PCT

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро

МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ
С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (PCT)

(51) Международная классификация изобретения 4: C07J 1/00, A61K 31/565	A1	(11) Номер международной публикации: WO 86/00311 (43) Дата международной публикации: 16 января 1986 (16.01.86)

(21) Номер международной заявки: PCT/SU84/00033

(22) Дата международной подачи: 27 июня 1984 (27.06.84)

(71) Заявители: ВСЕСОЮЗНЫЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР [SU/SU]; Москва 115478 Каширское шоссе, д. 24 (SU) [VSESOJUZNY ONKOLOGICHESKY NAUCHNY TSENTR AKADEMII MEDITSINSKIKH NAUK SSSR, Moscow (SU)]. ХАРЬКОВСКИЙ НАУЧНО–ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭНДОКРИНОЛОГИИ И ХИМИИ ГОРМОНОВ [SU/SU]; Харьков 310002, ул. Артема, д. 10 (SU) [KHARKOVSKY NAUCHNO–ISSLEDOVATELSKY INSTITUT ENDOKRINOLOGII I KHIMII GORMONOV, Kharkov (SU)].

(72) Изобретатели: СОФЬИНА Зоя Петровна; Москва 115522, Каширское шоссе, д. 28, корп. 1, кв. 9 (SU) [SOFIINA, Zoya Petrovna, Moscow (SU)]. ЛАРИОНОВ Леонид Федорович; Москва 105523, ул. 16-ая Парковая, д. 55, корп. 2, кв. 140 (SU) [LARIONOV, Leonid Fedorovich, Moscow (SU)]. ЛАГОВА Нина Дмитриевна; Москва 115409, Каширское шоссе, д. 60, корп. 2, кв. 25 (SU) [LAGOVA, Nina Dmitrievna, Moscow (SU)]. ПЛАТОНОВА Галина Николаевна; Москва 121552, ул. Академика Павлова, д. 48, кв. 94 (SU) [PLATONOVA, Galina Nikolaevna, Moscow (SU)]. ВАЛУЕВА Ирина Михайловна; Москва 115522, Каширское шоссе, д. 28, корп. 2, кв. 55 (SU) [VALUEVA, Irina Mikhailovna, Moscow (SU)]. КУРДЮМОВА Кира Николаевна; Москва 123367, Волоколамское шоссе, д. 80, кв. 34 (SU) [KURDJUMOVA, Kira Nikolaevna, Moscow (SU)]. ШКОДИНСКАЯ Елизавета Николаевна; Москва 115522, Каширское шоссе, д. 28, корп. 1, кв. 40 (SU) [SHKODINSKAYA, Elizaveta Nikolaevna Moscow (SU)]. СУШИНИНА Людмила Павловна; Москва 119517, ул. Матвеевская, д. 10, корп. 4, кв. 124 (SU) [SUSHININA, Ljudmila Pavlovna, Moscow (SU)]. ВОЛОВЕЛЬСКИЙ Лев Натанович; Харьков 310115, ул. 2-й Пятилетки, д. 2а, кв. 139 (SU) [VOLOVELSKY, Lev Natanovich, Kharkov (SU)]. КУЗНЕЦОВА Ирина Михайловна; Москва 115573, Ореховый пр., д. 15, кв. 257 (SU) [KUZNETSOVA, Irina Mikhailovna, Moscow (SU)]. ДЕГТЯРЬ Владислав Григорьевич; Москва 121108, ул. Пивченкова, д. 1, корп. 3, кв. 113 (SU) [DEGTYAR, Vladislav Grigorievich, Moscow (SU)].

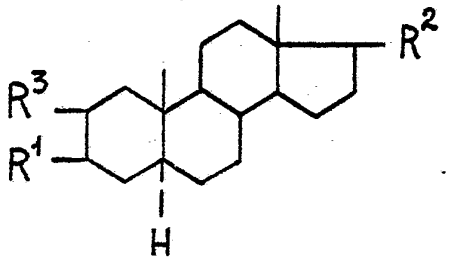
(74) Агент: ТОРГОВО–ПРОМЫШЛЕННАЯ ПАЛАТА СССР; Москва 103012, ул. Куйбышева, д. 5/2 (SU) [THE USSR CHAMBER OF COMMERCE AND INDUSTRY, Moscow (SU)].

(81) Указанные государства: CH, DE, FI, GB, JP, SE

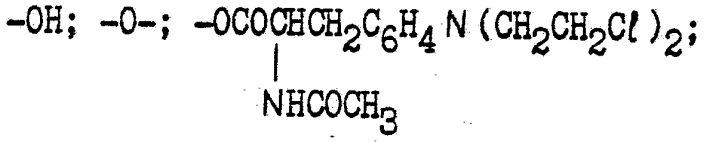
Опубликована
С отчетом о международном поиске

(54) Title: DERIVATIVES OF STEROIDS OF ANDROSTANE SERIES

(54) Название изобретения: ПРОИЗВОДНЫЕ СТЕРОИДОВ АНДРОСТАНОВОГО РЯДА



(I)



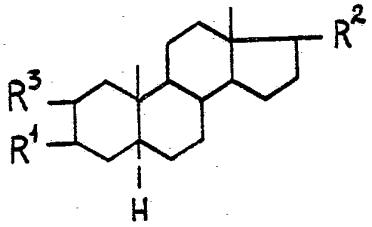
(II)

(57) Abstract

Derivatives of steroids of androstane series constituting compounds of a general formula (I); where R1 = $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; -OH; -O-; R2 = $-OCO(CH_2)_nC_6H_4N(CH_2CH_2X)_2$, where n = 1.3; X = Cl, BR, J; -OH; -O-; formula (II); R3 = $-CH_3$; -H.

(57) **Реферат:**

Производные стероидов андростанового ряда представляют собой соединения общей формулы



(I)

где $R^1 = -OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; $-OH$; $-O-$

$R^2 = -OCO(CH_2)_n C_6H_4N(CH_2CH_2X)_2$, где $n = 1,3$;

$X = Cl$, Br, J;

$-OH$; $-O-$; $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; (II)

$NHCOCH_3$

$R^3 = -CH_3$; $-H$.

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов PCT на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с PCT:

AT Австрия
AU Австралия
BB Барбадос
BE Бельгия
BG Болгария
BR Бразилия
CF Центральноафриканская Республика
CG Конго
CH Швейцария
CM Камерун
DE Федеративная Республика Германии
DK Дания
FI Финляндия
FR Франция
GA Габон
GB Великобритания
HU Венгрия
IT Италия
JP Япония
KP Корейская Народно-Демократическая Республика
KR Корейская Республика
LI Лихтенштейн
LK Шри Ланка
LU Люксембург
MC Монако
MG Мадагаскар
ML Мали
MR Мавритания
MW Малави
NL Нидерланды
NO Норвегия
RO Румыния
SD Судан
SE Швеция
SN Сенегал
SU Советский Союз
TD Чад
TG Того
US Соединенные Штаты Америки

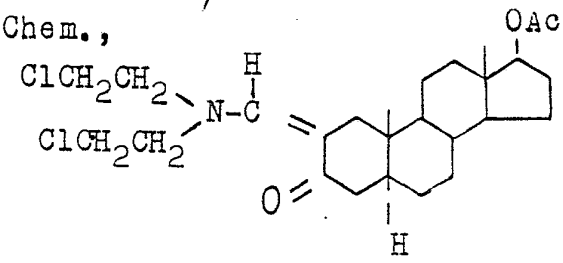
ПРОИЗВОДНЫЕ СТЕРОИДОВ АНДРОСТАНОВОГО РЯДА

Область техники

Настоящее изобретение относится к биоорганической химии, а точнее касается новых производных стероидов андростанового ряда (гормоноцитостатиков), обладающих противоопухолевой и гормональной активностью, могущих найти применение в медицине для лечения рака и в качестве контрацептивных средств.

Предшествующий уровень техники

Известно производное стероида андростанового ряда 2 [бис(2-хлорэтил)аминометилен] -5α-андростан--I7β -ол-3-он-I7β -ацетат (S. Burstein, H.Ringold, J.Org.Chem.,



26, p.3085, I96I), в котором к молекуле гормона, обладающего андрогенными свойствами, присоединена алкилирующая группа. Установлено, что это соединение не проявило токсичности при испытании на мышах после 6-дневного введения в дозах 500 мг/кг/день. Противоопухолевое действие его не описано.

Известен ряд производных стероидов андростанового ряда, которые проявляют противоопухолевую и гормональную активность. К таким производным относятся, например, сложные эфиры n-ди(2-хлорэтил) аминофенилуксусной кислоты (хлорфенацила) и стероидных спиртов-дегидроэпиандростерона и тестостерона. Указанные соединения действуют на опухоли, высокочувствительные к алкилирующим агентам (карциносаркому Уокера W-256 крыс и аденокарциному молочной железы мышей Са-755) и некоторые раки молочной железы мышей и крыс (НК, R - I3762), которые

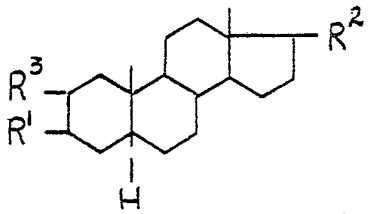
практически нечувствительны к алкилирующим агентам. Указанные соединения менее токсичны, чем входящий в них хлорфенацил. Если оптимальные терапевтические дозы хлорфенацила составляют у мышей I-I,5 мг/кг при 5-I0-дневном введении, то у производного дегидроэпиандростерона (DEA-mustard) они равны I5-20 мг/кг при такой же длительности курса введения. Однако соединения обладают токсическим действием на организм, которое проявляется в нейротоксичности, лимфопении и появлении некрозов в печени и почках. (Софьина З.П., Лагова Н.Д., Валуева И.М., Кузьмина З.В., Шкодинская Е.Н., Холецкий А.М., Труды I Всесоюзной конференции по химиотерапии злокачественных опухолей, Рига, I968, с.44I-443; M.Wall, G.Abernethy, F.Carroll, D.Taylor, Y.med.chem., 1969, 12,5, p.810-818; U.Schaeppi, J.Heyman, R.Fleischman, H.Rosenkrantz, V.Glievski, R.Phelan, D.Cooney, R.Davis, Canc. Chem. rep., 1973, p.3,4,1,p.85-95; Лагова Н.Д. - в кн. "Актуальные вопросы экспериментальной химиотерапии опухолей", Черноголовка, I980, т.I, с.222-225).

Раскрытие изобретения

В основу изобретения положена задача создания новых производных стероидов андростанового ряда, обладающих противоопухолевой и гормональной активностью, в частности, направленным действием на ткани-мишени и возникающие в этих тканях опухоли.

Заявляемые производные стероидов андростанового ряда являются новым и в литературе не описаны.

Задача решена тем, что производные стероидов андростанового ряда, согласно изобретению, представляют собой соединения общей формулы



где R^1 = $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; -OH; -O-;

R^2 = $-OCO(CH_2)_n-C_6H_4N(CH_2CH_2X)_2$, где n = I,3;

X = Cl, Br, J;

-OH; -O-; $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$;

$NHCOCH_3$

R^3 = $-CH_3$; -H.

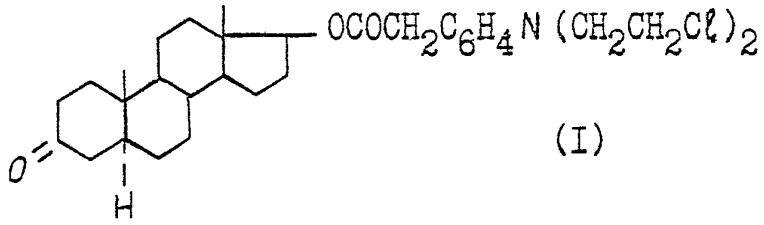
Предлагаемые стероиды андростанового ряда (гормоноцитостатики) в качестве стероидов содержат метаболиты тестостерона или их синтетические аналоги и являются сложными эфирами 5α-андростана, замещенного по 2,3 и I7 положениям..

Заявляемые соединения представляют собой аморфные или мелкокристаллические порошкообразные вещества белого или белого с желтым оттенком цвета, нерастворимые в воде, растворимые в органических растворителях. Соединения длительно устойчивы при хранении в темноте при температуре от +5 до 0°С, на свету приобретают желтую окраску.

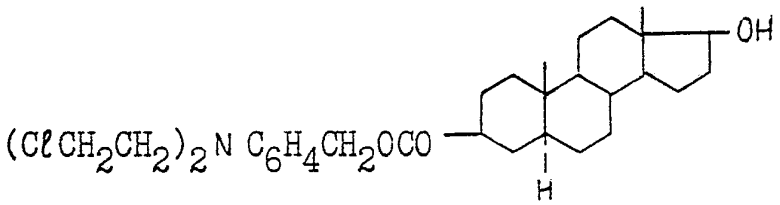
Предложенными соединениями, согласно данному изобретению, являются: I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он(I); I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилбутират]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (II); I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (III); I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-2α-метил-5α-андростан-I7β-ол-3-он (IУ); 3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β, I7β (У); I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β, I7β (УI); I7β-[n-ди(2-бром-

этил)аминофенилацетат] -5α-андростан-I7β -ол-3-он (УП); I7β-[n-ди(2-иодэтил)аминофенилацетат]-5α - андростан-I7β -ол-3-он (УШ).

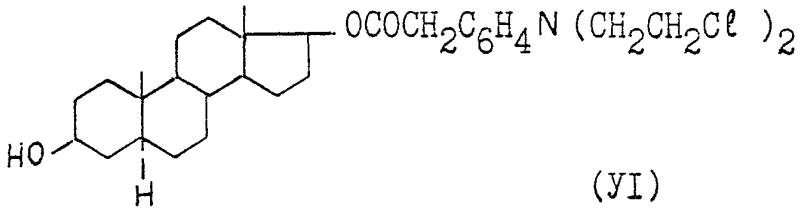
Рекомендуется использовать следующие производные стероидов андростанового ряда:



(I)



(У)



(УI)

Лучший вариант осуществления изобретения

Предложенные соединения обладают значительной противоопухолевой, а также гормональной (андрогенной и анаболической) активностью, характер которой зависит от структуры гормональной части молекулы этих веществ, а также от структуры и места присоединения алкилирующей группы к стероиду.

Преимуществом заявляемых соединений является направленность их действия на ткани-мишени и опухо-

ли, возникающие в этих тканях, что обеспечивает особенности спектра их противоопухолевого действия по сравнению с известными гормоноцитостатиками. Предлагаемый парентеральный (подкожный) способ введения заявляемых гормоноцитостатиков обеспечивает меньшую токсичность и большую направленность биологического действия соединений, чем пероральный, так как не приводит к расщеплению молекулы на гормональный и высокотоксичный алкилирующий фрагменты.

Противоопухолевая активность заявляемых соединений изучалась на ряде штаммов перевиваемых солидных опухолей и лейкозов мышей и крыс: аденокарциноме молочной железы Са-755, карциноме легкого Льюис LL, раке шейки матки РШМ-5, карцино-саркоме Уокера W - 256, опухоли яичника ОЯМ, лимфоидном лейкозе L I2I0.

Для сравнения с заявляемыми соединениями параллельно исследовали дигидротестостерон (5α-андростан-I7β-ол-3-он), дегидроэпиандростерон и хлорфенацил или препарат сарколизин (β-[п-ди(2-хлорэтил)аминофенил]-α-аланин, хлоргидрат), входящие в состав молекулы большинства заявляемых соединений, а также известные гормоноцитостатики: эфир дегидроэпиандростерона с хлорфенацилом (DEA-mustard) и препарат эстрацит (эстра-I,3,5(I0)-триен-3,I7β-диол, 3N-[бис-(2-хлорэтил)] карбамат-I7-натрий фосфат).

Соединения вводили животным подкожно в масле в дозах, исчисляемых в мг на кг массы тела, в течение 5-I0 дней в сроки, принятые при исследовании на соответствующих опухолях (через 24 или 48 часов после перевивки опухоли). Эстрацит вводили тем же способом в 0,9% растворе NaCl.

Для изучения направленности действия использовали спонтанные и/или индуцированные канцерогенами опухоли мышей и крыс, возникающие в тканях-мишенях. В этих случаях лечение начинали при достижении опу-

холями определенного размера, при котором для опухолей исключается возможность спонтанной регрессии.

Критериями противоопухолевой активности служили: увеличение продолжительности жизни животных (УПЖ %) и торможение роста солидных опухолей (ТРО %)

$$\text{УПЖ } \% = \frac{T - C}{C} \cdot 100 \quad ,$$

где Т - средняя продолжительность жизни леченых животных,

С - средняя продолжительность жизни животных в контроле.

$$\text{ТРО } \% = \frac{K - O}{K} \cdot 100 \quad ,$$

где К - средний объем (масса) опухоли в группе леченых животных,

О - средний объем (масса) опухоли в контроле.

Критериями противоопухолевого эффекта при воздействии на спонтанные и индуцированные опухоли служили: излечение животных (%) и изменение размеров опухолей по сравнению с их исходной величиной (%).

Исследования проводили на линейных мышах и их гибридах первого поколения.

Результаты, полученные при изучении противоопухолевой активности заявляемых соединений на некоторых перевиваемых опухолях, представлены в таблице I.

Таблица I

Противоопухолевая активность заявляемых производных стероидов андростанового ряда

№№ пп	Название соединения	Дозы мг/кг/день	Дни лечения после перевивки опухоли
I	2	3	4
I	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (I)	25-50	2-6
2	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилбутират]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (II)	30-50	2-6
3	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]--5α-андростан-I7β-ол-3--он (III)	I0-I00	2-6
4	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]--2α-метил-5α-андростан--I7β-ол-3-он (IУ)	I0-I00	2-6
5	3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β, I7β (У)	5-30	2-6
6	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (УI)	5-50	2-6
7	I7β-[n-ди(2-бромэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (УП)	I0-50	2-6

Продолжение таблицы I

I	2	3	4
8	I7β -[n -ди(2-иодэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β--ол-3-он (УШ)	25-I00	2-6
9	Дигидротестостерон	I0-I5	2-6
I0	Хлорфенацил	I,5-2	2-6
II	Сарколизин	2-3	2-6
		7	2-6
I2	ДЭА- mustard	I0-I5	2-II
		50	2-6
I3	Эстрацит	I00	2-6

Таблица I /продолжение/

№ пп	Максимальное торможение роста опухоли, %			Увеличение продолжительности жизни, %		
	Са-755	LL	W-256	Са-755	L-I2I0	W -256
I	5	6	7	8	9	I0
I	98	66	99	59	4I	I60
2			7I			
			30% извлечения			47
3	98	7I		I22	82	
4	96	58		79	82	
5	95	66		3I	28	
6	95	60		32	25	
7	97			54		

Таблица I (продолжение)

I	5	6	7	8	9	I0
8	65			47		
9	I6	+77				
I0	33		97			
II	83	58		32	90	
I2	I0	59			57	
I3	+6	29			4	

Знак "+" означает стимуляцию роста опухоли.

Как видно из таблицы I, предлагаемые соединения обладают сильным противоопухолевым действием в отношении ряда перевиваемых опухолей, что выражается в значительном торможении роста опухолей - на 58-99% и/или увеличении продолжительности жизни леченых животных на 25-I60%. Особенно видны преимущества заявляемых соединений на Са-755. Соединения не только тормозят рост Са-755 на 65-98%, но и увеличивают продолжительность жизни животных на 3I-I22%. Известный гормоноцитостатик андростанового ряда, ДЕА-mustard , а также эстрацит не проявили никакой противоопухолевой активности в отношении этой опухоли.

Из таблицы I также видно, что заявляемые соединения отличаются от алкилирующих агентов, хлорфенацила и сарколизина, входящих в их молекулу, по силе и спектру противоопухолевого действия, а также по токсичности. Так, терапевтические дозы заявляемых соединений лежат в диапазоне от 5 до I50 мг/кг при ежедневном введении в течение 5 дней, тогда как максимально переносимые дозы хлорфенацила и сарколизина при этом же режиме лечения составляют соответст-

венно I,5 и 3 мг/кг.

У соединений I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (I), 3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (У) и I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (УI) в большей степени проявилась направленность и различия в действии на опухоли, возникающие в гормонозависимых тканях - перевиваемом раке шейки матки РШМ-5, опухолях яичника ОЯМ, а также на индуцированных и спонтанных опухолях яичника и молочной железы мышей и крыс. В то же время перечисленные соединения были менее активны при лечении животных с лейкозом L I2I0 (таблица I), что свидетельствует об их меньшем алкилирующем действии. Из данных, представленных в таблице 2, видно, что соединение I мало влияет на рост ОЯМ, в то время как соединение УI и особенно соединение У вызывают глубокое угнетение роста этой опухоли. Из той же таблицы видно, что РШМ-5 и ОЯМ мало или вовсе нечувствительны к дигидротестостерону и хлорфенацилу, а эстрогеноцитостатик эстрацит даже стимулирует рост РШМ-5. Из данных, представленных в таблице 3, видны преимущества соединений I, У и УI перед известным андрогеном тестостерон-пропионатом в их противоопухолевой активности в отношении индуцированных и спонтанных опухолей яичников и молочной железы мышей и крыс.

Изучение общетоксического эффекта заявляемых соединений показало, что вещества относительно малотоксичны. Мыши переносят 5-кратное введение веществ в дозах 5-I00 мг/кг. Большинство веществ обладает значительным диапазоном терапевтических доз (таблица 4). Они вызывают высокий противоопухолевый эффект в дозах, различающихся по абсолютной величине в 3-I0 раз.

Таблица 2

Противоопухолевая активность производных стероидов андростанового ряда на опухоли, происходящие из тканей-мишеней.

Название соединения	Максимальное торможение роста опухоли (%)		Увеличение продолжительности жизни (%)
	РШМ-5	ОЯМ	ОЯМ
17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-он (I)	82	37	0
3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,17β (У)	80	94	25
17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,17β (УI)	79	73	33
17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-5α-андростан-17β-ол-3-он (Ш)	87	97	57
17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-2α-метил-5α-андростан-17β-ол-3-он (IУ)	99	92	37
Дигидротестостерон	I3	54	0
Хлорфенацил	35	25	0
Эстрацит	+322	29	0

Таблица 3

Противоопухолевое действие производных стероидов андростанового ряда на индуцированные и спонтанные опухоли, происходящие из тканей-мишеней.

№№ пп	Опухоли	Уменьшение размеров или стимуляция (+) роста опухолей по сравнению с размерами к началу лечения, %
		17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-он (I)
I	2	3
I	Индуцированные по Бискиндам опухоли яичника мышей	остановка роста
2	Индуцированные по Бискиндам опухоли яичника крыс	27
3	Спонтанные опухоли молочной железы мышей	остановка роста
4	ДМБА - индуцированные опухоли молочной железы крыс	60

Таблица 3 (продолжение)

№№ пп	Уменьшение размеров или стимуляции (+) роста опухолей по сравнению с размерами к началу лечения, %				
	3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (У)		I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (УI)	Тестостеронпропионат	Контроль
I	4		5	6	7
I			67	+256	+2I
2				64	+32
3	35		24	+33	+88
4				остановка роста	+280

Таблица 4

Максимально переносимые дозы (МПД) и диапазон терапевтических доз производных стероидов андростанового ряда (мыши; 5-кратное введение)

Название соединения	мг/кг	
	МПД	терапевтические дозы
I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (I)	25	20-25
I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилбутират]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (II)	50	30
I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (III)	I00	I0-I00
I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-2α-метил-5α-андростан-I7β-ол-3-он (IУ)	I00	I0-I00
3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (У)	30	5-30
I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (УI)	50	I0-30
I7β-[n-ди(2-бромэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (УII)	50	I0-50
I7β-[n-ди(2-иодэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (УIII)	I00	25-I00
Хлорфенацил	3	I,5-2
Сарколизин	5	2-3

Для изучения направленности действия предлагаемых соединений на ткани-мишени определялись их гормональные свойства с помощью биологических (андрогенное и анаболическое действие) и биохимических (специфическое связывание с рецепторами дигидротестостерона и эстрадиола I7β) тестов. Андрогенную и анаболическую активность определяли по изменению массы соответственно предстательной железы и m.levator ani у кастрированных крысят и выражали в виде индексов (отношение относительной массы соответствующих органов после воздействия к таковой в контроле, которую считали равной I). Специфическое связывание с рецепторами дигидротестостерона и эстрадиола I7β (свободные места связывания) изучали в вентральной простате нормальных и предварительно кастрированных (за 2 недели) крыс, получавших терапевтические курсы препаратов. Определение специфического связывания дигидротестостерона и эстрадиола I7β проводили в цитозольных фракциях ткани, осаждая белки протаминсульфатом после инкубации цитозолей с насыщающими концентрациями [^{3}H]-дигидротестерона и [^{3}H]-эстрадиола I7β при 0^{o}C. Ядерные рецепторы определяли из фракции очищенных ядер, предварительно проэкстрагированных 0,4 N KCl, путем осаждения гормонрецепторного комплекса протаминсульфатом.

В таблице 5 представлены данные по андрогенному и анаболическому действию заявляемых соединений.

Из таблицы 5 видно, что большинство заявляемых производных стероидов андростанового ряда обладают слабой анаболической активностью. Их андрогенная активность в большой степени зависит от структуры гормональной части соединения. Как андрогены, соединения I и Ш сильнее остальных. Длительность андрогенного действия наибольшая также у соединений I и Ш. Однако андрогенная активность соединения I существенно слабее, чем у тестостерон-пропионата (извест-

ного андрогена).

Установлено, что предлагаемые производные стероидов андростанового ряда специфически связываются с рецепторами соответствующих гормонов. Так, соединение I связывается с цитоплазматическими рецепторами дигидротестостерона с последующим взаимодействием с соответствующими акцепторными зонами хроматина как в нормальных тканях (вентральная простата и матка крыс), так и в опухолях животных и человека, исходящих из тканей-мишеней для андрогенов (молочная железа).

Гормональные свойства заявляемых соединений I, У, УI проявились также во влиянии на рецепцию эстрадиола I7β в ткани вентральной простаты. При этом между соединениями обнаруживались различия. Например, у интактных крыс после введения соединения У специфическое связывание [^{3}H]-эстрадиола I7β в цитозоле возросло в 5 раз, а после введения соединения I - в I0 раз. После введения соединения УI специфического связывания [^{3}H]-эстрадиола I7β в цитозоле не наблюдалось (оно было полностью подавлено). Таким образом, заявляемые вещества существенно изменяли чувствительность животных к эстрогенам.

Рассматриваемые вещества I, У, УI различаются также по метаболизму в тканях-мишенях для андрогенов. Эти различия проявляются уже на уровне основного фермента метаболизма андрогенов - 5α-редуктазы, а также на уровне 3β, 3α, 6α, 7α-гидроксилаз.

Таким образом, по спектру противоопухолевого действия, по общетоксическому, гормональному действию, а также по метаболизму в тканях-мишенях заявляемые производные стероидов андростанового ряда различаются между собой. Каждое из соединений характеризуется только ему присущими особенностями биологического действия и потому представляет самостоятельный интерес.

Таблица 5

Андрогенные и анаболические свойства гормоноцитостатиков - производных стероидов андростанового ряда

№№ пп	Соединение	Доза (мг/кг)/ интервал (час) х число введений
I	2	3
I	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (I)	25/24xI0
2	3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β-I7β (У)	20/24xI0
3	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиол-3β,I7β (УI)	20/24xI0
4	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-5α-андростан-I7β-ол-3-он (Ш)	25/24xI0 50/24xI0
5	I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенил-N-ацетилаланил]-2α-метил-5α-андростан-I7β-ол-3-он (IУ)	25/24xI0 50/24xI0
6	ДЕА-mustard	5/24xI0 I0/24xI0
7	Дигидротестостерон	I5/24xI0
8	Дегидроэпиандростерон	0,5/24xI0 I/24xI0

Таблица 5 (продолжение)

I	2	3
9	Тестостерон-пропионат	I5/24xI0
I0	Сарколизин	2/24xI0
II	Хлорфенацил	I/24xI0

Таблица 5 (продолжение)

№№ пп	Дни после курса	Анаболический индекс	Андрогенный индекс
	4	5	6
I	I	2,4	8,5
	I0	I,3	5,2
2	I	0,9	2,5
	I0	I,3	2,4
3	I	I,2	2,6
	I0	I,4	I,3
4	I	I,7	2,0
	I0	I,2	I,I
	I	2,I	6,2
	I0	I,3	4,5
5	I	I,7	I,6
	I0	I,2	0,8
	I	2,3	I,5
	I0	I,6	I,8
6	I	I,3	I,4
	I	I,2	2,2

Таблица 5 (продолжение)

№№ пп	Дни после курса	Анаболический индекс	Андрогенный индекс
	4	5	6
7	I	I,6	I,I
	I0	I,I	0,9
8	I	I,5	I,2
	I	I,I	I,4
9	I	2,7	23,9
	I0	2,I	8,2
I0	I	0,8	I,6
II	I	I,0	0,9

При изучении кинетики гормонального действия I7β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-I7β-ол-3-она (I) была обнаружена интересная закономерность: смена периода стимуляции органов-мишеней (простата, семенник, семенные пузырьки) через I,5 месяца периодом их глубокого угнетения, в то время как у животных, получавших только дигидротестостерон, к этому сроку масса перечисленных органов возвращалась к норме. Отмечено также длительное ингибирующее действие соединения I на щитовидную железу у самцов и у самок крыс (подобно действию дигидротестостерона), а также на матку и яичники, причем масса этих органов не восстанавливалась до нормы и через 3 месяца после отмены введения препарата. На крысах самках с эстрогеноактивными фолликулярными кистами яичников установлен эффект временной "химической кастрации" соединения I. После терапевтического курса соединения I у крыс прекращается характерная для них постоянная течка. При лапаротомиях и гистологическом исследовании яичников обнаружено, что прекращение течки наступает вследствие атрезии

фолликулов и атрофии интерстициальной ткани яичников, которая у крыс является эстрогеноактивной. Эффект "химической кастрации" обнаружен и на лактирующих крысах, которые после терапевтического курса 17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-она (I) на 5-7 месяцев теряли способность к размножению. Эти данные свидетельствуют о контрацептивных свойствах этого вещества.

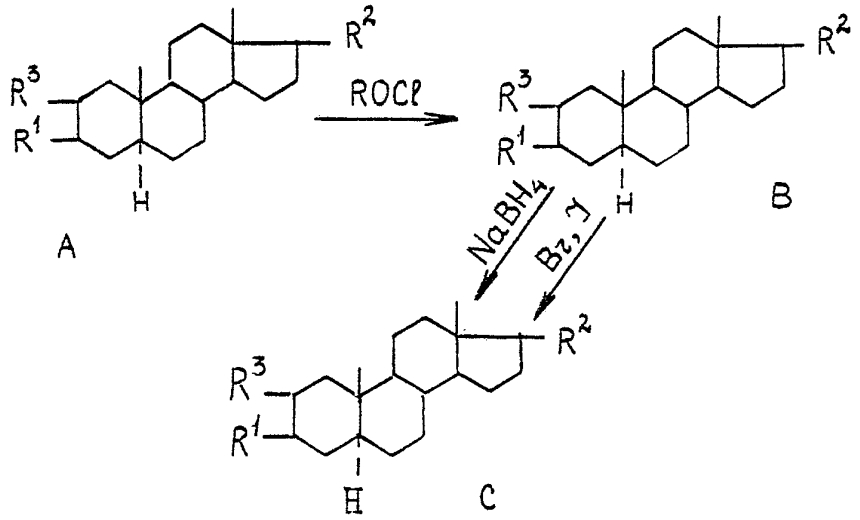
Показано, что соединение I обладает также алкилирующими свойствами. Оно нарушает процесс транскрипции и транспорта РНК, вызывает дефекты структуры ДНК, которые, однако, быстрее восстанавливаются в нормальных клетках (селезенка), чем в опухолевых S-37 (саркоме 37). Последнее свидетельствует об избирательности противоопухолевого действия.

Таким образом, на примере соединения I показано, что гормоноцитостатики-производные стероидов андростанового ряда имеют двойной механизм биологического действия. Они обладают алкилирующим и гормональными эффектами.

Способ получения производных стероидов андростанового ряда прост в технологическом исполнении.

Синтез предложенных соединений осуществляют по известной технологии путем взаимодействия замещенного 3β, 17β-2α-андростана с хлорангидридом цитотоксической фенилалкановой кислоты или α-амино-β-фенилпропионовой кислоты в апротонном растворителе в присутствии органического основания при температуре кипения растворителя в течение 8-24 часов и выделения целевого продукта реакции методом препаративной колоночной хроматографии или путем последующего замещения галогенов в продукте реакции на Br или J, или путем последующего восстановления кетогруппы в продукте реакции.

Синтез соединений, согласно предложенному способу, можно представить следующей схемой:



A. R^1 = -OH; -O-; R^2 = -OH, -O-; R^3 = $-CH_3$, -H;
$R^1 = R^2$ = -OH.

B. R^1 = -OH; -O-; $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$;
R^2 = -OH, -O-,
$-OCO(CH_2)_n C_6H_4-N(CH_2CH_2Cl)_2$, где n = I,3,
$-OCOCHCH_2C_6H_4-N(CH_2CH_2Cl)_2$; R^3 = $-CH_3$, -H.
$NHCOCH_3$

C. R^1 = -OH, -O-, $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$;
R^2 = -OH, -O-, $-OCO(CH_2)_nC_6H_4-N(CH_2CH_2X)_2$, где
n = I,3; X = Cl, Br, J; $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$;
$NHCOCH_3$
R^3 = $-CH_3$, -H.

Синтез заявляемых соединений осуществляют путем взаимодействия хлорангидрида n-ди(2-хлорэтил) аминофенилуксусной кислоты с 5α-андростаном, замещенным по 3β или I7β или 2α положениям с последующим восстановлением продуктов этерификации боргидридом натрия или заменой хлора на бром или иод.

Для лучшего понимания настоящего изобретения приводятся следующие конкретные примеры.

Пример I.

Получение I7β -[n -ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат] -5α-андростан-I7β-ол-3-она (I).

К взвеси 30,0 г (0,I0 ммоль) 5α-андростан-I7β-ол-3-она в 500 мл сухого бензола прибавляют рассчитанное количество триэтиламина и 38,0 г (0,II ммоль) хлорангидрида n-ди(2-хлорэтил)аминофенилуксусной кислоты. Полученную смесь перемешивают при 80°С в течение 24 часов и отделяют солянокислый триэтиламин. Бензольный раствор промывают водным раствором $KHCO_3$, H_2O и упаривают. Остаток растворяют в бензоле, наносят на колонку с Al_2O_3, элюируют бензолом. Бензольный элюат упаривают, остаток в виде масла кристаллизуют из эфира. Выход продукта 27,8 г (49,2% в расчете на исходный гормон), температура плавления 99-I0I°С (эфир).

Найдено %: С 67,85; Н 7,89; Cl I2,96.

$C_{3I}H_{43}NO_3Cl_2$.

Вычислено%: С 67,89; Н 7,84; Cl I2,95.

Пример 2.

Получение I7β -[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилбутират]-5α-андростан-I7β-ол-3-она (II).

Получение этого соединения ведут аналогично синтезу соединения, описанному в примере I.

В реакцию этерификации вводят 5α -андростан-I7β - ол-3-он и хлорангидрид n-ди(2-хлорэтил)аминофенилмасляной кислоты. Реакционную смесь перемешивают при температуре 80°С в течение I7 часов. Последующие операции проводят как в примере I.

Выход продукта составил 45,5% в расчете на исходный гормон, температура плавления I00-I02°С.

Найдено %: С 68,65; Н 8,I5; Cl II,98.

$C_{33}H_{47}Cl_2NO_3$.

Вычислено %: C 68,77; H 8,I6; Cl I2,32.

Пример 3.

Получение I7β -[n -ди(2-хлорэтил)аминофенил- -N -ацетилаланил] -5α -андростан-I7β -ол-3-она (Ш).

Получение этого соединения ведут аналогично синтезу соединения, описанному в примере I. В реакцию этерификации вводят 5α -андростан-I7β -ол-3-он и хлорангидрид α -N-ацетиламино- β [n -ди(2-хлорэтил)амино] фенилаланина в хлористом метилене.

Реакционную смесь перемешивают при температуре 40°C в течение 9 часов.

Последующие операции проводят как в примере I.

Продукт этерификации хроматографируют на колонке с силикагелем, используя бензол/этилацетат (I:I) в качестве элюента. Выход продукта составил I4,5% в расчете на исходный гормон.

Найдено %: C 65,87; H 7,72;
Cl II,II. $C_{34}H_{48}Cl_2N_2O_4$.

Вычислено %: C 65,94; H 7,75; Cl II,47.

Пример 4.

Получение I7β -[n -ди(2-хлорэтил)аминофенил- -N -ацетилаланил] -2α -метил-5α -андростан-I7β -ол- -3-она (IУ).

Получение этого соединения ведут аналогично синтезу соединения, описанному в примере I.

В реакцию этерификации вводят 2α -метил-5α - -андростан-I7β -ол-3-он и хлорангидрид α- N -ацетиламино- β [n -ди(2-хлорэтил)амино] фенилаланина в хлористом метилене. Реакционную смесь перемешивают при температуре 40°C в течение 9 часов. Последующие операции проводят как в примере I.

Продукт этерификации хроматографируют на колонке с силикагелем, используя в качестве элюента бензол/этилацетат (I:I). Выход продукта составил 30% в расчете на исходный гормон.

Найдено %: C 66,41; H 7,96;
Cl 10,91. $C_{35}H_{50}Cl_2N_2O_4$.
Вычислено %: C 66,34; H 7,96; Cl 11,2.

Пример 5.

Получение 3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиола-3β,17β (У).

4,2 г 3β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-она смешивают с 90 мл сухого метанола и при +5° прибавляют 0,4 г боргидрида натрия, перемешивают один час, подкисляют уксусной кислотой до pH 6, раствор упаривают, остаток промывают водой и сушат сульфатом натрия. Из бензольного раствора получают 4,0 г аморфного порошка. Выход продукта составил 95% (в расчете на исходное кетосоединение).

Найдено %: C 67,59; H 8,25;
Cl 12,88. $C_{31}H_{45}Cl_2N\ O_3$.
Вычислено %: C 67,90; H 8,16; Cl 12,95.

Пример 6.

Получение 17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростандиола-3β,17β(УI).

Получение этого соединения ведут аналогично синтезу соединения, описанному в примере 5.

В реакцию восстановления вводят 17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-3-он. Последующие операции проводят как в примере 5.

Продукт восстановления хроматографируют на колонке с силикагелем (бензол/этилацетат 4:1), собирая фракции, содержащие 3α-OH-изомер (R_f 0,41) и 3β-OH-изомер (R_f 0,33). Выход целевого β-изомера составил 67% в расчете на исходное 3-кетосоединение.

Найдено %: C 67,54; H 8,26;
Cl 13,03. $C_{31}H_{45}Cl_2\ NO_3$.
Вычислено %: C 67,59; H 8,25; Cl 12,88.

Пример 7

Получение 17β-[n-ди(2-бромэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-она (УП).

К раствору 3,0 г 17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-она в 40 мл метилэтилкетона прибавляют 5,7 г бромистого лития (~7-ми кратный избыток) и нагревают реакционную смесь при температуре 80°С в течение 35-ти часов. Упаривают растворитель и растворяют остаток в бензоле. Бензольный раствор хроматографируют на колонке с окисью алюминия и выделяют целевой продукт в виде масла, легко кристаллизующегося из эфира. Температура плавления 106-108°С.

Выход продукта составил 54% в расчете на исходное соединение.

Найдено %: С 58,28; Н 6,79; Br 25,09;

$C_{31}H_{43}Br_2NO_3$.

Вычислено %: С 58,38; Н 6,80; Br 25,08.

Пример 8

Получение 17β-[n-ди(2-иодэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-она (УШ).

К раствору 5 г 17β-[n-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат]-5α-андростан-17β-ол-3-она в 50 мл метилэтилкетона прибавляют 7,5 г иодистого натрия (~ 6-ти кратный избыток) и нагревают при температуре кипения растворителя (79,5-80°С) в течение 72-х часов. После упаривания растворителя остаток экстрагируют бензолом и хроматографируют на колонке с окисью алюминия, используя в качестве элюента бензол. Из бензольного элюата выделяют твердое вещество, которое кристаллизуют из эфира. Выход продукта составил 3,29 г (48,5% в расчете на исходный гормон), температура плавления 110-112°С.

Найдено %: С 50,70; Н 5,87;

J 34,07. $C_{31}H_{43}J_2NO_3$.

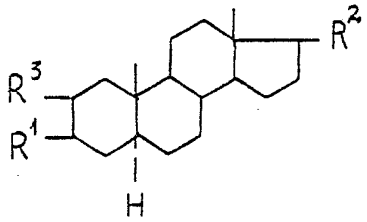
Вычислено %: С 50,90; Н 5,88; J 34,74.

Промышленная применимость

Предлагаемые производные стероидов андростанового ряда могут применяться в различных областях медицины, в частности в гинекологии и онкологии как противоопухолевые и контрацептивные средства.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. Производные стероидов андростанового ряда, представляющие собой соединения общей формулы

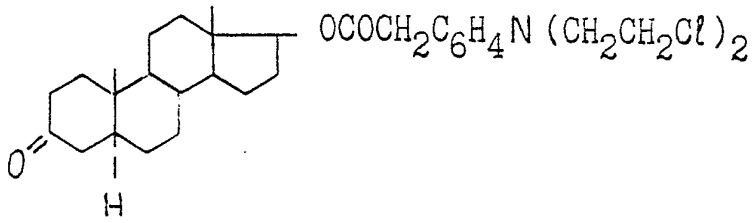


где R^1 = $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; $-OH$; $-O-$;

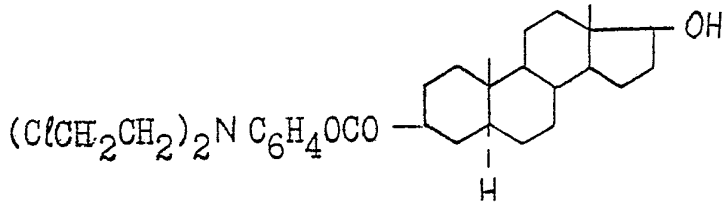
R^2 = $-OCO(CH_2)_nC_6H_4N(CH_2CH_2X)_2$, где $n = 1,3$;
$X = Cl$, Br, J ;
$-OH$; $-O-$; $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$;
|
$NHCOCH_3$

R^3 = $-CH_3$; $-H$.

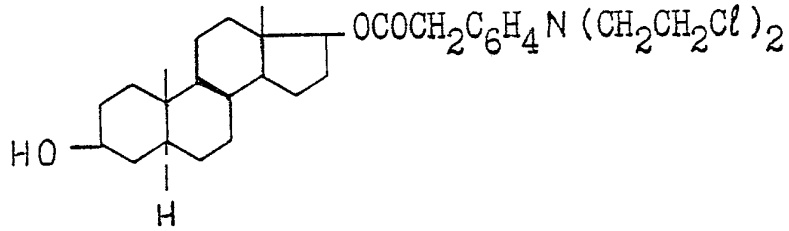
2. Производное стероида андростанового ряда по п. I, характеризующееся тем, что оно представляет собой соединение формулы



3. Производное стероида андростанового ряда по п.I, характеризующееся тем, что оно представляет собой соединение формулы



4. Производное стероида андростанового ряда по п. I, характеризующееся тем, что оно представляет собой соединение формулы



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/SU84/00033

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

IPC[4]: C07J 1/00; A61K 31/565

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [7]

Classification System	Classification Symbols
IPC[3]	C07J 1/00, A61K 31/56, 31/565

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [9]

Category *	Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12]	Relevant to Claim No. [13]
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 15, No. 11, 1982, by the AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, (Columbus, USA), F.I. Carroll el al. "Antitumor and Antileukemic Effects of some steriods and other biologically interesting compounds containing an alkylating agent", see pages 1159 and 1160	1
Y	SU, A, 1001860 (Kureha Kagaku Kogyo Kabushika Kaisha), 28 February 1983 (28.02.83) & US, 4261910 & DE, 2932604 & CH, 641817	1

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
26 February 1985 (26.02.85)	10 April 1985 (10.04.85)
International Searching Authority	**Signature of Authorized Officer**
European Patent Office	

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка ... PCT/SU 84/00033

I. КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (если применяются несколько классификационных индексов, укажите все)[6]

В соответствии с Международной классификацией изобретений (МКИ) или как в соответствии с национальной классификацией, так и с МКИ

МКИ[4] C07J 1/00, A61K 31/565

II. ОБЛАСТИ ПОИСКА

Минимум документации, охваченной поиском[7]

Система классификации	Классификационные рубрики
МКИ[3]	C07J 1/00, A61K 31/56, 31/565

Документация, охваченная поиском и не входившая в минимум документации, в той мере, насколько она входит в область поиска[8]

III. ДОКУМЕНТЫ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ПРЕДМЕТУ ПОИСКА[9]

Категория*	Ссылка на документ[11], с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска[12]	Относится к пункту формулы №[13]
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Volume 15, No.11, 1972, BY THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (Columbus, USA), F.I.Carroll et al "Antitumor and Antileukemic Effects of Some Steroids and Other Biologically Interesting Compounds Containing an Alkylating Agent", смотри с.II59 и II60	I
Y	SU, A, I00I860 (Куреха Кагаку Когио Кабусики Кайся) 28 февраля I983 (28.02.83) & US, 4261910 & DE, 2932604. & CH, 641817	I

* Особые категории ссылочных документов[10]

„A" документ, определяющий общий уровень техники, который не имеет наиболее близкого отношения к предмету поиска.

„E" более ранний патентный документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее.

„L" документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано).

„O" документ, относящийся к устному раскрытию, применению, выставке и т. д.

„P" документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета.

„T" более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или даты приоритета и не порочащий заявку, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение.

„X" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной и изобретательским уровнем.

„Y" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; документ в сочетании с одним или несколькими подобными документами порочит изобретательский уровень заявленного изобретения, такое сочетание должно быть очевидно для лица, обладающего познаниями в данной области техники.

& документ, являющийся членом одного и того же патентного семейства.

IV. УДОСТОВЕРЕНИЕ ОТЧЕТА

Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске
26 февраля I985 (26.02.85)	I0 апреля I985 (I0.04.85)
Международный поисковый орган	**Подпись уполномоченного лица**
ISA/SU	Н.Шепелев

Форма PCT/ISA/210 (второй лист)(январь 1985г.)