



ESPAÑA

ES	11 21	NUMERO 459.422	A1
	22	FECHA DE PRESENTACION 2-6-1977	

20 FEB. 1976

CONCEDIDA
PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
550,245	18-2-1975	Estados Unidos

37 FECHA DE PUBLICIDAD	31 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07J	32 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA 445.303
------------------------	--	---

34 TITULO DE LA INVENCION UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE 3-ENOLETTERES DE 11 β -HIDROXI- Δ^4 - PREGNEN-3-ONAS Y SUS DERIVADOS

31 SOLICITANTE (S) SYNTEX (U.S.A.) INC.
--

DOMICILIO DEL SOLICITANTE 3401 Hillview Avenue, Palo Alto, California 94301 Estados Unidos

32 INVENTOR (ES) Pasquale G. Gallegra, de nacionalidad italiana.

33 TITULAR (ES)

34 REPRESENTANTE D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU
--

1

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención.

5

El aspecto primario de esta invención es un proceso para formar 3-enoléteres de 3-oxo- Δ^4 -11-hidroxiesteroides por reacción del 3-oxo- Δ^4 -11-hidroxi esteroide con ortoacetato de trietilo en presencia de una cantidad substancial de etanol. Este aspecto contribuye a un nuevo proceso para preparar 6-halo- $\Delta^{4,6}$ - y $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrienos, particularmente las 6-cloro- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11,17 α -21-triol-3,20-dionas y los 21-acetatos correspondientes.

10

Conocimientos previos.

15

En la preparación de compuestos esteroidales activos para su uso, por ejemplo como drogas anti-inflamatorias, es a menudo necesario partir de un compuesto fácilmente obtenible, efectuando entonces un número substancial de pasos, los cuales pueden incluir la reacción de una fracción del compuesto para formar un grupo protector, y hacer reaccionar entonces otra fracción del compuesto como se desea.

20

Por este procedimiento se puede requerir una serie extensa de pasos para obtener el producto deseado, y en cada paso habrá cierta pérdida de rendimiento, que al llevar a cabo los diversos pasos puede dar por resultado una pérdida de rendimiento substancial y extensiva en el proceso completo.

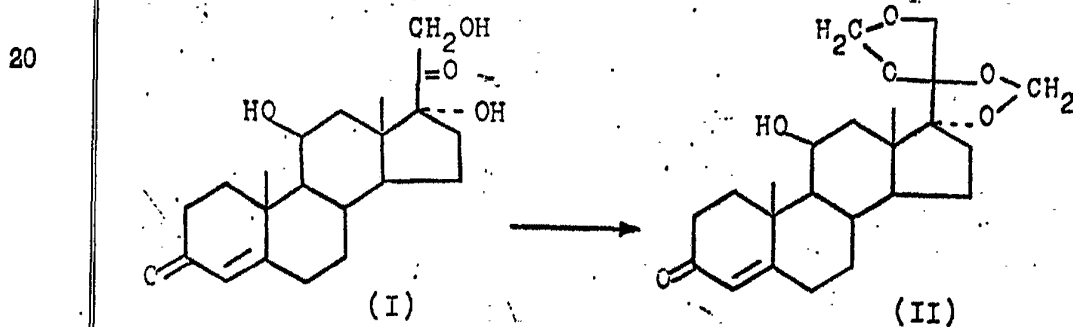
25

Así, en el campo de la química esteroideal, los investigadores trabajan constantemente para desarrollar esquemas de reacción más efectivos para incrementar los rendimientos totales, disminuyendo el número de pasos requeridos en una secuencia de reacciones, aumentando el rendimiento de un paso particular, o ambos. El rendimiento total puede incrementarse ya sea proporcionando un proceso en el que reacciona ---

30

1 substancialmente toda la materia prima para formar el pro-
ducto deseado, o disminuyendo las reacciones secundarias.

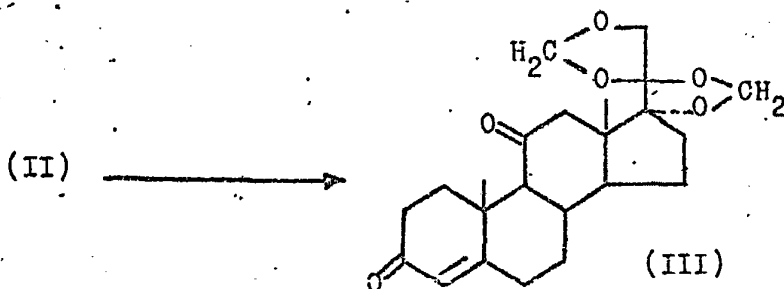
Un paso importante en muchas secuencias de reac-
ciones para formar un 6-halo- $\Delta^{4,6}$ $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno in-
5 volucra la conversión de un compuesto del "tipo cortisol"
que tiene un grupo 3-oxo- Δ^4 a un enoléter (es decir la --
formación de un 3-alcoxi- $\Delta^{3,5}$ -intermediario) por reacción
del 3-ceto- Δ^4 -esteroide con un ortoformiato de alquilo in-
10 ferior en un disolvente adecuado, tal como dioxano, en pre-
sencia de un catalizador ácido tal como ácido p-toluensulfó-
nico. Sin embargo, cuando se parte de un compuesto fácilmen-
te obtenible tal como cortisol (hidrocortisona: 11 β , 17 α , 21-
trihidroxi-3,20-dioxopregn-4-eno) que tiene grupos oxhidrilo
15 reactivos en 21 y 11, se ha mostrado previamente que es --
preferible hacer reaccionar primero el cortisol (indicado
abajo como I) con formaldehído y cloruro de metileno en áci-
do clorhídrico para formar un compuesto bismetilendioxi --
(BMD) indicado abajo como II, es decir:



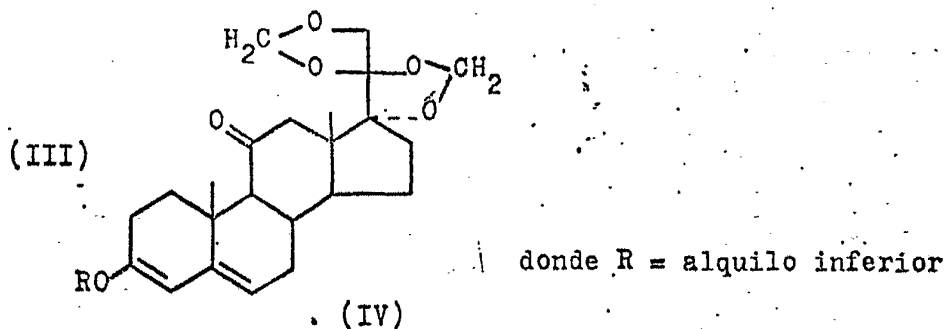
Ver por ejemplo las patentes norteamericanas 2.888.456 y -
2.888.457, ambas de Beryler y Sarett de Merck.

Para prevenir entonces la formación de un $\Delta^{11(9)}$
derivado durante la reacción subsecuente con el ortoformia-
30 to de alquilo inferior en medio ácido por deshidratación --

1 del oxhidrilo en 11 β y el hidrógeno en 9, el 11 β -oxhidri-
lo se oxida primero con, por ejemplo, ácido crómico en áci-
do sulfúrico en dimetilformamida (DMF), i.e.



10 El compuesto III se trata entonces con un orto-
formiato de alquilo inferior y ácido para formar el enolé-
ter deseado IV, el cual se puede tratar adicionalmente como
se requiera, es decir:



20 Se ha sugerido en la patente norteamericana --
3.082.224 de Winstock que el problema de la deshidratación
se puede resolver haciendo reaccionar un cortisol o un 21-
éter de cortisol con un ortoformiato de alquilo inferior en
un disolvente que consiste exclusivamente en el alcohol in-
25 ferior correspondiente y un catalizador ácido. Empleando es-
te método, la deshidratación puede reducirse substancialmen-
te a menos de 10%, y el 3-enoléter puede obtenerse en rendi-
mientos de 65% a 90%.

1

5

10

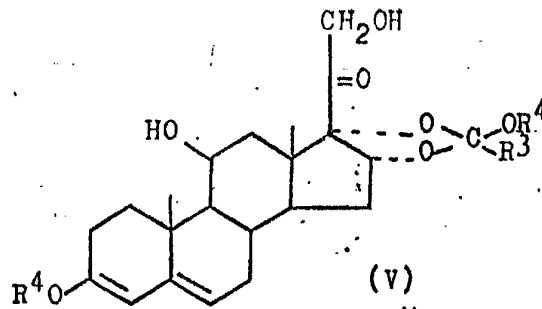
15

20

25

30

Otra patente que describe la formación del 3-enoléter intermediario del tipo anteriormente mencionado es la patente norteamericana 3.087.927. En esa secuencia de -- reacciones la materia prima fue, por ejemplo, 16-hidroxicortisol o 16-hidroxi-cortisona. La patente describe que estos materiales pueden reaccionar en presencia de un ácido mineral con un ortoéster de fórmula $R^3C(OR^4)_3$ donde R^3 es hidrógeno o alquilo inferior (C 1-3) y R^4 es alquilo inferior tal como metilo o etilo, para dar un producto de reacción tal como



específicamente los ejemplos muestran que la reacción se -- lleva a cabo en dioxano con una pequeña cantidad de metanol y ácido sulfúrico, empleando ortoformiato de trimetilo. No se hace mención en la descripción de la Patente del problema de deshidratación descrito en la Patente norteamericana 3.082.224.

Así la técnica anterior que las 11-hidroxi- Δ^4 -pregnen-3-onas podrían reaccionar para formar el enoléter -- correspondiente usando:

- (1) ortoformiato de trialquilo usando una cantidad mayor de un disolvente tal como dioxano y una cantidad menor del alcohol inferior correspondiente (i.e., ortoformiato de trimetilo con metanol u ortoformiato de trietilo con --

- 1 etanol),
- (2) usando ortoacetato de trietilo con una cantidad mayor de un disolvente tal como dioxano y una cantidad menor de etanol, o
- 5 (3) usando ortoformiato de trietilo con etanol como único disolvente.

10 En cada uno de estos casos se emplea un catalizador ácido para permitir que la reacción se efectúe a la velocidad deseada. Se ha encontrado que en el primer caso el producto principal es el producto de deshidratación $\Delta^9(11)$, en el segundo caso los reaccionantes no reaccionan y en el tercer caso hay cierta deshidratación que ocurre entre las posiciones 11 y 9, y la reacción no es completa. Así en cada reacción de las conocidas en la técnica los rendimientos del enoléter deseado son bajos, y en una secuencia extensa de pasos, este rendimiento, por supuesto, se llevará a través de la secuencia y disminuirá el rendimiento total del producto final deseado.

15

20 Se ha encontrado ahora que usando el proceso de esta invención para formar un 3-enoléter a partir de un 3-oxo- Δ^4 -11 β -hidroxi esteroide se logran las siguientes ventajas:

- 25 1) Se elimina completamente la deshidratación en las posiciones 9(11);
- 2) debido a 1) no hay necesidad de oxidar primero el grupo 11-hidroxi a un grupo oxo con el objeto de protegerlo;
- 30 3) se aumenta el rendimiento del enoléter (debido en parte a 1) y 2), anteriores, y también en parte a la tendencia de la reacción del proceso de esta invención a ser --

1 completa);

4) se pueden usar codisolventes hidrocarbonados oxigenados baratos tales como glicinas junto con etanol;

5) al hacer reaccionar esteroides que tienen fracciones 17 α , 21-hidroxi no es necesario proteger estas fracciones por medio del derivado BMD u otros métodos;

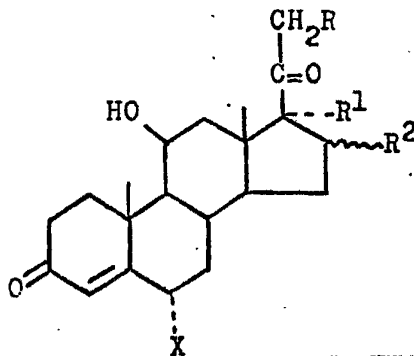
6) las 5 ventajas anteriores contribuyen a un proceso más simple que los conocidos en la técnica.

Otras ventajas del proceso de esta invención serán aparentes a los peritos en la materia al leer la descripción posterior.

Sumario de la Invención

El aspecto primario de esta invención es un proceso para preparar 3-etil-enoléteres que son útiles como intermediarios en la formación de 6-halo- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-3-onas terapéuticamente activas. Otro aspecto de la invención es un proceso para preparar 6-halo- Δ^4 -pregnen-3-onas que son también útiles como intermediarios en la preparación de dichas 6-halo- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-3-onas. Otro aspecto más de esto es un proceso particularmente efectivo en su totalidad para la preparación de 6-halo- $\Delta^{4,6}$ -pregnadien-3-onas y dichas 6-halo- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-3-onas.

El aspecto primario de esta invención es un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula:



1 R es H, OH, OR³ u $\overset{\text{O}}{\parallel}$ OCR³;

R¹ es H, OH, u $\overset{\text{O}}{\parallel}$ CR⁶

R² es H, α -CH₃ ó β -CH₃;

5 R³ es alquilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono o éster alquílico inferior de 1 a 6 carbonos;

R⁶ es alquilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono;

X es H, F, Cl ó Br; y

R¹ y R² juntos pueden ser $\begin{matrix} \dots \text{O} & \diagdown & \text{R}^4 \\ & \text{C} & \\ \dots \text{O} & \diagup & \text{R}^5 \end{matrix}$ donde

10 R⁴ y R⁵ son independientemente hidrocarburos de 1 a 4 carbonos con ortoacetato de trietilo en presencia de una cantidad catalítica de un ácido fuerte en un disolvente que contiene por lo menos 40% en peso ó más de etanol y 60% en peso, o -
15 menos, de un hidrocarburo oxigenado líquido compatible. Preferiblemente el disolvente es una mezcla 50/50 de etanol y -
glima, y el catalizador es un ácido orgánico fuerte tal como ácido p-toluensulfónico o ácido trifluoroacético. El proceso es particularmente útil para cortisol y 21-alquil ésteres de cortisol, tal como el 21-acetato.

20 El 3-enoléter resultante se halogena entonces, preferiblemente se clora, para formar la 6 β -halo- Δ^4 -pregnen-3-ona correspondiente, que a su vez se trata para -
25 formar un 6-halo-3-enoléter, que se convierte entonces en -- una 6-halo- $\Delta^{4,6}$ ($\Delta^{1,4,6}$ -) pregnadien (o -trien)-3-ona como se describe después.

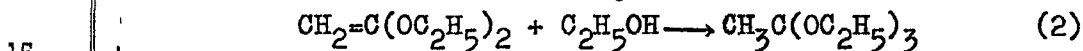
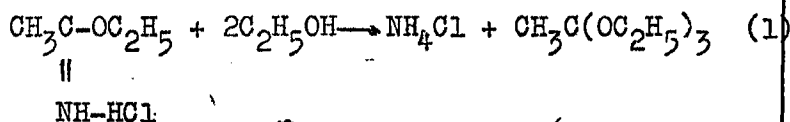
Representaciones Preferidas

FORMACION DEL 3-ENOLETER

30 Es importante utilizar ortoacetato de -- trietilo como reactivo en el proceso de esta invención. Se debe distinguir el ortoacetato de trietilo del ortoformiato

1 de trietilo análogo. El ortoacetato de trietilo se representa por la estructura siguiente: $\text{CH}_3\text{C}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3$, en tanto que el ortoformiato de trietilo se caracteriza generalmente por tener la estructura siguiente: $\text{HC}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3$.

5 En un libro titulado "La Química de Ortoésteres Alifáticos", monografía de la American Chemical Society por H. W. Post, publicada por Rienhold se discuten la química, tal como la preparación y reacciones generales de los ortoésteres alifáticos. Generalmente el ortoacetato de trietilo pueden prepararse por varios métodos, indicándose los dos más populares por las ecuaciones siguientes:



Se puede encontrar una preparación adicional en la página - 40 de la mencionada monografía. Las preparaciones en que se usan los reaccionantes en la primera de las ecuaciones anteriores pueden encontrarse en un artículo en el Journal of -
20 the American Chemical Society, 50, 516 (1928) por P. Sah.

Aunque en teoría la cantidad de ortoacetato de trietilo necesaria para formar el 3-enoléter por la reacción con el 3-oxo- Δ^4 -esteroide es de 1 mol del ortoacetato por cada mol del esteroide, debido al tipo particular de
25 reacción parece que se requieren por lo menos aproximadamente 2 moles del ortoacetato de trietilo por mol de esteroide para que la reacción se efectúe, y preferiblemente se emplearán por lo menos aproximadamente 3 moles del ortoacetato por mol de esteroide. No se utilizará una relación mayor que aproximadamente 5:1, ya que una relación mayor no producirá nin-
30

1 guna ventaja particular en la velocidad de reacción, etc.

Para que el proceso de esta invención --
funcione adecuadamente es importante que el sistema emplea-
do como disolvente sea uno en el que una cantidad substan-
5 cial sea el etanol, esto es, que contenga etanol en cantida-
des de por lo menos aproximadamente 40% y de preferencia, --
aproximadamente 50% en peso del sistema de disolvente. Se --
puede usar hasta 100% de etanol, aún cuando es preferible usar
un codisolvente como se describe abajo. También el sistema --
10 deberá ser substancialmente anhidro, es decir libre de agua.
Otros disolventes compatibles que pueden usarse en el siste-
ma son los disolventes que se mezclan libremente con el eta-
nol, en cualquier proporción. Estos disolventes incluyen hi-
drocarburos oxigenados, por ejemplo éteres alifáticos y éte-
15 res cíclicos tales como éteres glicólicos, dioxano, tetrahi-
drofurano y tetrahidropirano. Particularmente útiles en este
aspecto son los polietilenglicoles dimetilados representados
por la fórmula: $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CHO})_n\text{CH}_3$ donde n es un número entero
de 1 a 4. Generalmente estos compuestos se nombran como "gli-
20 mas", es decir glima (n = 1), diglima (n = 2), triglima (n =
3), y tetraglima (n = 4). Se puede usar cualquiera de estos
compuestos solo o en combinación como codisolvente compatible
con etanol en el proceso de esta invención. Una mezcla par-
ticularmente útil consiste de aproximadamente 50% en peso de
25 etanol con aproximadamente 50% en peso de glima.

Además, es necesario incluir una cantidad
catalítica de un ácido orgánico fuerte o ácido sulfúrico co-
mo catalizador en el proceso de esta invención. Acidos orgá-
nicos adecuados como catalizadores incluyen el ácido p-toluen
30 sulfónico (APTS); ácido 2,4-dinitrobencensulfónico, ácido -

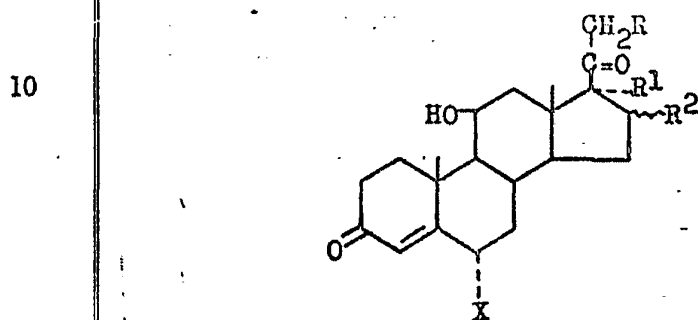
1 trifluoroacético y los semejantes. Preferiblemente se emplea
rá APTS o ácido trifluoroacético. Una cantidad catalítica del
catalizador es la cantidad necesaria para que la reacción -
proceda a una velocidad razonable. Generalmente esta canti-
5 dad será de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20% del -
peso total del esteroide, y preferiblemente será de aproxi-
madamente 10% en peso.

Las condiciones de reacción bajo las cua
les se puede llevar a cabo el proceso de esta reacción no -
10 son críticas, pero son generalmente las conocidas en la téc
nica. Así, la temperatura puede estar comprendida entre 0 a
100°C, pero preferentemente estará entre aproximadamente 20
a 40°C ya que temperaturas superiores tienden a disminuir -
los rendimientos totales debido a pérdidas por degradación.
15 La presión en la mezcla reaccionante puede ser la presión -
atmosférica, subatmosférica o superatmósfera, pero gene-
ralmente se llevará a cabo bajo condiciones atmosféricas.
El tiempo necesario para que el proceso de esta invención -
sea substancialmente completo está en relación con la tempe-
20 ratura de reacción, siendo la reacción más lenta a bajas --
temperaturas, generalmente se necesitarán de 5 minutos a --
aproximadamente 3 horas, sin embargo, a 20°-40°C no tomará -
más que aproximadamente 1/2 hora para que la reacción sea -
completa.

25 El recipiente de reacción que puede usar-
se en el proceso de esta invención puede ser un recipiente -
para un solo lote o un recipiente para uso continuo. De pre-
ferencia el recipiente es del tipo ordinario para un solo --
lote, en el cual se colocan los diversos materiales necesaa-
30 rios para llevar a cabo el proceso de la invención, y los --

1 materiales se colocan en contacto reactivo unos con otros -
de modo que la reacción se lleve a cabo.

Los esteroides para los cuales se puede
aplicar el proceso de esta invención incluyen las 11-hidro-
5 xi- Δ^4 -pregnen-3-onas que pueden sufrir deshidratación entre
los carbonos 11 y 9 de la estructura esteroïdal, así, los -
esteroides útiles en el proceso de esta invención son los -
de la siguiente estructura:



donde

15 R es -OH, H, éter alquílico inferior de 1 a 6 carbonos o -
éster alquílico inferior de 1 a 6 carbonos;

R¹ es -H, OH, u $\text{O}^{\ominus}\text{CR}^6$;

R² es -H, $\beta\text{-CH}_3$ o $\alpha\text{-CH}_3$;

20 R⁶ es alquilo inferior de 1 a 6 carbonos y puede ser de ca-
dena recta o ramificada;

R¹ y R² tomados juntos pueden ser $\text{....O} \begin{matrix} \diagup \text{R}^4 \\ \text{C} \\ \diagdown \text{R}^5 \end{matrix} \text{....O}$ donde

25 R⁴ y R⁵ son independientemente hidrógeno o un radical hidro
carbonado de 1 a 4 carbonos;

X es F, Cl, Br, o H.

El proceso de esta invención es particu-
larmente útil en la formación de 3-enoléteres intermediarios
en la formación de compuestos esteroïdais activos que exhi-
ben actividades anti-inflamatoria, anti-androgénica, estro-
30

1 génica u otras, tales como aquellos establecidos en la pa-
tente norteamericana 3.232.965.

Así, compuestos para los cuales el proce-
so de esta invención es particularmente útil en la formación
5 del correspondiente 3-etil-enoléter incluyen los siguientes:

11 β , 17 α -dihidroxi progesterona;

11 β , 17 α -dihidroxi-16 β -metil-progesterona;

11 β , 17 α -dihidroxi-16 α -metil-progesterona;

17-acetato de 11 β , 17 α -dihidroxi-16 α -metil-progesterona;

10 corticosterona (11 β , 21-dihidroxi-3, 20-dioxopregn-4-eno);

21-acetato de corticosterona;

cortisol (11 β , 17 α , 21-trihidroxi-3, 20-dioxopregn-4-eno);

16,17-acetónido de 16 α -hidroxi-cortisol;

16,17-acetónido de 21-acetato de 16 α -hidroxi-cortisol;

15 17 α , 21-diacetato de cortisol;

16 β -metil-cortisol;

16 α -metil-cortisol;

21-acetato de 16 α -metil-cortisol;

21-metil éter de cortisol;

20 21-hexil éter de 16 α -metil-cortisol;

21-acetato de 16 α -metil-cortisol;

21-pivalato de 16 α -metil-cortisol;

21-acetato de cortisol;

21-propionato de cortisol;

25 21-butilato de cortisol y los 6-halo derivados correspon-
dientes de los compuestos anteriores, tales como los 6-bro-
mo, 6-fluoro, y 6-cloro derivados, preferentemente los cloro
y fluoro derivados tales como

6 α -cloro-cortisol,

30

1 X y R² son como se definió anteriormente. La presencia de -
tal estructura no es desventajosa, ya que el 17,21-ortoéster
se hidroliza parcialmente durante pasos subsiguientes tales
5 como cloración o bromación, y puede convertirse completamen-
te en el 17,21-dihidroxi compuesto por transesterificación o
bajo condiciones básicas.

10 Sin embargo, tal reacción utiliza ortoace-
tato de etilo adicional, y por razones económicas es prefe-
rible que en la posición 21 esté un grupo alquil éster y.g.,
acetato.

Reacciones de 3-enoléteres.

15 Otro aspecto de la invención es un proce-
so para formar 6-halo- Δ^4 -pregnen-3-ona intermedarios, for-
mando primero el enoléter como se describió anteriormente y
halogenando después en la posición 6. La halogenación, esto
es la bromación y preferiblemente la cloración, se puede lle-
var a cabo por cualquiera de los medios conocidos en la téc-
nica para halogenar en la posición 6. Agentes halogenantes -
20 incluyen N-clorosuccinimida, N-bromosuccinimida, N,N'-diclo-
rohidantoina y semejantes.

25 Al llevar a cabo el paso de halogenación
el 3-enoléter se aísla primero de los reaccionantes y disol-
ventes del primer paso, y se pone entonces el agente haloge-
nante en contacto reactivo con el 3-enoléter en un disolven-
te inerte adecuado, bajo condiciones suficientes para causar
la formación del 6-halo- Δ^4 compuesto. Un disolvente inerte
adecuado es aquel que no reacciona con el 3-enoléter o con -
el agente halogenante en una forma que afecte adversamente a
la reacción. Disolventes útiles incluyen hidrocarburos oxi-
30 genados tales como tetrahidrofurano, dioxano y éter dietílico

1 acetona, ácido acético, o mezclas de los mismos.

Preferiblemente la reacción se efectúa -
bajo condiciones neutras, i.e., a aproximadamente pH 7, y a
temperaturas comprendidas entre aproximadamente -5°C a apro-
ximadamente 25°C, con preferencia a aproximadamente 0°C.

Más específicamente la halogenación pue-
de llevarse a cabo haciendo reaccionar el enoléter con dime-
til-N,N'-diclorohidantoina en una solución de acetona buffer,
a temperaturas de -5°C a aproximadamente 5°C por 60 minutos.

10 Un aspecto más aún de esta invención es
una síntesis total para la preparación de 6-halo- $\Delta^{4,5}$ -preg-
nadien-11 β ,17 α -21-triol-3,20-dionas y 6-halo- $\Delta^{1,4,5}$ -pregna-
trien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dionas, especialmente los 6-clo-
ro compuestos descritos en la Patente norteamericana número

15 3.232.965 de Ringold y colaboradores. Los dienos y trienos -
tienen acción anti-inflamatoria con un mínimo de retención
de sales. El proceso también es útil para preparar compues-
tos de la serie 16 α ,17 α -acetónido y otros usando los compues-
tos de partida mencionados en la lista anterior.

20 Ampliamente, la síntesis total de esta in-
vención puede visualizarse refiriéndose al esquema de reac-
ciones y al siguiente sumario:

(1) el primer paso involucra la esterifi-
cación del esteroide de partida (VIII)(donde R¹ y R² son co-
mo se definió anteriormente), en el oxhidrilo en 21, para --
25 formar el 21-éster alquílico correspondiente (IX).

(2) El 21-éster alquílico (IX) se hace reac-
cionar entonces de acuerdo con el aspecto primario del pro-
ceso de esta invención con ortoacetato de trietilo en etanol
30 y preferiblemente glima con un catalizador ácido para for---

1 mar un 3-enoléter, como se representa por la estructura (X).

(3) El 3-enoléter (X) se halogena a su vez, es decir, se clora o se broma para formar, por ejemplo, una 6 β -cloro- Δ^4 -pregnen-3-ona, estructura (XI).

5 (4) La estructura (XI) se hace reaccionar entonces con ortoacetato de trietilo en presencia de un catalizador ácido en etanol y preferiblemente glima, para formar (XII), un enoléter.

10 (5a) El 3-enoléter (XII) puede tratarse entonces para formar el $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno (XIV) directamente, o

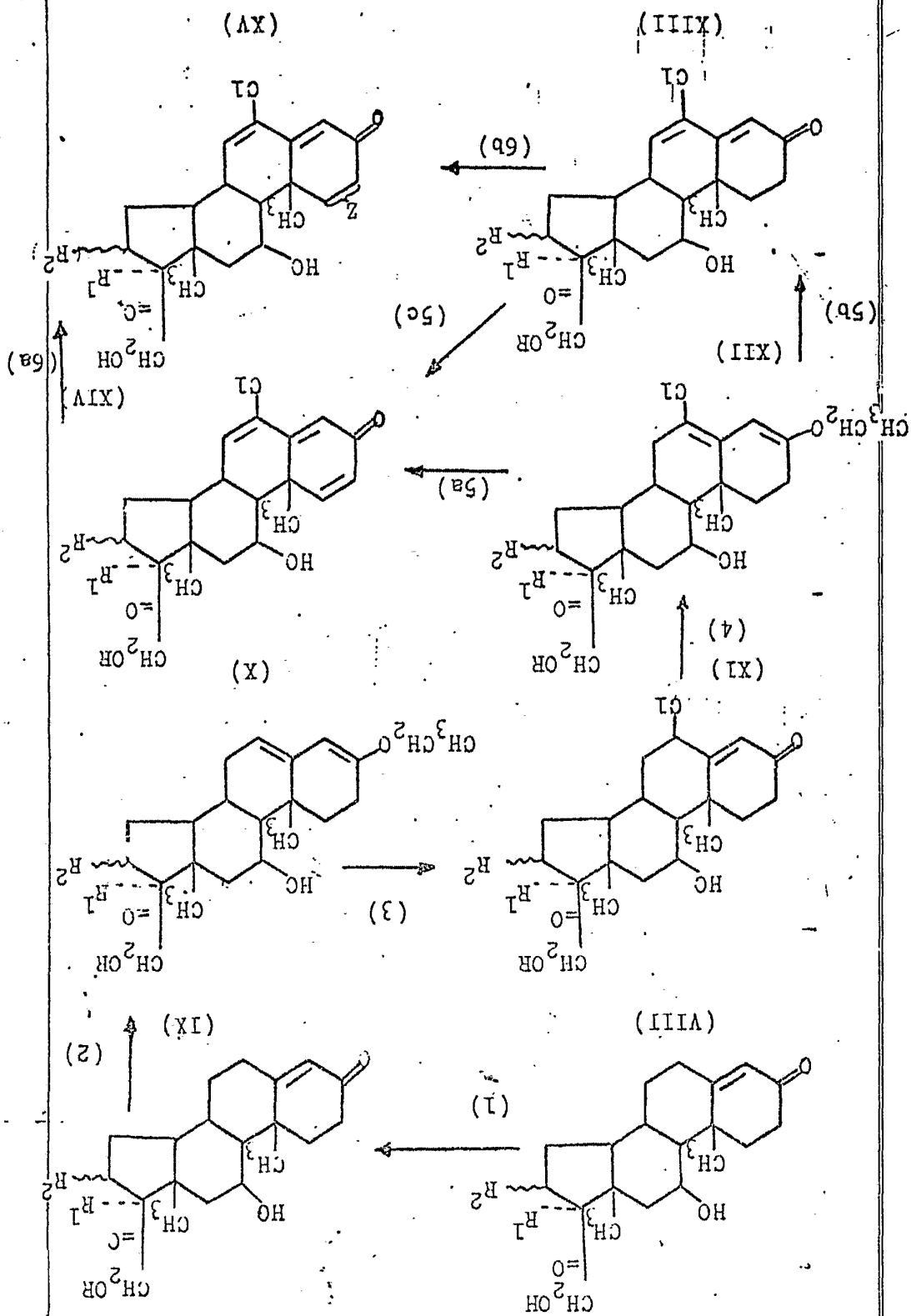
(5b) el 3-enoléter (XII) puede hacerse reaccionar primero para formar el $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno (XIII).

15 (5c) El $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno (XIII) se dehidrogena a su vez en la posición 1 por cualquier medio conocido en la técnica, para formar el $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno (XIV) correspondiente.

20 (6a) El $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno puede tratarse entonces para eliminar el grupo alquil éster en 21, y formar el 21 hidroxí compuesto correspondiente (XV) donde Z es una doble ligadura o

25 (6b) el compuesto (XIII) puede tratarse para formar el compuesto (XV) donde Z es una ligadura simple, el cual puede convertirse a su vez en el $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno.

30



30

25

20

15

10

5

1

1 La siguiente es una discusión de cada uno de los pasos de la síntesis total:

5 (1) En el primer paso, un compuesto representado por la estructura (XIII), con preferencia cortisol, se esterifica para formar un éster alquílico inferior en C-21 conteniendo alrededor de 2 a 4 carbonos en la fracción éster. Esto puede efectuarse por cualquier método adecuado conocido en la técnica para la esterificación en la posición 21. Generalmente se efectúa por reacción con un anhidrido de alquilo inferior en un disolvente adecuado por ejemplo, por reacción de cortisol con anhídrido acético en piridina a temperaturas inferiores a 30°C. La reacción es limpia y completa y forma un compuesto representado por la estructura (IX), que es preferentemente el 21-acetato de cortisol. Se pueden usar anhídridos propiónico o butírico en vez de anhídrido acético.

10 (2) En el segundo paso, el 21-éster resultante del paso (1) se aísla primero y después se hace reaccionar con ortoacetato de trietilo de acuerdo con el aspecto primario del proceso de esta invención, como se discutió anteriormente, para formar el 3-etil-enoléter correspondiente representado por la estructura (X). Preferiblemente la estructura (X) será el 3-enoléter de 21-acetato de cortisol.

15 Aunque es preferible hacer reaccionar primero un compuesto que tenga una estructura como la que se muestra en (VIII) v.g., cortisol con anhídrido acético para formar el 21-acetato correspondiente, el compuesto representado por la estructura (VIII) puede hacerse reaccionar con ortoacetato de trietilo al principio sin tener que pasar por la formación intermedia del 21-acetato. Haciendo reaccionar

1 un compuesto representado por (VIII) con ortoacetato de trietilo, se forma una pequeña cantidad, es decir de 10 a 15% -
2 de un 17,21-ortoéster intermediario, junto con el enoléter
3 mostrado en la estructura (X) donde R es hidrógeno. La pre-
5 sencia del 17,21-ortoéster no afecta la reacción total, ya
6 que se hidroliza bajo condiciones acídicas en el paso subsi-
7 guiente de cloración. Sin embargo, ya que la formación del
8 17,21-ortoéster reacciona con el ortoacetato de trietilo --
9 adicional, y porque la reacción de un compuesto tal como -
10 cortisol con anhídrido acético en piridina es tan limpia, y
11 la formación del 3-etilenoléter correspondiente es completa
12 y rápida en el paso 2, es preferible formar primero el 21-
13 éster antes de la reacción con el ortoacetato de trietilo.
14 Así, esta ruta preferida se muestra en el esquema de reac-
15 ciones.

(3) Después de aislar el 3-enoléter (X) se halogena para formar un 6-halo compuesto mostrado como estructura (XI). Como se discutió anteriormente, el paso de halogenación es una cloración o bromación.

20 (4) El compuesto representado por la estructura (XI) es un compuesto 6 β -halo sustituido. Antes de que este compuesto se haga reaccionar con un ortoacetato de trietilo para formar eficientemente un 3-enoléter como se muestra en la estructura (XII), el halógeno debe convertirse en un 6 α -halógeno. Esto se hace colocando el compuesto -
25 6 β -sustituido (XI) en un disolvente inerte a aproximadamente la temperatura ambiente (20 a 25°C) agregando una pequeña -
30 porción de un catalizador ácido y manteniendo la temperatura por 1 hora o menos, con preferencia 30 minutos o menos. Esto se lleva a cabo preferiblemente en un disolvente tal -

1 como glima, en presencia de 1% en peso o menos de un ácido
orgánico fuerte como catalizador tal como ácido trifluoro-
acético o ácido p-toluensulfónico. La conversión al 6 α -ha
lo compuesto es completa en menos de 1 hora, generalmente
5 en menos de 1/2 hora. Después se agregan a la mezcla reac
cionante el etanol y el ortoacetato de trietilo, y se deja
reaccionar de acuerdo con el aspecto primario de esta in--
vención con objeto de formar el 3-enoléter representado --
por (XII).

10 El intermediario (XII) puede convertir-
se entonces, después de aislarlo, en el producto final de-
seado siguiendo varios procedimientos.

15 (5a) El compuesto representado por la -
estructura (XII) puede hacerse reaccionar para formar el -
 $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno representado por la estructura (XIV),
directamente, En un procedimiento de un paso, el compuesto
representado por (XII) puede tratarse por ejemplo con 2,3-
dicloro-4,5-diciano-benzoquinona (DDQ) y un disolvente hi-
drocarbonado oxigenado substancialmente anhidro adecuado -
20 tal como dioxano, a temperatura ambiente, para formar el -
 $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrieno-21-éster representado por (XVI), que
a su vez puede hidrolizarse bajo condiciones básicas o trans
esterificarse para formar el 21-hidroxi esteroide represen-
tado por (XV), donde Z es una doble ligadura.

25 (5b) Debido a rendimientos superiores -
se utiliza preferiblemente un procedimiento de dos pasos en
donde se forma primero una estructura representada por (XIII)
que a su vez se dehidrogena en la posición 1 para formar la
estructura (XIV). Se puede hidrolizar entonces cualquiera -
30 de las estructuras (XIII) o (XIV), para formar la estructu-

1 ra representada por (XV) donde Z puede ser una simple o do-
ble ligadura, respectivamente. El compuesto representado por
(XIII) se forma primero por reacción de (XII) con un agente
oxidante adecuado (1,4-benzoquinona-tetrasustituida) a ba-
5 jas temperaturas (es decir alrededor de 0° a 10°C), en un -
disolvente oxigenado húmedo tal como dioxano o acetona con-
teniendo 25% en volumen o menos de agua. Un agente oxidante
particularmente adecuado es 2,3-dicloro-5,6-diciano-benzo-
quinona (DDQ). Generalmente esta reacción estará completa
10 en 2 horas o menos.

(5c) El $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno representado por
la estructura (XIII) se aísla y dehidrogena entonces en la
posición 1 para formar el compuesto representado por (XIV).
La dehidrogenación puede llevarse a cabo por medios quími-
15 cos o microbiológicos conocidos en la técnica. El $\Delta^{4,6}$ -preg-
nadieno representado por (XIII) se aísla primero antes de -
dehidrogenarlo de acuerdo con el siguiente paso. En la dehi-
drogenación química selectiva en la posición 1, el compues-
to (XIII) se trata con un agente oxidante adecuado bajo con-
20 diciones substancialmente anhidras en un disolvente adecua-
do tal como un hidrocarburo oxigenado, por ejemplo en alco-
hol, dioxano o acetona, a temperaturas superiores a la tem-
peratura ambiente, y hasta temperaturas de reflujo. Un agen-
te oxidante apropiado es DDQ, en tanto que disolventes ade-
25 cuados incluyen xileno, tolueno, alcohol amílico, dioxano o
acetona. De preferencia el material se refluja en el disol-
vente por un periodo de tiempo suficiente para que se efec-
tue la dehidrogenación. Esto será generalmente de 1 hora a
aproximadamente 20 horas con cloranilo en alcohol amílico,
30 o aproximadamente de 12 a 16 horas en xileno. Con DDQ en -

1 acetona anhidra se requerirá únicamente alrededor de 4 horas a temperatura de reflujo.

5 Se prefiere, sin embargo, que el método químico para dehidrogenar la posición Δ^1 se efectúe por el proceso de bromación en la posición 2 y dehidrobromación entre 1 y 2 para formar la doble ligadura. La bromación se efectúa haciendo reaccionar un agente bromante adecuado con el $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno en un disolvente adecuado, por un tiempo suficiente para completar la reacción. Agentes de bromación adecuados incluyen bromo en combinación con bromuro de hidrógeno, y pueden usarse en ácido acético a temperatura ambiente, por un tiempo de aproximadamente 10 minutos, lo cual da un producto de reacción de aproximadamente 85% de pureza o mejor. Un agente bromante particularmente valioso en la bromación en C-2 es el bromhidrato de perbromuro de piridinio o tribromuro de trimetilfenilamonio en tetrahidrofurano, cuando se trabaja a temperaturas de 30°C o inferiores, preferiblemente a aproximadamente 20 a 25°C.

15 El producto 2-bromado resultante se dehidrobroma entonces haciéndolo reaccionar con un agente dehidrobromante. Se pueden encontrar reacciones típicas de dehidrobromación en las páginas 213 a 218 de Steroid Reactions, An Outline For Organic Chemists, por Carl Djerassi, Holden-Day, 1963. Tantas de esas reacciones como sean pertinentes se incorporan aquí como referencia. Un método particularmente preferido involucra reflujar el 2-bromo- $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno con carbonato de litio y bromuro de litio en DMF por 5 horas o menos, preferiblemente por menos de 3 horas a temperaturas de aproximadamente 100°C a 110°C.

20
25
30 (5d) Alternativamente, el compuesto re--

1 presentado por la estructura (XIII) se puede dehidrogenar -
por métodos microbiológicos, esto es, el compuesto se trata
por un proceso de fermentación que puede emplear ya sea (i)
un crecimiento de microorganismos como *Arthobacter simplex*
5 o (ii) una preparación enzimática libre de células y célu-
las secadas con un alcano o alcanol inferior en presencia -
de un aceptador de hidrógeno. Sin embargo, ya que los micro
organismos y preparaciones enzimáticas tienen cierta activi-
dad de estearasa, se prefiere formar primero el 21-hidroxi
10 compuesto por hidrólisis o transesterificación, y tratar -
entonces ese compuesto para formar el $\Delta^{1,4,6}$ -compuesto.

El proceso descrito en la Patente nortea-
mericana 2.837.464 de Nobile, que comprende someter un Δ^4 -
3-cetopregнено a la acción de un cultivo de un miembro del
15 grupo que consiste de *Corynebacterium simplex* (también re-
ferido como *Arthobacter simplex*) y *Corynebacterium hoatii*,
es representativo del proceso que utiliza un crecimiento de
microorganismos. Se incorpora aquí como referencia la por-
ción de la Patente que sea pertinente. Generalmente la in-
20 troducción de una doble ligadura Δ^1 se produce satisfacto-
riamente a un pH de 7.6 a aproximadamente 8, a temperatura
de 32° a aproximadamente 37°C. El proceso descrito en la --
Patente norteamericana 3.047.460 de Sih y Bennett es repre-
sentativo de la preparación enzimática libre de células en
25 presencia de aceptadores de hidrógeno. En el proceso de esa
Patente un esteroide saturado en las posiciones 1.2 se so-
mete a la acción de una mezcla de un extracto de un micro-
organismo dehidrogenante del anillo A, tal como *Corynebac-*
30 *terium*, que esté substancialmente libre de células vivas.
Otros microorganismos que pueden usarse incluyen *Nocardia*,

1 Corynebacterium, Mycobacterium, Cyllindrocarpon y Bacterium.
Los portadores de hidrógeno que pueden usarse junto con el
extracto libre de células de acuerdo con esa invención in-
cluyen reactivos de oxidación-reducción, por ejemplo tintes
5 tales como ferrocianuro de potasio; tiazinas y derivados de
imina como por ejemplo azul de metileno, metosulfato de fe-
nacina y los semejantes, benzoquinonas y derivados de imina
como por ejemplo ortoquinona y cloruro de azul de toluileno;
naftoquinonas como azul de cresol y las semejantes, e indo-
10 fenoles, particularmente 2,6-dicloro-indofenol.

En el proceso del extracto libre de célu-
las, el extracto se puede mezclar directamente con el este-
roide de partida y agregar entonces el portador de hidrógeno
a la mezcla, o mezclarse inicialmente con el portador de hi-
15 drógeno, y ponerse entonces en contacto con el esteroide.
La concentración del portador de hidrógeno no es crítica, y
se puede usar desde una cantidad catalítica hasta una canti-
dad estaquiométrica igual a la concentración del esteroide.
El pH y la temperatura durante la dehidrogenación no son crí-
20 ticos. Las temperaturas pueden estar comprendidas dentro de
los límites de 20° a aproximadamente 45°C, la temperatura -
óptima puede ser entre 25° a aproximadamente 35°C. El pH pue-
de ser ácido, alcalino o neutro, y preferiblemente dentro -
de los límites de 6,0 a 8,0. Si se desea mantener el pH a un
25 valor determinado, se puede incorporar a la mezcla reaccio-
nante un regulador tal como un fosfato inorgánico, v.g., -
fosfato de sodio. La mezcla reaccionante se deja reposar -
entonces por un periodo adecuado hasta que se completa la -
dehidrogenación del anillo A, siendo esto normalmente den-
30 tro de un periodo de 1 a 20 horas.

1 Un proceso de dehidrogenación particularmente efec-
tivo se describe en la solicitud de Patente norteamericana
expediente No. 550,244, en el cual un $\Delta^{4,6}$ compuesto tal
como (XV) en donde Z es un enlace sencillo, se dehidrogena
5 selectivamente usando *Arthobacter simplex* (referido también
como *Corynebacterium simplex*) en presencia de un aceptador
de hidrógeno tal como quinonas o derivados de quinona. La
porción pertinente de la descripción de la Solicitud nortea-
mericana Expediente No. 550.244, presentada el 18 de febre-
10 ro de 1.975 se incorpora aquí como referencia. Este proceso
es particularmente valioso para la preparación de 6-cloro-
 $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β ,17 α , 21-triol-3,20-diona a partir
del $\Delta^{4,6}$ -pregnadieno. Una cepa preferida de *Arthobacter sim-*
15 *plex*, NRRL No. V-8055 está disponible al público y puede ob-
tenerse del Northern Regional Research Laboratory, 1815
North University Street, Peoria, Illinois.

Aceptadores de hidrógeno útiles en el proceso de
esa invención están seleccionados de quinonas y sus deriva-
dos, e incluyen benzoquinonas tales como tetrametil-p-benzo
20 quinona y 2-isopropil-5-metil-p-benzoquinona; naftoquinonas
tales como menadiona y 2-hidroxi-1,4-naftoquinona; indofeno-
les tales como 2,6-dicloro-indofenol y bisulfito de sodio-me-
nadiona. Es ventajoso mantener el pH dentro de los límites
de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 8,5 durante la Δ^1
dehidrogenación, mientras que la temperatura deberá ser de
25 aproximadamente 23 a aproximadamente 33°C con preferencia
aproximadamente 28°C. Cuando se ha obtenido un medio de
crecimiento adecuado, se puede agregar al medio una canti-
dad de sustrato tan alta como 0,7 g. por litro del medio,
30 sin embargo, la concentración preferida de sustrato es

1 de 0,5 g. por litro del medio. La cantidad de aceptador de hidrógeno puede variar dentro de amplios límites, es decir, la relación molar de sustrato con el aceptador de hidrógeno puede variar de 30:1 a 10:1. Cuando se usa bisulfito de sodio-menadiona como aceptador de hidrógeno, la relación prefe-
5 rida de sustrato con el aceptador es de 15:1.

10 El esteroide se puede agregar al medio - como una suspensión en un disolvente adecuado tal como agua, como una solución en un disolvente tal como etanol, acetona o dimetilformamida, o en una forma finamente dividida, tal como partículas sólidas micronizadas. El aceptador de hidrógeno se agrega al medio como una solución en un disolvente tal como etanol o dimetilformamida o en el caso de bisulfito de sodio-menadiona como una solución acuosa.

15 Después de agregar el sustrato y el aceptador de hidrógeno se continúan la agitación y aireación del medio por un periodo de 3 a 7 horas, o hasta que la dehidrogenación es completa. Durante el curso de la reacción de fermentación se puede seguir el progreso de la dehidrogenación
20 por cromatografía en placa delgada de gel de sílice de muestras extraídas del solvente.

25 Cuando la dehidrogenación es completa se recupera el producto, 6-cloro- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-diona, del medio de fermentación por extracción con un disolvente adecuado tal como cloroformo, cloruro de metileno, metil-isobutil cetona y semejantes. El disolvente se evapora para dar un producto semi-cristalino que se purifica por cromatografía sobre gel de sílice. El producto puede purificarse adicionalmente por recristalización
30 de un disolvente adecuado tal como acetato de isopropilo, acetato de etilo, una mezcla de acetona y agua, y semejantes.

1 Los siguientes ejemplos se dan para ilustrar el
proceso de esta invención, así como para distinguir el pro-
ceso de esta invención de los procesos conocidos que exis-
ten actualmente en el ramo. Los ejemplos deben considerarse
5 como ilustrativos de compuestos y condiciones representati-
vas, y no debe considerarse en un sentido limitante.

EJEMPLO 1

10 Se agregaron 20 g. de 21-acetato de cortisol a
100 ml. de etanol absoluto y 100 ml. de éter dimetil-etilen
glicólico (glima). La solución se calentó a 40°C y se agre-
garon 2 g. de ácido p-toluensulfónico (APTS) seguido de 24 g.
de ortoacetato de trietilo. La mezcla reaccionante se agitó
a 40°C hasta obtener una solución. La mezcla reaccionante se
15 agita por 20-minutos más a 40°C se enfria a temperatura am-
biente y se agregan 2 ml. de piridina. La mezcla reaccionante
se vierte lentamente en una mezcla de 520 ml. de agua y 52 ml.
de hexano. Después de 30 minutos a 0-5°C se filtró el producto
y lavó con agua y después con 50 ml. de hexano, y se secó al
vacío a 40°C. El rendimiento fué de 90 a 104%. Este es un ejem-
20 plo del proceso de esta invención que muestra que los rendimien-
tos son sustancialmente cuantitativos para este proceso particular.

EJEMPLO 2

25 Este ejemplo se lleva a cabo para mostrar la dife-
rencia en rendimiento y producto entre el proceso de esta in-
vención y un proceso conocido en el ramo. En este ejemplo par-
ticular, se agregan 10 g. de 21-acetato de cortisol a 100 ml.
de etanol absoluto, 10 ml. de ortoformiato de trietilo y
0,300 g. de ácido 2,4-dinitrobencensulfónico. La mezcla se
30 agita a temperatura ambiente hasta que se efectua la disolu-
ción. La reacción se agita por 15 minutos más y se agrega 1

1 ml. de piridina. La solución se concentra a la mitad del volumen y se agregan 10 ml. de agua. Se continúa la concentración hasta que ocurre la cristalización. Se agregan aproximadamente 100 ml. de agua y el producto se filtra, lava bien con agua y seca para dar el 3-enol-éter correspondiente. En este caso particular parece ser que se obtiene algún producto de deshidratación, el cual estuvo completamente ausente en el ejemplo 1, y permanece aproximadamente 10% de material sin reaccionar por este proceso, así como una pequeña cantidad de productos indeseados, en comparación al ejemplo 1 en donde prácticamente no hubo material sin reaccionar, de acuerdo con la determinación por cromatografía en placa delgada.

EJEMPLO 3

15 Este ejemplo muestra la necesidad de que se encuentre presente el ortoacetato de trietilo para que se lleve a cabo el proceso de esta invención. En este ejemplo se usaron la técnica y cantidades exactas del ejemplo 1, excepto que se sustituyó el ortoacetato de trietilo por ortoformiato de trietilo. El análisis de los productos finales por cromatografía en placa delgada (t.l.c.) indicó que todavía había una pequeña cantidad de materia prima, pero que había una cantidad sustancial de intermediarios y aproximadamente de 10 a 15% del producto de deshidratación en C-11(9).

EJEMPLO 4

25 En este ejemplo se agregan 20 g. de cortisol a 100 ml. de etanol absoluto y 100 ml. de éter dimetil-etilenglicólico, como en el ejemplo 1. Se siguió en este ejemplo el procedimiento restante establecido en el ejemplo 1, excepto que se usaron 0,3 g. de ácido 2,4-dinitro-bencensulfónico y 10 g. de ortoacetato de trietilo. Los resultados de

30

1 mostraron una reacción sustancialmente completa con forma-
ción de aproximadamente 15% del 17,21-ortoéster del 3-eno-
léter. La presencia de este producto no afecta el proceso
de esta invención ya que el producto puede reaccionar pos-
5 teriormente, y al final de la serie de reacciones el 17,21-
ortoéster puede hidrolizarse fácilmente para formar el 11 β ,
17 α ,21-trihidroxi esteroide correspondiente deseado.

EJEMPLO 5

10 Se siguió el mismo procedimiento del ejemplo 3 ex-
cepto que no se empleó éter dimetil-etilén-glicólico. Al fi-
nal de la secuencia de reacciones todavía existía una can-
tidad sustancial, esto es aproximadamente 10% de la materia
prima original que no había reaccionado. Así, esto señala
nuevamente la necesidad de que el ortoacetato de trietilo es-
15 té presente para que el proceso de esta invención sea completo.

EJEMPLO 6

Este ejemplo muestra que el proceso de la patente
norteamericana 3.087.927 da el producto deseado.
20 Con objeto de establecer adicionalmente la impor-
tancia de la presencia del ortoacetato de trietilo y tam-
bién la importancia de que la mayor parte del disolvente sea
el etanol, en este ejemplo, se suspenden 30 g. del 21-ace-
tato de cortisol en una solución hecha de 300 ml. de dioxa-
no, 30,0 ml. de ortoformiato de trimetilo y 1,20 ml. de me-
25 tanol absoluto. A la suspensión rápidamente agitada se le
agregan gota a gota 0,60 ml. de ácido sulfúrico concentrado.
La suspensión se disuelve continuamente durante los primeros
minutos y se afecta la disolución completa a los 6 minutos.
30 Se agregan 1,80 ml. de piridina, inmediatamente con lo cual
se elimina una coloración rosa pálido, y la solución resul-

1 tante se vuelve amarillo pálido. Hasta este punto el proceso
se lleva a cabo a temperatura ambiente. Se interrumpe la reac-
ción y la solución se coloca en un embudo de separación, cu-
ya punta se sumerge bajo la superficie de una mezcla de 300
5 ml. de agua-hielo en un vaso de precipitados grande. La mez-
cla reaccionante se agrega lentamente a la mezcla de hielo-
agua, agitada vigorosamente, en un periodo de 2 a 3 horas.
El sólido formado se deja reposar en la solución a 5°C du-
rante la noche, y se filtra entonces. El producto se lava.
10 bien con agua y seca al aire para dar 28,7 g. de producto.
El análisis del producto por t.l.c. indica que todo el pro-
ducto es el 21-acetato- $\Delta^9(11)$ -compuesto.

EJEMPLO 7

15 En este ejemplo se siguió el mismo procedimiento
del Ejemplo 6, excepto que se usó etanol absoluto en lugar
de metanol y ortoacetato de trietilo en lugar de ortoformia-
to de trimetilo. Siguiendo el procedimiento del ej. 6 se en-
contró que sustancialmente no hubo reacción. Esto demuestra
la importancia de usar una mayor cantidad de etanol y que la
20 descripción de la pat. norteamericana 3.086.927 es inoperante.

25 Así, por los ejemplos dados anteriormente y esta-
blecidos en la Tabla I, puede verse que el proceso de esta
invención en donde el esteroide se trata con ortoacetato de
trietilo en un disolvente que consiste de una mayor parte de
etanol y una menor cantidad de un disolvente hidrocarbonado
origenado tal como glima, da resultados superiores e imprede-
cibles por los conocimientos previos.

TABLA I

	<u>++TEOA</u>	<u>TEOF</u>	<u>EtOH</u>	<u>CLIMA</u>	<u>H+CAT</u>	<u>Resul- tados</u>
30 1 (Invención)	X	-	X	X	X	Rxn Comple- ta

1

TABLA I (Continuación)

	++TEOA	TEOF	EtOH	GLIMA	H+CAT	Resultados		
2	(Conocimien- tos previos)	-	X	X	X	Rxn incom- pleta.		
5	3	(Conocimien- tos previos)	-	X	X	X	Rxn Incomple- ta producto de deshidra- tación en Δ 11(9)	
	* 4	(Invención)	X		X	X	Rxn Completa algo del 17. 21-ortoéster (no dañino)	
10	5	(Conocimien- tos previos)	-	X	X	X	Rxn Incom- pleta.	
	6	+(Conocimien- tos previos) Pat. nortea- mericana 3.087.927	-	TMOF	Menos Me OH	Dioxa no	X	Solo produc- to deshidra- tación en Δ 11(9)
15	7	(conocimien- tos previos) Pat. nortea- mericana 3.087.927	X		Menos no	Dioxa no	X	No Rxn.

20

+ TMOF = ortoformiato de trimetilo; menos en porcentaje de metanol (MEOH); dioxano usando como disolvente principal.

++TEOA - ortoacetato de trietilo

TEOF - ortoformiato de trietilo

EtOH - etanol

25

H+CAT- catalizador ácido -varía, ver cada ejemplo

Rxn - reacción

"X" - material presente

"-" - material ausente

* Cortisol empleado como materia prima

30

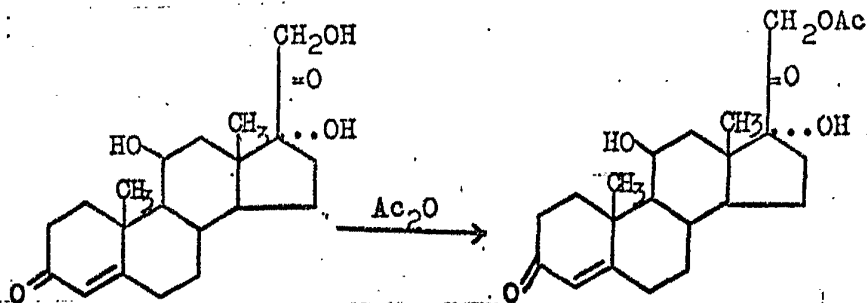
EJEMPLO 8

La siguiente serie de reacciones representa un método particularmente efectivo para preparar 6-cloro- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona a partir de cortisol.

Las condiciones de reacción son representativas de las adecuadas para su uso tanto en aspectos estrechos como amplios del proceso de esta invención, que se han encontrado ser las preferidas. Sin embargo, las condiciones de reacción representativas mencionadas en este ejemplo, aún cuando son las preferidas, no deben interpretarse en un sentido limitante.

Formación del 21-acetato de cortisol

Reacción:



Procedimiento:

Se colocan en un matraz de un litro 400 ml. de piridina y se agregan 100 g. (0,276 moles) de hidrocortisona (cortisol) el cual queda parcialmente en solución. Manteniendo la temperatura abajo de 30°C, en un periodo de 10 minutos, se le agregan 163,3 g (1,59) moles) de anhídrido acético. La mezcla se deja una hora a temperatura ambiente hasta que la reacción es completa. A la mezcla reaccionante se le agregan lentamente 300 ml. de agua, conservando -

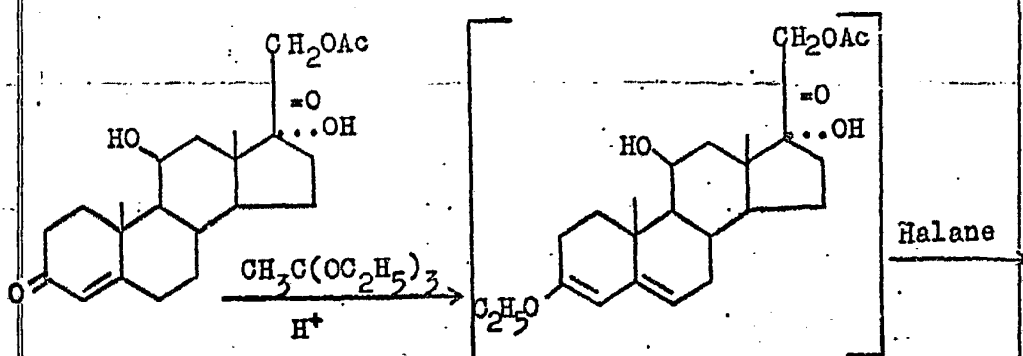
1 la temperatura bajo 40°C. La mezcla reaccionante se deja -
20 minutos y transfiere a un matraz de tres litros. Se agre-
gan en un periodo de 20 minutos, 1500 ml. de una solución --
acuosa saturada de cloruro de sodio. La mezcla se enfría a -
5 10°C, se deja una hora y filtra. El producto se lava con --
agua y seca a 50-60°C en un horno de vacío. Rendimiento: -
110,4 g. (110,4 peso/peso; 99,2% teórico).

Reacción con ortoacetato de trietilo para formar el
3-enol éter y 6β-cloración subsecuente

10

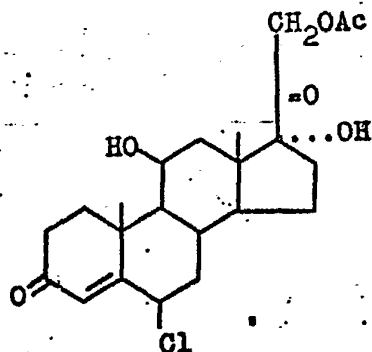
Reacciones:

15



20

25



30

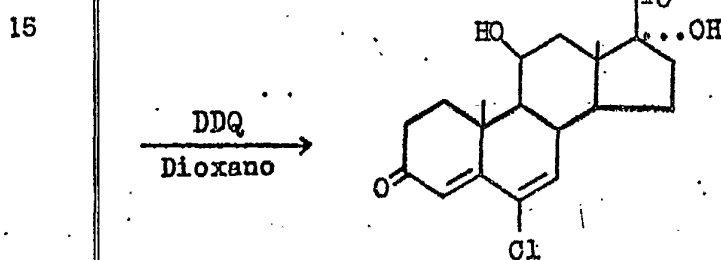
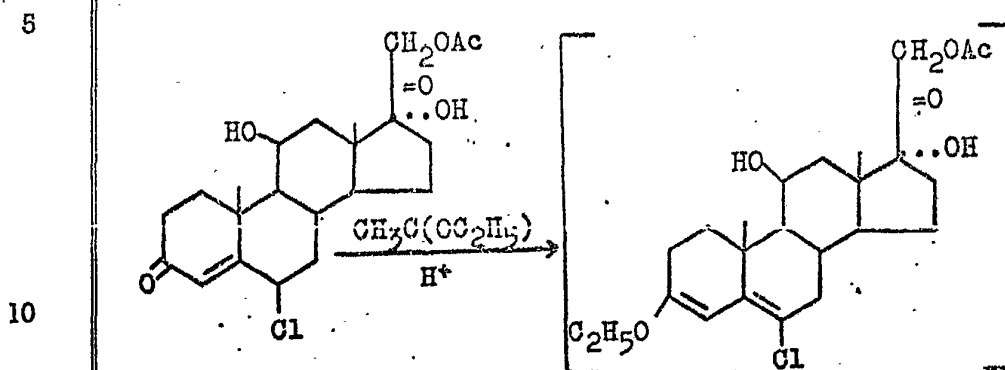
1 Procedimiento:

En un matraz de dos litros se colocan 550 ml. de etanol, 330 ml. de 1,2-dimetoxietano (glima) y 110,4 g. (0,272 mles) de 21 acetato de cortisol. La mezcla se calienta a 40-42°C y se agrega una solución de 9 g. de ácido p-toluensulfónico en 200 ml. de 1,2-dimetoxietano, seguida de 116 g. de ortoacetato de trietilo. La temperatura se conserva a 38-42°C. Después de 20 minutos se agregan 2,5 g. de ácido p-toluensulfónico. La mezcla se deja a 38-42°C por 30 minutos, después se enfría a 8-10°C y se le agregan 12 ml. de piridina seguida de una solución de 2,7 g. de acetato de sodio en 50 ml de agua. La solución amarillo pálido se agrega a una mezcla de 14 g. de acetato de sodio en 2450 ml. de agua y 288 ml. de hexano, después se enfría a 10°C, deja 20 minutos, filtra y lava con 800 ml. de agua conteniendo 1 g. de acetato de sodio, seguido de 220 ml. de hexano.

La pasta húmeda (ca. 200 g.) se agrega a una mezcla fría (10°C) de 13,7 g. de acetato de sodio en 184 ml. de agua y 440 ml. de acetona y se enfría a 0-5°C. Se agrega una solución de 27 g. de Halane (marca registrada del 1,3-Dicloro-5,5-dimetil hidantoina) en 120 ml. de acetona conservando la temperatura bajo 5°C. La mezcla se deja 45 minutos a 0-5°C; después se agrega una solución de 9,2 g. de bisulfito de sodio en 132 ml. de agua y la mezcla se vierte lentamente, en un periodo de 30 minutos, en 2200 ml. de agua y se enfría a 0-5°C, se deja una hora, filtra y seca a 45-50°C en un horno de vacío. Rendimiento: 107,2 g. (-97,1 peso/peso; 89,5% teórico).

1 Reacción con ortoacetato de trietilo para formar un
3-enol éter y formación subsecuente de $\Delta^{4,6}$

Reacción:



Procedimiento:

Se colocan en un matraz de 2 litros 104 g. (0,237 moles) del 21-acetato de 6 β -cloro-11,17 α ,21-trihidroxipregn-4-en-3,20-diona (del paso anterior), 500 ml. de 1,2-dimetoxietano y 3,03 g. de ácido p-toluensulfónico y se deja durante 30 minutos a 20-25 $^{\circ}$ C, se agregan 500 ml. de etanol seguido de 91,4 g (0,563 moles) de ortoacetato de trietilo. La mezcla reaccionante se hace de color rojo oscuro y se deja a 20-25 $^{\circ}$ C durante 40 minutos, después se enfría a 15 $^{\circ}$ C y se agrega una solución de 13 g. de acetato de sodio en

25

30

1 640 ml. de agua. La temperatura se conserva bajo 20°C y se
agregan 220 ml. de cloruro de metileno seguido de 1000 ml. -
de agua, que se agrega lentamente, conservando la temperatu-
ra abajo de 25°C. La mezcla se agita por 15 minutos y la ca-
5 pa orgánica inferior se separa. La capa acuosa superior se
extrae con tres porciones de 75 ml. de cloruro de metileno.
Las fracciones orgánicas se combinan y lavan con una solu-
ción de 1,3 g. de acetato de sodio en 260 ml. de agua. El ex-
tracto de cloruro de metileno (ca. 900 ml. en total) se se-
10 para y concentra al vacío a aproximadamente 400 ml. y, des-
tilando mientras tanto, una mezcla de 850 ml. de dioxano y
1,3 ml. de piridina, se le agrega a la anterior conservando
el volumen aproximadamente de 400-450 ml. La mezcla se des-
tila a un volumen final de 400 ml. (el cloruro de metileno
15 no debe estar presente en este punto) y se agregan 300 ml.-
de dioxano. La mezcla se enfría a 10°C y se agregan 65 ml.
de agua, después se enfría a 0-5°C. Se agrega una solución
de 75 g. de DDQ en 300 ml. de dioxano, en un periodo de una
hora conservando la temperatura a 0-5°C. El embudo de la --
20 adición se lava con 30 ml. de dioxano y la mezcla se deja a
0-5°C por 30 minutos. Se agrega una solución de 30,4 g. de
bisulfito de sodio en 87 ml. de agua, conservando la tempe-
ratura bajo 10°C. La suspensión espesa se concentra al vacío
a 600 ml. Esta suspensión se vierte lentamente, bajo agita-
25 ción vigorosa, en 3000 ml. de agua, después se enfría a 10°C
y se deja tres horas. La mezcla del producto se filtra y la-
va con agua. El sólido húmedo se suspende en 1500 ml. de clo-
ruro de metileno, se agita durante una hora, filtra y lava -
con 100 ml. de cloruro de metileno. El sólido se carga en --
30 400 ml. de cloruro de metileno, se agita durante 20 minutos,

1 filtra y lava con 100 ml. de cloruro de metileno. Las solu-
ciones de cloruro de metileno se combinan y agitan con 1000
ml. de agua. La capa orgánica se separa y la capa de agua -
se extrae con 50 ml. de cloruro de metileno. Los extractos
5 de cloruro de metileno se concentran en 400 ml. y mientras
destilan, se agregan 1000 ml. de acetona conservando el vo-
lumen aproximadamente de 360-400 ml. La suspensión espesa -
se destila a un volumen final de 300 ml. y enfría a 0-5°C,
se deja 30 minutos, filtra y lava con 82 ml. de acetona --
10 fría (0-5°C). El producto se seca al vacío a 50°C. Rendi-
miento: 80,3 g. (77,2 peso/peso; 77,5% teórico).

Formación de Δ^1 e hidrólisis subsecuente.

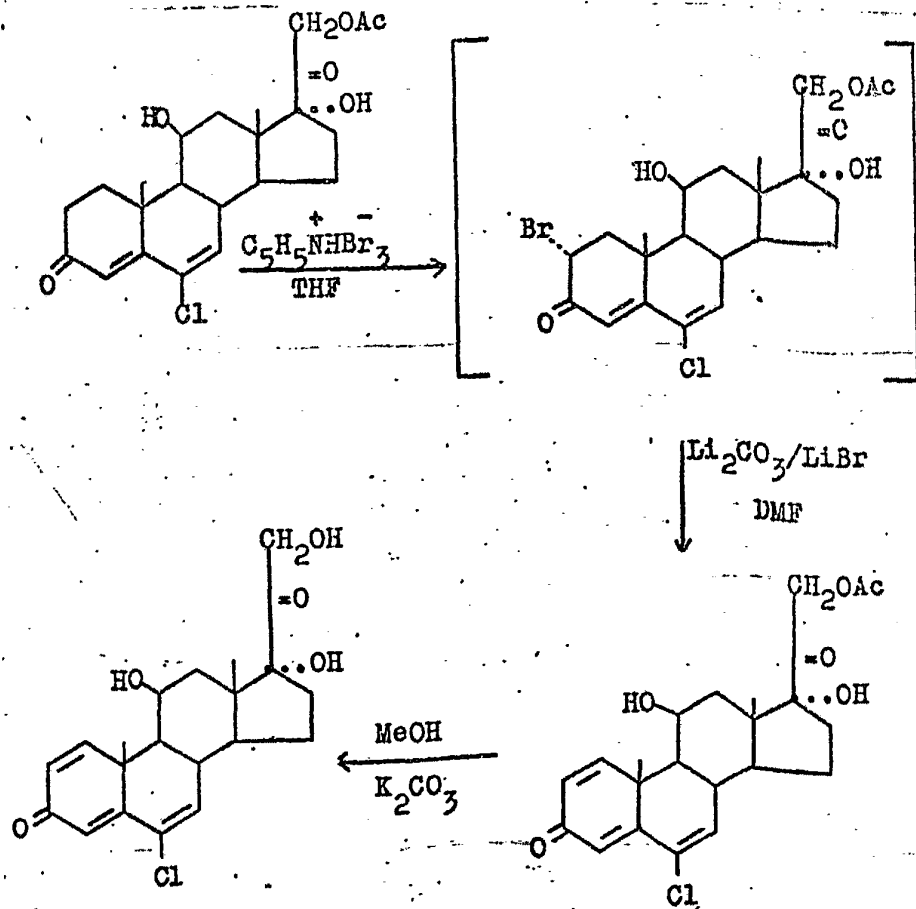
Reacciones:

15

20

25

30



1 Procedimiento:

5 Se agregan 350 ml. de cloruro de metileno a 50 g. del 21-acetato de 6-cloro-11 β ,17 α ,21-trihidroxipregna-4,6-dien-3,20-diona (del paso anterior, contiene ca. 10% de acetona). Se agregan 30 g. de alúmina neutra y la mezcla se agita por una hora. La alúmina se filtra y la solución se concentra a un volumen de 50 ml. Se agregan 400 ml. de tetrahidrofurano y la destilación se continúa hasta un punto de ebullición de aproximadamente 65°C. La mezcla se enfría a 25°C y se agrega una solución de 34 g. de bromhidrato de perbromuro de piridinio en 130 ml. de tetrahidrofurano. La reacción se agita a 25°C durante 20 minutos y se agregan 3 ml. de acetona. La mezcla reaccionante se filtra y el filtrado se concentra a un volumen de 50 ml. Se agregan 400 ml. de dimetilformamida seguida de 22,5 g. de carbonato de litio y 8,1 g. de bromuro de litio. El sistema se purga con nitrógeno y la mezcla reaccionante se calienta a 105°C durante 2-1/2 horas, concentra al vacío a 200 ml., enfría a 60°C y se agregan 50 ml. de ácido acético seguido de 70 ml de agua. La mezcla reaccionante se vierte lentamente en 1600 ml. de agua. Después de una hora a 25°C el producto se filtra y lava con agua. El producto se seca al vacío a 60°C. Rendimiento: 41,5 g. (83 peso/peso). El producto se cristaliza dos veces de acetona. La purificación da: 78,8 peso/peso.

25

La 6-cloro-11 β ,17 α ,21-trihidroxipregna-1,4,6-trien-3,20-diona se forma por transesterificación en metanol anhidro en presencia de una pequeña cantidad de carbonato de potasio.

30

1 EJEMPLO 9

5 Se sigue el procedimiento del Ejemplo 8 - para obtener el 21-acetato de 6-cloro-11 β ,17 α ,21-trihidroxi pregna-4,6-dien-3,20-diona, el cual se trasesterifica al co rrespondiente 21-hidroxi compuesto por reacción con metanol anhidro en presencia de una pequeña cantidad de carbonato de potasio.

EJEMPLO 10

10 Este ejemplo muestra un método para la -- formación de Δ^1 usando medios microbiológicos (i.e., creci- miento de células con un aceptor de hidrógeno).

A. Fermentación.

15 Un cultivo de *Arthobacter simplex* NRRLB- 8055 se deja crecer durante seis días a 28°C en una placa -- de agar de la composición siguiente:

(A):

Agar nutriente (Difco)	20 g.
Glucosa	10 g.
Extracto de levadura (Difco)	10 g.
20 Agua destilada	1 litro.

Un aplicador lleno del crecimiento superficial de la placa, se usa para inocular cada uno de dos matraces para cultivo de 300 ml., de nephlo (Bellco Inc.), conteniendo cada uno - 50 ml. del medio nutriente estéril siguiente:

25 (B):

Licor de maíz macerado	5 g.
Extracto de levadura (Difco)	1 g.
Cerelesa (Monohidrato de glu cosa práctico)	0,5 g.
30 Agua destilada pH 7	1 litro

1 Los matraces se incuban a 28°C en un agita-
dor rotatorio a 280 rpm usando un golpe de una pulgada. La
incubación es completa en 24 horas o cuando el cultivo se ha
5 ce turbio alcanzando 165-180 Unidades Klett medidas en un
colorímetro fotoeléctrico de Klett-Summerson equipado con
un filtro No. 66 y ajustado a 0 con un medio estéril. Des-
pués de esto, se usa el contenido total de ambos matraces
para inocular 900 ml. del medio (B) recién esterilizado con
10 tenido en un recipiente fermentador de vidrio de dos litros.
La incubación del recipiente fermentador se continúa a 28°C
manteniendo mientras tanto la aireación a 1/2 volumen de aire/
volumen del medio/minuto y la agitación a 300 rpm. Después
de 24 horas, se agregan 500 mg. de 6-cloro-11 β ,17 α ,21-tri-
hidroxipregna-4,6-diona-3,20-diona (preparada como se mues-
15 tra en los Ejemplos 8 y 9) a la fermentación como una solu-
ción etanólica (25 mg./0,4 ml. de etanol). Al mismo tiempo,
se agregan también 26,4 mg. de bisulfito sódico de menadio-
na a la fermentación como una solución acuosa filtrada, esté-
ril (26,4 mg/10 ml.). La incubación se continua como antes.
20 La reacción se termina de 3 a 5 horas.

B. Aislamiento y caracterización.

25 El caldo de fermentación se extrae tres
veces con porciones de 500 ml. de cloroformo. Los extractos
clorofórmicos combinados se secan sobre sulfato de sodio
anhidro y concentran hasta la sequedad al vacío. El residuo
semicristalino resultante se purifica por cromatografía so-
bre gel de sílice. El producto se decanta con mezclas de
30 cloroformo y acetona. Las fracciones que contienen el pro-
ducto deseado se reúnen y evaporan hasta la sequedad para
dar 475 mg. (rendimiento de 95% del teórico) de la 6-cloro-

1 - $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona que se cristaliza después de acetato de isopropilo.

5 En forma semejante, empleando menadiona y tetrametil-p-benzoquinona en lugar del bisulfito sódico de menadiona se produce una conversión similar de la 6-cloro- $\Delta^{4,6}$ -pregnadien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona a la 6-cloro- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona.

EJEMPLO 11

10 Se prepara una inoculación de *Arthobacter simplex* como en el Ejemplo 10.

15 Cinco mililitros del cultivo sembrado 24 horas antes, se usan entonces para inocular cuatro matraces Erlenmeyer de 250 ml. conteniendo cada uno 50 ml. del medio (B) (Ejemplo 1). Los matraces se incuban a 28°C en un agitador rotatorio a 280 rpm usando un golpe de una pulgada. Después de 24 horas se agregan a cada matraz 25 mg. de la 6-cloro- $\Delta^{4,6}$ -pregnadien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona (preparada en los Ejemplos 8 y 9) disuelta en 0,4 ml. de etanol. Al mismo tiempo un matraz recibe 0,78 mg. de la 2-isopropil-5-metil-p-benzoquinona en 0,2 ml. de etanol. Un segundo matraz recibe 0,83 mg. de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona y un tercer matraz recibe 1,2 mg. de la sal sódica del 2,6-dicloroindofenol disuelta en 0,5 ml. de agua. No se agrega un aceptor de hidrógeno al cuarto matraz que sirve como control. El análisis cromatográfico en placa delgada de muestras extraídas con disolvente, tomadas después de 7 a 24 horas de tiempo de contacto indica una velocidad y tanto por ciento incrementados de la formación del producto 6-cloro- $\Delta^{1,4,6}$ -pregnatrien-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-diona cuando se compara con el control no tratado.

20

25

30

1 EJEMPLO 12

En este proceso, se sigue el procedimiento del Ejemplo 1 excepto que se usan 2 g. de ácido trifluoroacético como catalizador ácido en lugar del ácido paratoluensulfónico. Se obtienen rendimientos similares.

5 EJEMPLO 13

En este proceso se sigue el procedimiento del Ejemplo 1 excepto que se usan 2 g. de ácido sulfúrico, como catalizador ácido en lugar de ácido p-toluensulfónico. Se obtienen resultados similares.

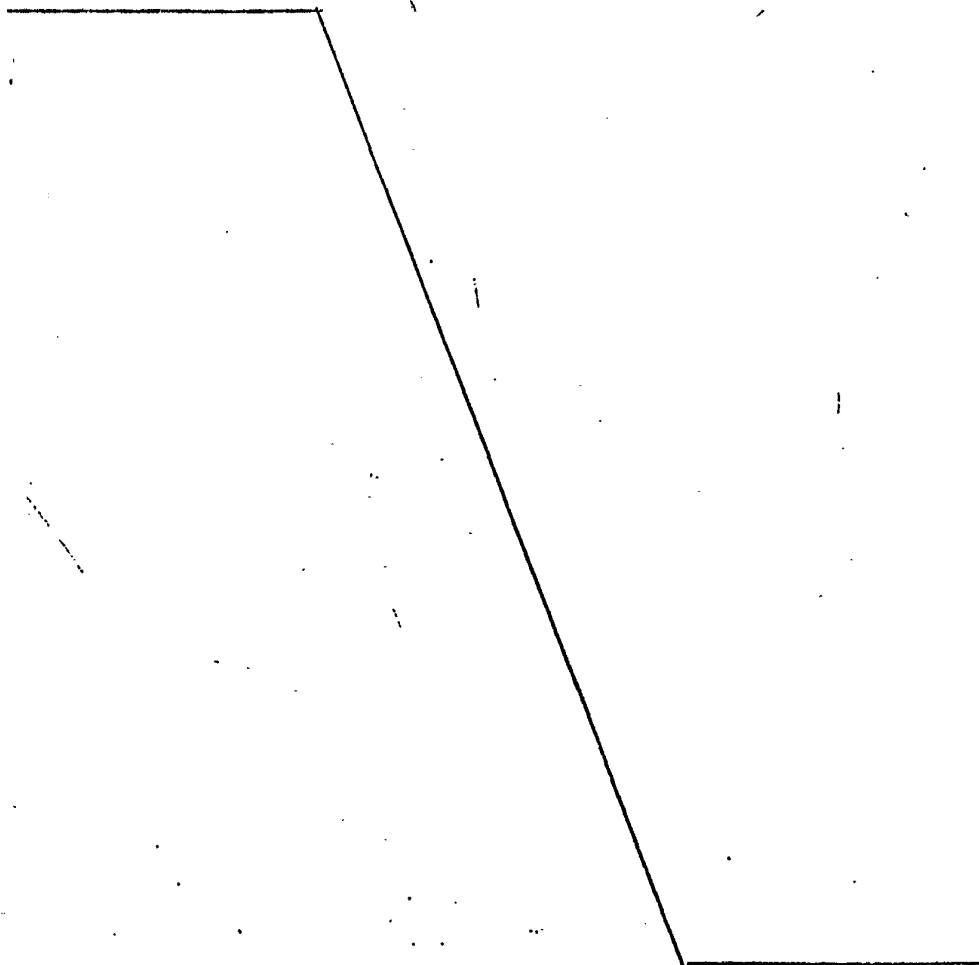
10 En resumen, la Patente de Invención que se solicita, deberá recaer sobre las siguientes:

15

20

25

30



1

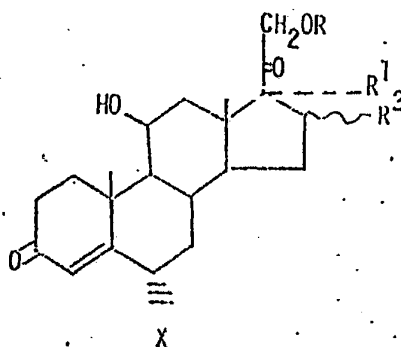
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de 3-enoléteres de 11β-hidroxi-Δ⁴-pregnen-3-onas y sus derivados que consisten en:

5

(a) hacer reaccionar un compuesto de 6α-halo-11β-hidroxi-pregnen-4-en-3,20-diona de fórmula

10



15

donde X es F, Cl, o Br, preferiblemente cloro; R es un éster alquílico inferior; R¹ es H, OH, u OCR^6 , preferiblemente OH; R² es H, α-CH₃ o β-CH₃, preferiblemente H y R⁶ es alquilo inferior, con ortoacetato de trietilo en un disolvente que es una mezcla de aproximadamente el 40% en peso o más de etanol, y el 60% en peso, o menos, de un hidrocarburo oxigenado líquido, compatible, en presencia de una cantidad catalítica de un catalizador ácido fuerte para formar un producto de reacción que es el correspondiente 3-enoléter;

20

25

(b) hacer reaccionar dicho 3-enoléter del paso (a) con 2,3-dicloro-4,5-dicianobenzoquinona en diaoxano, para formar el 21-acetato de 6-halo-11β,17α, 21-trihidroxi-pregna-4,6-dien 3,20-diona; deshidrogenando entre las posiciones C-1,2 para formar el 21 acetato de 6-halo-11β, 17α, 21-trihi-

30

1

droxipregna - 1-4,6 - trien - 3,20- diona:

(c) opcionalmente, trans-esterificar el producto del paso (6) para formar la 6-halo-11 β , 17 α , 21-trihidroxipregna-1,4,6-trien-3,20-diona.

5

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, para preparar el 6-cloropregna-1,4,6-trien-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-diona a partir del acetato-21 de 6 α -cloropregna-4-eno-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-diona.

10

3. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE 3-ENOLETTERES DE 11 β - HIDROXI- Δ^4 -PREGNEN-3-ONAS Y SUS DERIVADOS.

15

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de cuarenta y cinco páginas mecanografiadas.

Madrid 2 junio 1.977

BERNARDO UNGRIA

P.B.



20

25

30

