Союз Советских Социалистических Республик

Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(11) 876059

(61) Дополнительный к патенту -

(22) Заявлено 25.01.79 (21) 2715602/23-04

(23) Приоритет - (32) 25.01.78
19.12.78

(31) P2803661.5; P2855465.6 (33) ФРГ

Опубликовано 23.10.81 Бюллетень № 39

Дата опубликования описания 23.10.81

(51) М. Кл.³ C 07 J 5/00// A 61 K 31/56

(53) УДК 547.689.6.07(088.8)

(72) Авторы изобретения

Иностранцы
Эрнст Шеттле, Альфред Вебер, Марио Кеннеке, Хельмут Даль, Йоахим-Фридрих Капп, Ханс Вендт, Клаус Аннен, Хенри Лаурент и Рудольф Вихерт (ФРГ)

(71) Заявитель

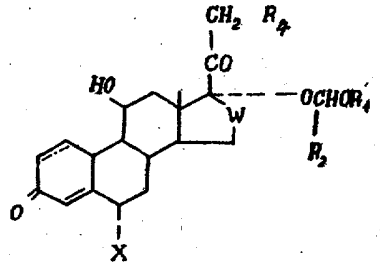
Иностранная фирма "Шеринг АГ" (ФРГ)

ВНИИПИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ ТЕХНИЧЕСКАЯ БИБЛИОТЕКА

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 11β-ГИДРОКСИСТЕРОИДОВ

1

Изобретение относится к способу получения 11β-гидроксистероидов общей формулы



I

где X - водород, фтор, хлор или метил;

W - метиленовая, этилиденовая или винилиденовая группа;

R_1 - алкил с 1-8 атомами углерода;

R_2 - водород или алкил с 1-4 атомами углерода;

R_4 - водород или гидроксил,

обладающих фармакологической активностью.

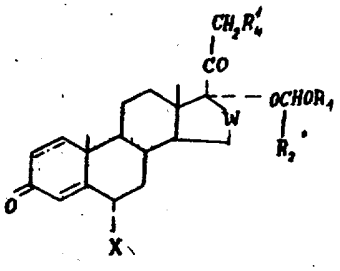
Известен способ получения 11β-17d-ацилоксистероидов прегнанового ряда, заключающийся в том, что 17d-ацилоксистероид гидроксилируют в 11β-положение с помощью гибковой культуры семейства Curvularia.

2

Использование известного способа гидроксилирования стероидов в 11β-положение позволяет получать новые фармакологические активные 11β-гидроксистероиды общей формулы I [1].

Цель изобретения - получение новых 11β-гидроксистероидов общей формулы I.

Поставленная цель достигается способом получения 11β-гидроксистероидов общей формулы I, заключающимся в том, что 11-дезоксистероид общей формулы



II

где X, W, R_1 и R_2 имеют указанные значения, R_4 - водород, гидроксил или алканоилоксигруппа с 1-6 атомами углерода, ферментируют грибковой культурой семейства Curvularia и полученное соединение в случае необходимости дегидрируют в положении 1, 2 с последующим выделением целевых продуктов известными методами.

Пригодными для гидроксилирования грибками семейства Curvularia являются Curvularia dunata NRRL 2380, NRRL 2434, ATCC 12017 или 1FO (6286), Curvularia falcuta OM-102 H, Curvularia genticulata 1FO (6284) или Curvularia maculaus 1FO (6292).

При условиях, обычно применяемых для этих микроорганизмов, культуры выращивают в пригодной питательной среде при аэрировании. Затем к культурам добавляют субстрат, растворенный в пригодном растворителе, преимущественно в эмульгированной форме и ферментируют, пока не достигается максимальное превращение субстрата.

Пригодными растворителями для субстрата являются, например, метанол, этанол, гликольмонометиловый эфир, диметилформамид или диметилсульфоксид. Для эмульгирования субстрата в микронизированную форму его или раствор в смешивающемся с водой растворителе (метанол, этанол, ацетон, гликольмонометиловый эфир, диметилформамид или диметилсульфоксид) при сильном турбулентном перемешивании вдувают в преимущественно декальцинированную воду, содержащую обычные способствующие эмульгированию средства. Такими средствами являются неионогенные эмульгаторы, например аддукты этиленоксида или эфиры жирных кислот полигликолей.

Дегидрирование насыщенных в первой позиции Δ^4-стероидов общей формулы I осуществляют как с помощью микробиологических методов, так и с помощью химических методов.

Так Δ^4-стероиды при обычных условиях могут быть дегидрированы в первой позиции культурами бактерий семейства Bacillus (например, Bacillus Lentus или Baccilus sphaericus) или Arthrobacter (например, Arthrobacter Simplex).

Δ^1 -дегидрирование проводят также нагреванием Δ^4-стероидов в инертных растворителях с обычными для этой реакции окислителями, например диоксидом селена или 2,3-дихлор-5,6-дицианобензохиноном.

Соединения общей формулы 1 при локальном применении проявляют высокую противовоспалительную активность в сочетании с низким системным побочным действием.

Пример 1. а) 21,63 г 3β,21-диацетокси-17α-гидрокси-5-прегнен-20-она растворяют в 150 мл безводного метиленхлорида и 100 мл безводного формальдегиддиметилацеталя. Затем раствор охлаждают водой и в него вносят смесь 21,6 г полупятиокиси фосфора и 43 г кизельгура и перемешивают в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь фильтруют и остаток промывают метиленхлоридом, к фильтрату добавляют триэтиламин, пока pH не достигнет 9, и сгущают в вакууме. Остаток перекристаллизовывают из смеси метанол-метиленхлорид и получают 22,68 г 3β,21-диацетокси-17α-метоксиметокси-5-прегнен-20-она с температурой плавления 182-184°C.

в) В двухлитровой колбе Эрленмейера с 1 л стерильного питательного раствора, содержащего 0,3% дрожжевого экстракта, 0,3% Cornsteep Liqour и 0,2% крахмального сахара, установленного на pH 7,0, засевают сухую культуру Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 и при 30°C встряхивают в течение 2 дней (175 об./мин).

В поллитровой колбе Эрленмейера с 85 мл равной питательной среды прививают 10 мл выраженной культуры Flavobacterium dehydrogehans и при 30°C встряхивают в течение 7 ч (175 об./мин). Затем к культуре добавляют 5 мл стерильного раствора 0,5 г 3β,21-диацетокси-17α-метоксиметокси-5-прегнен-20-она в диметилформамиде и встряхивают при 30°C в течение 65 ч (175 об./мин). После ферментации культуру дважды экстрагируют 100 мл этиленхлорида, экстракт сгущают в вакууме, остаток очищают с помощью хроматографии через оксид алюминия и получают 402 мг 21-гидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 152-153°C.

с) В двухлитровой колбе Эрленмейера с 1 л стерильного питательного раствора, содержащего 2% глюкозы и 2% Cornsteep Liqour, установленного на pH 6,5, прививают с промывкой сухой культуры Curvularia Lunata NRRL 2380 и при 30°C встряхивают в течение 60 ч (175 об./мин).

В поллитровой колбе Эрленмейера с 90 мл стерильной питательной среды, содержащей 1,0% Cornsteep Liqour и 1,25% соевой пудры и установленной на pH 6,2, прививают 10 мл выращенной культуры Curvularia Lunata и при 30°C встряхивают в течение 7 ч (175 об./мин). Затем к культуре добавляют стерильный раствор 30 мг 21-гидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в диметилформамиде и ферментируют в течение 65 ч.

Перерабатывают культуру ферментации, как описано в примере 1в, и получают 27 мг 11β,21-дигидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 180-182°C.

Пример 2. а) 50 г 3β,21-диацетокси-17α-гидрокси-5-прегнен-20-она смешивают с 50 мг безводной п-толуолсульфокислоты и 350 мл безводного метиленхлорида, охлаждают до 0°С и после добавления 10 г метилвинилового эфира перемешивают при 0°С в течение 4 ч. Затем добавляют триэтиламин, пока pH не достигнет 9, и концентрируют в вакууме. Получают 58 г 3β,21-диацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-5-прегнен-20-она в виде диастереомерной смеси с температурой плавления 80-118°С (перекристаллизованная из метанола проба плавится при 132-134°С).

в) При условиях примера 1 в раствор 600 мг 3β,21-диацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-5-прегнен-20-она в виде диастереомерной смеси в 5 мл диметилформамида обрабатывают культурой Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 и получают 394 мг 21-гидрокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде диастереомерной смеси с температурой плавления 166-178°С.

с) Раствор 100 мг диастереомерной смеси 21-гидроокиси-17α-(1-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в 2 мл диметилформамида при условиях примера 1с ферментируют культурой Curvularia lunata NRRL 2380 и получают 105 мг 11β,21-дигидрокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде масляной диастереомерной смеси.

Пример 3. а) 10 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона смешивают с 13 мг безводной п-толуолсульфокислоты и 130 мл безводного метиленхлорида, охлаждают до 0°С и после добавления 2,3 г метилвинилового эфира перемешивают при 0°С примерно 7 ч. Реакционную смесь обрабатывают, как описано в примере 2а, и получают 11,6 г 21-ацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 135-150°С.

в) Раствор 0,1 г диастереомерной смеси 21-ацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в 2 мл диметилформамиде при описанных в примере 1с условиях ферментируют культурой Curvularia lunata NRRL 2380 и получают 11β,21-дигидрокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 4. а) 10 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона при условиях примера 3а обрабатывают 2,5 г этилвинилового эфира и получают 12,5 г 21-ацетокси-17α-(1'-этоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде масляной диастереомерной смеси.

в) Раствор 0,1 г смеси 21-ацетокси-17α-(1'-этоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в 2 мл диметилформамида гидроксилируют Curvularia lunata NRRL 2380 при условиях примера 1с и получают 17α-(1'-этоксиэтокси)-11β,21-дигидрокси-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 5. а) 10 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона обрабатывают 4 г изобутилвинилового эфира при условиях примера 3а и получают 13,5 г 21-ацетокси-17α-(1'-изобутилоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде масляной диастереомерной смеси.

в) Раствор 0,1 г смеси 21-ацетокси-17α-(1'-изобутилоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в 2 мл диметилформамида гидроксилируют Curvularia lunata NRRL 2380 при условиях примера 1с и получают 11β,21-дигидрокси-17α-(1-изобутилоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 6. а) 1,95 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона смешивают с 5 мг безводной п-толуолсульфокислоты, 25 мл безводного метиленхлорида и 3,5 мл дигидропропана и перемешивают при комнатной температуре в течение 13 ч. Реакционную смесь перерабатывают, как описано в примере 3а, и получают 2 г 21-ацетокси-17α-(2'-тетрагидропиранилокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде диастереомерной смеси с температурой плавления 185-200°С.

в) Раствор 0,1 г смеси 21-ацетокси-17α-(2'-тетрагидропиранилокси)-4-прегнен-3,20-диона в 2 мл диметилформамида гидроксилируют Curvularia lunata NRRL 2380 при условиях примера 1с и получают 11β,21-дигидрокси-17α-(2'-тетрагидропиранилокси)-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 7. а) 50 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-6α-метил-4-прегнен-3,20-диона при условиях примера 3а обрабатывают 13,9 г метилвинилового эфира и получают 59 г 21-ацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-6α-метил-4-прегнен-3,20-диона в виде аморфной массы.

в) Раствор 200 мг 21-ацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-6α-метил-4-прегнен-3,20-диона в 0,4 мл диметилформамида гидроксилируют Curvularia lunata NRRL 2380 при описанных в примере 1с условиях и получают 11β,21-дигидрокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-6α-метил-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 8. а) 2 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-16β-метил-4-прегнен-3,20-диона смешивают с 5 мг безводной п-толуолсульфокислоты и 25 мл безводного метиленхлорида и охлаждают до 0°С. Затем при перемешивании к смеси добавляют 0,5 г метилвинилового эфира, перемешивают при 0°С в течение 5 ч и еще в течение 12 ч при комнатной температуре. Перерабатывают реакционную смесь, как описано в примере 3а, и получают 2,1 г 21-ацетокси-17α-(1'-метоксиэтокси)-16β-метил-4-прег-

нен-3,20-диона в виде масляной диастереомерной смеси.

в) Раствор 50 мг смеси 21-ацетокси-17α-(1' -метоксиэтокси)-16β-метил-4-прегнен-3,20-диона в 1 мл диметилформамида гидроксилируют Curvularia Lunata NRRL 2380 при описанных в примере 1с условиях и получают 11β,21-дигидрокси-17α-(1' -метоксиэтокси)-16β-метил-4-прегнен-3,20-дион.

Пример 9. а) 50 г 17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона при условиях примера 3а обрабатывают 15 г метилвинилового эфира и получают 51,2 г 17α-(1' -метоксиэтокси) 4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 115-152°С.

в) Раствор 0,1 г 17α-(1-метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-диона в 1 мл диметилформамиде ферментируют культурой Curvularia Lunata NRRL 2380 при описанных в примере 1с условиях и получают 11β-гидрокси-17α-(1' -метоксиэтокси)-4-прегнен-3,20-дион с температурой плавления 85-103°С.

Пример 10. а) 5, г 3β,21-диацетокси-17α-гидрокси-5-прегнен-2,-она при описанных в примере 1а условиях в 150 мл метиленхлорида обрабатывают 380 г ацеталя формальдегид-бис-гликольмонометилового эфира, 50 г полупятиокиси фосфора и 100 г кизельгура и получают 45,8 г 3β,21-диацетокси-17α-(2' -метоксиэтоксиметокси)-5-прегнен-20-она с температурой плавления 160-161°С.

в) При условиях примера 1в 0,5г 3β,21-диацетокси-17β-(2' -метоксиэтокси-метокси)-5-прегнен-20-она обрабатывают культурой Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 и получают 390 мг 21-гидрокси-17α-(2' -метоксиэтоксиметокси)-4-прегнен-3,20-диона в виде стекловидной массы.

с) При условиях примера 1с 30 мг 21-гидрокси-17α-(2' -метоксиэтокси-метокси)-4-прегнен-3,20-диона обрабатывают культурой Curvularia Lunata NRRL 2380 и получают 24 мг 11β,21-дигидрокси-17α-(2' -метоксиэтокси-метокси)-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 143-147°С.

Пример 11. В двухлитровой колбе Эрленмейера с 500 мл питательного раствора, содержащего 0,1% дрожжевого экстракта, 0,5% Cornsteep Liquor и 0,1% крахмального сахара и установленного на pH 7,0, прививают с промывкой сухой культуры Arthrobacter simplex ATCC 6946 и при 30°С в течение 48 ч встряхивают (190 об./мин)

В 0,5 литровой колбе Эрленмейера с 90 мл питательной среды прививают с 10 мл выращенной культуры Arthrobacter simplex и при 30°С в течение 6 ч встряхивают (165 об./мин). Затем к культуре добавляют 1 мл стерильного раствора 50 мг 11β,21-дигидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в диметилформамиде и ферментируют в течение 42 ч.

Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 44,5 мг 11β,21-дигидрокси-17α-метоксиметокси-1,4-прегнадиен-3,20-диона с температурой плавления 229-231°С.

Пример 12. В двухлитровой колбе Эрленмейера с 500 мл питательного раствора, содержащего 1% дрожжевого экстракта (Difco); 0,45% динатрийгидрофосфата, 0,34% калийгидрофосфата и 0,2% Tween 80 и установленного на pH 6,7, прививают с промывкой сухой культуры Nocardia globerula ATCC 9356 и при 30°С в течение 72 ч встряхивают (190 об./мин).

В двухлитровой колбе Эрленмейера с 950 мл питательного раствора, содержащего 2,0% Cornsteep Liquor; 0,3% диаммонийгидрофосфата и 0,25% Tween 80 и установленного на pH 6,5, прививают с 50 мл выраженной культуры Nocardia globerula и при 30°С в течение 24 ч встряхивают (190 об./мин) Затем в культуру добавляют 5 мл стерильного раствора 0,25 г 11β,-21-дигидрокси-17α-(1' -метоксиэтокси)-6 -метил-4-прегнен-3,20-диона в диметилформамиде и ферментируют в течение 72 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 0,21 г 11β,21-дигидрокси-17α-(1' -метоксиэтокси)-6α-метил-1,4-прегнадиен-3,20-диона с точкой плавления 173°С.

Пример 13. а) 50 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона суспендируют в 600 мл формальдегиддиэтилацеталя и 600 мл метиленхлорида и охлаждает до (-30) - (-40)°С. При перемешивании вносят смесь 75 г полупятиокиси фосфора и 150 г кизельгура и перемешивают в течение 30 ч при -30°С. Раствор фильтруют и нейтрализуют триэтиламином. После отгонки растворителя перегоняют с метанолом и остаток перекристаллизовывают из метанола. Получают 35,9 г 21-ацетокси-17α-этоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона, который после повторной перекристаллизации плавится при 137-139°С.

в) В двухлитровой колбе Эрленмейера с 1 л питательного раствора, содержащего 1% Cornsteep Liquor и 1,25% соевой пудры и установленного на pH 6,2, прививают с промывной сухой культуры Curvularia Lunata NRRL 2380 и при 30°С в течение 72 ч встряхивают (175 об./мин).

В 50-литровом ферментаторе с 23 л стерильной питательной среды прививают 1 л выращенной культуры Curvularia Lunata и при 30°С в течение 24 ч при аэрации с 2 $м^3$/ч культивируют.

В 50-литровом ферментаторе с 36 л питательного раствора, как описано выше, прививают 4 л предварительно фер-

ментированной культуры Curvularia lunata и при 30°С в течение 10 ч культивируют при аэрации 2 м³/ч и перемешивании 220 об./мин . Затем к культуре добавляют 10 г 21-ацетокси-17α-этоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в 200 мл монометилового эфира этиленгликоля. С десятого часа pH держится между 6,5 и 7,0. Через 4 ч добавляют 10 г 21-ацетокси-17α-этоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в 200 мл моноэтилового эфира этиленгликоля и ферментируют 23 ч при указанных условиях.

Культуру ферментации трижды экстрагируют 10 л этиленхлорида и затем перерабатывают дальше так, как описано в примере 1в. Получают 13,8 г 11β,21-дигидрокси-17α-этоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 153-154°С.

Пример 14. а) 25 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона суспендируют в 200 мл формальдегиддипропилацеталя и 320 мл метиленхлорида и охлаждают до -20°С. При перемешивании вносят смесь из 49,3 г полупятиокиси фосфора и 97 г кизельгура и перемешивают в течение 22 ч при -20°С. Раствор фильтруют и нейтрализуют триэтиламином. Метиленхлорид отгоняют в вакууме и формальдегиддипропилацетальную фазу сливают с высадившегося масла. После отгонки растворителя в вакууме выкристаллизовываются 19 г 21-ацетокси-17α-пропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 145-147°С.

в) 10 г 21-ацетокси-17α-пропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона перемалывают с 1 г Tween 80 и трехкратном количеством воды в Dyno-мельнице типа KDL (Fa. Bachofen, Basel). Эту измельченную массу стерилизуют с 1%-ной H_2O_2 минимум 4 ч.

Curvularia lunata NRRL 2380, как описано в примере 13 в, выращивают в колбе для встряхивания и предферментаторе и затем прививают в главном ферментаторе. Этот ферментатор устанавливают так же, как описано в примере 13в, и выращивают в течение 10 ч при условиях примера 13в. Затем к культуре прибавляют измельченную массу 21-ацетокси-17α-пропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона и ферментируют в течение 44 ч при pH 6,4-6,7. Культуру ферментации, как описано в примере 13в, перерабатывают и получают 6,5 г 11β,21-дигидрокси-17α-пропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 134/135-136°С.

Пример 15. а) 50 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона суспендируют с 500 мл формальдегиддибутилацеталя и 500 мл метиленхлорида и охлаждают до -35°С. При перемешивании вносят смесь из 74 г полупятиокиси фосфора и 150 г кизельгура и перемешивают в течение 30 ч при -35°С. Раствор фильтруют и нейтрализуют триэтиламином. Метиленхлорид отгоняют в вакууме и формальдегиддибутилацетальную фазу сливают с высадившегося масла. После отгонки растворителя в вакууме выкристаллизовываются 38,7 г 21-ацетокси-17α-бутоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 123,5-124,5°С.

в) 8 г 21-ацетокси-17α-бутоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона перемалывают с 0,8 г Tween 80, как описано в примере 14в. Curvularia lunata NRRL 2380 выращивают и ферментируют в колбе для встряхивания в качестве культуры для выращивания, в предферметаторе и основном ферментаторе, как описано в примере 13в. Через 10 ч в основной ферментатор добавляют вещество и ферментируют 50 ч.

Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 3,7 г 11β,21-дигидрокси-17α-бутоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 79-81°С.

Пример 16. а) 10,6 г 21-ацетокси-6α-фтор-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона растворяют в 265 мл метиленхлорида и 47,7 мл формальдегиддиметилацеталя, добавляют смесь из 7,95 г полупятиокиси фосфора и 15,9 г кизельгура и в течение 90 мин под азотом перемешивают при комнатной температуре. Раствор фильтруют и смешивают с 2,1 мл триэтиламина. Растворитель отгоняют и остаток выкристаллизовывается из метанола, получают 7,6 г 21-ацетокси-6α-фтор-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 161-167°С.

в) Curvularia lunata NRRL 2380 выращивают, как описано в примере 13в, в колбе для встряхивания, предварительном и основном ферментаторе. Через 10 ч в основной фрементатор добавляют 5 г 21-ацетокси-6α-фтор-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в 100 мл монометилового эфира этиленгликоля. К этому времени pH составляет 6,5-7,0. Через 14 ч добавляют 5 г 21-ацетокси-6α-фтор-17α-метокси-4-прегнен-3,20-диона в 100 мл монометилового эфира этиленгликоля и ферментируют 26 ч.

Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 4,2 г 11β,21-дигидрокси-6α-фтор-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 190-192°С.

Пример 17. а) 43 г 3β,21-диацетокси-17α-гидрокси-16-метил-5-прегнен-20-она растворяют в 800 мл формальдегиддиметилацеталя и охлаждают до -15°С. Порциями вносят смесь 43 г полупятиокиси фосфора и 86 г кизельгура и перемешивают при -15°С

в течение 15 ч. Раствор фильтруют, нейтрализуют триэтиламином и растворитель отгоняют в вакууме. Остаток выкристаллизовывается из метанола, получают 31,5 г 3β,21-диацетокси-17α-метоксиметокси-16β-метил-5-прегнен-20-она с температурой плавления 117-118°С.

в) Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 выращивают и ферментируют, как описано в примере 1в. Через 6 ч к культуре добавляют 4 мл стерильного раствора 0,2 г 3β,21-диацетокси-17α-метоксиметокси-16β-метил-5-прегнен-20-она в диметилформамиде и встряхивают еще 65 ч.

После прошедшей ферментации культуру перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 163 мг 21-гидрокси-17α-метоксиметокси-16β-метил-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 126/128-129°С.

с) Curvularia lunata NRRL 2380 выращивают и ферментируют как описано в примере 1с. Через 6 ч к культуре добавляют раствор 50 мг 21-гидрокси-17α-метокси-16β-метил-4-прегнен-3,20-диона в диметилформамиде и ферментируют 65 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 34,5 мг 11β,21-дигидрокси-17α-метоксиметокси-16β-метил-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 204/205-206°С.

Пример 18. а) 29,1 г 21-ацетокси-6-хлор-17α-гидрокси-4,6-прегнадиен-3,20-диона растворяют в 730 мл метиленхлорида и 131 мл формальдегиддиметилацеталя добавляют смесь из 22,12 г полупятиокиси фосфора и 44 г кизельгура и смесь перемешивают под азотом в течение 2,5 ч при комнатной температуре. Раствор фильтруют и смешивают с 5,8 мл триэтиламина. Растворитель отгоняют и остаток перекристаллизовывают из метанола при добавлении активированного угля и 1% триэтиламина. Получают 15,6 г 21-ацетокси-6-хлор-17α-метоксиметокси-4,6-прегнадиен-3,20-диона с температурой плавления 183-186°С.

в) Curvularia lunata NRRL 2380, как в примере 13в, выращивают в колбе для встряхивания, предварительном и основном ферментаторе. Через 9 ч в основной ферментатор добавляют 3 г 21-ацетокси-6-хлор-17α-метоксиметокси-4,6-прегнадиен-3,20-диона в 60 мл монометилового эфира этиленгликоля. При pH 6,4-6,7 ферментируют 20 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 1,8 г 11β,12-дигидрокси-6-хлор-17α-метоксиметокси-4,6-прегнадиен-3,20-диона с температурой плавления 234/235-236°С.

Пример 19. а) 38,85 г 21-ацетокси-17α-гидрокси-4-прегнен-3,20-диона перемешивают с 235 мл формальдегиддиизопропилацеталя и 500 мл метиленхлорида и охлаждают до -20°С. При перемешивании вносят смесь из 75 г полупятиокиси фосфора и 150 г кизельгура и перемешивают при -20°С в течение 20 ч. Смесь фильтруют, промывают метиленхлоридом и триэтиламином, доводят до pH 9. Растворитель отгоняют в вакууме и остаток экстрагируют метиленхлоридом. Раствор промывают полунасыщенным раствором хлорида натрия, сушат сульфатом натрия, обрабатывают активированным углем, отсасывают через кизельгур и концентрируют в вакууме. Остаток хроматографируют на силикагеле смесью толуол-уксусный эфир, получают 35,8 г 21-ацетокси-17 -изопропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона, который после кристаллизации с пентаном имеет температуру плавления 111-117°С.

в) Curvularia lunata NRRL 2380 выращивают, как описано в примере 13в, в колбе для встряхивания, предварительном и основном ферментаторе. Через 9 ч в основной ферментатор добавляют 12 г 21-ацетокси-17α-изопропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в 240 мл этиленгликольмонометилового эфира при pH 6,5-7,0 и ферментируют в течение 15 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 8,4 г 11β,21-дигидрокси-17α-изопропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 71/73-78°С.

с) Arthrobacter simplex ATCC 6946 выращивают, как описано в примере 11, в колбах для выращивания и ферментации. Через 5 ч в колбу для ферментации добавляют 1 мл стерильного раствора 50 мг 11β,21-дигидрокси-17α-изопропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в этиленгликольмонометиловом эфире и ферментируют в течение 42 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 32 мг 11β,21-дигидрокси-17α-изопропоксиметокси-1,4-прегнадиен-3,20-диона с температурой плавления 58/63-65°С.

Пример 20. а) Flavobacterium dehydrogenaus ATCC 13930 выращивают в колбе для встряхивания, предварительном и основном ферментаторе. Через 24 ч в основной ферментатор добавляют 19,5 г 16-метилен-3β,21-диацетокси-17α-метоксиметокси-5-прегнен-20-она в 500 мл диметилформамида и ферментируют в течение 28 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 15,5 г 16-метилен-21-гидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 147/150-151°С.

в) Curvularia lunata NRRL 2380 выращивают, как описано в примере 13в, в колбе для встряхивания, предварительном и основном ферментаторе. Че-

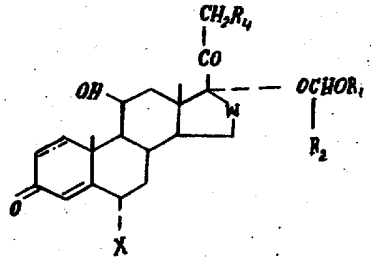
рез 9 ч в основной ферментатор добавляют 20 г 16-метилен-21-гидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в 400 мл этиленгликольмонометилового эфира при pH 6,4-6,7 и ферментируют 8 ч.

Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 13в, и получают 11 г 16-метилен-11β,21-дигидрокси-17α-метоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона с температурой плавления 205/206-208°С.

Пример 21. Arthrobacter simplex АТСС 6946 выращивают, как описано в примере 11, в колбах для выращивания и ферментации. Через 5 ч в колбы для ферментации добавляют 1 мл стерильного раствора 50 мг 11β,21-дигидрокси-17α-пропоксиметокси-4-прегнен-3,20-диона в этиленгликольмонометиловом эфире и ферментируют в течение 42 ч. Культуру ферментации перерабатывают, как описано в примере 1в, и получают 41 мг 11β,21-дигидрокси-17α-пропоксиметокси-1,4-прегнадиен-3,20-диона с температурой плавления 121/125-127°С.

Формула изобретения

Способ получения 11β-гидроксистероидов общей формулы I



где X - водород, фтор, хлор или метил;

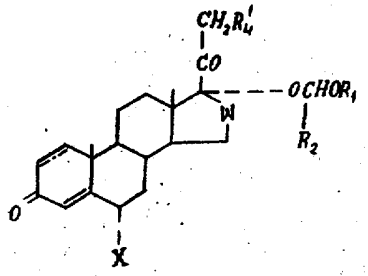
W - метиленовая, этилиденовая или винилиденовая группа;

R_1 - алкил с 1-8 атомами углерода;

R_2 - водород или алкил с 1-4 атомами углерода;

R_4 - водород или гидроксил,

пунктирная линия означает возможную двойную связь, отличающийся тем, что 11-дезоксистероид общей формулы II



где X, W, R_1 и R_2 имеют указанные значения, R_4 - водород, гидроксил или алканоилоксигруппа с 1-6 атомами углерода, ферментируют грибковой культурой семейства Curvularia и полученное соединение в случае необходимости дегидрируют в положении 1,2 с последующим выделением целевых продуктов

Приоритет по признакам:

25.01.78 X - атом водорода, фтора или метил;

R^1 - алкил C_1-C_6,

19.12.78 - X - атом хлора,

R^1 - алкил C_7-C_8.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Патент ФРГ № 1618599, кл. C 07J 5/00, 1966.

Составитель Т. Левашова
Редактор Г. Кацалап Техред М.Голинка Корректор С. Шомак
Заказ 9397/88 Тираж 400 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5
Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4