

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 903905 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 903905

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07J 41/00
C07J 31/00
C07J 1/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 07.08.1990

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 07.08.1990

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 09.02.1991

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

08.08.1989 FR 8910648

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Hoechst Marion Roussel, 1, Terrasse Bellini, 92800 Puteaux, RANSKA, (FR)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Moguilewsky, Martine, France, RANSKA, (FR)

2 • Nedelec, Lucien, France, RANSKA, (FR)

3 • Nique, Francois, France, RANSKA, (FR)

4 • Philibert, Daniel, France, RANSKA, (FR)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

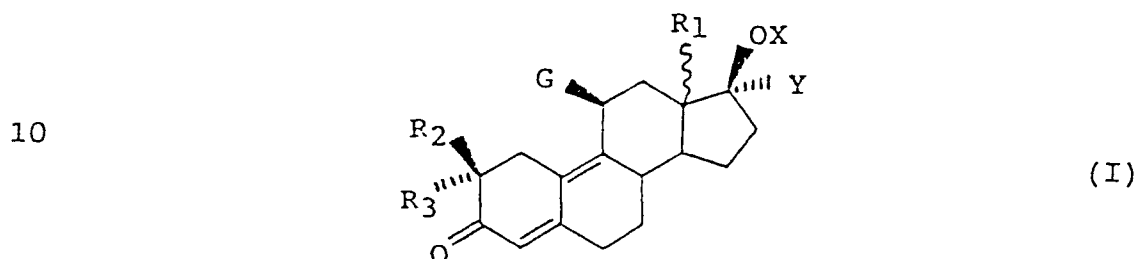
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Menetelmä uusien estereiden, ja niiden suolojen, valmistamiseksi orgaanisista hapoista 19-nor-steroidien
alkoholijohdannaisten kanssa**

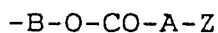
Förfarande för framställning av nya estrar och deras salter ur organiska syror med 19-nor-steroiders alkoholderivat

Menetelmä uusien estereiden, ja niiden suolojen, valmistamiseksi orgaanisista hapoista 19-nor-steroidien alkoholi johdannaisten kanssa

5 Esillä oleva keksintö koskee menetelmää yhdisteiden valmistamiseksi, joiden yleinen kaava on (I):

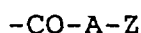


15 jossa R_1 on alifaattinen hiilivetyradikaali, joka käsittää 1 - 8 hiiliatomia, R_2 ja R_3 ovat identtiset tai poikkeavat toisistaan ja ovat kumpikin vetyatomi tai alkyyli-
 20 radikaali, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, G on hiilivetyryhmä, joka käsittää 1 - 18 hiiliatomia ja mahdollisesti yhden tai useamman, keskenään samanlaisen tai toisistaan poikkeavan heteroatomin, ja on sidottu steroidiytimeen hiili-
 25 atomin välityksellä, tai
 X on X_A , jolloin X_A on vetyatomi, alkyyli-
 radikaali, joka käsittää 1 - 8 hiiliatomia, aryyli-
 30 alkyyli-
 radikaali, joka käsittää 7 - 15 hiiliatomia, tai asyyli-
 radikaali, joka käsittää 1 - 8 hiiliatomia, missä tapauksessa Y on Y_A , jolloin Y_A on ryhmä



30 jossa B on kaksivalenssinen alifaattinen radikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja tyydytetty tai ei-
 tyydytetty ja käsittää 1 - 8 hiiliatomia, A on joko kak-
 sivalenssinen alifaattinen radikaali, joka on suoraketju-
 35 nen tai haarautunut ja tyydytetty tai ei-tyydytetty ja

käsittää 1 - 6 hiiliatomia, ja jonka ketjussa tai ketjun
päässä mahdollisesti on kaksivalenssinen aromaattinen ra-
dikaali, tai A on kaksivalenssinen aromaattinen radikaali,
ja Z on ryhmä $-\text{COOH}$ tai $-\text{SO}_3\text{H}$, jolloin nämä ryhmät voivat
5 mahdollisesti olla alkalimetalli-, maaalkalimetalli-, am-
monium- tai amiinisuolansa muodossa, tai
X on X_B , jolloin X_B on ryhmä



10

jossa A ja Z ovat kuten edellä määriteltä ja Y on
 Y_B , jolloin Y_B on ryhmä $-\text{C}=\text{C}-\text{R}_4$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}_4$ tai $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{R}_4$,
joissa R_4 on vetyatomi, halogeeniatomi, trialkyyilisilyy-
liradikaali, joka käsittää 3 - 12 hiiliatomia, alkyylira-
15 dikaali, joka käsittää 1 - 6 hiiliatomia, ja joka on suo-
raketjuinen tai haarautunut, tai fenyylliradikaali, jol-
loin sanottu alkyyli- tai fenyylliradikaali on mahdolli-
sesti substituoitu, ja jolloin aaltoviiva asemassa 13
merkitsee, että radikaali R_1 voi olla alfa- tai beeta-
20 asemassa.

R_1 on edullisesti alkyyliradikaali, joka on suora-
ketjuinen tai haarautunut ja käsittää 1 - 4 hiiliatomia,
kuten esimerkiksi metyyli-, etyyli-, propyyli-, isopro-
pyyli- tai butyylliradikaali.

25

Edullisia ovat yhdisteet, joissa R_1 on beeta-ase-
massa.

Kun R_2 tai R_3 on alkyyliradikaali, tämä on edulli-
sesti metyylliradikaali, mutta R_2 tai R_3 voi yhtä hyvin ol-
la etyyli-, propyyli-, isopropyyli- tai butyylliradikaali.

30

G on erityisesti:

joko aryylliradikaali, joka käsittää 6 - 14 hiili-
atomia ja on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai
useammalla seuraavalla radikaalilla:

halogeeniatomi,

35

karbamoyylliradikaali,

- alifaattinen radikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja tyydytetty tai ei-tyydytetty ja käsittää 1 - 6 hiiliatomia, ja on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla halogeeniatomilla, tai ryhmällä karbamoyyli, amino, alkyylimino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, dialkyylimino, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia, tai heterosyklisellä radikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S,
- 10 asyyliradikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja käsittää 1 - 6 hiiliatomia,
- fenoksiradikaali, joka on mahdollisesti substituoitu ryhmällä amino, alkyylimino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, dialkyylimino, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia, tai heterosyklisellä radikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S,
- 15 fenyyliiradikaali, joka on mahdollisesti substituoitu ryhmällä amino, alkyylimino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, dialkyylimino, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia, tai heterosyklisellä radikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S,
- 20 heterosyklinen radikaali, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S, ja joka voi olla edelleen substituoitu yhdellä tai useammalla alkyyliradikaalilla, joka käsittää/jotka käsittävät kukin 1 - 4 hiiliatomia,
- 25 radikaali $\text{alc}_1\text{alc}_2\text{N}(\text{O})_m-$, $\text{alc}_3\text{S}(\text{O})_p-$ tai $\text{alc}_4\text{O}-$, joissa alc_1 , alc_2 , alc_3 ja alc_4 ovat identtiset tai poikkeavat toisistaan ja ovat toisistaan riippumatta kukin vetyatomi, alkyyliradikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja käsittää 1 - 12 hiiliatomia, ja on mahdollisesti substituoitu ryhmällä amino, alkyylimino, joka
- 30
- 35

- käsittää 1 - 11 hiiliatomia, dialkyyliamino, joka käsittää 2 - 11 hiiliatomia, trialkyylisilyyli, joka käsittää 3 - 11 hiiliatomia, tai heterosyklisellä radikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S, ja joka voi olla edelleen substituoitu yhdellä tai useammalla alkyyliradikaalilla, joka käsittää/jotka käsittävät kukin 1 - 4 hiiliatomia, m on 0 tai 1 ja p on 0, 1 tai 2,
- trialkyylisilyyliryhmä, joka käsittää 3 - 12 hiiliatomia; tai
- alifaattinen radikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja tyydytetty tai ei-tyydytetty ja käsittää 1 - 18 hiiliatomia, ja on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla seuraavalla radikaalilla:
- halogeeniatomi,
- fenyyliradikaali, joka on mahdollisesti substituoitu,
- radikaali $\text{alc}_1\text{alc}_2\text{N}(\text{O})_m-$, $\text{alc}_3\text{S}(\text{O})_p-$ tai $\text{alc}_4\text{O}-$, joissa alc_1 , alc_2 , alc_3 , alc_4 , m ja p ovat kuten edellä määriteltä,
- heterosyklinen radikaali, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää ainakin yhden typpiätomia ja mahdollisesti 1 - 2 heteroatomia O tai S, ja joka voi olla edelleen substituoitu yhdellä tai useammalla alkyyliradikaalilla, joka käsittää/jotka käsittävät kukin 1 - 4 hiiliatomia,
- trialkyylisilyyliryhmä, joka käsittää 3 - 12 hiiliatomia; tai
- heterosyklinen radikaali, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla seuraavalla radikaalilla:
- halogeeniatomi,
- alkyyliradikaali, joka on suoraketjuinen tai haarautunut ja käsittää 1 - 6 hiiliatomia, ja on mahdolli-

sesti substituoitu ryhmällä karbamoyyli, amino, alkyylia-
 amino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, dialkyylia-
 amino, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia, tai heterosyklisellä ra-
 dikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää
 5 ainakin yhden tyypiatomin ja mahdollisesti 1 - 2 hetero-
 atomia O tai S,

radikaali $\text{alc}_1\text{alc}_2\text{N}(\text{O})_m-$, $\text{alc}_3\text{S}(\text{O})_p-$ tai $\text{alc}_4\text{O}-$,
 joissa alc_1 , alc_2 , alc_3 , alc_4 , m ja p ovat kuten edellä
 määritetty,

10 trialkyylisilyyliryhmä, joka käsittää 3 - 12 hii-
 liatomia; tai

kondensoitu bisyklinen systeemi, joka sisältää 1 -
 3 tyypiatomia, joista yksi on mahdollisesti hapetettu, ja
 joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla
 15 radikaalilla, joka on/joista kukin on halogeeniatomi tai
 alkyyliradikaali, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia; tai

sykloalkyyiliradikaali, joka käsittää 3 - 8 ketju-
 rengasta ja on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai
 useammalla seuraavalla radikaalilla:

20 halogeeniatomi,

fenyyiliradikaali,

alkyyiliradikaali, joka on suoraketjuinen tai haa-
 rautunut ja käsittää 1 - 6 hiiliatomia, ja on mahdolli-
 sesti substituoitu ryhmällä karbamoyyli, amino, alkyylia-
 25 amino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, dialkyylia-
 amino, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia, tai heterosyklisellä ra-
 dikaalilla, jossa on 3 - 8 ketjurengasta ja joka sisältää
 ainakin yhden tyypiatomin ja mahdollisesti 1 - 2 hetero-
 atomia O tai S,

30 radikaali $\text{alc}_1\text{alc}_2\text{N}(\text{O})_m-$, $\text{alc}_3\text{S}(\text{O})_p-$ tai $\text{alc}_4\text{O}-$,
 joissa alc_1 , alc_2 , alc_3 , alc_4 , m ja p ovat kuten edellä
 määritetty,

trialkyylisilyyliryhmä, joka käsittää 3 - 12 hii-
 liatomia.

- G voi edullisesti olla aryyiliradikaali. Tämä aro-
maattinen radikaali voi olla substituoitu orto-, meta- tai
para-asemassa yhdellä tai useammalla alkyyiliradikaalilla,
joka käsittää/jotka käsittävät kukin edullisesti 1 - 4
5 hiiliatomia; yhdellä tai useammalla alkoksiradikaalilla,
joka käsittää/jotka käsittävät kukin edullisesti 1 - 4
hiiliatomia, kuten esimerkiksi radikaalit metoksi, etoksi,
propyylioksi, isopropyylioksi, butyylioksi, isobutyyliok-
si, tert-butyylioksi; radikaalilla alkenyylioksi kuten
10 esimerkiksi vinyylioksi tai 2-propenylioksi; yhdellä tai
useammalla halogeeniatomilla, edullisesti kloorilla tai
fluorilla; yhdellä tai useammalla seuraavalla radikaalil-
la: hydroksyyli, (2-amino-2-oksoetyyli), tri-
fluorimetyyli, alkyyliitio, joka käsittää 1 - 4 hiiliato-
15 mia ja on mahdollisesti hapetettu sulfoksidikseen tai
sulfonikseen, kuten esimerkiksi metyyliitio, etyyliitio;
amino, alkyyliamino, joka käsittää 1 - 4 hiiliatomia, ku-
ten esimerkiksi metyyliamino, etyyliamino; dialkyyliami-
no, joka käsittää 2 - 8 hiiliatomia ja on mahdollisesti
20 hapetettu N-oksidikseen, kuten esimerkiksi radikaalit di-
metyyliamino, dietyyliamino, (N-metyylietyyliamino);
asyyliradikaalilla, kuten formyyli, asetyyli, propionyy-
li, butyryyli tai bentsoyyli, edullisesti asetyyli; jol-
loin tulee huomata, että aryyiliradikaalia substituivat
25 radikaalit voivat niinkään mahdollisesti olla substi-
tuoituja edellä kuvatun mukaisesti; jolloin myös aryyli-
radikaali voi olla substituoitu näiden eri radikaalien
yhdistelmällä, kuten esimerkiksi ryhmällä (3-fluori-4-di-
metyyliaminofenyyli);
- 30 G voi samoin olla heterosyklinen radikaali, joka on
mahdollisesti substituoitu edellä mainituilla erilaisilla
radikaaleilla. Mainittakoon radikaalit tienyyli, furyyli,
isotienyyli, isofuryyli, tiatsolyyli, isotiatsolyyli, ok-
satsolyyli, isoksatsolyyli, tiadiatsolyyli, pyridyyli,

piperidinyyli ja pyrrolidinyyli ja piperatsinyyli sekä alan ammattilaisen tuntemat heterosyklit;

5 G voi samoin olla kondensoitu bisyklinen radikaali, jossa on fenyyliydin ja heterosyklinen ydin, joka sisältää ainakin yhden typpiatomin, ja joka on mahdollisesti substituoitu edellä mainituilla radikaaleilla; mainittakoon radikaali N-metyyli-2,3-dihydroindol-5-yyli;

10 G voi samoin olla sykloalkyyli-*radikaali* kuten syklopropyyli, syklobutyyli, syklopentyyli tai sykloheksyyli, tai sykloalkenyli, kuten esimerkiksi syklobutenyyli tai syklopropenyli;

15 G voi samoin olla radikaali, joka käsittää aryyliytimen, joka on substituoitu joko amiiniryhmällä, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai kahdella alkyyliradikaalilla, joka käsittää/jotka käsittävät kumpikin 1 - 8 hiiliatomia, tai amiiniradikaalilla, joka sisältyy heterosykliin, joka käsittää mahdollisesti toisenkin heteroatomin O, N tai S, kuten esimerkiksi radikaalit morfolino, piperidinyyli, pyrrolidinyyli tai 4-metyylipiperatsinyyli.

20

Aryyliydin on edullisesti fenyyliydin.

25 Aryyliytimen substituenttina tulee samoin kyseen (substituoitu amino)-alkyyli-*radikaali*, kuten radikaalit dimetyyliamino-metyyli, dimetyyliamino-etyyli; (substituoitu amino)-alkoksiradikaali, kuten radikaali dimetyyliamino-etoksi.

30 Voidaan mainita myös radikaalit, jotka sisältävät piiatomin, kuten esimerkiksi radikaali trimetyylisilyyli-fenyyli tai radikaali [N-metyyli-(1-trimetyylisilyyli)-metyyliamino]fenyyli.

Edellä mainitut radikaalit, jotka sisältävät typpiatomia, voivat olla hapetettuja.

35 G voi samoin olla alkyyli-*radikaali*, joka on tyydytetty tai ei-tyydytetty ja on suoraketjuinen tai haarautunut ja käsittää 1 - 18 hiiliatomia.

Tällöin kyseeseen tulevat edullisesti seuraavat radikaalit: metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, butyyli, isobutyyli tai tert-butyyli, n-pentyyli, n-heksyyli, 2-metyylipentyyli, 2,3-dimetyyllibutyyli, n-heptyyli, 2-metyyliheksyyli, 2,2-dimetyylipentyyli, 3,3-dimetyylipentyyli, 3-etyylipentyyli, n-oktyyli, 2,2-dimetyyliheksyyli, 3,3-dimetyyliheksyyli, 3-metyyli-3-etyylipentyyli, nonyyli, 2,4-dimetyyliheptyyli tai n-desyyli. Kyseeseen voivat samoin tulla radikaalit vinyyli, isopropenyli, allyyli, 2-metyyliallyyli ja isobutenyyli.

Edellä mainitut radikaalit voivat olla substituoituja. Mahdollisista substituentaista voidaan mainita tioalkyyli- radikaalit, kuten tiometyyli tai tioetyyli; G voi samoin olla substituoitu yhdellä tai useammalla halogeeniatomilla kuten fluorilla, kloorilla, bromilla tai jodilla, tai (substituoitu amino)-radikaaleilla, kuten dimetyyliaminolla.

Yleensä ottaen edullisia ovat yhdisteet, joissa substituentti G käsittää heteroatomin, joka on edullisesti N, O tai S.

Kun X on X_A , joka on alkyyliradikaali, se on edullisesti metyyli-, etyyli- tai propyyli- radikaali.

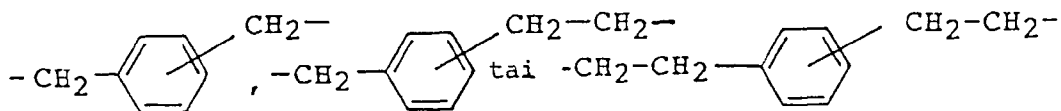
Kun X on X_A , joka on aryylialkyyli- radikaali, se on edullisesti bentsyyli- tai fenetyyli- radikaali.

Kun X on X_A , joka on asyyli- radikaali, se on edullisesti formyyl-, asetyyli-, propionyyli-, butyryyli- tai bentsoyyliradikaali.

B on edullisesti joko tyydytetty kaksivalenssinen radikaali, kuten esimerkiksi radikaalit metyleeni, etyleeni, trimetyleeni, tetrametyleeni, tai ei-tyydytetty kaksivalenssinen radikaali, kuten radikaalit vinyleeni, propenyleeni, butenyleeni, etynyleeni, propynyleeni tai butynyleeni.

A on edullisesti metyleeni-, etyleeni-, trimetyleeni- tai tetrametyleeniradikaali; jos A:n katkaisee aromaattinen rengas, A on edullisesti radikaali:

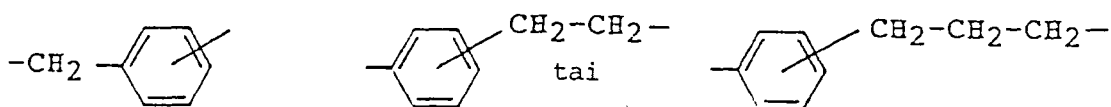
5



10

jos A:n päättää aromaattinen rengas, A on edullisesti radikaali:

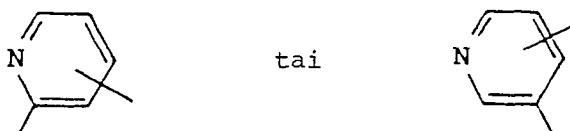
15



20

Kun A on kaksivalenssinen aromaattinen radikaali, se on edullisesti orto-fenyleeni-, meta-fenyleeni- tai para-fenyleeniradikaali, tai myös radikaali:

25

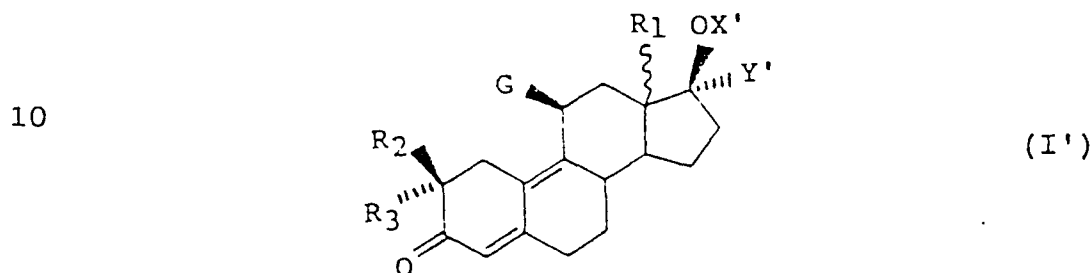


30

Kun Z on karboksyyli- tai sulforyhmä, joka on suolansa muodossa, tämä on edullisesti natrium-, kalium-, kalsium-, magnesium-, ammoniumsuola, tai sellaisen amiinin suola, jota käytetään lääkevalmistuksessa, kuten lyysiini-, arginiini-, kysteiini-, betaiini-, karnitiini-, meglumiini-, kiniini-, sarkosiini-, prokaiini-, histidiini- ja N-metyyloglukamiinisuolet.

Kun R_4 on alkyyliradikaali, se on edullisesti metyyli-, etyyli-, propyyli-, isopropyyli-, butyyli- tai isobutyyliradikaali.

Keksintö koskee etenkin menetelmää edellä määriteltujen yleisen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joiden kaava on (I'):



15

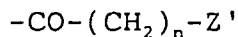
jossa joko X' on vetyatomi, jolloin Y' on Y'_A , joka on ryhmä:



20

jossa B' jompikumpi kaksivalenssinen radikaali $-CH=CH-CH_2-$ tai $-C\equiv C-CH_2-$, A' on jokin kaksivalenssinen radikaali $-(CH_2)_n-$, jossa n voi olla 2 - 6, tai orto-, meta- tai para-fenyleeniradikaali, ja Z' on karboksyyli- tai sulforyhmä tai mainitun natriumsuola,

25 tai X' on X'_B , joka on ryhmä:



30

jossa n ja Z' ovat kuten edellä määriteltä ja Y' on Y'_B , joka on jompikumpi ryhmä $-C\equiv C-R'_4$ tai $-CH=CH-R'_4$, joissa R'_4 on vetyatomi, halogeeniatomi, trimetyylisilyyliradikaali, tai metyyli- tai metyyliradikaali, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla halogeeniatomilla, hydrok-

35 syyli- tai silyyliradikaalilla tai ryhmällä alkoksi, alkyylitio tai

2

5

5

10

15

35

mistamiseksi, joissa G on fenyylliradikaali, joka on substituoitu asemassa 4 radikaalilla amino, metyyliamino, dimetyyliamino tai tämän N-oksidi, dietyyliamino, dipropyliamino, N-metyylietyyliamino, N-metyyli-isopropyliamino, N-metyyli-isobutyliamino, N-metyyli-isopentyliamino, 1-pyrrolidinyyli, 2-(dimetyyliamino)-N-metyylietyyliamino, N-metyyli-2-(1-pyrrolidinyyli)etyyliamino, N-metyyli-2-(4-morfolinyyli)etyyliamino, 4-metyyli-1-piperatsinyyli, formyyl, asetyyli, metoksi, fenoksi, 2-(dimetyyliamino)etoksi, 2-(1-pyrrolidinyyli)etoksi, 2-(4-morfolinyyli)etoksi, metyyliitio, etyyliitio, isopentyliitio, 2-(dimetyyliamino)etyyliitio, 2-(1-pyrrolidinyyli)etyyliitio, 2-(4-morfolinyyli)etyyliitio, trimetyyllisilyyli, metyyli, isopropyyli, (dimetyyliamino)metyyli, tai jollain atomeista fluori, kloori tai bromi.

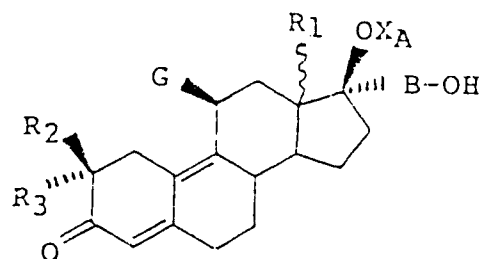
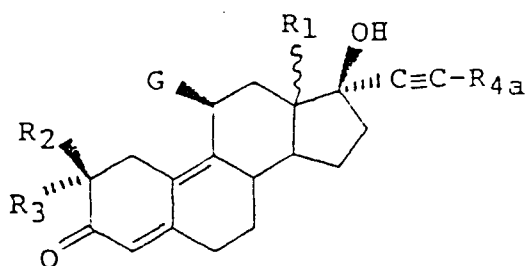
Keksintö koskee erityisesti menetelmää edellä määriteltujen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R_1 on metyylliradikaali asemassa 13-beeta, ja R_2 ja R_3 ovat kumpikin vetyatomi, ja aivan erityisesti yhdisteiden, joiden nimet ovat:

natrium-{21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-19-nor-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-yn-17-beeta-yyli}-sukkinaatti,

natrium-{11-beeta-[4-(metyyliitio)fenyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti.

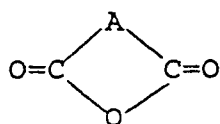
Keksinnön mukaiselle menetelmälle keksinnön kohteena olevien kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on tunnusomaista, että:

A. yhdisteitä, joiden kaava on (II_A) tai (II_B) :

(II_A)(II_B)

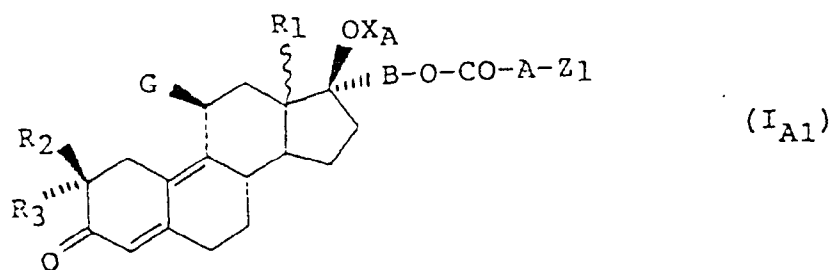
joissa X_A , R_1 , R_2 , R_3 ja G ovat kuten edellä määritelty ja R_{4a} on jonkin edellä R_4 :lle määritelty ryhmä, tai tällainen ryhmä, jossa reaktiiviset funktiot on suojattu, käsitellään neutraalissa liuottimessa ja emäksen läsnäollessa jollain seuraavista:

a) yhdisteellä, jonka kaava on (III₁):

(III₁)

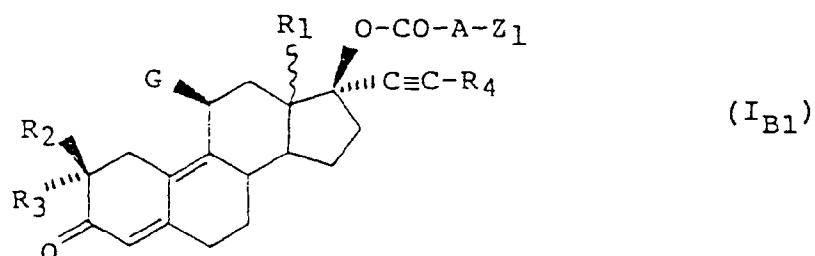
jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät on poistettu suojatuista reaktiivisista funktioista ja karboksyylifunktio haluttaessa muutettu suolakseen saadaan yleisen kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joiden kaava on (I_{A1}) tai vastaavasti (IB₁):

5



10

15

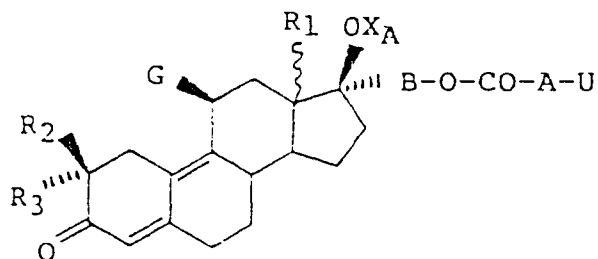
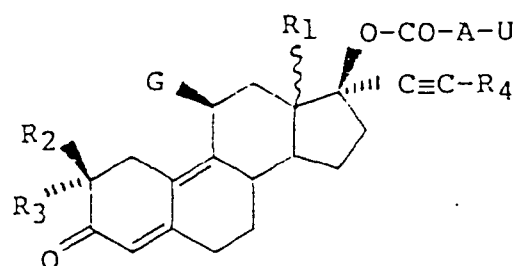


joissa Z₁ on karboksyyliiradikaali, mahdollisesti suolansa muodossa;

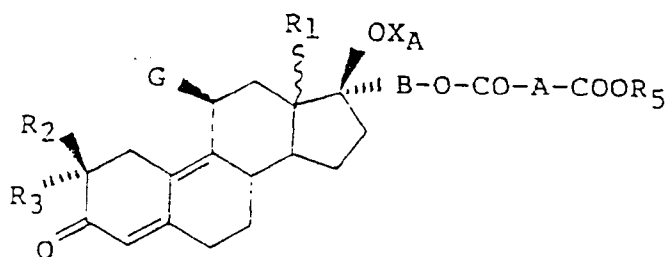
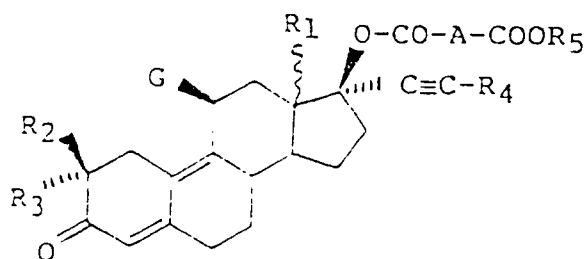
b) yhdisteellä, jonka kaava on (III₂):



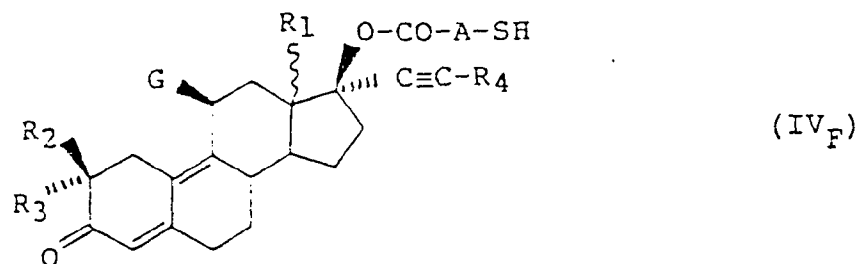
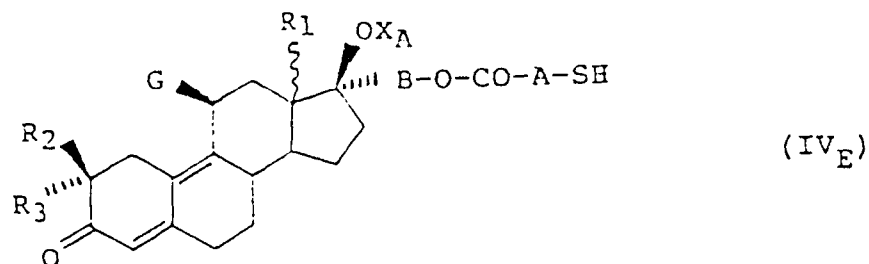
25 tai tämän hapon funktionaalisella johdannaisella, jolloin kaavassa U on jompikumpi ryhmä -COOH, -COOR₅, jossa R₅ on alkyyliiradikaali, joka käsittää 1 - 6 hiiliatomia, tai aryylialkyyliiradikaali, joka käsittää 7 - 12 hiiliatomia, tai -SH, jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät
30 on poistettu suojatuista reaktiivisista funktioista saadaan yhdisteitä, joiden kaava on (IV_A) tai vastaavasti (IV_B):

(IV_A)(IV_B)

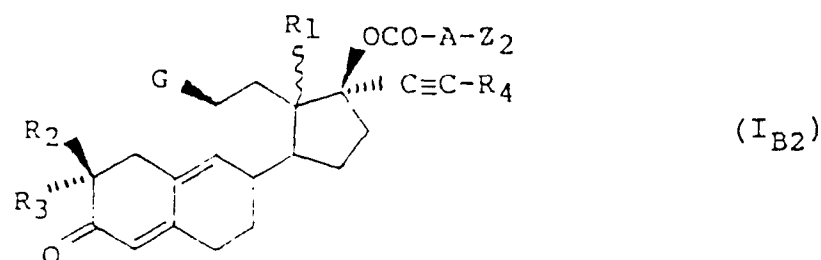
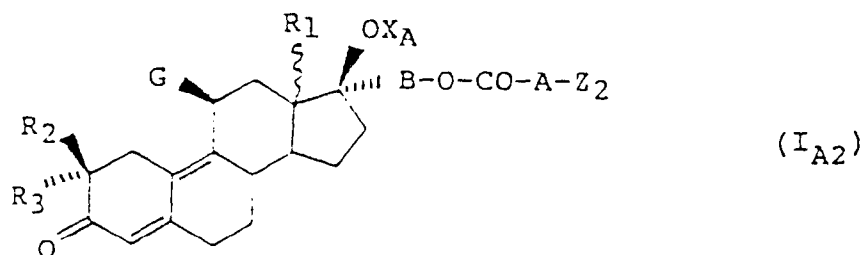
jotka kaavan (IV_A) ja (IV_B) mukaiset yhdisteet vastaavat: siinä tapauksessa, että U on vapaa karboksyyli-ryhmä, mahdollisen suolanmuodostuksen jälkeen kaavan (I_{A1}) tai (I_{B1}) mukaisia yhdisteitä; tai siinä tapauksessa, että U on ryhmä -COOR₅, yhdisteitä, joiden kaava on (IV_C) tai (IV_D):

(IV_C)(IV_D)

minkä jälkeen kaavan (IV_c) tai (IV_d) mukaiset yhdisteet hydrolysoidaan tai saippuoidaan yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{A1}) tai vastaavasti (I_{B1}); tai siinä tapauksessa, että U on ryhmä -SH, yhdisteitä, joiden kaava on (IV_E) tai (IV_F):



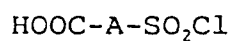
minkä jälkeen kaavan (IV_E) tai (IV_F) mukaiset yhdisteet happeutetaan ja muutetaan haluttaessa suoloiksi yleisen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{A2}) tai vastaavasti (I_{B2}):



joissa Z_2 on sulforyhmä, joka on mahdollisesti suolansa muodossa; tai

c) yhdisteellä, jonka kaava on (III_3) :

5

 (III_3)

tai tämän hapon funktionaalisella johdannaisella, jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät on poistettu R_{4a} :han sisältyvistä reaktiivisista funktioista ja haluttaessa yhdiste muutettu suolakseen saadaan yhdisteitä, joiden kaava on (I_{A2}) tai vastaavasti (I_{B2}) ; että

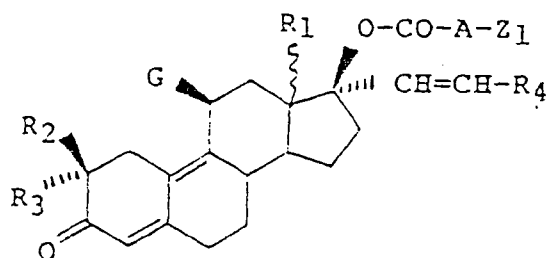
10

B. yhdisteitä, joiden kaava on (I_{B1}) , (I_{B2}) tai (IV_D) , käsitellään haluttaessa:

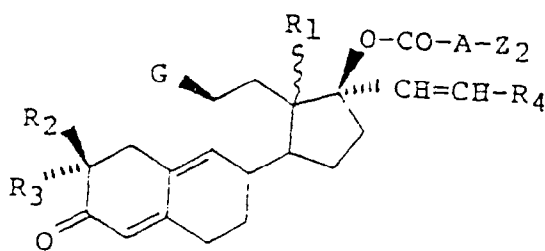
15

a) joko kolmoissidokset hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B3}) , (I_{B4}) tai vastaavasti (V_D) :

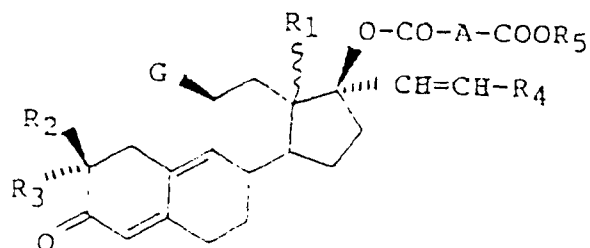
20

 (I_{B3})

25

 (I_{B4})

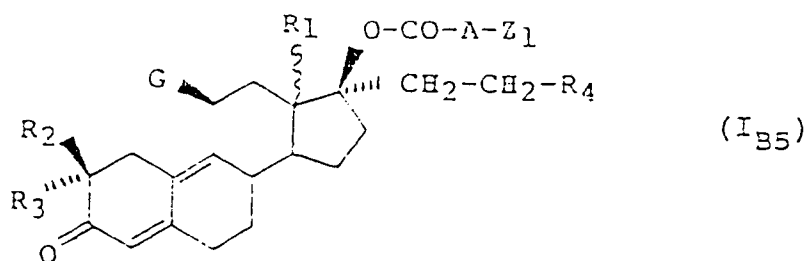
30

 (V_D)

35

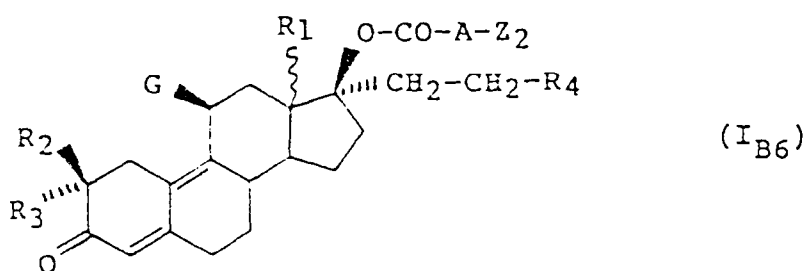
joita yhdisteitä käsitellään haluttaessa kaksoissidokset hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B5}), (I_{B6}) tai vastaavasti (VI_D):

5

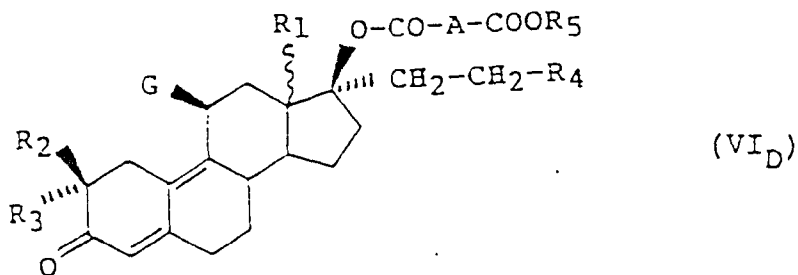


10

15



20



25

tai kolmoissidokset suoraan yksinkertaisiksi sidoksiksi hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B5}), (I_{B6}) tai vastaavasti (VI_D);

b) yhdisteet, joiden kaava on (V_D) tai (VI_D), joko hydrolysoidaan tai saippuoidaan yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B3}) tai vastaavasti (I_{B5}).

Edellä kuvatun menetelmän edullisessa suoritusmuodossa yhdisteitä (II_A) ja (II_B) käsitellään yhdisteellä (III_1) emäksen läsnäollessa ja neutraalissa liuottimessa, jolloin R_4 :n mahdollisesti sisältämä hydroksyyli-ryhmä on

35

suojattu 2,3-dihydropyraania käyttäen ryhmäksi 2-tetrahydropyranyylioksi.

Tästä funktionaalisesta ryhmästä poistetaan sittemmin suojaryhmä käyttämällä yhdiste kaupallisesti saatavassa sulfonihartsissa (happomuoto) tai käsittelemällä hapolla. Reaktioväliaineena käytetty neutraali liuotin voi olla kloroformi, metyleenikloridi, asetonitriili tai etyylietteri; käytetty emäs on edullisesti typpiemäs kuten trietyyliamiini, di-isopropyylietyyliamiini, 4-dimetyyliaminopyridiini, pyridiini tai N-metyylimorfoliini.

Merkaptoryhmä hapetetaan sulforyhmäksi käyttäen typpihappoa, bariumnitraattia tai auto-oksidatiivisesti emäksisessä väliaineessa.

Aine, jolla kolmoissidos hydrataan kaksoissidokseksi, on vety katalysaattorin, kuten palladiumin bariumsulfaatilla, läsnäollessa. Aine, jolla kaksois- tai kolmoissidokset hydrataan yksinkertaiseksi sidokseksi, on vety katalysaattorin, kuten palladiumin aktiivihielellä tai kloori-tris(trifenyylifosfiini)rodiumin, läsnäollessa.

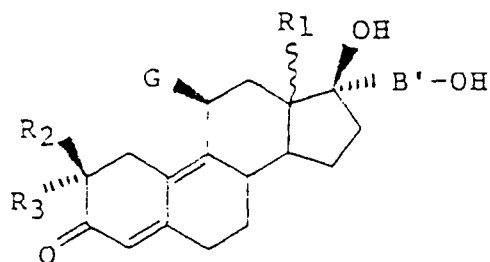
Kaavan (III_2) tai (III_3) mukaisten happojen funktionaalisilla johdannaisilla tarkoitetaan anhydridejä, jotka saadaan niistä "in situ" käsittelemällä alkyyliekloroformiaatilla kuten isobutyyliekloroformiaatilla tai disykloalkyylikarbodiimidillä kuten disykloheksyylikarbodiimidillä.

Funktionaalinen ryhmä $-\text{COOR}_5$ hydrolysoidaan ja saippuoidaan, ja karboksyyli- tai sulfofunktioista muodostetaan suola, tavalliseen tapaan.

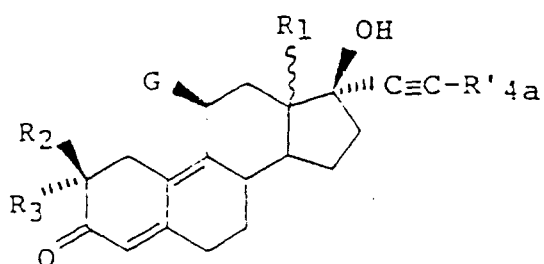
Edellä kuvatun menetelmän yhdisteiden valmistamiseksi, joiden kaava on (I'), edullisessa suoritusmuodossa:

a) joko yhdistettä, jonka kaava on (II'_A) tai (II'_B):

35

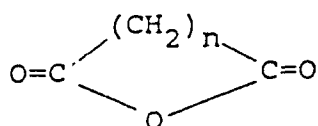


(II'A)

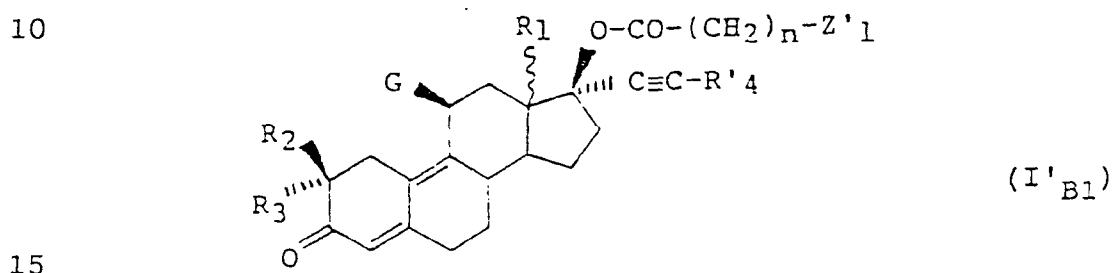
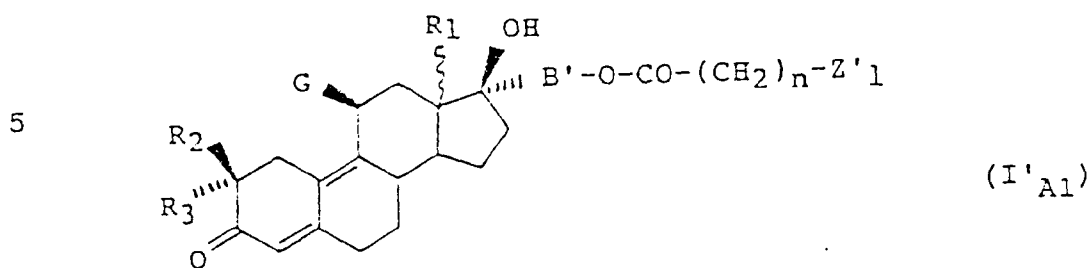


(II'B)

joissa R_1 , R_2 , R_3 ja G ovat kuten edellä määritelty ja R'_{4a} on jokin edellä R'_4 :lle määritelty ryhmä, tai tällainen ryhmä, jossa hydroksyylifunktiot on suojattu, käsitellään neutraalissa liuottimessa emäksen läsnäollessa yhdisteellä, jonka kaava on (III'₁):

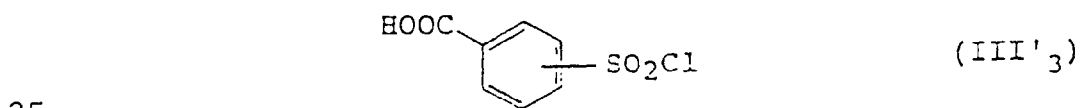
(III'₁)

joissa n on 2 - 6, jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa R'_4 :ään sisältyvästä suojatusta hydroksyylifunktiosta on poistettu suojaryhmä ja haluttaessa vapaa karboksyylifunktio muutettu suolakseen käyttämällä natriumbikarbonaattiliuosta saadaan yhdiste, jonka kaava on (I'_{A1}) tai vastaavasti (I'_{B1}):

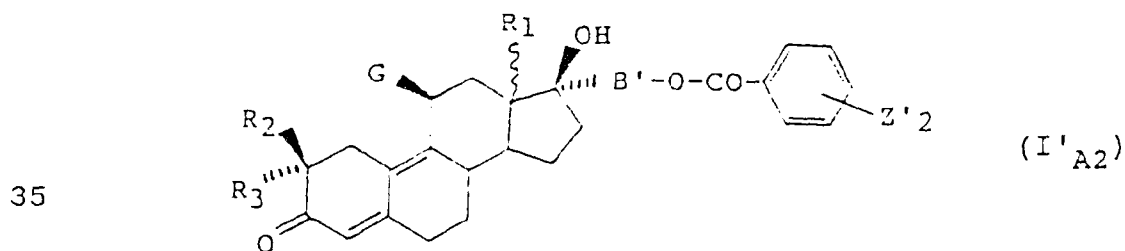


joissa Z'_1 on vapaa karboksyyli-ryhmä tai sen natriumsuola;

b) tai edellä määritellyn mukaista yhdistettä, jonka kaava on (II'A), käsitellään typpiä-mäksen läsnäollessa yhdisteellä, jonka kaava on (III'3):



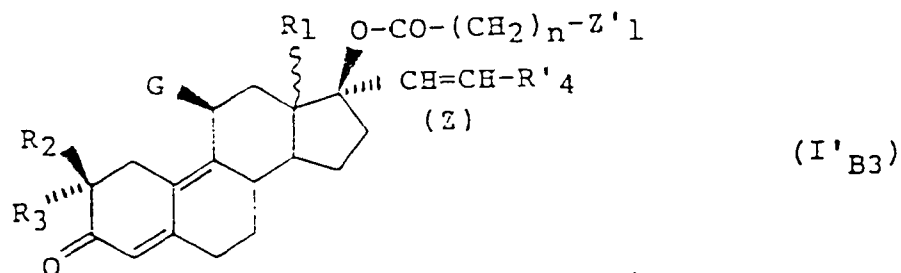
jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa tai haluttaessa yhdisteestä on muodostettu suola käyttämällä natriumbikarbonaattiliuosta saadaan yhdiste, jonka kaava on (I'A2):



jossa Z' , on sulforyhmä tai tämän natriumsuola,
minkä jälkeen kaavan (I'_{B1}) mukaisia yhdisteitä käsitellään
haluttaessa vedyllä katalysaattorin läsnäollessa yhdis-
teiden saamiseksi, joiden kaava on (I'_{B3}):

5

10



Kaavan (II_A) ja (II_B) mukaiset yhdisteet, joita
käytetään menetelmässä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden
valmistamiseksi, ovat yleisesti tunnettuja yhdisteitä,
joiden valmistuksia kuvataan FR-patenttijulkaisuissa n:ot
2377418, 2497807, 2522328, 2528434 sekä EP-patenttijul-
kaisuissa n:ot 057115 ja 190759.

Joitakin kaavojen (III_1), (III_2) ja (III_3) mukai-
sista yhdisteistä on kaupallisesti saatavana; muut voi-
daan valmistaa alan ammattilaiselle tutuilla menetelmil-
lä: Etaix, Annales de Chimie 9:7 371; Loven, J.Prakt.Chem-
ie 29:2 376; Uhlenbroek, Recueil des Travaux Chimiques des
Pays-Bas 76 (1957) 129, 142.

Yleisen kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä on kiin-
nostavia farmakologisia ominaisuuksia.

Tutkimalla näiden yhdisteiden vaikutuksia hormoni-
reseptoreihin on voitu todeta progesteronia jäljittelevää
sekä sitä vastustavaa aktiivisuutta sekä androgeeni- ja
androgeenivastaista aktiivisuutta.

Yhdisteillä, jotka saadaan esillä olevan hakemus-
julkaisun mukaisella menetelmällä, voi niinikään olla
glukokortikoidivastaisia ja/tai glukokortikoidiominai-

suuksia, hedelmöittymisen estäviä, estrogeenivastaisia ja/tai estrogeeniominaisuuksia.

Näitä yhdisteitä voidaan siten käyttää lääkkeinä pääasiassa glukokortikoidien sekundaarivaikutuksien vastustamiseksi; niiden avulla voidaan samoin vastustaa glukokortikoidien liiallisesta erityksestä johtuvia häiriöitä sekä etenkin yleisesti vanhenemista ja tarkemmin ottaen liian korkeaa verenpainetta, glaukoomaa, valtimoiden kovettumista, luiden haurastumista, sokeritautia, liikalihavuutta sekä vastustuskyvyn laskua ja unettomuutta.

Yhdisteitä, joilla on progesteronia vastustavia ominaisuuksia, voidaan käyttää ehkäisyaineiden valmistamiseksi tai raskauden keskeyttävinä aineina.

Yhdisteitä, jotka saadaan esillä olevan hakemuskokaisun mukaisella menetelmällä, voidaan käyttää niinikään naisilla, ja yleisemmin lämmenveristen eläinten naaraspuolisilla yksilöillä, menstuaation käynnistävinä aineina.

Näitä yhdisteitä annetaan siis aikajaksoina, joiden aikana progesteronilla on keskeinen fysiologinen merkitys, eli etenkin syklin luteaalivaiheessa, vaiheessa, jossa hedelmöittynyt munasolu kiinnittyy kohdun limakalvoon (tai alkio siirretään), sekä raskauden aikana. Kehsinnon mukaisessa ehkäisymenetelmässä naishenkilölle annetaan ainakin yhtä kaavan (I) mukaista yhdistettä 1 - 5 päivänä, jotka edullisesti päättävät syklin. Nämä yhdisteet annetaan edullisesti suun kautta tai emättimeen, mutta niitä voidaan käyttää myös ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti.

Yhdisteitä, jotka saadaan esillä olevan hakemuskokaisun mukaisella menetelmällä, voidaan käyttää myös nenänsisäisesti.

Näitä yhdisteitä, joilla on progesteronia vastustavia ominaisuuksia, voidaan niinikään käyttää hormona-

lisissa häiriötiloissa, jolloin niillä mahdollisesti myös on merkitystä hormoniriippuvaisten kasvainten hoidossa.

Koska nämä yhdisteet vaikuttavat aivolisäkkeen erittämiin aineisiin, ne sopivat käytettäväiksi vaihdevuosisien yhteydessä.

Näitä yhdisteitä voidaan niinikään käyttää kiima-ajan synkronoimiseksi karja-eläimillä, erityisesti nautioissa ja lampaissa.

Näitä yhdisteitä voidaan samoin käyttää kotieläinten kuten koirien tai kissojen hedelmällisyyden säätelämiseksi.

Yhdisteillä, jotka saadaan esillä olevan hakemuskustannuksen mukaisella menetelmällä, voi samoin olla progesteronia jäljitteleviä ominaisuuksia, jolloin niitä voidaan käyttää menstuaation puuttumisen, menstuaatiohäiriöiden ja luteaalipuutoksien hoidossa.

Näitä yhdisteitä, joilla on androgeenivastaisia vaikutuksia, voidaan käyttää eturauhasen liikakasvun ja syövän hoidossa, androgeenien liiallisen erityksen, anemian, liiallisen karvaisuuden ja aknen hoidossa. Niitä voidaan käyttää myös miesten ehkäisyaineina.

Lopuksi yhdisteet, jotka saadaan esillä olevan hakemuskustannuksen mukaisella menetelmällä ja joilla on hedelmöittymisen ehkäiseviä, estrogeenivastaisia ja/tai estrogeeniominaisuuksia, ovat mahdollisesti käyttökelpoisia hormoniriippuvaisten syöpien, kuten esimerkiksi rintasyöpien ja niiden etäpesäkkeiden, hoidossa. Nämä ominaisuudet tekevät kyseisistä yhdisteistä käyttökelpoisia myös rinnan hyvänlaatuisten kasvaimien hoidossa.

Estrogeeniominaisuudet, joita näillä yhdisteillä niinikään voi olla, tekevät niistä käyttökelpoisia samoin liian alhaiseen follikkelimäärään liittyvien häiriöiden hoidossa, kuten puuttuvan menstuaation, menstuaatiohäiriöiden, toistuvien keskenmenojen, menstuaatiota edeltävien ongelmien sekä vaihdevuosisien hoidossa.

Farmaseuttisesti hyväksyttäviä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä voidaan siis käyttää lääkkeinä.

Keksinnön mukaisista lääkkeistä voidaan mainita erityisesti aiemmin mainitut edulliset kaavan (I) mukaiset yhdisteet ja aivan erityisesti yhdisteet:

natrium-{21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-19-nor-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-yn-17-beeta-yyli}-sukkinaatti;

natrium-{11-beeta-[4-(metyylitio)fenyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti.

Käyttökelpoinen annostus vaihtelee hoidettavasta tilasta ja käytetystä antotiestä riippuen; se voi olla esimerkiksi 10 mg - 1 g päivässä täysikasvuiselle suun kautta.

Edellä määriteltyjä uusia yhdisteitä voidaan käyttää farmaseuttisten koostumuksien valmistamiseksi, jotka sisältävät vaikuttavana aineena ainakin yhtä sanottua yhdistettä.

Näitä koostumuksia käytetään ruoansulatuskanavan kautta, ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti tai paikallisesti. Niitä voidaan määrätä yksinkertaisina tabletteina tai raetabletteina, gelatiinikapseleina, granulaatteina, peräpuikkoina, rakkulavalmisteina, ruiskeena annettavina valmisteina, pomadoina, voiteina, geeleinä, jotka kaikki valmistetaan tavanomaisilla menetelmillä.

Koostumuksissa yksi tai useampi vaikuttava aine voidaan yhdistää farmaseuttisissa koostumuksissa tavanomaisesti käytettyihin täyteaineisiin, joita ovat esimerkiksi talkki, arabikumi, laktoosi, tärkkelys, magnesiumstearaatti, kaakaovoi, vesi- tai ei-vesikantoinneet, eläin- tai kasvilähteistä peräisin olevat rasvat, parafiinijohdannaiset, glykolit, erilaiset kostutusaineet, dispergoimisaineet tai emulgaattorit, säilytysaineet.

Lisäksi yleisen kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa Z on joko karboksyyli-ryhmä tai sulforyhmä, joka on muutettu suolakseen, ja aivan erityisesti kaavan (I') mukaiset yhdisteet, joissa Z' on -COONa tai -SO₃Na, liuke-
 5 nevat erittäin hyvin veteen; tästä voidaan mainita ei-ra-
 jaavana esimerkkinä esimerkissä 18 esiintyvän yhdisteen liukoisuus, joka on yli 25 g/100 ml vettä; tämä mahdol-
 listaa näiden yhdisteiden käytön juotavina nesteinä, ne-
 nä- tai korvatippoina, silmätippoina, aerosoleina, i.m.-
 10 tai i.v.-ruiskeina, tai kapsелеina.

Keksinnön mukaisella menetelmällä voidaan valmis-
 taa uusia välituoteyhdisteitä, nimittäin yhdisteitä, joi-
 den kaava on (IV_C), (IV_D), (IV_E), (IV_F), (V_D) tai (VI_D),
 aiemmin määritellyn mukaisesti.

15 Seuraavat esimerkit sekä esitetty farmakologinen
 tutkimus havainnollistavat keksintöä sitä kuitenkaan ra-
 joittamatta.

Esimerkki 1

Hapan{(Z)-3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-
 20 17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-
 yyli]-2-propenyyli]-sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneetti-
 sekoittimella, 900 mg 11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyy-
 li]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-[(Z)-3-hydroksi-1-propenyy-
 25 li]-estra-4,9-dien-3-onia liuotetaan 9 ml:aan kloroformia
 ja liuokseen lisätään 304 mg meripihkahappoanhydridiä ja
 1,45 ml trietyyliamiinia. Näin saatua seosta sekoitetaan
 15 tunnin ajan ympäristön lämpötilassa, minkä jälkeen se
 haihdutetaan kuiviin ja saatua 1,443 g:n jäännöstä puh-
 30 distetaan kromatografisesti silikageelikolonissa
 (eluentti: 90 % etyyliasetaatti/10 % sykloheksaani/3 %
 etikkahappo). Metanoli/vesi-seoksesta (60:40) uudelleen-
 kiteyttämällä saadaan 695 mg haluttua lopputuotetta kel-
 taisina kiteinä; sp. noin 145 °C.

Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,60$ (tukimateriaali: KC 18 Whatman^R; eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 2

5 Natrium-((Z)-3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-yyli]-2-propenyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneettisekoittimella, 93 mg natriumbikarbonaattia liuotetaan 10 20 ml:aan vettä, minkä jälkeen saatuun liuokseen lisätään tipoittein liuos, jossa on 639 mg esimerkissä 1 valmistettua yhdistettä 20 ml:ssa etanolia. Etanoli poistetaan atseotrooppitislauksella ja jäljelle jäänyt vesiliuos suodatetaan Millipore^R- (0,45 mikronia) suotimella ja 15 kylmäkuivataan sitten. Saadaan 654 mg lopputuotetta keraman värisenä jauheena; $[\alpha]_D = +101^\circ \pm 2^\circ$ (c=1 % vedessä). Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,62$ (tukimateriaali: KC 18 Whatman^R; eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

20 Esimerkki 3

Hapan {3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-yyli]-2-propynyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneettisekoittimella, 900 mg 11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-(3-hydroksi-1-propynyli)-estra-4,9-dien-3-onia liuotetaan 9 ml:aan kloroformia ja liuokseen lisätään 303 mg meripihkahappoanhydridiä ja 1,4 ml trietyyliamiinia, minkä jälkeen näin saatua seosta 25 sekoitetaan 17 tunnin ajan ympäristön lämpötilassa. Seos haihdutetaan kuiviin ja saatua 1,685 g raakatuotetta puhdistetaan kromatografisesti Bondapack C18^R -kolonnissa (eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (60:40)). Näin saadaan 1,104 g haluttua lopputuotetta.

35 Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,63$ (tukimateriaali:

KC 18 Whatman^R; eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 4

5 Natrium-{3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-yyli]-2-propynyli}-sukkinaatti

Menetellään samoin kuin esimerkissä 2 käyttäen 141 mg natriumbikarbonaattia 29 ml:ssa vettä ja 964 mg esimerkissä 3 valmistettua yhdistettä 29 ml:ssa etanolia, ja saadaan 935 mg haluttua lopputuotetta; $[\alpha]_D^{25} = +55^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,63$ (tukimateriaali: KC 18 Whatman^R; eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

15 Esimerkki 5

Hapan{11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Reaktioseos valmistetaan lisäämällä 2,15 g meripihkahappoanhydridiä, 2,2 ml trietyyliamiinia ja 215 mg 4-(dimetyyliamino)pyridiiniä liuokseen, jossa on 2,15 g 11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-3-onia 22 ml:ssa kloroformia, minkä jälkeen seosta keitetään palautusjäähdyttämällä 42 tunnin ajan ja lisätään vielä 430 mg 4-(dimetyyliamino)pyridiiniä ja 4,4 ml trietyyliamiinia. Keittämistä palautusjäähdyttämällä jatketaan 26 tunnin ajan, minkä jälkeen liuos kaadetaan vesi/jää-seokseen. Orgaaninen faasi dekantoidaan eroon ja pestään vedellä, minkä jälkeen se kuivataan ja kloroformi tislataan eroon, jolloin saadaan kuiva, väriltään ruskea uute. Vesifaasi tehdään happamaksi lisäämällä 0,5 N kloorivetyhappoa ja neutraloidaan sitten lisäämällä natriumasettaattia. Liuosta uutetaan etyyliasetaatilla ja saatu uusi orgaaninen faasi erotetaan, pestään vedellä, kuivataan ja siitä poistetaan

liuotin tislaamalla, jolloin saadaan jäännös, joka yhdistetään edellä saatuun jäännökseen. Saatua tuotetta puhdistetaan silikageelikolonissa eluoiden eetteri/etyyliasettaatti-seoksella (9:1), joka sisältää 3 % etikkahappoa, minkä jälkeen se uudelleenkitetytetään kahdesti eetteri/metyleenikloridi-seoksesta. Saadaan 1,435 g haluttua lopputuotetta; sp. noin 165 °C.

$[\alpha]_D = +97^\circ$ (c=0,8 % kloroformissa).

Ohutlevykromatografia: R_f = noin 0,40 (tukimateriaali: SiO_2 , eluentti: eetteri/etyyliasettaatti, 9:1, sisältää 3 % etikkahappoa).

Esimerkki 6

Natrium-{11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolviin, joka on varustettu magneettisekoittimella, mitataan 3 g esimerkissä 5 valmistettua yhdistettä ja 94 ml etanolia, minkä jälkeen kolviin kaadetaan liuos, jossa on 433 mg natriumbikarbonaattia 94 ml:ssa vettä. Seosta sekoitetaan 30 minuutin ajan ympäristön lämpötilassa, minkä jälkeen etanoli poistetaan atseotrooppitislauksella ja jäljelle jäänyt liuos suodataan Millipore^R (0,45 mikronia) suotimella ja kylmäkuivataan sen jälkeen. Saadaan 2,88 g haluttua tuotetta.

$[\alpha]_D = +48,5^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

R_f = 0,54 (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R; eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 7

Hapan{11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-17-alfa-[(Z)-1-propenyli]-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolviin, joka on varustettu magneettisekoittimella, mitataan 2,462 g esimerkissä 5 valmistettua yhdistettä, minkä jälkeen kolviin lisätään 150 ml etyyli-

asettaattia, jossa on 2 % pyridiiniä, sekä 15 ml vettä ja 50 mg katalysaattoria 10 % palladiumhydroksidia bariumsulfaatilla. Seosta hydrataan samalla sekoittaen 5,5 tunnin ajan, minkä jälkeen reaktioseos suodatetaan, pyridiini poistetaan ja jäljelle jäänyt liuos haihdutetaan kuiviin. Näin saatua jäännöstä puhdistetaan suorittamalla kaksi perättäistä kromatografia-ajoa Bondapack C18 -kolonnissa eluoiden seoksella metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (65:35), jolloin saadaan 576 mg haluttua lopputuotetta, $R_f = 0,50$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 8

Natrium-{11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-17-alfa-[(Z)-1-propenyyli]-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Menetellään samoin kuin esimerkissä 2 käyttäen liuosta, jossa on 100 mg natriumbikarbonaattia 21 ml:ssa vettä, ja liuosta, jossa on 665 mg esimerkissä 7 valmistettua yhdistettä 21 ml:ssa etanolia, jolloin saadaan 583 mg haluttua lopputuotetta.

$[\alpha]_D = +56,5^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

$R_f = 0,50$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 9

Hapan{21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-3-okso-19-nor-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-yn-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneettisekoittimella, 1,854 g 21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-yn-3-onia liuotetaan 18,5 ml:aan kloroformia, ja saatuun liuokseen lisätään 2,497 g meripihkahappoanhydridiä, 7 ml trietyyliamiinia ja 0,936 g 4-(dimetyyliamino)pyri-

diiniä. Näin saatua seosta keitetään palautusjäähdyttäen 42 tunnin ajan. Sen jälkeen reaktioseos kaadetaan 31 ml:aan 2 N kloorivetyhappoliuosta ja pH säädetään luke-
 maan 6 - 7 lisäämällä natriumasetaattia. Kloroformifaasi
 5 erotetaan, ja jäljelle jäänyttä liuosta uutetaan vielä kahdesti kloroformilla. Saadut uutteen yhdistetään, pes-
 tään vedellä, kuivataan natriumsulfaattilla ja haihdute-
 taan sitten alipaineessa kuiviin, jolloin saadaan 3,85 g
 punaruskeaa jäännöstä, jota puhdistetaan kromatografises-
 10 ti Kieselgel-kolonissa eluoiden ensin etyylietterillä ja
 sen jälkeen seoksella, jossa on 3 % etikkahappoa
 etyylietterissä. Saadaan 1,8 g raakatuotetta, joka
 uudelleenkiteytetään metyleenikloridi/etyylietteri-seok-
 sesta kahdesti. Saadaan 1,21 g haluttua lopputuotetta; sp.
 15 noin 165 °C; $[\alpha]_D = +63 \pm 1,5^\circ$ (c=0,90 kloroformissa).

Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,53$ (tukimateriaali:
 KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumase-
 taatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 10

20 Natrium-{21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fe-
 nyyli]-3-okso-19-nor-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-
 yn-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneetti-
 sekoittimella, sekoitetaan keskenään 817 mg esimerkissä
 25 9 valmistettua yhdistettä ja 25 ml etanolia, minkä jälkeen
 kolviin kaadetaan tipoitain liuos, jossa on 113 mg nat-
 riumbikarbonaattia 25 ml:ssa vettä, ja reaktioseosta se-
 koitetaan 30 minuutin ajan ympäristön lämpötilassa. Sen
 jälkeen etanoli poistetaan atseotrooppitislauksella ja
 30 jäljelle jäänyt liuos suodatetaan Millipore^R- (0,45 mik-
 ronia) suotimella ja kylmäkuivataan sitten. Saadaan 813 mg
 lyofilisaattia, joka vastaa haluttua lopputuotetta.

$[\alpha]_D = +16,5 \pm 1^\circ$ (c=1 vedessä).

Ohutlevykromatografia: $R_f = 0,54$ (tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 11

5 Hapan {11-beeta-[4-(metyylitio)fenyyli]-3-okso-17-
alfa-(1-propynylyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-
sukkinaatti

Pyöröpohjakolvissa, joka on varustettu magneettisekoittimella ja palautusjäähdyttimellä, sekoitetaan keskenään 1,5 g 17-beeta-hydroksi-11-beeta-[4-(metyylitio)fenyyli]-17-alfa-(1-propynylyli)-estra-4,9-dien-3-onia ja 15,3 ml kloroformia ja seokseen lisätään 1,86 g meripihkahappoanhydridiä, 6 ml trietyyliamiinia ja 794 mg 4-(dimetyyliamino)pyridiiniä ja seosta keitetään palautusjäähdyttämällä 94 tunnin ajan, minkä jälkeen se kaadetaan 1 N kloorivetyhappoon ja uutetaan kloroformilla. Kloroformifaasi erotetaan, pestään vedellä ja kuivataan natriumsulfaattilla, minkä jälkeen liuotin poistetaan alipaineessa haihduttamalla 40 °C:ssa. Saadaan 2,26 g raakatuotetta, jolla suoritetaan kromatografia-ajo Kieselgel 60H^R -kolonnissa (eluentti: metyleenikloridi/metanoli, 97,5:2,5, jossa 1 % etikkahappoa). Metyleenikloridi/isopropyylieetteri-seoksesta uudelleenkiteyttämällä saadaan 826 mg haluttua lopputuotetta kiteinä; sp. 158 °C.

25 $R_f = 0,61$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: etanoli/0,05 M ammoniumasettaatti vedessä (70:30)).

Esimerkki 12

30 Natrium-{11-beeta-[4-(metyylitio)fenyyli]-3-okso-
17-alfa-(1-propynylyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-
yyli}-sukkinaatti

Menetellään samoin kuin esimerkissä 2 käyttäen liuosta, jossa on 108 mg natriumbikarbonaattia 21,5 ml:ssa vettä, ja liuosta, jossa on 719 mg esimerkissä 11 valmis-

tettua yhdistettä 21,5 ml:ssa etanolia, jolloin saadaan 720 mg lyofilisaattia, joka vastaa haluttua lopputuotetta.

$[\alpha]_D = +74,5^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

$R_f = 0,61$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: etanoli/0,05 M ammoniumasetaatti vedessä (70:30)).

Esimerkki 13

{3-[3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-yyli]-2-propynylioksikarbonyyli]}-bentseenisulfonihappo
1 g 11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-(3-hydroksi-1-propynyli)-estra-4,9-dien-3-onia liuotetaan 10 ml:aan kloroformia ja saatuun liuokseen lisätään 1,5 g pyridiini/3-(kloorisulfonyyli)bentsoehappo-kompleksia ja sitten 1,25 ml trietyyliamiinia, minkä jälkeen seosta keitetään palautusjäähdyttään 45 minuutin ajan ja lisätään vielä 0,5 g edeltävää kompleksia sekä jatketaan keittämistä palautusjäähdyttään 30 minuutin ajan. Seos jäähdytetään ja liuotin poistetaan haihduttamalla, minkä jälkeen jäännös liuotetaan veteen ja liuos tislataan tolueenin läsnäollessa. Saatu kuiva uute liuotetaan kloroformiin ja liuos suodatetaan silikageelikolonissa eluoiden ensin 5 % etanoli/kloroformilla ja sitten 10 % etanoli/kloroformilla. Saadaan hapan fraktio, josta eristetään 1,7 g haluttua lopputuotetta vaalean keltaisena hartsina.

Esimerkki 14

Natrium-{3-[3-[11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-3-okso-estra-4,9-dien-17-alfa-yyli]-2-propynylioksikarbonyyli]}-bentseenisulfonaatti

25 ml liuosta, jossa on natriumasetaattia (0,24 mmol/ml) etanolissa, lisätään edeltävässä esimerkissä saatuun happamaan fraktioon ja näin saatu liuos haihdutetaan kuiviin. Kuiva uute lietetään metanoliin, jossa on

33 % vettä, ja lietteellä suoritetaan kromatografia-ajo Lichrosorb KC 18^R -kolonnissa (eluentteina: metanoli/vesi, 3:6; metanoli/vesi, 1:1; sitten metanoli/vesi, 6:3). Saadut eluaatit yhdistetään, suodatetaan ja haihdutetaan
 5 kuiviin, minkä jälkeen saatu jauhe kuivaamalla saadaan 1,35 g haluttua lopputuotetta.

$[\alpha]_D = +107^\circ$ (c=0,2 % etanolissa).

Mikroanalyysi:

laskettu: C % 66,34; H % 5,87; N % 2,25; S % 4,92;
 10 todettu : 66,6; 6,30; 2,50; 4,7.

Esimerkki 15

Hapan{11-beeta-(4-asetyyli-fenyli)-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukinaatti

15 1,8 g 11-beeta-(4-asetyyli-fenyli)-17-beeta-hydroksi-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-3-onia liuotetaan 18 ml:aan kloroformia ja liuokseen lisätään 2,54 g meripihkahappoanhydridiä, 7 ml trietyyliamiinia ja 0,95 g 4-dimetyyliaminopyridiiniä, minkä jälkeen liuos kuumennetaan
 20 palautusjäähdytyslämpötilaan, jossa sitä pidetään 70 minuutin ajan. Kun reaktioseos on jäähtynyt ympäristön lämpötilaan, se kaadetaan 2 N kloorivetyhappoon ja uuteetaan kloroformilla, minkä jälkeen orgaaninen faasi erotetaan, pestään vedellä, kuivataan natriumsulfaattilla sekä
 25 haihdutetaan tyhjiössä kuiviin. Näin saadulla raakatuotteella suoritetaan kromatografia-ajo Kieselgel 60^R -kolonnissa eluoiden ensin etyylietterillä ja sitten etyylietterillä, jossa on 3 % etikkahappoa. Saadaan 1,37 g raakatuotetta, jota puhdistetaan kiteyttämällä metyleenikloridi/etyylietteristä ja sitten uudelleenkiteyttämällä
 30 samasta seoksesta. Saadaan 1,027 g haluttua lopputuotetta; sp. noin 168 °C.

$R_f = 0,32$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: SiO₂F₂₅₄ Merck 60^R; eluentti: etyylietteri/etyyliasetatti, 90:10, jossa 3 % etikkahappoa).
 35

Esimerkki 16

Natrium-{11-beeta-(4-asetyyli-fenyyli)-3-okso-17-
 alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-
 sukkinaatti

- 5 0,874 g esimerkissä 15 valmistettua yhdistettä
 liuotetaan 30 ml:aan etanolia, minkä jälkeen saatu liuos
 lisätään tipoitain liuokseen, jossa on 0,132 g natrium-
 bikarbonaattia 30 ml:ssa vettä. Sitten etanoli poistetaan
 atseotrooppitislauksella ja saatu vesiliuos suodatetaan
 10 Millipore^R- (0,45 mikronia) suotimella sekä kylmäkuivataan
 sen jälkeen, jolloin saadaan 0,908 g haluttua natrium-
 suolaa.

$[\alpha]_D^{25} = +67^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

- 15 $R_f = 0,73$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali:
 KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumase-
 taatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 17

- 20 Hapan {11-beeta-[4-(N-metyyli-isopropyyliamino)fe-
 nyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-
 dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

- 25 Liuos, jossa on 2,159 g 11-beeta-[4-(N-metyyli-
 isopropyyliamino)fenyyli]-17-beeta-hydroksi-17-alfa-(1-
 propynyli)-estra-4,9-dien-3-onia, 22 ml trietyyliami-
 nia, 2,52 g meripihkahappoanhydridiä, 8,1 ml trietyyli-
 amiinia ja 1,07 g 4-dimetyyliaminopyridiiniä, kuumenne-
 taan palautusjäähdytyslämpötilaan, jossa sitä pidetään
 24 tunnin ajan. Lisätään vielä 0,339 g meripihkahappoan-
 hydridiä ja jatketaan keittämistä palautusjäähdyttäen
 74 tunnin ajan. Reaktioseoksen jäähdyttyä se kaadetaan
 30 36 ml:aan 2 N kloorivetyhappoa ja pH säädetään 6:ksi li-
 säämällä natriumasetaattia. Orgaaninen faasi dekantoidaan
 eroon ja vesifaasia uutetaan edelleen kloroformilla. Saa-
 dut kloroformifaasit yhdistetään ja pestään vedellä, kui-
 vataan natriumsulfaatilla sekä haihdutetaan tyhjiössä kui-
 35 viin. Saadulla jäännöksellä suoritetaan kromatografia-ajo

kolonnissa, jossa on 300 g Kieselgel 60^R -silikageeliä, eluoiden ensin etyylietterillä ja sitten etyylietterillä, jossa on 3 % etikkahappoa. Saadaan 1,493 g raakatuo-

5 tetta, joka uudelleenkiteytetään metyleenikloridi/etyyli-

etteri-seoksesta. Saadaan 1,082 g haluttua hapanta suk-

kinaattia; sp. noin 155 °C.

$R_f = 0,47$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumase-

10 taatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 18

Natrium-{11-beeta-[4-(N-metyyli-isopropyyliamino)-

fenyyli]-3-okso-17-alfa-(1-propynyli)-estra-4,9-

15 dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti

Menetellään kuten esimerkissä 16 käyttäen liuosta,

15 jossa on 0,128 g natriumbikarbonaattia 30 ml:ssa vettä, ja

liuosta, jossa on 0,933 g esimerkissä 17 valmistettua yh-

distettä 30 ml:ssa etanolia, jolloin saadaan 0,915 g ha-

luttua natriumsuolaa:

$[\alpha]_D = +40,5^\circ \pm 1,5^\circ$ (c=1 % vedessä).

20 $R_f = 0,47$ (ohutlevykromatografia, tukimateriaali: KC 18 Whatman^R, eluentti: metanoli/0,05 M ammoniumase-

taatti vedessä (80:20)).

Esimerkki 19

Farmaseuttisia koostumuksia:

25 Valmistetaan tabletteja, joiden resepti on seuraa-

va:

esimerkin 10 yhdiste	50 mg
täyteaine (talkki, tärkkelys, magnesium-	
stearaatti)/1 tabletti	q.s. 120 mg

30 Esimerkki 20

Valmistetaan silmätippoja seuraavan reseptin mu-

kaan:

esimerkin 10 yhdiste	2 g
täyteaine (tislattu vesi, natriumkloridi,	
35 metyyliiselluloosa, natriumboraatti)	100 ml

Farmakologinen tutkimus

1) Suhteellisen sitoutumisaffiniteetin steroidihormonireseptorien suhteen mittaaminen

Rotan kateenkorvan glukokortikoidireseptori:

5 160 - 200 g:n painoisilta urospuolisilta rotilta poistetaan munuaiset. 4 - 8 päivän kuluttua tästä poistosta eläimet uhrataan, niiden kateenkorvat poistetaan ja homogenoidaan 0 °C:ssa käyttäen Potter-teflon-lasia ja (TSD-) puskuria, joka käsittää pitoisuudet Tris 10 mM, 10 sakkaroosi 0,25 M, ditiotreitoli 2 mM, HCl pH 7,4 (1 g kudosta/10 ml TSD-puskuria). Sen jälkeen homogeneaatti ultrasentrifugoidaan (105 000 g, 90 minuuttia) 0 °C:ssa. Näin saatuja supernatanttinesteitä, "solulimaa", inkuboidaan 0 °C:ssa 4 tunnin ajan ja 24 tunnin ajan vakio-
15 pitoisuudella ($T=2,5$ nM) tritioitua deksametasonia, kun läsnä on kasvava pitoisuus (0 - 2,500 nM) ei-leimattua deksametasonia tai tutkittavaa, ei-leimattua yhdistettä. Sen jälkeen mitataan sitoutuneen tritoidun deksametasonin pitoisuus (B) kustakin inkubaatista käyttäen hiili-deks-
20 traaniadsorptiotekniikkaa.

Kaniinin kohdun progesteronireseptori:

Noin 1 kg:n painoisille esimurrosikäisille kaniineille annetaan ihoapplikaationa 25 mikrogrammaa estradiolia. Viiden päivän kuluttua tästä käsittelystä eläimet
25 uhrataan, niiden kohdut poistetaan, punnitaan ja homogenoidaan 0 °C:ssa käyttäen Potter-teflon-lasia ja (TS-) puskuria, joka käsittää pitoisuudet Tris 10 mM, sakkaroosi 0,25 M, HCl pH 7,4 (1 g kudosta/50 ml TS-puskuria). Sen jälkeen homogeneaatti ultrasentrifugoidaan (105 000 g, 90
30 minuuttia) 0 °C:ssa. Näin saatuja supernatanttinesteitä, "solulimaa", inkuboidaan 0 °C:ssa 2 tunnin ajan ja 24 tunnin ajan vakio-
pitoisuudella ($T=5$ nM) tritioitua yhdistettä R 5020 (17,21-dimetyyli-19-nor-4,9-pregna-dieeni-3,20-dioni), joka on tehokas progesteronia jäljittelyvä yhdiste,
35 jonka affiniteetti progesteronireseptorin suhteen on hyvin

korkea, kun läsnä on kasvava pitoisuus (0 - 2500 nM) ei-leimattua progesteronia, tai tutkittavaa yhdistettä.

Sen jälkeen mitataan sitoutuneen tritiodun yhdisteen R 5020 pitoisuus (B) kustakin inkubaatista käyttäen hiili-dekstraaniadsorptiotekniikkaa.

Rotan eturauhasen androgeenireseptori:

160 - 200 g:n painoiset urospuoliset rotat kastroidaan. 24 tunnin kuluttua kastraatiosta eläimet uhraataan, niiden eturauhaset poistetaan, punnitaan ja homogenoidaan 0 °C:ssa käyttäen Potter-teflon-lasia ja (TSDPM)-puskuria, joka käsittää pitoisuudet Tris 10 mM, sakkarosi 0,25 M, fenyyylimetaanisulfonyylifluoridi 0,1 nM, molybdaatti 20 mM, ditiotreitoli 2 mM, HCl pH 7,4 (1 g kudos/5 ml TSDPM-puskuria). Sen jälkeen homogenaatti ultracentrifugoidaan (105 000 g, 60 minuuttia) 0 °C:ssa. Näin saatuja supernatanttinesteitä, "solulimaa", inkuboidaan 0 °C:ssa vakio pitoisuudella (0 - 1000 nM) ei-leimattua testosteronia, tai tutkittavaa yhdistettä. 0,5 ja 24 tunnin inkuboinnin jälkeen mitataan sitoutuneen tritiodun testosteronin pitoisuus (B) kustakin inkubaatista käyttäen hiili-dekstraaniadsorptiotekniikkaa.

Suhteellisen sitoutumisaffiniteetin laskeminen:

Suhteellinen sitoutumisaffiniteetti (ARL) lasketaan samalla tavalla kaikille reseptoreille.

Muodostetaan seuraavat 2 kuvaajaa: sitoutuneen tritiodun hormonin prosentuaalinen osuus B/T ei-leimatun referenssihormonin pitoisuuden logaritmin funktiona sekä B/T tutkittavan, ei-leimatun yhdisteen pitoisuuden logaritmin funktiona.

Piirretään suora $I_{50} = [B/T(\text{maks.}) + B/T(\text{min.})]/2$, jossa:

$B/T(\text{maks.})$ = sitoutuneen tritiodun hormonin prosentuaalinen osuus inkuboitessa tätä tritioitua hormonia pitoisuutena (T);

$B/T(\text{min.})$ = sitoutuneen tritiodun hormonin prosentuaalinen osuus inkuboitessa tätä tritioitua hormonia

pitoisuutena (T), kun läsnä on hyvin suuri ylimäärä ei-leimattua hormonia (2500×10^{-9} M).

Suoran I_{50} ja edeltävien käyrien leikkauspisteistä voidaan määrätä ei-leimattun referenssihormonin ja ei-leimattun tutkittavan yhdisteen ne pitoisuudet (CH) ja vastaavasti (CX), jotka inhiboivat 50 % tritoidun hormonin sitoutumisesta reseptoriin.

Suhteellinen sitoutumisaffiniteetti (ARL) tutkitavalle yhdisteelle lasketaan yhtälöstä $ARL = 100 \times [(CH)/(CX)]$.

Saatiin seuraavat tulokset:

Esim. Progesteroni Glukokortikoidi Androgeeni						
nro	2 t	24 t	4 t	24 t	0,5 t	5 t
15	5	2	8	28	77	0,6
	12	1,2	3,6	9,5	24	0,8
	4	14	26	31,5	27	5,1
	2	21	88	62	48	12
	10	3	13	37	77	1,9
20	6	2	6	26	54	2,2
						4,1

Esimerkkien 12 ja 10 mukaiset yhdisteet osoittavat hyvää progesteronivastaista aktiivisuutta.

2) Glukokortikoidivastainen aktiivisuus deksametasonin suhteen

In vitro -koe:

Uridiinin siirtyminen rotan kateenkorvan imusoluihin:

Glukokortikoidit aiheuttavat imukudoksen tasolla nukleosidien inkorporaation estymisen. Mittaamalla radioaktiivisen uridiinin siirtyminen kateenkorvan imusoluihin tutkittavan yhdisteen läsnäollessa voidaan arvioida tämän glukokortikoidiaktiivisuus.

Menetelmä:

Käytetty menetelmä pohjautuu tekniikkaan, jota kuvaavat Dausse et al. (3). Rotalta (160 - 180 g), jolta on poistettu munuaiset, poistetaan kateenkorva, joka paloitellaan ja homogenoidaan sitten hitaasti käyttäen teflonlasi-homogenisaattoria ja Hanksin liuosta. Saatu solulie-

5 te suodatetaan harsokankaan läpi ja sentrifugoidaan sitten, 800 x g, 10 minuuttia. Sen jälkeen suoritetaan toinen 10 minuuttia kestävä sentrifugointi 800 x g:ssä. Näin

10 saatu pelletti lietetään ravinnekasvualustaan (M.E.M., Gibco), jossa solutiheys säädetään noin 20×10^6 soluksi/ml. Sitten 250 mikrolitran erää inkuboidaan kaasuseoksessa, jossa on 90 % happea ja 10 % hiilidioksidia, 3 tunnin ajan 37 °C:ssa pitoisuudella 5×10^{-8} M deksametasonia, kun

15 läsnä on kasvava pitoisuus tutkittavaa yhdistettä (10^{-8} M - 10^{-6} M), tai kun tällaista pitoisuutta ei ole läsnä. Sitten kuhunkin inkubaattiin lisätään 0,1 mikro-Ci-yksikköä tritioitua uridiinia ja inkubointia jatketaan 1 tunnin ajan. Sen jälkeen inkubaatit jäädytetään ja niihin lisätään

20 1 ml ei-leimattua trikloorietikkahappo- (TCA-) liuosta, jossa pitoisuus on 5 % w/v. Muodostuneet sakat kerätään Whatman GF/C -suotimille ja pestään 4 x 2 ml:lla jääkylmää 5-%:ista TCA:ta. Suotimiin jäänyt radioaktiivisuus (joka edustaa kateenkorvaimusoluihin siirtynyttä tritioitua uridiinia)

25 mitataan käyttäen nestetuikespektrometriä.

Uridiinin inkorporaation prosentuaalinen inhibitio
kateenkorvaimusoluissa:

Tutkittavan yhdisteen pitoisuus, M

5

10

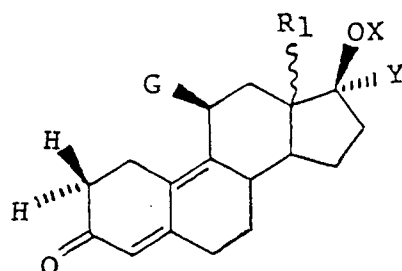
15

Yhdiste esimerkistä n:o	$10^{-6}M$	$10^{-7}M$	$10^{-8}M$
5	135	100	28
12	104	62	8
4	22	2,5	0
2	68	1	0
10	78	19	0
6	78	27	0

Esimerkkien 5 ja 12 mukaiset yhdisteet osoittavat
hyvää glukokortikoidivastaista aktiivisuutta.

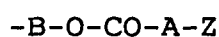
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä kaavan (I) mukaisten, terapeuttisesti aktiivisten 19-nor-steroidijohdannaisten valmistamiseksi,



(I)

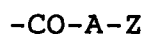
jossa R_1 on β -asemassa oleva metyyli tai etyyli, G on fe-
nyyliradikaali, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä
tai useammalla radikaalilla, jotka on valittu halogeeni-
atomeista, tyydytetyistä tai tyydyttämättömistä, haaroit-
tuneista tai lineaarisista alifaattisista radikaaleista,
jotka sisältävät 1 - 6 hiiliatomia, lineaarisista tai haa-
roittuneista asyyiliradikaaleista, jotka sisältävät 1 - 6
hiiliatomia, tai ryhmistä $\text{alk}_1\text{alk}_2\text{N}(\text{O})_m-$, $\text{alk}_3\text{S}(\text{O})_p-$ ja
 $\text{alk}_4\text{O}-$, joissa alk_1 , alk_2 , alk_3 ja alk_4 , jotka ovat samoja
tai erilaisia, merkitsevät vetyatomia tai lineaarista tai
haaroittunutta alkyyliradikaalia, joka sisältää 1 - 11
hiiliatomia, m on 0 tai 1, ja p on 0, 1 tai 2, X on X_A ,
jolloin X_A on vetyatomi, alkyyliradikaali, joka käsittää
1 - 8 hiiliatomia, aryylialkyyliradikaali, joka käsittää
7 - 15 hiiliatomia, tai asyyiliradikaali, joka käsittää 1 -
8 hiiliatomia, missä tapauksessa Y on Y_A , jolloin Y_A on
ryhmä



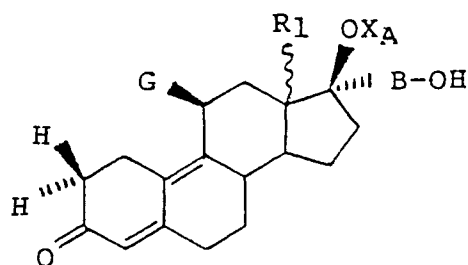
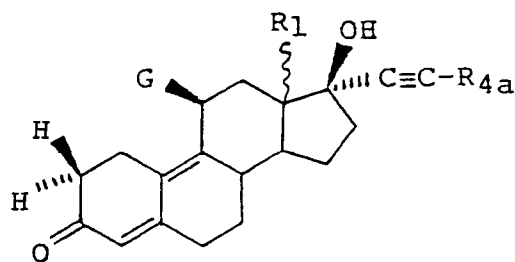
jossa B on kaksivalenssinen alifaattinen radikaali, joka
on suoraketjuinen tai haarautunut ja tyydytetty tai ei-
tyydytetty ja käsittää 1 - 8 hiiliatomia, A on joko kak-

sivalenssinen radikaali $-(CH_2)_n-$, jossa n on 2 - 6, tai A on kaksivalenssinen fenyleeniradikaali, ja Z on ryhmä $-COOH$ tai $-SO_3H$, jolloin nämä ryhmät voivat mahdollisesti olla alkalimetalli-, maa-alkalimetalli-, ammonium- tai amiinisuolansa muodossa, tai

5 X on X_B , jolloin X_B on ryhmä

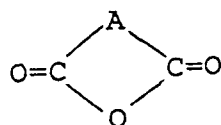


- 10 jossa A ja Z ovat edellä määriteltyjä ja Y on Y_B , jolloin Y_B on ryhmä $-C\equiv C-R_4$, $-CH=CH-R_4$ tai $-CH_2-CH_2-R_4$, joissa R_4 on vetyatomi, halogeeniatomi, tai alkyyliradikaali, joka käsittää 1 - 6 hiiliatomia ja joka on suoraketjuinen tai haarautunut, t u n n e t t u siitä, että
- 15 A) yhdisteitä, joiden kaava on (II_A) tai (II_B) :

(II_A)(II_B)

joissa R_1 ja G ovat edellä määriteltyjä ja R_{4a} on jokin edellä R_4 :lle määritelty ryhmä, tai tällainen ryhmä, jossa reaktiiviset funktiot on suojattu, käsitellään neutraalisessa liuottimessa ja emäksen läsnäollessa jollakin seuraavista:

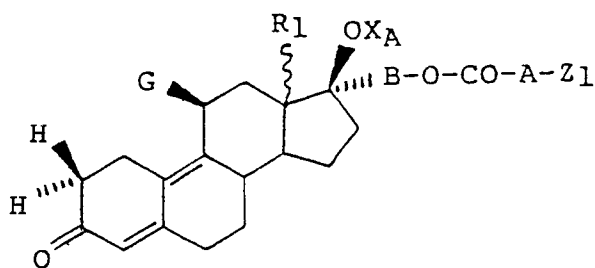
a) yhdisteellä, jonka kaava on (III_1) :

(III₁)

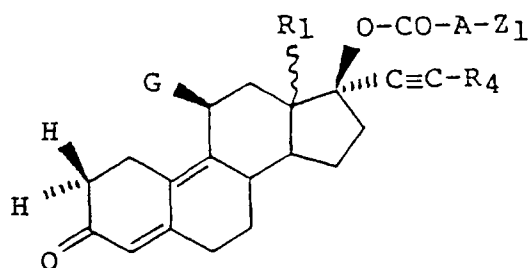
5

jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät on poistettu suojatuista reaktiivisista funktioista ja karboksyylifunktio haluttaessa muutettu suolakseen, saadaan yleisen kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joiden kaava on (I_{A1}) tai (I_{B1}):

15

(I_{A1})

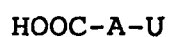
20

(I_{B1})

25

joissa Z₁ on karboksyyli-*radikaali*, mahdollisesti suolansa muodossa;

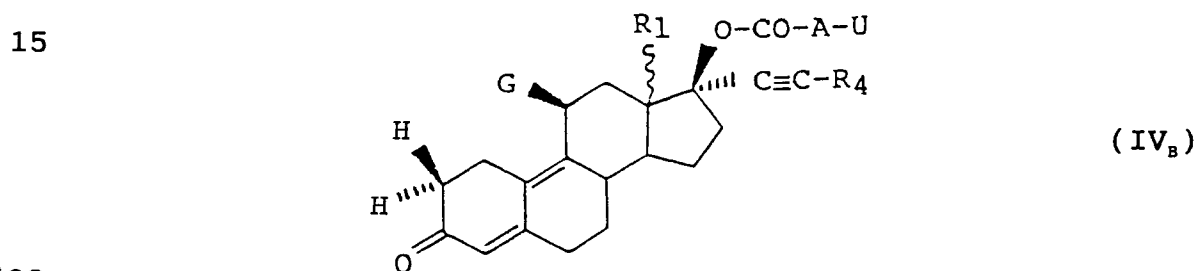
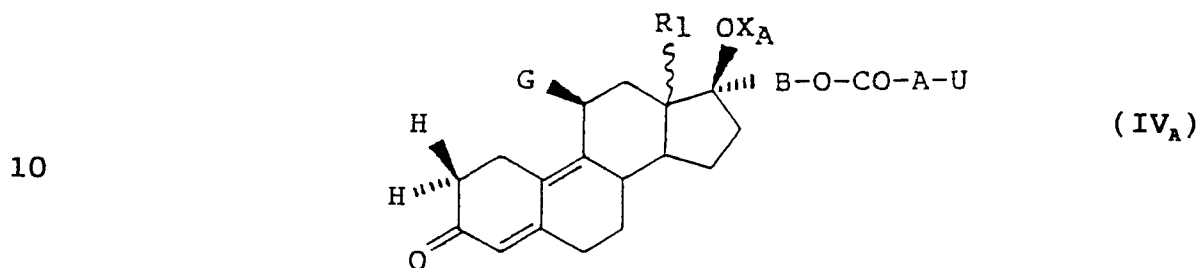
b) yhdisteellä, jonka kaava on (III₂):

(III₂)

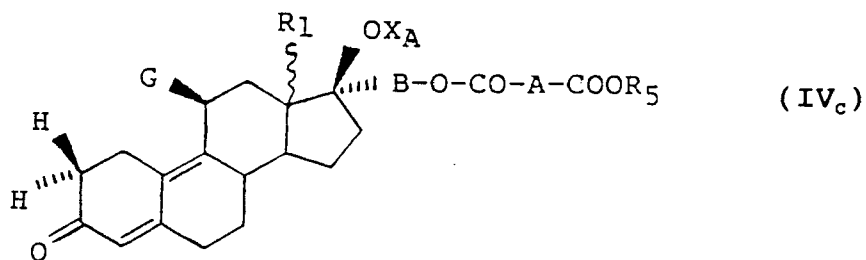
tai tämän hapon funktionaalisella johdannaisella, jossa kaavassa U on ryhmä -COOH tai -COOR₅, jossa R₅ on alkyyli-

35

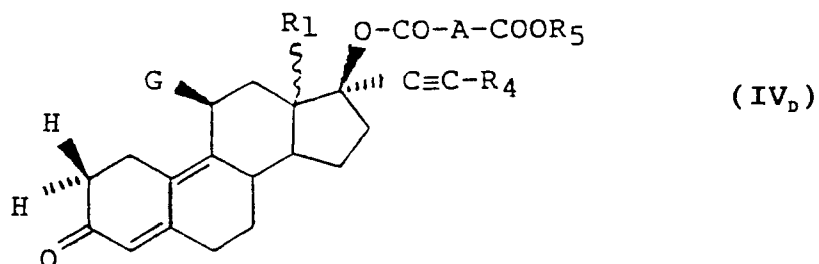
radikaali, joka käsittää 1 - 6 hiiliatomia, tai aryylialkyyli-
 radikaali, joka käsittää 7 - 12 hiiliatomia, tai
 -SH, jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät on
 poistettu suojaetuista reaktiivisista funktioista, saadaan
 yhdisteitä, joiden kaava on (IV_A) tai (IV_B):



20 jolloin kaavan (IV_A) ja (IV_B) mukaiset yhdisteet vastaavat:
 siinä tapauksessa, että U on vapaa karboksyyli-ryhmä, mah-
 dollisen suolanmuodostuksen jälkeen kaavan (I_{A1}) tai (I_{B1})
 mukaisia yhdisteitä; tai
 25 siinä tapauksessa, että U on ryhmä -COOR₅, yhdisteitä, joi-
 den kaava on (IV_C) tai (IV_D):



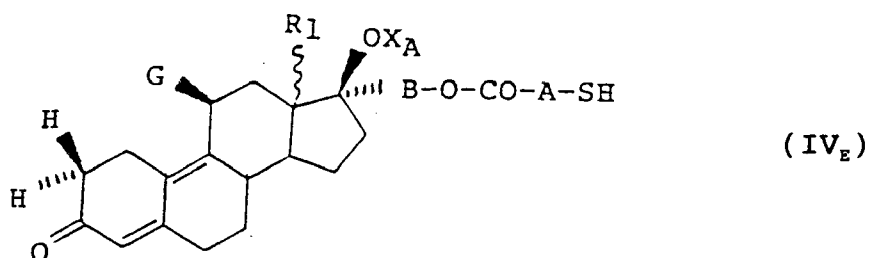
5



10

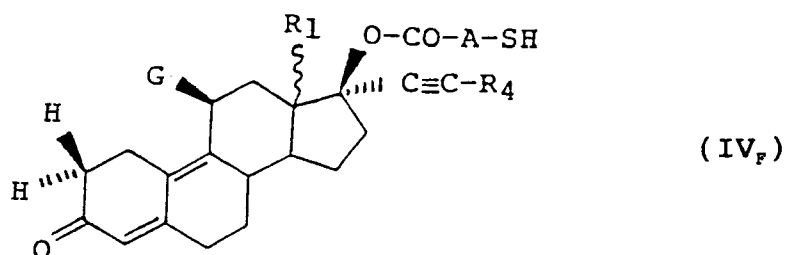
minkä jälkeen kaavan (IV_C) tai (IV_D) mukaiset yhdisteet hydrolysoidaan tai saippuoidaan yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{A1}) tai vastaavasti (I_{B1}); tai siinä tapauksessa, että U on ryhmä -SH, yhdisteitä, joiden kaava on (IV_E) tai (IV_F):

15



20

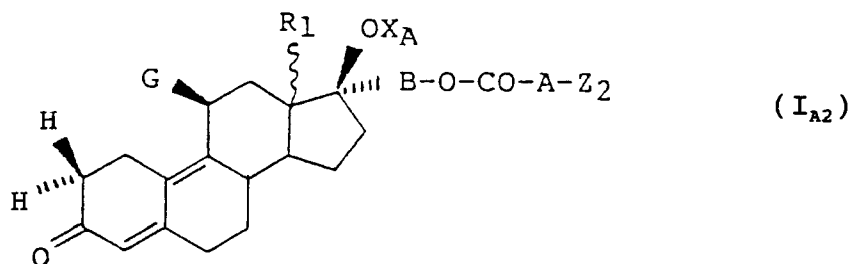
25



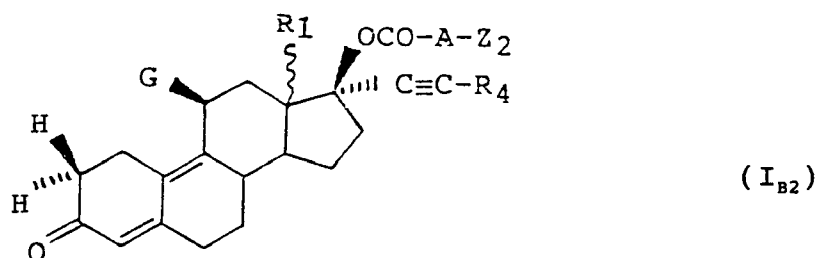
30

minkä jälkeen kaavan (IV_E) tai (IV_F) mukaiset yhdisteet hapatetaan ja muutetaan haluttaessa suoloikseen yleisen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{A2}) tai vastaavasti (I_{B2}):

5



10



15

joissa Z₂ on sulforyhmä, joka on mahdollisesti suolansa muodossa; tai

c) yhdisteellä, jonka kaava on (III₃):

20



25

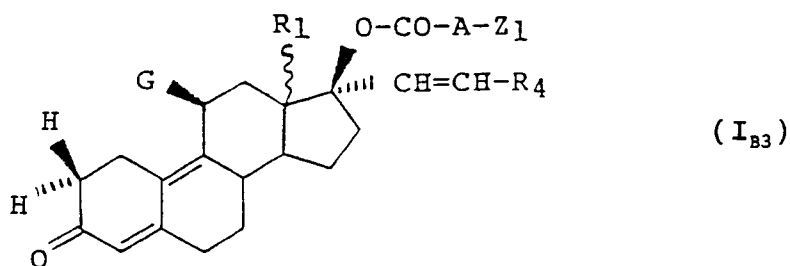
tai tämän hapon funktionaalisella johdannaisella, jolloin sen jälkeen kun tarvittaessa suojaryhmät on poistettu R_{4a}:han sisältyvistä reaktiivisista funktioista ja haluttaessa yhdiste muutettu suolakseen, saadaan yhdisteitä, joiden kaava on (I_{A2}) tai vastaavasti (I_{B2}); ja

B) yhdisteitä, joiden kaava on (I_{B1}), (I_{B2}) tai (IV'_D), käsitellään haluttaessa:

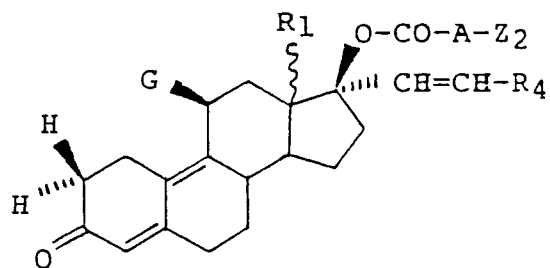
30

a) joko kolmoissidokset hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B3}), (I_{B4}) tai (V_D):

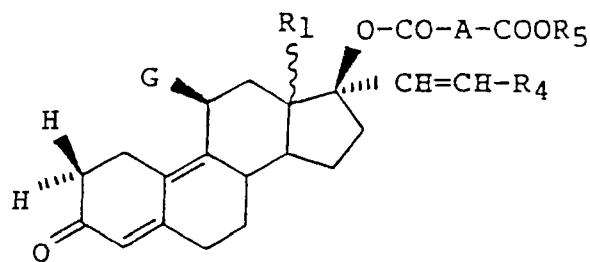
35



5

(I_{B4})

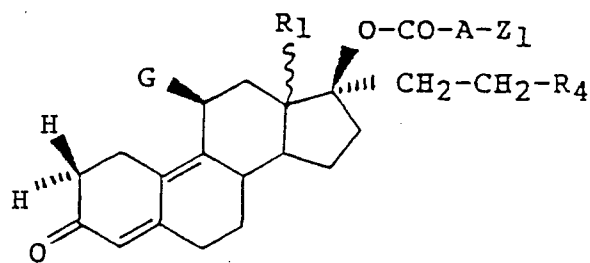
10

(V_D)

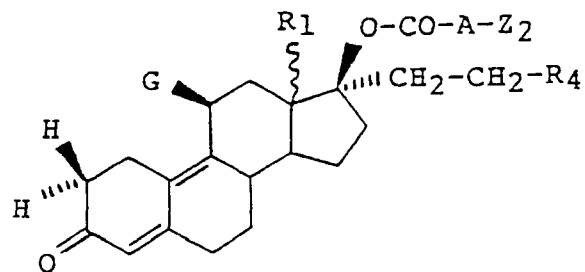
15

joita yhdisteitä käsitellään haluttaessa kaksoissidokset hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava on (I_{B5}), (I_{B6}) tai vastaavasti (VI_D):

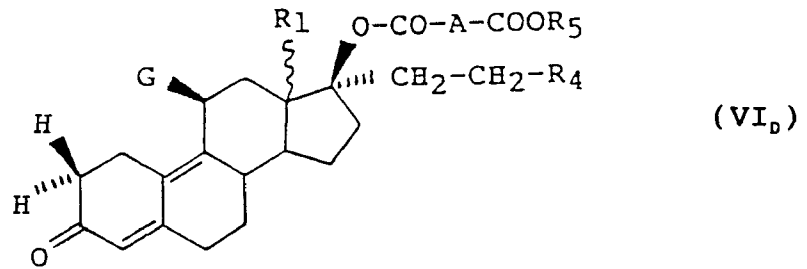
20

(I_{B5})

25

(I_{B6})

30



10 tai kolmoissidokset suoraan yksinkertaisiksi sidoksiksi
hydraavalla aineella yhdisteiden saamiseksi, joiden kaava
on (I_{B5}), (I_{B6}) tai (VI_D);

b) yhdisteet, joiden kaava on (V_D) tai (VI_D), joko hydroly-
soidaan tai saippuoidaan yhdisteiden saamiseksi, joiden
kaava on (I_{B3}) tai (I_{B5}).

15 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,

t u n n e t t u siitä, että valmistetaan

natrium-{21-kloori-11-beeta-[4-(dimetyyliamino)fenyyli]-
3-okso-19-nor-17-alfa-pregna-4,9-dien-20-yn-17-beeta-
yyli}-sukkinaatti tai

20 natrium-{11-beeta-[4-(metyylitio)fenyyli]-3-okso-17-alfa-
(1-propynylyli)-estra-4,9-dien-17-beeta-yyli}-sukkinaatti.

3. Uudet teolliset yhdisteet, t u n n e t t u t
siitä, että niiden kaava on (IV_C), (IV_D), (V_D) tai (VI_D).

Viitejulkaisu - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisu: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI - C - 85377 (C07J 1/00) ja FI-C-81588 (C07J 1/00)
(tekn. taso)

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron
eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP-A- 254 670 (07J 1/00) ja EP-A-192 598 (07J 4/60)
(Tehn. taso)

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

TVK

Allekirjoitus