



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

232930

(11) (B1)

(22) Přihlášeno 17 02 83
(21) (PV 1085-83)

(40) Zveřejněno 17 07 84

(45) Vydáno 15 08 86

(51) Int. Cl.³

C 07 J 1/00
C 07 J 5/00
C 07 J 9/00
C 07 J 19/00
C 07 C 69/716

(75)
Autor vynálezu

DRAŠAR PAVEL RNDr. CSc., POUZAR VLADIMÍR RNDr. CSc., ČERNÝ
IVAN RNDr. CSc., HAVEL MIROSLAV ing. CSc., PRAHA

(54) Způsob přípravy esterů steroidních 3-alkoholů s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou

Vynález se týká způsobu přípravy esterů steroidních 3-alkoholů s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou.

Příprava se provádí tak, že se nechá reagovat steroidní 3-alkohol odvozený od cholesterolu, estronu, digitoxigeninu, androstanu, pregnanu nebo cholanu s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou vzorce II



(II),

v organickém rozpouštědle, s výhodou benzenem, za teploty 0 až +35 °C, za přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu v 1 až 1,5 molárním přebytku a 4-dimethylaminopyridinu v katalytickém množství 0,1 až 0,3 molárního ekvivalentu, po dobu 60 minut až 50 hodin.

Tyto látky slouží k mimořádně výhodné synthese steroidních hemisukcinátů, které nacházejí stále širší uplatnění ve farmakologii a biochemii.

Vynález se týká způsobu přípravy esterů kyseliny 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselné se steroidními 3-alkoholy.

Látky uvedeného typu slouží k mimořádně výhodné synthese řady významných steroidních hemisukcinátů, jako například digitoxigeninhemisukcinátu, cholesterolhemisukcinátu a podobně, které nalézají stále širší uplatnění ve farmakologických i biochemických metodách (viz např. A. Yamada: *Yakugaku Zasshi* **79**, 1441 (1959), Wichman A.: *Biochem. J.* **181**, 691 (1979), Fukuyama M. and Miyake Y.: *J. Biochem.* **85**, 1183 (1979), katalog fy Pierce r. 1982 (dodatky) č. pol. 20273).

Látky, jichž se vynález týká, jsou vysoce zajímavé jako prekursor steroidních hemisukcinátů, které nalezly použití mj. jako látky používané jako imobilizované systémy adsorbující lipoproteiny lidské plazmy (Wichman A.: *Biochem. J.* **181**, 691 (1979)/ či používané při procesu čištění cholesteryloxidázy (Fukuyama M. a kol.: *J. Biochem.* **85**, 1183 (1979)) (i případně jako analoge kardiotonických glykosidů, u kterých, ve srovnání s přírodními látkami, nebyl např. shledán žádný významný přírůstek toxicity (Yamada A.: *Yakugaku Zasshi* **79**, 1441 (1959)/).

Látky uvedeného typu byly dosud připravovány oklikou, tj. přes chlorid kyseliny 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselné (Okabayashi T., a kol.: *Cancer Res.* **37**, 619 (1977), např. v řadě derivátů komponent nukleových kyselin. V chemii steroidů estery kyseliny 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselní nebyly dosud publikovány. Steroidní hemisukcináty byly dosud připravovány reakcí s sukcinanhydridem (Yamada A.: *Yakugaku Zasshi* **79**, 1441 (1959)/).

Obě výše citované metody se při praktickém preparativním použití ukázaly jako neefektivní, případně v jednotlivých případech i zcela selhávaly. Nová metoda přípravy esterů podle vynálezu zefektivňuje nejen přípravu, ale i izolaci produktů z reakční směsi.

Podstatou vynálezu je způsob přípravy esterů steroidních 3-alkoholů s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou obecného vzorce I



kde R je zbytek steroidního alkoholu s hydroxyskupinou v poloze 3.

Uvedené sloučeniny se připraví tím, že se nechá reagovat steroidní 3-alkohol odvozený od cholesterolu, estronu, digitoxigeninu, androstanu, pregnanu nebo cholanu s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou vzorce II



v organickém rozpouštědle, s výhodou benzenu, za teploty 0 až +35 °C, za přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu v 1 až 1,5 molárním přebytku s 4-dimethylaminopyridinu v katalytickém množství 0,1 až 0,3 molárního ekvivalentu, po dobu 60 minut až 50 hodin.

Dále jsou uvedeny příklady způsobu přípravy dle vynálezu.

P ř í k l a d 1

Cholesterol (387 mg, 1 mmol) byl smíchán v benzenu (15 ml) s 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou kyselinou (470 mg, 1,88 mmol) a ke směsi byl přidán dicyklohexylkarbodiimid (220 mg, 1,07 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (5 mg). Směs byla za teploty 18 °C míchána 4,5 hodin. Poté byla vlita do vody (150 ml) a extrahována do benzenu (3x 50 ml). Spojené benzenové extrakty byly vysušeny síranem hořečnatým a po odpaření chromatografovány na koloně silikagelu (200 ml) benzenem.

Z frakce obsahující hlavní podíl produktu bylo krystalizací ze směsi benzen-methanol získáno 532 mg (78 %) cholesterol-3-yl 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxobutyrátu, tj. 132 až 133,5 °C. $[\alpha]_D^{25} = -33,1^\circ$ ($c=0,40$, chloroform); IČ spektrum (chloroform): 1 754. 1 150 cm^{-1} ($\text{COOCH}_2\text{CCl}_3$) 1 739, 1 150 cm^{-1} (CHCOOCH_2).

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (deuteriochloroform/tetramethylsilan/TMS): 5,38 d (1H, $\text{C}_{(6)}\text{-H}$, $J=3,5$ Hz), 4,73 s (2H, OCH_2CCl_3), 4,64 m (1H, $\text{C}_{(3)}\text{-H}$, $W=25$ Hz), 2,71 s (4H, $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,30 d (2H, $\text{C}_{(7)}\text{-H}$, $J=8$ Hz), 1,00 s (3H, $\text{C}_{(19)}\text{-H}$), 0,90 d (3H, $\text{C}_{(21)}\text{-H}$, $J=5$ Hz), 0,83 d (6H, $\text{C}_{(26)}\text{-H} + \text{C}_{(27)}\text{-H}$, $J=5$ Hz), 0,67 s (3H, $\text{C}_{(18)}\text{-H}$). Pro $\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{Cl}_3$ (618,1) vypočteno: 64,12 % C, 8,31 % H, 17,21 % Cl; nalezeno: 63,77 % C, 8,43 % H a 17,43 % Cl.

Příklad 2

3β -hydroxy-21-nor-chol-5-en-24-20-olid konfigurace 20R (200 mg, 0,57 mol) byl v benzenu (20 ml) smísen s 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou kyselinou (265,2 mg, 1,06 mmol) a dicyklohexylkarbodiimidem (130 mg, 0,63 mmol) a 4-dimethylaminopyridinem (4 mg). Po 1 h míchání za teploty místnosti byla reakční směs vlita do vody (150 ml) a vytřepána směsí benzen-ether 1:1 (2x 50 ml) a etherem (2x 100 ml). Spojené organické extrakty byly vysušeny síranem hořečnatým a odparek chromatografován na koloně silikagelu (100 mg) směsí benzen-ether 5:1.

Z hlavní frakce byl získán produkt, který byl překrystalován ze směsi benzen-petrolether. Bylo získáno 292 mg (87 %) 3β -hydroxy-21-nor-chol-5-en-24-20-olid 3- 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxobutyrátu o t.t. 175 až 178 °C, $[\alpha]_D^{25} = 17,7^\circ$ ($c=0,3$; chloroform); IČ spektrum (chloroform): 1 670 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$); 1 730 sk, 1 150 cm^{-1} (COOR); 1 790, 1 753, 1 164 cm^{-1} (butenolid), 1 753 cm^{-1} ($\text{RCOOCH}_2\text{CCl}_3$).

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (deuteriochloroform/TMS): 7,48 dd (1H, $\text{C}_{(22)}\text{-H}$, $J=1,5$ Hz, $J=6$ Hz), 6,12 dd (1H, $\text{C}_{(23)}\text{-H}$, $J=2$ Hz, $J=6$ Hz), 5,38 d (1H, $\text{C}_{(6)}\text{-H}$, $J=3,5$), 4,94 bd (1H, $\text{C}_{(20)}\text{-H}$, $J=8,5$ Hz), 4,74 s (2H, OCH_2CCl_3), 4,67 m (1H, $\text{C}_{(3)}\text{-H}$, $W=38$ Hz), 2,72 s (4H, $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,33 bd (2H, $\text{C}_{(7)}\text{-H}$, $J=8$ Hz), 1,03 a 0,89 2s (2x 3H, angulární methyl). Pro $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{O}_6\text{Cl}_3$ (587,98) vypočteno: 59,24 % C, 6,34 % H, 18,09 % Cl; nalezeno: 59,03 % C, 6,61 % H, 17,96 % Cl.

Příklad 3

Estron (270 mg, 1 mmol) byl v benzenu (15 ml) smísen s 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou kyselinou (470 mg, 1,88 mmol), dicyklohexylkarbodiimidem (220 mg, 1,07 mmol) a 4-dimethylaminopyridinem (5 mg); za teploty 0 °C byla reakční směs míchána 10 dní. Poté byla reakční směs vlita do vody (100 ml) a vytřepána do etheru (3x 50 ml). Spojené organické extrakty byly vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu (100 g) v soustavě benzen-ether 5:1.

Z hlavní frakce bylo získáno 720 mg odparku, který byl krystalován ze směsi ether-methanol. Bylo získáno 380 mg (76 %) estron-3-yl 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxobutyrátu o t.t. 88 až 89,5 °C, $[\alpha]_D^{25} = +69,1$ ($c=0,31$; chloroform); IČ spektrum (tetrachlor): 1 765. 1 612. 1 587, 1 497, 1 142 cm^{-1} (OOC-arom.), inflex 1 748 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ na pětičlenném kruhu), 1,748, 1 208 cm^{-1} ($-\text{COOR}$).

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (tetrachlor/TMS): 7,30 až 6,60 m (3H, aromatické protony), 4,72 s (2H, OCH_2CCl_3), 2,80 s (4H, $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 0,82 s (3H, angulární methyl). Pro $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_5\text{Cl}_3$ (501,8) vypočteno: 57,44 % C, 5,42 % H, 21,19 % Cl; nalezeno: 57,30 % C, 5,71 % H, 21,47 % Cl.

Příklad 4

Příklad 4 byl proveden stejně jako příklad 3 s tím rozdílem, že teplota, při které byla

provedena reakce, byla 18 °C a doba k reakci potřebná byla 2 dny. Výsledek tohoto příkladu byl stejný jako u příkladu 3.

Příklad 5

(E)-21-methoxykarbonyl-3 β -hydroxy-pregna-5,20-dien (250 mg, 0,65 mmol) byl v benzenu (20 ml) smísen s 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáselnou kyselinou (290 mg, 1,16 mmol) a 4-dimethylaminopyridinem (4,7 mg) a směs byla míchána za teploty 21 °C po dobu 2 h. Poté byla směs vlita do vody (150 ml) a vytřepána do benzenu (3x 50 ml). Spojené bensenové extrakty byly vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu (25 g) benzenem (700 ml).

Z hlavní frakce byl získán odparek, který přidáním benzenu (1 kapka) a petroletheru (4 ml) za teploty +5 °C zkrystaloval. Bylo získáno 395 mg (67 %) (E)-21-methoxykarbonyl-3 β -hydroxy-pregna-5,20-dien 3-[4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxobutyrátu] o t.t. 100 až 101 °C, $[\alpha]_D^{25} = -219,6^\circ$ (c=0,23; chloroform). IČ spektrum (chloroform): 1 712, 1 439, 1 154 cm⁻¹ (=CH-COOH₃), 1 725 a 1 154 cm⁻¹ (COOR); ¹H-NMR spektrum (deuteriochloroform/TMS): 7,00 dd (1H, C(20)-H, J_{17,20}=7,5 Hz, J_{20,21}=16 Hz), 5,79 d (1H, C(21)-H, J=16 Hz), 5,38 m (1H, C(6)-H, W=13 Hz), 4,75 s (2H, OCH₂CCl₃), 4,67 s (1H, C(3)-H, W=40 Hz), 3,71 s (3H, COOCH₃), 2,72 s (4H, OCCH₂CH₂CO), 2,30 bd (2H, C(7)-H, J=8 Hz), 1,01 a 0,64 2 s (2x 3H, angulární metyly). Pro C₂₉H₃₉O₆Cl₃ (589,99) vypočteno: 59,03 % C, 6,66 % H, 28,03 % Cl; nalezeno 59,30 % C, 6,65 % H, 17,81 % Cl.

Příklad 6

Digitoxigenin (1,124 g, 3 mmol) byl v benzenu (100 ml) smísen s 4-(2,2,2-trichlormethoxy)-4-oxomáselnou kyselinou (1,49 g, 4,25 mmol), dicyklohexylkarbodiimidem (730,6 mg, 3,54 mmol) a 4-dimethylaminopyridinem (24 mg, 0,2 mmol) a směs byla míchána za teploty 25 °C po dobu 2 h. Poté byla vlita do vody (150 ml) a vytřepána benzenem (1x 50 ml), dichlormethanem (2x 50 ml) a etherem (1x 50 ml). Spojené organické extrakty byly vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu (100 g) soustavou chloroform-ether 5:1.

Z hlavní frakce byl získán produkt, který rekrystalizací ze směsi dichlormethan-ether-petrolether poslytl 1,3 g (71,5 %) digitoxigenin-3-yl 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxobutyrátu o t.t. 163 až 165 °C. $[\alpha]_D^{25} = +11,41^\circ$ (c=0,17; chloroform), IČ spektrum (chloroform): 3 605 cm⁻¹ (H), 1 780, 1 743, 1 726, 1 145 cm⁻¹ (-COO-), 1 780, 1 630, 1 620 cm⁻¹ (laktón); ¹H-NMR spektrum (deuteriochloroform a hexadeuteriodimethylsulfoxid/TMS): 5,89 m (1H, C(22)-H, W=9 Hz), 5,13 m (1H, C(3)-H, W=11 Hz), 4,94 m (2H, C(21)-H, W=8 Hz), 4,75 s (2H, OCH₂CCl₃), 2,74 m (4H, OCCH₂-CH₂CO, W=14 Hz), 0,97 a 0,88 2 s (2x 3H, angulární metyly). Pro C₂₉H₃₀O₇Cl₃ (606,0) vypočteno: 57,48 % C, 6,49 % H, 18,48 % Cl; nalezeno: 55,77 % C, 6,72 % H, 18,15 % Cl.

Příklad 7

Příprava byla provedena podle příkladu 1 s tím rozdílem, že reakční teplota byla v tomto případě 35 °C a reakční čas 1,5 hodiny s týmž výsledkem.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy esterů steroidních 3-alkoholů s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáseľnou obecného vzorce I



kde R je zbytek steroidního alkoholu s hydrokupinou v poloze 3, vyznačený tím, že steroidní 3-alkohol odvozený od cholesterolu, estronu, digitoxigeninu, androstenu, pregnanu nebo cholanu se nechá reagovat s kyselinou 4-(2,2,2-trichlorethoxy)-4-oxomáseľnou vzorce II



v organickém rozpoušćídle, s výhodou benzenu, za teploty 0 až +35 °C, za přítomnosti di-cyklohexylkarbodiimidu v 1 až 1,5 molárním přebytku a 4-dimethylaminopyridinu v katalytickém množství 0,1 až 0,3 molárního ekvivalentu, po dobu 60 minut až 50 hodin.