

62.988/SM

K I V O N A T

Eljárás 4-amino- Δ^4 -3-ketoszteroidok előállítására 4-nitro- Δ^4 -3-ketoszteroidokon keresztül

Merrell Pharmaceuticals Inc., Cincinnati, Ohio, Amerikai Egyesült Államok

A bejelentés napja: 1995. április 11.

Elsőbbsége: 1994. május 2. (08/231,433) Amerikai Egyesült Államok

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/04399

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/29932

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű vegyületek - ahol a képletben

R hidroxil-, alkanoil-, alkanoil-oxi-, alkanol-, COCH_2OH , CO_2H , CONR_7R_8 ciklopropil-oxi-, acetiltio-alkán-, ciklopropil-amino-, t-butil-karboxamid-, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-, 1,2-dihidroxi-etil- és alkán-tiol-csoport;

R_1 hidrogénatom, hidroxil- vagy alkilcsoport;

R_2 , R_3 és R_4 egymástól függetlenül hidrogénatom vagy alkilcsoport;

R_5 és R_6 egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_7 hidrogénatom vagy alkilcsoport;

R_8 alkilcsoport; és

a gyűrűn a ----- kettős vagy egyes kötést jelez;

R és R_1 együttesen, és/vagy R_5 és R_6 együttesen =O atomot jelenthet;

azzal a feltétellel, hogy ha R hidroxilcsoport, akkor R_1 hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 hidroxilcsoport, akkor R_6 hidrogénatom -

előállítására,

oly módon, hogy

- a) valamely (II) általános képletű kiindulási vegyületet - ahol $R-R_8$, és ----- jelente-
tése a fentiekben megadott - valamely hatékony mennyiségű erős bázissal,
emelt hőmérsékleten a megfelelő termodinamikus 3,5-dienolát kialakulásáig
kezelünk megfelelő ideig, majd valamely semleges nitráló szert adagolva va-
lamely 4-nitro-szteroidot kapunk; majd
- b) a 4-nitro-szteroidot valamely alkalmas redukálószerrel reagáltatjuk.

A találmány szerinti vegyületek androgén és/vagy esztrogén inhibitor
vegyületek, C_{17-20} liáz, $C_{17\alpha}$ -hidroxiláz és 5α -reduktáz enzim gátló hatással
rendelkezők.

3035/96

62.988/SM

S.B.G. & K.
Nemzetközi
Szabadalmi Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323

34 107

A

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Eljárás 4-amino- Δ^4 -3-ketoszteroidok előállítására 4-nitro- Δ^4 -3-ketoszteroidokon keresztül

Merrell Pharmaceuticals Inc., Cincinnati, Ohio, Amerikai Egyesült Államok

Feltalálók: WEINTRAUB Philim Parvin, Cincinnati,

GATES Cynthia Ann, Fairfield,

ANGELASTRO Michael Richard, ~~Mason~~, *Cincinnati*,

CURRAN Timothy Thomas, Cincinnati,

FLYNN Gary Alan, Cincinnati,

KING Chi-Hsin Richard, Cincinnati,

Ohio, Amerikai Egyesült Államok

04.
A bejelentés napja: 1995. *04.* április 11.

05-02
Elsőbbsége: 1994. *05-02* május 2. (08/231,433) Amerikai Egyesült Államok

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/04399

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/29932

A technika állása

A találmány tárgya általános androgén és/vagy esztrogén gátló vegyületek, azok felhasználása a C₁₇₋₂₀ liáz, a C_{16 α} -hidroxiláz és az 5 α -reduktáz gátlására és módszer a 4-amino- Δ^4 -3-ketoszteroidok előállítására.

Az androgén és esztrogén bioszintéziseket a C_{17-20} liáz és $C_{17\alpha}$ -liáz-hidroxiláz szteroid duálisan aktiváló enzimek hatása szabályozza. Míg a C_{17-20} liáz katalizálja a két szénatomos mellékláncot tartalmazó szteroidok átalakulását a 17β -helyzetben, a $C_{17\alpha}$ -liáz-hidroxiláz az ilyen molekulához a 17α -helyzetben hidroxil-csoportot köt. A C_{17-20} liáz működése fontos prekursor molekulákat valósít meg tesztoszteront, 5α -dihidroxi-tesztoszteront és az esztrogéneket, főként az esztront és az extradiolt képezve. Hatékony gátlása a C_{17-20} liáznak mind az androgén, mind az esztrogén szteroidok képződésének gátlására használható és így módon felhasználható olyan betegségek vagy elváltozások kezelésére, ahol ezeknek az endrogéneknek és/vagy esztrogéneknek káros szerepe van.

Az 5α reduktáz enzim a tesztoszteron átalakulását katalizálja dihidrotesztoszteronra vagy DHT-vé (17β -hidroxi- 5α -androsztán-3-on). A DHT a tesztoszteronnál potenciálisan erősebb androgén és bizonyos szövetekben, különösen a kötőszövet növekedésében mint egy vég-organikus effektor működik. Ennek az enzimnek a hatékony gátlása felhasználható a DHT képződésének megőrzésére és így módon felhasználható az androgén függő elváltozások kezelésére, különösen azokban az esetekben, melyekben a DHT alapvető káros szerepet játszik.

Mint az előzőekben említett inhibitorok az androgén és/vagy esztrogén bioszintézis különböző lépéseire hatnak, mindegyiknek ismert a terápiás alkalmazása a különböző androgén és/vagy esztrogén függő elváltozások kezelésére és kívánatos alternatív eljárások kidolgozása ezen inhibitorok szintézisére. Bizonyos 4-amino-szteroid származékokat melyeket a jelen bejelentésben ismertetett eljárással állítunk elő, a 4,767,061 számú amerikai egyesült

államokbeli szabadalmi leírás ismertet (engedélyezve 1988. július 12.), továbbá az 1992. június 9-én engedélyezett 5.120,840 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás és az 1992. szeptember 1-jén engedélyezett 5.143,909 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ír le. Ezen leírások a vegyületek háromlépéses szintézisét ismertetik, belefoglalva a 4,5-epoxi-szteroid származékok képződését, melyet nátrium-aziddal történő kezeléssel 4-azido-szteroid származékká alakítanak. A 4-azido-szteroid származékokat ezután redukálva a 4-amino-szteroid származékokhoz jutnak. Ezekben a szintézisekben a nátrium-azid felhasználása egészségi kockázatot jelent a vegyület instabilitása miatt. Az átlagos szakember biztonságosan kis méretben ezen eljárást végre tudja hajtani laboratóriumban, azonban csupán kis mennyiségű nátrium-azid használható. Nagy mennyiségű ipari termelés során azonban a 4-amino-szteroid származék előállítása nagy mennyiségű nátrium-azid felhasználását és annak sok származékát a hidrazoilsav alkalmazását követeli. Ezen szintézisben, mely nagy mennyiségű nátrium-azidot és hidrazoilsavat igényel, a megemelt hőmérséklet is jelentős kockázatot jelent az emberi életre és környezetre. A környezeti és egészségi kockázatok a megfelelő kémiai üzemek tervezésével csökkenthetők, azonban az ilyen költségek korlátozóak és az ilyen rizikók sem szüntethetők teljesen meg. A 4-amino- Δ^4 -szteroid háromlépéses szintézisét 4-azido-intermedieren keresztül grafikusan az A reakcióvázlat mutatja.

A Δ^4 -3-ketoszteroidok nitrálására tett korábbi erőfeszítéseket Saub és munkatársai a Tetrahedron 20:373 (1964) irodalmi helyen ismerteti, továbbá Suginome és munkatársai J. Bull. Chem. soc. Jap. 62:1343 (1989) publikációban, arról számolnak be, hogy a megfelelő 2-nitro-szteroid képződik a nitrálás

folyamán. Ez a tény azt tételezi fel, hogy a nitrálás kinetikusan a 2,4-dienoláton keresztül erőteljesebben megy végbe, mint a 3,5-dienoláton, mely termodinamikusan kedvezőbb. A 4-nitro-szteroidok képződése olyan körülményeket igényel, amely támogatja a 3,5-dienolátok képződését a 2,3-dienolátokkal szemben.

A találmány tárgya

A találmány tárgya új eljárás a 4-amino-3-ketoszteroidok előállítására 4-nitro-3-ketoszteroidok képződésén keresztül, melyek a megfelelő 3,5-dienolát nitrát termékei.

A találmány tárgya új eljárás az (I) általános képletű vegyületek - ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, ciklopropil-amino-csoport, acetil-tio-alkán-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R és R_1 együttesen =O atomot képezhet, mely oxigénatom kettőskötéssel kötődik a 17-es szénatomhoz;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_5 és R_6 együttesen =O atomot jelenthet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 11-es szénatomhoz;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport; és

a gyűrűn a ----- kettős vagy egyes kötést jelez;

a  vagy  jelzi, hogy valamely szubsztituens α -konfigurációjú (a papír síkja alatt);

a  vagy  jelzi, hogy valamely szubsztituens β -konfigurációjú (a papír síkja felett),

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom; - előállítására,

azzal jellemezve, hogy

- a) valamely (II) általános képletű kiindulási vegyületet - ahol a képletben $R-R_8$, és -----, továbbá  vagy  és  vagy  jelentése a fentiekben megadott - valamely hatékony mennyiségű erős bázissal, emelt hőmérsékleten vagy alkalmas hőmérsékleten a megfelelő termodinamikusan kialakulásáig alkalmas ideig reagáltatunk, majd valamely neutrális és nitráló szert adagolva a 4-nitroszteroidhoz jutunk, majd
- b) a 4-nitroszteroidot valamely alkalmas redukálószerrel reagáltatjuk, és
- c) kívánt esetben a kapott 4-amino-szteroidot valamely gyógyászatilag elfogadható sóvá alakítjuk.

Amennyiben a nitrálás utáni modifikációra igény merül fel, ezt a szokásos módon ismert eljárásokkal hajtjuk végre. Például a 4-nitro-tesztoszteron 17-es hidroxilcsoportjának oxidációja a megfelelő 17-ketont adja, mint azt a B reakcióvázlat mutatja.

A védőcsoportok eltávolítását a C reakcióvázlat szerint hajtjuk végre.

A találmány tárgya továbbá bizonyos 4-nitro-szteroidok, melyek a C_{17-20} liáz, $C_{17\alpha}$ -hidroxiláz és/vagy az 5α -reduktáz inhibitoraiként használhatók fel. Ezek a vegyületek a (III) általános képlettel jellemezhetők, ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, $COCH_2OH$ csoport, CO_2H csoport, $CONR_7R_8$ csoport, ciklopropil-oxi-csoport, ciklopropil-amino-csoport, acetil-tio-alkán-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_1 és R_2 együttesen $=O$ atomot képezhet, mely oxigénatom kettőskötéssel kötődik a 17-es szénatomhoz;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_5 és R_6 együttesen $=O$ atomot képezhet, mely oxigénatom kettőskötéssel kötődik a 11-es szénatomhoz;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport; és

a  a gyűrűn azt jelzi, hogy a kötés egyes vagy kettős kötés;

a  vagy  azt jelzi, hogy valamely szubsztituens α -konfigurációjú (a papír síkja alatt);

a  vagy  azt jelzi, hogy valamely szubsztituens β -konfigurációjú (a papír síkja felett);

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom.

A találmány tárgya továbbá módszer a C_{17-20} liáz, $C_{17\alpha}$ -hidroxiláz és/vagy 5α -reduktáz szteroid gátlására oly módon, hogy hatékony gátló mennyiségű találmány szerinti vegyületeket adunk.

A találmány részletes leírása

A kiindulási anyagok ismertek vagy ismert módon állíthatók elő.

A leírásban használt „1-6 szénatomos alkanoil” kifejezés egyenes vagy elágazó láncú alkanoil-csoportot jelent, amely 1-6 szénatomot tartalmaz, beleértjük ebbe a meghatározásba a formilcsoportot, az acetyl-csoportot, a propionil-csoportot, a butiril-csoportot, az izo-butiril-csoportot, a hexanoil-csoportot és hasonlókat.

Az „1-4 szénatomos alkanol” kifejezés egyenes vagy elágazó láncú 1-4 szénatomos alkohol csoportot jelent, mely legalább egy hidroxil funkciós csoportot tartalmaz, de egy adott szénatomhoz egy hidroxilcsoportnál több nem kapcsolódhat. Beleértjük ebbe a kifejezésbe a metanolt, az etanolt, az n-propanolt, az izopropanolt, az n-butanolt, a 2-butanolt, a 2-metil-1-propanolt, a 2-metil-2-propanolt, az 1,2-dihidroxi-etanolt, az 1,3-dihidroxi-izopropanolt és hasonló vegyületeket.

Az „1-6 szénatomos alkil” kifejezés alatt telített egyenes vagy elágazó láncú szénhidrogén csoportot értünk, mely 1-6 szénatomot tartalmaz. Ilyen csoportok a metilcsoport, az etilcsoport, az n-propil-csoport, az izopropil-csoport, az n-butil-csoport, az izobutil-csoport, a terc-butil-csoport, az n-pentil-csoport, n-hexil-csoport.

Az „1-8 szénatomos alkilcsoport” kifejezés alatt telített egyenes vagy elágazó láncú szénhidrogén csoportokat értünk, melyek 1-8 szénatomot tartalmaznak. Ilyen csoportok a metilcsoport, etilcsoport, n-propil-csoport, izopropil-csoport, n-butil-csoport, izobutil-csoport, terc-butil-csoport, n-pentil-csoport, n-hexil-csoport, n-heptil-csoport, n-oktil-csoport.

Az „1-4 szénatomos alkán-tiol” kifejezés alatt telített vagy elágazó láncú 1-4 szénatomos szénhidrogén csoportot értünk, mely tiol funkciós csoportot tartalmaz. Ebbe a kifejezésbe értjük a metil-tiol-csoport, az etil-tiol-csoportot, a propil-tiol-csoportot, az izopropil-tiol-csoportot, az n-butil-tiol-csoportot, az izobutil-tiol-csoportot, a t-butil-tiol-csoportot.

Az „acetyl-tiol-alkán” kifejezés alatt telített egyenes vagy elágazó láncú 1-8 szénatomos szénhidrogén csoportot értünk, mely valamely acetyl-tiol funkciós csoportot tartalmaz. Ilyen csoportok az acetyl-tio-metil-csoport, az acetyl-tio-etil-csoport, az acetyl-tio-propil-csoport, az acetyl-tio-izopropil-csoport, az acetyl-tio-butil-csoport, az acetyl-tio-s-butil-csoport, az acetyl-tio-t-butil-csoport és hasonló.

Az „1-6 szénatomos alkanoil-oxi” kifejezés alatt telített egyenes vagy elágazó láncú 1-8 szénatomos szénhidrogén csoportot értünk, mely valamely karboxilát funkciós csoportot tartalmaz. Ilyen csoportok a formiloxi-csoport, az acetoxi-csoport, a propionil-oxi-csoport, az izopropionil-oxi-csoport, az n-butilil-oxi-csoport, az s-butilil-oxi-csoport, a t-butilil-oxi-csoport, az n-pentanoil-oxi-csoport, az s-pentanoil-oxi-csoport, a t-pentanoil-oxi-csoport, az n-hexanoil-oxi-csoport és hasonló.

A „gyógyászati lag elfogadható só” kifejezés az átlagos szakember számára könnyen meghatározható és valamely savaddíciós sôt jelent, melynek nincs szignifikáns toxikus hatása a betegre és megfelelő formulálási és tárolási

tulajdonsággal rendelkeznek. Ilyen sók akár szervetlen akár szerves sók, adott esetben azok hidrátjai vagy vízmentes szubsztanciák lehetnek. Az alkalmas szervetlen savak, melyek ilyen megfelelő sókat képeznek, a sósav, a hidrogén-bromid, a kénsav, a foszforsav; a fém sók, így a nátrium-monohidrogén-orto-foszfát és a kálium-hidrogén-szulfát. A szerves savak, melyek megfelelő sókat képeznek, mono-, di- vagy tri-karbonsavak lehetnek. Ilyen savak lehetnek például az ecetsav, a glikolsav, a tejsav, a piruvinsav, a malonsav, a borostyánkő-sav, a glutársav, a fumársav, a malinsav, a borkősav, a citromsav, az aszkorbinsav, a maleinsav, a hidrox-maleinsav, a benzoésav, a hidrox-benzoésav, a fenil-ecetsav, a fahéjsav, a szalicilsav, a 2-fenoxi-benzoésav és a szulfonsavak, így a metán-szulfonsav és a 2-hidrox-benzoésav és a 2-hidrox-etán-szulfonsav.

A D reakcióvázlat bemutatja azt a találmány szerinti eljárást, ahol a Δ^4 -3-on szteroidot a megfelelő 4-nitro vegyületté nitráljuk oly módon, hogy először hatékony mennyiségű kielégítően erős bázissal reagáltatva kialakítjuk a $\Delta^{3,5}$ -dienolátot. A „hatékony mennyiségű erős bázis” kifejezés alatt valamely olyan mennyiségű és erős alkalmas bázist értünk, mely a Δ^4 -3-on kiindulási vegyületet alkalmas reakciókörülmények között termodinamikus dienoláttá alakítja.

Az alkalmas reakciókörülmények megválasztásában a megfelelő bázis és annak koncentrációja más reakciókörülményektől függ, így a szubsztituensek számától és típusától, a reakcióidőtől, az oldószertől és az alkalmazott hőmérséklettől. A termodinamikus dienolát intermedier képződésének paramétereit a 6-os szteroid szénatom deprotonálásán keresztül az alábbi szövegrész részletezi. A felhasználható „erős bázisok” kifejezés alatt fém alkoholátokat és hasonló vegyületeket, előnyösen 3-6 szénatomos egyenes szénláncú alkoho-

lok sóit értjük. Különösen előnyösen alkalmazhatók a 3-5 szénatomos egyenes láncú alkoholok, így például a kálium-terc-butoxid.

A „hatékony mennyiségű” erős bázis a szteroidon lévő savas protonok számától függően változik. Valamely „savas proton” alatt olyan csoportot értünk, amely könnyen disszociál, például hidroxilcsoport, CO_2H csoport, NH csoport. Mindegyik savas proton egy további ekvivalens bázis felhasználását igényli. A felhasznált jellegzetes bázisokat jelen leírásban a „nem savas proton” kifejezéssel jelöljük, amely a szteroidokban helyet kap és mennyiségük legalább két mol ekvivalens a szteroid vegyülethez viszonyítva. Előnyösen 2-4 molár ekvivalenst, különösen előnyösen 2 molár ekvivalenst alkalmazunk kizárólagosan a savas protonokból.

A denolát intermedier képződése a nitrálási reakcióban a szakember számára ismert módon szignifikáns módon a reakcióhőmérséklettel és a reakcióidővel befolyásolható. Megemelt hőmérsékleten rövidebb reakcióidő várható, míg alacsonyabb hőmérsékleteken alacsonyabb a reakcióidő. A találmány szerint eljárva a gyakorlatban „a megemelt hőmérséklet” $50\text{-}100^\circ\text{C}$, előnyösen $50\text{-}83^\circ\text{C}$, különösen előnyösen 83°C körüli érték. A megemelt hőmérséklet „kielégítő időtartama megfelelő termodinamikus dienolát képzéséhez” kb. 15 perc és 8 óra, előnyösen 15-180 perc, különösen előnyösen 60 perc körüli reakcióidő.

Az alacsonyabb hőmérséklet valamely „alkalmas hőmérséklet” tartomány alatt $15\text{-}50^\circ\text{C}$, előnyösen $17\text{-}30^\circ\text{C}$, különösen előnyösen $20\text{-}25^\circ\text{C}$ körüli hőmérsékletet értünk. Ezeken a hőmérsékleteken „kielégítő idő a termodinamikus dienolát képzéséhez” 15 perc - 48 óra, előnyösen 1-25 óra és különösen előnyösen 10-24 óra körüli érték. A reakció kitermelése az alacsonyabb reakcióhőmérsékleten és hosszabb reakcióidővel növelhető, és ez előnyös a talál-

mány szerint a gyakorlatban eljárva. Bizonyos oldószerek, melyeket előnyösen alkalmazhatunk a találmány szerinti eljárásban, a fenti hőmérsékletnél alacsonyabb végfagyáspont értékkel rendelkeznek, ily módon enyhén melegíteni és főleg keverni szükséges az oldószereket és a reaktánsokat, mielőtt a reakciót végrehajtjuk ezeken az alacsonyabb hőmérsékleteken.

A nitrálás végrehajtásához szükséges megfelelő oldószerként bármely egyenes vagy elágazó láncú 2-5 szénatomos alkán alkohol alkalmazható. Különösen előnyösen alkalmazhatók a szekunder és tercier alkoholok. Például előnyösen etanolt vagy izopropanolt használunk, hatékonyan alkalmazhatjuk a tercier-amil-alkoholt és a tercier-butil-alkoholt is. Különösen előnyös oldószer a terc-butanol.

A nitrálási reakció bármely neutrális nitráló szerrel, például alkil-nitrátokkal végrehajtható. A megfelelő alkil-nitrát kiválasztását a reaktivitás és a költségek megfontolása határozza meg. Alkalmas alkil-nitrátok bármely telített egyenes vagy elágazó láncú szerves nitrátok, melyek 3-8 szénatomot tartalmaznak. Előnyös alkil-nitrátok például az izopropil-nitrát, az izobutil-nitrát és a 2-etil-hexil-nitrát. Különösen előnyösen alkalmazható alkil-nitrát az izopropil-nitrát.

A 4-nitroszteroid vegyületek valamely alkalmas redukálószerrel történő redukciója önmagában ismert módon hajtható végre, például akár kémiai vagy katalitikus úton. Tipikus kémiai katalizátorok: 1) cink fém ecetsavban; 2) cink fém metanolban, akár ammónium-kloriddal vagy anélkül; 3) ón klorid etanolban; 4) vas ecetsavban és etanolban. Valamely hatékony katalizátor rendszer Lindlar katalizátort foglal magában (palládium kalcium-karbonátra felvive ólommal és kinolinnal) valamely alkohol oldószerben, így például etanolban. Más rendszerek is használhatók a katalitikus hidrogénezésre, például aktív

szenes palládium és ammónium-formiát metanolban, aktív-szenes palládium és trifluor-ecetsav etanolban vagy palládium bárium-szulfáton etanolban.

A találmány szerinti vegyületek *in vitro* enzimatisz inhibitor aktivitása C₁₇₋₂₀ liáz szteroid inhibitorként patkányról vagy kinomogus majom tesztikuláris szövetből nyert enzim mikroszomális preparátumok vizsgálatával történt. A mikroszómákat a kinomogus majmokból vagy patkány tesztikuláris szövetekből izoláltuk. A vizsgált vegyületet dimetil-szulfoxidban oldottuk és 0,05M kálium-foszfát pufferban hígítottuk (a kinomogus majom liáz aktivitása esetén a pH = 7,4 és a patkány liáz aktivitása esetén a pH = 7,2) és ily módon a megfelelő tesztvegyület koncentrációt állítottuk be. A DMSO végső vizsgálati koncentrációja 0,1% (térfogat/térfogat). A vizsgálatok során NADPH regeneráló rendszert használtuk, mely 1M NADPH-t, 5 mM glükóz-6-foszfátot, 1 IU/ml glükóz-6-foszfát dehidrogenázt és mikroszomális proteint foglal magában a 0,2 ml teljes térfogatban.

A C₁₇₋₂₀ liáz inaktiválásának időfüggését oly módon határoztuk meg, hogy a tesztvegyületet 20-62 µg/ml mikroszomális proteinnel, 0,05 M kálium-foszfát pufferben pH = 7,4 értéken NADPH regeneráló fentiek szerint leírt rendszerben 34°C hőmérsékleten 0-40 percen keresztül inkubáltuk. Az enzimaktivitás mérésére ezután 180 µl alikvotot vettünk a vizsgálandó anyagból. Mindegyik alikvothoz [7-³H]-17α-hidroxi-pregnenolont adtunk (11,2 mCi/mmol; 0,2 µCi vizsgálatonként) plusz nem jelzett 17α-hidroxi-pregnenolont adagolva a 0,3 µM végső teljes szubsztrát koncentrációt állítottunk be, ezután 34°C hőmérsékleten 6 percen keresztül inkubáltunk. A tesztvegyület reverzibilis gátlásának meghatározására a reakciót szubsztrát és inhibitor (vagy DMSO pufferben kontrollként) adagoltunk szimultán más vizsgálandó komponensekkel. A

kinomogus majom liáz esetében felhasznált szubsztrát a 7-³H-17 α -hidroxi-pregnenolon, melyet 0,3 μ szubsztrát végkoncentrációban kaptunk. A patkány liáz aktivitás vizsgálatára [1,2-³H]- 17 α -hidroxi-progesztelon szubsztrátot használva 0,1 μ M szubsztrát végkoncentrációt kaptunk ($K_m = 0,095 \mu$ M). A teljes vizsgálat során az inkubálást 34°C hőmérsékleten percen keresztül végeztük mind a patkány mind a majom liáz esetében.

A találmány szerinti vegyületek 5 α -reduktáz inhibitor aktivitását oly módon határoztuk meg, hogy laboratóriumi állatok prosztata szövetéből 5 α -reduktáz enzim készítményeket mikroszomálisan preparáltunk és használtunk. A mikroszómákat specifikusan stimuláltuk a cynomolgus majom prosztata szövetéből. A mikroszomális készítmények fehérje koncentrációját a minták felhasználására mértük. Az individuális vizsgálatok során a cynomolgus majom prosztata 5 α -reduktáz aktivitást 0,1 M kálium-foszfát-nátrium-citrát pufferban pH = 5,6 értéken 0,1 bovin szérum albumin (tömeg/térfogat), 1,0 mM nátrium EDTA-ban, 7-96 mg mikroszomális proteint felhasználva (1,0 mM NADPH-t, 5,0 mM glukóz-6-foszfátot és 1 IU/ml glukóz-6-foszfát dehidrogenázt, [1,2-³H]-tesztoszteront (0,15 μ Ci) vizsgáltuk a jelzetten tesztoszteron értéke a szubsztrát kívánt koncentrációjához DMSO-ban oldott inhibitor felhasználva került vizsgálatra, mely oldás után a rendszert 0,1 M kálium-nitrát citrát pufferben (50:50) hígítottuk, a pH-t 5,6 értékre állítottuk és ily módon értük el a végső 0,1% (térfogat/térfogat) koncentrációt DMSO-ban. Ugyanaz a puffer és DMSO inhibitor nélkül került felhasználásra a kontroll vizsgálatokban. A háttér radioaktivitást valamennyi vizsgálat során meghatároztuk, eltekintve az enzimet tartalmazó vizsgálatoktól. A vizsgálatokat kétszer ismételtük. A reakciót tesztoszteron adagolásával iniciáltuk és 30 percen keresztül 25°C hőmérsékle-

ten Dubnoff® shakerben inkubáltunk. A vizsgálatokat ezen körülmények között lineárisan az időben 30 percig végeztük.

A gátlás teszteléssel a találmány szerinti vegyületeket a tesztoszteronnal együttesen adagoltuk. Az IC_{50} érték meghatározására a K_m szinten meghatározott tesztoszteron koncentrációt használtuk. A tesztoszteron K_m értékét többszörös mérésrel 0,025 μM - 0,091 μM cynomolgus 5α -reduktáz határok között határoztuk meg.

Mindegyik vizsgálatot 5 ml kloroform:metanol (2:1) adagolásával fagyasztottuk be. Ezután mindegyik vizsgálati anyaghoz 2,5 μg vivő szteroid terméket és szubsztrátot, továbbá 0,8 ml desztillált deionizált adagoltunk. A liáz vizsgálatra vivő szteroidként 17α -hidroxi-pregnenolont, dehidroepi-androszteront és androszt-5-én- 3β , 17β -diolt (cynomolgus majom liáz vizsgálat) vagy 17α -hidroxi-progesztelont, androszten-diont és tesztoszteront, (patkány liáz vizsgálatra) használtunk. Vivő szteroidként tesztoszteront, dihidro-tesztoszteront és 3,17-andosztrán-diolt adtunk az 5α -reduktáz vizsgálati anyaghoz. A radiojelzett és jelzetlen szteroidokat Moore and Wilson (Methods in Enzymol., eds. O'Malley, B.W. and Hardlan, J.G. 36, 1975, pp. 466-473) irodalmi helyen leírt módszerrel extraháltunk. A szteroidokat tartalmazó szerves fázist nitrogén atmoszférában bepároltuk. A liáz vizsgálatra a párlási maradékot 18% tetrahidrofurán/hexán rendszerben oldottuk (térfogat/térfogat%). Az 5α -reduktáz vizsgálatokra a száraz szteroid párlási maradékot 3% (térfogat/térfogat%) izopropanol-hexán rendszerben oldottuk, majd a szteroidokat normál fázisú HPLC-t használva elválasztottuk LiCrosorb® DIOL származék szilikagél oszlopon (10 μm ; 4 x 250 mm) 3%-7.5% izopropanolos-hexán gradienst alkalmazva, majd az elúciót izokratikus körülmények között 75% izopropanol/hexán

(térfogat/térfogat) megvalósítva folytattuk. A szteroid csúcsok radioaktivitását Radiomatic® Model HS vagy Model A515 Flo-One detektort használva mértük mindkét liáz és az 5α -reduktáz vizsgálat során.

Az enzim aktivitást oly módon mértük, hogy százalékosan kiszámoltuk a szubsztrátnak a termékekké történő átalakulását és az eredményeket a kontrollhoz viszonyítva százalékos gátlásban fejeztük ki. A kísérleti adatokat két megfelelő paraméter modelt beépítve 6 inhibitor koncentrációnál az IC_{50} értéket meghatároztuk. A fentiek szerint eljárva a vizsgált vegyületekkel a következő eredményeket nyertük: (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on majom tesztikulár C_{17-20} liáz esetében 41 nM IC_{50} értéket mutatott ez az érték 86 nM a majom tesztikulár C_{17-20} liáz esetében és 17 nM a majom prosztata 5α -reduktáz esetében. Ha a fentiek szerint vizsgált vegyületeket a cynomolgus majom tesztikuláris liázzal is teszteltük, az 1. táblázat szerinti eredményeket kaptuk.

1. táblázat

Vegyület	Preinkubálás idő	Koncentráció (μ M)	Gátlás %
17 β -ciklopropil-oxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on	0	1	78
		0,1	36
	40	1	95
		0,1	79
(20S)-20-merkapto-metil-4-nitropregn-4-én-3-on	0	1	69
		0,1	0
	40	1	93
		0,1	26

A C_{17-20} szteroid liáz, az 5α -szteroid reduktáz és/vagy a 17α -szteroid-hidroxiláz gátlásában „a hatékony gátló mennyiség” alatt a találmány szerinti vegyület olyan mennyiségét értjük, mellyel az enzim gátló hatást elérjük. A pontos mennyiség, amely a kívánt szint eléréséhez szükséges, az enzim koncentrációtól, a felület nagyságától, a hőmérséklettől és más jellegzetes kísérleti

paramétertől függ és a gyakorló szakember számára jól ismert. Amennyiben ilyen vegyületeket adunk a betegeknek, a minimális hatékony mennyiség az a mennyiség, amellyel a terápiás hatást elérjük. A találmány szerinti vegyületeknek a dózisa különösen a betegtől és a beteg súlyától függően széles körben. Például a kezelendő betegtől és a kezelendő elváltozás súlyosságától függően a találmány szerinti vegyületek hatékony gátló mennyisége 0,625-62,5 mg/testtömeg kg/nap, előnyösen 0,5-30 mg/testtömeg kg/nap. Orális adagolás esetén például a dózisegység 10-500 ml találmány szerinti vegyületet tartalmaz. Alternatív megoldásként a találmány szerinti vegyületeket parenterális úton vagy implantátumban adhatjuk.

A következő példákban találmányunkat illusztráljuk anélkül, hogy igényünket csupán azokra korlátoznánk. A leírásban használt kifejezésekben a „szobahőmérséklet” 20-23°C hőmérsékletet jelent.

1. Művelet: 4-nitroszteroidok előállítása

1. Példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása (1)

1,70 g (15 mmol) kálium-terc-butoxidot és 4,65 (5 mmol) (20S)-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont 25 ml terc-butanolban elkeverünk és az elegyet 75 percen keresztül argon atmoszférában reflux hőmérsékleten tartjuk. Ezután a refluxáló reakcióelegyhez 0,51 ml (50 mmol) izopropil-nitrátot adunk, mely exoterm reakciót eredményez. 1 perc elteltével a reakcióedényt a fűtés alól elmozdítjuk és szobahőmérsékletre hűtjük. A lehűlt reakcióelegyet ezután 5 ml ecetsav adagolásával megsavanyítjuk és 1 napon keresztül keverjük. Az elegyet ezután diklórmetánnal hígítjuk, amíg elkülönült fázis nem képződik, mely elegendő a szintetizált termék oldásához. Ezután a szilárd terméket szűrővel elkülönítjük és diklór-metánban mossuk. A kapott anyagokat mind a szűrletet,

mind a mosófolyadékot egyesítjük és bepároljuk. A párlási maradékot glikol-metánban oldjuk, oszlopkromatográfiásan szilikagélen tisztítjuk, és ily módon (20S)-20-hidroxi-metil-4-hidropregn-4-én-3-ont kapunk. Vizes acetontól ezt az anyagot átkristályosítva fehér pálcikákat kapunk. Olvadáspont 166-168°C.

IR 3435, 1696, 1623(m), 1633 cm^{-1}

MS(Cl) 376 (100%, M+1), 358 (30%, M+1-H₂O)

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0,73 (3H, s, C₁₈-Me), 1,06 (d, C₂₀-Me), 1,29 (s, C₁₉-Me), 3,38 (1H, dd, 1/2.C₂₁-CH₂), 3,64 (1H, dd, 1/2.C₂₁-CH₂).

Elemanalízis adatok a C₂₂H₃₃NO₄·(0.2)H₂O összegképletre:

számított: C, 69,70; H, 8,80; N, 3,62;

talált: C, 69,78; H, 9,13; N, 3,40.

1A példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása

1,70 g (15 mmol) kálium-terc-butoxidot és 1,65 g (5 mmol) (20S)-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont terc-butanolban elkeverünk és a keveréket 90 percen keresztül argon atmoszférában reflux hőmérsékleten tartjuk. A keveréket ezután szobahőmérsékletre hűtjük és egy folyamatos adagban 0,51 ml (5 mmol) izopropil-nitráttal kezeljük. 18 óra elteltével a reakcióedény tartalmát 5 ml ecetsavval megsavanyítjuk, majd diklór-metánnal hígítjuk. A szilárd terméket elkülönítjük és további diklór-metánnal mossuk. A szűrletet és a mosófolyadékot az 1. példa szerint tisztítva és átkristályosítva a (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-onhoz jutunk.

1B példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitro-pregn-4-én-3-on előállítása

1,70 g (15 mmol) kálium-terc-butoxidot és 1,65 g (5 mmol) (20S)-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont 25 ml terc-butanolban elegyítünk és a keveré-

ket 3 órán keresztül szobahőmérsékleten argon atmoszférában keverünk. A keveréket ezután egy folyamatos adagban 0,51 ml (5 mmol) izopropil-nitrátot adunk, majd a keveréket 1 napon át keverjük. Ezután 5 ml ecetsavat adagolunk. 1 óra elteltével a reakcióedényben maradt szilárd terméket szűrjük és diklór-metánnal mossuk. Az egyesített szűrleteket és mosási maradékot tisztítjuk az 1. példa szerint eljárva és ily módon kristályos formában (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-ont kapunk.

1C példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása

7,6 g (67,8 mmol) kálium-terc-butoxidot és 6,6 g (20 mmol) (20S)-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont terc-butanolban 60 percen keresztül argon atmoszférában reflux hőmérsékletre melegítünk. Ezután egy folyamatos adagban 2,34 ml (20 mmol) izopropil-nitrátot adagolunk. 20 perc elteltével ismét refluxálunk, majd a reakcióedényt szobahőmérsékletre hűtjük. 10 ml ecetsav adagolása után a reakciókeveréket 18 órán keresztül keverjük, majd a keveréket 200 ml diklór-metánnal hígítjuk. A szilárd anyagot eltávolítjuk, szűrjük és a mosási maradékkal egyesítjük, majd az 1. példa szerinti tisztítási eljárást alkalmazva jutunk a kristályos (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on-hoz.

1D példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása

7,6 g (67,8 mmol) kálium-terc-butoxidot és 6,6 g (20 mmol) (20S)-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont terc-butanolban egyesítünk és a keveréket 120 percen keresztül reflux hőmérsékleten tartjuk. Ezután egy folyamatos adagban 3,56 ml (20 mmol) 2-etil-hexil-nitrátot adagolunk. 10 perc elteltével a reakcióedényt szobahőmérsékletre hűtjük. A reakciót ezután 9 ml ecetsav adagolásával befagyasztjuk és 1 napon át keverjük. 200 ml diklór-metánnal történő

hígítás után a szilárd terméket eltávolítjuk, mossuk és a mosási maradékkal egyesítve az 1. példa szerinti tisztítási eljárást alkalmazva kristályos (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on-hoz jutunk.

1E példa

(20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása

6,18 g (18,7 mmol) kristályos (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on-t 91 ml terc-butanolban 6,43 g (57,3 mmol) 3 molekvivalens kálium-terc-butoxiddal reagáltatunk reflux hőmérsékleten 1,5 órán keresztül. Ezután az elegyhez cseppenként 20 perc alatt 2,9 ml (1,6 molekvivalens) izopropil-nitrátot adagolunk, majd az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni és 1 napon keresztül (12-18 óra) keverjük. A reakciókeveréket ezután 6,2 ml ecetsavval kezeljük, 1 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük és 400 ml vízbe öntjük. 4 x 100 ml-es diklór-metános extrakció után valamennyi szerves fázist egyesítjük és magnézium-szulfát felett szárítjuk. Szűrés után a szűrletet csökkentett nyomáson bepárolva vöröses olajat kapunk, melyet szilikagél szűrőn szűrve tisztítunk (hexán/Et₂O:CH₂Cl₂ = 4:2:1, 2,5 liter, majd 2:2:1, 1 liter). A megfelelő fázisok egyesítése és bepárlása után a kapott anyagot átkristályosítjuk. Az átkristályosítást oly módon végezzük, hogy a forró izopropanolban képződő anyaghoz addig adagolunk vizet, míg a teljes kiválás meg nem történik, és ily módon eljárva 2,66 g cím szerinti vegyületet kapunk.

2. példa

17β-hidroxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on előállítása (2)

Az 1. példa szerint eljárva 2,88 g (10 mmol) tesztoszteront, 3,40 g (30 mmol) kálium-terc-butoxidot és 1,01 ml izopropil-nitrátot reagáltatunk és ily módon 17β-hidroxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on-hoz jutunk. Olvadáspont 158-160°C (aceton-hexán)

IR 3533, 1689, 1615 (m), 1635 cm^{-1}

MS(Cl) 334 (100%, M+1), 316 (50%, M+1-H₂O)

¹H-NMR δ 0,80 (3H, s, C₁₈-Me), 1,30 (s, C₁₉-Me), 3,66 (1H, t, C₁₇-H).

A fenti kristályosításból származó egyesített filtrátumot és mosófolyadékot 3 ml ecetsav-anhidriddel és 6 ml piridinnel kezeljük. 1 napig szobahőmérsékleten történő állás után a reakcióelegyet vízzel 1 órán keresztül keverjük. A kivált szilárd terméket a folyadéktól dekantálással elválasztjuk, majd kromatográfiásan tisztítva 17 β -acetoxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on-t kapunk. Olvadáspont 216-217°C (vizes aceton) (2').

IR (CHCl₃) 1725, 1695, 1623(m), 1536, 1256 cm^{-1}

MS(Cl) 376(100%, M+1), 316(35%, M+1-AcOH)

¹H-NMR (CDCl₃) 0,84(3H, s, C₁₈-Me), 1,30(s, C₁₉-Me), 2,05(s, COMe), 5,62(1H, dd, C₁₇-H).

Mint azt korábban megemlítettük a 17 β -hidroxi-4-nitro-szteroidok a megfelelő 17-onná alakíthatók, mint azt a következő példa ismerteti.

2A példa

4-nitroandroszt-4-én-3,17-dion előállítása (2A)

10,56 g (31,7 mmol) 17 β -hidroxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on (4-nitrotesztoszteron) 900 ml acetonban elkészített oldatát -6°C-ra hűtjük és 10,0 ml Jones reagenssel kezeljük. Miután a feleslegben lévő reagenst metanollal elbontottuk, a kapott szilárd terméket szűréssel elkülönítjük. A szűrletet bepároljuk, például laboratóriumi forgó bepárlón csökkentett nyomáson, majd oszlopkromatográfiával szilikagélen tisztítva a 4-nitroandroszt-4-én-3,17-dionhoz jutunk. Olvadáspont: 205-205,5°C (bomlik) (aceton-hexán).

IR 1738, 1622, 1533, 1373 cm^{-1}

MS(Cl) 332 (100%, M+1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0,93 (s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,13 (s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$).

3. példa

17 β -hidroxi-7 α -metil-4-nitroandroszt-4-én-3-on előállítása (3)

11,2 g (37,0 mmol) 17 β -hidroxi-7 α -metil-tesztoszteront, 8,29 g (73,9 mmol) kálium-terc-butoxidot és 3,76 ml izopropil-nitrátot az 1. példa szerinti módszerrel reagáltatva a 17 β -hidroxi-7 α -metil-nitroandroszt-4-én-3-on-hoz jutunk. Olvadáspont 229-230°C (bomlik) (aceton-hexán).

IR (CHCl_3) 3614, 1694, 1658 (m), 1623, 1536 cm^{-1}

MS(Cl) 348 (100%, $\text{M}+1$), 330 (40%, $\text{M}+1\text{-H}_2\text{O}$)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0,89 (d, $\text{C}_7\text{-Me}$), 0,91 (s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,16 (s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$), 3,68 (t, $\text{C}_{17}\text{-H}$).

A 17 β -hidroxi-szteroidot a megfelelő 17-onná alakíthatjuk az alábbi példa szerinti eljárással.

3A példa

7 α -metil-4-nitroandroszt-4-én-3,17-dion előállítása (3A)

4,2 g (12,1 mmol) 17 β -hidroxi-7 α -metil-nitroandroszt-4-én-3-on 400 ml acetonban elkészített oldatát 0°C hőmérsékletre hűtjük és 4,0 ml Jones reagenssel kezeljük. A feleslegben lévő reagenst metanol adagolásával elbontjuk. A kivált szilárd terméket szűrjük és a szűrletet bepárolva zöld színű szilárd terméket kapunk. A kapott anyagot oszlopkromatográfiásan szilikagélen tisztítva a 7 α -metil-nitroandroszt-4-én-3,17-diont kapjuk (vizes aceton).

IR (CHCl_3) 1735, 1697, 1625(m), 1537 cm^{-1}

MS(Cl) 346(100%, $\text{M}+1$), 328(50%, $\text{M}+1\text{-H}_2\text{O}$)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0,86 (3H, d, $\text{C}_7\text{-H}$), 0,93 (3H, s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,33 (s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$).

4. példa11 α ,17 β -dihidroxi-17 α -metil-4-nitroandroszt-4-én-3-on előállítása (4)

6,37 g (20,2 mmol) 11 α ,17 β -dihidroxi-17 α -metilandroszt-4-én-3-on, 6,73 g (60,6 mmol) kálium-terc-butoxidot és 2,02 ml izopropil-nitrátot az 1. példa szerint eljárva reagáltatunk és így módon szilárd hab formájában 11 α ,17 β -dihidroxi-17 α -metil-4-nitroandroszt-4-én-3-on-hoz jutunk.

IR 3435, 1691, 1618(m), 1533, 1373 cm⁻¹

MS(Cl) 364 (100%, M+1), 346 (30%, M+1-H₂O), 328 (37%, M+1-2H₂O)

¹H-NMR (CDCl₃) 0,93 (2H, s, C₁₈-Me), 1,21 (s, C₁₉-Me), 1,43 (s, C₁₇-Me), 4,08 (1H, dt, C₁₁-H).

5. példa20,21-dihidroxi-4-nitropregn-4-én-3-on-acetonid előállítása (5)

6,73 g (18,0 mmol) 20,21-dihidroxi-pregn-4-én-3-on-21-acetát, 5,78 g (51,5 mmol) kálium-terc-butoxid és 1,60 ml izopropil-nitrátot az 1. példa szerint reagáltatva a 20,21-dihidroxi-4-nitropregn-4-én-3-on-hoz jutunk. Vizes acetontól történő átkristályos után a megfelelő acetonidot kapjuk. Olvadáspont 221-223°C (bomlik).

IR 1693, 1622(m), 1535, 1371 m⁻¹

MS(Cl) 418(55%, M+1), 101(100%)

¹H-NMR (CDCl₃) 0,90(3H, s, C₁₈-Me), 1,03(s, C₁₉-Me), 1,33 (s, Me), 1,37(s, Me), 3,46-3,54(1H, m, C₂₀-H), 3,93-4,05 (2H, m, C₂₁-CH₂).

Az acetonil csoport a 20,21-dioxigénezett szénatomról az alábbi példa szerint eljárva távolítható el.

5A példa20,21-dihidroxi-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása (5A)

Az 5. példa szerinti rekristalizációs szűrletből nyert 20,21-dihidroxi-4-nitropregn-4-én-3-on oldatot metanolban melegítjük az oldatképzés elősegítése céljából. A reakcióedényt ezután szobahőmérsékletre hűtjük és 10 ml 5%-os vizes sósavat adagolunk. 4 órán keverünk, majd a reakciót vizes kálium-karbonáttal semlegesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A párlási maradékot hígított vizes sósav és glikol-metánban megosztjuk. A szerves fázist elválasztjuk, magnézium-szulfát felett szárítjuk és bepárlás után sárga habot kapunk, melyet oszlopkromatográfiásan szilikagélen tisztítva a 20,21-dihidroxi-4-nitropregn-4-én-3-on-hoz jutunk. Olvadáspont 183-185°C (vizes metanol).

IR (CHCl₃) 3628, 3587, 1693, 1622, 1535, 1373 cm⁻¹

MS(Cl) 378(100%, M+1), 342(35%, M+1)-2H₂O)

¹H-NMR 0,92(3H, s, C₁₈-Me), 1,30(3H, s, C₁₉-Me), 3,34-3,44 (1H, m, C₂₀-H), 3,61-3,72(2H, m, C₂₁-CH₂).

6. példa17β-ciklopropil-oxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on előállítása (6)

9,70 g (29,5 mmol) 17β-ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-on, 7,0 g (62,4 mmol) kálium-terc-butoxid és 2,99 ml izopropil-nitrátot az 1. példa szerint eljárva reagáltatunk és így módon a 17β-ciklopropil-oxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on-hoz jutunk. Olvadáspont 137-138°C (metanol)

IR (CHCl₃) 1695, 1622(m), 1535, 1373 (cm⁻¹)

MS(Cl) 374 (100%, M+10), 316 (20%, M+1-c-C₃H₅-O)

¹H-NMR (CDCl₃) 0,38-0,61(4H, m), 0,80(3H, s, C₁₈-Me), 1,29 (s, C₁₉-Me), 3,25-3,33 (1H, m, ciklopropil-CHO), 3,44 (1H, t, C₁₇-H).

A fenti nitrálás kiindulási vegyületét az alábbiak szerint eljárva állíthatjuk elő.

19,36 g (58,9 mmol) 17 β -ciklopropil-oxi-androszt-5-én-3 β -ol 1,9 liter acetonban elkészített oldatát -3°C hőmérsékletre hűtjük és 20 ml Jones reagenssel kezeljük. A felesleges reagens metanolt elbontjuk. A képződött szilárd anyagot szűrőssel eltávolítjuk, a szűrletet bepárolva zöld olajat kapunk, melyet oszlopkromatográfiásan szilikagélen tisztítva 11,0 g 17 β -ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-on-hoz jutunk. Kitermelés 57%.

A fenti oxidációs eljárás kiindulási anyaga a (17 β -ciklopropil-oxi-androszt-5-én-3 β -ol) előállítását a 4,966,897 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti (Angelasto és Blohm).

6A példa

17 β -(ciklopropoxi)-4-nitro-androszt-4-én-3-on

109 g (0,97 mol, 2,1 molekvivalens) kálium-terc-butoxidot adunk 150 g (0,46 mol) 17 β -(ciklopropil-oxi)-androszt-4-én-3-on 2 liter terc-butanolban elkészített oldatához 10 perc alatt szobahőmérsékleten nitrogén atmoszférában. A keverést szobahőmérsékleten 18 órán keresztül folytatjuk, majd 48,2 g (0,46 mol, 1,0 molekvivalens) izopropil-nitrátot adagolunk 50 ml terc-butanolban 30 perc alatt szobahőmérsékleten. Az adagolás után még egy további napon át folytatjuk a keverést szobahőmérsékleten, majd 25 perc alatt 130 ml jégecetet adunk és a keverést további 18 órán keresztül folytatjuk. Ezután 1,5 liter metilén-kloridot és sóoldatot (telített nátrium-klorid, 800 ml) adagolunk és az oldatot további 10 percen át keverjük. A szerves fázist elválasztjuk és magnézium-szulfát szárítjuk. A kapott zagyot szűrjük és a szűrletet csökkentett nyomáson bepárolva 35°C/40 torr) sötét olajat kapunk. Oszlopkromatográfiás tisztítás (SiO₂, elúció: etil-acetát/hexán 5:95, etil-acetát/hexán 1:9 és etil-acetát/hexán

15:85). Az egyesített frakciókat, melyek a kívánt terméket tartalmazzák, egyesítjük és 30°C/40 torr csökkentett nyomáson bepároljuk és így módon kapjuk a szilárd párlási maradékot, melyet 350 ml hexánban keverünk. Szűrünk és a szilárd terméket szárítva 68 g cím szerinti vegyületet kapunk (40%-os kitermelés) sárga szilárd termék formájában. A szűrletbe bepárlás után további terméket kapunk, melyet rekromatografálva fentiek szerint eljárva további 8 g anyagot kapunk (5%). Olvadáspont 133-134°C.

IR (KBr) 3437, 3090, 2945, 2870, 1693, 1624, 1531, 1450, 1373, 1346, 1332, 1211, 1188, 1170, 1076, 1062, 1035, 1012, 962, 794, 765 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃) δ 0,50 (4H, m, 2 x ciklopropil-CH₂), 0,80 (3H, s, C₁₈-Me), 1,30 (3H, s, C₁₉-Me), 3,3 (3H, m, OCH ciklopropil), 3,44 (1H, t, C₁₇-H).

MS (CI, CH₄) m/z (relatív intenzitás) 374 (100%, M+1).

Elemanalízis a C₂₂H₃₁NO₄ képlet alapján:

számított: C, 70,75; H, 8,37; N, 3,75;

talált: C, 70,99; H, 8,44 ; N, 3,56.

7. példa

4-nitro-androszt-4-én-3-on-17β-karbonsav előállítása (7)

3,63 g (11,4 mmol) androszt-4-én-3-on-17β-karbonsavat, 4 g (35,3 mmol) kálium-terc-butoxidot és 1,9 ml izopropil-nitrátot az 1. példa szerint eljárva reagáltatunk és így módon 4-nitro-21-androszt-4-én-3-on-17β-karbonsavhoz jutunk. Olvadáspont 205-208°C (bomlik)

IR (CHCl₃) 3034, 2970, 1697, 1535, 1373 cm⁻¹

MS(CI) 362 (100%, M+1)

¹H-NMR δ (CDCl₃) 0,79 (3H, s, C₁₈.Me), 1,3 (3H, s, C₁₉.Me).

8. példa3-hidroxi-4-nitroandroszt-3,5-dién-17 β -terc-butyl-karboxamidelőállítása (8)

250 ml-es mágneses keverővel és gázbevezetővel ellátott gömblombikba 8,5 g (75 mmol) kálium-terc-butoxidot és 75 ml terc-butyl-alkoholt helyezünk. Ezután az oldathoz 9,3 g (25 mmol) androszt-4-én-3-on-17 β -karboxamidot adunk keverés közben 65°C hőmérsékletben argon atmoszférában 20 perc alatt. Ezután 2,8 ml (28 mmol) izopropil-nitrátot adagolunk, mely erős felmelegedést okoz és az oldatot 25°C-ra hűtjük 1 óra leforgása alatt. Ezután 7,5 ml ecetsavat adagolunk, a kivált csapadékot szűrjük és a szűrletet bepároljuk. A kapott sötét gumit diklór-metánnal oldjuk, vízzel mossuk, bepároljuk és 300 ml szilikagélen kromatografálva (30-50% etil-acetát/herxán eluens) 441 mg (1,05 mmol) terméket kapunk, melyet diklór-metán/hexán rendszerben kristályosítunk. Olvadáspont 207-208,5°C (bomlik).

IR (Kbr): 3441, 2967, 2943, 2916, 2885, 2847, 1693, 1670, 1624, 1535, 1508, 1475, 1452, 1390, 1367 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} = 242 nm; ϵ = 13.100;

¹H-NMR (CDCl₃): δ 4,40 (s, 1H), 2,52-2,60 (m, 2H), 1,4-2,46 (m, 16H), 1,35 (s, 9H), 1,31 (s, 3H), 1,03-1,32 (m, 4H), 0,74 (s, 3H) ppm;

Elemanalízis a C₂₄H₃₆N₂O₄ képlet alapján:

számított: C, 69,20; H, 8,71; N, 6,72;

talált: C, 69,33; H, 8,63; N, 6,60%.

9A példa

20-acetil-tio-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása (9A)

750 mg (2,0 mmol) 20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on és 400 mg (2,1 mmol) tozil-klorid 2 ml piridinben elkészített oldatát 25°C hőmérsékleten 12 órán át keverjük. 24 óra után a maradékot 2 ml diklór-metánban visszaoldjuk és további 40 mg tömegű tozil-kloridot adagolunk. További 12 órán át keverünk, majd 2 csepp vizet adunk a keverékhez és 30 percen át történő keverés után 50 ml diklór-metánnal és 50 ml vízzel, majd 50 ml 10%-os sósavval mossunk és az oldatot magnézium-szulfát felett szárítjuk. A kapott anyagot bepároljuk és 50:50 etil-acetát:hexánból (1:1) kristályosítva sárga szilárd terméket kapunk. Olvadáspont 181-182°C.

Az 529 mg fentiek szerint előállított tozilátot 10 ml száraz dimetil-formamidban oldjuk és 163 mg (0,5 mmol) frissen elkészített Cs_2CO_3 és 86 mg (1,1 mmol) HSCOH_3 és CsCOCH_3 -ot tartalmazó 3 ml CH_3OH -ban oldjuk és bepároljuk. 24 óra elteltével a reakcióelegyet dietil-éterrel hígítjuk, vízzel mossuk, bepároljuk és oszlopkromatográfiával tisztítva diklór-metán/hexán eluenst (4/1) használva a kapott frakciókat, mely a kívánt terméket tartalmazza, bepárolva és hexánból kristályosítva 225 mg tio-észtert kapunk.

Más eljárásváltozattal a fentiek szerint előállított tozilátot a megfelelő tio-acetil vegyület előállítására az alábbiak szerint járunk el. 163 mg (0,5 mmol) Cs_2CO_3 -at 2 ml metanolban oldunk, mely 90 mg (1,1 mmol) HSCOH_3 -at is tartalmaz. A homogén oldatot csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott párlási maradékot 3 ml dimetil-formamidban oldjuk 529 mg (1,0 mmol) toziláttal együtt. A kapott oldatot 25°C hőmérsékleten nitrogén atmoszférában 18 órán keresztül keverjük. Egy másik oldatot, mely 1 ml dimetil-formamidot tartalmaz, 1,0 mmol cézium-tio-acetáttal a fenti módon eljárva a reakcióelegyhez adunk.

Az átalakulás teljes befejezése céljából (melyet vékonyrétegekromatográfiásan ellenőrzünk) 1 ml 1N sósavat adagolunk és a kapott oldatot etil-acetátban oldjuk, vízzel mossuk és magnézium-szulfát felett szárítjuk.

9B példa

20-merkaptó-metil-4-nitropregn-4-én-3-on előállítása (9B)

A 9A példa szerint előállított 65 mg (0,15 mmol) tio-acetátot 2 ml metanolban, 1 ml tetrahidrofuránban és 0,3 ml 1N lítium-hidroxidban oldjuk. 1 órás keverés után 0,1 ml ecetsavat adagolunk. Az oldatot etil-acetátba rázzuk, vízzel mossuk és magnézium-szulfát felett szárítjuk. A kapott terméket 1,0 ml ecetsavban oldjuk, 50°C-ra lehűtjük és csökkentett nyomáson bepárolva 30 mg tömegű világossárga szilárd terméket kapunk.

10. példa

17β-ciklopropil-amino-4-nitroandroszt-4-én-3-on előállítása (10)

4,61 g (14,07 mmol) 17β-ciklopropil-amino-4-én-3-ont 4,74 g (42,22 mmol, 3 molekvivalens) kálium-terc-butoxidot 60 ml terc-butanolban oldunk és az oldatot 1 órán keresztül reflux hőmérsékleten tartjuk. Ezután 1,43 ml (14,07 mmol, 1 molekvivalens) izopropiol-nitrátot adagolunk. Az adagolást egyszerre végezzük és az oldatot refluxáljuk. A reakcióelegyet lassan szobahőmérsékletre hűtjük, majd 20 ml jégecetet és 20 ml diklór-metánt adagolunk a reakcióelegyhez a narancsvörös csapadék feloldása céljából. A reakcióelegyet ezután 1 napon keresztül szobahőmérsékleten hagyjuk. Az elegyet ezután szűrjük és a szűrőlepenyt diklór-metánnal fehérre mossuk. A szűrletet 200 ml további diklór-metán adagolásával hígítjuk, majd vizes nátrium-kloriddal mossuk 200 ml fél terítési koncentráció eléréséig, majd egy rész félig telített nátrium-klorid és egy rész vizes telített nátrium-dikarbonát, melynek összterfoglata 200 ml, mossuk. A szerves fázist magnézium-szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomá-

son bepároljuk és szilikagélen kromatografálva (diklór-metán/metanol, 19:1) szilárd sárga hab formájában a 17 β -ciklopropil-amino-4-nitroandroszt-4-én-3-on-hoz jutunk.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.75 (s, 3H, $\text{C}_{19}\text{-Me}$); 1.30 (s, 3H, $\text{C}_{18}\text{-Me}$) ppm.

IR(KBr) 3435, 2944, 2870, 1695, 1533, 1371, 1013, 766 cm^{-1} .

MS(EI) = 372 (M^+).

2. Művelet: a 4-nitro- Δ^4 -3-on szteroid redukciója 4-amino- Δ^4 -3-on szteroid vegyületekké

A. Katalitikus redukció

11. példa

4-amino-20-hidroxi-metilpregn-4-én-3-on előállítása (11)

2.01 g (5,35 mmol) 20-hidroxi-metil-4-nitropregn-4-én-3-on 28 ml absz. etanolban elkészített oldatát sorrendben először Linglar katalizátorral (5% palládium CaCO_3 -ra felvive, 5,2% ólommal, 0,81 összsúlyban), majd 37 μl kinolinnal kezeljük és hidrogén atmoszférában tartjuk 40-55 p.s.i.-n 24 órán keresztül. A reakcióelegyet ezután celiten szűrjük, a szűrletet bepároljuk és a kapott sárga szilárd anyagot short path? módszerrel eljárva a 4-amino-40-hidroxi-metilpregn-4-én-3-on-hoz jutunk. Olvadáspont 180-185°C (vizes izopropanol).

IR 3512, 3470, 3384, 1648, 1614, 1576 cm^{-1}

MS(CI 346(100%, $\text{M}+1$), 328 (30%, $\text{M}+1-\text{H}_2\text{O}$).

$^1\text{H-NMR}$ 0,72 (3H, s, $\text{C}_8\text{-Me}$), 1,02 (d, $\text{C}_{21}\text{-Me}$), 1,15 (s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$), 2,6-3,2 (v.br, NH_2), 3,36(1H, dd, 0,5. $\text{C}_{22}\text{-CH}_2$), 3,63(1H, dd, 0,5. $\text{C}_{22}\text{-CH}_2$).

12. példa

17 β -ciklopropil-oxi-4-amino-androszt-4-én-3-on előállítása (12)

4,36 g (11,6 mmol) 17 β -ciklopropil-oxi-4-nitro-androszt-4-én-3-on 125 ml absz. etanolban elkészített oldatát először Lindlar katalizátorral, majd 80 ml kinolinnal kezeljük. A reakcióelegyet hidrogén atmoszférában 1 atmoszféra nyomáson 117 órán keresztül keverjük. Az elegyet ezután celiten szűrjük aktív szénen keresztül és absz. etanolban mossuk. Az egyesített szűrleteket mossuk és bepárlás után 3,7 tömegű barna folyadékot kapunk, melyet metilén-kloridban oldunk. A kapott terméket szilikagél oszlopra téve helyezzük (hexán/etil-acetát; 1:4) és oszlopkromatográfiásan tisztítjuk hexán:etil-acetát eluens (1:4) használva.

A végterméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük és bepárlás után világos sárga terméket kapunk, melynek tömege átkristályosítás után 2,3 g. A kristályokat metanolban oldjuk, szűrjük és az oldathoz vizet csepegtetünk a kristályosodás megkezdődéséig. A reakcióelegyet 1 napon keresztül (12-18 óra) hűtjük. A képződött kristályokat szűréssel elkülönítjük és hideg vizes metanollal, majd vízzel mossuk és csökkentett nyomáson szárítva 1,97 g tömegű 4-amino-17 β -(ciklopropil-oxi)-androszt-4-én-3-ont kapunk világos sárga szilárd termék formájában.

IR(KBr) ν 3458, 3372, 1674, 1622 (m), 1585 cm^{-1} .

Elemanalízis a $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_2$ képlet alapján:

számított: C, 76,92; H, 9,68; N, 4,08;

talált: C, 76,86; H, 10,04; N, 4,08.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0,38-0,61 (4H, m, 2x CH_2), 0,79 (3H, s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,15

(s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$), 3,27 + 3,44 + ca. 3,4 (4H, ciklopropoxi-H, $\text{C}_{17}\text{-H}$, NH_2 , m+t, v.br.)

UV(EtOH) λ 294 (ϵ 7574, lg. ϵ 3.879)

MS/CI 344(100%, M+1), 286(30%, M+1-C₃H₅OH).

12A példa

4-amino-17 β -(ciklopropoxi)-androszt-4-én-3-on hidroklorid előállítása

10 g (26,7 mmol) 17 β -(ciklopropil-oxi)-4-nitro-androszt-4-én-3-on 200 ml metanolban elkészített oldatához keverés közben 35°C hőmérsékleten Lindlar katalizátort adunk [4 g, 5,9% Pd+5,4% Pb/CCP3 (CaCO₃), D.R. Engelhard, Seneca, SC] adagolással egyidejűleg nitrogén atmoszférában, 2 g (1,6 mmol) kinolint adunk az oldathoz. A kapott reakciókeveréket Parr rázóban keverjük és nitrogén atmoszférában szobahőmérsékleten 50 psi nyomáson 20 órán keresztül rázzuk, amíg a 3 molekvivalens hidrogén-gáz el nem fogy. A katalizátort ezután szűréssel elkülönítjük.

A fenti eljárást kilencszer megismételjük (8 x 10 g-os méretben és 1 x 7 g-on méretben) és a kapott oldatokat szűrjük és egyesítjük. 550 g szilikondioxidot (SiO₂) adunk az oldathoz és keverés után csökkentett nyomáson (10 Torr) bepároljuk 10-15°C hőmérsékleten. A termék és az SiO₂ keverékét oszlop tetejére helyezzük (20 cm i.d., 5 kg SiO₂ tartalommal) és az oszlopot egymás utánban 15% 20 liter 20%, 20 liter és 20% és 40 liter 30% hexánban oldott etil-acetáttal eluáljuk. A terméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük és csökkentett nyomáson bepároljuk (10°C, 30 Torr). Ily módon eljárva 600 ml sárga oldatot kapunk. Az oldatot 1,8 M sósavat tartalmazó 75 ml térfogatú etil-acetáttal 4°C-on kezeljük. A kapott zagyot 200 ml acetonnal és 100 ml CH₂Cl₂-vel hígítjuk. 30 percen keresztül történő keverés után a szilárd terméket szűréssel elkülönítjük és 300 ml acetonnal mossuk, majd szárítás után 34 g cím szerinti vegyületet kapunk 37%-os kitermeléssel. Olvadáspont 206-207°C. A szűrletet 300 ml térfogatra bepárolva és a kivált szilárd terméket összegyűjtve további

cím szerinti terméket kapunk 3,4 g tömegben 4% kitermeléssel. Olvadáspont 203-204°C.

IR (KBr) 3445, 3086, 2945, 2872, 2555, 1967, 1791, 1682, 1641 (cm^{-1}).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0,50 (4H, m, 2x ciklopropil- CH_2), 0,76(3H, s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,21 (3H, s, $\text{C}_{19}\text{-CH}_3$), 3,2 (1H, m, OCH ciklopropil), 3,39 (1H, t, $\text{C}_{17}\text{-H}$), 9,6 (3H, br.s, NH_3).

MS (CI) m/z 344 (100%, M^+).

Elemanalízis a $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{NO}_2\text{Cl} \cdot (0,6)\text{H}_2\text{O}$ képletre:

számított: C, 68,05; H, 9,07; N, 3,61;

talált: C, 68,18; H, 9,06; N, 3,52.

13. példa

17 β -ciklopropil-amino-4-aminopregn-4-én-3-on előállítása (13)

670 mg (1,80 mmol) 17 β -ciklopropil-amino-4-nitropregn-4-én-3-ont 11 ml absz. etanolban oldunk és az oldatot 268 mg Lindlar katalizátorral kezeljük, majd a kezelést 3 μl kinolinnal folytatjuk. Az oldatot ezután erőteljesen hidrogén atmoszférikus nyomáson (kb. 760 mm/mg) 18 órán keresztül keverjük. A reakciókeveréket szűrjük és 100 ml metanollal és 100 ml diklór-metánnal mosuk. Az oldószereket csökkentett nyomáson eltávolítjuk és a kapott terméket szilikagéllal kromatografálva ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_2\text{OH}$ eluens, 47:3) sárga színű olajat kapunk, melyet átkristályosítva sárgás szilárd termékhez jutunk. Olvadáspont 149-150°C (dietil-éter).

IR(KBr): 3474, 3366, 2945, 1616, 1577 cm^{-1}

MS(CI/ CH_4) [$\text{M}^+ + \text{H}$] = 343

$^1\text{H-NMR}$ (33 Mhz, CDCl_3) δ 0,73(3H, s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,15(3H, s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$), 2,66 (1H, t, $\text{C}_{17}\text{-H}$)

^{13}C -NMR (75nhz, CDCl_3) δ 6,464, 7,185, 11,289, 20,803, 23,682, 24,757, 29,683, 29,753, 30,914, 32,860, 34,899, 35,307, 37,904, 42,453, 52,910, 54,549, 69,014, 132,938, 138,860, 194,343.

B. Kémiai redukció

14. példa

4-amino-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-on előállítása (14)

0,52 g (1,38 ml) 20-hidroxi-metil-4-nitroregn-4-én-3-ont 4,8 ml absz. etanolban oldunk és az oldt 2,1 g ón-kloriddal elegyítjük oly módon, hogy az ón-kloridot egy részletben 70°C hőmérsékleten adjuk és az oldatot 70°C hőmérsékleten 6 órán keresztül tartjuk. A reakcióedényt ezután szobahőmérsékletre hűtjük és az oldatot óvatosan 9 g tömegű nátrium-bikarbonáttal semlegesítjük 10 perc alatt. A kapott zagyot szűrjük, ily módon a barna szilárd anyagot eltávolítjuk és további szűrés közben 25 ml hidrogén-fluoridot és 25 ml etil-acetátot adagolunk. A HF/etil-acetát kezelést megismételjük. A szerves fázisokat mindegyik szűrletben összegyűjtjük, magnézium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A kapott párlási maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítva fehér szilárd termék formájában 4-amino-20-hidroxi-metil-pregn-4-én-3-ont kapunk, melyet az 5,218,110 számú amerikai egyesült államokbeli és az 5,120,840 számú amerikai egyesült államokbeli (Weintraub és munkatársai) leírásban ismertetett anyaggal azonosítottunk. Mindkét hivatkozást a jelen leírásba beépítettük.

15. példa

4-amino-17-ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-on előállítása (15)

1,0 g (2,71 mmol) 17-ciklopropil-oxi-4-nitroandroszt-4-én-3-on 10 ml ecetsavban elkészített oldatát 1 g cink reszelékkel kezeljük. A keveréket 1,5 órán keresztül szobahőmérsékleten erőteljesen keverjük. A cink sókat szűrés-

sel eltávolítjuk és etil-acetáttal mossuk. Az szűrleteket és mosófolyadékot egyesítjük és bepárlás után sárga szilárd terméket kapunk, melyet etil-acetátban újra oldunk és 3 x 1 molos sósavval (150 ml) extraháljuk. Az egyesített savas extraktumokat nátrium-hidroxiddal (pH = 14) semlegesítjük és éterrel tovább extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat nátrium-szulfát felett szárítjuk és bepárlás után 0,59 g 4-amino-17-ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-ont kapunk. Olvadáspont 100-102°C (vizes metanol).

IR 3354, 1662, 1620, 1581 cm^{-1} .

MS(Cl) 344(100%, M+1)

$^1\text{H-NMR}$ 0,37-0,61 (4H, m, 2 x ciklopropil CH_2), 0,79 (3H, s, $\text{C}_{18}\text{-Me}$), 1,16 (s, $\text{C}_{19}\text{-Me}$), 3,25-3,33 (m, ciklopropil-CHO), 3,44 (t, $\text{C}_{17}\text{-H}$).

16. példa

20-acetil-tio-metil-4-amino-pregn-4-én-3-on előállítása (16)

173 mg (0,40 mmol) 20-(tio-acetil)-metil-4-nitropregn-4-én-3-ont és 300 mg cink reszeléket 2 ml jégecetben 30 percen keresztül keverünk. A keveréket 50 ml etil-acetátba öntjük, 3 x 50 ml telített vizes nátrium-bikarbonáttal mossuk és magnézium-szulfát felett szárítjuk. Olvadáspont 173-176°C.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű vegyületek - ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, acetiltio-alkán-csoport, ciklopropil-amino-csoport, t-butil-karboxamid-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport; és

a gyűrűn a ----- kettős vagy egyes kötést jelez;

R és R_1 együttesen, és/vagy R_5 és R_6 együttesen =O atomot jelenthet;

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom; - előállítására,

azzal jellemezve, hogy

a) valamely (II) általános képletű kiindulási vegyületet - ahol a képletben R- R_8 , és ----- jelentése a fentiekben megadott - valamely hatékony mennyiségű erős bázissal, emelt hőmérsékleten a megfelelő termodinamikus 3,5-dienolát kiala-

kulásáig kezelünk megfelelő ideig, majd valamely semleges nitráló szert adagolva valamely 4-nitro-szteroidot kapunk; majd

b) a 4-nitro-szteroidot valamely alkalmas redukálószerrel reagáltatjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű vegyületek oltalmi körébe tartozó vegyület a (17S)-ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-on.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a (I) általános képletű vegyületek oltalmi körébe tartozó vegyület a (20S)-4-amino-21-hidroxi-20-metil-pregn-4-én-3-on.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az erős bázis kálium-terc-butoxid vagy kálium-terc-amilát.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az erős bázis hatékony mennyisége 2 és 4 molár ekvivalens közötti érték.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az erős bázis hatékony mennyisége 2 molár ekvivalens.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a megemelt hőmérséklet 17°C - 100°C közötti érték.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a megemelt hőmérséklet 50°C - 83°C közötti érték.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a megemelt hőmérséklet 83°C körüli érték.

10. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a termodinamikus dienolát kialakulásához szükséges idő 5 perc - 8 óra.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a termodinamikus dienolát kialakulásához szükséges idő 15 perc - 180 perc.

12. A 10. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a termodinamikus diénolát kialakulásához szükséges idő 60 perc.

13. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy neutrális nitráló szerként olyan alkil-nitrátot használunk, amely valamely telített egyenes vagy elágazó szénláncú szerves nitrát és 3-8 szénatomot tartalmaz.

14. A 13. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy alkil-nitrátként izopropil-nitrátot vagy izobutil-nitrátot vagy 2-etil-hexil-nitrátot alkalmazunk.

15. A 14. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy alkalmas redukáló szerként valamely kémiai szert, így valamely ecetsavas cink fémét használunk és katalizátort, így Lindlar katalizátort alkalmazunk.

16. A (III) általános képletű vegyület, ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, ciklopropil-amino-csoport, acetil-tio-alkán-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_1 és R_2 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 17-es szénatomhoz;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_5 és R_6 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 11-es szénatomhoz;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom.

17. A 16. igénypont szerinti (III) általános képletű vegyület körébe tartozó (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitro-pregn-4-én-3-on.

18. A 16. igénypont szerinti (III) általános képletű vegyület körébe tartozó 17 β -ciklo-propiloxi-4-nitro-androszt-4-én-3-on.

19. Módszer sztereoid 5 α -reduktáz gátlására, azzal jellemezve, hogy hatékony gátló mennyiségben valamely (IV) általános képletű vegyületet - ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, acetyl-tio-alkán-csoport, ciklopropil-amino-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_1 és R_2 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 17-es szénatomhoz;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_5 és R_6 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 11-es szénatomhoz;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom - adunk.

20. A 19. igénypont szerinti módszer, azzal jellemezve, hogy a (IV) általános képletű vegyület körébe tartozó vegyületként (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitro-pregn-4-én-3-ont adunk.

21. Módszer a szteroid C_{17-20} liáz gátlására, azzal jellemezve, hogy effektív gátló mennyiségben valamely (IV) általános képletű vegyületet - ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, ciklopropil-amino-csoport, acetil-tio-alkán-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_1 és R_2 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 17-es szénatomhoz;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_5 és R_6 együttesen $=\text{O}$ atomot képezhet, mely oxigén kettőskötéssel kötődik a 11-es szénatomhoz;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom - adunk.

22. A 21. igénypont szerinti módszer, azzal jellemezve, hogy a 21. igénypont szerinti (IV) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó 17 β -ciklopropoxi-4-nitro-androszt-4-én-3-ont adunk.

23. A 21. igénypont szerinti módszer, azzal jellemezve, hogy a 21. igénypont szerinti (IV) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó (20S)-20-hidroxi-metil-4-nitro-pregn-4-én-3-ont adunk.

24. A 21. igénypont szerinti módszer, azzal jellemezve, hogy a 21. igénypont szerinti (IV) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó (20S)-20-merkaptó-metil-4-nitro-pregn-4-én-3-ont adunk.

25. Eljárás az (I) általános képletű vegyület - ahol a képletben

R jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoilcsoport, 1-6 szénatomos alkanoil-oxi-csoport, 1-4 szénatomos alkanolcsoport, COCH_2OH csoport, CO_2H csoport, CONR_7R_8 csoport, ciklopropil-oxi-csoport, acetil-tio-alkán-csoport, ciklopropil-amino-csoport, t-butil-karboxamid-csoport, 2,2-dimetil-dioxolán-4-il-csoport, 1,2-dihidroxi-etil-csoport és 1-4 szénatomos alkán-tiol-csoport;

R_1 jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_2 , R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_5 és R_6 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R_7 jelentése hidrogénatom vagy 1-8 szénatomos alkilcsoport;

R_8 jelentése 1-8 szénatomos alkilcsoport; és

a gyűrűn a ----- kettős vagy egyes kötést jelez;

R és R_1 együttesen, és/vagy R_5 és R_6 együttesen =O atomot jelenthet;

azzal a feltétellel, hogy ha R jelentése hidroxilcsoport, akkor R_1 jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport; és

azzal a feltétellel, hogy ha R_5 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_6 jelentése hidrogénatom és ha R_6 jelentése hidroxilcsoport, akkor R_5 jelentése hidrogénatom; - előállítására,

azzal jellemezve, hogy

- a) valamely (II) általános képletű kiindulási vegyületet - ahol a képletben R- R_8 , és ----- jelentése a fentiekben megadott - valamely hatékony mennyiségű erős bázissal, valamely alkalmas hőmérsékleten a megfelelő termodinamikus 3,5-dienolát kialakulásáig kezelünk megfelelő ideig, majd valamely neutrális nitrálószerrel adagolva valamely 4-nitro-szteroidot kapunk; majd
- b) a 4-nitro-szteroidot valamely alkalmas redukálószerrel reagáltatjuk, és
- c) kívánt esetben azt valamely gyógyászatilag elfogadható sóvá alakítjuk.

26. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó vegyület a (17S)-4-amino-ciklopropil-oxi-androszt-4-én-3-on.

27. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó vegyület a (20S)-4-amino-21-hidroxi-20-metil-pregn-4-én-3-on.

28. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű vegyület oltalmi körébe tartozó vegyület a 4-amino-21-hidroxi-20-metil-pregn-4-én-3-on-hidroklorid.

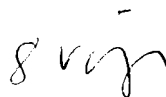
29. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az alkalmas hőmérséklet 17°C - 30°C közötti érték.

30. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az alkalmas hőmérséklet 20°C - 25°C közötti érték.

A meghatalmazott


Somlai Mária
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1062 Budapest, Áldrassy út 113.
Telefon: 34-24-989; Fax: 34-24-323

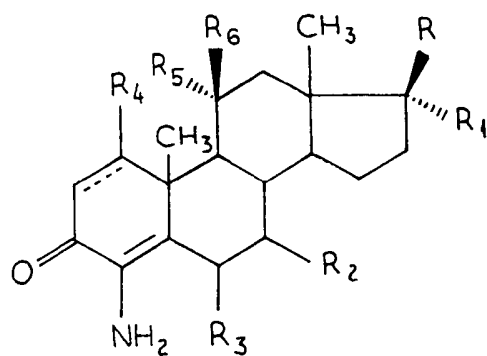




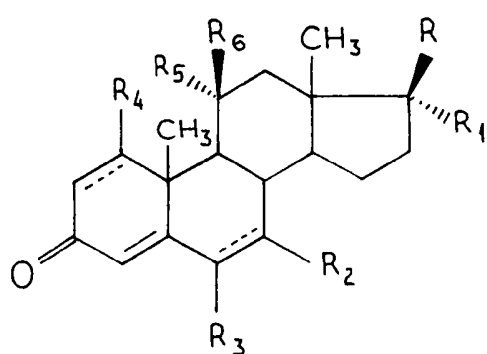
3035/96/

6295/5M

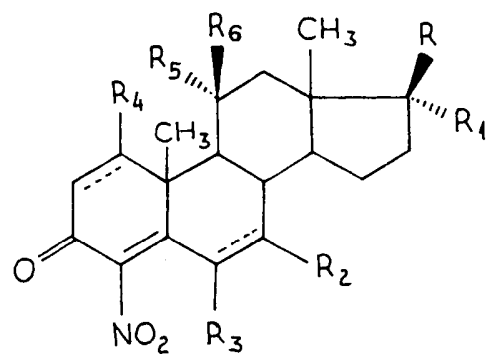
8/1



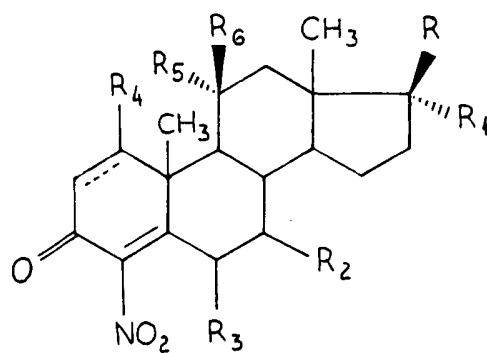
(I)



(II)



(III)



(IV)

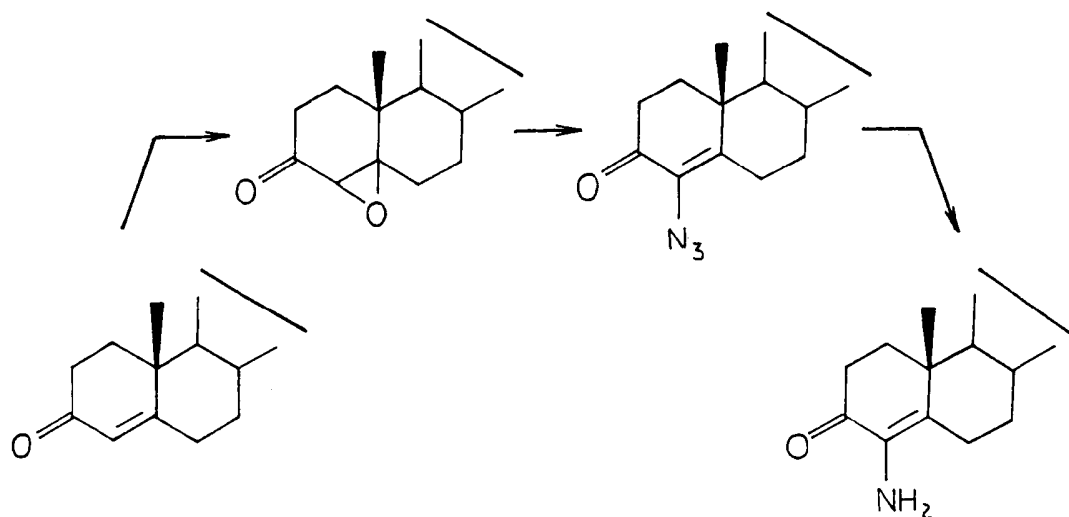
303/5/96

34.107

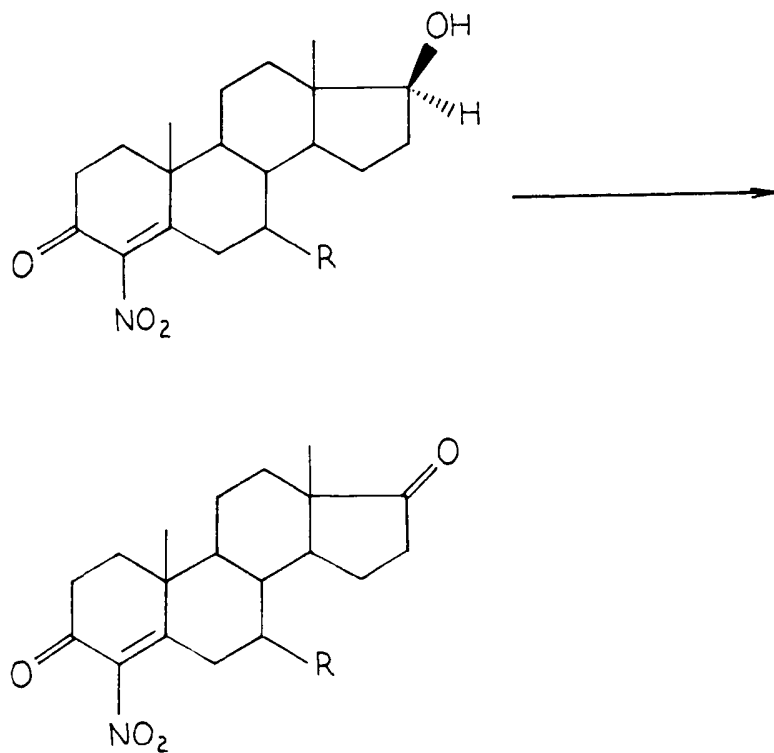
8/2

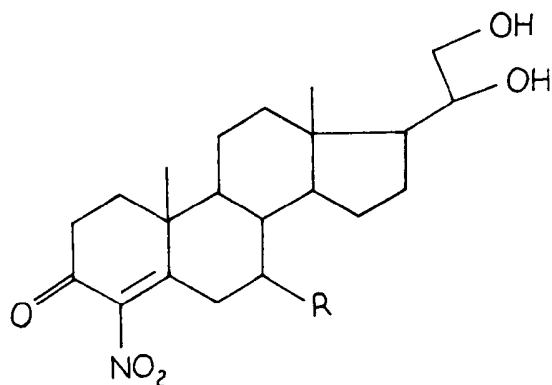
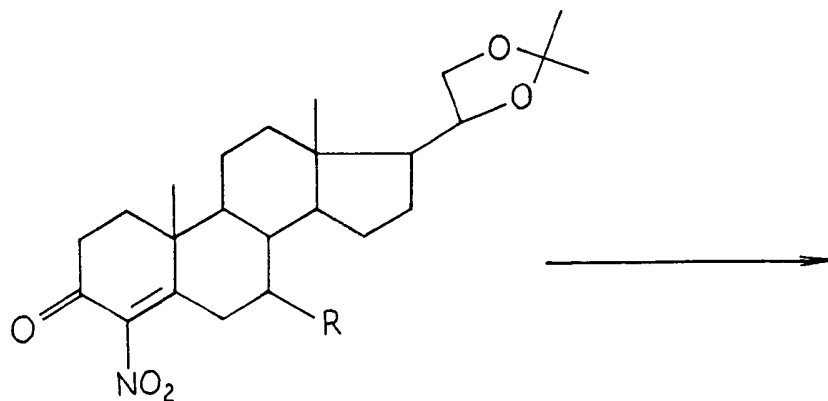
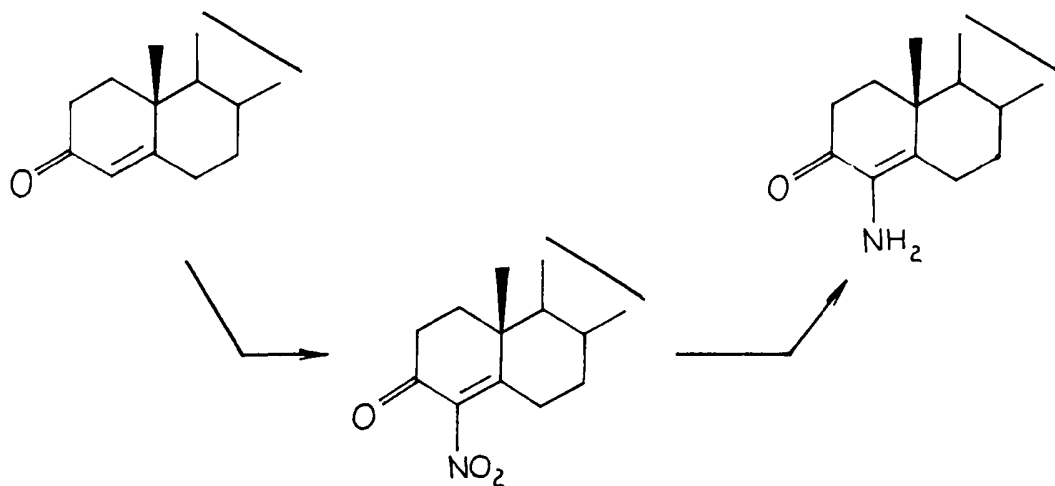
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

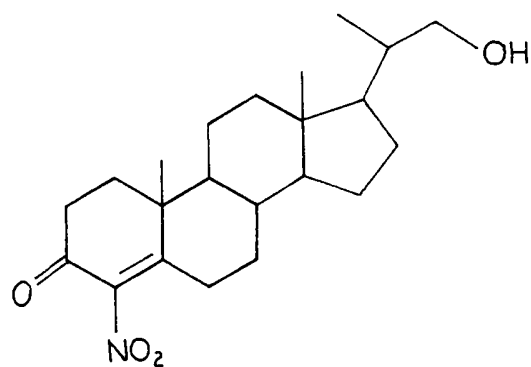
A reakcióvázlat



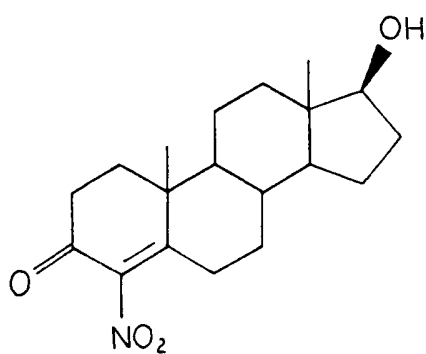
B reakcióvázlat



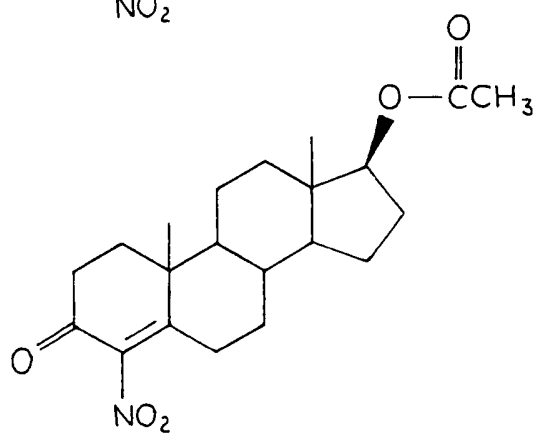
C reakcióvázlatD reakcióvázlat



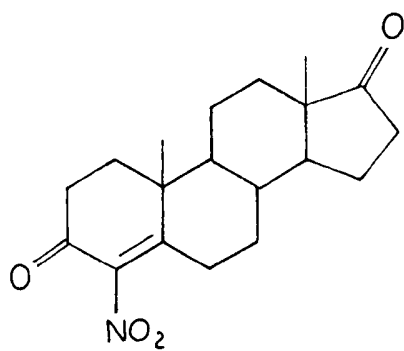
(1)



(2)

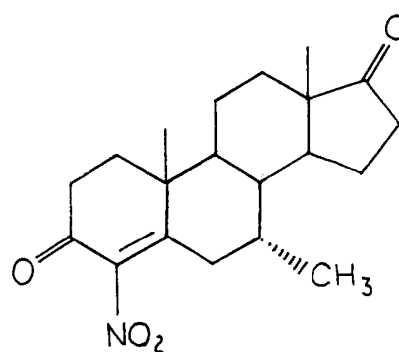
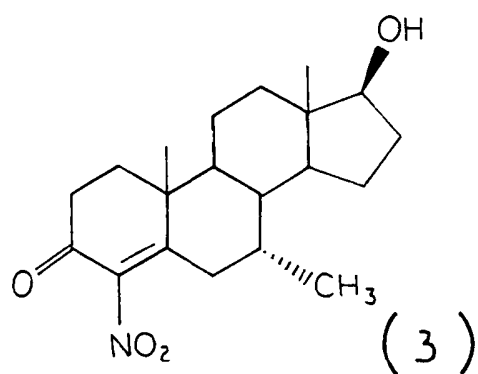


(2')

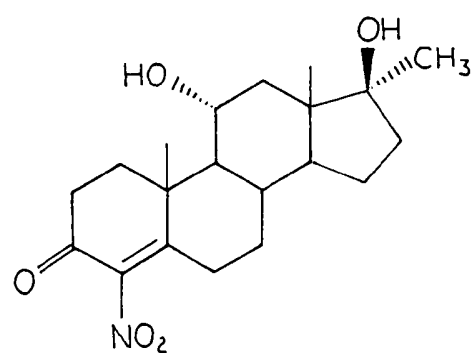


(2A)

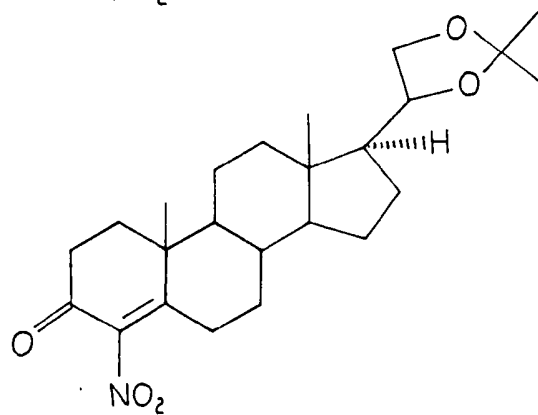
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



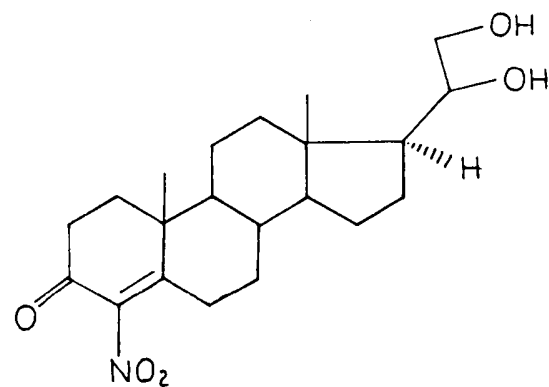
(3A)



(4)

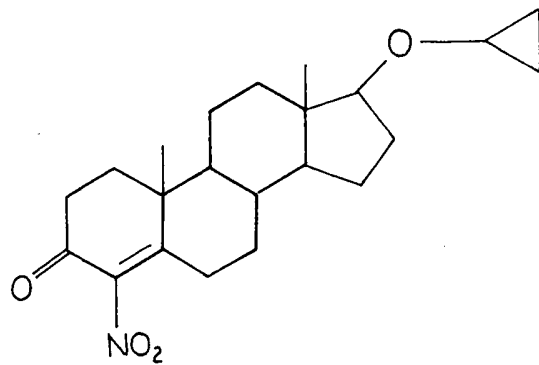


(5)

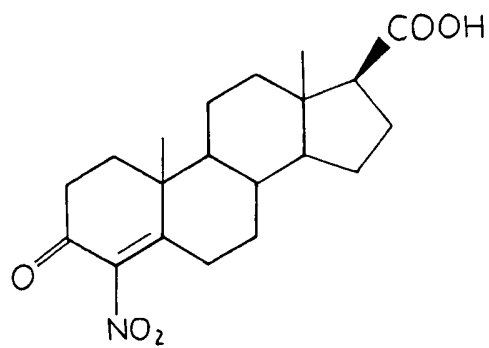


(5A)

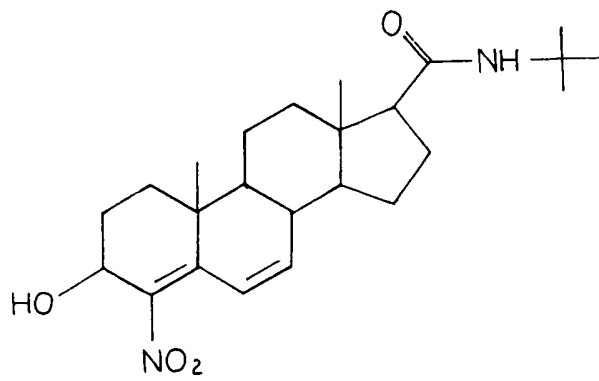
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



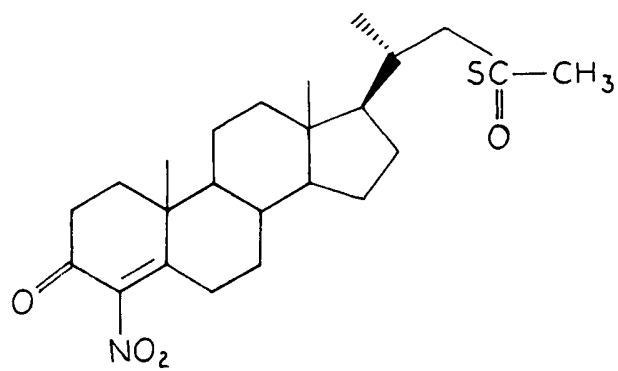
(6)



(7)

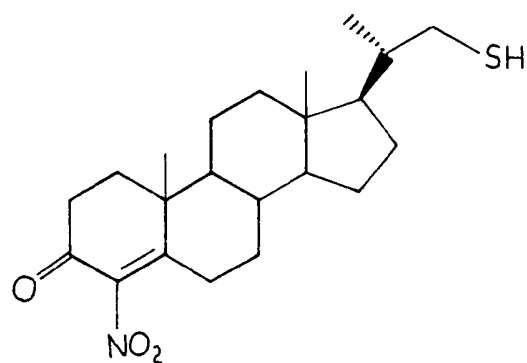


(8)

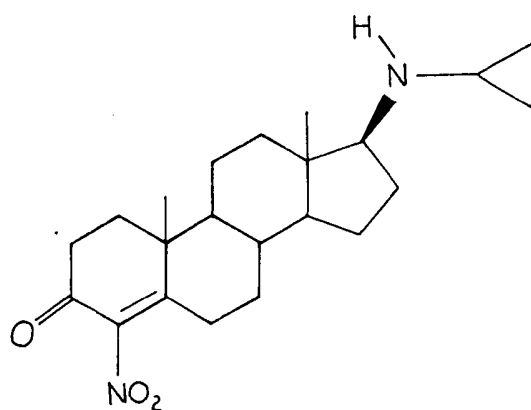


(9A)

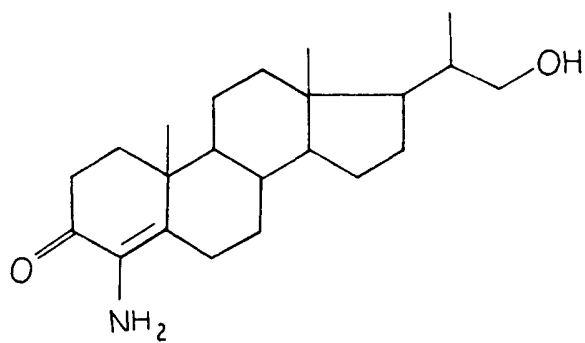
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



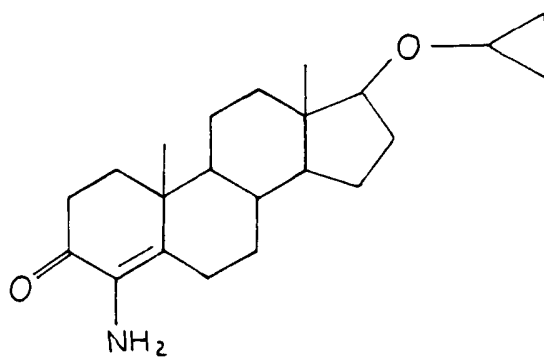
(9B)



(10)

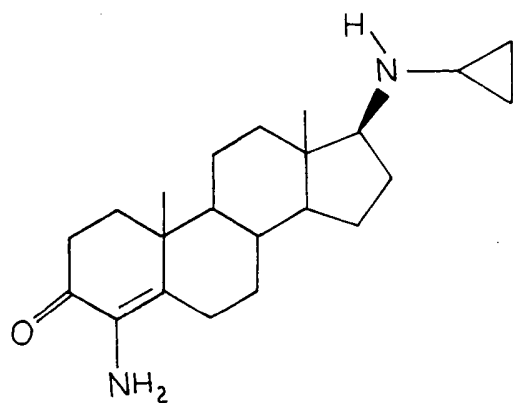


(11)

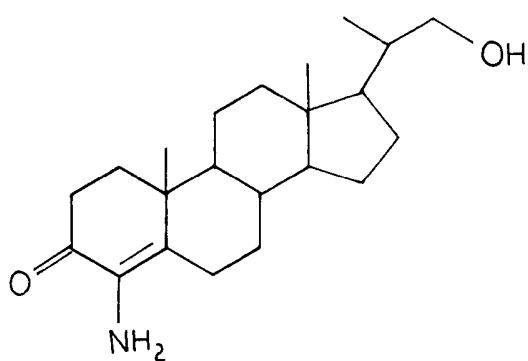


(12)

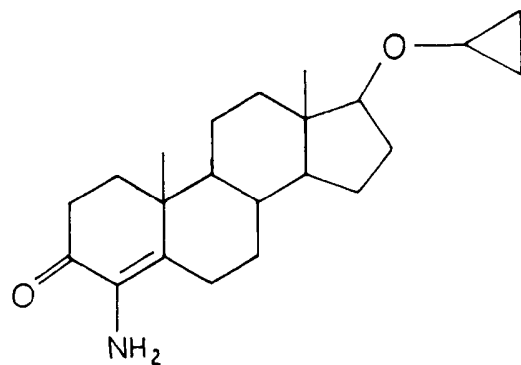
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



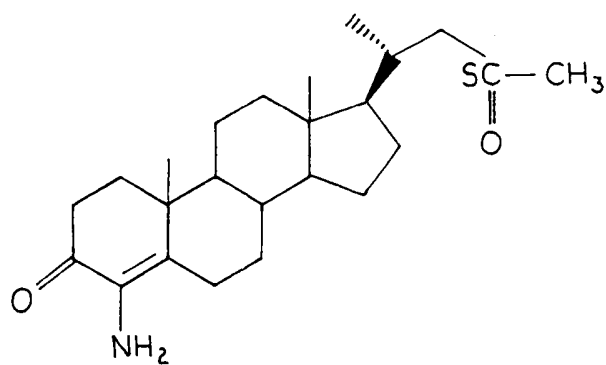
(13)



(14)



(15)



(16)