



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1325022 E**

(51) Classificação Internacional:
C07J 71/00 (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2001.09.17**

(30) Prioridade(s): **2000.09.18 EP 0011949**

(43) Data de publicação do pedido: **2003.07.09**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.11.02**
012/2006

(73) Titular(es):

**APPLIED RESEARCH SYSTEMS ARS HOLDING
N.V.**

PIETERMAAI 15 CURACAO

AN

(72) Inventor(es):

GERARDO BURTON

AR

CARLOS P. LANTOS

AR

ADRIANA SILVIA VELEIRO

AR

(74) Mandatário:

MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA

RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE 21-HIDROXI-6, 19-OXIDO-PROGESTERONA
(210H-60P)**

(57) Resumo:

RESUMO

"MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE 21-HIDROXI-6,19-ÓXIDO- PROGESTERONA (21OH-6OP) "

A presente invenção refere-se a um método novo para preparar 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (21OH-6OP) e/ou seus derivados 21-acetato, 21-propionato, 21-hemissuccinato, 21-fosfato, 21-oleato. A 21OH-6OP e seus derivados éster são antiglucocorticóides para o tratamento ou profilaxia de doenças associadas a um excesso de glucocorticóides, em particular para tratar síndrome de Cushing, hipercortisolismo iatrogénico ou depressão.

DESCRIÇÃO

"MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE 21-HIDROXI-6,19-ÓXIDO- PROGESTERONA (21OH-6OP)"

Área da invenção:

A presente invenção refere-se a um método novo para preparar 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (21OH-6OP) e/ou seus derivados 21-acetato, 21-propionato, 21-hemissuccinato, 21-fosfato e 21-oleato. A 21OH-6OP e seus ésteres são antiglucocorticóides para o tratamento ou profilaxia de doenças associadas a um desequilíbrio de glucocorticóides, em particular para tratar síndrome de Cushing ou depressão.

Contexto da invenção:

Os corticosteróides são hormonas esteróides estruturalmente relacionadas com o colesterol. Estas hormonas são sintetizadas no córtex adrenal e incluem os glucocorticóides (por exemplo, cortisol) e os mineralocorticóides (por exemplo, aldosterona), bem como androgénios e estrogénios fracos. A função adrenal, tal como a da glândula tiróide, está sob o controlo do hipotálamo (HPT) e da pituitária (PIT). Quando os níveis de cortisol (o glucocorticóide de ocorrência natural) diminuem para um valor inferior a um ponto determinado, o hipotálamo liberta CRH (hormona de libertação de corticotropina), que estimula a libertação da hormona adrenocorticotrópica (ACTH) pela pituitária. A ACTH é uma hormona trópica que estimula:

- a síntese e secreção de cortisol (exerce efeitos mínimos sobre a síntese/secreção de aldosterona), e

- o crescimento da glândula adrenal. Quando os níveis de cortisol aumentam, isto desliga a secreção de CRH e ACTH (*cf.* Figura 1).

O cortisol caracteriza-se pelas suas propriedades relacionadas com a biossíntese e metabolismo de glucose e propriedades relacionadas com a imunidade inespecífica, bem como específica. Devido aos efeitos sobre o metabolismo da glucose, o cortisol e respectivos análogos naturais ou sintéticos são habitualmente denominados glucocorticóides. Ligam-se ao receptor de glucocorticóides (GR).

O receptor de glucocorticóides é um membro de uma super-família de proteínas de receptores intracelulares intimamente relacionados que funcionam como factores de transcrição activados por ligandos. Outros membros desta super-família são o receptor de mineralocorticóides (MR) e o receptor de progesterona (PR). Verificou-se que o MR e GR são altamente homólogos; assim, esteróides naturais e mesmo sintéticos exibem reacção cruzada entre estes receptores. Relativamente ao PR, o seu ligando natural progesterona também reage de forma cruzada com MR e GR.

A síndrome de Cushing é uma perturbação resultante de secreção adrenocortical aumentada de cortisol. A hiperfunção do córtex adrenal pode depender da ACTH ou pode ser independente da regulação da ACTH, por exemplo, produção de cortisol por um adenoma ou carcinoma adrenocortical. A administração de quantidades supra-fisiológicas de cortisol exógeno ou de análogos sintéticos relacionados suprime a função adrenocortical e imita a hiperfunção de glucocorticóides independente da ACTH. A hiperfunção dependente da ACTH do córtex adrenal pode dever-se à hiper-secreção de ACTH pela pituitária, secreção

de ACTH por um tumor não da pituitária, tal como carcinoma do pulmão de células pequenas (a síndrome de ACTH ectópica) ou administração de ACTH exógena. Se bem que o termo "síndrome de Cushing" tenha sido aplicado ao cenário clínico resultante do excesso de cortisol independentemente da causa, a hiperfunção do córtex adrenal resultante do excesso de ACTH pela pituitária tem sido frequentemente referida como doença de Cushing, implicando uma anormalidade fisiológica particular. Os pacientes com doença de Cushing podem ter um adenoma basofílico da pituitária ou um adenoma cromóforo. Os microadenomas podem ser habitualmente visualizados por varrimento de CT ou, preferivelmente, MRI, utilizando uma técnica de alta resolução amplificada por gadolínio. Mesmo com estas modalidades, é difícil visualizar alguns microadenomas. Nalguns casos não se encontra nenhuma anormalidade histológica na pituitária apesar de evidências claras de super-produção de ACTH.

Pretende-se que as referências à síndrome de Cushing aqui signifiquem o cenário clínico resultante do excesso de cortisol independentemente da causa, que também pode ser iatrogénica, tanto pela injeção de ACTH como pela administração directa de cortisol ou análogos sintéticos, como prednisona, prednisolona, dexametasona ou outros que são amplamente utilizados em vários tipos de doenças, incluindo alérgicas, asmáticas, inflamatórias ou imunológicas. A síndrome de Cushing inclui adicionalmente tumores adrenais que segregam corticóides, produção de ACTH ectópica e doença de Cushing.

As manifestações clínicas incluem faces "de lua cheia" arredondadas com uma aparência pletórica. Ocorre obesidade

no tronco com almofadas de gordura proeminentes supraclaviculares e cervicais dorsais ("corcova de búfalo"); as extremidades distais e dedos ficam habitualmente bastante magros. Estão presentes enfraquecimento muscular e fraqueza. A pele é fina e atrófica, com fraca capacidade de cicatrização e facilidade de formação de feridas. No abdómen podem aparecer estrias púrpuras. São comuns hipertensão, cálculos renais, osteoporose, intolerância à glucose, reduzida resistência a infecções e perturbações psiquiátricas. A cessação do crescimento linear é característica em crianças. As mulheres têm habitualmente irregularidades menstruais. Uma produção aumentada de androgénios, para além de cortisol, pode conduzir a hipertricose, calvície temporal e outros sinais de virilidade nas mulheres.

Apesar do desenvolvimento de agentes anti-hormonais relacionados com os receptores de estrogénios e androgénios ter sido bem sucedido, a busca de anti-corticóides selectivos é mais restrita.

Agentes conhecidos que suprimem a síntese de hormonas esteróides a vários níveis (isto é, inibidores de enzimas que catalisam várias fases da síntese de hormonas esteróides) são revistos em *J. Steroid Biochem.*, **volume 5**, página 501 (1974) e incluem os seguintes:

- a) derivados do difenilmetano, por exemplo, anfenona B (que suprime a síntese de hormonas esteróides nas fases 11-beta-, 17- e 21- da hidroxilase);

- b) derivados da piridina (série SU-c), por exemplo, metirapona (que suprime a síntese na fase 11-beta da hidroxilase);
- c) glutaramidas alfa, alfa-substituídas, por exemplo, aminoglutetimida (que impede a síntese de pregnenolona a partir do colesterol por supressão da 20-alfa-hidroxilase e C₂₀,C₂₂-liase;
- d) substâncias esteróides, por exemplo, trilostano (esteróide-3-beta-hidroxi-5-androsteno-17-ona 3-beta substituído), que suprime a 3-beta-desoxiesteróide-hidrogenase-5,4-isomerase (*Steroids*, **volume 32**, página 257).
- e) esteróides da família das espironolactonas que são utilizados como anti-Mineralocorticóides de dissociação rápida (*PNAS USA* **71**(4) páginas 1431-1435 (1974)).
- f) um esteróide sintético descrito como anti-Mineralocorticóides, ZK91587, exibindo propriedades de ligação específica para o rim (*Z. Naturforsch.*, **45b**, páginas 711-715 (1990)) e MR de tipo I do hipocampo (*Life Science*, **59**, páginas 511-21 (1996)) mas não para GR de tipo II. Em consequência, pode ser convenientemente útil como ferramenta na investigação da função de MR em tecidos contendo ambos os sistemas de receptores.

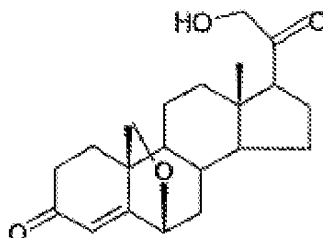
Agentes que suprimem especificamente a interação de hormonas glucocorticóides com receptores hormonais são:

- a) Mifepristone ($11\beta, 17\beta$)-11-[4-(Dimetilamino)fenil]-17-hidroxi-17-(1-propinil)estra-4,9-dieno-3-ona, que actua em receptores de hormonas glucocorticóides para formar um complexo incapaz de iniciar mecanismos conducentes ao efeito de glucocorticóides (*Annals of New-York Academy of Science*, **volume 761**, páginas 5-28 (1995)).
- b) substâncias não esteróides (*J. Steroid Biochem.*, **volume 31**, páginas 481-492 (1988)), por exemplo, cloridrato de drotaverina (um derivado da isoquinolino-1-(3,4-dietoxibenzilideno)-6,7-dietoxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina) ou ácido acetilsalicílico (*Moskovskaya Meditsina*, 1990, "Receptor mechanisms of the glucocorticoid effect" de V.P. Golikov).

Até à data, a única aplicação terapêutica de antiglucocorticóides (por exemplo, Mifepristone) que foi tentada num cenário clínico consistiu tratar casos inoperáveis de síndrome de Cushing não da pituitária. No caso do Mifepristone (uma anti-progesterona e um antiglucocorticóides) são necessárias doses elevadas (até 800 mg por dia).

Empregando uma aplicação sistemática de estratégias para aumentar a actividade e diminuir a reactividade cruzada e efeitos secundários indesejáveis, têm sido relatados progressos no desenvolvimento de agentes anti-hormonais com maior potência e selectividade, especialmente na área dos anti-estrogénios e anti-androgénios.

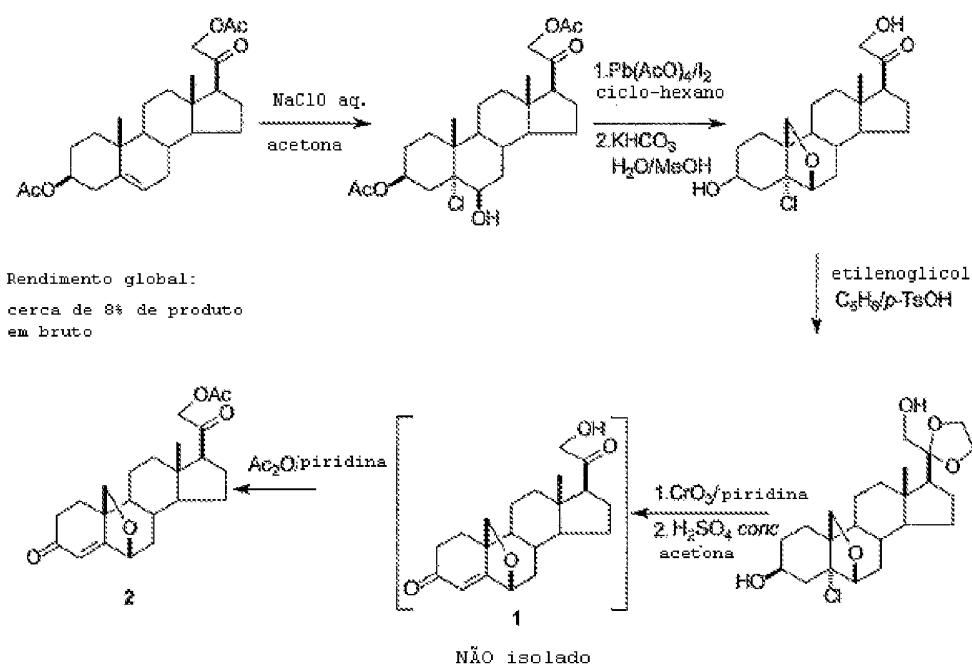
Na patente EP-903'146 é revelado o esteróide sintético 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (21OH-6OP) de fórmula I:



(I)

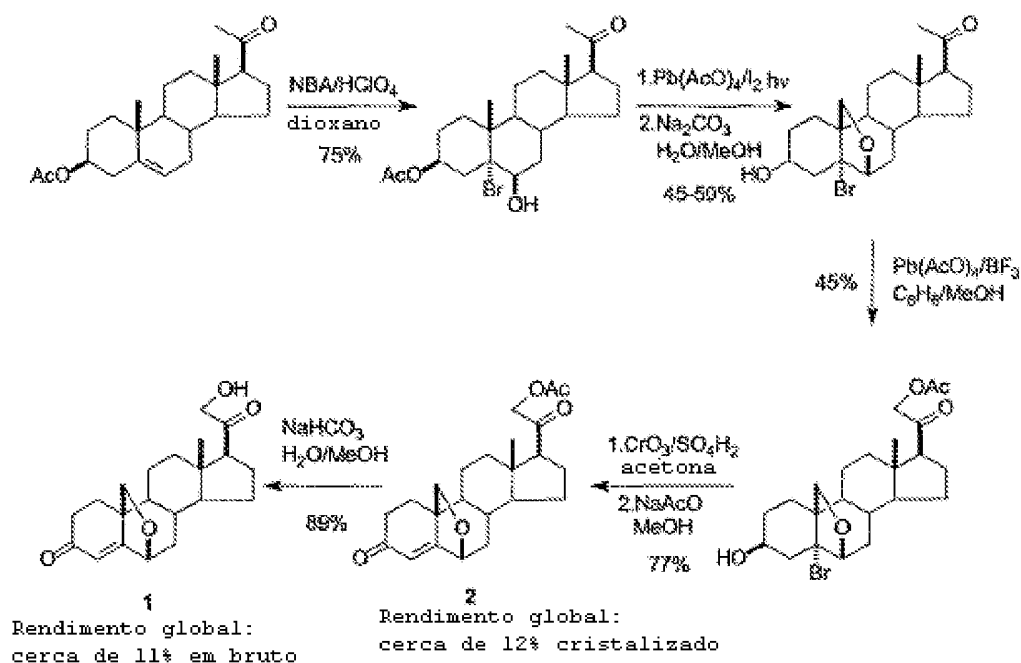
como antiglucocorticóide selectivo que não reage de forma cruzada substancialmente com PR do útero ou MR do rim. Esse antiglucocorticóide 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona pode ser utilizado no tratamento de doenças associadas a um excesso de glucocorticóides nas quais é desejável um antiglucocorticóide virtualmente sem propriedades mineralocorticóides ou glucocorticóides, bem como afinidade para MR ou PR.

A síntese de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) e do seu 21-acetato (**2**) foi primeiramente conseguida por Deghenghi em 1966 como intermediário numa síntese de 19-hidroxidesoxicorticosterona, partindo de diacetato de 21-hidroxipregnenolona. O procedimento resumido no **Esquema 1** envolve a utilização de uma reacção de "tipo hipiodito" com tetracetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{AcO})_4$). O composto **1** não foi isolado nem caracterizado, mas sim acetilado *in situ* para formar o acetato **2**. O rendimento global do composto **2** parcialmente purificado foi apenas 8,3%. Para além do baixo rendimento, este método de preparação é geralmente considerado difícil de reproduzir, principalmente devido à formação da cloro-hidrina.



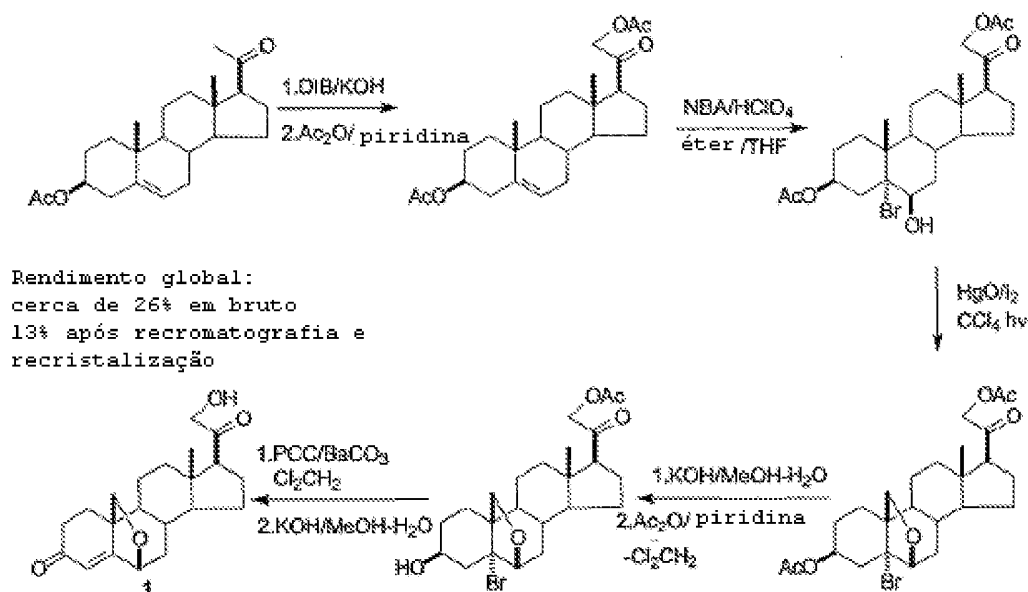
Esquema 1: Síntese de 21-hidroxi-6,19-óxido-pregesterona e seu derivado 21-acetato por Deghenghi.

Numa síntese mais recente de 19-hidroxidesoxi-corticosterona, Kirk e Yeoh (*J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2945 (1983)) prepararam o acetato **2** como intermediário. Este procedimento, que parte de acetato de pregnenolona, está representado no **Esquema 2**. Apesar de não serem fornecidos pormenores completos dos primeiros 3 passos na secção experimental da sua publicação, de acordo com a literatura citada o rendimento destes passos pode ser estimado como cerca de 34-37%, originando um rendimento global do acetato **2** de cerca de 12% a partir de acetato de pregnenolona.



Esquema 2: Síntese de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona e seu acetato por Kirk *et al.*

De acordo com outro método, representado no **Esquema 3**, a reacção de funcionalização remota com $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ e iodo em condições térmicas ou fotoquímicas é substituída pelo sistema mais reprodutível e "suave" de HgO /iodo em condições fotoquímicas e o passo de 21-hidroxilação é efectuado com um composto de iodo hipervalente (ver A. S. Veleiro, M. V. Nevado, M. C. Monteserín e G. Burton, *Steroids*, **60**, 268-272 (1995); M. Akhtar e D. H. R. Barton, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1528-1534 (1964); R. M. Moriarty, L. S. John e P. C. Du, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 641-642 (1981)).



Esquema 3: Síntese de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona por Veleiro *et al.*

O procedimento acima também parte de acetato de pregnenolona, que é primeiramente convertido em diacetato de 21-hidroxipregnenolona. No melhor dos casos, o rendimento global do composto **1** é cerca de 26%; no entanto, não foi possível cristalizar este produto, apesar de aparentemente puro de acordo com TLC e NMR, e, assim, foram necessários passos adicionais de purificação por cromatografia; o rendimento de composto **1** cristalino puro é cerca de 13% (19% a partir de diacetato de 21-hidroxipregnenolona). Apesar do acetato **2** ser um intermediário nesta via de síntese, não foi possível obter purificação completa após desacetilação (isto é, do composto **1**). Suplementarmente, apesar deste procedimento permitir a síntese de pequenas quantidades de composto **1** para os testes biológicos iniciais efectuados em 1996, tentativas para aumentar a escala do procedimento falharam. Não

obstante os métodos correntemente conhecidos fornecerem 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**), dão consistentemente origem a rendimentos inferiores bem como a produtos secundários difíceis de eliminar.

Descrição da invenção

Um objectivo da invenção consiste em proporcionar um método novo para preparar 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (21OH-6OP) e/ou seus ésteres.

Um objectivo suplementar da invenção consiste em fornecer 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona e/ou seus ésteres.

Num primeiro aspecto, a presente invenção proporciona um método novo para preparar 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) ou seus ésteres, por exemplo, ésteres de carboxilato, fosfato ou sulfato. Em especificações preferidas, a invenção proporciona um método novo para preparar 21OH-6OP e seus derivados 21-acetato, 21-propionato, 21-hemissuccinato, 21-fosfato e 21-oleato. O método da invenção evita essencialmente todas as inconveniências conhecidas até à data. O método da invenção produz 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) com bom rendimento, com um grau aceitável de pureza e evita metais pesados como reagentes. O método da invenção é adequado para a preparação à escala industrial de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) e seus ésteres.

Os objectivos da invenção são cumpridos de acordo com a reivindicação principal. Especificações preferidas são apresentadas nas reivindicações dependentes, que são aqui incorporadas.

O novo procedimento de síntese de acordo com a presente invenção compreende ou consiste nos seguintes passos básicos consecutivos:

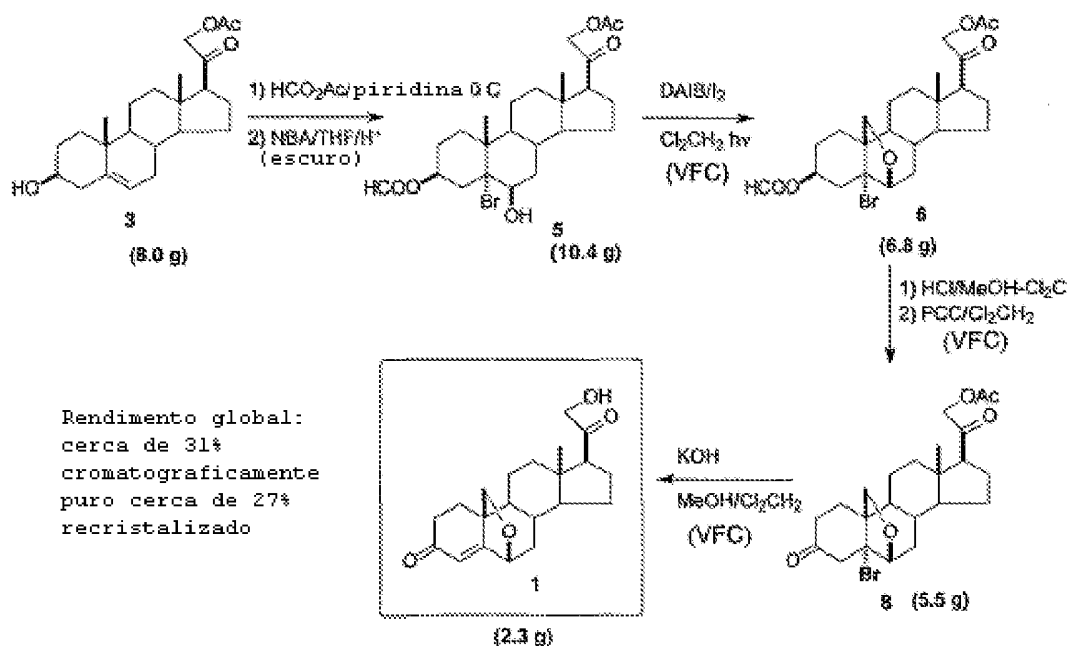
- a) Fornecer 21-acetoxipregnenolona (**3**) (que presentemente é um produto comercial);
- b) Transformar o grupo C-3 hidroxil da 21-acetoxipregnenolona num éster instável, preferivelmente um éster de formato;
- c) Obter o produto de bromo-hidratação a partir da 21-acetoxipregnenolona protegida, em que essa bromo-hidratação resulta da adição de um bromo e de um grupo hidroxil à ligação dupla da posição C5-C6;
- d) Realizar uma ciclização intramolecular com o átomo C19 com o "reagente Suarez" (diacetoxiodobenzeno; ver Armas *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 405 (1989)) e iodo sob irradiação, obtendo assim a ponte 6,19-óxido no esqueleto;
- e) Efectuar uma hidrólise selectiva, preferivelmente com HCl/MeOH/diclorometano, seguida de uma oxidação, preferivelmente com clorocromato de piridínio (PCC), obtendo desse modo uma bromoacetona;
- f) Efectuar uma hidrólise da bromoacetona resultante do passo e), para obter 21-hidroxil-6,19-óxido-progesterona (**1**), e, opcionalmente,

- g) Proceder à acilação da 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) para obter o 21-éster (o acetato está mostrado como **2**).

Ésteres preferidos são ésteres C1-18 acilo (opcionalmente substituídos com COOH, 1 ou 2 vezes) e ésteres de fosfato. Podem obter-se ésteres de acilo fazendo reagir 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) com um ácido orgânico, na presença de um agente de acoplamento (por exemplo, N,N'-diciclo-hexilcarbodiimida), ou com um éster orgânico activado (por exemplo, um éster de nitrofenol), ou com um haleto de acilo (por exemplo, um cloreto de acilo) ou com um anidrido de acilo. Podem obter-se ésteres de fosfato fazendo reagir 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona com um agente de fosforilação (por exemplo, oxicloreto de fósforo, seguido de hidrólise básica).

O 21-propionato ou 21-hemissuccinato e 21-oleato e derivados são obtidos por esterificação da 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) do passo f) com ácido propiônico, ácido succínico ou oleico, seus anidridos, ésteres activados ou cloretos de acilo.

Um procedimento de síntese preferido de acordo com a presente invenção está representado no Esquema 4.



Esquema 4: Nova Síntese de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona

De acordo com o método preferido ilustrado no **Esquema 4**, introduz-se um grupo formato como grupo protector para a posição 3. Os formatos têm a vantagem de poderem ser hidrolisados em condições ácidas relativamente suaves (HCl/MeOH-diclorometano) nas quais acetatos primários e mesmo α -acetoxicetonas são estáveis. A introdução de uma fracção formato é preferivelmente efectuada em condições muito suaves utilizando, preferivelmente, anidrido acético-fórmico misturado (preparado *in situ* a partir de ácido fórmico e anidrido acético). A formação da bromo-hidrina é efectuada com N-bromoacetamida em THF, dando origem a 80% da bromo-hidrina **5** desejada e cerca de 20% do isómero 5 α -HO-6 β -Br. A mistura pode ser separada por cristalização ou Cromatografia de Camada Fina. Para a ciclização intramolecular envolvendo C-19, empregam-se o "reagente

Suarez" (diacetoxi-iodobenzeno (DAIB)) e iodo como "hipoiodito" como sistema gerador sob irradiação adequada - preferivelmente com uma lâmpada de tungsténio comum.

Bastante surpreendentemente, verifica-se que, ao efectuar o passo de ciclização intramolecular em diclorometano (CH_2Cl_2), a reacção não só é rápida (conversão completa em menos de 1 hora) e limpa, mas também foi possível obter excelentes rendimentos.

O controlo da temperatura (25°C) do passo de ciclização, conseguido utilizando um reactor encamisado de vidro com circulação de água, aumenta o rendimento e diminui produtos secundários de oxidação excessiva. Suplementarmente, a formação de epóxidos é eliminada, a bromo-hidrina isomérica é inerte para o reagente e pôde ser facilmente separada (juntamente com o produto secundário de iodobenzeno) do bromoéter desejado **6** por filtração em vácuo através de uma coluna de sílica gel (VFC).

A hidrólise selectiva do éster de formato é preferivelmente efectuada com HCl em MeOH-diclorometano, seguida de uma oxidação, preferivelmente com PCC, dando assim origem à bromocetona **8**. Este produto elimina parcialmente a capacidade do HBr para dar origem à cetona insaturada (**2**) quando sujeito a purificação por VFC (coluna de sílica gel muito pequena); no entanto, isto não é problema, pois o produto insaturado é o produto desejado do passo seguinte, no qual o tratamento com uma base procede à desacetilação da posição 21 e completa a eliminação do bromo C-5, dando assim origem ao produto desejado (**1**).

Pode obter-se purificação de **1** com uma VFC rápida através de uma coluna de sílica gel pequena, para obter o produto cromatograficamente puro com um rendimento superior a 31%. Este pode ser cristalizado a partir de etanol absoluto, dando origem ao composto **1** cristalino com um rendimento de 27%.

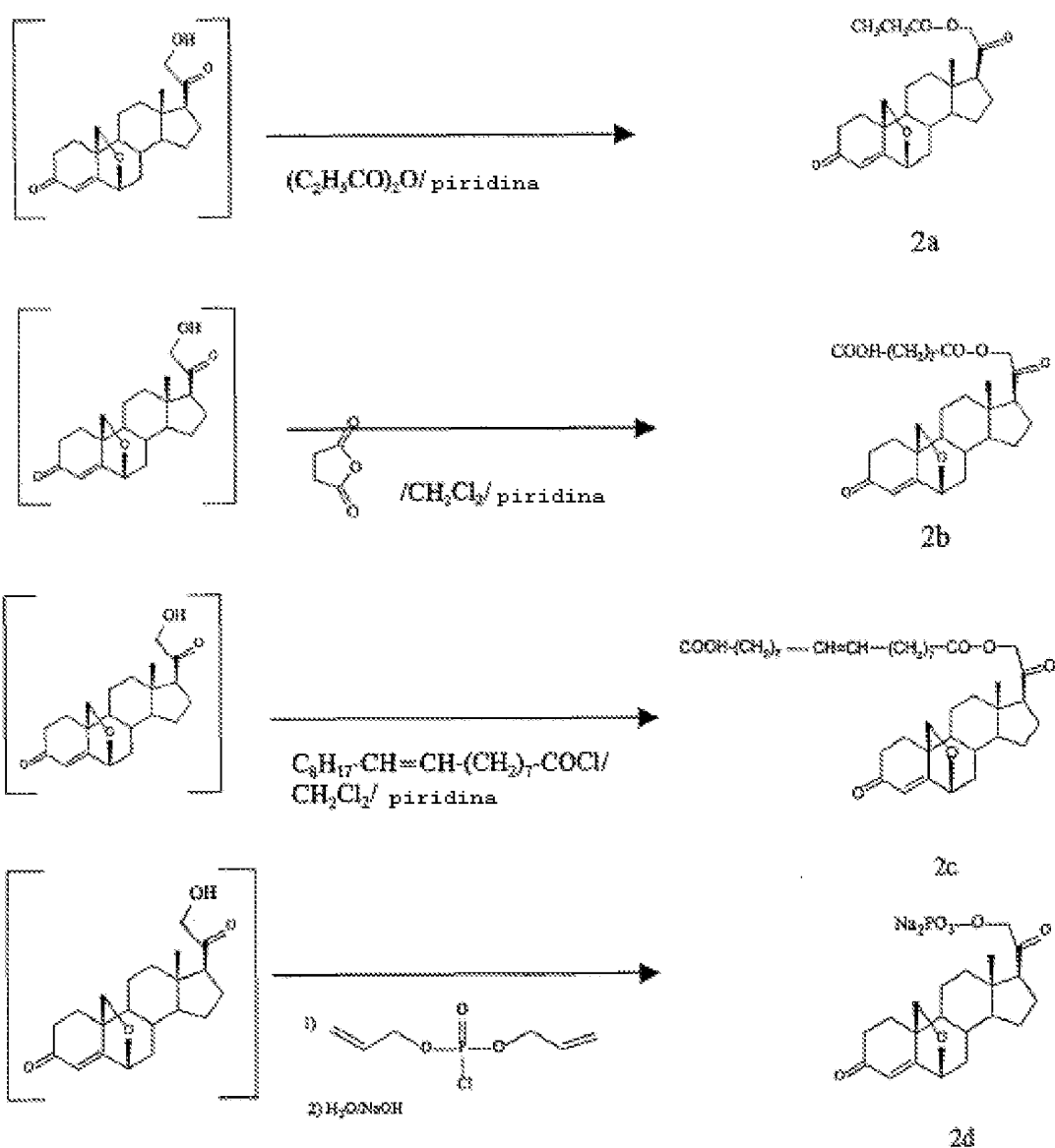
Prepara-se o 21-acetato (**2**) por acetilação comum do composto **1** com anidrido acético em piridina. O acetato é recristalizado a partir de etanol absoluto.

A síntese nova de acordo com a presente invenção tem as seguintes vantagens:

- a) Elimina a necessidade do passo de acetilação selectiva ou qualquer necessidade de diferenciar os grupos hidroxilo em C-21 e C-3.
- b) Modifica a reacção de hipiodito de modo a não serem necessários metais pesados (reagentes à base de chumbo, prata ou mercúrio) e prossegue em condições homogéneas, permitindo assim um escalamento para quantidades de múltiplos gramas, podendo mesmo chegar aos quilogramas.
- c) Reduz os produtos secundários formados em diferentes passos (especialmente a formação de 5,6-epóxido) de modo a minimizar os passos de purificação e, especialmente, para evitar ou minimizar a necessidade de cromatografia em coluna em sílica gel, pois os bromoéteres, composto **1** e **2** são intrinsecamente instáveis nestas condições.
- d) Reduz os volumes reaccionais ao longo do processo, permitindo o escalamento para quantidades maiores.

Partindo do composto **1**, a síntese de ésteres de acilo, como os derivados 21-propionato (**2a**) e 21-hemissuccinato (**2b**) e 21-oleato (**2c**)-6,19-óxido-progesterona pode ser efectuada como ilustrado no Esquema 5.

Também se mostra no Esquema 5 a preparação do derivado 21-fosfato (**2d**).



Esquema 5: Síntese dos derivados 21-propionato (2a), 21-hemissuccinato (2b), 21-oleato (2c) e 21-PO₄ (2d)-6,19-óxido-progesterona.

Os compostos sintetizados de acordo com a presente invenção são conhecidos para utilização como medicamento, isoladamente ou em combinação com transportadores e/ou excipientes farmacologicamente aceitáveis. Sabe-se, notavelmente, que esse medicamento é adequado no fabrico de um medicamento para o tratamento ou profilaxia de doenças associadas a um excesso de glucocorticóides, por exemplo, para o tratamento da síndrome de Cushing, hipercortisolismo iatrogénico ou depressão.

A invenção será agora descrita, apenas a título ilustrativo, com referência aos exemplos seguintes.

EXEMPLOS

MATERIAIS E MÉTODOS

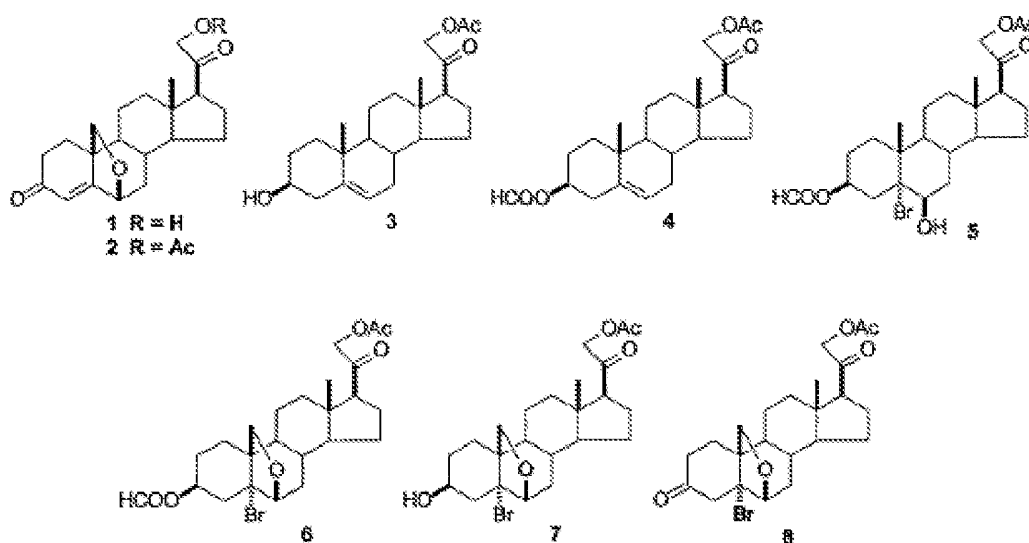
Os pontos de fusão foram lidos num aparato de Fisher-Johns e não estão corrigidos. Os espectros de IR foram registados em filmes finos utilizando discos de KBr num espectrómetro FT-IR Nicolet Magna IR 550. Os espectros de ¹H e ¹³C NMR foram medidos em espectrómetros de NMR Bruker AC-200 ou AM-500 em deutério-clorofórmio (utilizando TMS como padrão interno). Os valores *J* estão apresentados em Hz. Os espectros foram atribuídos por análise dos espectros DEPT, COSY 45 e HETCOSY e por comparação com os da progesterona.

Os espectros de massa por impacto electrónico (EI) foram medidos num espectrómetro de massa VG Trio 2 a 70 eV por admissão directa. Os espectros de massa FAB e espectros de

massa de alta resolução por impacto electrónico (HRMS) foram obtidos num espectrómetro de massa VG ZAB BEQQ. Todos os solventes utilizados tinham qualidade de reagente. Evaporaram-se os solventes a cerca de 45°C sob vácuo. Activou-se o pó de zinco por suspensão em HCl 1 M, lavagem com água, etanol absoluto e éter dietílico e secagem durante 2 horas a 120°C. Confirmou-se a homogeneidade de todos os compostos por cromatografia em camada fina.

Síntese em larga escala de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (1)

Estruturas de materiais de partida, intermediários e produtos finais (1) e (2):



3 β -Formiloxi-21-acetiloxi-5-pregnen-20-ona (4)

Adiciona-se gota-a-gota anidrido acético (13,4 ml) a ácido fórmico (6,6 ml) a 0°C, a solução é aquecida a 50°C durante 15 minutos e é rapidamente arrefecida para 0°C. A solução resultante de anidrido acético-fórmico é adicionada gota-a-gota a uma suspensão agitada de 21-acetoxipregnenolona (3, 8,0 g) em piridina seca (20,8 ml) a 0°C e continua-se a agitação a essa temperatura durante 2 horas. O produto

reaccional é derramado sobre solução aquosa saturada fria de bicarbonato de sódio, é filtrado e o sólido é lavado com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, água e HCl 1 N e água (até ficar neutro), dando origem ao formato **4** (8,0 g); ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,70 (3H, s, 13-CH₃), 1,02 (3H, s, 10-CH₃), 2,16 (3H, s, 21-CH₃CO), 2,53 (1H, t, J = 8,0 Hz, 17-H), 4,50 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21a-H); 4,70 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21b-H), 5,32 (1H, m, 3-H), 5,38 (1H, d, J = 3,0 Hz, 6-H), 8,02 (1H, s, HCOO).

3 β -Formiloxi-5 α -bromo-6 β -hidroxi-21-acetiloxipregnano-20-ona (**5**)

Dissolve-se formato **4** (8,0 g) em éter dietílico (100 ml) e THF (37,2 ml) e arrefece-se o sistema para 10°C. À solução agitada a 10-15°C – que está protegida da luz – adiciona-se ácido perclórico a 7,5% (11,88 ml), seguido de N-bromoacetamida (4,75 g) em 8 porções durante um período de 25 minutos. Continua-se a agitação durante 45 minutos a 25°C e termina-se a reacção por adição de solução aquosa de tiosulfato de sódio a 10% até à descoloração completa. Em seguida, a mistura reaccional é extraída com diclorometano/metanol 10:1, a camada orgânica é lavada com água e seca com sulfato de sódio anidro e o solvente é evaporado, dando origem à bromo-hidrina **5** (10,4 g, contendo cerca de 20% do isómero 5 α -hidroxi-6 β -bromo, como determinado por ^1H NMR).

3 β -Formiloxi-5 α -bromo-21-acetiloxi-6,19-óxido-pregnano-20-ona (**6**)

Faz-se borbulhar azoto, durante 5 minutos, numa solução do composto de bromo-hidrina **5** (10,4 g, contendo cerca de 20% do isómero 5 α -hidroxi-6 β -bromo) em diclorometano destilado de fresco (723 ml) contido num reactor de vidro de 1 litro

equipado com uma camisa de refrigeração externa com água em circulação a 25°C e agitador magnético. Adicionam-se sucessivamente, com agitação, diacetoxi-iodobenzeno (reagente Suarez, 7,66 g) e iodo (5,46 g). O reactor é exposto a duas lâmpadas de tungsténio de 300 Watt (5000 lúmenes cada) e continua-se a agitação vigorosa durante 1 hora a 25°C. Desliga-se a irradiação e adiciona-se uma solução aquosa saturada de tiosulfato de sódio até à descoloração completa. A camada orgânica é separada e seca com sulfato de sódio anidro e o solvente é evaporado. O sólido resultante é dissolvido em diclorometano (8 ml) e aplicado numa coluna G-60 de sílica gel (12 cm de diâmetro x 8 cm de altura) previamente enxaguada com hexano; a eluição sucessiva (aplicando vácuo à descarga) com hexano-acetato de etilo 9:1 (1100 ml), 8:2 (700 ml), 7:3 (700 ml) e 6:4 (600 ml) dá origem a 31 fracções de 100 ml. As fracções são analisadas por TLC e as contendo bromoéter **6** são reunidas e evaporadas até à secura, dando origem ao composto **6** (6,8 g). ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,70 (3H, s, 13-CH₃), 2,16 (3H, s, 21-CH₃CO), 2,52 (1H, t, J = 8,8 Hz, 17-H), 3,73 (1H, d, J = 8,4 Hz, 19a-H); 3,94 (1H, d, J = 8,4 Hz, 19b-H), 4,08 (1H, d, J = 4,2 Hz, 6-H), 4,50 (1H, d, J = 16,8 Hz, 21a-H), 4,71 (1H, d, J = 16,8 Hz, 21b-H), 5,34 (1H, m, 3-H), 8,02 (1H, s, HCOO).

3 β -Hidroxi-5 α -bromo-21-acetiloxi-6,19-óxido-pregnano-20-ona
(7)

Uma solução agitada do bromoéter **6** (6,8 g) obtido acima é dissolvida em diclorometano (45,7 ml) e metanol (154,7 ml) e é arrefecida para 0°C num banho de gelo e água (10,9 ml) enquanto se adiciona HCl concentrado (23,0 ml). Após cerca de 30 minutos de agitação vigorosa a 0°C (o desaparecimento do material de partida é monitorizado por TLC), a mistura

reaccional é neutralizada com hidróxido de sódio aquoso a 20% e extraída com diclorometano. A camada orgânica é seca com sulfato de sódio anidro e o solvente é evaporado, dando origem ao composto de álcool **7** (6,5 g); ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,69 (3H, s, 13-CH₃), 2,16 (3H, s, 21-CH₃CO), 2,52 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 3,62 (1H, d, J = 8,5 Hz, 19a-H); 3,92 (1H, d, J = 8,5 Hz, 19b-H), 4,07 (1H, d, J = 4,0 Hz, 6-H), 4,15 (1H, m, 3-H), 4,51 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21a-H), 4,70 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21b-H).

5 α -Bromo-21-acetiloxi-6,19-óxido-pregnano-3,20-diona (8)

Uma suspensão de clorocromato de piridínio (12,1 g), carbonato de bário (5,0 g) e crivos moleculares de 3 Å (9,60 g) em diclorometano seco (480 ml) é agitada sob azoto durante 10 minutos. À pasta laranja resultante adiciona-se uma solução de bromoéter **7** (6,5 g) obtido acima em diclorometano seco (324 ml) e continua-se a agitação durante cerca de 90 minutos, até o material de partida (TLC) ter desaparecido. A mistura reaccional é submetida a percolação através de uma coluna de sílica gel G 60 pequena (12 cm de diâmetro x 8 cm de altura) lavada com éter dietílico (2 x 150 ml) e hexano-acetato de etilo 1:2 (3 x 150 ml). As fracções contendo o produto são reunidas e evaporadas até à secura, dando origem a 5,5 g de cetona **8** (contendo cerca de 10% de Δ^4 -3-cetona (**2**)); ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,70 (3H, s, 13-CH₃), 2,16 (3H, s, 21-CH₃CO), 2,51 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 2,85 (1H, d, J = 16,0 Hz, 4a-H); 3,40 (1H, d, J = 16,10 Hz, 4b-H), 3,90 (1H, d, J = 9,0 Hz, 19a-H), 4,07 (1H, d, J = 4,0 Hz, 6-H), 4,15 (1H, d, J = 9,0 Hz, 19b-H), 4,50 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21a-H), 4,71 (1H, d, J = 17,0 Hz, 21b-H), .

21-Hidroxi-6,19-óxido-4-pregneno-3,20-diona (1)

A cetona **8** (5,5 g) obtida do passo precedente é dissolvida em metanol (263,8 ml) e diclorometano (13,2 ml). Adiciona-se à solução agitada KOH metanólico a 14% (53,4 ml) e continua-se a agitação à temperatura ambiente durante cerca de 15 minutos, até o material de partida (TLC) ter desaparecido. A mistura reaccional é neutralizada com HCl 1 N e extraída com diclorometano. A camada orgânica é seca com sulfato de sódio anidro e o solvente é evaporado, dando assim origem a 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona em bruto (**1**, 4,6 g). O sólido é dissolvido em diclorometano (5 ml) e passado por uma coluna de sílica gel G-60 (8,5 cm de diâmetro x 5 cm de altura) previamente enxaguada com hexano-acetato de etilo 7:3; a eluição sucessiva (aplicando vácuo à descarga) com hexano-acetato de etilo 6:4 (1350 ml) e 1:1 (900 ml) dá origem a 30 fracções. As fracções são analisadas por TLC e as contendo composto **1** são reunidas e evaporadas até à secura, dando origem a 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**, 2,3 g). ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,74 (3H, s, 13-CH₃), 2,45 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 3,51 (1H, d, J = 8,8 Hz, 19a-H), 4,18 (3H, s, 21-CH₃), 4,20 (1H, d, J = 8,8 Hz, 19b-H), 4,69 (1H, d, J = 5,0 Hz, 6-H), 5,82 (1H, s, 4-H).

A recristalização a partir de etanol absoluto dá origem a uma primeira colheita de composto cristalino **1** (1,27 g), p.f. 165-166°C. O líquido-mãe é concentrado, dando origem a uma segunda colheita de composto **1** (0,68 g).

21-Acetiloxi-6,19-óxido-4-pregнено-3,20-diona (2)

Dissolveu-se 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona em bruto (**1**, 2 g antes da purificação cromatográfica) em piridina seca (15,6 ml) e adicionou-se anidrido acético (15,6 ml). A solução foi agitada durante 90 minutos a 25°C, foi

derramada em HCl 1 M e filtrada (alternativamente, o sólido pode ser extraído com diclorometano). O sólido foi lavado com água (até ficar neutro), foi seco, dissolvido em diclorometano (2 ml) e aplicado numa coluna de sílica gel G-60 (7 cm de diâmetro x 5 cm de altura) previamente enxaguada com hexano-acetato de etilo 7:3; a eluição sucessiva (aplicando vácuo à descarga) com hexano-acetato de etilo 7:3 (700 ml) e 6:4 (700 ml) deu origem a 20 fracções. Analisaram-se as fracções por TLC, as contendo composto **2** foram reunidas e evaporadas até à secura, dando origem a 21-acetiloxi-6,19-óxido-progesterona (**2**, 1,12 g). A recristalização a partir de etanol absoluto (com gotas de metanol) deu origem ao composto cristalino **2** (0,72 g), p.f. 190-191°C. ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,76 (3H, s, 13-CH₃), 2,17 (3H, s, 21-CH₃CO), 2,51 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 3,51 (1H, d, J = 8,2 Hz, 19a-H), 4,20 (1H, d, J = 8,2 Hz, 19b-H) 4,50 (1H, d, J = 16,7 Hz, 21a-H), 4,69 (1H, d, J = 5,0 Hz, 6-H), 4,72 (1H, d, J = 16,7 Hz, 21b-H), 5,82 (1H, s, 4-H).

21-Propanoiloxi-6,19-óxido-4-pregneno-3,20-diona (2a)

Dissolveu-se 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona em bruto (**1**, 0,2 g antes da purificação cromatográfica) em piridina seca (0,28 ml) e adicionou-se anidrido propanóico (0,2 ml). Agitou-se a solução durante 1 hora a 25°C, adicionou-se metanol para destruir o anidrido em excesso e concentrou-se a solução *in vacuo*. O resíduo foi diluído com diclorometano, lavado com HCl 1 M e água e evaporado até à secura (0,233 g). A purificação como acima deu origem a 21-propanoiloxi-6,19-óxido-progesterona (**2a**, 0,116 g). ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,76 (3H, s, 13-CH₃), 1,18 (3H, t, J = 7,6 Hz, 21-CH₃CH₂CO), 2,46 (2H, q, J = 7,6 Hz, 21 CH₃CH₂CO), 2,51 (1H, t, J = 8,0 Hz, 17-H), 3,51 (1H, d, J = 8,2 Hz, 19a-H) 4,20 (1H, d, J = 8,2 Hz, 19b-H), 4,50 (1H, d, J = 16,8 Hz,

21a-H), 4,70 (1H, d, $J = 5,0$ Hz, 6-H), 4,73 (1H, d, $J = 16,8$ Hz, 21b-H), 5,82 (1H, s, 4-H). EIMS m/z 400 (17) $[M]^+$, 342 (5), 313 (24), 285 (23), 267 (10), 57 (100).

21-Succinoiloxi-6,19-óxido-4-pregнено-3,20-diona (2b)

Dissolveu-se 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**, 0,75 g) em diclorometano (37,5 ml) e piridina (1,9 ml) secos e adicionou-se anidrido succínico (0,75 g). Agitou-se a solução durante 4 horas a 25°C, adicionou-se uma segunda porção de anidrido succínico (0,375 g) e continuou-se a agitação durante 6 horas (até ao desaparecimento do material de partida). Concentrou-se a mistura reaccional e extraiu-se o resíduo com éter dietílico. A solução etérea foi lavada com HCl 1 M e extraída com carbonato de sódio aquoso a 10%. A camada aquosa foi acidificada, com HCl concentrado, para pH = 3 e foi extraída com diclorometano. A lavagem com água e evaporação até à secura deram origem a 21-succinoiloxi-6,19-óxido-progesterona em bruto (**2b**, 0,823 g). O sólido foi dissolvido em diclorometano (1 ml) e foi aplicado numa coluna de sílica gel G-60 (6 cm de diâmetro x 4 cm de altura) previamente enxaguada com hexano-acetato de etilo 2:8; a eluição sucessiva (aplicando vácuo à descarga) com hexano-acetato de etilo 2:8 (200 ml) e acetato de etilo (500 ml) deu origem a 14 fracções. Analisaram-se as fracções por TLC e as contendo **2b** foram reunidas e evaporadas até à secura, dando origem a 21-succinoiloxi-6,19-óxido-progesterona (**2b**, 0,455 g). ^1H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,75 (3H, s, 13-CH₃), 2,52 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, 17-H), 2,75 (4H, m, 21-HCOOCH₂CH₂CO), 3,51 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, 19a-H), 4,20 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, 19b-H) 4,54 (1H, d, $J = 16,9$ Hz, 21a-H), 4,70 (1H, d, $J = 5,0$ Hz, 6-H), 4,75 (1H, d, $J = 16,9$ Hz, 21b-H), 5,82 (1H, s, 4-H). EIMS m/z 444 (3) $[M]^+$, 344

(24), 313 (55), 285 (44), 267 (17), 91 (60), 79 (54), 55 (100).

21-Oleoiloxi-6,19-óxido-4-pregneno-3,20-diona (2c)

Dissolveu-se 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**, 0,052 g) em diclorometano (1 ml) e piridina (0,12 ml) secos e adicionou-se cloreto de oleoílo (0,1 ml). A solução foi agitada durante 24 horas a 25°C, foi diluída com diclorometano, lavada com HCl 1 M e água e evaporada até à secura. A purificação por TLC preparativa deu origem a 21-oleoiloxi-6,19-óxido-progesterona (**2c**, 0,075 g). ¹H NMR (200.13 MHz) δ_{H} 0,76 (3H, s, 13-CH₃), 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz, CH₃-CH-CO), 2,34 (2H, t, J = 7,7 Hz, CH-CH₂CO), 2,50 (1H, t, J = 8,5 Hz, 17-H), 3,51 (1H, d, J = 8,3 Hz, 19a-H) 4,20 (1H, d, J = 8,3 Hz, 19b-H), 4,49 (1H, d, J = 16,9 Hz, 21a-H), 4,70 (1H, d, J = 4,5 Hz, 6-H), 4,73 (1H, d, J = 16,9 Hz, 21b-H), 5,34 (2H, m, CH-CH=CH-CH-CO), 5,82 (1H, s, 4-H).

21-Fosfato-6,19-óxido-4-pregneno-3,20-diona (2d)

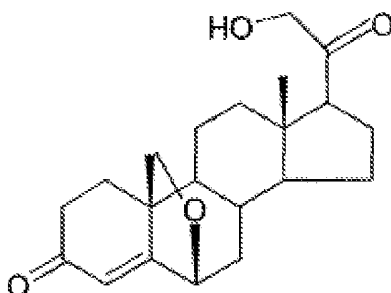
Dissolveu-se 21-hidroxi-6,19-óxido-4-pregneno-3,20-diona (**1**, 0,052 g) em diclorometano (1 ml) e piridina (0,12 ml) secos e adicionou-se, gota-a-gota a 0°C durante 30 minutos, éster dialílico do ácido fosfoclorídrico (0,024 g, 1 eq). A mistura foi deixada aquecer para a temperatura ambiente e foi agitada durante a noite. A mistura foi lavada três vezes com NaHCO₃ a 5% e a camada orgânica foi seca e evaporada em vácuo sem aquecimento. Adicionou-se ao xarope resultante uma solução de NaOH (2,2 equivalentes) em água (3 ml). A solução foi conduzida lentamente para o refluxo e refluuiu suavemente durante 12 horas. A liofilização deu origem ao sal de fosfato dissódico em bruto, que foi recristalizado a partir de etanol. Alternativamente, o sal

dissódico em bruto pode ser dissolvido em água e o pH ajustado com HCl, para causar a precipitação do fosfato livre.

Lisboa, 10 de Novembro de 2006

REIVINDICAÇÕES

1. Método para preparar 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (1) ou respectivo derivado de acilo ou fosfato:



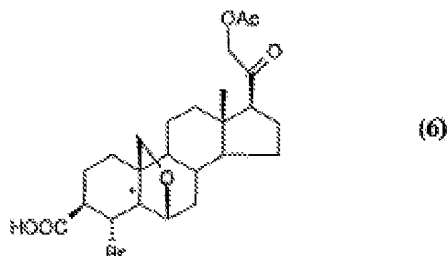
(1)

cujo método compreende os passos seguintes:

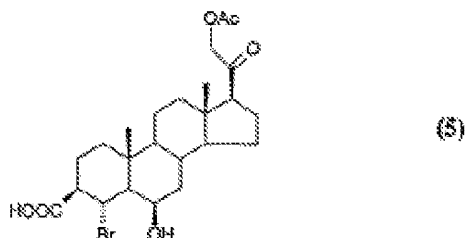
- fornecer 21-acetoxipregnenolona;
- proteger o grupo C-3 hidroxí da 21-acetoxipregnenolona por formação de um éster instável;
- obter o respectivo produto de bromo-hidrina por adição de um bromo e de um grupo hidroxí à ligação dupla da posição C5-C6 da 21-acetoxipregnenolona protegida com éster;
- realizar uma ciclização intramolecular com o átomo C19 com o "reagente Suarez", diacetoxi-iodobenzeno, e iodo sob irradiação, obtendo assim a ponte 6,19-óxido no esqueleto;
- efectuar uma hidrólise selectiva, seguida de uma oxidação, para obter uma bromocetona;
- efectuar uma hidrólise da bromocetona resultante do passo e), para obter 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (1), e, opcionalmente,
- fazer reagir o composto (1) com um agente de acilação ou agente de fosforilação.

2. Método de acordo com a Reivindicação 1, em que se obtém o derivado 21-acetato por acetilação da 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) do passo f).
3. Método de acordo com a Reivindicação 1, em que se obtém um derivado C1-18 acilo por esterificação de 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona com um C1-18 ácido, anidrido, éster activo ou cloreto de acilo.
4. Método de acordo com a Reivindicação 1, em que se obtém um derivado 21-propionato, 21-hemissuccinato, 21-fosfato, 21-oleato por esterificação da 21-hidroxi-6,19-óxido-progesterona (**1**) do passo f) com ácido propiónico, ácido succínico, ácido oleico ou seus anidridos ou ésteres activos ou cloretos de ácido.
5. Método de acordo com a Reivindicação 1, em que se obtém o derivado 21-fosfato fazendo reagir óxido-progesterona (**1**) do passo (f) com um agente de fosforilação.
6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que é fornecido para o passo b) um éster de formato.
7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o passo de ciclização intramolecular d) é efectuado em diclorometano como solvente.
8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a hidrólise selectiva do passo e) é efectuada com HCl em MeOH/diclorometano como solvente.

9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a oxidação no passo e) é efectuada com clorocromato de piridínio (PCC).
10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a hidrólise no passo f) é efectuada com KOH em MeOH/diclorometano como solvente.
11. Método para preparar (6):



compreendendo o passo de efectuar uma ciclização intramolecular entre o 6-OH e o C₁₉ da molécula (5):



em que a ciclização intramolecular é realizada por fotorreacção com DIAB e I₂.

12. Método de acordo com a Reivindicação 11, em que a ciclização intramolecular é efectuada em CH₂Cl₂.

1/1

FIGURA 1

