenes de anhídrido acético y 2 volúmenes de piridina durante una noche a temperatura ambiente. Después del tratamiento usual y purificación por cromatografía, se obtuvieron 14,3 g de diacetato de 17 β -hidroxi-3-oxo-estra-4-eno-7 α -undecanol.

Espectro U.V. (etanol)

max. 240 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$: 312 Σ 16 500

15
304 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$: 2

Etapa 3: 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanol

20
25
Se disolvieron bajo atmósfera de nitrógeno 14,3 g de diacetato de 17 β -hidroxi-3-oxo-estra-4-eno-7 α -undecanol en 430 cm³ de ácido acético. A la solución así obtenida se añadieron 21,5 g de tetracetato de plomo. La solución así preparada se mantuvo a 110°C durante cuatro horas, se destiló hasta sequedad, se recogió el residuo con agua y se extrajo. Se lavó, secó y destiló. Se obtuvieron así 16,2 g de una resina parda que se disolvió en

500 cm³ de ácido acético, añadiéndose a la solución así obtenida 80 g de acetato de potasio. La mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Se destiló el ácido acético, se recogió con agua y se extrajo. Se cromatografió la resina así obtenida y se obtuvieron 5,6 g de un producto que se saponificó a reflujo con 10 volúmenes de metanol y un volumen de lejía de sosa durante quince minutos. Se cromatografió el producto así obtenido dando 3,24 g de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanol amorfo.

Espectro U.V. (etanol)

infl. 220 nm $E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 163

230 nm $E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 114

max. 280 nm $E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 52 $\xi = 2\ 300$

infl. 287 nm $E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 46 $\xi = 2\ 050$

Etapa 4: 3-monobenzoato de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanol

Se introdujeron 3,2 g de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanol en una mezcla de 15 cm³ de sosa N y 7 cm³ de acetona. La solución se enfrió en baño de hielo y con agitación, añadiéndose gota a gota

2,3 cm³ de cloruro de benzoilo.

Se mantuvo quince minutos en agitación, se diluyó con agua y se extrajo. Se cromatografió el residuo de la fase orgánica y se recogieron 2,64 g de 3-monobenzoato de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanol.

Etapa 5: benzoato de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico

Se disolvió el producto preparado en la etapa anterior en 130 cm³ de acetona. A la solución agitada y enfriada a + 5°, se añadieron en quince minutos 4,1 cm³ de reactivo oxidante 8N de Heilbron. Después de cinco minutos de agitación suplementaria, se añadió metanol, diluyó con agua, concentró bajo presión reducida y extrajo con acetato de etilo. Se lavaron los extractos, secaron y llevaron hasta sequedad. Se obtuvo así el benzoato del ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico.

Etapa 6: Ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico

Se disolvió el benzoato de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico en 50 cm³ de metanol. A la solución así obtenida se añadieron 10 cm³ de sosa 2N. Al cabo de una hora, se enfrió la solución en baño de hielo y se añadieron 1,5 g de borohidruro de

sodio. Se agitó durante una hora, acidificó hasta pH 1 y se extrajo. Se lavó, secó y llevó hasta sequedad. Se cromatografió sobre sílice y se recogieron así 1,61 g de ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7 α -undecanoico.

5

Espetra. U.V. (etanol)

	infl.	219 nm	$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 160$	
		229 nm	$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 115$	
10	max.	280 nm	$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 46$	$\xi = 2\ 100$
	infl.	286 nm	$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 42$	

Ejemplo 7:

15

7-carboximetoxiimino-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β diol

20

25

Se disolvieron con agitación y bajo corriente de nitrógeno 2 g de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7-ona y 2 g de hemiclорhidrato de ácido aminoxiacético en 18 cm³ de sosa normal. La solución así obtenida se calentó a reflujo y se mantuvo durante una hora bajo corriente de nitrógeno, Se enfrió la mezcla reaccionante a 0°C, añadiéndose 9 cm³ de ácido clorhídrico normal y 100 cm³ de agua. Se extrajo con acetato de etilo, lavó, secó y evaporó hasta sequedad. Se obtuvieron así 2,735 g de un producto que se cromatografió. Dando así 2,44 g de 7-

6.0.74

carboximetoxiimino-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol.

<u>Espectro I.R.</u> C=O	1727 cm ⁻¹
aromático	1618 cm ⁻¹
	1592 cm ⁻¹
	1506 cm ⁻¹

Ejemplo 8:

7-carboximetoxiimino-3-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-17-
ona

Se introdujeron 2,44 g de 7-carboximetoxiimino-
-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -diol en 122 cm³ de acetona.

Se enfrió a 0°C y se añadieron gota a gota 0,84
cm³ de solución 8N de anhídrido crómico en ácido sulfúri-
co diluido, (solución de Heilbron Jones). Se agitó treinta
minutos a 0°C y se añadieron de nuevo 0,84 cm³ de so-
lución de Heilbron Jones. Al cabo de tres horas, se añ-
dieron 0,41 cm³ de solución de Heilbron Jones, se agitó
de nuevo treinta minutos y se añadieron de nuevo gota a
gota 2 cm³ de metanol y luego 10 cm³ de una solución acuo-
sa saturada de carbonato ácido de sodio. Se filtró con suc-
ción, lavó con acetona, concentró y añadieron 200 cm³ de
acetato de etilo. Se lavó, secó y concentró hasta seque-
dad. Se obtuvieron 2,135 g de una resina que se purificó
por cromatografía. Se obtuvieron así 1,848 g de 7-carboxi-

metoxiimino-3-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-17-ona.

Análisis: $C_{20}H_{25}O_5$

Calculado: C % 67,21 H % 6,48 N % 3,91

Encontrado: 67,1 6,7 3,6

5

Ejemplo 9:

4-carboximetil-2'-semicarbazona de la 3,17 β -dihidroxi-
-estra-1,3,5(10)-trieno-7-ona

10

Se introdujeron en 10,2 cm³ de metanol con agitación y bajo corriente de nitrógeno 1,8 g de N-carboxi-hidrazidoglicinato de potasio y 8,9 cm³ de una solución de 43 mg de metanol/cm³ de ácido clorhídrico. La suspensión obtenida se calentó a reflujo y bajo nitrógeno y se añadieron 1,020 g de 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7-ona. Después de tres horas, se enfrió, filtró con succión y lavó. Se obtuvieron así 2 g de una resina. A esta resina se añadieron 50 cm³ de solución de diazometano en cloruro de metileno (valoración 12,1 g por litro). Se mantuvo durante una hora a 0°C, se filtró con succión el precipitado formado y el filtrado se llevó hasta sequedad.

15

20

Se obtuvieron 1,926 g de una resina que se cromatografió y se obtuvieron 825 mg de un producto que se disolvió en 8 cm³ de etanol. A la solución así obtenida se añadieron 3 cm³ de sosa N. La mezcla reaccionante se mantuvo duran-

25

te veinte minutos a temperatura ambiente, se congeló y añadieron 3 cm³ de ácido clorhídrico N y 5 cm³ de agua. Se filtró con succión, lavó y secaron los cristales obtenidos. Se obtuvieron así 3,43 mg de 4'-carboximetil-2'-
5 -semicarbazona de 3,17β-dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-7-ona.

Ejemplo 10:

10 sal de trietilamina de 7-carboximetoxiimino-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17β-diol

Se introdujo 1 g de 7-ceto-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17β-diol (preparado según el método indicado en la Patente de EE.UU. 2418603) en 10 cm³ de etanol. A continuación se añadió 1 g de hemiclорhidrato en ácido amino-
15 xiácético.

A la suspensión obtenida se añadieron 8 cm³ de sosa normal. La solución obtenida se dejó a temperatura ambiente durante tres horas. Se añadieron 8 cm³ de ácido
20 clorhídrico N, se diluyó y extrajo con acetato de etilo. Se lavó, secó y destiló. Se recogieron 1,23 g de resina.

Espectro I.R. (etanol) C=O 1748 cm⁻¹
OH 3607 cm⁻¹

Se introdujeron 1,23 g de la resina preparada
25 en la etapa anterior en 10 cm³ de acetato de etilo y a la solución precedente se añadió 0,5 cm³ de trietilamina y

4 cm³ de metanol. Se concentró la solución para separar el metanol por azeotropía y se mantuvo a volumen constante por adición de acetato de etilo.

5 Después de eliminación del metanol, se añadieron 0,2 cm³ de trietilamina, se congeló, filtró con succión y lavó. Se obtuvieron 1,4 g de un producto que se recrystalizó. Dando así 0,990 g de sal de trietilamina de 7-carboximetoxiimino-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -
10 -diol que fundía a aproximadamente 195°C $[\alpha]_D^{20} = + 21^{\circ}$ (1 % etanol).

Aplicación 1:

Conjugado de albúmina de suero de vaca y ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico
15

Se introdujeron 178 mg de ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico en 5 cm³ de dioxano. Se añadieron a 12°C 0,23 ml de tri-n.butilamina y 0,063 ml de cloroformiato de isobutilo. La solución obtenida se mantuvo a 12°C durante veinte minutos. Después se introdujo a 0°C la solución anterior en una solución que contenía 0,770 g de albúmina de suero de vaca en 22 cm³ de agua. Después de disolución completa, se añadieron a 0°C, 22 cm³ de dioxano y 0,74 cm³ de sosa N. Se dejó la solución durante cuatro horas a 0°C. La solución se dializó
20
25

durante dieciocho horas a través de una membrana. Se precipitó la solución llevando el pH hasta 4,2 por medio de ácido clorhídrico 2N. Se congeló la solución durante sesenta y ocho horas a -20°C.

5 Luego se dejó fundir el témpano decantando el producto. Se disolvió el precipitado obtenido en 50 cm³ de bicarbonato con 1% de hielo. La solución se dializó de nuevo a través de una membrana durante cuarenta y ocho horas. La solución se extrajo con cloroformo. El producto
10 se extrajo obtenido por liofilización. Se obtuvieron 720 mg de conjugado de albúmina de suero de vaca y ácido 3-hidroxi-17-oxo-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β-butírico.

Espectro U.V. (etanol)

15 infl. 262 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 6,6$
 infl. 270 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 9$
 max. 281 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 11,8$

20 Aplicación 2:

Conjugado de albúmina de suero de vaca y ácido 3,17 β-dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β-butírico

25 De la misma forma que anteriormente se preparó el conjugado de ácido 3,17 β-dihidroxi-estra-1,3,5(10)-

trieno-11 β -butírico y de BSA, utilizando el anhídrido mixto obtenido por reacción del ácido 3,17 β -dihidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-11 β -butírico y cloroformiato de isobutilo.

5

Espectro U.V. (agua + dioxano)

infl. 270 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 8$

10 max. 279 nm $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 11$

15

- REIVINDICACIONES -

20

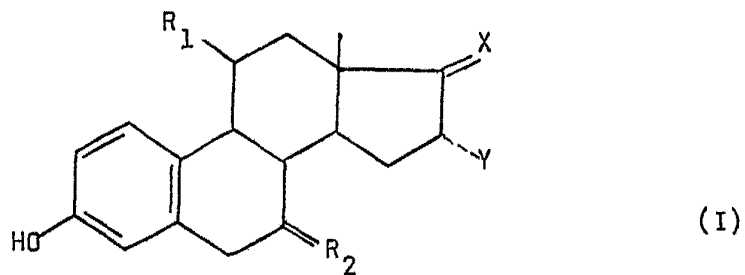
Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

11.5.76

1ª.- Procedimiento de preparación de haptenos
esteroides de fórmula I:

5

10



15

en la cual X representa un átomo de oxígeno o el grupo
 $\begin{array}{l} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$, Y representa un átomo de hidrógeno o el grupo OH,

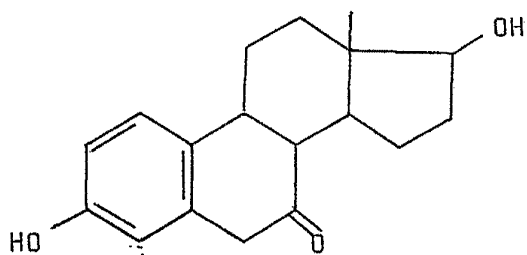
20

R_1 representa un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo $=NZ(CH_2)_cCO_2H$, representando Z un átomo de oxígeno o un grupo $-NHCONH-$, siendo c un número entero que varía de 1 a 8, caracterizado porque se somete un compuesto de fórmula XXIII:

25

Handwritten mark

5

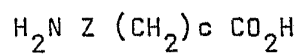


(XXIII)

10

a la acción de un compuesto de fórmula:

15



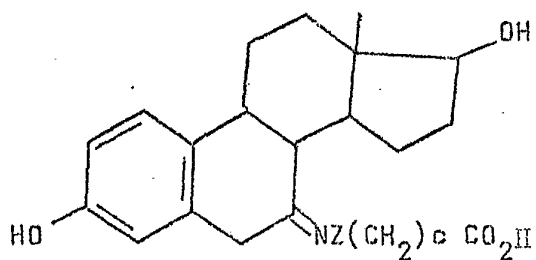
en la cual Z y c conservan el mismo significado que anteriormente y se obtiene un compuesto de fórmula XXIV;

20

25

11.5.76

5



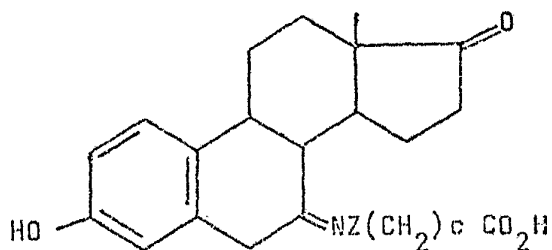
(XXIV)

10 es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un grupo

, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $=NZ(CH_2)_c CO_2H$, representando Z un átomo de oxígeno o un grupo

15 $-NHCONH-$ y siendo c un número entero que varía de 1 a 8, que se somete, llegado el caso, a la acción de un agente de oxidación y se obtiene el compuesto de fórmula XXV:

20



25

(XXV)

es decir un hapteno que responde a la fórmula I en la
cual R_1 representa un átomo de hidrógeno, X un átomo de
oxígeno, Y un átomo de hidrógeno y R_2 un grupo $=NZ (CH_2)_c$
 CO_2H , representando Z un átomo de oxígeno o un grupo
5 -NHCONH- y siendo c un número entero que varía de 1 a 8.

2ª.- Procedimiento de preparación de hap-
tenos esteroides.

Tal y como se ha descrito en la Memoria
que antecede, y para los fines que se han especificado.

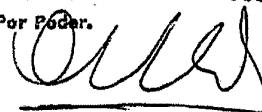
10 Esta Memoria consta de cincuenta y cuatro
hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 17.MAY 1976

15

P.A.

Fernando de Elizaburu
Por Poder.



20

25

11.5.76

- 54 -

EAS.-

