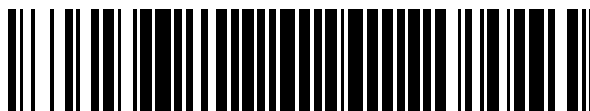


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 237**

51 Int. Cl.:
C07J 53/00 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61P 5/34 (2006.01)
A61P 5/42 (2006.01)
A61P 5/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09757194 .7**
96 Fecha de presentación: **26.05.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2297177**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.03.2011**

54 Título: **Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas sustituidas en el anillo C, así como formulaciones farmacéuticas que las contienen**

30 Prioridad:
02.06.2008 DE 102008026793

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.10.2012

73 Titular/es:
**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)
Alfred-Nobel-Str. 10
40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:
**RING, SVEN;
BOHLMANN, ROLF;
KUHNKE, JOACHIM;
ZORN, LUDWIG;
BORDEN, STEFFEN y
PRELLE, KATJA**

74 Agente/Representante:
LEHMANN NOVO, Isabel

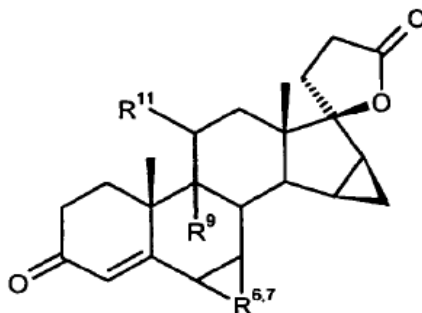
ES 2 389 237 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas sustituidas en el anillo C, así como formulaciones farmacéuticas que las contienen

El presente invento se refiere a unas pregn-4-eno-21,17-carbolactonas sustituidas en el anillo C, de la fórmula general I



Fórmula I

en la que

$R^{6,7}$ significa un metileno situado en la posición α ó β y

R^9 significa un átomo de hidrógeno y R^{11} significa un átomo de bromo, cloro o flúor o

R^9 y R^{11} significan en común un enlace.

El átomo de hidrógeno R^9 se encuentra de manera preferida en la posición α .

El átomo de halógeno R^{11} se encuentra de manera preferida en la posición β .

Como átomo de halógeno R^{11} se prefiere un átomo de flúor o cloro; se prefiere especialmente un átomo de flúor.

Los compuestos mencionados a continuación son especialmente preferidos de acuerdo con el invento.

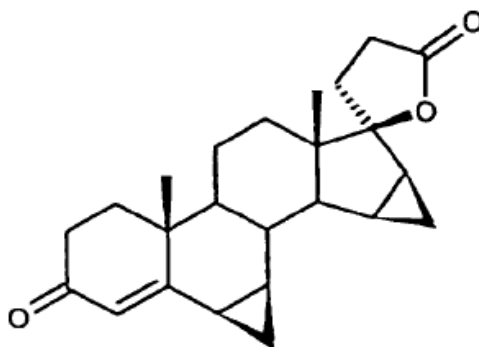
11 β -cloro-6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona

6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona

6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona

6 α ,7 α ;15 β ,16 β -dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona

La drospirenona (6 β ,7 β -15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona) es un nuevo gestágeno, que está contenido, por ejemplo, en el agente anticonceptivo oral YASMIN® y en el preparado ANGELIQ® destinado al tratamiento de trastornos posteriores a la menopausia. A causa de su afinidad comparativamente pequeña con el receptor de gestágenos y de su dosis inhibitoria de la ovulación, comparativamente alta, la drospirenona



Drospirenona

está contenida en YASMIN® en la dosis diaria relativamente alta de 3 mg.

La drospirenona se distingue por el hecho de que ella, adicionalmente al efecto gestágeno, dispone de un efecto antagonista de aldosterona (antimineralocorticoide) así como de un efecto antiandrógeno. Estas dos propiedades

hacen que la drospirenona, en su perfil farmacológico, sea muy similar al gestágeno natural progesterona, el cual, sin embargo, a diferencia de la drospirenona, no está biodisponible por vía oral en un grado suficiente.

Por lo tanto, es misión del presente invento poner a disposición unos compuestos que dispongan *in vivo* de una potencia gestágena más alta que la de la drospirenona. Esto se debe de manifestar a fin de cuentas en una dosificación diaria más pequeña y debe de conducir a un consumo más pequeño de sustancia del compuesto activo. Los compuestos que se han de poner a disposición por medio del presente invento, además de ello, deben de disponer *in vivo* de un efecto antimineralocorticoide, que a lo sumo es tan alto como el de la drospirenona, pero que de manera preferida es más pequeño que éste.

Además de ello, los compuestos conformes al invento deben de ser más débilmente eficaces como antiandrógenos que la drospirenona.

Finalmente, los compuestos conformes al invento deben de disponer de una alta estabilidad metabólica.

Ciertos compuestos, que en el ensayo de conservación del embarazo en una rata presentan una actividad muchas veces más alta que la de la drospirenona, y que, con respecto al receptor de mineralocorticoides procedente de un material homogeneizado de riñón de rata, tienen una actividad comparable con la de la drospirenona, se desprenden del documento de solicitud de patente internacional WO 2006072467. En este caso se trata de 18-metil-19-nor-17-pregn-4-eno-21,17-carbolactonas.

Unos compuestos, que disponen *in vitro* de un perfil menos disociado que el de la drospirenona en lo que respecta a su fijación a los receptores de progesterona y mineralocorticoides se describen en el documento WO 2008000521. En este caso se trata de 18-metil-19-nor-androst-4-en-17,17-espiroéteres.

Un procedimiento para la preparación de 3-oxo-pregn-4-eno-21,17-carbolactonas mediante una oxidación sin metales de 17-(3-hidroxi-propil)-3,17-dihidroxi-androstanos se describe en el documento de solicitud de patente europea EP 1 746 101 A1. Una actividad farmacológica para estas carbolactonas no se desprende en general del documento EP 1 746 101 A1. Como un compuesto concreto se menciona solamente la 6 β ,7 β -15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona (drospirenona). Unos compuestos con halógeno en posición 11 así como con deshidro en posiciones 9,11 no se muestran específicamente.

El problema planteado por la misión del presente invento es resuelto mediante la puesta a disposición de las pregn-4-eno-21,17-carbolactonas sustituidas en el anillo C, de la fórmula general I, que se describen aquí. Los compuestos de la fórmula general I (y en particular los de los Ejemplos 1 y 2) se distinguen por un mejorado perfil de acciones.

Los compuestos conformes al invento se distinguen por una actividad gestágena sorprendentemente fuerte y son fuertemente eficaces en el ensayo de conservación del embarazo en una rata después de una aplicación por vía subcutánea.

Los compuestos conformes al invento de la fórmula general I disponen de una actividad gestágena más fuerte con una fijación simultáneamente más débil al receptor de andrógenos que la drospirenona.

Además, se encontró que los compuestos conformes al invento muestran un efecto natriurético retenedor del potasio (antimineralocorticoide) en ratas adrenalectomizadas.

A causa de su actividad gestágena, los nuevos compuestos de la fórmula general I se pueden utilizar a solas o en combinación con un estrógeno en preparados farmacéuticos destinados a la contracepción.

Así, los compuestos conformes al invento de la fórmula general se pueden utilizar a solas, es decir sin ningún estrógeno, para la producción de unas denominadas POPs (acrónimo del inglés "Progesterone Only Pills" = píldoras solamente con progesterona). Tales POPs ya son conocidas sobre la base de otros compuestos con una actividad gestágena, por ejemplo sobre la base del gestágeno levonorgestrel en forma del producto Microlut® (28 unidades de dosificación diaria que contienen en cada caso 30 μ g de levonorgestrel).

A causa de su favorable perfil de efectos, los compuestos conformes al invento son especialmente bien apropiados para el tratamiento de trastornos premenstruales, tales como dolores de cabeza, desazones depresivas, retención de agua y mastodinia.

Sobre la base de su actividad gestágena, los compuestos conformes al invento están abiertos para otras posibilidades de utilización, tal como éstas son conocidas por lo general para gestágenos, así, por ejemplo, para el tratamiento de trastornos hemorrágicos graves, por ejemplo de menorragias y metrorragias, para el tratamiento de la insuficiencia del Corpus luteum (cuerpo lúteo), es decir para el tratamiento de un aborto amenazante, para el tratamiento de la Pubertad tardía (pubertad tardía) y para el tratamiento de unos estados, que hacen aparecer como indicada una sustitución de gestágenos.

Pertencen al objeto del presente invento, por lo tanto, también unos preparados farmacéuticos, que contienen por lo menos un compuesto de la fórmula general I en común con un vehículo farmacéuticamente compatible.

Conforme al invento, son preferidos aquellos preparados farmacéuticos, que contienen como sustancia activa 6β,7β;15β,16β-dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17β-carbolactona o 6β,7β;15β,16β-dimetilen-11β-fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17β-carbolactona.

5 Pertencen al objeto del presente invento también unos preparados farmacéuticos combinados que, junto a un compuesto de la fórmula general I y al vehículo farmacéuticamente compatible, contienen un estrógeno.

La dosificación de los compuestos conformes al invento en los preparados para contracepción debe de ser de 0,01 a 5 mg, de manera preferida de 0,01 a 2 mg por día.

10 La dosis diaria en el caso del tratamiento de trastornos premenstruales se sitúa en aproximadamente 0,1 a 20 mg.

Los componentes, sustancias activas gestágenas y estrógenas, se aplican en preparados destinados a la contracepción, preferiblemente en común, por vía oral. La dosis diaria es administrada preferiblemente de una sola vez.

15 Como estrógenos en los preparados combinados conformes al invento destinados a la contracepción entran en cuestión estradiol así como estrógenos sintéticos, preferiblemente el etinil-estradiol, pero también el mestranol. Además de esto, se pueden utilizar ésteres del estradiol, entre éstos en particular el valerato o también el benzoato de estradiol.

20 El estrógeno se administra en una cantidad diaria, que se corresponde en su efecto estrógeno al de 0,01 hasta 0,04 mg de etinil-estradiol. El etinil-estradiol propiamente dicho se utiliza en una cantidad diaria de 0,01 a 0,04 mg en tales preparados para contracepción.

25 Los nuevos compuestos de la fórmula general I se pueden emplear también en preparados farmacéuticos destinados al tratamiento de trastornos pre-, peri- y post-menopáusicos así como en preparados para la terapia por sustitución de hormonas (HRT = acrónimo de Hormon Replacement Therapy).

30 Como estrógenos en tales preparados para la terapia por sustitución de hormonas pasan a usarse en primer término ciertos estrógenos naturales, sobre todo el estradiol o sus ésteres, el valerato de estradiol o también ciertos estrógenos conjugados (CEEs acrónimo del inglés Conjugated Equine Estrogens = estrógenos equinos conjugados), tal como están contenidos ellos, por ejemplo, en el preparado PREMARIN®.

35 Recientemente, también se describió la incorporación del ácido fólico (documento WO 99/53910) o de los 5-metil-6-(S)-tetrahidrofolatos, y de éstos en particular de la sal de calcio del ácido 5-metil-6-(S)-tetrahidrofólico (Metafolin®; documento WO 2006/120035) en preparados destinados a la contracepción o a la terapia por sustitución de hormonas.

Unas correspondientes formulaciones estables de tetrahidrofolatos con un gestágeno a solas y sobre todo con un gestágeno y con un estrógeno se describen en el documento WO 2008/003432.

40 En el caso de los preparados destinados a la contracepción, el ácido fólico o el componente tetrahidrofolato sirve para la prevención de malformaciones del feto que está madurando. En primer lugar se trata de la evitación de NTDs (acrónimo del inglés "Neural Tube Defects" = defectos de los tubos neurales) en recién nacidos, que es una grave malformación corporal.

45 Dentro del marco del presente invento se encuentra el empleo de los nuevos gestágenos conformes al invento, análogamente a como se ha descrito en las publicaciones precedentes para gestágenos ya conocidos.

50 La formulación de los preparados farmacéuticos sobre la base de los nuevos compuestos se efectúa de una manera en sí conocida, elaborando la sustancia activa, eventualmente en combinación con un estrógeno, con las sustancias de vehículo, los agentes diluyentes, eventualmente los agentes correctores del sabor, etc., que son usuales en la galénica, y transformándola en la forma de aplicación deseada.

Si los nuevos compuestos deben de ser utilizados a solas o en común con un estrógeno, conjuntamente con el ácido fólico o con un 5-metil-6-(S)-tetrahidrofolato, entonces se pueden producir unas correspondientes formulaciones, tal como se han descrito para gestágenos ya conocidos en las publicaciones precedentes

55 Para la preferida aplicación por vía oral entran en cuestión en particular tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, suspensiones o soluciones.

60 Para la aplicación por vía parenteral son apropiadas en particular unas soluciones oleosas, tales como por ejemplo unas soluciones en aceite de sésamo, aceite de ricino y aceite de semillas de algodón. Para realizar una elevación de la solubilidad, se pueden añadir unos agentes solubilizantes, tales como por ejemplo benzoato de bencilo o alcohol bencilico.

También es posible incorporar las sustancias conformes al invento en un sistema transdérmico, y por consiguiente aplicarlas por vía transdérmica.

Asimismo, los nuevos compuestos se pueden incorporar, a solas o en común con un estrógeno en un sistema de administración que pone en libertad a la sustancia activa o a las sustancias activas a lo largo de un prolongado período de tiempo, por ejemplo en un sistema intrauterino (IUS acrónimo de Intra Uterine System), en un anillo intravaginal (IVR acrónimo de Intra Vaginal Ring) o en un sistema que se ha de implantar por debajo de la piel, desde donde ellos son liberados progresivamente después de la introducción del mismo en el útero, en la vagina o después de la implantación por debajo de la piel.

Farmacología

10 Efecto gestágeno en ratas ovariectomizadas:

El efecto gestágeno se determinó tal como se ha descrito en la cita de Muhn y colaboradores (Muhn, P., Krattenmacher, R., Beier, S., Elger, W., y Schillinger, E. (1995). Drospirenone: a novel progestogen with antiminerlocorticoid and antiandrogenic activity. Pharmacological characterization in animal models (Drospirenona: un nuevo progestógeno con una actividad antiminerlocorticoide y antiandrogénica. Caracterización farmacológica en modelos de animales). Contraception 51, 99-110).

En este caso se investiga la capacidad de los compuestos para compensar la progesterona que falta y conservar el embarazo ("conservación del embarazo") en animales ovariectomizados, que ya no disponen de ninguna síntesis propia de progesterona.

Unos animales hembras con un peso de 200-230 g fueron apareados. Los animales fueron ovariectomizados en el día 8 después del coito = post coitum (p.c.) y tratados con 5 µg/kg/d de estrona. Los compuestos que se habían de ensayar fueron añadidos en diferentes concentraciones (3, 10, 30 mg/kg/d). El tratamiento se comenzó el día 8 p.c. y se prosiguió durante 6 días.

Evaluación:

Un día después del último tratamiento se sometieron los animales a una autopsia. El grado de conservación del embarazo se calculó mediante división del número de los fetos vivientes por el número de los sitios de implantación detectables. Para la estimación de un feto como viviente era decisiva la presencia de un corazón latiente. La existencia de ningún sitio de implantación reconocible (testigos ovariectomizados) se definió como 0 % de conservación del embarazo.

La DE50 (dosis eficaz del 50 % = concentración, en la que aparece el efecto semimáximo) se determinó como medida de la potencia gestágena.

Se encontró que los compuestos conformes al invento disponen de una potencia gestágena, que se sitúa en un valor hasta cuatro veces más alto que el efecto gestágeno de la drospirenona.

	DE ₅₀
Drospirenona	10 mg/kg/d
Compuesto del Ej. 1	2,9 mg/kg/d
Compuesto del Ej. 2	3,4 mg/kg/d

Tabla 1: Efecto gestágeno de los compuestos en el ensayo de conservación del embarazo.

40 Efecto gestágeno en ratas ovariectomizadas, correlación de valores farmacocinéticos y de efectos farmacodinámicos

Con el fin de describir con mayor precisión la diferencia en sus potencias gestágenas, en un ensayo modificado de conservación del embarazo se extrajeron adicionalmente en diferentes momentos unas muestras de sangre destinadas a la determinación de parámetros farmacocinéticos. El tratamiento previo de las ratas se efectuó en este caso tal como se ha descrito en el ensayo precedente. Se desarrolló un modelo de farmacocinética basada en la fisiología, mediando utilización de los programas PK-SIM versión 4.0.1 (de Bayer Technology Services, Leverkusen, Alemania), GastroPlus versión 5.2 (de Simulations Plus, Inc., Lancaster, CA, EE.UU.) y WinNonlin® Professional (versión 5.2, de Pharsight Corp, Mountain View, CA, EE.UU.).

La AUC (acrónimo de Area Under the Curve = área por debajo de la curva de la evolución de la concentración en el curso del tiempo), que se había conseguido durante el experimento, se puso en relación con el efecto farmacológico medido, es decir con la conservación del embarazo que se consiguió. El modelo permitía de esta manera la estimación de los valores de AUC₅₀.

Una diferencia estadísticamente significativa de las potencias gestágenas in vivo entre la drospirenona y los compuestos conformes al invento se encontró con unos valores de AUC₅₀ más de 6 veces más bajos para los compuestos conformes al invento. Basándose en la relación entre la exposición sistémica y el efecto se calculó la AUC en sangre, que es necesaria para alcanzar un 80 % de conservación del embarazo en el modelo de una rata (Tabla 2).

	AUC (en sangre, calculada) en ratas que es necesaria para conseguir un 80 % de conservación del embarazo
Drospirenona	1.346 ($\mu\text{g}^*\text{h/L}$)
Compuesto del Ej. 1	210 ($\mu\text{g}^*\text{h/L}$)

Tabla 2: Exposición necesaria para la consecución de la conservación del embarazo (calculada)

5 Efecto antimineralocorticoide de los compuestos en ratas adrenalectomizadas (ensayos diuréticos)

El efecto antimineralocorticoide de los compuestos se determinó tal como se ha descrito en la cita de Losert y colaboradores (Losert, W., Casals-Stenzel, J., y Buse, M. (1985). Progestogens with antimineralocorticoid activity (Progéstógenos con actividad antimineralocorticoide). *Arzneimittelforschung* 35, 459-471).

10 Unos animales machos con un peso de 180-200 g fueron adrenalectomizados y sustituidos con glucocorticoides 5 días antes del experimento. En el día 5 después de la adrenalectomía se llevó a cabo un experimento de diuresis. A los animales se les aplicó por vía intravenosa (i.v.) una infusión continua de una solución isotónica de NaCl más 5 % de glucosa. Mediante la administración simultánea de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ de d-aldosterona se consiguió un efecto mineralocorticoide constante, que era reconocible en la retención de sodio y en la kaliuresis. Los compuestos a
15 ensayar se aplicaron por vía subcutánea (s.c.) en diferentes dosificaciones (3, 10 y 30 mg/kg), y la supresión de la retención de sodio inducida por aldosterona muestra un efecto antimineralocorticoide.

Evaluación:

20 Los animales fueron mantenidos en jaulas de metabolismo y cada hora se recogieron fracciones de orina. La concentración de iones de sodio y potasio en la orina se determinó mediante un procedimiento de fotometría de llama, y a partir de esto se calculó el cociente de Na/K. Los cocientes de Na/K se registraron en función del tiempo y se determinó el área por debajo de la curva [AUC].

25 La DE_{50} (concentración, con la que se presenta el efecto semimáximo) se determinó como una medida de la potencia antimineralocorticoide.

Se encontró que los compuestos conformes al invento tienen un efecto antimineralocorticoide que es desde aproximadamente la mitad de intenso hasta aproximadamente igual de intenso que el de la drospirenona.

	DE_{50}
Drospirenona	6,7 mg/kg/d
Compuesto del Ej. 1	5,9 mg/kg/d
Compuesto del Ej. 2	12,36 mg/kg/d

30 Tabla 3: Efecto antimineralocorticoide de los compuestos en el ensayo de diuresis.

Efecto antiandrógeno de los compuestos *in vitro* en el ensayo de transactivación antiandrógena:

35 La determinación del efecto antiandrógeno se llevó a cabo tal como se ha descrito en la cita de Schneider y colaboradores (Schneider K., Graf E., Irran E., Nicholson G., Stainsby F. M., Goodfellow M., Borden S., A., Keller S., Süßmuth R. D. y Fiedler H. P. (2008) Bendigoles A~C, New Steroids from *Gordonia australis* (Nuevos esteroides de *Gordonia australis*) Acta 2299, *J. Antibiotics* (Tokyo) 61 (6), 356-364).

40 Para realizar la cultivación de las células utilizadas para el ensayo, se utilizó como medio de cultivación el RPMI (PAA, #E15-49) con FCS al 10 %, L-glutamina 200 mM, 100 U/100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de penicilina/estreptomicina. Linajes de células reporteras (células PC3 transfectadas establemente con un receptor de andrógenos humano (hAR acrónimo de human Androgen Receptor) así como con una construcción artificial reportera, que contiene la luciferasa bajo el control de un promotor capaz de responder a andrógenos (MMTV)) se cultivaron en una densidad de 4×10^4 células por cada cavidad en placas opacas de color blanco para cultivo de tejidos con en cada caso 96 cavidades (Perkin Elmer, #P12-106-017) y se mantuvieron en un medio de cultivo con DCC-FCS al 3 % (suero de ternero fetal tratado con carbón activado, para la eliminación de los componentes perturbadores que están contenidos en el suero). Los
45 compuestos que se habían de investigar se añadieron ocho horas más tarde, y las células se incubaron con los compuestos durante 16 horas. Los ensayos se realizaron tres veces. Al final de la incubación se eliminó el medio que contiene el efector y se reemplazó por un tampón de lisis. Después de que se hubo añadido el substrato para el ensayo de luciferasa (Promega, #E1501), las placas con las 96 cavidades se introdujeron luego en un luminómetro de microplacas (Pherastar, BMG labtech), y se midió la luminiscencia. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora del 50 %) se evaluaron mediando utilización de un software (programa lógico) destinado al cálculo de las relaciones entre las dosis y los efectos. La eficacia indica el tanto por ciento del efecto máximo en comparación con el efecto máximo de un anti-andrógeno de referencia (hidroxiflutamida).
50

55 Se encontró que los compuestos conformes al invento tienen *in vitro* un efecto anti-andrógeno más débil que la drospirenona.

	Cl ₅₀ [µM]	Eficacia
Drospirenona	0,12	40,3
Compuesto del Ej. 1	0,24	19,3
Compuesto del Ej. 2	0,16	31,9

Tabla 4: Efecto antiandrógeno de los compuestos en el ensayo de transactivación.

5

Efecto antiandrógeno de los compuestos en ratas orquidectomizadas (Hershberger):

El efecto antiandrógeno de los compuestos se determinó tal como se ha descrito en la cita de Muhn y colaboradores (Muhn, P., Krattenmacher, R., Beier, S., Elger, W., y Schillinger, E. (1995). Drospirenone: a novel progestogen with antiminerlocorticoid and antiandrogenic activity. Pharmacological characterization in animal models (Drospirenona: un nuevo progestógeno con actividad antiminerlocorticoide y antiandrógena. Caracterización farmacológica en modelos de animales). Contraception 51, 99-110).

10

En este caso, se ensaya la idoneidad de los compuestos, en los casos de ratas jóvenes masculinas castradas y de ratas sustituidas con andrógenos, para inhibir el crecimiento, dependiente de andrógenos de la próstata, de la vesícula seminal y del músculo elevador del ano M. levator ani.

15

Para esto, unas ratas jóvenes fueron castradas primeramente. Ocho días después de la orquidectomía, los animales recibieron durante siete días 1 mg/kg/día de propionato de testosterona (TP) s.c. a solas o en combinación con las sustancias de ensayo (10 mg/kg/día).

En el día 15 después de la orquidectomía se sacrificaron los animales, se extirparon la próstata, la vesícula seminal y el M. levator ani, y se determinó el peso relativo en húmedo. El crecimiento inhibido inducido por andrógenos sirve como la medida del efecto antiandrógeno de la sustancia de ensayo. El efecto antiandrógeno se convirtió por cálculo en un tanto por ciento de inhibición, con un pleno efecto (100 % de inhibición) en el caso de un peso de la próstata correspondiente al testigo con vehículo, y 0 % de inhibición en el caso de un peso de la próstata correspondiente al tratamiento con TP.

25

	Efecto antiandrógeno (% de inhibición)
Drospirenona	22,5 %
Compuesto del Ej. 1	< 0 %
Compuesto del Ej. 2	3,8 %
Acetato de ciproterona	73,1 %

Tabla 5: Efecto antiandrógeno de los compuestos en ratas orquidectomizadas

En coincidencia con su perfil clínico se encontró que el acetato de ciproterona muestra un fuerte efecto antiandrógeno y la drospirenona tiene un efecto antiandrógeno más pequeño, pero manifiesto. Al contrario que esto, se encontró que los compuestos conformes al invento no muestran ningún efecto antiandrógeno.

30

Efecto antiandrógeno de los compuestos en ratas orquidectomizadas, investigación de la expresión génica

Como una modificación del ensayo de Hershberger anteriormente descrito se sacrificaron adicionalmente unos animales a las 24 horas después del primer tratamiento (1 mg/kg de TP, 10 mg/kg de la sustancia de ensayo) y el tejido de próstata se congeló de manera brusca inmediatamente después de la autopsia, y después de esto se empleó para el aislamiento del ARNm (ácido ribonucleico mensajero). Mediante un procedimiento cuantitativo de PCR (acrónimo de Polymerase Chain Reaction = reacción en cadena de la polimerasa) (deTaqMan) se investigó la inducción (factor de inducción múltiplo en x veces) de genes estimulados por andrógenos, entre otros la biosíntesis de esteroides (p.ej. IDI1, NM_004508.2), como medida del efecto andrógeno de TP o respectivamente su inhibición mediante los compuestos conformes al invento. La inhibición se convirtió por cálculo en un % de inhibición con una plena inhibición (de 100 %) en el caso de un factor de inducción de 1, y con una inhibición de 0 % en el caso del factor de inducción de TP.

45

	Factor de inducción múltiplo de x veces del ARNm de IDI1 después de una administración de TP	Efecto antiandrógeno (% de inhibición)
Testigo (TP)	7,07	0 %
TP + DRSP	5,39	27 %
TP + Ej. 1	7,89	< 0 %
TP + CPA	1,53	91 %

TP = propionato de testosterona; DRSP = drospirenona; CPA = acetato de ciproterona

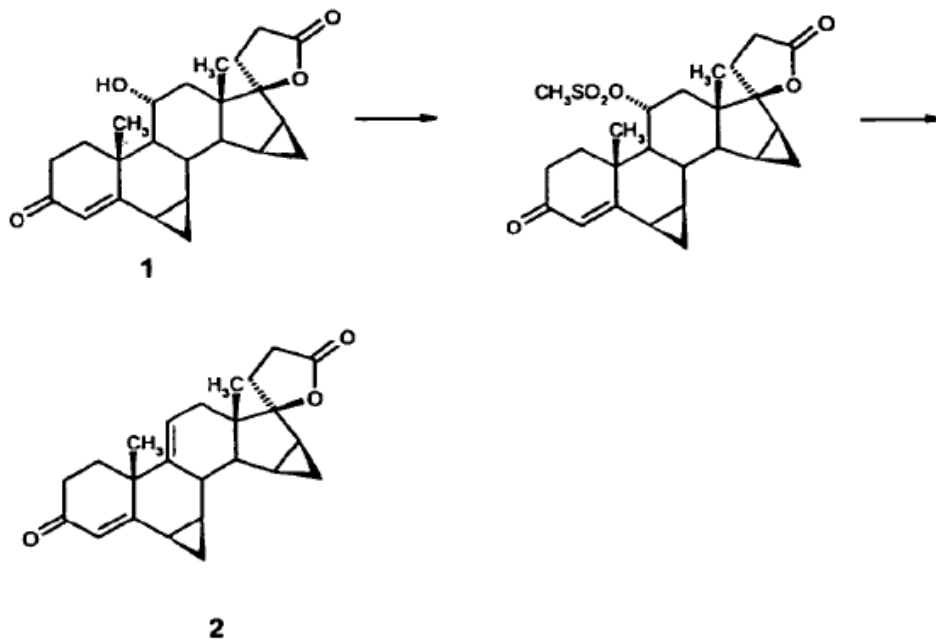
Tabla 6: Efecto antiandrógeno de los compuestos: Modificación de la expresión génica

50

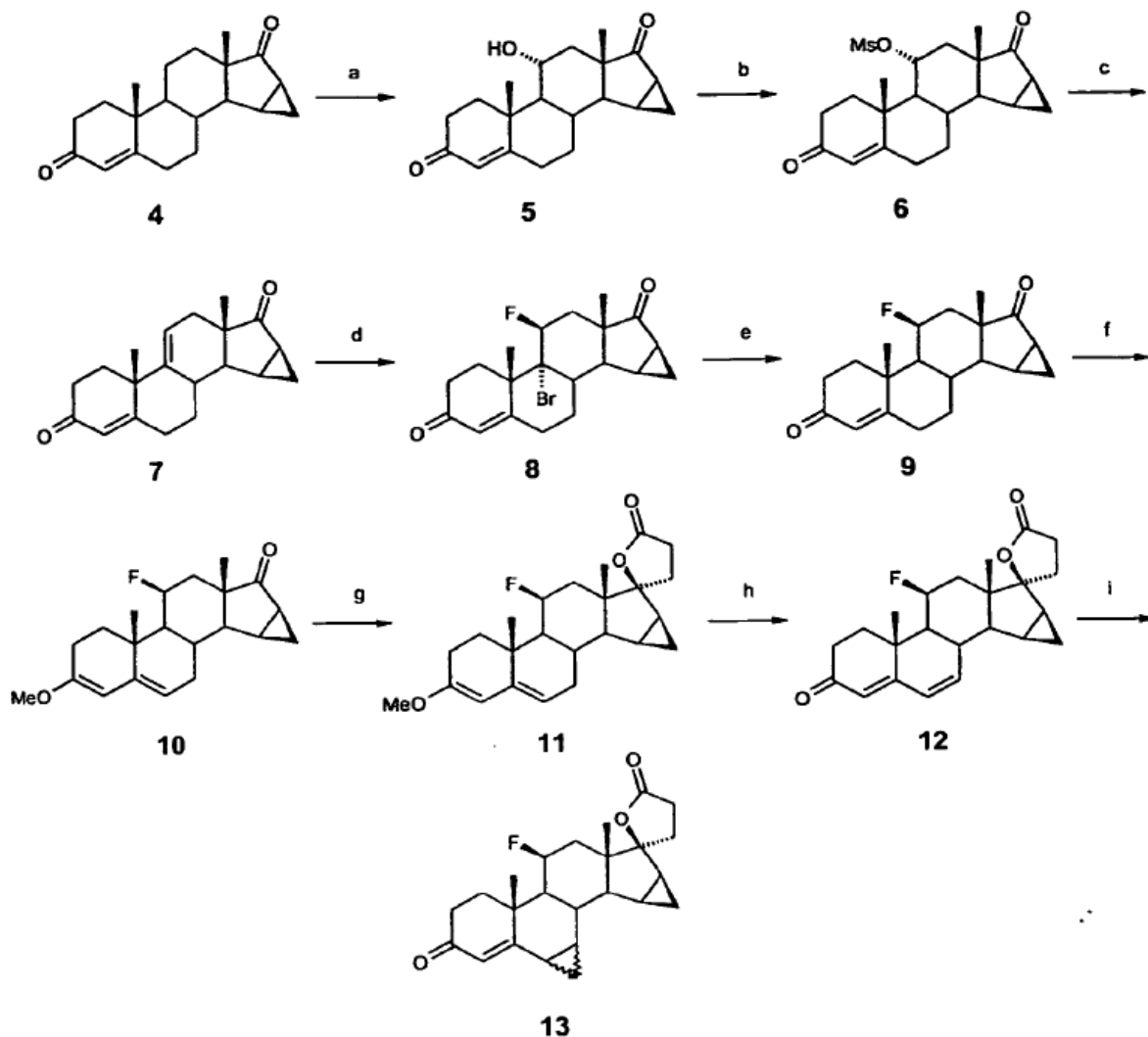
En coincidencia con su perfil clínico se encontró que el acetato de ciproterona muestra un fuerte efecto antiandrógeno y la drospirenona muestra un efecto antiandrógeno más pequeño pero manifiesto. Al contrario que esto, se encontró que el compuesto conforme al invento del Ejemplo 1 no muestra ningún efecto antiandrógeno.

5 Los nuevos compuestos de la fórmula general I se preparan conforme al invento tal como se describe seguidamente. La ruta de síntesis para las nuevas pregn-4-eno-21,17-carbolactonas sustituidas en el anillo C según el Esquema 1 parte, por ejemplo, del conocido Compuesto 1 [CAS: 95218-07-8, Nickisch y colaboradores, *J. Med. Chem.* **1985**, 546-550].

10 La introducción de un doble enlace en $\Delta^{9,11}$, por ejemplo a través de una mesilación y una separación [Chamberlin y colaboradores *J. Org. Chem.* **1960**, 295] proporciona el compuesto 2 (Ejemplo 1).



Esquema 1



Esquema 2

- 5 Condiciones: a) *Aspergillus ochraceus*; b) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, piridina, DMAP; c) NaOAc, AcOH, Ac_2O ; d) dibromodimetilhidantoína, HF-piridina (al 70 %), diclorometano; e) Bu_3SnH / AIBN / benceno; f) 2,2-dimetoxipropano, piridinio-*p*TsOH; g) $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{OPO}(\text{NMe}_2)_2$, *n*-BuLi, THF; h) 1. *N*-metil-pirrolidona, NaOAc / H_2O , dibromodimetilhidantoína, 2. LiBr / Li_2CO_3 ; i) $(\text{CH}_3)_3\text{SO-I}$, DMSO, NaH.

10 El Esquema 2 muestra otro procedimiento para la preparación del compuesto conforme al invento.

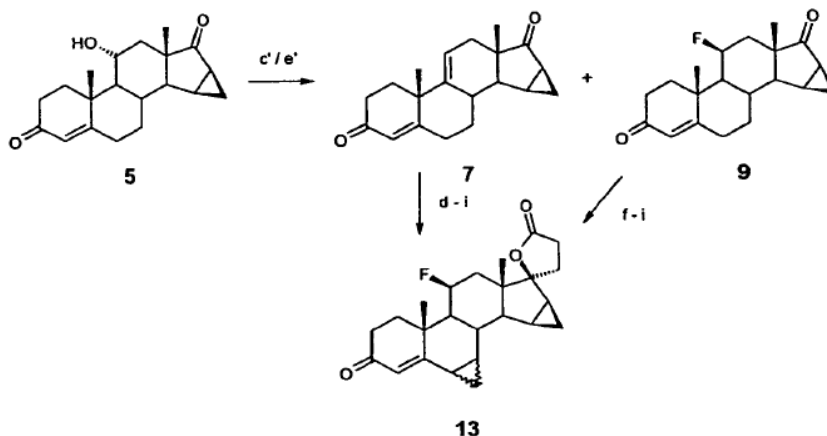
- A partir de la conocida $15\beta, 16\beta$ -metilen-androst-4-eno-3,17-diona [Wiechert y colaboradores, *Chem. Ber.* 106, **1973**, 888] (**4**) se obtiene el compuesto (**5**) mediante una hidroxilación microbiológica en un recipiente de fermentación con microorganismos, que dan lugar a una hidroxilación del esteroide en la posición 11, en particular en la posición 11α , p.ej. de las especies *Absidia* sp., *Acremonium* sp., *Ascochyta* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Beauveria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Caldariomyces* sp., *Calonectria* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Gibberella* sp., *Gloeosporium* sp., *Glomerella* sp., *Gnomonia* sp., *Haplosporella* sp., *Helicostylum* sp., *Helminthosporium* sp., *Metarhizium* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp., *Sporotrichum* sp., *Syncephalastrum* sp. y *Wojnowicia* sp..
- 20 Se prefieren especialmente *Absidia orchidis*, *Absidia coerulea*, *Acremonium strictum*, *Ascochyta clematidina*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fischeri*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus malignus*, *Aspergillus melleus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus varicolor*, *Bacillus megaterium*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria tenella*, *Botryodiplodia malorum*, *Caldariomyces fumago*, *Calonectria decora*, *Colletotrichum phomoides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporium*, *Fusarium solani*, *Gibberella zeae*, *Glomerella cingulata*, *Gloeosporium fructigenum*, *Gloeosporium higgensianum*, *Gloeosporium kaki*, *Gloeosporium lacticolor*, *Gloeosporium olivarium*, *Glomerella fusaroides*, *Gnomonia cingulata*, *Haplosporella hesperedica*, *Helminthosporium* sp., *Helicostylum piriforme*, *Metarhizium anisopliae*, *Mucor plumbeus*, *Mucor spinosus*, *Nigrospora sphaerica*,

Rhizopus arrhizus, Rhizopus cohnii, Rhizopus delemar, Rhizopus japonicus, Rhizopus kazaensis, Rhizopus microsporus, Rhizopus oryzae, Rhizopus shanghaiensis, Rhizopus stolonifer, Rhizopus tritici, Sporotrichum sulfurescens, Syncephalastrum racemosum, Wojnowicia graminis y Wojnowicia hirta.

5 En particular se emplean Absidia orchidis (ATCC 6647), Acremonium strictum (NRRL 5759), Ascochyta clematidina (CBS), Aspergillus alliaceus (ATCC 10060), Aspergillus awamori (CBS), Aspergillus fischeri (ATCC 1020), Aspergillus malignus (IMI 16061), Aspergillus melleus (CBS), Aspergillus nidulans (ATCC 11267), Aspergillus niger (ATCC 9142, ATCC 11394), Aspergillus ochraceus (NRRL405, NRRL 410, CBS 13252, ATCC 46504), Aspergillus varicolor (ATCC 10067), Bacillus megaterium (ATCC 13368), Beauveria bassiana (IFO 5838, ATCC 13144, IFO 4848, CBS 11025, CBS 12736, ATCC 7159), Botryodiplodia malorum (CBS 13450), Caldariomyces fumago (ATCC 16373), Calonectria decora (ATCC 14767), Curvularia lunata (IX 3, NRRL 2380), Fusarium solani (ATCC 12823), Fusarium oxysporum (ATCC 7808), Gibberella zeae (CBS 4474), Glomerella cingulata (ATCC 12097, ATCC 10534, CBS 23849, CBS 23749, ATCC 16646, IFO 6459, IFO 6425, IFO 6470, ATCC 15093, ATCC 10529, IFO 5257, ATCC 56596, ATCC 64682), Glomerella fusaroides (ATCC 9552), Gnomonia cingulata (CBS 15226), Haplosporella hesperedica (CBS 20837), Helicostylum piriforme (ATCC 8992), Helminthosporium sp. (NRRL 4671), Metarhizium anisopliae (IFO 5940), Mucor plumbeus (CBS 29563), Nigrospora sphaerica (ATCC 12772), Rhizopus arrhizus (ATCC 11145), Rhizopus oryzae (ATCC 4858, ATCC 34102, CBS 32947), Rhizopus stolonifer (ATCC 15441), Syncephalastrum racemosum (IFO 4827) y Wojnowicia graminis (CBS 89168).

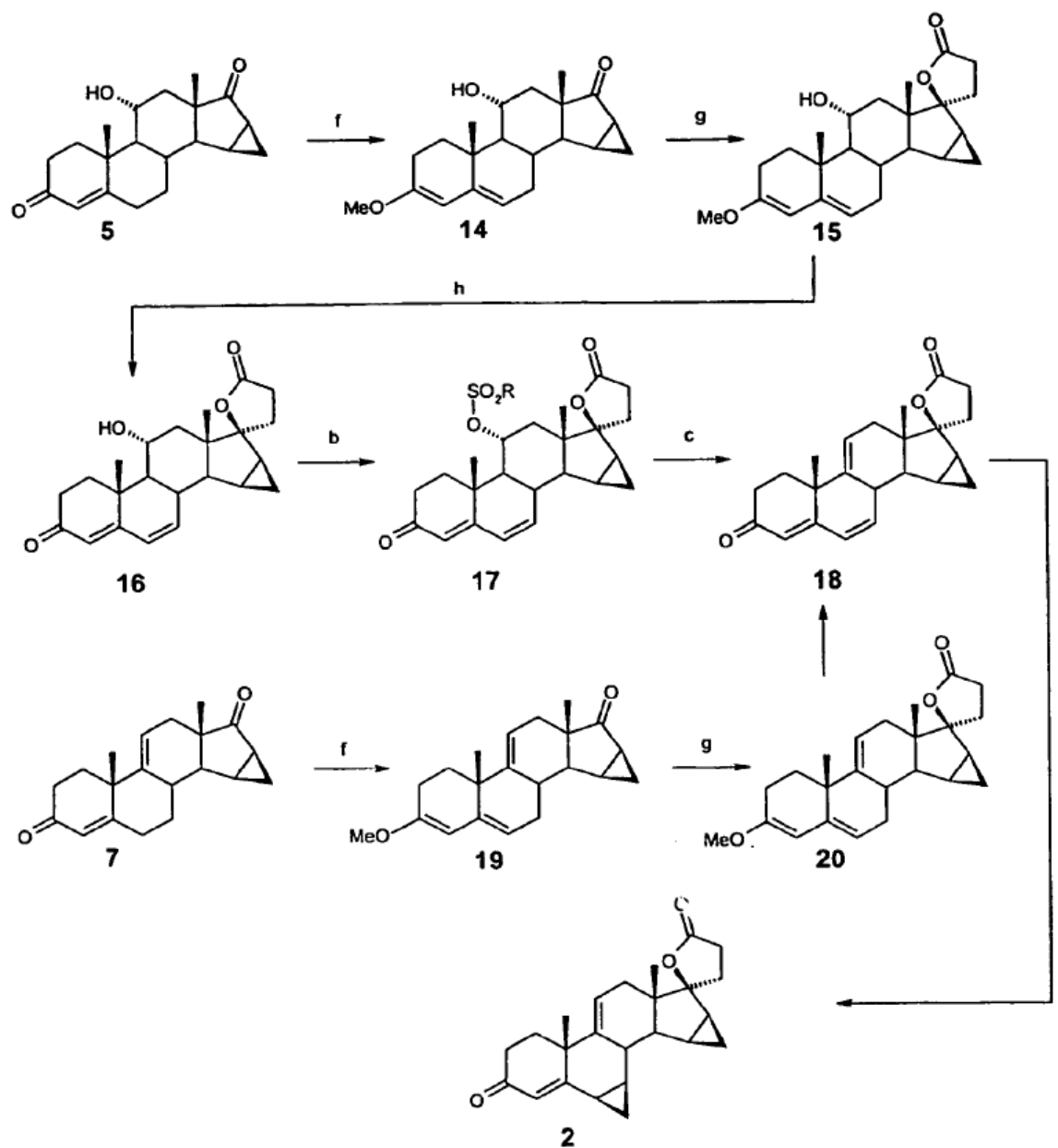
20 El 11-hidroxiesteroide **5** se transforma a continuación p.ej. mediante mesilación y eliminación en condiciones básicas del ácido metanosulfónico en el derivado $\Delta^{9(11)}$ **7**. Éste se puede transformar p.ej. mediante una bromofluoración del enlace doble $\Delta^{9(11)}$ según procedimientos conocidos p.ej. con el reactivo de Olah y N-bromosuccinimida [Olah y colaboradores *Synthesis* **1973**, 780] en la diona **8**, y mediante una desbromación reductora p.ej. con hidruro de tributil-estaño, en la fluorodiona **9**. Después de haber protegido el sistema de 4-en-3-ona (**9**) como un dienol-éter **10**, se establece la espirolactona p.ej. según el método de Sturtz [*Synthesis* **1980**, 289] o alternativamente por medio de procedimientos conocidos [Bittler *Angew. i.e.* 21 **1982**, 696; Laurent *J. Steroid Biochem.* 19 **1983**, 771]. El compuesto **11** se puede transformar p.ej. en la 4,6-dien-3-ona **12** p.ej. mediante una bromación de dienol-éter análogamente a la prescripción de [J.A. Zderic, Humberto Carpio, A. Bowers y Carl Djerassi *Steroids* 1 **1963**, 233] y una separación de bromuro de hidrógeno por calentamiento del compuesto con bromo en posición 6 con reactivos de carácter básico, tales como p.ej. LiBr o Li₂CO₃ en el seno de disolventes apróticos tales como p.ej. dimetil-formamida o 1-metil-2-pirrolidona a unas temperaturas de 50-120 °C o sino calentando los compuestos con bromo en posición 6 en el seno de un disolvente tal como colidina o lutidina. El compuesto **12** se transforma luego mediante metilación del enlace doble Δ^6 según procedimientos conocidos p.ej. con metiluro de dimetil-sulfoxonio [véanse p.ej. los documentos de solicitudes de patentes alemanas DE-A 11 83 500, DE-A 29 22 500, el documento EP-A 0 019 690, el documento de patente de los EE.UU. US-A 4.291.029; y la cita de E. J. Corey y M. Chaykovsky, *J.Am.Chem.Soc.* 84 **1962**, 867] en un compuesto **13**, obteniéndose una mezcla de los isómeros α y β (la relación es dependiente de los substratos utilizados, predominando en la mayoría de los casos manifiestamente el isómero β), que se puede separar en los isómeros individuales p.ej. mediante una cromatografía.

40 La introducción de un grupo fluoro en posición 11 se puede realizar también según el Esquema 3 p.ej. partiendo de una 11-hidroxi-4-en-ona **5** mediante reacción con el fluoruro de nonaflilo y DBU en el seno de un disolvente orgánico tal como p.ej. tetrahidrofurano [véase p.ej. Bennua-Skalmowski, *Tet. Lett.* **1995**, 2611] mediando formación de una mezcla del 11-fluoro-esteroide **9** arriba mencionado así como del derivado $\Delta^{9(11)}$ **7** asimismo arriba mencionado, la cual se puede separar en los compuestos individuales p.ej. mediante una cromatografía, y a continuación se hacen reaccionar ulteriormente tal como se ha descrito arriba.



Esquema 3

50 Condiciones: c' / e') NfF, DBU, THF; d - i) véase el Esquema 2.



Esquema 4

Para todas las condiciones de reacción véase el Esquema 2 ($R =$ metilo, toliolo)

5 Partiendo del 11-hidroxiesteroide **5**, se puede preparar en 5 etapas según los métodos antes descritos la 4,6-dien-3-ona **18**, a partir de la cual se obtiene el compuesto **2** mediante metinelación del enlace doble en las posiciones 6,7 (véase más arriba).

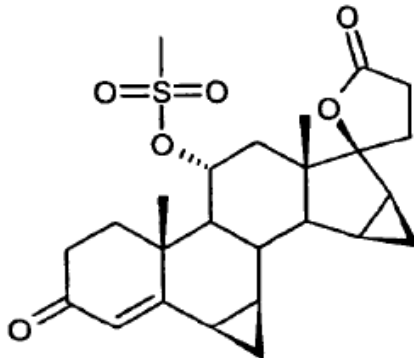
10 La 4,6-dien-3-ona **18** es también accesible partiendo de la 4-en-3-ona **7** en tres etapas según los métodos antes descritos.

En el caso de los compuestos intermedios de las fórmulas **5**, **6**, **7**, **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **14**, **15**, **16**, **17**, **18**, **19** y **20** se trata siempre de compuestos nuevos. Todos ellos pertenecen por lo tanto al objeto del presente invento. Además, su utilización como compuestos de partida o respectivamente intermedios para la preparación de los compuestos conformes al invento de la fórmula general I pertenece al objeto del presente invento.

15

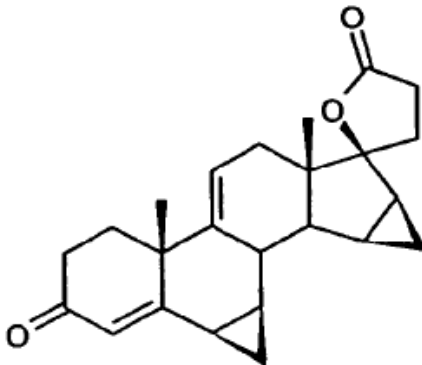
Los siguientes Ejemplos sirven para ilustrar más detalladamente el invento:

Ejemplo 1

6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona5 a) **6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-11 α -mesiloxi-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona**

Una solución de 25 g de 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-11 α -hidroxi-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona [CAS: 95218-07-8, Nickisch y colaboradores *J. Med. Chem.* **1985**, 546-550] en 250 ml de piridina se mezcló a 0 °C gota a gota con 21,7 ml de cloruro de mesilo y se agitó durante 2 horas a 25 °C. A continuación, se diluyó con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con una solución de hidrógeno-carbonato de sodio, con agua y una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Se obtuvieron 30 g de la 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-11 α -mesiloxi-3-oxo-17-pregn-4-en-21,17 β -carbolactona pura como un material sólido.

10 ¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 6,01 (s, 1H), 5,46 (d(ancho), 1H), 2,69-2,61 (m, 2H), 2,56-2,46 (m, 3H), 2,39 (m, 1H), 2,27 (d(ancho), 1H), 2,19-2,13 (m, 2H), 1,89 (m, 1H), 1,81 (dd(ancho), 1H), 1,72 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 1,52-1,45 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,31 (m, 1H), 1,28 (s, 3H), 1,06 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,58 (m, 1H).

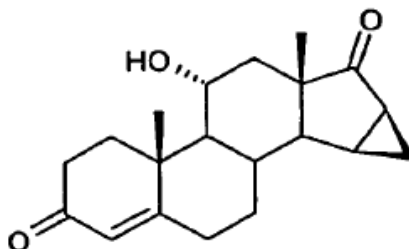
b) **6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona**

20 Una solución de 18,5 g de 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-11 α -mesiloxi-3-oxo-17-pregn-4-en-21,17 β -carbolactona en 50 ml de ácido acético se mezcló a 25 °C con 0,5 ml de anhídrido de ácido acético y se agitó durante 8 horas a una temperatura del baño de 100 °C. A continuación se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Se obtuvieron 15,2 g de la 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona en bruto. Después de una cromatografía en presencia de gel de sílice con una mezcla de hexano y acetato de etilo se obtuvieron 7,5 g de un producto puro en forma de un material sólido.

25 EM (EI): m/z = 364 (M⁺);

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 6,07 (s, 1H), 4,96 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 2,75-2,51 (m, 3H), 2,47-2,31 (m, 3H), 2,22-1,84 (m, 5H), 1,77-1,41 (m, 8H), 1,32-1,23 (m, 2H), 1,03 (s, 3H), 0,84 (m, 1H).

30

Ejemplo 2**6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona**5 **a) 11 α -Hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona**

10 Un matraz de Erlenmeyer con una capacidad de 2 l, que contenía 1 l de una solución nutritiva, esterilizado a 121°C en un autoclave durante 30 minutos, a base de 3 % de monohidrato de glucosa, 1% de agua de maceración de maíz, 0,2 % de nitrato de sodio, 0,1% de dihidrógeno-fosfato de potasio, 0,2% de hidrógeno-fosfato de dipotasio, 0,05 % de cloruro de potasio, 0,05% de sulfato de magnesio heptahidrato y 0,002 % de sulfato de hierro(II) heptahidrato (ajustado a un pH de 6,0), se inoculó con un cultivo en hielo y 2ml DMSO de la cepa *Aspergillus ochraceus* (NRRL 405) y se agitó durante 71,5 horas a 27°C en un agitador rotatorio con 165 revoluciones por minuto. Con este cultivo previo se inoculó un fermentador con una capacidad de 20 l, que había sido cargado con 19 l de un medio estéril que tenía la misma composición final, que se ha descrito para el cultivo previo. Además de ello, antes de la esterilización se añadieron todavía 1,0 ml de un aceite de silicona y 1,0 ml de Synperonic para el combate de la formación de espuma. Este fermentador se incubó durante 47,5 horas a una sobrepresión de 0,7 bares, a una temperatura de 28 °C, con una aireación de 8 l por minuto y con una velocidad de agitación de 350 revoluciones por minuto.

20 A partir de este fermentador con una capacidad de 20 l se extrajeron 2,5 l de un cultivo previo, con el fin de inocular un fermentador con una capacidad de 50 l, que había sido cargado con 47,5 l de un medio estéril que tenía la misma composición final, que se ha descrito para el cultivo previo. Antes de la esterilización se añadieron 2,5 ml de un aceite de silicona y 2,5 ml de Synperonic. Después de una fase de crecimiento inicial de 10 horas a una sobrepresión de 0,7 bares, a una temperatura de 28 °C, con una aireación de 10 l por minuto y con una velocidad de agitación de 350 revoluciones por minuto, se añadió una solución de 10,0 g de 15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 200 ml de DMF. Se continuó agitando y se aireó. Después de 26 horas, se cosechó el caldo de cultivo.

30 A partir del fermentador con una capacidad de 20 l se extrajeron 5,0 l de un cultivo previo, con el fin de inocular un fermentador con una capacidad de 100 l, que había sido cargado con 95,0 l de un medio estéril que tenía la misma composición final, que se ha descrito para el cultivo previo. Antes de la esterilización se añadieron 5,0 ml de un aceite de silicona y 5,0 ml de Synperonic. Después de una fase de crecimiento inicial de 10 horas a una sobrepresión de 0,7 bares, a una temperatura de 28 °C, con una aireación de 20 l por minuto y con una velocidad de agitación de 350 revoluciones por minuto se añadió una solución de 20,0 g de 15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 400 ml de DMF. Se continuó agitando y se aireó. Después de 26,25 horas se cosechó el caldo de cultivo.

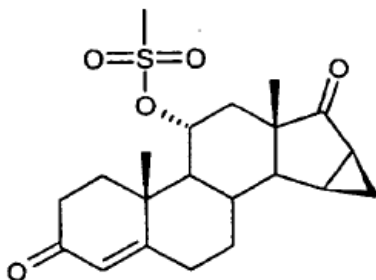
40 Los dos caldos de cultivo se reunieron y se extrajeron con 60 l de metil-isobutil-cetona durante 19,75 horas. Las fases orgánicas reunidas se concentraron por evaporación hasta sequedad. El residuo se lavó con hexano, con el fin de separar el aceite de silicona. A continuación, se cristalizó a partir de acetona y se aislaron 19,2 g (61 % de la teoría) de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona.

100 mg se purificaron mediante una HPLC preparativa (250 x 40 mm, Luna C18, 10 μ , 100 A, con una mezcla de agua y acetona 70 : 30, 100 ml/min).

45 P.f.: 225/247-249 °C

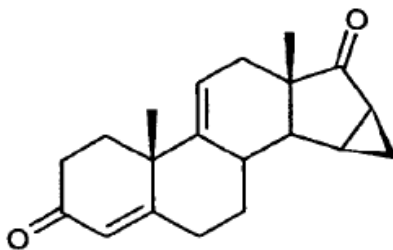
$[\alpha]_D = +48,6^\circ$ (CHCl₃, c = 1,0700)

50 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,04 (s 3H), 1,13-1,37 (m, 8H), 1,62 (dt, 1H), 1,77-1,91 (m, 2H), 1,99 (m, 1H), 2,03-2,21 (m, 4H), 2,31-2,57 (m, 5H), 4,05 (m, 1H), 5,78 (s, 1H).

b) 11 α -Mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona

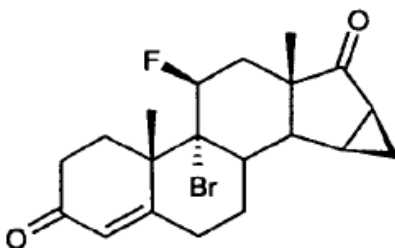
Una solución de 22 g de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 220 ml de piridina se mezcló gota a gota a 0 °C con 23 ml de cloruro de mesilo y se agitó durante 2 horas a 25 °C. A continuación, se diluyó con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con una solución de hidrógeno-carbonato de sodio, con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Se obtuvieron 24,7 g de 11 α -mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona.

¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,81 (m, 1H), 5,09 (m, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,21 (m, 1H), 1,06 (s, 3H).

c) 15 β ,16 β -Metilen-androsta-4,9(11)-dieno-3,17-diona

Una solución de 25,6 g de 11 α -mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 80 ml de ácido acético se mezcló a 25 °C con 0,82 ml de anhídrido de ácido acético y se agitó durante 8 horas a una temperatura del baño de 100 °C. A continuación se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Después de una cristalización a partir de acetato de etilo, se obtuvieron 16,4 g de 15 β ,16 β -metilen-androsta-4,9(11)-dieno-3,17-diona.

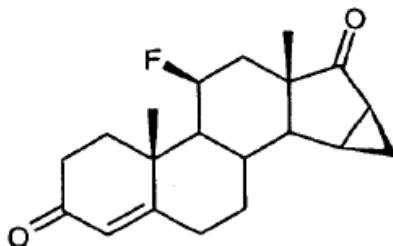
¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,79 (m, 1H), 5,55 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,37 (s, 3H), 1,12-1,33 (2m, 2H), 1,00 (s, 3H).

d) 9 α -Bromo-11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona

Una suspensión de 8,76 g de dibromohidantoína en 250 ml de diclorometano se mezcló lentamente con 24,5 ml de una mezcla de HF y piridina al 70 %. En la solución obtenida se introdujeron 16,3 g de 15 β ,16 β -metilen-androsta-4,9(11)-dieno-3,17-diona y se agitaron durante 30 min a la temperatura ambiente. A continuación, se vertió sobre una mezcla de 200 ml de agua amoniacal (al 25 %) y de 300 ml de hielo, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C.

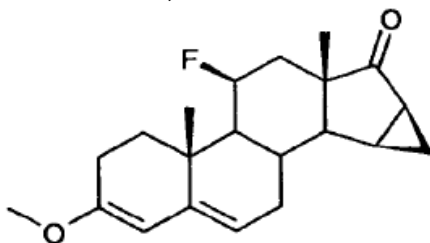
Después de una cristalización del residuo a partir de acetato de etilo se obtuvieron 15,2 g de 9 α -bromo-11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona.

¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,81 (m, 1H), 5,28 (dt, 1H), 1,695 (d, 3H), 1,175 (d, 3H).

e) **11 β -Fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona**

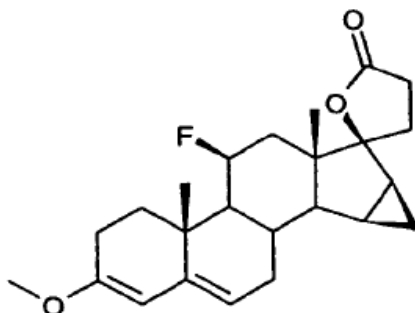
Una solución de 33,5 g de 9 α -bromo-11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 480 ml de benceno se agitó con 42 ml de hidruro de tributil-estaño y 416 mg de azo-bis-isobutironitrilo durante 30 min a 80 °C. Se concentró por evaporación en vacío y el residuo se cromatografió en presencia de gel de sílice 60. Después de una cristalización a partir de acetato de etilo se obtuvieron 18,7 g de 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona.

¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,73 (m, 1H), 5,28 (dq, 1H), 1,395 (d, 3H), 1,175 (d, 3H).

f) **11 β -Fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona**

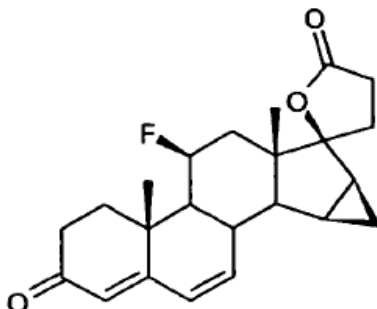
En una suspensión de 10,79 g de 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 220 ml de 2,2-dimetoxipropano se introdujeron 1,3 g de tosilato de piridina. Luego se agitó durante 3 h a una temperatura del baño de 100 °C. Después de haber enfriado a la temperatura ambiente, se añadieron 2,5 ml de trietilamina y se concentró hasta sequedad por evaporación en vacío. El residuo se extrajo por agitación con 30 ml de metanol y se filtró con succión. Se obtuvieron 9,6 g de 11 β -fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona.

¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,27-5,19 (m, 1,5H), 5,14 (m, 1H), 5,08 (q, 0,5 H), 3,60 (s, 3H), 1,17 (m, 6H).

g) **11 β -Fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5-dieno-21,17 β -carbolactona**

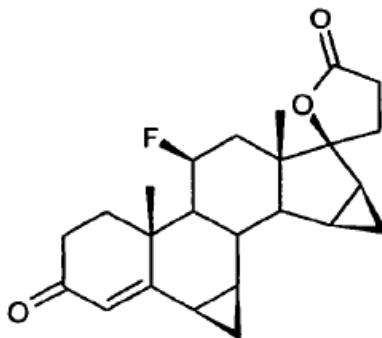
Se dispusieron previamente 91 ml de una solución 1,6 M de butil-litio (en hexano) a -50 °C y se añadieron gota a gota 14 g de tetrametil-fósfordiamidato de alilo disueltos en 30 ml de tetrahidrofurano. Después de haber agitado durante 30 min a -20 °C se introdujeron 22 ml de N,N,N,N-tetrametil-etanodiamina y se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Se añadió una solución de 15 g de 11 β -fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona en 80 ml de tetrahidrofurano y se agitó posteriormente durante 4 horas a la temperatura ambiente. A continuación, se añadió una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Después de una cristalización a partir de acetato de etilo se obtuvieron 15,8 g de 11 β -fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5-dieno-21,17 β -carbolactona.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5,28-5,22 (m, 1,5H), 5,17 (m, 1H), 5,09 (q, 0,5 H), 3,63 (s, 3H), 1,20 (m, 6H), 0,53 (m, 1H).

h) 11 β -Fluoro-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona

5 A una suspensión de 13,5 g de 11 β -fluoro-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5-dieno-21,17 β -carbolactona en 150 ml de 1-metil-2-pirrolidona se le añadieron en porciones consecutivamente a 0 °C 14,5 ml de una solución al 10 % de acetato de sodio así como 5,11 g de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína. A continuación, se agitó durante 0,5 horas a 0 °C (en un baño de hielo), se mezcló con 4,86 g de bromuro de litio así como con 4,27 g de carbonato de litio, y se agitó durante 3,5 horas a una temperatura del baño de 100 °C. A continuación, se vertió sobre una mezcla de hielo y agua y de cloruro de sodio, y el precipitado se separó por filtración. Después de una cromatografía en presencia de gel de sílice 60 (elución con una mezcla de hexano y acetato de etilo 1:1), se obtuvieron 9,1 g de 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona.

10 $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3): δ = 6,41 (m, 1H), 6,22 (m, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,11 (dq, 1 H), 1,31 (d, 3H), 1,21(d, 3H), 0,60 (m, 1H).

15 i) 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona

A una solución de 13,41 g de yoduro de trimetil-sulfoxonio en 250 ml de DMSO seco se le añadieron a la temperatura ambiente en porciones 2,39 g de hidruro de sodio (al 60 % en un aceite mineral) y, después de haberse terminado la adición, se agitó durante 3 horas a la temperatura ambiente. A continuación, se introdujeron 8,38 g de 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona y se agitó durante 6 horas a la temperatura ambiente. Después de esto se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Para la purificación se cromatografió en presencia de gel de sílice 60 (elución con una mezcla de hexano y acetato de etilo 1:4). Como fracción A se obtuvieron 2,6 g de 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona.

20

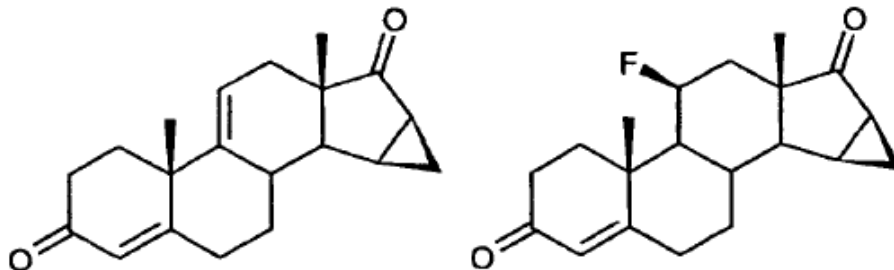
25

EM (EI): m/z = 384 (M^+), 349, 273, 260;

$^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3): δ = 5,99 (s, 1H), 5,07 (d(ancho), 1H), 2,69-2,61 (m, 2H), 2,53 (m, 1H), 2,43 (d(ancho), 1H), 2,35 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 2,02-1,95 (m, 2H), 1,83 (m, 1H), 1,68-1,62 (m, 2H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,49 (m, 1H), 1,40 (m, 1H), 1,29 (d, 3H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 1H), 1,15 (d, 3H), 1,04 (m, 1H), 0,59 (m, 1H).

Método alternativo de síntesis del Ejemplo 2:

c') 15 β ,16 β -Metilen-androsta-4,9(11)-dieno-3,17-diona y e') 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona



5 Una solución de 630 mg de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 16 ml de tetrahidrofurano se mezcló gota a gota a 0 °C con 0,47 ml de 1,8-diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-eno (1,5-5) de tal manera que la temperatura interna no sobrepasase los 5 °C. A continuación, se agitó durante 30 min a 0 °C, se mezcló gota a gota con 0,55 ml de fluoruro de ácido perfluorobutano-1-sulfónico de tal manera que la temperatura interna no sobrepasase los 5 °C, y se agitó durante otras 1,5 horas a 0 °C. A continuación, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con ácido sulfúrico 2 M, con una solución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío a 40 °C. Mediante una cromatografía en presencia de gel de sílice, después de una elución con una mezcla de hexano y acetato de etilo (1:1), se obtuvo la 15 β ,16 β -metilen-androsta-4,9(11)-dieno-3,17-diona como una fracción 1.

10 ¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,79 (m, 1H), 5,55 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,37 (s, 3H), 1,12-1,33 (2m, 2H), 1,00 (s, 3H)

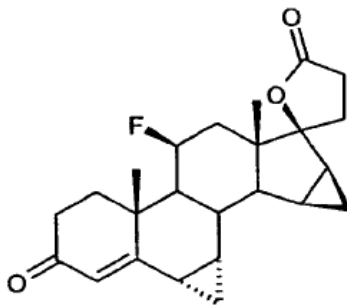
Como una fracción 2 se aisló la 11 β -fluoro-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona.

15 ¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,73 (m, 1H), 5,28 (dq, 1H), 1,395 (d, 3H), 1,175 (d, 3H).

20

Ejemplo 3

6 α ,7 α ;15 β ,16 β -Dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona:

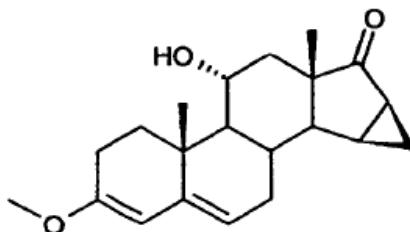


25 Como una fracción B del Ejemplo 2 se obtuvieron 0,37 g de 6 α ,7 α ;15 β ,16 β -dimetilen-11 β -fluoro-3-oxo-17-pregn-4-eno-21,17 β -carbolactona.
EM (EI): m/z = 384 (M⁺);
¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃): δ = 5,94 (s, 1H), 5,08 (d(ancho), 1H), 1,35 (s, 3H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 1H), 1,20 (d, 3H), 1,00 (m, 1H), 0,76 (ddd, 1H), 0,54 (m, 1H), 0,48 (m, 1H)

30

Métodos alternativos de síntesis del Ejemplo 1:**1ª Variante**

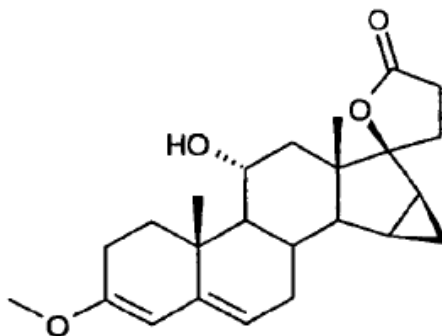
35 **a. 11 α -Hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona**



En una suspensión de 27 g de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona en 422 ml de 2,2-dimetoxi-propano se introdujeron 3,2 g de tosilato de piridina. Luego se agitó durante 18 h a una temperatura del baño de 100 °C. Después del enfriamiento a la temperatura ambiente, se añadieron 10 ml de trietilamina y se concentró hasta sequedad por evaporación en vacío. El residuo se extrajo por agitación con 60 ml de metanol y se filtró con succión. Se obtuvieron 14,3 g de 11 α -hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,33 (d, ancho, J = 3,8 Hz, 1H), 5,14 (s, ancho, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,58 (s, 3H), 1,79 (m, 1H), 1,13 (s, 3H), 1,02 (s, 3H)

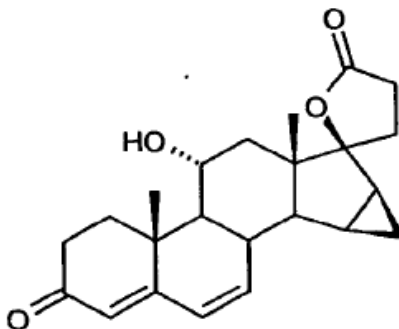
10 **b) 11 α -Hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5-dieno-21,17 β -carbolactona**



Se dispusieron previamente 66,6 ml de una solución 1,6 M de butil-litio (en hexano) a -50 °C y se añadieron gota a gota 10,24 g de tetrametil-fósfordiamidato de alilo, disueltos en 13 ml de tetrahidrofurano. Después de agitar durante 30 min a -20 °C, se introdujeron 16 ml de N,N,N,N-tetrametil-etanodiamina y a continuación se añadió gota a gota una solución de 5 g de 11 α -hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5-dien-17-ona en 33,5 ml de tetrahidrofurano. Se calentó a la temperatura ambiente y se agitó posteriormente durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 25 ml de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío. Después de una cristalización a partir de diisopropil-éter, se obtuvieron 2,85 g de 11 α -hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5-dieno-21,17 β -carbolactona.

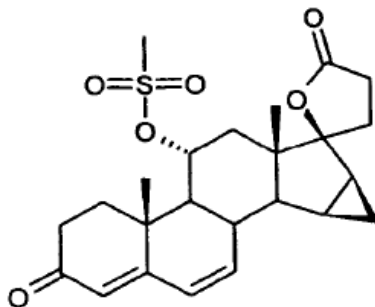
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,31 (d, ancho, J = 4,0 Hz, 1H), 5,14 (s, ancho, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,58 (s, 3H), 1,14 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,46 (m, 1H)

25 **c) 11 α -Hidroxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona**



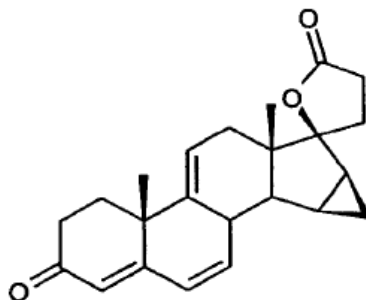
A una suspensión de 13,5 g de 11 α -hidroxi-3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona en 144 ml de 1-metil-2-pirrolidona se le añadieron en porciones consecutivamente a 0 °C 14,8 ml de una solución al 10 % de acetato de sodio así como 4 g de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoina. A continuación, se agitó durante 0,5 horas a 0 °C (en un baño de hielo), se mezcló con 4,88 g de bromuro de litio así como con 4,31 g de carbonato de litio y se agitó durante 3 horas a una temperatura del baño de 80 °C. A continuación, se vertió sobre una solución acuosa saturada enfriada con hielo de cloruro de sodio, se extrajo con acetato de etilo, se lavó la fase orgánica con agua y con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el material filtrado se concentró por evaporación hasta sequedad. Se obtuvieron 12,8 g de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona como un producto en bruto. Para finalidades analíticas, se cromatografió una muestra en presencia de gel de sílice con una mezcla de hexano y acetato de etilo.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 6,34 (d, ancho, J = 9,6 Hz, 1H), 6,20 (d, ancho, J = 9,6 Hz, 1H), 5,71 (s, ancho, 1H), 4,05 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,29 (m, 1H), 1,25 (s, 3H), 1,09 (s, 3H), 0,57 (m, 1H)

d) 11 α -Mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona

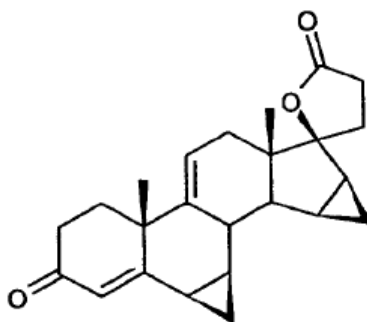
12,8 g de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona se disolvieron en 113 ml de piridina. A continuación, se añadieron gota a gota 10,91 ml de cloruro de ácido metano-sulfónico. Se agitó durante 90 minutos a la temperatura ambiente y se vertió sobre 1,5 l de una mezcla de agua y hielo. Después de haber agitado durante dos horas, se filtró con succión, se secó la torta del filtro y la misma se cromatografió en presencia de gel de sílice con una mezcla de hexano y de acetato de etilo. Se obtuvieron 5,4 g de 11 α -mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona.

¹H-RMN (400 MHz, CDCI₃): δ = 6,33 (d, ancho, J = 9,6Hz, 1H), 6,23 (d, ancho, J = 9,6Hz, 1H), 5,74 (s, ancho, 1H), 5,10 (m, 1H), 3,01 (s, 3H), 1,56 (m, 1H), 1,45 (m, 1H), 1,30 (s, 3H), 1,14 (s, 3H), 0,59 (m, 1H)

e) 15 β ,16 β -Metilen-3-oxo-17-pregna-4,6,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona

14,8 ml de ácido acético, 0,16 ml de anhídrido de ácido acético y 2,44 g de acetato de sodio se agitaron a 90 °C hasta que el acetato de sodio se hubo disuelto. A esta solución se le añadieron 5,3 g de 11 α -mesiloxi-15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6-dieno-21,17 β -carbolactona. Después de que se hubiera agitado durante 5 horas a 100 °C, se vertió sobre una mezcla de agua y hielo y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Después de haber lavado la fase orgánica con agua, con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio y de haber secado sobre sulfato de magnesio, se filtró y el material filtrado se concentró por evaporación. Después de una cromatografía en presencia de gel de sílice con una mezcla de hexano y acetato de etilo, se obtuvieron 2,12 g de 15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona.

¹H-RMN (300 MHz, CDCI₃): δ = 6,36 (d, ancho, J = 9,6Hz, 1H), 6,24 (d, ancho, J = 9,6Hz, 1H), 5,72 (s, ancho, 1H), 5,48 (m, 1H), 3,09 (d, ancho, J = 11,7Hz, 1H), 1,84 (m, 1H), 1,47 (m, 1H), 1,38 (m, 1H), 1,32 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,59 (m, 1H)

f) 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona

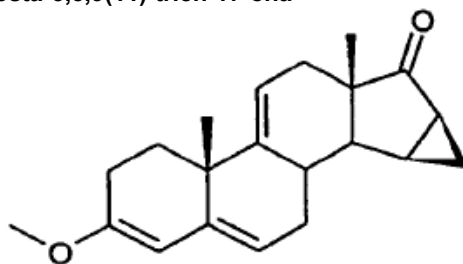
A una solución de 0,52 g de yoduro de trimetil-sulfoxonio en 4 ml de DMSO seco se le añadieron a la temperatura ambiente en porciones 0,09 g de hidruo de sodio (al 60 % en un aceite mineral) y, después de haberse terminado la adición, se agitó durante 2 horas a la temperatura ambiente. A continuación, a 0 °C se introdujeron 0,2 g de

15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona y se agitó posteriormente durante 2,5 horas a la temperatura ambiente. Después de esto, la tanda se introdujo con agitación en 100 ml de ácido sulfúrico (al 8 por ciento en volumen) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó consecutivamente con agua y con una solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se filtró. Después de haber concentrado por evaporación en vacío y de una cromatografía en presencia de gel de sílice con un agente eluyente a base de acetato de etilo y hexano, se obtuvieron 30 mg de 6 β ,7 β ;15 β ,16 β -dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona.

En cuanto a los datos espectroscópicos compárese el Ejemplo 1b.

2ª Variante

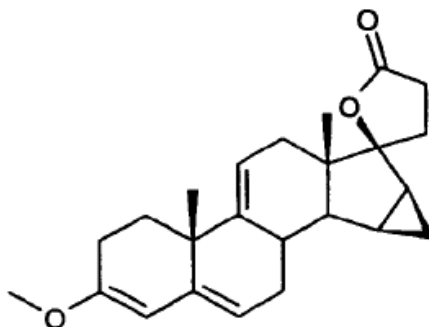
a. 3-Metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5,9(11)-trien-17-ona



En una suspensión de 6,4 g de 15 β ,16 β -metilen-androsta-4,6,9(11)-trieno-3,17-diona en 106 ml de 2,2-dimetoxi-propano se introdujeron 0,8 g de tosilato de piridina. Luego se agitó durante 6 h a una temperatura del baño de 100 °C. Después del enfriamiento a la temperatura ambiente, se añadieron 5 ml de piridina y se concentró por evaporación en vacío hasta sequedad durante 5 minutos. El residuo se extrajo por agitación con 130 ml de metanol y se filtró con succión. Se obtuvieron 4,15 g de 3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5,9(11)-trien-17-ona.

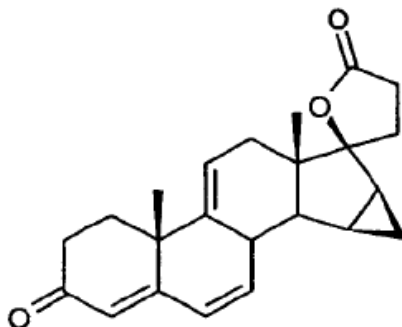
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 5,47 (s, ancho, 1H), 5,33 (s, ancho, 1H), 5,19 (s, ancho, 1H), 3,59 (s, 3H), 2,70 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 1,15 (s, 3H), 0,99 (s, 3H)

b) 3-Metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona



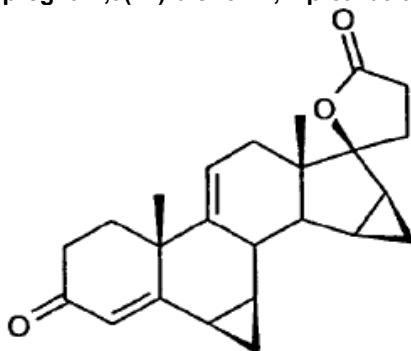
A -50 °C se dispusieron previamente 42,2 ml de una solución 1,6 M de butil-litio (en hexano) y se añadieron gota a gota 6,51 g de tetrametil-fósfordiamidato de alilo, disueltos en 11,4 ml de tetrahidrofurano. Después de haber agitado durante 30 minutos a -20 °C, se introdujeron 10,21 ml de N,N,N,N-tetrametil-etanodiamina y a continuación se añadió gota a gota una solución de 4,14 g de 3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-androsta-3,5,9(11)-trien-17-ona en 29,4 ml de tetrahidrofurano. Se calentó a la temperatura ambiente y se agitó posteriormente durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 21 ml de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se vertió sobre agua, se extrajo tres veces con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con agua y con una solución de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró por evaporación en vacío, comenzando la cristalización. Después de haber filtrado con succión con respecto del disolvente restante, se obtuvieron 3,14 g de 3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-3,5,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,45 (s, ancho, 1H), 5,32 (s, ancho, 1H), 5,18 (s, ancho, 1H), 3,59 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 0,96 (s, 3H)

c) **15 β ,16 β -Metilen-3-oxo-17-pregna-4,6,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona**

5 A una suspensión de 2,2 g de 3-metoxi-15 β ,16 β -metilen-17-pregna-3,5,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona en 35 ml de 1-metil-2-pirrolidona se le añadieron a 0 °C en porciones consecutivamente 1,7 ml de una solución al 10 % de acetato de sodio así como 0,6 g de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína. A continuación, se agitó durante 0,5 horas a 0 °C (en un baño de hielo), se mezcló con 0,83 g de bromuro de litio así como con 0,74 g de carbonato de litio, y se agitó durante 3,5 horas a una temperatura del baño de 100 °C. A continuación, se vertió sobre una mezcla de agua y hielo y de cloruro de sodio y se filtró el precipitado. Después de una cromatografía en presencia de gel de sílice 60
10 (elución con una mezcla de hexano y acetato de etilo 1:1), se obtuvieron 1,2 g de 15 β ,16 β -metilen-3-oxo-17-pregna-4,6,9(11)-trieno-21,17 β -carbolactona.

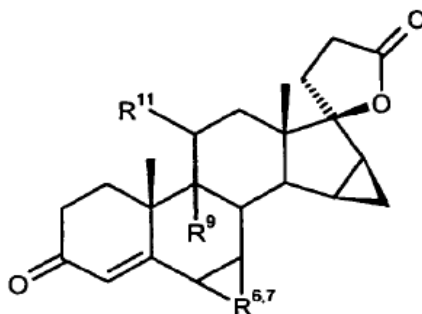
En cuanto a los datos espectroscópicos, compárese 1. Variante e

15 d) **6 β ,7 β ;15 β ,16 β -Dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona**

En cuanto a la realización y la elaboración compárese 1ª Variante f.

REIVINDICACIONES

1. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de la fórmula general I



Fórmula I

5 en la que

$R^{6,7}$ significa un metileno situado en la posición α ó β y

10 R^9 significa un átomo de hidrógeno y R^{11} significa un átomo de bromo, cloro o flúor o R^9 y R^{11} significan en común un enlace.

2. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizadas porque R^9 se encuentra en la posición α .

15 3. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizadas porque R^{11} se encuentra en la posición β .

4. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizadas porque R^{11} es un átomo de flúor o cloro.

20 5. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizadas porque el átomo de halógeno R^{11} es un átomo de flúor.

25 6. $6\beta,7\beta;15\beta,16\beta$ -Dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona de acuerdo con la reivindicación 1.

7. Pregn-4-eno-21,17-carbolactonas de acuerdo con la reivindicación 1, a saber

30 11β -cloro- $6\beta,7\beta;15\beta,16\beta$ -dimetilen-3-oxo-17-pregna-4-eno-21,17 β -carbolactona
 $6\beta,7\beta;15\beta,16\beta$ -dimetilen- 11β -fluoro-3-oxo-17-pregna-4-eno-21,17 β -carbolactona
 $6\alpha,7\alpha;15\beta,16\beta$ -dimetilen- 11β -fluoro-3-oxo-17-pregna-4-eno-21,17 β -carbolactona.

8. Preparados farmacéuticos que contienen por lo menos un compuesto de la fórmula general I de acuerdo con la reivindicación 1 así como un vehículo farmacéuticamente inocuo.

35 9. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 8, que contienen la $6\beta,7\beta;15\beta,16\beta$ -dimetilen-3-oxo-17-pregna-4,9(11)-dieno-21,17 β -carbolactona.

40 10. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 8, que contienen la $6\beta,7\beta;15\beta,16\beta$ -dimetilen- 11β -fluoro-3-oxo-17-pregna-4-eno-21,17 β -carbolactona.

11. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 8, 9 ó 10 que contienen además por lo menos un estrógeno.

45 12. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 11, que contienen etinil-estradiol.

13. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 11, que contienen un estrógeno natural.

14. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 13, que contienen estradiol.

50 15. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 13, que contienen valerato de estradiol.

16. Preparados farmacéuticos de acuerdo con la reivindicación 13, que contienen por lo menos un estrógeno conjugado.

17. La 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona como compuesto de partida para la preparación de los compuestos de la fórmula general I.

5 18. Procedimiento para la preparación de 11 α -hidroxi-15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona, caracterizado porque la 15 β ,16 β -metilen-androst-4-eno-3,17-diona se hidroxila en un recipiente de fermentación con microorganismos de las especies *Absidia* sp., *Acremonium* sp., *Ascochyta* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Beauveria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Caldariomyces* sp., *Calonectria* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Gibberella* sp., *Gloeosporium* sp., *Glomerella* sp., *Gnomonia* sp., *Haplosporella* sp., *Helicostylum* sp., *Helminthosporium* sp., *Metarhizium* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp., *Sporotrichum* sp.,
10 *Syncephalastrum* sp. y *Wojnowicia* sp.

19. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 18, caracterizado porque se hidroxila con *Absidia orchidis*, *Absidia coerulea*, *Acremonium strictum*, *Ascochyta clematidina*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fischeri*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus malignus*, *Aspergillus melleus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus varicolor*, *Bacillus megaterium*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria tenella*, *Botryodiplodia malorum*, *Caldariomyces fumago*, *Calonectria decora*, *Colletotrichum phomoides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gibberella zeae*, *Glomerella cingulata*, *Gloeosporium fructigenum*, *Gloeosporium higgensianum*, *Gloeosporium kaki*, *Gloeosporium lacticolor*, *Gloeosporium olivarium*, *Glomerella fusaroides*, *Gnomonia cingulata*, *Haplosporella hesperedica*, *Helminthosporium* sp., *Helicostylum piriforme*,
15 *Metarhizium anisopliae*, *Mucor plumbeus*, *Mucor spinosus*, *Nigrospora sphaerica*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus cohnii*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus japonicus*, *Rhizopus kazaensis*, *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus shanghaiensis*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus tritici*, *Sporotrichum sulfurescens*, *Syncephalastrum racemosum*, *Wojnowicia graminis* y *Wojnowicia hirta*.

20. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizado porque se hidroxila con *Absidia orchidis* (ATCC 6647), *Acremonium strictum* (NRRL 5759), *Ascochyta clematidina* (CBS), *Aspergillus alliaceus* (ATCC 10060), *Aspergillus awamori* (CBS), *Aspergillus fischeri* (ATCC 1020), *Aspergillus malignus* (IMI 16061), *Aspergillus melleus* (CBS), *Aspergillus nidulans* (ATCC 11267), *Aspergillus niger* (ATCC 9142, ATCC 11394), *Aspergillus ochraceus* (NRRL405, NRRL 410, CBS 13252, ATCC 46504), *Aspergillus varicolor* (ATCC 10067), *Bacillus megaterium* (ATCC 13368), *Beauveria bassiana* (IFO 5838, ATCC 13144, IFO 4848, CBS 11025, CBS 12736, ATCC 7159), *Botryodiplodia malorum* (CBS 13450), *Caldariomyces fumago* (ATCC 16373), *Calonectria decora* (ATCC 14767), *Curvularia lunata* (IX 3, NRRL 2380), *Fusarium solani* (ATCC 12823), *Fusarium oxysporum* (ATCC 7808), *Gibberella zeae* (CBS 4474), *Glomerella cingulata* (ATCC 12097, ATCC 10534, CBS 23849, CBS 23749, ATCC 16646, IFO 6459, IFO 6425, IFO 6470, ATCC 15093, ATCC 10529, IFO 5257, ATCC 56596, ATCC 64682), *Glomerella fusaroides* (ATCC 9552), *Gnomonia cingulata* (CBS 15226), *Haplosporella hesperedica* (CBS 20837), *Helicostylum piriforme* (ATCC 8992), *Helminthosporium* sp. (NRRL 4671), *Metarhizium anisopliae* (IFO 5940), *Mucor plumbeus* (CBS 29563), *Nigrospora sphaerica* (ATCC 12772), *Rhizopus arrhizus* (ATCC 11145), *Rhizopus oryzae* (ATCC 4858, ATCC 34102, CBS 32947), *Rhizopus stolonifer* (ATCC 15441), *Syncephalastrum racemosum* (IFO 4827) y *Wojnowicia graminis* (CBS 89168).
25
30
35