

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY PATENTU TYMCZASOWEGO

74335

Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr _____

Kl. 12o,25/05

Zgłoszono: 27.11.1971 (P. 151809)

Pierwszeństwo: 28.11.1970 Republika
Federalna
Niemiec

MKP C07c 169/26

Zgłoszenie ogłoszono: 30.05.1973

Opis patentowy opublikowano: 05.03.1975

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu tymczasowego: Schering AG, Bergkamen (Republika Federalna Niemiec i Berlin Zachodni)

Sposób wytwarzania nowych 6 α , 16 α -dwumetylosteroidów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych 6 α , 16 α -dwumetylosteroidów o wzorze 1, w którym R oznacza atom wodoru lub rodnik acylowy, X oznacza chlorowiec a Y oznacza grupę chlorcometylenową, w której chlorowiec ma ciężar atomowy niższy lub równy ciężarowi atomowemu chlorowca X, grupę β -hydroksymetylenową lub karbonylową.

Jako rodnik oznaczony symbolem R odpowiedni jest rodnik acylowy fizjologicznie obojętnego organicznego kwasu karboksylowego o nie więcej niż 15 atomach węgla. Dopuszczalne są rodniki kwasów nienasyconych, rozgałęzionych lub podstawionych, na przykład hydroksy-, amino- lub chlorowcokwasów. Również dopuszczalne są rodniki kwasów cykloalifatycznych, aromatycznych, aromatyczno-alifatycznych i heterocyklicznych, ewentualnie podstawione. Rodnikiem R może być przykładowo rodnik acylowy kwasu mrówkowego, octowego, propionowego, masłowego, walerianowego, kapronowego, enantowego, undecylowego, trójmetylooctowego, dwumetylooctowego, III-rzęd-butyllooctowego, fenyllooctowego, cyklopentylpropionowego, olejowego, mlekowego, jedno-, dwu- i trójchlorooctowego, aminooctowego, dwumetyloamino-, piperidyno- i morfolinoctowego, bursztynowego, adypinowego, benzoowego, nikotynowego. Związki o wzorze 1 mogą być również estrami fizjologicznie obojętnych kwasów nieorganicznych, takich jak siarkowy lub fosforowy.

2

Preparaty rozpuszczalne w wodzie można otrzymać przeprowadzając aminoacylany takie jak dwumetyloamino-, piperidyno- i morfolinoctany w sole addycyjne z kwasami, a estry kwasu siarkowego czy fosforowego w sole metali alkalicznych.

Według wynalazku sposób wytwarzania nowych 6 α , 16 α -dwumetylosteroidów o wzorze 1, w którym R, X i Y mają wyżej podane znaczenie, polega na tym, że do podwójnego wiązania $\Delta^9(10)$, 6 α , 16 α -dwumetylosteroidów o wzorze 2, w którym R ma takie znaczenie jak we wzorze 1, a C₂...C₁ oznacza wiązanie pojedyncze lub podwójne, przylęga się chlorowiec, kwas podchlorawy lub podbromawy i wytworzony 9 α -chloro- lub 9 α -bromo-11 β -hydroksysteroid o wzorze 1 ewentualnie przeprowadza się w odpowiedni 9, 11 β -epoksyd i pierścień epoksydowy otwiera się fluorowodorem lub chlorowodorem albo ewentualnie zawarte w produkcie wyjściowym pojedyncze wiązanie C₂...C₁ odwodornia się fermentacyjnie za pomocą odpowiedniego mikroorganizmu, grupę wodorotlenową w położeniu 11 β ewentualnie utlenienia się do grupy keto-, zestryfikowaną grupę wodorotlenową w położeniu 21 ewentualnie zmydla się, a następnie ponownie estryfikuje.

Chlorowiec można przylęczyć do podwójnego wiązania $\Delta^9(11)$, za pomocą różnych sposobów, a więc można przylęczyć bezpośrednio chlorowiec taki jak chlor lub brom lub z mieszaniny chlorowców takich jak fluorek chloru, chlorek bromu lub związki wię-

lochlorowcowe, takie jak na przykład trójjodek potasu czy dwuchlorek jodobenzenu.

Addycja chlorowca szczególnie łatwo zachodzi wówczas, gdy na $\Delta^9(11)$ steroid działa się równocześnie chlorowcem spolaryzowanym dodatnio i chlorowcem spolaryzowanym ujemnie. Jako odczynniki dostarczające chlorowców spolaryzowanych dodatnio odpowiednie są na przykład chlorowcoacylimidy, takie jak chlorowcoimid kwasu bursztynowego, chlorowcoacylamidy, takie jak chlorowcoacetamid lub też chlorowce pierwiastkowe. Jako odczynniki dostarczające chlorowca z ładunkiem ujemnym wchodzi w rachubę na przykład chlorowcowodory i halogenki metali alkalicznych, szczególnie halogenki litu, takie jak chlorek lub bromek litu.

Przyłączenie chlorowca do podwójnego wiązania $\Delta^9(11)$ przebiega zawsze w ten sposób, że dodatnio naładowany chlorowiec przyłącza się w położeniu 9 a chlorowiec naładowany ujemnie w położeniu 11. Jak wynika ze znanej zależności między elektroujemnością a ciężarem atomowym, ciężar atomowy chlorowca przyłączającego się w położeniu 9 nie może być mniejszy od ciężaru atomowego chlorowca przyłączającego się w położeniu 11. Przyłączenie chlorowca do podwójnego wiązania $\Delta^9(11)$ korzystnie jest dokonywać w temperaturze -75°C do $+50^\circ\text{C}$.

Przyłączenie kwasu podchlorawego lub podbromawego do podwójnego wiązania $\Delta^9(11)$ dokonuje się ogólnie znanymi sposobami. Sposobem korzystnym jest działanie odczynnikami, z których w kwaśnym środowisku wodnym wydziela się kwas podchlorawy lub podbromawy, a więc odczynnikami, które rozkładają się z wytworzeniem kationu chlorowcowego. Odczynnikami takimi są na przykład dwubromometylohydantoina, N-chlorowcoacylamidy, szczególnie N-chloro- lub N-bromoacetamid, N-chlorowcoacylimidy, szczególnie N-bromo- lub N-chloroimid kwasu bursztynowego.

Jeżeli pożądanym związkiem jest związek 9 α -fluorowy, to po przyłączeniu związku podchlorowcowego do podwójnego wiązania 9,11 również znanym sposobem, na przykład odczynnikiem zasadowym, takim jak wodorotlenek sodu, wodorotlenek potasu, octan potasu, pirydyna lub innymi, korzystnie w podwyższonej temperaturze działa się na ugrupowanie 9 α -bromo- (lub chloro-) 11 β -hydroksy- zamykając pierścień 9,11 epoksydowy, który następnie otwiera się fluorowodorem, otrzymując ugrupowanie 11 β -hydroksy-9 α -fluorowe. W podobny sposób, jeżeli to jest pożądanym, można przeprowadzić 9 α -bromo-11 β -hydroksysteroidy o wzorze 1 w 9 α -chloro-11 β -hydroksysteroidy, działając na pierścień epoksydowy nie fluorowodorem lecz chlorowodorem.

Jeżeli w materiale wyjściowym wiązanie $\text{C}_2 \dots \text{C}_1$ jest wiązaniem pojedynczym, to konieczne jest fermentacyjne odwodornienie tego wiązania przy pomocy odpowiedniego mikroorganizmu. Szczególnie nadają się do tego celu: *Bacillus lentus*, a zwłaszcza *Bacillus lentus* ATCC 13805 i *Arthrobacter simplex*, a zwłaszcza *Arthrobacter simplex* ATCC 6949. Fermentację przeprowadza się znanymi sposobami, podpowierzchniowo i aerobowo. Przebieg fermentacji

substratu rozpuszczonego lub w postaci zawiesiny śledzi się pobierając próby i poddając je analizie metodą chromatografii cienkowsarstwowej. Po zakończeniu fermentacji produkt ekstrahuje się z hodowli przy pomocy odpowiedniego nie mieszącego się z wodą rozpuszczalnika, a następnie oczyszcza, na przykład przez odparowanie rozpuszczalnika i następnie przekrystalizowanie pozostałości względnie poddanie jej chromatografii na żelu krzemionkowym.

Związki 11-keto o wzorze 1 otrzymuje się utleniając znanymi sposobami, na przykład kwasem chromowym, 11 β -hydroksysteroidy. Zmydlanie związków 21-acyloksy- można przeprowadzić znanymi sposobami, na przykład działając alkoholami metali alkalicznych lub wodnymi roztworami wodorotlenków lub węglanów metali alkalicznych.

Wolną grupę wodorotlenową umiejscowioną w położeniu 21 estryfikuje się znanymi sposobami, na przykład przez działanie bezwodnikami lub chlorkami kwasowymi na 21-hydroksysteroidy w obecności zasadowych katalizatorów, takich jak pirydyna, lutydyna, wodny roztwór kwaśnego węglanu sodu itp.

Związki wyjściowe o wzorze 2 można otrzymać przez odszczepienie wody ze znanych 11 α - lub 11 β -hydroksy-21-acyloksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-4-dionów-3,20 lub ich Δ^1 pochodnych (opis patentowy RFN nr 1 240 860 i zgłoszenie patentowe RFN 1 909 152). Jeden ze sposobów odszczepienia polega na ogrzewaniu powyższych 11-hydroksy-21-acyloksysteroidów z chlorkiem kwasowym, takim jak chlorek kwasu metanosulfonowego w obecności organicznej zasady i dwumetyloformamidu.

Wytworzone sposobem według wynalazku 6 α , 16 α -dwumetylosteroidy o wzorze 1 są bardzo aktywnymi czynnikami przeciwzapalnymi. W stosunku do znanych związków przeciwzapalnych mają tę zaletę, że wykazują jedynie nieznaczne uboczne działanie tymolityczne. Aktywność przeciwzapalną związków o wzorze 1 oznaczono testem obrzęku łapy szczurzej. W badaniach użyto szczurów SPF o wadze 130–150 g. W celu wywołania ogniska zapalnego wstrzykiwano zwierzętom po 0,1 ml 0,5% zawiesiny *Mycobacterium* (produkowanej przez amerykańską firmę Difco), w prawą tylną łapę. Objętość łapy mierzono przed iniekcją i w 24 godziny po iniekcji, obliczając z tych wartości wielkość obrzęku. Następnie szczurom wprowadzano podskórnie lub dootrzewnowo różne dawki substancji przeciwzapalnych. Po dalszych 24 godzinach ponownie mierzono objętość obrzęku. Na podstawie wyników pomiarów wykresowano krzywe regresji, a na podstawie przebiegu tych krzywych określano dawki (w mg na g wagi ciała) powodujące 50% zmniejszenie obrzęku (wartość ED_{50}).

Dla oznaczenia efektu tymolitycznego szczury SPF o wadze 70–90 g adrenalectomiowano pod narkozą eterową. Zwierzętom podzielonym na grupy po 6 sztuk w ciągu 3 dni aplikowano codziennie, podskórnie lub doustnie, różne dawki badanych substancji. Czwartego dnia zwierzęta uśmiercano i oznaczano wagę ich grasicy. Na podstawie tych oznaczeń wykresowano krzywe regresji, a z krzywych

odczytywano dawkę (mg na kg wagi ciała) powodującą zmniejszenie wagi grasicy o 50%.

W niżej podanej tablicy przedstawiono wyniki badań aktywności farmakologicznej substancji według wynalazku w porównaniu z aktywnością handlowego środka przeciwzapalnego, 6 α -fluoro-11 β ,

ru dwuizopropylowego otrzymuje się 5,1 g czystego produktu o temperaturze topnienia 170—171°C.

b) Do 5,3 g 11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 rozpuszczonego w 25 ml bezwodnej pirydyny w temperaturze 0°C wkrapla się, mieszając, 3 ml chlorku kwasu meta-

Tablica

Substancja	Test obrzęku ED ₅₀		Test tymolizy ED ₅₀	
	podskórnie	doustnie	podskórnie	doustnie
I. 6 α -fluoro-11 β , 21-dwuhydroksy-16 α -metylopregnadien-1,4-dion-3,20	1,64	5,02	0,28	0,50
II. 9 α -fluoro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dion-3,20	0,11	0,087	0,04	0,055
III. 9 α -chloro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dion-3,20	0,22	1,10	0,10	0,10

21-dwuhydroksy-16 α -metylopregnadien-1,4-dionu-3,20.

Ponieważ nowe związki wykazują wysoką aktywność przeciwzapalną i bardzo korzystny stosunek pożądaných własności przeciwzapalnych do niepożądanych ubocznych własności tymolitycznych, nadają się do stosowania, łącznie z normalnie stosowanymi w farmacji galenowej nośnikami, w następujących przypadkach:

a) zewnętrznie: przy kontaktowym zapaleniu skóry, różnego rodzaju egzemach, neurogennym zapaleniu skóry, erytrodermi, poparzeniach pierwszego stopnia, świądzie sromu i odbytu, łuszczycy, trądziku, liszaju czerwonym płaskim i brodawkowatym

b) doustnie: przy ostrym i chronicznym zapaleniu wielostawowym, neurogennym zapaleniu skóry, dychawicy oskrzelowej, katarze siennym i innych.

Leki wytwarza się znanymi sposobami, mieszając aktywne składniki z odpowiednimi dodatkami, nośnikami i składnikami korygującymi walory smakowe i sporządzając z nich pożądaną formę leków, takie jak tabletki, drażetki, kapsułki, roztwory, maście itp. Stężenie aktywnego składnika w leku jest zależne od sposobu jego stosowania.

Sposób według wynalazku ilustrują niżej podane przykłady.

Przykład I. a) 6,5 g 11 α , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 rozpuszcza się w 65 ml dwumetyloformamidu, zadaje 13 ml bezwodnika kwasu octowego i 650 mg octanu ołowianego i całość miesza w ciągu dwóch godzin w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną wkrapla się, mieszając, do 300 ml 10% roztworu octanu sodu, miesza w ciągu dalszej godziny, wytrącony produkt odsącza, przemywa wodą i suszy w próżni w temperaturze 60°C. Otrzymuje się 6,5 g surowego 11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 160—164°C. Po przekrystalizowaniu z ete-

nosulfonowego. Mieszanie kontynuuje się w ciągu 30 minut w temperaturze 0°C i dalej w ciągu 90 minut w temperaturze +10 do +20°C, a następnie mieszaninę reakcyjną wkrapla się do 30 ml stężonego kwasu solnego rozpuszczonego w 600 ml wody z lodem. Całość miesza się w ciągu godziny, wytrącony produkt odsącza i suszy w próżni w temperaturze 40°C. Otrzymuje się 6,3 g surowego 6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 174—175°C.

c) 6,3 g 11 α -metylosulfonyloksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 rozpuszczonego w 120 ml lodowatego kwasu octowego zadaje się 11,5 g bezwodnego octanu sodu i mieszając, pod azotem, w ciągu 6 godzin ogrzewa do wrzenia. Następnie w temperaturze 60°C, pod próżnią, oddestylowuje się około 50 ml kwasu octowego, pozostałość wkrapla do około 600 ml wody z lodem i całość miesza w ciągu godziny. Wytrącony produkt odsącza się, przemywa wodą do odczynu obojętnego i suszy w próżni w temperaturze 40°C. Otrzymuje się 4,9 g surowego 21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4, 9(11)-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 158—163°C.

d) Do 6,2 g 21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4, 9(11)-dionu-3,20 rozpuszczonego w 120 ml czystego czterowodorofuranu wkrapla się w temperaturze 20°C, w atmosferze azotu, 50 ml In roztworu kwasu nadchlorowego. Następnie porcjami dodaje się 9,1 g N-bromimidu kwasu bursztynowego, całość miesza w ciągu 30 minut w temperaturze 20°C i zadaje stopniowo roztworem 8,6 g siarczynu sodu w 1,1 litra wody z lodem. Miesza się w ciągu dalszej godziny, wytrącony produkt odsącza, dodaje do niego wody i rozpuszcza w 120 ml chloroformu. Fazę chloroformową dwukrotnie przemywa się wodą, suszy nad siarczanem sodu, dodaje węgla aktywnego i w ciągu 30 minut miesza w temperaturze pokojowej. Następnie odsącza się węgiel i pod próżnią, w temperaturze 30°C, odpędza

chloroform. Pozostałość przekrystalizowuje się z mieszaniny chloroformeter dwuizopropylowy, otrzymując 5,8 g 9 α -bromo-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 163–164°C.

Przykład II. a) 5,8 g 9 α -bromo-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 zadaje się 10,6 g bezwodnego octanu potasu i 50 ml etanolu i w atmosferze azotu, mieszając, ogrzewa w ciągu 30 minut do wrzenia. Po zakończeniu reakcji mieszaninę ochładza się do temperatury pokojowej, wylewa do 600 ml wody z lodem i całość miesza w ciągu godziny. Wytrącony produkt odsącza się, przemywa wodą i suszy w próżni w temperaturze 40°C. Otrzymuje się 4,4 g surowego 21-acetoksy-9, 11 β -epoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 170–173°C.

b) 4,4 g 21-acetoksy-9, 11 β -epoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 dodaje się stopniowo, mieszając, do ochłodzonej do –20°C mieszaniny ciekłego fluorowodoru z 15 ml dwumetyloformamidu. Mieszaninę reakcyjną, utrzymywaną w temperaturze 0°C miesza się w ciągu 48 godzin, a następnie wkrapla do 60 ml stężonego amoniaku rozpuszczonego w 600 ml wody z lodem. Całość miesza się w ciągu godziny, odsącza wytrącony produkt, przemywa go wodą do odczynu obojętnego i suszy w próżni w temperaturze 40°C. Surowy produkt przekrystalizowuje się z mieszaniny chlorek metylenu-eter dwuizopropylowy, otrzymując 4,5 g 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 213–216°C.

Przykład III. Roztwór 2,2 g 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 w 120 ml bezwodnego metanolu zadaje się, mieszając, 610 mg metylanu sodu i w atmosferze azotu, w temperaturze pokojowej, kontynuuje mieszanie w ciągu 10 minut. Następnie mieszaninę zadaje się 6 ml wody, miesza w ciągu dalszych 5 minut, zobojętnia lodowatym kwasem octowym i odparowuje w próżni w temperaturze 40°C. Pozostałość rozpuszcza się w estrze octowym, fazę estrową dwukrotnie przemywa wodą, suszy nad siarczanem sodu i odparowuje w próżni w temperaturze 40°C. Surowy produkt przekrystalizowuje się z mieszaniny aceton-eter dwuizopropylowy, otrzymując 1,6 g 9 α -fluoro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 214–216°C.

Przykład IV. 0,5 g 9 α -fluoro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 zadaje się 2 ml pirydyny i 0,5 ml bezwodnika kwasu kapronowego i w ciągu 3 godzin miesza w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę reakcyjną wylewa się do 50 ml wody, ekstrahuje chlorkiem metylenu, ekstrakt przemywa wodą, suszy nad siarczanem sodu i odparowuje do sucha w próżni. Pozostałość poddaje się chromatografii na kolumnie wypełnionej żelalem krzemionkowym, prowadząc elucję mieszaniną aceton-heksan o zmiennym składzie, w wyniku czego otrzymuje się 420 mg 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-21-haksanoiloksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o konsystencji syropu.

Przykład V. 0,3 g 9 α -fluoro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 zadaje się 2 ml pirydyny i 0,5 ml chlorku benzoilu i miesza w ciągu 3 godzin w temperaturze pokojowej. Po dalszym przerobieniu mieszaniny reakcyjnej w sposób podany w przykładzie IV otrzymuje się 0,23 g 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-21-benzoiloksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 o konsystencji syropu.

Przykład VI. 2,2 g 21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4, 9(11)-dionu-3,20 zadaje się 60 ml czterowodorofuranu, 4,5 g N-chloroimidu kwasu bursztynowego i 25 ml 1n roztworu kwasu nadchlorowego i całość miesza w ciągu 3,5 godziny w temperaturze 30°C. Następnie mieszaninę reakcyjną wylewa się do wody z lodem, a wytrącony osad odsącza i rozpuszcza w chlorku metylenu. Roztwór przemywa się wodą do odczynu obojętnego i odparowuje w próżni do sucha. Pozostałość przekrystalizowuje się z mieszaniny aceton-heksan, otrzymując 9 α -chloro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1, 4-dionu-3,20 rozkładający się w temperaturze 219–221°C.

Przykład VII. Zawiesinę 1,9 g 9 α -chloro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 w 20 ml chlorku metylenu i 20 ml metanolu, ochłodzoną do temperatury 0°C, zadaje się roztworem 120 mg wodorotlenku potasu w 4 ml metanolu i miesza w ciągu 10 minut. Następnie mieszaninę zobojętnia się kwasem octowym, rozcieńcza chloroformem, fazę chloroformową przemywa wodą i odparowuje w próżni do sucha. Pozostałość przekrystalizowuje się z mieszaniny aceton-heksan, otrzymując 9 α -chloro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 rozkładający się w temperaturze 232–234°C.

Przykład VIII. Do ochłodzonego do temperatury –10°C roztworu 800 mg 9 α -chloro-11 β , 21-dwuhydroksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 wkrapla się 0,96 ml chlorku kwasu izomasłowego i mieszaninę utrzymuje w ciągu 60 godzin w temperaturze około 0°C, po czym wylewa do wody z lodem, odsącza wytrącony produkt, który przemywa się wodą i suszy w próżni, w temperaturze 40°C. Po przekrystalizowaniu z mieszaniny aceton-heksan otrzymuje się 9 α -chloro-11 β -hydroksy-21-izobutyryloksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 207–208°C.

Przykład IX. Roztwór 0,5 g 21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4,9(11)-dionu-3,20 w 20 ml lodowatego kwasu octowego zadaje się 2 g chlorku litu i ochładza do temperatury około 0°C. Do mieszaniny dodaje się roztwór 198 mg N-chloroimidu kwasu bursztynowego i 52 mg chlorowodoru w 0,5 ml czterowodorofuranu i całość miesza w ciągu 4,5 godziny w temperaturze pokojowej. Produkt reakcji wytrąca się wodą z lodem, odsącza i rozpuszcza w chlorku metylenu. Roztwór przemywa się wodą do odczynu obojętnego, odparowuje w próżni rozpuszczalnik, a pozostałość przekrystalizowuje z mieszaniny eter-pentan. Otrzymuje się 9 α , 11 β -dwuchloro-21-acetoksy-6 α , 16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 180–181°C.

Przykład X. 300 mg 9 α , 11 β -dwuchloro-21-ace-

toksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 zmydla się w sposób opisany w przykładzie VII. Otrzymuje się 9 α ,11 β -dwuchloro-21-hydroksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 rozkładający się w temperaturze 205°C.

Przykład XI. a) Mieszaninę 5,6 g 11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnen-4-dionu-3,20, 28 ml dwumetyloformamidu, 5,5 ml pirydyny i 2,6 ml chlorku kwasu metanosulfonowego, utrzymywaną w atmosferze azotu miesza się w ciągu 80 minut w temperaturze łaźni parowej, a następnie wylewa do wody. Wytrącony produkt odłącza się i poddaje chromatografii na kolumnie z żelalem krzemionkowym, eluując mieszaninę aceton-heksan o zmiennym udziale składników. Otrzymuje się 3,1 g 21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-4,9(11)-dionu-3,20, który rozpuszcza się w 60 ml czterowodorofuranu. Do roztworu wkrapla się, w temperaturze pokojowej 25 ml In roztworu kwasu nadchlorowego, a następnie dodaje 4,55 g N-bromoimidu kwasu bursztynowego. Całość miesza się w ciągu 30 minut, a następnie wylewa do roztworu 4,3 g siarczynu sodu w 500 ml wody z lodem i kontynuuje mieszanie w ciągu dalszej godziny. Wytrącony produkt odsacza się i suszy w próżni w temperaturze 30°C. Otrzymuje się 3,0 g 9 α -bromo-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnen-4-dionu-3,20, który zawiesza się w 25 ml etanolu i zadaje 5 g bezwodnego octanu potasu. Mieszaninę reakcyjną, utrzymywaną w atmosferze azotu, ogrzewa się w ciągu 1,5 godziny, odsacza wytrącony produkt, przemycza go wodą i suszy w próżni w temperaturze 40°C. Otrzymany 21-acetoksy-9,11 β -epoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnen-dion-3,20 (2,2 g) wprowadza się porcjami do ochłodzonej do -20°C mieszaniny 7,5 ml ciekłego fluorowodoru i 15 ml dwumetyloformamidu. Całość miesza się w ciągu 2 dni, w temperaturze 0°C, a następnie wylewa do roztworu 30 ml stężonego amoniaku w wodzie z lodem. Wytrącony produkt odsacza się, przemycza wodą i przekrystalizowuje z mieszaniny chlorek metylenu-eter dwuizopropylowy, otrzymując 2,1 g 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnen-4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 198—200°C.

b) Kolbę Erlenmayera zawierającą 500 ml sterylnej pożywki — wodnego roztworu 1,5% peptonu, 1,2% wyciągu namoku kukurydzianego i 0,2% MgSO₄, szczepi się liofilizowaną kulturą *Bacillus lentus* (ATCC 13805) i prowadzi inkubację w ciągu 48 godzin w temperaturze 30°C, na wstrząsarce obracanej z szybkością 145 obrotów/min. W fermentorze szklanym o pojemności 20 l 14,75 l sterylnej pożywki o składzie: 0,1% ekstraktu drożdżowego, 0,5% wyciągu namoku kukurydzianego i 0,005% cukru skrobiowego szczepi się 250 ml wyhodowanej zawiesiny bakteryjnej. Hodowlę prowadzi się w ciągu 24 godzin w temperaturze 29°C, napowietrzając w ilości 15 l/min i mieszając z szybkością 220 obrotów/min. 0,5 l płynu fermentacyjnego z fermentacji wstępnej wprowadza się do fermentora szklanego o pojemności 20 l, wypełnionego 8 l sterylnej pożywki o takim składzie, jak stosowana w fermentacji wstępnej. Fermentację główną prowadzi się w takich samych warunkach jak fermentację

wstępną. Po 6 godzinach wzrostu hodowli wprowadza się do niej 2 g 9-fluoro-11 β -hydroksy-21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnen-4-dionu-3,20 rozpuszczonego w 40 ml dwumetyloformamidu i kontynuuje fermentację. Po około 24 godzinach płyn fermentacyjny ekstrahuje się metyloizobutyloketonem porcjami kolejno 4 litry i dwa razy po 3 litry. Połączone ekstrakty zateża się w wyparce obiegowej, w próżni, w temperaturze 30—35°C, a następnie odparowuje do sucha w próżniowej wyparce obrotowej, nie podnosząc temperatury łaźni powyżej 40°C. Z pozostałości małą ilością zimnego heksanu wypłukuje się środek przeciwiopienny, a następnie przekrystalizowuje się ją z estru octowego, otrzymując 9 α -fluoro-11 β ,21-dwuhydroksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 o temperaturze topnienia 213—215°C.

Przykład XII. Roztwór 200 mg 9 α -fluoro-11 β -hydroksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-1,4-dionu-3,20 w 12 ml 96% acetonu zadaje się 137 mg N-bromoacetamidu i pozostawia w ciągu 3,5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę reakcyjną wylewa się do 60 ml wody i ekstrahuje chlorkiem metylenu. Ekstrakt przemycza się wodą do odczynu obojętnego, suszy nad siarczanem sodu i odparowuje w próżni. Surowy produkt przekrystalizowuje się kilkakrotnie z mieszaniny ester octowy-eter dwuizopropylowy, otrzymując 9 α -fluoro-21-acetoksy-6 α ,16 α -dwumetylopregnadien-1,4-trion-3,11,20 o temperaturze topnienia 202—204°C.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania 6 α ,16 α -dwumetylosteroi-dów o wzorze 1, w których R oznacza wodór lub acyl, X oznacza chlorowec a Y grupę β -chlorowcometylenową, w której chlorowec ma ciężar atomowy niższy lub równy ciężarowi atomowemu chlorowca X, grupę β -hydroksymetylenową lub karbonylową, **znamienny tym**, że znanymi sposobami do podwójnego wiązania $\Delta^{9(10)}$ 6 α ,16 α -dwumetylosteroиду o wzorze 2, w którym R ma takie znaczenie jak we wzorze 1 a C₂...C₁ oznaczają wiązanie pojedyncze lub podwójne przyłącza się chlorowec, kwas podchlorawy lub podbromawy, wytworzony 9 α -chloro- lub 9 α -bromo-11 β -hydroksysteroid o wzorze 1, ewentualnie przeprowadza się w odpowiedni 9,11-epoksyd, pierścień epoksydowy otwiera się fluorowodorem lub chlorowodorem, ewentualnie obecne w materiale wyjściowym pojedyncze wiązanie C₂...C₁ odwodornia fermentacyjnie przy pomocy odpowiedniego mikroorganizmu, grupę wodorotlenową w położeniu 11 β ewentualnie utlenia się do grupy keto-, zestryfikowaną grupę wodorotlenową w położeniu 21 ewentualnie zmydla się, a następnie ewentualnie ponownie estryfikuje.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że przyłączenia chlorowca do podwójnego wiązania $\Delta^{9(11)}$ dokonuje się działając równocześnie odczynnikami dostarczającymi kationy chlorowca i odczynnikami dostarczającymi aniony chlorowca.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję przyłączenia kwasu podchlorowcowego

proceeds in the presence of a reagent supplying a cation of a chloro compound.

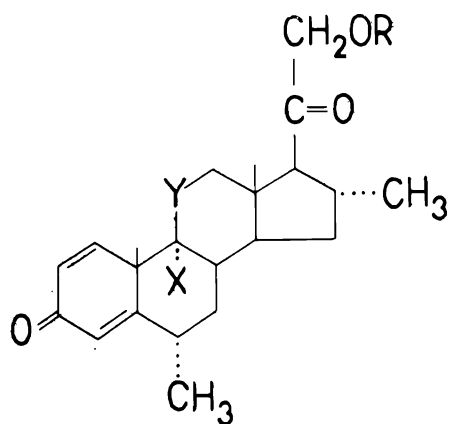
4. Method according to claims 2 and 3, **characterized in that**, as a reagent supplying cations of a chloro compound, one uses free chloro compound, chloroacetylamine, ⁵ preferably chloroacetylamine or chloroacetyl-
imide, preferably chloroimidazole of bursztynowego.

5. Method according to claim 2, **characterized in that**, as a reagent supplying anions of a chloro compound, one

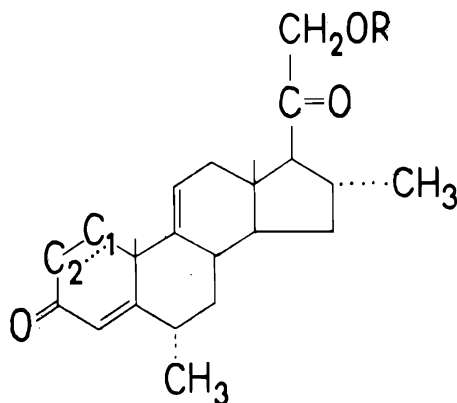
uses hydrochloric acid or a halogenide of an alkali metal, preferably a halogenide of lithium.

6. Method according to claims 2, 3 and 5, **characterized in that**, the attachment of a chloro compound to a double bond $\Delta^{9(11)}$ proceeds at a temperature -75° to $+50^{\circ}\text{C}$.

7. Method according to claim 1, **characterized in that**, the saturated bond $\text{C}_2\ldots\text{C}_1$ is hydrogenated by fermentation by means of *Bacillus lentus* or *Arthrobacter simplex*.



Wzór 1



Wzór 2