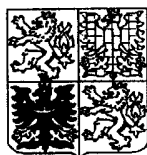


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

288 031

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1994 - 1112

(22) Přihlášeno: 06.11.1992

(30) Právo přednosti:

07.11.1991 GB 1991/9123712

05.05.1992 GB 1992/9209658

(40) Zveřejněno: 15.03.1995

(Věstník č. 3/1995)

(47) Uděleno: 05.02.2001

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 11.04.2001

(Věstník č. 4/2001)

(86) PCT číslo: PCT/EP92/02577

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 93/09093

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.⁷:

C 07 C 401/00

A 61 K 31/593

//(A 61 P 35/00, A 61 P 37/00, A 61 P 19/10)

(73) Majitel patentu:

RESEARCH INSTITUTE FOR MEDICINE AND
CHEMISTRY, Cambridge, MA, US;

(72) Původce vynálezu:

Hesse Robert Henry, Winchester, MA, US;
Reddy Gaddam Subba, Lexington, MA, US;
Setty Sundara Katugam Srinivasasetty, Cambridge, MA,
US;

(74) Zástupce:

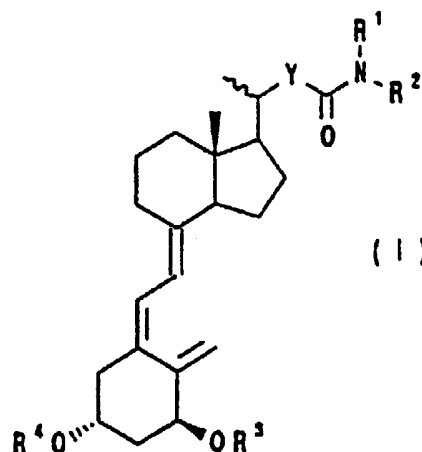
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1,
11000;

(54) Název vynálezu:

**Amidové deriváty vitaminu D, způsob výroby a
farmaceutické prostředky s jejich obsahem**

(57) Anotace:

Deriváty 1 α -hydroxyvitaminu D a jejich 20-epianalogy zahrnují sloučeniny podle vzorce I a odpovídající 5,6-trans izomery, kde Y představuje alkylénovou nebo alkenylovou skupinu, obsahující maximálně 4 uhlíkové atomy; R¹ a R² nezávisle představují vodíkový atom nebo nižší alkylovou nebo cykloalkylovou skupinu, anebo R¹R²N- představuje heterocyklickou skupinu; a R³ a R⁴ nezávisle představují vodíkový atom nebo skupinu chránící kyslík. Aktivní sloučeniny, ve kterých jsou R³ a R⁴ vodíkovými atomy nebo metabolicky nestálými skupinami, chránícími kyslík, vykazují silný účinek na modulaci buněk, ale minimální účinek na metabolismus vápníku.



Amidové deriváty vitaminu D, způsob výroby a farmaceutické prostředky s jejich obsahem

Oblast techniky

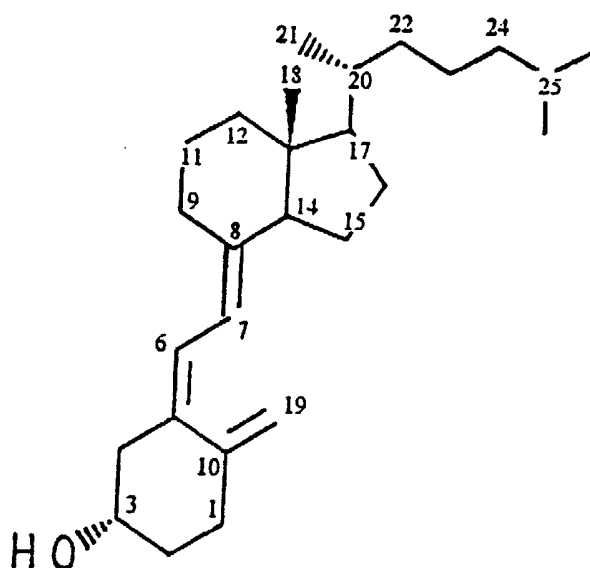
5

Vynález se týká nových analogů vitaminu D, přesněji analogů 1 α -hydroxyvitaminu D₃ s postranním řetězcem modifikovaným v poloze 17, schopným modulace buněčné aktivity.

10

Dosavadní stav techniky

Vitamin D₃ o vzorci



15

je známý tím, že zastává životně důležitou roli v metabolismu vápníku, podporuje absorpci vápníku a fosforu ve střevech, udržuje patřičnou hladinu vápníku a fosforu v séru a stimuluje uvolňování vápníku z kompartmentu kostního moku za přítomnosti parathyroidálního hormonu.

20

Asi před dvaceti lety bylo zjištěno, že vitaminy D jsou hydroxylovány *in vivo*, přičemž hydroxylace v poloze 25 probíhá v játrech a hydroxylace v poloze 1- α v ledvinách; vzniklé 1 α ,25-dihydroxymetabolity jsou biologicky aktivními látkami. Toto zjištění vedlo k syntéze mnoha analogů vitaminu D, jejichž testování ukázalo, že přítomnost hydroxylových skupin v poloze 1 α a buď v poloze 24R, nebo 25 je nezbytná pro schopnost sloučeniny nebo jejího metabolitu podstatně ovlivňovat metabolismus vápníku. Zatímco, jak již bylo uvedeno, dochází obvykle k hydroxylaci těchto skupin až v závěrečném kroku *in vivo* a poloze 24R a 25 jsou hydroxylovány snáze než poloha 1 α , zásadní výhoda použití předem hydroxylovaných analogů vitaminu D spočívá ve zvýšení hladiny jejich aktivity, rychlosti působení i následné eliminace z těla. Je známo, že použití 1 α -hydroxylovaných derivátů vitaminu D je zvláště prospěšné u

30

Mezi příklady běžně užívaných hydroxylovaných analogů vitaminu D patří přírodní metabolit 1 α ,25-dihydroxylovaný vitamin D₃ a 1 α -hydroxylovaný vitamin D₃ (který je snadněji 25-hydroxylovaný *in vivo*). Mezi další, podle referencí slibné sloučeniny patří 1 α ,24R-dihydroxylovaný vitamin D₃, D₂ analogy výše uvedených látek a 1 α ,25-dihydroxylované analogy, nesoucí atomy fluoru v polohách 24, 26 nebo 27 (ad De Luca a Schnoes, Ann. Rev. Biochem. 52, 411-439, 1983, a De Luca se spoluautory, Top. Curr. Chem. 83, 1-65, 1979).

35

Později bylo popsáno, že přirozený metabolit, $1\alpha,25$ -dihydroxylovaný vitamin D_3 , vykazuje i další účinky na buněčný metabolismus. Patří mezi ně stimulace buněčného zrání a diferenciacie (Tanaka se spol., *Biochem. J.* 204, 713–719, 1982, Amento se spol., *J. Clin. Invest.* 73, 731–739, 1984, Colston se spol., *Endocrinology* 108, 1083–1086, 1981, Abe se spol., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78, 4990–4994, 1981) a imunosupresivní účinky, například inhibice tvorby interleukinu II (Rigby, *Immunology Today* 9, 54–58, 1988). Ještě později byl pozorován imunopotenciační účinek $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného vitaminu D_3 , který je schopen stimulovat tvorbu baktericidních kyslíkových metabolitů a chemotaktickou odpověď leukocytů (např. Cohen se spol., *J. Immunol.* 136, 1049–1053, 1986). Je všeobecně známo, že leukocyty zastávají hlavní úlohu při tělní ochraně proti různým infekcím (viz Roitt, Brostoff a Male, „*Immunology*“ 2. vydání, 1989, C. V. Mosby, St. Louis, kapitoly 16.10–16.13 a 14.4–17.5), například pomocí adheze a pohlcení pronikajícího organismu (chemotaktická odpověď), anebo tvorbu superoxidů či jiných toxických kyslíkových metabolitů. Tato odpověď může být stimulována rovněž mitogeny, jako jsou prokarcinogenní forbolové estery a gama-interferon, strukturně značně odlišné od analogů vitaminu D .

Díky těmto účinkům na buněčný metabolismus se může léčebný potenciál $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného vitaminu D_3 uplatnit i v tak odlišných oblastech, jako je léčba lupénky, zánětlivých a autoimunitních onemocnění, neplasie a hyperplasie, jako doplněk v chemoterapii infekcí (mezi jinými bakteriálních, virových a způsobených houbami) a i v dalších terapeutických případech, které se týkají mononukleárních fagocytů. $1\alpha,25$ -dihydroxylovaný vitamin D_3 a 1α -hydroxylovaný vitamin D_3 byly rovněž naplněny k léčení hypertenze (Lind se spol., *Acta Med. Scand.* 222, 423–427, 1987 a diabetes mellitus (Inomata se spol., *Bone Mineral* 1, 187–192, 1986) a dále byla zmíněna možnost, že $1\alpha,25$ -dihydroxylovaný vitamin D_3 napomáhá růstu vlasů (Lancet 4, 478, březen 1989) a mohl by být použit k léčbě akné (Malloy se spol., *Tricontinental Meeting for Investigative Dermatology*, Washington 1989). Ovšem značné účinky $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného a 1α -hydroxylovaného vitaminu D_3 na metabolismus vápníku takové použití obecně předem vylučují, neboť dávky, potřebné k požadované modulaci buněk a k imunosupresivnímu či imunopotenciačnímu účinku, už vede k nepřijatelné hyperkalcinemii. To podnítilo snahu syntetizovat nové analogy s menším účinkem na metabolismus vápníku, které si však zachovávají požadované účinky na buněčný metabolismus.

Nově popsané analogy vykazují, alespoň do jisté míry, takto oddělené účinky. U sloučeniny MC-903, která je 22,23-nenasyceným $1\alpha,24R$ -dihydroxylovaným analogem vitaminu D_3 s cyklopropylovou skupinou v poloze 24 místo obvyklé konfigurace $C_{25}-C_{27}$ vedlejšího cholestanového řetězce a která je právě klinicky testována pro léčbu lupénky, byl popsán účinek na zrání buněk srovnatelný svou velikostí s $1\alpha,25$ -dihydroxylovaným vitaminem D_3 , zatímco hyperkalcinemické působení takového stupně nedokazuje (Calverley, *Tetrahedron* 43, 4609–4619, 1987, a Holick, *Arch. Dermatol.* 125, 1692–1696, 1989). Podobná tvrzení byla zveřejněna i v případě analogů $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného vitaminu D_3 , například 22-oxo- (Abe se spol., *Endocrinology* 124, 2645–2647, 1989), 24- a 26-homo (Ostrem se spol., *J. Biol. Chem.* 262, 14164–14171, 1987), 16-dehydro-23,24-ethynyl- (Zhou se spol., *Blood* 74, 82–93, 1989), a 19-nor-10-dihydroanalogu (Perlman se spol. *Tetrahedron Lett.*, str. 1823–1824, 1990).

Z těchto zjištění se nezdá možné stanovit, které sloučeniny budou mít modulační účinek vzhledem k buňkám (či míru podobného účinku), anebo určit faktory, vedoucí k oddělení aktivit, týkajících se buněčné modulace a metabolismu vápníku. Zatímco většina výsledků naznačuje, že přítomnost hydroxylové skupiny poblíž konce vedlejšího řetězce cholestanového typu nebo jeho homologu je nezbytná pro to, aby sloučenina projevovala zřetelnou buňky modulující aktivitu, nálezy Ostrema a jeho spoluautorů (viz předchozí citace) naznačují, že analogy s pouze krátkým, nesubstituovaným postranním řetězcem v poloze 17 (např. izopropyl nebo sekundární butyl jako v homo- či bis-homopropanech), vykazují značnou aktivitu vyvolávající diferenciaci a jsou účinnější než odpovídající sloučeniny s krátkým postranním řetězcem, nesoucím hydroxylovou skupinu. I když se zdá, že mnoho těchto sloučenin projevuje schopnost modulovat buňky

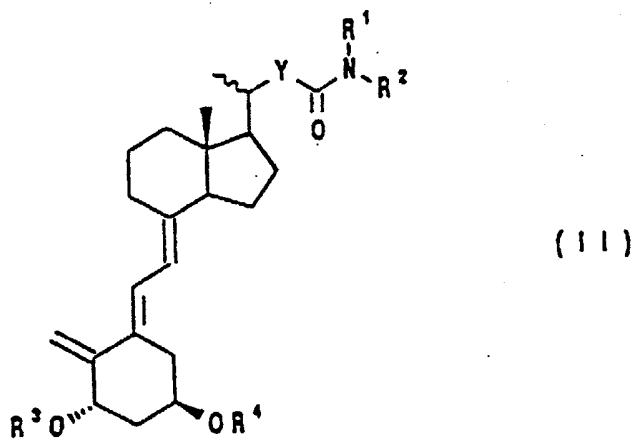
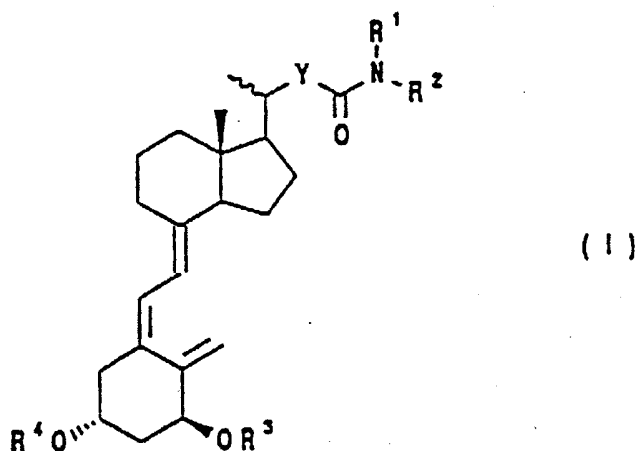
- v podobné míře jako $1\alpha,25$ -dihydroxylovaný vitamin D_3 , současně rovněž vykazují nezanedbatelný účinek na metabolismus vápníku. Tento účinek byl snížen vzhledem k relativnímu účinku $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného vitaminu D_3 nanejvýše o dva řády. Z toho mohou, v případě použití k dlouhodobé terapii, vyplývat problémy kumulativní toxicity; zejména pokud je nutné systematické podávání, například při léčbě zánětlivých a autoimunitních onemocnění, neoplasie, hyperplasie, nebo při orální terapii v léčbě lupénky.

Podstata vynálezu

- Tento vynález vychází z překvapujícího objemu mnoha 1α -hydroxylovaných derivátů vitaminu D a jeho 20-epianalogů, jejichž vedlejší řetězec v poloze 17 je volitelně zakončen N-substituovanou nebo N,N-disubstituovanou karbamoylovou skupinou. Tyto deriváty, mající minimální účinek na metabolismus vápníku, mohou silně ovlivňovat buněčnou modulaci, například vyvoláním buněčného dělení a zrání buněk, inhibicí proliferace anebo aktivací makrofágů (jak bylo zjištěno metodou podle Styrtá a spol., Blood **67**, 334-342, 1986). U sloučenin podle vynálezu byl prokázán nesignifikantní účinek na sérovou hladinu vápníku a fosforu u krys, a to i při podávání v dávce stokrát převyšující běžné dávkování $1\alpha,25$ -dihydroxylovaného vitaminu D_3 . V souhlasu s tím vykazují sloučeniny podle vynálezu výhodný terapeutický poměr buněčné modulace vůči kalcemické aktivitě.

Další výhodou těchto sloučenin je jejich velmi nízká afinita pro střevní $1\alpha,25$ -dihydroxy-cholecalciferolový receptor.

- Podstata vynálezu tvoří amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II



kde Y znamená alkylenovou nebo alkenylenovou skupinu tvořenou až 4 atomy uhlíku,

- 5 R^1 a R^2 nezávisle znamenají atom vodíku, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku nebo cykloalkyl o 3 až 8 atomech uhlíku, nebo tvoří spolu s atomem dusíku, na nějž jsou vázány, heterocyklickou skupinu, tvořenou pyrrolylovým, pyrazolylovým, imidazolylovým, indolylovým, indazolylovým, purinylovým, pyrrolidinylovým, imidazolidinylovým, pyrazolidinylovým, piperidylovým, morfolinylovým, thiazolidinylovým nebo thiamorfolinylovým zbytkem a
- 10 R^3 a R^4 nezávisle znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na atom kyslíku ze skupiny etherifikačních skupin trialkylsilyl s alkylovými částmi o 1 až 6 atomech uhlíku, triarylsilyl s arylovými částmi o 6 až 12 atomy uhlíku, směsné alkylarylové skupiny s alkylovou částí o 1 až 6 a arylovou částí o 6 až 12 atomech uhlíku, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku nebo tetrahydropyranyl nebo ze skupiny esterifikačních skupin alkanoyl o 1 až 6 atomech uhlíku, aroyl o 7 až 15 atomech uhlíku, alkansulfonyl o 1 až 6 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný atomem halogenu nebo p-toluensulfonyl.
- 15

20 Součást podstaty vynálezu tvoří rovněž způsob výroby amidových derivátů vitaminu D obecného vzorce I, při němž se podrobí izomeraci sloučenina obecného vzorce II, načež se popřípadě odstraní ochranné skupiny na atomu kyslíku.

25 Vzorce I a II zahrnují sloučeniny, mající konfiguraci 20R derivátů přírodního vitaminu D, sloučeniny o konfiguraci 20S derivátů epivitaminu D a směs obou izomerů. Vzorce rovněž zahrnují aktivní sloučeniny, u nichž R^3 a R^4 představují vodíkové atomy a prekurzory těchto látek, u nichž R^3 a R^4 představují skupiny chránící kyslík, třebaže takové prekurzory mohou být samy aktivní v případě, že skupina nebo skupiny chránící kyslík jsou metabolicky nestálé.

30 Skutečnost, že aktivní sloučeniny I a II, mající v poloze 17 vedlejší řetězcce podobné vitaminu D, které nanesou hydroxylovou skupinu v poloze 24 nebo 25 a které v mnoha případech nemohou být v těchto polohách hydroxylovány, prokazují schopnost modulace buněk, je neočekávaná vzhledem k předchozím údajům, které zdůrazňovaly nezbytnost těchto hydroxylových skupin. Nalezená schopnost modulace buněk aktivními sloučeninami vzorce I a II je ještě překvapivější s ohledem na zjištění, že sloučeniny s podobným vedlejším řetězcem, ale postrádající 1 α -hydroxylovou skupinu, neprojevují aktivitu podobnou vitaminu D a mohou dokonce působit jako

35 je antagonisté, pravděpodobně blokadou hydroxylace v poloze 25 (ad US patent č. 4 217 288.

40 Dále bylo zjištěno (sorensen se spol., Biochemical Pharmacology 39, 391–393, 1990), že výše uvedený analog 1 α ,25-dihydroxylovaného vitaminu D₃ s označením MC-903 je *in vivo* oxidován na odpovídající 24-oxosloučeninu, která vykazuje ve srovnání s látkou MC-903 značně nižší účinek na buněčnou proliferaci a diferenciaci. To naznačuje, že zavedení 24-oxoskupiny zahrnuje, pokud se týká schopnosti modulovat buňky, deaktivací krok, což se liší od údajů o 24-oxosloučeninách a homologních látkách podle tohoto vynálezu.

45 Z výše uvedených důvodů nemohlo být pozorované oddělení schopnosti modulace buněk od kalcemické aktivity aktivních sloučenin podle vynálezu předvídáno z předchozích údajů o látkách analogních vitaminu D, které jsou schopné modulace buněk.

50 Aktivní 5,6-trans (5E) izomery vzorce II, které, pokud se týká schopnosti buněčné modulace, jsou přibližně o jeden řád méně aktivní než aktivní 5,6-cis (5Z) izomery o vzorci I, současně menší měrou zvyšují sérovou hladinu vápníku a opět tedy projevují pozoruhodné a neočekávané oddělení schopnosti buněčné modulace a kalcemické aktivity.

Skupina Y ve výše uvedeném vzorci může obsahovat 0, 1 nebo 2 dvojnásobné vazby a může například odpovídat vzorci $-(R^A)_m-(R^B)_n-$ kde R^A je $-\text{CH}=\text{CH}-$, R^B je $-\text{CH}_2-$, m je 0, 1 nebo 2 a n je 0 nebo celé číslo tak, že $2m + n = 1, 2, 3$ nebo 4. Y může být s výhodou C_{2-4} alkylenová skupina.

- 5 Pokud R^1 a R^2 ve vzorcích I a II označují nižší alkylové skupiny, mohou to být například C_{1-6} alkylové skupiny jako methylová, ethylová, propylová a butylová. Nižší cykloalkylové skupiny mohou mít například 3–8 uhlíkových atomů, jako cyklopropylová, cyklopentylová a cyklohexylová skupina. Pokud skupina R^1R^2N- představuje heterocyklus, může tento obsahovat jeden nebo více dalších heteroatomů, zvolených z O, N a S a může být tvořen jedním nebo více
- 10 kruhy o 5 až 6 atomech, jako například pyrrolylovou, pyrazolylovou, imidazolylovou, indolylovou, indazolylovou, purinylovou, pyrrolidinylovou, imidazolidinylovou, pyrazolidinylovou, piperidylovou, morfolinylovou, thiazolidinylovou nebo thiamorfolinylovou skupinou, obsahující dusíkový atom.
- 15 Pokud R^3 a R^4 představují skupiny chránící kyslík, může se jednat například o běžně používané, odštěpitelné kyslík chránící skupiny. Mezi vhodné skupiny patří etherifikující skupiny jako silylové (tj. tri/nižší alkyl/silylové skupiny jako trimethylsilyl, triethylsilyl, triizopropylsilyl nebo tributyl dimethylsilyl; tri/aryl/silylové skupiny jako trifenylsilyl a smíšené alkyl-arylsilylové skupiny); nižší (tj. C_{1-6}) alkylové skupiny, v nichž může být vložen kyslíkový atom, jako methyl,
- 20 methoxymethyl nebo methoxyethoxymethyl a cyklické skupiny jako tetrahydropyranyl. Esterifikující kyslík chránící skupiny zahrnují nižší, tj. C_{1-6} alkanoylové skupiny jako acetyl, propionyl, izobutyryl nebo pivaloyl; aroylové (obsahující 7–15 uhlíkových atomů) skupiny jako benzoyl nebo 4-fenylazobenzoyl; nižší alkansulfonyly jako (případně halogenovaný) methan-sulfonyl a arensulfonyly jako p-toluensulfonyl. Takové kyslík chránící deriváty jsou vhodné jako
- 25 meziprodukty při přípravě aktivních $1\alpha,3\beta$ -diolů vzorce I a II, kde R^3 a R^4 představují vodíkový atom, ačkoli, jak bylo výše uvedeno, ethery a estery vzorců I a II, jejichž kyslík chránící skupiny jsou in vivo metabolicky nestálé, mohou být přímo použity v léčení.

30 Schopnost aktivních látek podle vynálezu modulovat buňky spolu se zásadní nepřítomností kalcemického účinku je staví do popředí zájmu (samotné nebo jako doplňkové látky) v terapii nádorových onemocnění, zejména myelogenních leukemií. Mohou být rovněž použity, ať samotné nebo k doplňkové léčbě, při chemoterapii infekcí a ve všech případech, kterých se účastní mononukleární fagocyty, například při léčbě poškození kostí (osteoporózy), autoimunitních onemocnění, v případě reakce přijetí štěpu a odmítnutí transplantátu, při léčbě

35 zánětlivých onemocnění, neoplasie a hyperplasie, jako je lupénka. Akné, vypadávání vlasů, stárnutí kůže (včetně fotostárnutí), hypertenze, revmatoidní artritida a astma jsou dalšími případy, kdy lze k léčbě použít aktivních látek podle vynálezu; vynález zahrnuje způsob výroby léčiv pro takovou léčbu či profylaxi.

40 Autoři se domnívají, že aktivní 20R-izomery vzorce I a II by měly být přednostně používány k léčbě infekcí, například v kombinované terapii, zatímco aktivní 20S-epiizomery by měly být upřednostněny v případě imunosuprese, například při léčbě autoimunitních a zánětlivých onemocnění, revmatoidní artritidy, astmatu a podobně. Tento názor podporuje např. práce Binderupa a spoluautorů, zabývající se 20-epi-analogy vitamínu D_3 , uveřejněná v *Biochemical Pharmacology* 42(8), 1569–1575, 1991.

45

Aktivní sloučeniny podle vynálezu mohou být upraveny pro podávání kterémukoli běžným způsobem, tj. orálně (i pod jazyk), parenterálně, rektálně nebo inhalačně; takto upravené farmaceutické prostředky tvoří hlavní část vynálezu.

50 Orálně podávané přípravky mohou v případě potřeby obsahovat jeden nebo více fyziologicky vhodných nosičů nebo pomocných látek a mohou být ve formě pevné látky nebo kapalné. Přípravky mohou mít jakoukoli vhodnou podobu, včetně například tablet, potahovaných tablet, kapslí, pastilek, vodných nebo olejových suspenzí, roztoků, emulzí, sirupů, tinktur a suchých výrobků, které se před použitím smísí s vodou nebo jinou vhodnou kapalinou k naředění.

55

Přípravky mohou být s výhodou připravovány ve formě jednotky dávkování. Tablety a kapsle podle vynálezu mohou v případě potřeby obsahovat běžné přísady jako pojiva, například sirup, klovatinu, želatinu, sorbitol, tragant nebo polyvinylpyrrolidon; plniva, jako např. laktózu, cukr, kukuřičný škrob, fosforečnan vápenatý, sorbitol nebo glycin; kluzné látky, jako stearát hořečnatý, 5 talek, polyethylenglykol nebo kysličník křemičitý; dezintegrační činidla, např. bramborový škrob nebo vhodná smáčedla jako laurylsulfát sodný. Tablety mohou být potaženy metodami užívanými v tomto oboru.

10 Tekuté přípravky mohou obsahovat běžné přísady, jako činidla, napomáhající vzniku suspenze, například sorbitolový sirup, methylcelulózu, sirup z cukru a glukózy, želatinu, hydroxymethylcelulózu, karboxymethylcelulózu, gel stearátu hlinitého nebo hydrogenované jedlé tuky; emulgační činidla jako lecitin, sorbitan monooleát nebo klovatinu; nevodné nosné prostředky, které mohou obsahovat jedlé oleje, například rostlinné jako arašídový olej, mandlový olej, 15 frakcionovaný kokosový olej, olej z rybích jater, olejové estery jako polysorbát 80, propylen-glykol nebo ethylalkohol; a konzervační látky, například methyl nebo propyl-p-hydroxybenzoát nebo kyselinu sorbovou. Tekuté přípravky mohou být s výhodou enkapsulovány například v želatinových kapslích, aby bylo možné je podávat ve formě jednotky dávkování.

20 Přípravky pro parenterální podání mohou být upraveny za použití injikovatelného kapalného nosiče, jako sterilní apyrogenní vody, sterilního ethyloleátu, neobsahujícího peroxid, dehydratovaného alkoholu nebo propylen-glykolu nebo směsi dvou posledně jmenovaných látek. Aplikovány mohou být intravenózně, intraperitoneálně nebo intramuskulárně.

25 Přípravky pro rektální podávání mohou být upraveny za použití běžných čípkových základů jako kakaového másla nebo jiného glyceridu.

Přípravky pro inhalační použití jsou s výhodou upraveny pro samočinné dávkování (tj. ve formě odměřené dávky), například jako suspenze v hybném činidle, jakým je halogenovaný uhlovodík, plněné do aerosolové nádoby s dávkovacím ventilem.

30 Ke zvýšení expirační doby přípravků podle vynálezu může být s výhodou přidáno antioxidační činidlo, například kyselina skorbová, butylovaný hydroxyanisol nebo hydrochinon.

35 Pokud je kterýkoli z výše uvedených přípravků vyráběn ve formě jednotky dávkování, mohou tyto jednotky příkladně obsahovat 0,05–250 µg, například 0,1–50 µg aktivní látky podle vynálezu v jednotce dávkování. Přípravek může podle potřeby obsahovat jednu nebo více dalších aktivních přísad.

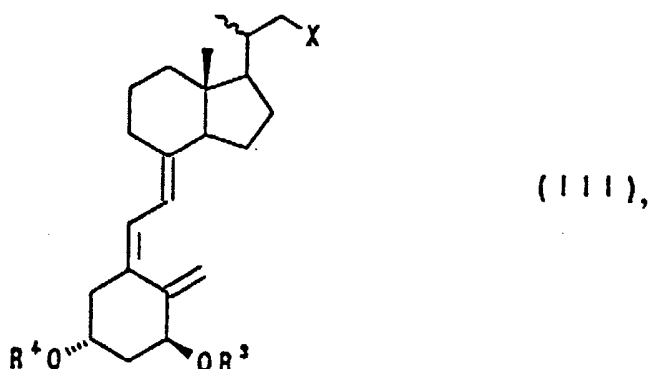
40 Vhodná denní dávka aktivní sloučeniny podle vynálezu může být v rozmezí od 0,1 do 500 µg, například 0,2–100 µg za den, v závislosti na takových faktorech, jako je závažnost léčených potíží a věk, váha a stav pacienta.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být připravovány následujícími metodami:

45 (A) Sloučeniny vzorce I mohou být připravovány izomerizací odpovídajících sloučenin vzorce II v konfiguraci 5,6-trans, po níž následuje v případě nutnosti nebo je-li to vyžadováno odstranění všech skupin, chránících kyslík. Izomerizace může být prováděna například účinkem jódu, disulfidu nebo diselenidu, nebo ozářením ultrafialovým světlem, přednostně 50 v přítomnosti tripletního senzibilizátoru. 1α-hydroxysloučeniny vzorce II mohou být samy připravovány oxidací odpovídajících 1-nesubstituovaných-5,6-trans sloučenin za použití esteru seleničitanu nebo dioxidu selenu či kyselinu seleničité v přítomnosti alkoholu, například podle popisu v GB-A-2038834, jehož obsah je zde uveden jako citace. 1-nesubstituované-5,6-trans sloučeniny mohou být, je-li to požadováno, připraveny izomerizací in situ odpovídajících 5,6-cis vitaminových derivátů za podmínek oxidace.

55

(B) Sloučeniny vzorce I nebo II mohou být připraveny reakcí sloučeniny vzorce III



- 5 kde R^3 a R^4 odpovídají dřívější definici a X představuje oxo- nebo fosforanylidenovou skupinu; metalovanou silanovou nebo sulfonovou skupinu; skupinu $-(CH_2)_aL$, kde a je 0, 1 nebo 2 a L představuje uvolnitelnou skupinu, např. sulfonovaného esteru jako nižší alkyl-sulfonyloxy-, nižší fluoroalkyl-sulfonyloxy- nebo arylsulfonyloxyskupinu, nebo výhodněji, halogenový atom jako chlor, brom nebo jod; nebo skupinu $-(CH_2)_bR^5$, kde b je 0, 1, 2 nebo 3 a R^5 představuje
- 10 kyanoskupinu nebo esterifikovanou karboxylovou nebo thiokarboxylovou skupinu jako alkoxykarbonylovou, aralkoxykarbonylovou, aryloxykarbonylovou, alkylthiokarbonylovou, aralkylthiokarbonylovou nebo arylthiokarbonylovou skupinu, nebo odpovídajících 5,6-trans sloučenin s jednou nebo více látkami, které slouží k vytvoření požadovaného amidového seskupení postranního řetězce, po němž následuje, je-li to nutné nebo žádoucí, odstranění všech skupin
- 15 chránících kyslík. Je příhodné, že sloučenina vzorce II, vzniklá tímto postupem, může být izomerizací podle postupu A přeměněna na sloučeninu vzorce I.

Reakce podle postupu B, kterých může být použito k přípravě sloučenin vzorce I nebo II, ve kterých Y představuje alkylenovou skupinu, zahrnují:

- 20 B1) Reakce sloučeniny vzorce III, ve kterém X představuje skupinu $-(CH_2)_aL$ jako bylo dříve definováno, nebo 5,6-trans izomer této sloučeniny s metalovanými nebo dimetalovanými solemi amidu vzorce IV



25 kde R^1 a R^2 jsou stejné jako bylo definováno dříve, například se solí alkalického kovu jako je lithná sůl, připravenou reakcí se zásaditým činidlem jako je lithiumdiizopropylamid.

- 30 B2) Reakce sloučeniny vzorce III, ve kterém X představuje skupinu $-(CH_2)_bR^5$ jak byla definována dříve, nebo odpovídajícího 5,6-trans izomeru, k přeměně esteru, thioesteru nebo kyanoskupiny R^5 na požadovanou amidovou skupinu, např. přímou aminolýzou esteru nebo thioesteru nebo nepřímou, přes odpovídající volnou kyselinu, získanou hydrolyzou esteru, thioesteru nebo nitrilu, nebo přes z nich získanou halovou kyselinu. Je přínosné, že nitrily o vzorce III mohou být částečně přímo hydrolyzovány za sloučeniny I, kde R^1 a R^2 jsou vodíkovými atomy.
- 35

- 40 B3) Reakce sloučeniny vzorce III, ve kterém X představuje skupinu $-(CH_2)_aL$ tak, jak byla dříve definována, nebo 5,6-trans izomeru této sloučeniny, s reagensy sloužící k zavedení jednouhlíkového fragmentu (např. metalkyanidu nebo metalovaného triethianu) a přeměnu takto zavedené skupiny na požadovanou $-CONR^1R^2$ skupinu, například podle postupu (B2).

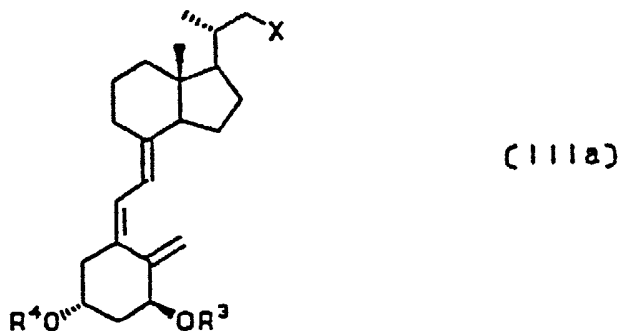
Reakce podle postupu B, kterých může být použito k přípravě sloučenin vzorce I nebo II, ve kterých Y představuje alkenylenovou skupinu, zahrnují:

B4) Reakce sloučeniny vzorce III, ve kterém X představuje oxoskupinu, nebo 5,6-trans izomeru této sloučeniny, probíhající podle Wittigova typu reakce, například s fosforanem o vzorci



kde Y^1 je alkylénová nebo alkenylenová skupina, mající nanejvýše dva uhlíkové atomy; p je 0 nebo 1; R^C je uhlovodíková skupina, např. alkylová nebo aralkylová skupina nebo arylová skupina jako fenylová; R^D je aminokarbonylová skupina $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ jak byla dříve definována, nebo na ni přeměnitelná skupina prekurzoru, jako esterová či thioesterová skupina nebo kyanoskupina, následovaná v případě potřeby konverzí k vytvoření skupiny $-\text{CONR}^1\text{R}^2$. V jiném případě může být fosforan nahrazen metalovaným silanem $(R^C)_3\text{Si}-\text{CHM}-(Y^1)_p-R^D$ nebo metalovaným sulfonem $R^C\text{SO}_2-\text{CHM}-(Y^1)_p-R^D$, kde R^C , R^D , Y^1 a p mají stejný význam jako bylo dříve definováno a M je kovový atom, např. alkalický kov jako lithium nebo sodík. Tato druhá reakce je doplněna redukcí meziproductu hydroxysulfonu k vytvoření požadované dvojné vazby, například za použití sodného amalgámu. Opačně mohou být tyto reakce prováděny za použití sloučenin vzorce III, ve kterém X je fosforanylidenové uskupení $=\text{P}(R^C)_3$ nebo odpovídající metalovaný derivát vzorce III, ve kterém X je $-\text{Si}(R^C)_3$ nebo $-\text{SO}_2R^C$ (kde R^C má dříve definovaný význam), s aldehydem vzorce $\text{HCO}-(Y^1)_p-R^D$ (kde p , R^D a Y^1 mají dříve stanovený význam).

Sloučeniny vzorce III, mající v poloze 20 normální uspořádání přírodních derivátů vitaminu D, tj. sloučeniny vzorce IIIa



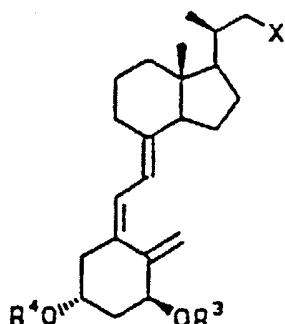
25

anebo jejich 5,6-trans izomery, mohou být připravovány z 1α -hydroxylovaného vitaminu D_2 nebo jeho derivátu s chráněnou kyslíkovou skupinou oxidačním rozštěpením dvojné vazby v poloze 22-23, za výhodné stabilizace D_2 -vitaminové částice vznikem Diels Alderovy dienofilní adiční sloučeniny, např. s kyslíčkem siřičitým nebo diacylazosloučeninou, jak je popsáno v GB-A-21114570 (jehož obsah je zde uveden jako citace). Tímto postupem může být získána 20S sloučenina vzorce IIIA, ve kterém X představuje oxoskupinu.

30

Takové sloučeniny IIIa, nebo lépe jejich deionofilní adiční sloučeniny, mohou být izomerizovány například pomocí slabého zásaditého činidla, např. anorganického, jako je hydrogenuhličitán sodný, nebo organické terciární báze jako je DABCO (tj. 1,4-diazabicyklo/2,2,2/octan) nebo DBU (tj. 1,8-diazabicyklo/5,4,0/undec-7-e), za vzniku směsi izomerů 20R a 20S, ze které může být čistý 20R-epiizomer, tj. sloučenina vzorce IIIb

35



(IIIb),

ve kterém X představuje oxoskupinu, nebo jeho dienofilní adiční sloučenina, chromatograficky izolován (např. podle práce Calverleye uveřejněné v Tetrahedron 43, 4609–19, 1987). Oddělení požadovaného epiizomeru může být odsunuto až do pozdějšího stádia syntézy, včetně posledního stupně.

Oxoskupina X v takto získaných sloučeninách IIIa a IIIb nebo v jejich směsích může být redukcí přeměněna na hydroxylovou skupinu a potom na sloučeniny, u nichž X představuje skupinu $-(CH_2)_aL$, kde $a = 0$ a L je halogenový atom, například konverzí na sulfonátový ester (např. tosylát) a nukleofilním vytěsněním tosylátové skupiny v reakci s halogenidovou solí (např. bromidem alkalického kovu). Takto vzniklé sloučeniny vzorce III a jejich 5,6-trans izomery mohou reagovat například s kovovým kyanidem, jak popisuje postup B3, za vzniku sloučeniny vzorce III nebo jejího 5,6-trans izomeru, u nichž X představuje skupinu $-(CH_2)_bR^5$, kde $b = 0$; kyanoskupina R^5 může být poté případně modifikována hydrolýzou a esterifikací.

Sloučeniny vzorce III a odpovídající 5,6-trans izomery, ve kterých X představuje skupinu $-(CH_2)_bR^5$, kde b je 1 nebo 2 a R^5 odpovídá předchozí definici, mohou být připraveny reakcí sloučeniny III nebo jejího 5,6-trans izomeru, u nichž X představuje skupinu $-(CH_2)_aL$, kde a je 0 nebo 1 a L odpovídá předchozí definici, s metalovaným derivátem esteru nebo thioesteru kyseliny octové, s derivátem, který obsahuje jiný karbaniontový ekvivalent octové kyseliny (např. metalovaný derivát acetonitrilu) nebo s metalovaným esterem kyseliny malonové. V posledně zmíněném případě je reakční produkt částečně hydrolyzován k získání monoesteru, který může být zahřátím dekarboxylován za vzniku sloučeniny III, u níž X je skupinou $-(CH_2)_bR^5$, kde R^5 je esterová skupina.

Sloučeniny vzorce III a odpovídající 5,6-trans izomery, ve kterých X představuje skupinu $-(CH_2)_aL$, kde a je 1 nebo 2 a L odpovídá předchozí definici, mohou být připraveny ze sloučenin vzorce III nebo jejich 5,6-trans izomerů, u nichž X představuje skupinu $-(CH_2)_bR^5$, kde b je 0 nebo 1 a R^5 je esterová skupina, redukcí esteru na alkohol, např. za použití hydridu hlinito-lithného, a přeměnou hydroxylové skupiny na skupinu, která může být uvolněna např. tak, jak bylo dříve popsáno.

1-nesubstituované analogy sloučenin vzorce III nebo jejich 5,6-trans izomerů mohou být také obdobným způsobem připraveny z vitaminu D₂, podrobeny následným reakcím až ke vzniku požadované amidové skupiny vedlejšího řetězce a ve vhodné etapě syntézy 1 α -hydroxylovány, např. podle popisu v GB-A-2038834.

Obecně může být v kterémkoli reakčním kroku přítomno buď 5,6-cis nebo 5,6-trans uspořádání, i když přednostně mohou být využívány 5,6-trans izomery k dříve zmíněné 1 α -hydroxylaci a oxidativnímu štěpení dvojné vazby v poloze 22–23. Přeměna uspořádání 5,6-trans na 5,6-cis je tedy mnohem snadněji prováděna po zavedení 1 α -hydroxylové skupiny.

Skupiny chránící kyslík, navázané v poloze 1 α - nebo 3 β -, mohou být odstraněna například běžnými metodami, dobře doloženými v literatuře. Esterifikující acylové skupiny mohou být

- odstraněny hydrolýzou v zásaditém prostředí, např. použitím alkoxidu alkalického kovu v alkanolu. Etherifikující skupiny jako silylové skupiny mohou být odstraněny kyselou hydrolýzou nebo účinkem fluoridů tetraalkylamonných. Použití takových v kyselině labilních, ale v zásaditém prostředí stálých ochranných skupin může být, vzhledem k silné zásaditosti prostředí, které se běžně používá v homologačních krocích při nichž vzniká požadovaný vedlejší řetězec, výhodné pro reakci sloučenin vzorce III a odpovídajících 5,6-trans izomerů anebo 1-nesubstituovaných sloučenin.

10 Příklady provedení vynálezu

Následující příklady nejsou limitující a slouží k dokreslení vynálezu. Všechny teplotní údaje jsou ve °C.

15

Příklad 1

- a) $1\alpha,3\beta$ -di(triizopropylsilyloxy)-9,10-seco-25-azacholesta-5(E),7,10(19)-trien-24-on [20R-izomer vzorce II, $R^1=R^2=CH_3$, $R^3=R^4=(i-Pr)_3Si$, $Y=CH_2CH_2-$].
- 16 $1\alpha,3\beta$ -di(triizopropylsilyloxy)-9,10-seco-20-p-toluensulfonyloxymethylpregna-5(E),7,10(19)-trien, [5,6-trans izomer vzorce IIIa - $R^3=R^4=(i-Pr)_3Si$, X=tosyloxy - NMR δ 7,5 (2H, d, $j=8$, aryl), 7,03 (2H, d, $j=8$, aryl), 6,16 & 5,6 (AB, $j=11$, 6H, 7H), 4,8 (2H, s, 19H), 4,46 (1H, t, $j=11$, 1H), 4,33 až 3,5 (3H, m 2H, 22 H's), 2,36 (3H, s, aryl CH_3), 0,5 (3H, s, 18 H's)] (710 mg), byl se zpětným chladičem zahříván v cetonitrilu (8 ml), který obsahoval nadbytek bromidu lithia (620 mg). Po 45 minutách byla směs ochlazena, zředěna vodou a extrahována etherem. Etherový extrakt byl chromatograficky čištěn na silikagelu se získkem 490 mg odpovídající 20-bromomethylové sloučeniny [NMR δ 6,25 & 5,66 (ABq, $j=11$, 6, 7 H's), 4,83 (2H, s, 19 H's), 4,66 až 4,0 (2H, m, 1, 3 H's), 3,31 (2H, bs, 22 H's), 0,55 (3H, s, 18 H's). UV λ_{max} 270 (21300), λ_{min} 229 (4922)]. Roztok této sloučeniny (245 mg) v hexamethylfosforamidu (0,7 ml) byl při -78 °C přidán k roztoku lithné soli N,N-dimethylacetamidu /připravenému z N,N-dimethylacetamidu (0,158 ml) a diizopropylamidu lithného (1,54 mmol) v tetrahydrofuranu (4,6 ml). Reakční směs byla po 30 minut ponechána ohřát na laboratorní teplotu, pak byla další 2 hodiny míchána a po reakci s nasyceným vodným chloridem amonným a poté s vodou byl výsledný produkt extrahován etherem. Chromatografickým čištěním se získalo 208 mg požadované (v nadpisu zmíněné) sloučeniny. NMR δ 6,4 & 5,76 (ABq, $j=11$, 6, 7 H's), 4,93 (2H, s, 19 H's), 4,76 - 4,01 (2H, m, 1, 3 H's), 3,31 & 2,9 (3H, každý, s, N- CH_3), 0,55 (3H, s, 18 H's). IR ν_{max} ($CDCl_3$) 1625 cm^{-1} (amid). UV λ_{max} 270 (23333), λ_{min} 230 (7337).
- 40 b) $1\alpha,3\beta$ -dihydro-9,10-seco-25-azacholesta-5(Z),7,10(19)-trien-24-on [20R-izomer vzorce I, $R^1=R^2=CH_3$, $R^3=R^4=H$, $Y=CH_2CH_2-$]

- Produkt získaný výše uvedeným postupem (a) byl ozařován po 45 minut v benzenu (6 ml) s fenazinem (12 ml). Pak bylo rozpouštědlo odstraněno a surová sloučenina 5Z byla ponechána 2 hodiny při laboratorní teplotě v kontaktu s vodným fluoridem tetrabutylamonným (0,3 ml, 1M), v tetrahydrofuranu (1 ml). Po zředění vodou, extrakci produktu do etheru a vyčištění pomocí chromatografie na tenké vrstvě bylo získáno 21 mg v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR δ 6,36 & 5,98 (ABq, $j=11$, 6, 7 H's), 5,26 & 4,95 (1H každý, s, 19 H's), 4,63-3,9 (2H, m, 1, 3 H's), 3,0 & 2,93 (3H, každý, s, N- CH_3), 0,56 (3H, s, 18 H's). IR ν_{max} ($CDCl_3$) 3610 & 3410 (OH), 1630 cm^{-1} (amid). UV λ_{max} 265 (18300), λ_{min} 228 (10166).

Příklad 2

- a) 3 β -hydroxy-20-(2-ethoxykarbonylethyl)-9,10-secopregna-5(E),7,10(19)-trien [1-nesubstituovaný analog 5,6-trans izomeru vzorce IIIa – R⁴ = H, X=CH₂COOC₂H₅]

5

Adiční sloučenina oxidu siřičitého a 3 β -acetoxy-20-hydroxymethyl-9,10-secopregna-5(E),7,10(19)-trien (4,54 g) byla rozpuštěna v dichlormethanu (40 ml), obsahujícím 1,8-bis(dimethylamino)naftalen (3,34 g) a při -30 °C byla podrobena reakci s trifluormethan-sulfonovým anhydridem (3,812 g). Reakční směs byla krátce míchána, zahřáta na laboratorní teplotu, ochlazená na -30 °C a poté smíchána s roztokem diethylmalonátu sodného [přípraveného z diethylmalonátu (8,32 g) a hydridu sodného 1,248 g] v tetrahydrofuranu (40 ml). Směs byla zahřáta na laboratorní teplotu a 15 minut míchána. Po přidání nasyceného vodného chloridu amonného, poté vody a po extrakci produktu do etheru a jeho chromatografické vyčištění byla získána adiční sloučenina oxidu siřičitého a 3 β -acetoxy-20(2,2-diethoxykarbonylethyl)-9,10-secopregna-5(E),7,10(19)-trien jako směs sloučenin 6R a 6S (4,675 g) [NMR δ 5,1-4,26 (3H, m, 3, 6, 7 H's), 4,0 (4H, q, j=7), O-CH₂Me), 3,46 (2H, bs, 19 H's), 1,93 & 1,90 (3H celkem, každý s, acetyl H's), 0,63 & 0,56 (celkem 3H, s, 18 H's).

Roztok takto získané látky (4,475 g) v ethanolu (15 ml) byl ponechán reagovat s ethanolickým hydroxidem draselným (20 ml, 1M) a vodou (0,380 ml). Směs byla míchána 1,5 hodiny při laboratorní teplotě, pak zředěna vodou a okyselena a výsledný produkt byl extrahován do etheru. Získaný surový monoester byl dekarboxylován (za odstranění oxidu siřičitého k regeneraci 5, 7, 10 (19) – trienového systému) zahřátím na 125 °C po 20 minut v dimethylsulfoxidu (15 ml), obsahujícím hydrogenuhličitan sodný (5 g). Směs byla ochlazen, zředěna vodou a produkt byl extrahován do etheru a chromatograficky vyčištěn k zisku 2,22 g v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR δ 6,16 & 5,56 (ABq, j=11, 6, 7 H's), 4,54 & 4,43 (1H, každý, s, 19 H's), 3,91 (2H, q, j=7, O-CH₂Me), 0,56 (3H, s, 18 H's). UV $\lambda_{\max}$ 272 (23600), $\lambda_{\min}$ 231 (5645).

- b) 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-20-(2-ethoxykarbonylethyl)-9,10-secopregna-5(E),7,10(19)-trien [5,6-trans izomer vzorce IIIa – R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, X=CH₂COOC₂H₅]

K dosažení přeměny 3 β -hydroxylové skupiny na skupinu triizopropylsilyloxy byl produkt (2,568 g), získaný výše uvedeným postupem a), podroben reakci s triizopropylsilyl chloridem (1,214 g) a imidazolem (1,42 g) v dichlormethanu (5 ml). Výsledná sloučenina v 1,2 dichlormethanu (32 ml) byla hydroxylována prostřednictvím oxidu seleničitého (0,51 g) v acetonitrilu (32 ml) a N-oxidu N-methylmorfolinu (2,47 g) v dichlormethanu (32 ml) podle postupu popsaného v GB-A-2038834 k získání (po chromatografickém vyčištění) 1 α -hydroxylované sloučeniny (1,37 g); [NMR δ 6,3 & 5,7 (ABq, j=11, 6, 7 H's), 4,9 & 4,8 (1H každý, s, 19 H's), 4,63 – 3,7 (2H, m, 1, 3 H's), 4,0 (2H, q, j=7, O-CH₂Me), 0,56 (3H, s, 18 H's). UV $\lambda_{\max}$ 270 (23200), $\lambda_{\min}$ 229 (5068). Tento produkt byl silylován podle dříve uvedeného postupu k získání v nadpisu uvedené sloučeniny (1,575 g), NMR δ 6,29 & 5,68 (ABq, j=11, 6, 7 H's), 4,86 (2H, s, 19 H's), 4,73 až 3,73 (2H, m, 1, 3 H's), 4,0 (2H, q, j=7, O-CH₂Me), 0,53 (3H, s, 18 H's). UV $\lambda_{\max}$ 270 (23600), $\lambda_{\min}$ 228 (5053).

- c) 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-25,26,27-trinor-9,1-seccholesta-5(E),7,10(19)-trien-24-ol [5,6-trans izomer vzorce IIIa – R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, X=CH₂CH₂OH]

Roztok produktu, získaného výše uvedeným postupem b), byl v množství 350 mg v 1 ml etheru přidán při teplotě 0 °C k míchanému roztoku hydridu hlinito-lithného (100 mg) v etheru (5 ml). Směs byla při laboratorní teplotě míchána 0,5 hodiny, ochlazená na 0 °C a po reakci s vodným síranem sodným byl produkt extrahován do etheru. Etherová fáze byla promyta vodou, poté sodným roztokem a vakuově odpařena za zisku v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR δ (CCl₄):

6,21 & 5,63 (ABq, 6 a 7 H's); 4,82 (s, 2H, 19 H's); 4,66 – 3,98 (2H, m, 1,3 H's); 3,41 (bs, 2H, 24 H's); 0,55 (s, 3H, 18 Me). UV (Et₂O): λ_{max} 270 (23600); λ_{min} 229 (5714).

- d) 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-25,26,27-trinor-9,10-secocholesta-5(E)-7,10(19)-trien-24-bromid [5,6-trans izomer vzorce IIIa – R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, X=CH₂CH₂Br]

Na roztok alkoholu (330 mg), získaného uvedeným postupem c), v dichlormethanu (4 ml), který obsahoval 1,8-bis (dimethylamino)-naftalen (309 g), bylo po 3 minuty při –40 °C působeno trifluormethansulfonovým anhydridem (0,203 g). Po reakci směsi s roztokem bromidu sodného (1,03 g) a bromidem tetrabutylamonným (0,01 g) ve vodě (5 ml) byla její teplota opět zvýšena na teplotu laboratorní. Po 30 minutách byla reakční směs rozdělena mezi dichlormethan a vodu. Organická fáze byla izolována, promyta zředěnou kyselinou sírovou, zakonzentrována a konečný produkt byl chromatograficky vyčištěn k získání 0,26 g v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR δ (CCl₄): 6,06 & 5,6 (ABq, 6, 7 H's); 4,71 (s, 2H, 19 H's); 4,63–4,0 (m, 2H, 1, 3 H's); 3,21 (t, 2H, 24 H's); 0,56 (s, 3H, 18 Me). UV (Et₂O): λ_{max} 270 (23600); λ_{min} 229 (6098).

- e) 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-23,23-bishomo-24-aza-9,10-secocholesta-5(E),7,10(19)-trien-24-on [20R-izomer vzorce II – R¹=R²=CH₃, R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, Y= –CH₂CH₂CH₂CH₂-]
- Reakcí 0,18 g bromidu (získaného výše uvedeným postupem d), v 0,8 ml hexamethylfosforamidu s lithnou solí N,N-dimethylacetamidu podle příkladu 1 (a) bylo získáno 0,103 g v nadpisu zmíněné sloučeniny. NMR δ (CCl₄): 6,26 & 5,66 (ABq, 6, 7 H's); 4,83 (s, 2H, 19 H's); 4,66–4,01 (m, 2H, 1, 3 H's); 2,93 & 2,91 (2s, 3H, každý, N–Me's); 0,52 (s, 3H, 18 Me). UV (Et₂O): λ_{max} 270 (23600); λ_{min} 229 (5526).

- f) 1 α ,3 β -dihydroxy-23,23-bishomo-24-aza-9,10-secocholesta-5(Z),7,10(19)-trien-24-on [vzorec I – 20R izomer, R¹,R²=CH₃, R³=R⁴=H, Y= –CH₂CH₂CH₂CH₂-]

Amid, získaný postupem (e) v množství 0,072 g byl ozařován v přítomnosti fenazinu (0,018 g) a poté desilylován podle příkladu 1 (b) k získání 0,26 g v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR δ (CDCl₃): 6,33 & 5,93 (ABq, 6, 7 H's); 5,26 & 4,93 (2, 1H, 19 H's); 4,66–3,83 (m, 2H, 1, 3 H's); 2,96 & 2,9 (2s, 3H každý, N–Me's); 0,53 (s, 3H, 18 Me). UV (EtOH): λ_{max} 264 (18300); λ_{min} 228 (10892).

Příklad 3

- a) 26 ethylester 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-27-nor-9,10-secocholesta-5(E),7,10(19),22,-24-pentaen-26-karboxylové kyseliny, [5,6-trans izomer vzorce IIIa – X = (=CH–CH=CH–CO₂Et), R³=R⁴=(i-Pr)₃Si]

Směs 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-9,10-secopregna-5(E),7,10(19)-trien-20 β -karboxaldehyd [5,6-trans-izomeru vzorce IIIa, R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, X=(=O)] (0,452 g) a fosforanu ethylesteru 4-trifenyfosfonium – but-2-enové kyseliny (1,2 g) v chloroformu (3 ml) byla zahřívána pod zpětným chladičem po 4 hodiny, pak bylo rozpouštědlo vakuově odpařeno a produkt byl chromatograficky vyčištěn k získání 0,26 g v nadpisu uvedené sloučeniny. NMR (CCl₄): 7,26–6,41 (m, 1H, 25 H); 6,26–5,23 (m, 5H, 6, 7, 22, 23, 24 H's); 4,7 (s, 2H, 19 H's); 4,56–3,66 (m, 4H, 1, 3 H's, ester CH₂); 0,55 (s, 3H, 18 Me). UV (EtOH): λ_{max} 264 (39695).

- b) 26 ethylester 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-27-nor-9,10-secocholesta-5(Z),7,10(19),22,-24-pentaen-26-karboxylové kyseliny, [vzorec IIIa, X = (=CH–CH=CH–CO₂Et), R³=R⁴=(i-Pr)₃Si]

Ester, získaný postupem (a) v množství 0,53 g byl rozpuštěn v roztoku 1M ethanolického hydroxidu draselného (2ml). Směs byla ponechána přes noc při laboratorní teplotě, poté byla zředěna vodou, produkt byl extrahován do dichlormethanu, promyt 1% zředěnou kyselinou sírovou a rozpouštědlo bylo odstraněno. Surová kyselina (0,046 g) byla rozpuštěna v dichlormethanu (1 ml) a podrobena reakci nejprve s dicyklohexylkarbodiimidem (0,016 g) a poté s dimethylaminem (0,3 ml). Po 30 minutách míchání při laboratorní teplotě byla reakční směs zředěna dichlormethanem, pevná část byla odstraněna filtrací a filtrát promyt nejprve vodou a pak 1% zředěnou kyselinou sírovou. Po odstranění rozpouštědla byl chromatografickým vyčištěním získán 1,3-di(triizopropylsilylether) požadované sloučeniny (0,019 g). NMR δ (CHCl₃): 7,33–6,6 (m, 1H, 25 H); 6,56–5,33 (m, 5H, 6, 7, 22, 23, 24 H's); 5,06 & 4,73 (2s, 1H každý, 19 H's); 4,6–3,83 (m, 2H, 1, 3H's); 2,98 (s, 6H, NMe); 0,53 (s, 3H, 18 Me). UV (EtOH): λ_{max} 265 (40671). Oddělením silylových skupin postupem popsaným v příkladu 1 (b) byla získána v nadpisu uvedená sloučenina (0,008 g). UV (EtOH): λ_{max} 266 (36775).

Příklad 4

a) 1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-9,10-secocholanová kyselina-5(Z),7,10(19)-trien [5,6-cis izomer vzorce IIIa – R³=R⁴=(i-Pr)₃Si, X=CH₂CO₂H]

Ethylester v nadpisu uvedené sloučeniny (připravený ze sloučeniny popsané v příkladu 2(b) fotoizomerizací podle příkladu 3(b) v množství 140 mg) v prostředí tetrahydrofuranu (0,5 ml) byl podroben reakci s 1N ethanolickým hydroxidem draselným (3 ml). Po třech hodinách stání při laboratorní teplotě byla upravena hodnota pH reakční směsi přidáním 1% zředěné kyseliny sírové na pH 2 a produkt byl extrahován do etheru, který byl obratem promyt vodou a solným roztokem. Odstraněním etheru se získalo 123 mg v nadpisu uvedené sloučeniny. IR ν_{max} (CCl₄) 3200–2400 (OH karboxylu), 1720 cm⁻¹ (karbonyl). NMR δ (CCl₄): 12,33 (1H, br, COOH); 6,03, 5,8 (2H, dd, 6, 7 H's); 0,53 (3H, s, 18 H's). UV (EtOH): λ_{max} 264 (18300).

b) N,N-pentamethylen-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(Z),7,10(19)-trien [20R-izomer vzorce I, R¹+R² = -(CH₂)₅-, R³=R⁴=H, Y=-(CH₂)₂-]

Karboxylová kyselina, získaná výše uvedeným postupem (a), byla v množství 41 mg rozpuštěna v dichlormethanu (0,5 ml), podrobena reakci s dicyklohexylkarbodiimidem (1 eq.) a 4-dimethylaminopyridinem (2 mg) a poté s piperidinem (1 ep.). Reakční směs byla ponechána přes noc při laboratorní teplotě. Výsledný 1,3-disilylovaný amid byl desilylován (fluoridem tetrabutylamonným) v jako v příkladu 2 (b) k zisku v nadpisu uvedené sloučeniny. IR ν_{max} (CDCl₃) 2600 (–OH), 1630 cm⁻¹ (C=O, t-amid). NMR δ (CDCl₃): 6,26, 5,86 (2H, dd, 6, 7 H's); 5,2, 4,86 (1H každý, s, 19 H's); 4,66 – 3,76 (2h, m, 1, 3 H's); 3,4 (4h, m, NCH₂); 0,5 (3H, s, 18 H's). UV (EtOH): λ_{max} 264 (18300).

Příklad 5

N-cyklopropyl-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(Z),7,10(19)-trien [20R-izomer vzorce I, R¹=H, R²=cyklopropyl, R³=R⁴=H, Y=-(CH₂)₂-]

V nadpisu uvedená sloučenina byla připravena metodou, popsanou v příkladu 4 (b) za použití cyklopropylaminu namísto piperidinu. IR ν_{max} (CDCl₃) 3580 (–OH), 3420 (–NH), 1660 cm⁻¹ (C=O, amid). NMR δ (CDCl₃): 6,26, 5,83 (2H, dd, 6, 7 H's); 5,53 (1H, br s, NH); 5,16, 4,83 (1H každý, s, 19 H's); 4,66–3,83 (2H, m, 1, 3 H's); 0,5 (3H, s, 18 H's). UV (EtOH): λ_{max} 265 (18404).

Příklad 6

1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(U),7,10(19)-trien [20R-izomer vzorce, R¹=R²=R³=R⁴H, Y=(CH₂)₂-]

V nadpisu uvedená sloučenina byla připravena metodou, popsanou v příkladu 4(b) za použití amoniaku místo piperidinu. IR $\nu_{\max}$ (CDCl₃) 3600 (-OH), 3525 & 3410 (-NH₂), 1680 cm⁻¹ (C=O, amid). NMR δ (CDCl₃): 6,30, 5,91 (2H, dd, 6, 7 H's; 5,41 (2H, br s, NH's); 5,26, 4,91 (1H každý, s, 19 H's); 4,66-3,93 (2H, m, 1, 3 H's); 0,53 (3h, s, 18 H's). UV (EtOH): $\lambda_{\max}$ 265 (18300).

Příklad 7

N,N-pentamethylen-1 α ,3 β -di(triizopropylsilyloxy)-9,10-seco-20-epi-cholanamid-5(E),7,10(19)-trien [20S-izomer vzorce II, R¹+R²=(CH₂)₅-, R³=R⁴=(i-Pr)₃Si-, Y=-(CH₂)₂-]

Adiční sloučenina oxidu siřičitého a 20S-formyl-3 β -triizopropylsilyloxy-9,10-secopregna-5,7,10(19)-trien (5,17 g, připraveného z vitaminu D₂ podle popisu v J. Org. Chem. 51, 4819, 1986) byla přeměněna na směs izomerů 20R a 20S zastoupených přibližně 1:1 tak, že byla přes noc ponechána při 0 °C v benzen (50 ml) a methanolu (50 ml), obsahujícím 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undeka-7-en (1 ml). Část směsi (2,55 g) byla úspěšně redukována borohydridem sodným, tosylována p-toluensulfonylchloridem, k odstranění oxidu siřičitého a regeneraci 5,7,10(19)-trienového systému zahřáta v přítomnosti hydrogenuhlčitanu sodného, 1 α -hydroxylována pomocí oxidu seleničitého a methanolu podle popisu v GB-A-2038834 a silylována metodou, popsanou v příkladu 2(b) k získání směsi (1,62 g) izomerů 20S (normálního) a 20R (epi) a tosylátu vzorce III - R³=R⁴=(i-Pr)₃Si-, X=tosyloxy. Druhá část této směsi (511 mg) byla rozpuštěna v acetonitrilu (10 ml) a dichlormethanu (10 ml), podrobena reakci s bromidem lithným (488 mg) a 1,8-bis-(dimethylamino)naftalenem (20 mg) a po 1,5 hodině zahřívání pod zpětným chladičem byly získány bromidy vzorce III, R³=R⁴=(i-Pr)₃Si-, X=Br, (340 mg).

Roztok N-acetyl-piperidinu (546 mg) v tetrahydrofuranu (2 ml) byl při -78 °C přidán k roztoku diizopropylamidu lithného (připraveného z 658 mg diizopropylamidu a 2 ml 1,55 M n-butyllithia) v tetrahydrofuranu (2,5 ml). Reakční směs byla zahřáta na laboratorní teplotu, poté ochlazená na -78 °C, smísena s výše zmíněnými bromidy III (340 mg) a ponechána přes noc při laboratorní teplotě. Po částečném chromatografickém vyčištění byly získány směs R,S izomerů v nadpisu uvedené sloučeniny (215 mg) a nezreagované bromidy vzorce III.

Výše uvedená R,S směs (300 mg) byla chromatograficky rozdělena (za použití 20 g silikagelu a 5% ethylacetátu v hexanu jako vyvíjecího činidla). Prvním izomerem, který se oddělil, byl 20-epiizomer v nadpisu uvedené sloučeniny (103 mg), IR (CCl₄): $\nu_{\max}$ 1645, 1465 cm⁻¹ (amid); UV (Et₂O): $\lambda_{\max}$ 269, 208 nm. $\lambda_{\min}$ 229 nm; NMR δ (CCl₄): 0,57 (3H, s, 18 H's); 3-3,5 (4H, m, N-CH₂); 4-4,6 (2H, m, 1, 3 H's); 4,73 (2H, bs, 19 H's); 5,3-6,4 (2H, ABq, 6, 7 H's). Poté následovala směs normálního izomeru a epiizomeru (95 mg) a nakonec se uvolnit normální (20R) izomer (86 mg).

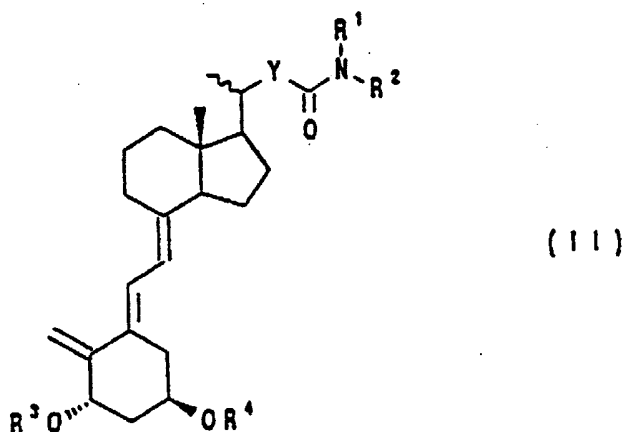
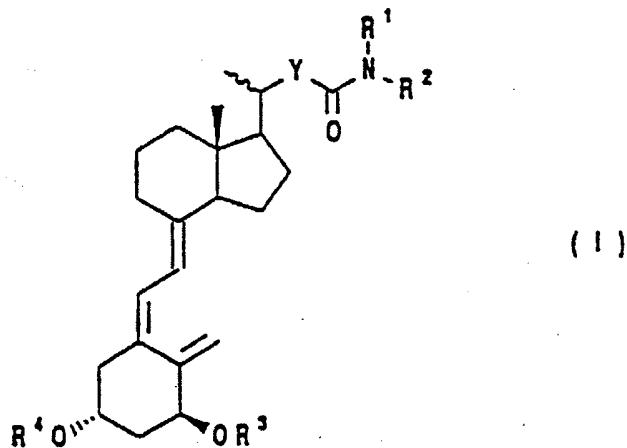
N,N-pentamethylen-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-seco-20-epicholanamid-5(Z),7,10(19)-trien [20S-izomer vzorce II, R¹+R²=(CH₂)₅-, R³=R⁴=H, Y=-(CH₂)₂-]

Ozářením první frakce, získané výše uvedeným postupem a), v přítomnosti fenazinu a následnou desilylací jako v příkladu 1(b) byla získána v nadpisu zmíněná sloučenina, IR (CDCl₃): $\nu_{\max}$ 1620, 1445 cm⁻¹; UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ 207, 263 nm, $\lambda_{\min}$ 227 nm; NMR δ (CDCl₃): 0,51 (3H, s, 18 H's); 3-3,6 (4H, m, N-CH₂); 3,8-4,7 (2H, m, 1, 3 H's); 4,7 a 5,3 (1H každý, s, 19 H's); 5,6-6,5 (2H, ABq, 6, 7 H's). Stejným postupem byla ze dvou následných frakcí získána (i) směs normálního izomeru a epiizomeru a (ii) sloučenina, popsána v příkladu 4(b).

PATENTOVÉ NÁROKY

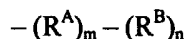
5

1. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II



- 10 kde Y znamená alkylenovou nebo alkenylenovou skupinu tvořenou až 4 atomy uhlíku,
- 15 R^1 a R^2 nezávisle znamenají atom vodíku, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku nebo cykloalkyl o 3 až 8 atomech uhlíku nebo tvoří spolu s atomem dusíku, na něž jsou vázány heterocyklickou skupinu, tvořenou pyrrolylovým, pyrazolylovým, imidazolylovým, indolylovým, indazolylovým, purinylovým, pyrrolidinylovým, imidazolidinylovým, pyrazolidinylovým, piperidylovým, morfolinylovým, thiazolidinylovým nebo thiamorfolinylovým zbytkem a
- 20 R^3 a R^4 nezávisle znamenají atom vodíku nebo ochrannou skupinu na atomu kyslíku ze skupiny etherifikačních skupin trialkylsilyl s alkylovými částmi o 1 až 6 atomech uhlíku, triarylsilyl s arylovými částmi o 6 až 12 atomech uhlíku, směsné alkylarylové skupiny s alkylovou částí o 1 až 6 a arylovou částí o 6 až 12 atomech uhlíku, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku nebo tetrahydropyranyl nebo ze skupiny esterifikačních skupin alkanoyl o 1 až 6 atomech uhlíku, aroyl o 7 až 15 atomech uhlíku, alkansulfonyl o 1 až 6 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný atomem halogenu nebo p-toluensulfonyl.
- 25

2. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle nároku 1, v nichž Y znamená skupinu obecného vzorce



kde

R^A znamená $-\text{CH}=\text{CH}-$, R^B znamená $-\text{CH}_2-$, m znamená 0, 1 nebo 2 a n znamená 0 nebo celé číslo za předpokladu, že $2m+n = 1, 2, 3$ nebo 4.

3. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle nároku 1, v nichž Y znamená alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku.

4. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle některého z nároků 1 až 3, v nichž alespoň jeden ze symbolů R^1 a R^2 má význam, odlišný od atomu vodíku.

5. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle některého z nároků 1 až 4, v nichž R^1 a R^2 znamenají atomy vodíku, methyl a cyklopropyl nebo R^1R^2N- znamená piperidyl.

6. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle některého z nároků 1 až 5, v nichž konfigurace v poloze 20 je R a R^1 a R^2 mají význam, odlišný od cykloalkylové skupiny.

7. Amidové deriváty vitaminu D obecného vzorce I a II podle nároku 6, v nichž Y znamená skupinu $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

8. Amidový derivát vitaminu D podle nároku 1,
1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-seco-25-azacholesta-5(Z),7,10(19)-trien-24-on.

9. Amidové deriváty vitaminu D podle nároku 1 ze skupiny
1 α ,3 β -dihydroxy-23,23-bishomo-24-aza-9,10-secocholesta-5(Z),7,10(19)-trien-24-on;
26-dimethylamid 1 α ,3 β -dihydroxy-27-nor-9,10-secocholesta-5(Z),7,10(19),22,24-pentaen-26-karboxylové kyseliny;
N,N-pentamethylen-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(Z),7,10(19)-trien;
N-cyklopropyl-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(Z),7,10(19)-trien;
1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-secocholanamid-5(Z),7,10(19)-trien;
N,N-pentamethylen-1 α ,3 β -dihydroxy-9,10-seco-20-epi-cholanamid-5(Z),7,10(19)-trien;

a jejich odpovídající 5(E) izomery.

10. Způsob výroby amidových derivátů vitaminu D obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že se podrobí izomeraci sloučenina obecného vzorce II podle nároku 1, načež se popřípadě odstraní ochranné skupiny na atomu kyslíku.

11. Farmaceutický prostředek, vyznačující se tím, že jako svou účinnou složku obsahuje amidový derivát vitaminu D podle nároků 1, 8 nebo 9 spolu s farmaceutickým nosičem nebo pomocnými látkami.

Konec dokumentu
