

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **237764**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426111**

(22) Data zgłoszenia: **28.06.2018**

(51) Int. Cl.

C07J 9/00 (2006.01)

C07J 5/00 (2006.01)

C07D 233/58 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

(54) **Steroidowa sól imidazoliowa, sposoby jej wytwarzania oraz jej zastosowania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
02.01.2020 BUP 01/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
31.05.2021 WUP 11/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU,
Białystok, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**AGNIESZKA HRYNIEWICKA, Kleosin, PL
JACEK WITOLD MORZYCKI, Białystok, PL
TOMASZ HAUSCHILD, Białystok, PL
MARTA MALINOWSKA, Białystok, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Monika Kalinowska

PL 237764 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest steroidowa sól imidazoliowa, a także sposoby jej wytwarzania i jej zastosowania jako substancji aktywnej w preparatach o właściwościach bakteriobójczych i grzybobójczych.

Sole imidazoliowe są pochodnymi imidazolu, w których obydwa atomy azotu są podstawione grupami alkilowymi lub aryłowymi (S. N. Riduan, Y. Zhang, Chem. Soc. Rev. 2013, 42, 9055–9070). Są to związki często wykorzystywane w syntezie organicznej m.in. jako cieczy jonowe (Y. G. Zhang, J. Y. G. Chan, Energy Environ. Sci. 2010, 3, 408–417) lub prekursorzy *N*-heterocyklicznych karbenów (N. Marion, S. Diez-Gonzalez, S. P. Nolan, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 46, 2988–3000). Niesymetrycznie podstawione sole mogą być otrzymywane poprzez deprotonowanie imidazolu silną zasadą i reakcję powstałego anionu amidkowego z halogenkiem alkilowym, aryłowym lub benzyłowym w celu utworzenia 1-podstawionego imidazolu. Drugie alkilowanie z odpowiednim halogenkiem pozwala na otrzymanie pożądanej soli (J. S. Wilkes, J. A. Levisky, R. A. Wilson, C. L. Hussey, Inorg. Chem. 1982, 21, 1263–1264). Symetrycznie podstawione sole imidazoliowe mogą być otrzymywane z diimin pochodnych gliksalu w wyniku reakcji z aldehydami (A. J. Arduengo, R. Krafczyk, R. Schmutzler, H. A. Craig, J. R. Goerlich, W. J. Marshall, M. Unverzagt, Tetrahedron 1999, 55, 14523–14534).

Sole imidazoliowe wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznych. Na uwagę zasługuje ich działanie przeciwbakteryjne, związane z tym, że w fizjologicznym pH kationowe sole są elektrostatycznie przyciągane przez naładowaną ujemnie ścianę komórkową bakterii, która zawiera 70% grup fosfatydyloetanoloaminowych. Hydrofobowe fragmenty soli niszczą błonę komórkową, prowadząc do wycieku substancji wewnątrzkomórkowych i ostatecznie do śmierci komórki (S. N. Riduan, Y. Zhang, Chem. Soc. Rev. 2013, 42, 9055–9070).

Do tej pory otrzymano wiele soli imidazoliowych charakteryzujących się różnorodną aktywnością biologiczną. Opisane sole:

- wykazują aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą (D. DembereInyamba, K.-S. Kim, S. Choi, S.-Y. Park, H. Lee, C.-J. Kim, I.-D. Yoo, Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 853–857, J. Pernak, K. Sobaszekiewicz, I. Mirska, Green Chem. 2003, 5, 52–56; J. Pernak, I. Goc, I. Mirska, Green Chem. 2004, 6, 323–329; M. T. Garcia, I. Ribosa, L. Perez, A. Manresa, F. Comelles, Langmuir 2013, 29, 2536–2545, S. Morrissey, B. Pegot, D. Coleman, M. T. Garcia, D. Ferguson, B. Quilty N. Gathergood, Green Chem. 2009, 11, 475–483; R. T. W. Huang, K. C. Peng, H. N. Shih, G. H. Lin, T. F. Chang, S. J. Hsu, T. S. T. Hsu, L. J. B. Lin, Soft Matter 2011, 7, 8392–8400, P. Borowiecki, M. Milner-Krawczyk, D. Brzezińska, M. Wielechowska, J. Pleniewicz, Eur. J. Org. Chem. 2013, 712–720, D. Coleman, M. Špulák, M. T. Garcia, N. Gathergood, Green Chem. 2012, 14, 1350–1356, D. Hodyna, V. Kovalishyn, S. Rogalsky, V. Blagodatnyi, K. Petko, L. Metelytsia, Chem. Biol. Drug Des. 2016, 88, 422–433, A. Reinhardt, M. Horn, J. P. Schmauck, A. Bröhl, R. Giernoth, C. Oelkrug, A. Schubert, I. Neundorff, Bioconj. Chem. 2014, 25, 2166–2174, US20140212374A1, US3991202A, US3911133A, US7638636B2, EP0632040A1, CA1049535A, EP0392326A1, EP0072623A1, CA1155853A, EP0829478A3, PL186744B1);
- wykazują aktywność przeciwnowotworową (X. D. Yang, X. H. Zeng, Y. L. Zhang, C. Qing, W. J. Song, L. Li, H. B. Zhang, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009, 19, 1892–1895, X. H. Zeng, X. D. Yang, Y. L. Zhang, C. Qing, H. B. Zhang, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010, 20, 1844–1847, W. J. Song, X. D. Yang, X. H. Zeng, X. L. Xu, G. L. Zhang, H. B. Zhang, RSC Adv. 2012, 2, 4612–4615, F. P. Ballistreri, V. Barresi, P. Benedetti, G. Caltabinao, C. G. Fortuna, M. L. Longo, G. Musumarra, Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 1689–1695, C. G. Fortuna, V. Barresi, G. Berellini, G. Musumarra, Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 4150–4159, C. G. Fortuna, V. Barresi, G. Musumarra, Bioorg. Med. Chem. 2010, 18, 4516–4523, S. V. Malhotra, V. Kumar, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2012, 20, 581–585, B. Gopalan, Z. Ke, C. Zhang, Y. Kng, N.-A. Suhaimi, S. N. Riduan, Y. G. Zhang, L. Zhuo, Lab. Invest. 2011, 91, 744–751, N. K. Kaushik, P. Attri, N. Kaushik, E. H. Choi, Molecules 17, 13727–13739);
- wykazują aktywność antyoksydacyjną i działanie przeciwzapalne (L. Zhao, C. Zhang, L. Zhuo, Y. G. Zhang, J. Y. Ying, J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 12586–12587, Y. Fu, Y. Zhou, S. Zheng, A. Chen, Lab. Invest. 2006, 86, 697–709, C. Zhang, Z. Ding, N.-A. Mohamed Suhaimi, Y. L. Kng, Y. G. Zhang, L. Zhuo, Free Radical Res. 2009, 43, 899–912,

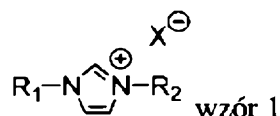
- Z. Ding, Y. L. Kng, H. Yang, Z. Ke, L. Zhuo, *Lab. Invest.* 2011, 91, 752–763, N.-A. M. Suhaimi, L. Zhuo, *Dig. Liver Dis.* 2012, 44, 665–673); oraz
- znajdują zastosowanie w bioinżynierii jako systemy dostarczania leków i genów (W. Dobbs, B. Heinrich, C. Bourgogne, B. Donnio, E. Terazzi, M. E. Bonnet, F. Stock, P. Erbacher, A. L. Bolcato-Bellemin, L. Douce, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 13338–13346, Q.-D. Huang, G.-X. Zhong, Y. Zhang, J. Ren, Y. Fu, J. Zhang, W. Zhu, X.-Q. Yu, *PLoS One* 2011, 6, e23134, Q.-D. Huang, W.-J. Ou, H. Chen, Z.-H. Feng, J.-Y. Wang, J. Zhang, W. Zhu, X.-Q. Yu, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011, 78, 326–335, Q. D. Huang, H. Chen, L. H. Zhou, J. Huang, J. Wu, *Chem. Biol. Drug Des.* 2008, 71, 224–229, Y. Zhang, X. Chen, J. Lan, J. You, L. Chen, *Chem. Biol. Drug Des.* 2009, 74, 282–288) oraz jako biosensory (N. Ahmed, B. Shirinfar, I. Geronimo, K. S. Kim, *Org. Lett.* 2011, 13, 5476–5479, Z. Xu, N. J. Singh, S. K. Kim, D. R. Spring, K. S. Kim, J. Yoon, *Chem. Eur. J.* 2011, 17, 1163–1170, B. Shirinfar, N. Ahmed, Y. S. Park, G.-S. Cho, I. S. Youn, J.-K. Han, H. G. Nam, K. S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 90–93, H. N. Kim, J. Lim, H. N. Lee, J. W. Ryu, M. J. Kim, J. Lee, D.-U. Lee, Y. Kim, S.-J. Kim, K. D. Lee, H.-S. Lee, J. Yoon, *Org. Lett.* 2011, 13, 1314–1317, H. N. Kim, E.-H. Lee, Z. Xe, H.-E. Kim, H.-S. Lee, J.-H. Lee, J. Yoon, *Biomaterials* 2012, 33, 2282–2288).

Znanych jest niewiele połączeń imidazolu ze steroidem. Opisano między innymi:

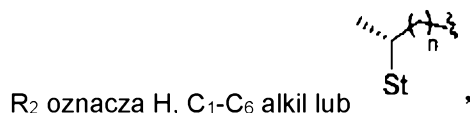
- pochodną pregnanolonu podstawioną imidazolem w pozycji C-21 i jej sól oraz sposób jej syntezy (F. F. Wong, C.-Y. Chen, T.-H. Chen, J.-J. Huang, H.-P. Fang, M.-Y. Yeh, *Steroids* 2006, 71, 77–82);
- pochodną pregnanolonu podstawioną imidazolem w pozycji C-21 o aktywności cytotoksycznej (A. V. Silva-Ortiz, E. Bratoeff, T. Ramirez-Apan, Y. Heuze, J. Soriano, I. Moreno, M. Bravo, L. Bautista, M. Cabeza, *Bioorg. Med. Chem.* 2017, 25, 1600–1607), i wykazującą neuroaktywność (EP2168585A1);
- steroid podstawiony imidazolem w pozycji C-16 oraz jego sól i badanie jego efektu cytotoksycznego (R. Bansal, S. Guleria, S. Thota, S. L. Bodhankar, M. R. Patwardhan, C. Zimmer, R. W. Hartmann, A. L. Harvey, *Steroids* 2012, 77, 621–629), a także jego zastosowanie jako leku blokującego przewodnictwo nerwowo-mięśniowe (H. Hu, Z. Rao, M. Feng, Z. Wu, J. Xu, H. Chen, P. Liu, Y. Xiao, X. Hong, X. Hu, X. Ke, *Steroids* 2015, 96, 103–114);
- steroid podstawiony imidazolem w pozycji C-3 i badanie jego właściwości antybakteryjnych (P. Saikia, P. P. Kaishap, J. Goswami, A. K. Singh, H. P. D. Boruah, S. Gogoi, R. C. Boruah, *Steroids* 2014, 84, 36–45);
- steroid podstawiony imidazolem w pozycji C-3 i jego sól oraz badanie jego właściwości przeciwnowotworowych (CN100425621C);
- steroid podstawiony imidazolem w łańcuchu bocznym w pozycji C-3 poprzez wiązanie amidowe oraz badanie jego zastosowania jako odczynnika do testów radioimmunologicznych (DE2720809A1);
- steroid podstawiony imidazolem w pozycji C-17 jako potencjalny inhibitor 17α -liazy (V. C. O. Njar, G. T. Klus, A. M. H. Brodie, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 2777–2782, US9018198B2);
- pochodną kwasu deoksycholowego podstawioną cząsteczkami imidazolu w pozycjach C-3 i C-12 przez wiązania estrowe jako receptor dla rozpoznawania jonów fluorkowych (M. Chahar, P. S. Pandey, *Tetrahedron* 2008, 64, 6488–6493); oraz
- pochodną androstanu podstawioną imidazolem w pozycjach C-4 α lub C-4 β oraz jej syntezę (X. Ke, H. Hu, K. Zhang, W. Xu, Q. Zhu, L. Wu, X. Hu, *Chem. Commun.* 2009, 1037–1039).

Nie są znane sole imidazoliowe na bazie steroidów wykazujące aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą. Ze względu na duże znaczenie środków o wyżej wymienionych właściwościach, uzasadnione jest poszukiwanie nowych substancji, które działałyby przeciwmikroorganizmowo przy niewielkich stężeniach. Steroidy pełnią w organizmie człowieka ważne funkcje, dlatego też sole zawierające w swojej budowie części steroidowe wydają się być wartościowymi substancjami.

Przedmiotem wynalazku jest steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1



w którym

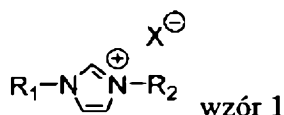


St oznacza pochodne androstanu,

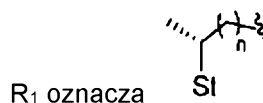
n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1



w którym



R₂ oznacza H lub C₁-C₆ alkil,

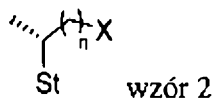
St oznacza pochodne androstanu,

n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

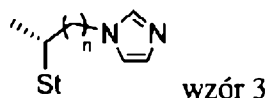
X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I,

obejmujący następujące etapy:

- a) reakcję imidazolu z wodorkiem metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzany jest jon amidkowy, który to jon amidkowy poddawany jest następnie reakcji z halogenkiem steroidowym o wzorze 2:



w którym symbole mają podane powyżej znaczenia, w wyniku której wytwarzany jest *N*-podstawiony steroidem imidazol o wzorze 3:



w którym symbole mają podane powyżej znaczenia, przy czym reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C przy stosunku molowym imidazolu do halogenku steroidowego o wzorze 2 w zakresie od 1:1 do 5:1, oraz

b) reakcję *N*-podstawionego steroidem imidazolu o wzorze 3 otrzymanego w etapie a) z kwasem halogenowodorowym (HX) lub halogenkiem alkilowym lub mieszaniną halogenku alkilowego i halogenku metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzana jest steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1.

Korzystnie, reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 0 do 25°C, a korzystniej w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.

Korzystnie, reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 1 godziny, a korzystniej przez 30 minut.

Korzystnie, wodorkiem metalu alkalicznego jest wodorek sodu.

Korzystnie, reakcję w etapie a) pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu od 10 do 24 godzin, a korzystniej przez 16 godzin.

Korzystnie, reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego oraz pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w rozpuszczalniku aprotycznym, korzystnie w tetrahydrofuranie.

Korzystnie, stosunek molowy imidazolu do halogenu steroidowego o wzorze 2 w etapie a) wynosi 5:1.

Korzystnie, reakcję w etapie b) prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 60°C, a korzystniej w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.

Korzystnie, reakcję w etapie b) prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 48 godzin, a korzystniej przez 48 godzin.

Korzystnie, reakcję w etapie b) prowadzi się w rozpuszczalniku.

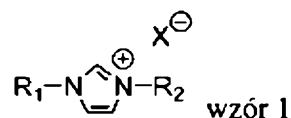
Korzystnie, rozpuszczalnikiem jest metanol lub chlorek metylenu.

Korzystnie, rozpuszczalnikiem jest halogenek alkilowy stosowany jako substrat reakcji.

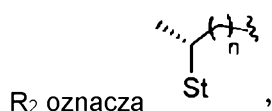
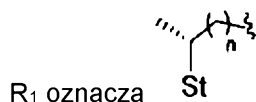
Korzystnie, stosunek *N*-podstawionego steroidu imidazolu o wzorze 3 do halogenu alkilowego lub do kwasu halogenowodorowego (HX) w etapie b) jest w zakresie od 1:9 do 1:123.

Korzystnie, stosunek *N*-podstawionego steroidu imidazolu o wzorze 3 do halogenu metalu alkalicznego w przypadku stosowania mieszaniny halogenu alkilowego i halogenu metalu alkalicznego jest w zakresie od 1:1,2 do 1:3, a korzystniej wynosi on 1:2.

Ponadto, przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1



w którym

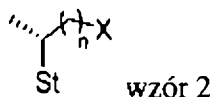


St oznacza pochodne androstanu,

n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I,

obejmujący reakcję imidazolu z wodorkiem metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzany jest jon amidkowy, który to jon amidkowy poddawany jest następnie reakcji z halogenkiem steroidowym o wzorze 2



w którym symbole mają powyżej podane znaczenia, w wyniku której wytwarzana jest steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1,

przy czym reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 66°C przy stosunku molowym imidazolu do halogenu steroidowego o wzorze 2 w zakresie od 1:2 do 1:3.

Korzystnie, reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 0 do 25°C, a korzystniej w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.

Korzystnie, reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 1 godziny, a korzystniej przez 30 minut.

Korzystnie, wodorkiem metalu alkalicznego jest wodorek sodu.

Korzystnie, reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze 66°C.

Korzystnie, reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu od 10 godzin do 16 godzin, a korzystniej przez 16 godzin.

Korzystnie, reakcje pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego oraz pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w rozpuszczalniku aprotycznym, korzystnie w tetrahydrofuranie.

Korzystnie, stosunek pomiędzy imidazolem a halogenkiem steroidowym o wzorze 2 wynosi 1:2.

Przedmiotem wynalazku jest również steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1 określonym powyżej, do zastosowania jako środek bakteriobójczy oraz jako środek przeciwgrzybiczy.

Prezentowane sole wykazując działanie przeciwbakteryjne, zwłaszcza w odniesieniu do szczepów Gram(+) (*Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus*) oraz przeciwgrzybicze (*Candida albicans*), mogą stanowić więc alternatywę dla handlowych antybiotyków stosowanych w antybiotykoterapii i środków ochrony roślin.

Stosowane w opisie określenie „temperatura pokojowa” oznacza temperaturę mieszczącą się w zakresie od 15 do 25°C.

Jak wskazano powyżej *n* oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 i wskazuje na liczbę grup metylenowych w łańcuchu bocznym.

Skrót „HX” oznacza kwas halogenowodorowy, w którym X oznacza chlor, brom lub jod.

Określenie „halogenek alkilowy” oznacza halogenek alkilowy, w którym alkil zawiera od 1 do 6 atomów węgla, a jego przykłady obejmują na przykład jodek metylu, jodek etylu, bromek pentylu, bromek heksylu, itd.

Określenie „C₁-C₆ alkil” oznacza alkil zawierający od 1 do 6 atomów węgla, a jego przykłady obejmują metyl, etyl, pentyl, heksyl, itd.

Określenie „przeciwjon” oznacza anion występujący w soli. Przykłady przeciwjonu obejmują aniony chlorkowe (Cl⁻), bromkowe (Br⁻), jodkowe (I⁻), azydowe (N₃⁻) itd.

THF oznacza tetrahydrofuran.

Sól imidazoliowa o wzorze 1, w którym R₂ oznacza atom wodoru albo alkil, otrzymywana jest z odpowiednich halogenków steroidowych o wzorze 2 przez produkt pośredni – imidazol *N*-podstawiony steroidem o wzorze 3.

W pierwszej kolejności otrzymywany jest *N*-podstawiony steroidem imidazol wzorze 3 jako produkt pośredni. Reakcję prowadzi się pomiędzy halogenkiem steroidowym o wzorze 2 i anionem amidkowym generowanym *in situ* z imidazolu i wodorku metalu alkalicznego, np. wodorku sodu.

N-podstawiony steroidem imidazol o wzorze 3 poddawany jest następnie reakcji z kwasem halogenowodorowym (HX), w przypadku gdy R₂ we wzorze 1 oznacza atom wodoru, lub z odpowiednim handlowo dostępnym halogenkiem alkilowym lub mieszaniną halogenku alkilowego i halogenku metalu alkalicznego, w przypadku gdy R₂ we wzorze 1 oznacza alkil. Halogenek alkilowy jest stosowany jako reagent lub jako reagent i jednocześnie rozpuszczalnik bez dodatku innego rozpuszczalnika w przypadku rozpuszczalnych w nim substratów. W innych przypadkach dodaje się rozpuszczalnik np. taki jak chlorek metylenu lub metanol. Reakcję zabezpiecza się przed dostępem światła.

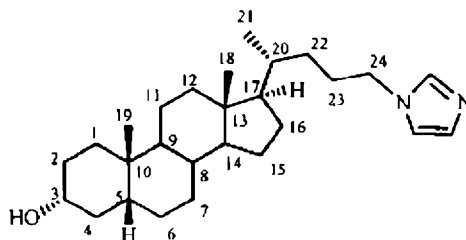


Sól imidazoliowa o wzorze 1, w którym R₂ oznacza  jest syntezowana również za pomocą reakcji halogenku steroidowego o wzorze 2 z anionem amidkowym generowanym *in situ* z imidazolu i wodorku metalu alkalicznego. Jednakże w tym przypadku reakcja nie przebiega przez produkt pośredni, tj. *N*-podstawiony steroidem imidazol o wzorze 3. Reakcję prowadzi się w rozpuszczalniku, korzystnie w THF i zabezpiecza się ją przed dostępem światła.

Sposób oczyszczania obu otrzymanych soli polega na odparowaniu rozpuszczalnika na wyparce, rozpuszczeniu suchej pozostałości w niewielkiej ilości chlorku metylenu, wytrąceniu soli eterem dietylowym i odsączeniu pod zmniejszonym ciśnieniem.

Sposób wytwarzania *N*-podstawionych steroidem imidazoli będących produktem pośrednim w syntezie soli imidazoliowej według wynalazku ilustrują następujące przykłady:

P r z y k ł a d 1. Otrzymywanie 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu z 3 α -hydroksy-24-jodo-5 β -cholanu

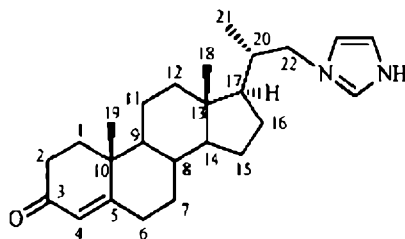


Do roztworu imidazolu (144 mg, 2.1 mmol) w bezwodnym THF (3 ml) dodano wodorek sodu (84 mg, 60% zawiesiny NaH w oleju mineralnym, 2.1 mmol). Anion amidkowy generowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano roztwór 3 α -hydroksy-24-jodo-5 β -cholanu (200 mg, 0.42 mmol) w THF (5 ml). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 16 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano wodę (20 ml) i mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 15 ml). Warstwę organiczną przemyto solanką (2 x 15 ml) oraz wodą (15 ml), osuszono nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, odsączono i odparowano. Otrzymano biały osad z ilościową wydajnością (175 mg).

W innym przykładzie wykonania powyższej reakcji, anion amidkowy generowano 1 godzinę w temperaturze 0°C stosując imidazol (86 mg, 1.26 mmol) oraz NaH (50 mg; 60% zawiesina, 1.26 mmol), a po dodaniu 3 α -hydroksy-24-jodo-5 β -cholanu (200 mg, 0.42 mmol) mieszaninę reakcyjną mieszano przez 24 godziny w temperaturze pokojowej uzyskując produkt z 67% wydajnością (116 mg).

24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -ol (LA): T.t. = 163–165°C; IR (ATR)_v = 3104, 2927, 2852, 1506, 1445, 1363, 1067 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 7.48 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 3.83 (m, 2H), 3.62 (m, 1H), 0.91 (s, 3H), 0.89 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.63 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 137.0 (CH), 129.2 (CH), 118.7 (CH), 71.6 (CH), 56.4 (CH), 55.9 (CH), 47.5 (CH₂), 42.7 (C), 42.0 (CH), 40.3 (CH), 40.1 (CH₂), 36.4 (CH₂), 35.8 (CH), 35.3 (CH), 34.5 (C), 32.7 (CH₂), 30.5 (CH₂), 29.6 (CH₂), 28.2 (CH₂), 27.6 (CH₂), 27.1 (CH₂), 26.4 (CH₂), 24.1 (CH₂), 23.3 (CH₃), 20.8 (CH₂), 18.5 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS *m/z*: 413 (MH⁺).

P r z y k ł a d 2. Otrzymywanie 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu z 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu



Do roztworu imidazolu (155 mg, 2.3 mmol) w bezwodnym THF (3 ml) dodano wodorek sodu (92 mg, 60% zawiesiny NaH w oleju mineralnym, 2.3 mmol). Anion amidkowy generowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano roztwór 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (200 mg, 0.45 mmol) w THF (5 ml). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 16 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano wodę (20 ml) i mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 15 ml). Warstwę organiczną przemyto solanką (2 x 15 ml) oraz wodą (15 ml), osuszono nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, odsączono i odparowano. Produkt oczyszczono chromatograficznie (heksan – octan etylu, 1:1 – odzyskany nieprzereagowany substrat, następnie chlorek metylenu – metanol, 12:1) uzyskując białe ciało stałe z 53% wydajnością (91 mg).

W innym przykładzie wykonania powyższej reakcji, anion amidkowy generowano 45 minut w temperaturze 0°C stosując imidazol (31 mg, 0.45 mmol) oraz NaH (18 mg; 60% zawiesina, 0.45 mmol), a po dodaniu 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (200 mg, 0.45 mmol) mieszaninę reakcyjną mieszano przez 10 godzin w temperaturze pokojowej uzyskując produkt z 40% wydajnością (69 mg).

22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-on (KC): T.t. = 176–177°C; IR (ATR) ν = 2935, 2864, 1668, 1614, 1506, 1445, 1378, 1228 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 7.41 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.71 (s, 1H), 4.00 (dd, J = 13.8, 3.6 Hz, 1H), 3.52 (dd, J = 13.8, 9.3 Hz, 1H), 1.17 (s, 3H), 0.84 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.75 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 199.4 (C), 171.1 (C), 137.7 (CH), 129.2 (CH), 123.8 (CH), 119.3 (CH), 55.5 (CH), 53.6 (CH₂), 53.5 (CH), 52.7 (CH), 42.6 (C), 39.3 (CH₂), 38.5 (CH), 38.4 (C), 35.6 (CH₂), 35.5 (CH), 33.9 (CH₂), 32.8 (CH₂), 31.9 (CH₂), 28.2 (CH₂), 24.2 (CH₂), 20.9 (CH₂), 17.3 (CH₃), 16.9 (CH₃), 11.9 (CH₃) ppm; ESI-MS m/z : 381 (MH⁺).

Sposób wytwarzania soli imidazoliowej podstawionej cząsteczką steroidu, według wynalazku, ilustrują następujące przykłady:

Przykład 3. Otrzymywanie jodku *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-metyloimidazoliowego z 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu

Do roztworu 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) dodano jodek metylu (0.5 ml, 8 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie odparowano rozpuszczalnik i nadmiar jodku metylu, pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 83% wydajnością (55 mg).

W innym przykładzie wykonania, powyższą reakcję prowadzono przez 24 godziny w temperaturze 40°C uzyskując produkt z 78% wydajnością (52 mg).

Jodek *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-metyloimidazoliowy (LA_Me): T.t. = 179–181°C; IR (ATR) ν = 3342, 2927, 2861, 1555, 1444, 1370, 1156, 1031 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 10.12 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 4.29 (brs, 2H), 4.13 (s, 3H), 3.62 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.63 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 136.6 (CH), 123.7 (CH), 122.0 (CH), 71.6 (CH), 56.3 (CH), 55.7 (CH), 50.6 (CH₂), 42.6 (C), 41.9 (CH), 40.3 (CH), 40.0 (CH₂), 37.1 (CH₃), 36.3 (CH₂), 35.7 (CH), 35.3 (CH), 34.4 (C), 32.2 (CH₂), 30.4 (CH₂), 30.3 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.1 (CH₂), 27.0 (CH₂), 26.3 (CH₂), 24.1 (CH₂), 23.3 (CH₃), 20.7 (CH₂), 18.6 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS m/z : 427 (M-I⁺).

Przykład 4. Otrzymywanie jodku *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-etyloimidazoliowego z 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu

Do roztworu 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) dodano jodek etylu (0.5 ml, 6.3 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie odparowano rozpuszczalnik i nadmiar jodku etylu, pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 64% wydajnością (44 mg).

Jodek *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-etyloimidazoliowy (LA_Et): T.t. = 176–178°C; IR (ATR) ν = 3380, 2920, 2858, 1561, 1444, 1378, 1166, 1035 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 10.14 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 4.45 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 4.30 (brs, 2H), 3.62 (brs, 1H), 1.63 (brs, 3H), 0.90 (brs, 6H), 0.62 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 136.1 (CH), 122.0 (2CH), 71.6 (CH), 56.4 (CH), 55.7 (CH), 50.5 (CH₂), 45.4 (CH₂), 42.6 (C), 42.0 (CH), 40.3 (CH), 40.0 (CH₂), 36.3 (CH₂), 35.7 (CH), 35.3 (CH), 34.5 (C), 32.2 (CH₂), 30.5 (CH₂), 30.4 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.1 (CH₂), 27.0 (CH₂), 26.3 (CH₂), 24.1 (CH₂), 23.3 (CH₃), 20.7 (CH₂), 18.6 (CH₃), 15.7 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS m/z : 441 (M-I⁺).

Przykład 5. Otrzymywanie jodku *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-pentyloimidazoliowego z 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu

Do roztworu 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) dodano bromek pentylu (0.5 ml, 4 mmol) oraz jodek sodu (36 mg, 0.24 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie mieszaninę reakcyjną oddzielono od nieorganicznego osadu, a przesącz odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 48% wydajnością (35 mg).

W innym przykładzie wykonania, powyższą reakcję prowadzono z zastosowaniem 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol), bromku pentyli (0.5 ml, 4 mmol) oraz jodku sodu (22 mg, 0.14 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) przez 24 godziny w temperaturze 60°C uzyskując produkt z 30% wydajnością (22 mg).

Jodek *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-pentyloimidazoliowy (LA_Pen): T.t. = 144°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3324, 2925, 2859, 1561, 1448, 1374, 1161, 1037 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 2°C, TMS) δ 10.37 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 4.35 (m, 4H), 3.61 (brs, 1H), 0.89 (brs, 6H), 0.61 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 137.2 (CH), 121.9 (CH), 121.7 (CH), 71.6 (CH), 56.4 (CH), 55.8 (CH), 50.4 (CH₂), 50.0 (CH₂), 42.6 (C), 42.0 (CH), 40.3 (CH), 40.1 (CH₂), 36.3 (CH₂), 35.7 (CH), 35.29 (CH), 35.27 (CH₂), 34.5 (C), 32.2 (CH₂), 30.4 (CH₂), 30.0 (CH₂), 28.3 (CH₂), 28.2 (CH₂), 27.1 (CH₂), 27.0 (CH₂), 26.3 (CH₂), 24.1 (CH₂), 23.3 (CH₃), 22.0 (CH₂), 20.7 (CH₂), 18.5 (CH₃), 13.8 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS *m/z*: 483 (M-I⁺).

P r z y k ł a d 6. Otrzymywanie jodku *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-heksyloimidazoliowego z 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu

Do roztworu 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) dodano bromek heksyli (0.5 ml, 3.6 mmol) oraz jodek sodu (36 mg, 0.24 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając przed dostępem światła. Następnie mieszaninę reakcyjną oddzielono od nieorganicznego osadu, a przesącz odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 43% wydajnością (32 mg).

W innym przykładzie wykonania, powyższą reakcję prowadzono z zastosowaniem 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol), bromku heksyli (0.5 ml, 3.6 mmol) oraz jodku sodu (54 mg, 0.36 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (1 ml) przez 24 godziny w temperaturze 60°C uzyskując produkt z 28% wydajnością (21 mg).

Jodek *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)-*N'*-heksyloimidazoliowy (LA_Hex): T.t. = 122°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3320, 2924, 2860, 1562, 1441, 1368, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 10.44 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 4.37 (m, 4H), 3.62 (m, 1H), 0.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.62 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 137.3 (CH), 121.8 (CH), 121.7 (CH), 71.6 (CH), 56.4 (CH), 55.8 (CH), 50.5 (CH₂), 50.1 (CH₂), 42.7 (C), 42.0 (CH), 40.3 (CH), 40.1 (CH₂), 36.4 (CH₂), 35.8 (CH), 35.3 (CH), 34.5 (C), 32.2 (CH₂), 31.0 (CH₂), 30.5 (CH₂), 30.2 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.1 (CH₂), 27.0 (CH₂), 26.4 (CH₂), 25.8 (CH₂), 24.1 (CH₂), 23.3 (CH₃), 22.3 (CH₂), 20.7 (CH₂), 18.6 (CH₃), 13.9 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS *m/z*: 497 (M-I⁺).

P r z y k ł a d 7. Otrzymywanie chlorku *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)imidazoliowego z 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu

Do roztworu 24-(*N*-imidazolo)-5 β -cholan-3 α -olu (50 mg, 0.12 mmol) w metanolu (2 ml) dodano kwas solny (0.1 ml, 1.2 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 0.5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano rozpuszczalnik. Suchą pozostałość rozpuszczono w metanolu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w MeOH i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól z 89% wydajnością (48 mg).

Chlorek *N*-(3 α -hydroksy-5 β -cholan-24-ylo)imidazoliowy (LA_H): T.t. = 244°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3354, 2920, 1572, 1448, 1373, 1280, 1066 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 8.98 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 4.23 (m, 2H), 3.50 (m, 1H), 0.97 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (s, 3H), 0.69 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 136.3 (CH), 123.3 (CH), 121.4 (CH), 72.4 (CH), 57.9 (CH), 57.3 (CH), 51.0 (CH₂), 43.9 (C), 43.5 (CH), 41.9 (CH), 41.5 (CH₂), 37.2 (CH), 37.1 (CH₂), 36.7 (CH), 36.5 (CH₂), 35.6 (C), 33.5 (CH₂), 31.2 (CH₂), 29.3 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.9 (CH₂), 27.6 (CH₂), 25.2 (CH₂), 23.9 (CH₃), 21.9 (CH₂), 19.0 (CH₃), 12.5 (CH₃) ppm; ESI-MS *m/z*: 413 (M-Cl⁺).

P r z y k ł a d 8. Otrzymywanie jodku *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-metyloimidazoliowego z 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (50 mg, 0.13 mmol) dodano jodek metyli (1 ml, 16 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie odparowano nadmiar jodku metyli, pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml)

i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH_2Cl_2 i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z ilościową wydajnością (68 mg).

Jodek *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-metyloimidazoliowy (KC_Me): T.t. = 223–225°C; IR (ATR) ν = 3418, 2933, 1666, 1610, 1575, 1446, 1383, 1170 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C, TMS) δ 10.07 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 5.69 (s, 1H), 4.34 (dd, J = 13.6, 3.6 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 4.00 (dd, J = 13.6, 9.7 Hz, 1H), 1.16 (s, 3H), 0.96 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.76 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 199.4 (C), 171.2 (C), 137.2 (CH), 123.7 (CH), 123.6 (CH), 122.5 (CH), 55.5 (CH_2), 55.4 (CH), 53.4 (CH), 53.2 (CH), 42.8 (C), 39.2 (CH_2), 38.4 (C), 37.5 (CH), 37.0 (CH_3), 35.6 (CH_2), 35.4 (CH), 33.9 (CH_2), 32.7 (CH_2), 31.8 (CH_2), 28.1 (CH_2), 24.1 (CH_2), 20.8 (CH_2), 17.3 (CH_3), 16.7 (CH_3), 12.1 (CH_3) ppm; ESI-MS m/z : 395 (M^+).

Przykład 9. Otrzymywanie jodku *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-etyloimidazoliowego z 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (50 mg, 0.13 mmol) dodano jodek etylu (1 ml, 12.5 mmol) w atmosferze argonu i zabezpieczono przed dostępem światła. Mieszaninę reakcyjną mieszało przez 48 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano nadmiar jodku etylu, pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH_2Cl_2 i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 90% wydajnością (63 mg).

Jodek *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-etyloimidazoliowy (KC_Et): T.t. = 151–152°C; IR (ATR) ν = 3440, 2935, 1661, 1561, 1445, 1352, 1164 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C, TMS) δ 10.31 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 4.47 (q, J = 13 Hz, 2H), 4.39 (dd, J = 13.6, 3.4 Hz, 1H), 4.01 (dd, J = 13.5, 9.9 Hz, 1H), 1.63 (t, 3H, J = 7.3 Hz), 1.18 (s, 3H), 0.94 (d, 3H, J = 6.4 Hz), 0.79 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 199.2 (C), 171.1 (C), 136.2 (CH), 123.5 (CH), 122.6 (CH), 122.0 (CH), 55.2 (CH_2), 55.2 (CH), 53.3 (CH), 53.1 (CH), 45.2 (CH_2), 42.6 (C), 39.0 (C), 38.3 (CH_2), 37.3 (CH), 35.4 (CH_2), 35.2 (CH), 33.7 (CH_2), 32.5 (CH_2), 31.6 (CH_2), 27.8 (CH_2), 24.0 (CH_2), 20.7 (CH_2), 17.1 (CH_3), 16.4 (CH_3), 15.0 (CH_3), 12.0 (CH_3) ppm; ESI-MS m/z : 409 (M^+).

Przykład 10. Otrzymywanie jodku *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-pentyloimidazoliowego z 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do roztworu 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (50 mg, 0.13 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (0.5 ml) dodano bromek pentylu (1 ml, 8 mmol) oraz jodek sodu (39 mg, 0.26 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszało przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie mieszaninę reakcyjną oddzielono od nieorganicznego osadu, a przesącz odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH_2Cl_2 i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 78% wydajnością (59 mg).

Jodek *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-pentyloimidazoliowy (KC_Pen): T.t. = 138°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3433, 2933, 2853, 1663, 1613, 1561, 1448, 1378, 1163 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C, TMS) δ 10.44 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.35 (m, 3H), 4.04 (m, 1H), 1.15 (s, 3H), 0.88 (m, 7H), 0.75 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 199.4 (C), 171.1 (C), 137.5 (CH), 123.7 (CH), 122.4 (CH), 122.0 (CH), 55.4 (CH), 55.3 (CH_2), 53.4 (CH), 53.3 (CH), 50.0 (CH_2), 42.8 (C), 39.2 (CH_2), 38.4 (C), 37.5 (CH), 35.5 (CH_2), 35.4 (CH), 33.8 (CH_2), 32.7 (CH_2), 31.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 28.1 (CH_2), 27.9 (CH_2), 24.1 (CH_2), 21.9 (CH_2), 20.8 (CH_2), 17.2 (CH_3), 16.5 (CH_3), 13.8 (CH_3), 12.1 (CH_3) ppm; ESI-MS m/z : 451 (M^+).

Przykład 11. Otrzymywanie jodku *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-ylo)-*N'*-heksyloimidazoliowego z 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do roztworu 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (50 mg, 0.13 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (0.5 ml) dodano bromek heksylu (1 ml, 7 mmol) oraz jodek sodu (39 mg, 0.26 mmol) w atmosferze argonu. Mieszaninę reakcyjną mieszało przez 48 godzin w temperaturze pokojowej zabezpieczając ją przed dostępem światła. Następnie mieszaninę reakcyjną oddzielono od nieorganicznego osadu, a przesącz odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH_2Cl_2 i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól imidazoliową z 42% wydajnością (32 mg).

Jodek *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-yl)-*N*-heksyloimidazoliowy (KC_Hex): T.t. = 135°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3730, 3393, 2933, 2854, 1665, 1559, 1444, 1161 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 10.58 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 4.39 (m, 3H), 4.05 (m, 1H), 1.17 (s, 3H), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.78 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 199.5 (C), 171.1 (C), 137.8 (CH), 123.8 (CH), 122.2 (CH), 121.7 (CH), 55.5 (CH₂), 55.4 (CH), 53.5 (CH), 53.3 (CH), 50.2 (CH₂), 42.8 (C), 39.3 (CH₂), 38.5 (C), 37.6 (CH), 35.6 (CH₂), 35.5 (CH), 33.9 (CH₂), 32.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.0 (CH₂), 30.2 (CH₂), 28.0 (CH₂), 25.8 (CH₂), 24.2 (CH₂), 22.3 (CH₂), 20.9 (CH₂), 17.3 (CH₃), 16.5 (CH₃), 13.9 (CH₃), 12.1 (CH₃) ppm; ESI-MS m/z : 465 (M-I⁺).

Przykład 12. Otrzymywanie bromku *N*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-yl)imidazoliowego z 22-*N*-imidazolo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do roztworu 22-(*N*-imidazolo)-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (50 mg, 0.13 mmol) w metanolu (2 ml) dodano bromowodór (33% roztwór w kwasie octowym; 0.2 ml, 1.1 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 0.5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie odparowano rozpuszczalnik. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól z 90% wydajnością (54 mg).

Bromek AT-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-yl)imidazoliowy (KC_H): T.t. = 134°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 3378, 2932, 1655, 1613, 1574, 1446, 1375, 1089 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 9.45 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 5.67 (s, 1H), 4.34 (d, 1H, J = 10.7 Hz), 4.01 (dd, 1H, J = 13.0, 10.0 Hz), 1.13 (s, 3H), 0.86 (d, 3H, J = 6.2 Hz), 0.73 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 199.4 (C), 171.1 (C), 135.3 (CH), 123.7 (CH), 121.2 (CH), 119.6 (CH), 55.3 (CH), 55.1 (CH₂), 53.4 (CH), 53.2 (CH), 42.7 (C), 39.2 (CH₂), 38.4 (C), 37.6 (CH), 35.5 (CH₂), 35.3 (CH), 33.8 (CH₂), 32.6 (CH₂), 31.7 (CH₂), 27.9 (CH₂), 24.1 (CH₂), 20.8 (CH₂), 17.2 (CH₃), 16.3 (CH₃), 12.0 (CH₃) ppm; ESI-MS m/z : 381 (M-Br⁺).

Przykład 13. Otrzymywanie jodku *bis-N,N'*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-yl)imidazoliowego z 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu

Do roztworu imidazolu (15 mg, 0.22 mmol) w bezwodnym THF (2 ml) dodano wodorek sodu (9 mg, 60% zawiesiny NaH w oleju mineralnym, 0.22 mmol). Anion amidkowy generowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano roztwór 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (200 mg, 0.45 mmol) w THF (3 ml). Reakcję prowadzono przez 16 godzin w temperaturze wrzenia THF (66°C) pod chłodnicą zwrotną zapewniając odpowiednie mieszanie i zabezpieczając przed dostępem światła. Następnie mieszaninę reakcyjną oddzielono od osadu, a przesącz odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (2 ml), a powstałą sól wytrącono eterem dietylowym (10 ml) i odsączono. Proces oczyszczania przez rozpuszczanie w CH₂Cl₂ i strącanie eterem powtórzono jeszcze dwukrotnie. Otrzymano sól z 34% wydajnością (64 mg).

W innym przykładzie wykonania powyższej reakcji, anion amidkowy generowano przez 1 godzinę w temperaturze 0°C stosując imidazol (15 mg, 0.22 mmol) oraz NaH (9 mg; 60% zawiesina, 0.22 mmol), a po dodaniu 22-jodo-23,24-dinorchol-4-en-3-onu (293 mg, 0.66 mmol) mieszaninę reakcyjną mieszano przez 10 godzin w temperaturze pokojowej uzyskując produkt z 15% wydajnością (28 mg).

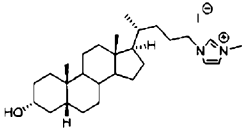
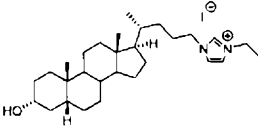
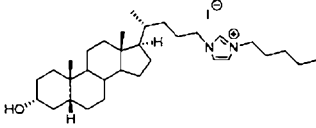
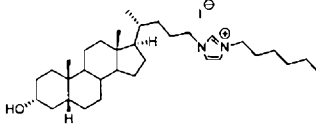
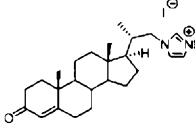
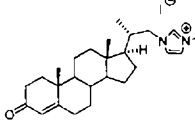
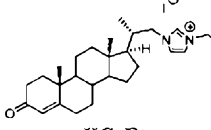
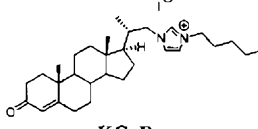
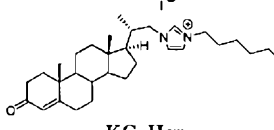
Jodek *bis-N,N'*-(3-okso-23,24-dinorchol-4-en-22-yl)imidazoliowy (KC_KC): T.t. = 287–289°C (z rozkładem); IR (ATR) ν = 2937, 2851, 1681, 1447, 1379, 1233 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS) δ 10.45 (s, 1H), 7.26 (s, 2H), 5.73 (s, 2H), 4.43 (dd, J = 13.6, 3.6 Hz, 2H), 4.04 (dd, J = 13.6, 9.8 Hz, 2H), 1.18 (s, 6H), 0.94 (d, J = 6.4 Hz, 6H), 0.80 (s, 6H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 199.4 (C), 171.1 (C), 137.4 (CH), 123.7 (CH), 122.5 (CH), 55.5 (CH₂), 55.4 (CH), 53.5 (CH), 53.4 (CH), 42.8 (C), 39.3 (CH₂), 38.4 (C), 37.5 (CH), 35.6 (CH₂), 35.4 (CH), 33.9 (CH₂), 32.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 28.0 (CH₂), 24.2 (CH₂), 20.9 (CH₂), 17.3 (CH₃), 16.5 (CH₃), 12.2 (CH₃) ppm, ESI-MS m/z : 693 (M-I⁺).

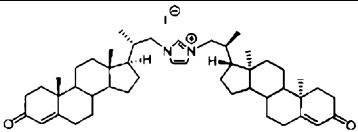
Na drodze modyfikacji powyżej opisanych sposobów można zsyntetyzować również sole imidazoliowe pochodnych cholestanu, pregnanu i cholanu, jak również o innym przeciwionie. Wspomniane powyżej modyfikacje leżą w zakresie umiejętności specjalisty w dziedzinie.

Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze steroidowych soli imidazoliowych oznaczono w stosunku do referencyjnych szczepów bakterii: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14579 oraz grzyba drożdżopodobnego: *Candida albicans* ATCC 10231, przez ustalenie wartości MIC (minimalnego stężenia hamującego) metodą seryjnych rozcieńczeń w mikropłytkach 96-dołkowych. Za wartość MIC przyjęto najmniejsze stężenie badanego związku, przy którym nie stwierdzono wzrostu w trakcie 24 godz. inkubacji w temp. 37°C (Tabela 1 i 2).

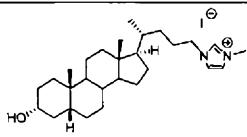
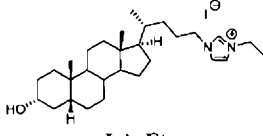
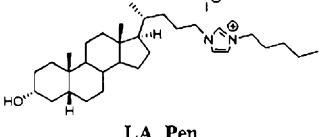
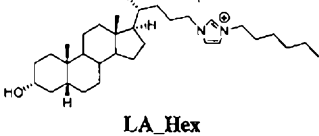
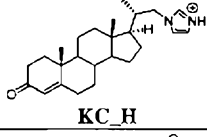
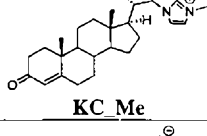
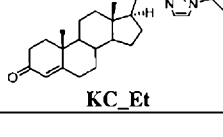
Działanie przeciwbakteryjne, zwłaszcza w odniesieniu do szczepów Gram (+) i przeciwgrzybicze (*Candida albicans*) niektórych związków jest porównywalne z aktywnością antybiotyków stosowanych w antybiotykoterapii (Tabela 1 i 2)

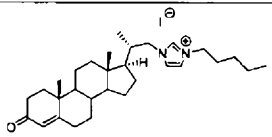
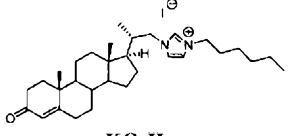
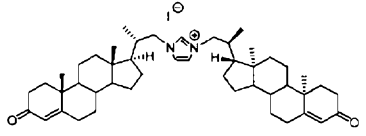
T a b e l a 1. Właściwości przeciwbakteryjne steroidowych soli imidazoliowych – wartości MIC (pg/ml)

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
 LA_Me	4	32	16	≥512
 LA_Et	2	16	16	≥512
 LA_Pen	1	4	16	≥512
 LA_Hex	0.5	2	16	≥512
 KC_H	8	16	32	≥512
 KC_Me	32	64	16	≥512
 KC_Et	16	32	8	≥512
 KC_Pen	4	4	4	≥512
 KC_Hex	2	2	4	≥512

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
 KC_KC	1	1	64	≥512
Antybiotyki				
Kanamycyna	1-4		1-4	-
Ampicilina	0.25-1		2-8	-
Cefoperazon	1-4		0.12-0.5	2-8

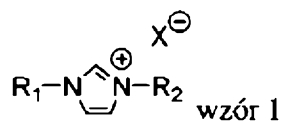
T a b e l a 2. Właściwości przeciwgrzybicze steroidowych soli imidazoliowych – wartość MIC

	<i>Candida albicans</i>
 LA_Me	0.25
 LA_Et	0.5
 LA_Pen	0.5
 LA_Hex	0.5
 KC_H	8
 KC_Me	2
 KC_Et	1

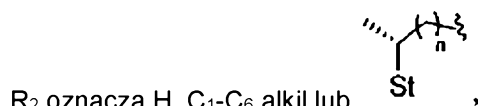
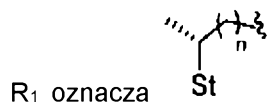
<i>Candida albicans</i>	
 KC_Pen	2
 KC_Hex	1
 KC_KC	2
Antybiotyki	
Flukonazol	0.5
Amfoterycyna B	0.5

Zastrzeżenia patentowe

1. Steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1



w którym

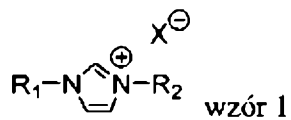


St oznacza pochodne androstanu,

n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I.

2. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1



w którym



R₂ oznacza H lub C₁-C₆ alkil,

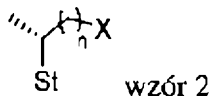
St oznacza pochodne androstanu,

n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

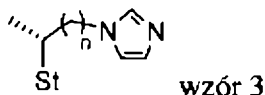
X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I,

znamienny tym, że obejmuje następujące etapy:

- a) reakcję imidazolu z wodorkiem metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzany jest jon amidkowy, który to jon amidkowy poddawany jest następnie reakcji z halogenkiem steroidowym o wzorze 2:



w którym symbole mają podane powyżej znaczenia, w wyniku której wytwarzany jest *N*-podstawiony steroidem imidazol o wzorze 3:

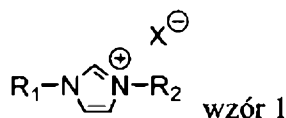


w którym symbole mają podane powyżej znaczenia, przy czym reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C przy stosunku molowym imidazolu do halogenku steroidowego o wzorze 2 w zakresie od 1:1 do 5:1, oraz

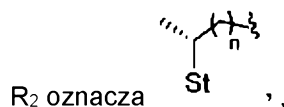
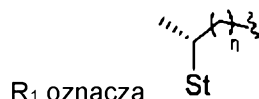
b) reakcję *N*-podstawionego steroidem imidazolu o wzorze 3 otrzymanego w etapie a) z kwasem halogenowodorowym (HX) lub halogenkiem alkilowym lub mieszaniną halogenku alkilowego i halogenku metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzana jest steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1.

3. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 0 do 25°C.
4. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 3, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.
5. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–4, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 1 godziny.
6. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu wynoszący 30 minut.
7. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–6, **znamienny tym**, że wodorkiem metalu alkalicznego jest wodorek sodu.
8. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–7, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu od 10 do 24 godzin.
9. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 8, **znamienny tym**, że reakcję w etapie a) pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu wynoszący 16 godzin.
10. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–9, **znamienny tym**, że reakcje w etapie a) pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego oraz pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w rozpuszczalniku aprotycznym.
11. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 10, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem aprotycznym jest tetrahydrofuran.
12. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–11, **znamienny tym**, że stosunek molowy imidazolu do halogenku steroidowego o wzorze 2 w etapie a) wynosi 5:1.
13. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–12, **znamienny tym**, że reakcję w etapie b) prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 60°C.

14. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 13, **znamienny tym**, że reakcję w etapie b) prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.
15. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–14, **znamienny tym**, że reakcję w etapie b) prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 48 godzin.
16. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 15, **znamienny tym**, że reakcję w etapie b) prowadzi się przez okres czasu wynoszący 48 godzin.
17. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–16, **znamienny tym**, że reakcję w etapie b) prowadzi się w rozpuszczalniku.
18. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 17, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem jest metanol lub chlorek metylenu.
19. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 17, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem jest halogenek alkilowy stosowany jako substrat reakcji.
20. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–19, **znamienny tym**, że stosunek *N*-podstawionego steroidem imidazolu o wzorze 3 do halogenku alkilowego lub do kwasu halogenowodorowego (HX) w etapie b) jest w zakresie od 1:9 do 1:123.
21. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 2–20, **znamienny tym**, że stosunek *N*-podstawionego steroidem imidazolu o wzorze 3 do halogenku metalu alkalicznego w przypadku stosowania mieszaniny halogenku alkilowego i halogenku metalu alkalicznego jest w zakresie od 1:1,2 do 1:3.
22. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 21, **znamienny tym**, że stosunek *N*-podstawionego steroidem imidazolu o wzorze 3 do halogenku metalu alkalicznego w przypadku stosowania mieszaniny halogenku alkilowego i halogenku metalu alkalicznego wynosi 1:2.
23. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1



w którym

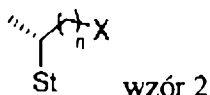


St oznacza pochodne androstanu,

n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 3 oraz

X oznacza przeciwjon wybrany z grupy obejmującej Cl, Br lub I

znamienny tym, że obejmuje reakcję imidazolu z wodorkiem metalu alkalicznego, w wyniku której wytwarzany jest jon amidkowy, który to jon amidkowy poddawany jest następnie reakcji z halogenkiem steroidowym o wzorze 2



w którym symbole mają powyżej podane znaczenia, w wyniku której wytwarzana jest steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1,

przy czym reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 66°C przy stosunku molowym imidazolu do halogenku steroidowego o wzorze 2 w zakresie od 1:2 do 1:3.

24. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 0 do 25°C.
25. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 24, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się w temperaturze w zakresie od 15 do 25°C.
26. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–25, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu od 30 minut do 1 godziny.
27. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 26, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego prowadzi się przez okres czasu wynoszący 30 minut.
28. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–27, **znamienny tym**, że wodorkiem metalu alkalicznego jest wodorek sodu.
29. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–28, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w temperaturze 66°C.
30. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–29, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu od 10 godzin do 16 godzin.
31. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 30, **znamienny tym**, że reakcję pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się przez okres czasu wynoszący 16 godzin.
32. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–31, **znamienny tym**, że reakcje pomiędzy imidazolem i wodorkiem metalu alkalicznego oraz pomiędzy wytworzonym jonem amidkowym i halogenkiem steroidowym o wzorze 2 prowadzi się w rozpuszczalniku aprotycznym.
33. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 32, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem aprotycznym jest tetrahydrofuran.
34. Sposób wytwarzania steroidowej soli imidazoliowej o wzorze 1, według zastrz. 23–33, **znamienny tym**, że stosunek pomiędzy imidazolem a halogenkiem steroidowym o wzorze 2 wynosi 1:2.
35. Steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1 określonym w zastrz. 1, do zastosowania jako środek bakteriobójczy.
36. Steroidowa sól imidazoliowa o wzorze 1 określonym w zastrz. 1, do zastosowania jako środek przeciwgrzybiczy.