

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 154644 B



(21) Patentansøgning nr.: 3860/82

(51) Int.Cl.⁴ C 07 C 172/00

(22) Indleveringsdag: 27 aug 1982

(41) Alm. tilgængelig: 01 mar 1983

(44) Fremlagt: 05 dec 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 28 aug 1981 US 297446

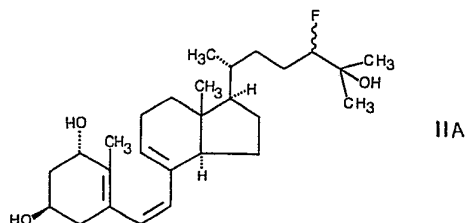
(71) Ansøger: F. *HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AKTIENGESELLSCHAFT; 4002 Basel, CH

(72) Opfinder: John Joseph *Partridge; US, Shian-Jan *Shiuey; US, Milan Radoje *Uskokovic; US

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af cholecalciferolderivater

(56) Fremdragne publikationer

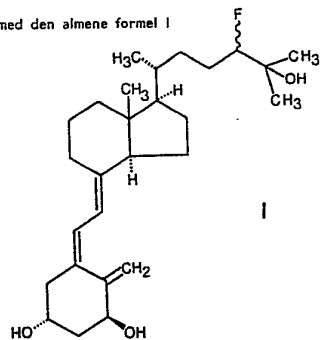


(57) Sammendrag:

De fremstillede forbindelser er nyttige til forøgelse af calcium- og fosfatniveauet i serum og til aflejring af disse mineraler i knoglerne.

3860-82

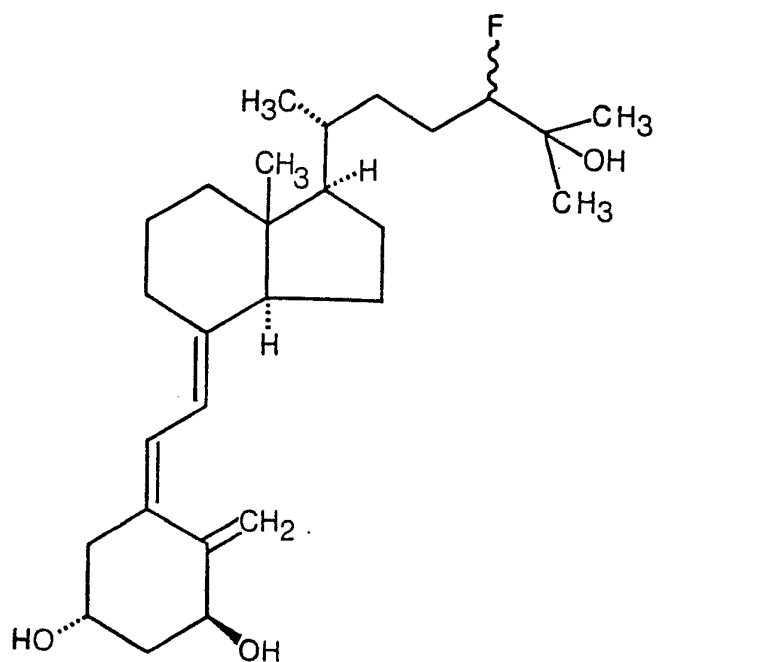
Cholecalciferolderivater med den almene formel I



fremstilles ved termisk isomerisering af det tilsvarende præcholecalciferolderivat med den almene formel IIIA

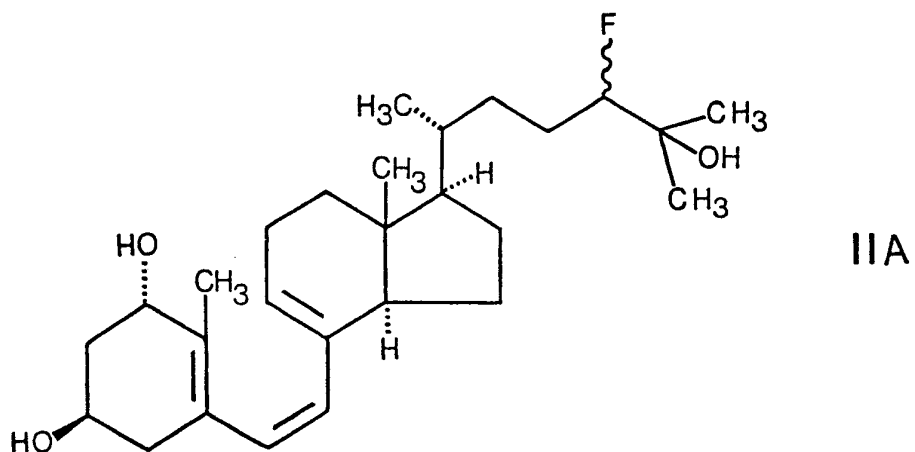
DK 154644 B

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte cholecalciferolderivater med den almene formel I



hvor F-atomet er α - eller β -stillet.

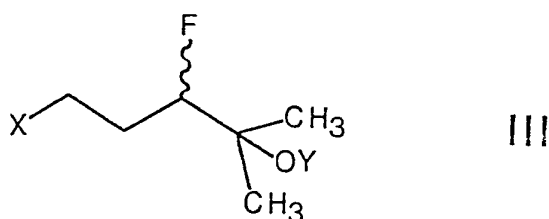
- 5 Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at der foretages termisk isomerisering af et præcholecalciferolderivat med den almene formel II-A



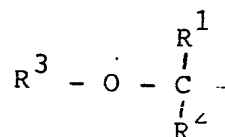
I formlerne betegner en bølgelinje mellem et C-atom og en substituent, at C-atomets absolutte konfiguration er R eller S, eller at den tilsvarende forbindelse foreligger i form af en R,S-blanding.

Den termiske isomerisering af en forbindelse med den almene formel

- 5 IIA kan udføres ved opvarmning i et inert opløsningsmiddel såsom en ether, fx dioxan, tetrahydrofuran eller dimethoxyethan; et aromatisk carbonhydrid, fx benzen eller toluen; under inert atmosfære, såsom argon eller helium; eller på i og for sig kendt måde, fx som beskrevet i J.A.C.S. 98 (1973) 2748.
- 10 I den foreliggende beskrivelse betegner udtrykket "lavere" radikaler med 1-8 carbonatomer. Eksempler på lavere alkylgrupper er methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, tert.butyl, hexyl, heptyl eller octyl. Eksempler på lavere alkylengrupper er methylen, ethylen og propylen. Eksempler på lavere alkoxygrupper er methoxy, ethoxy, isopropoxy og tert.butoxy. Eksempler på lavere alkanoyloxygrupper er formyloxy, acetoxy, butyryloxy og hexanoyloxy. Udtrykket "substitueret" i forbindelse med "phenyl" betegner phenylgrupper, der er substitueret med én eller flere grupper såsom lavere alkyl, fluor, chlor, brom, iod, nitro, cyano eller trifluormethyl.
- 15
- 20 Forbindelserne med den almene formel II-A kan fremstilles ved, at en forbindelse med den almene formel III

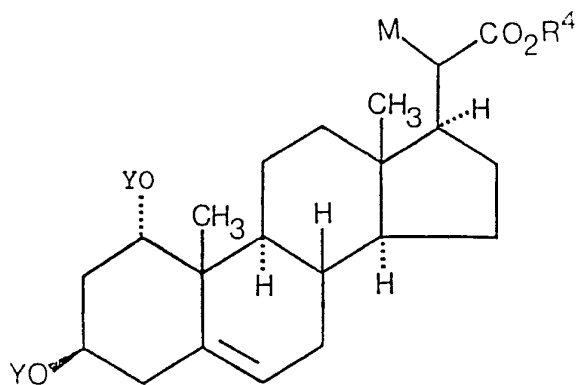


i hvilken X er iod, brom, chlor, lavere alkylsulfonyloxy, phenylsulfonyloxy eller substitueret phenylsulfonyloxy, og Y er en gruppe med den almene formel



i hvilken R^1 er hydrogen eller lavere alkyl, R^2 og R^3 er lavere alkyl, eller R^2 og R^3 tilsammen udgør C_{3-6} -alkylen, omsættes med en metalliseret pregn-5-en-21-carbonsyreester med den almene formel IV-A

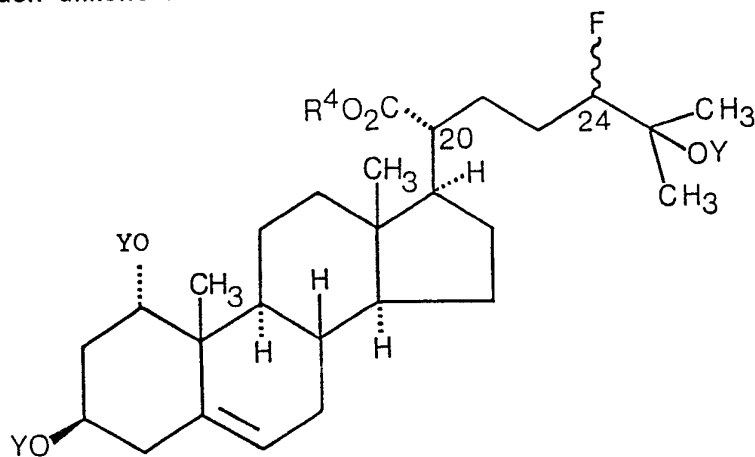
5



IV-A

i hvilken M er lithium, natrium, kalium, magnesium/2 eller zink/2, R^4 er lavere alkyl, phenyl eller substitueret phenyl, og Y er som ovenfor defineret,

10 og hvor omsætningen sker ifølge den i J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1282 (1978) beskrevne metode. Herved fås en alkyleret forbindelse med den almene formel V-A



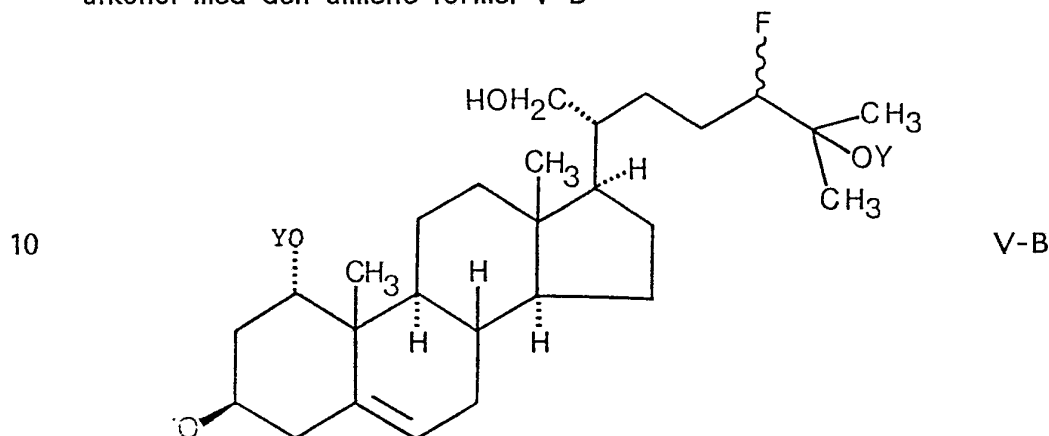
V-A

i hvilken R^4 og Y er som ovenfor defineret.

Denne reaktion kan foretages i et inert aprot opløsningsmiddel, såsom en ether, fx tetrahydrofuran, eller et amid, fx hexamethylphosphoramid, og hensigtsmæssigt ved en temperatur mellem -78 og 60°C .

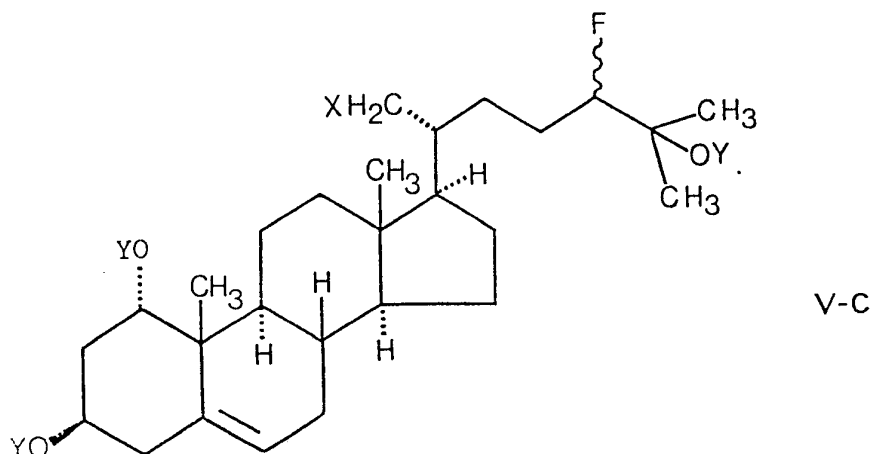
- 5 Produktet med den almene formel V-A kan isoleres med den ønskede absolutte 20R-konfiguration ved sædvanlige kemiske og fysiske metoder.

Forbindelsen med den almene formel V-A reduceres derefter til en alkohol med den almene formel V-B



- i hvilken Y har den ovenfor anførte betydning. Eksempler på complexe metalhydrid, der kan anvendes ved denne reduktion, er alkalimetallaluminiumhydrid, fx lithiumaluminiumhydrid; mono-, di- eller tri(lavere alkoxy)alkalimetallaluminiumhydrid, fx lithium tris-(tert.butoxy)aluminiumhydrid; et mono-, di- eller tri(lavere alkoxy-lavere alkoxy)alkalimetallaluminiumhydrid, fx natrium bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydrid; eller et di-lavere alkylaluminiumhydrid, fx diisobutylaluminiumhydrid. Som opløsningsmiddel ved reduktionen kan anvendes en ether såsom diethylether. Reduktionen udføres
- 15
- 20 hensigtsmæssigt ved en temperatur mellem ca. 0 og 100°C .

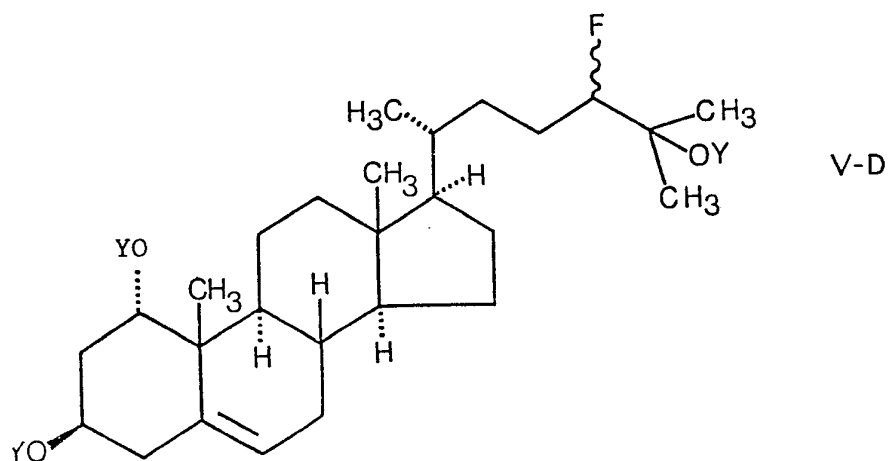
Alkoholen med den almene formel V-B omdannes derefter på i og for sig kendt måde til et halogenid eller sulfonat med den almene formel V-C



i hvilken X og Y har den ovenfor anførte betydning.

Til fremstilling af et sulfonat med den almene formel V-C omsættes forbindelsen med den almene formel V-B med et sulfonylhalogenid i nærværelse af en base. Fremstilling af et halogenid med den almene formel V-C kan udføres ved, at enten en alkohol med den almene formel V-B omsættes med et halogeneringsmiddel såsom phosphortribromid, eller at en sulfonatester med den almene formel V-C, fx et tosylat, omsættes med en halogenionholdig forbindelse såsom et alkalimetallbromid eller -iodid, fx kaliumbromid.

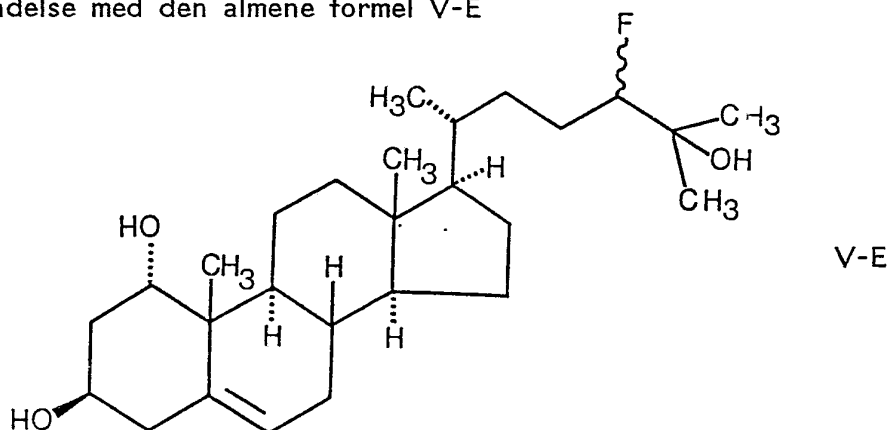
Forbindelsen med den almene formel V-C reduceres derefter til en forbindelse med den almene formel V-D



i hvilken Y har den ovenfor anførte betydning, ved hjælp af et et complext metalhydrid.

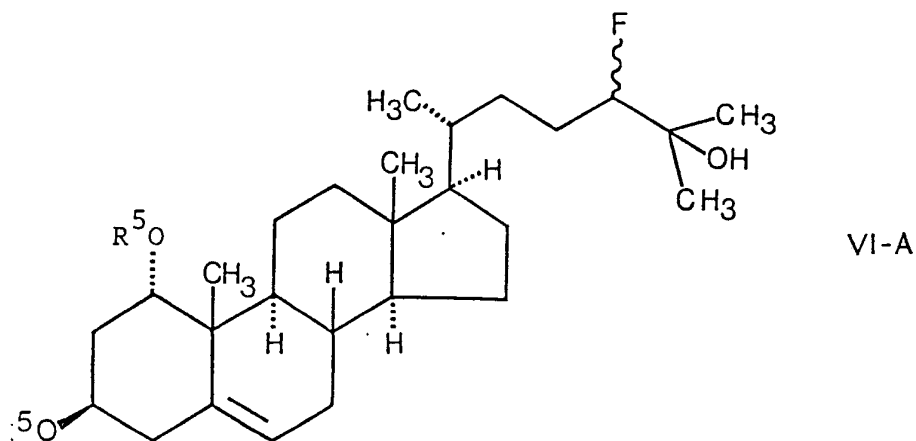
- Reduktionen udføres hensigtsmæssigt med et af de reduktionsmidler og i et af de opløsningsmidler, der er beskrevet ovenfor i forbindelse med reduktionen af en forbindelse med den almene formel V-A til en forbindelse med den almene formel V-B. Reaktionstemperaturen ligger mellem ca. stuetemperatur og 100°C. Andre reduktionsmidler, der er anvendelige ved reduktionen, især når X betegner iod eller brom, er alkalimetalcyanoborhydrider, såsom natriumcyanoborhydrid (natriumcyanotrihydroborat); tri(lavere alkyl)tinhydrider, såsom tri-n-butyltinhydrid; og tri(aryl)tinhydrider, såsom triphenyltinhydrid. Reduktionen udføres hensigtsmæssigt ved en temperatur mellem ca. -20 og 80°C.

- Forbindelsen med den almene formel V-D omdannes derefter til en forbindelse med den almene formel V-E



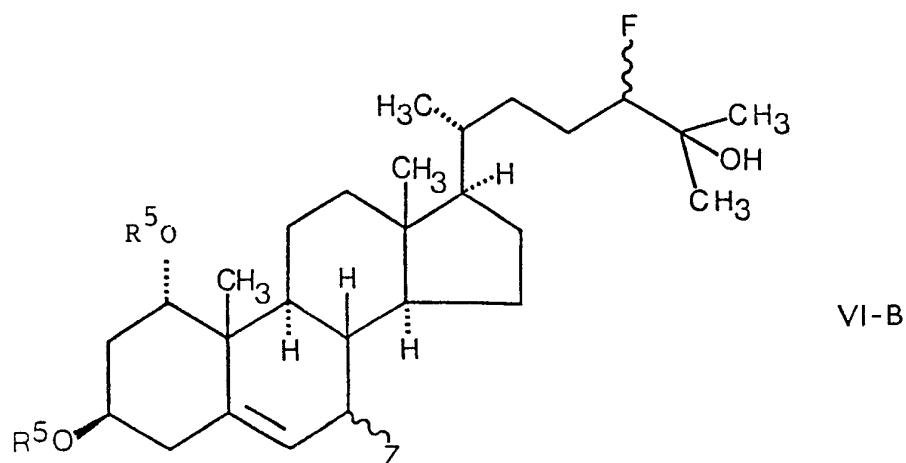
- ved, at beskyttelsesgrupperne Y fraspaltes ved hjælp af en stærk syre i et prot opløsningsmiddel. Som den stærke syre kan anvendes mineralsyrer, såsom saltsyre, og organiske sulfonsyrer, såsom p-toluensulfonsyre. Som opløsningsmiddel kan anvendes alkoholer, såsom methanol, og vand med en blandbar cosolvent til solubilisering af de organiske reaktanter, såsom en ether, fx tetrahydrofuran; eller en keton, såsom acetone. Reaktionen udføres hensigtsmæssigt ved en temperatur mellem ca. -10 og 80°C.

Cholesterinen med den almene formel V-E alkanoyleres derefter på i og for sig kendt måde til et $1\alpha,3\beta$ -dialkanoat med den almene formel VI-A



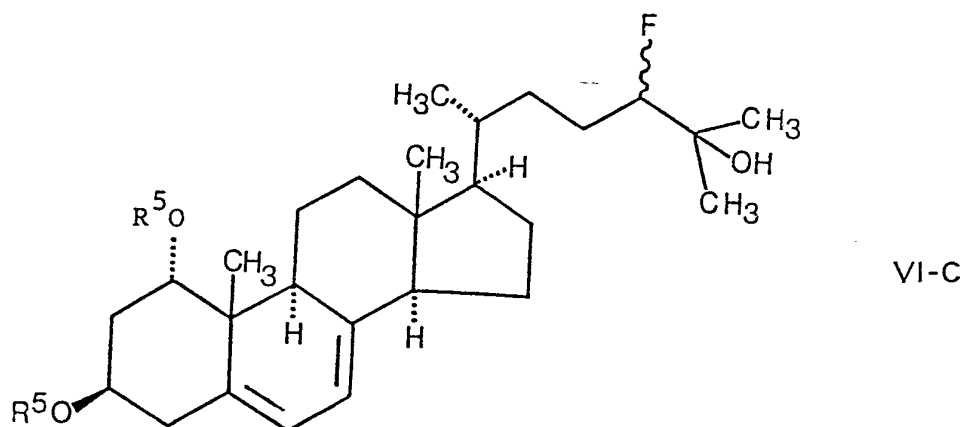
5 i hvilken R^5 betegner lavere alkanoyl.

Forbindelsen med den almene formel VI-A underkastes en allylisk halogenering. Derved fås en blanding af 7α - og 7β -halogencholesterinerne med den almene formel VI-B



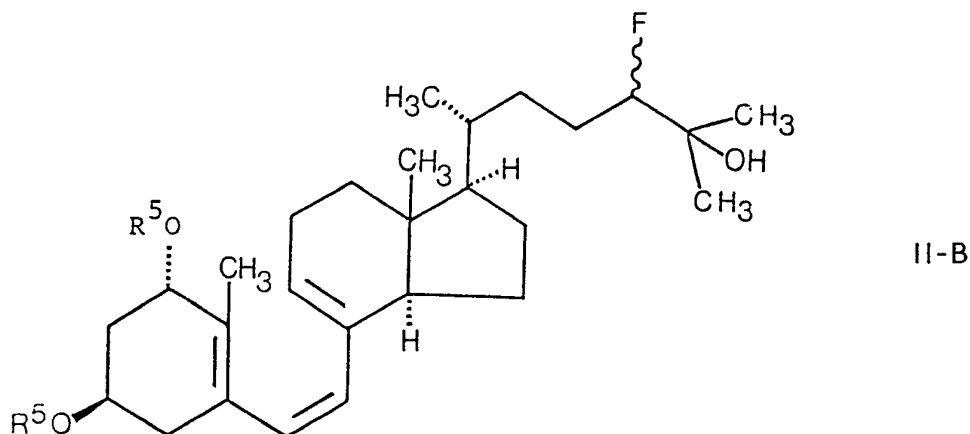
Reaktionen udføres ved hjælp af et halogeneringsmiddel, såsom N-chlor- eller N-bromsuccinimid, der er opløst i et mættet alifatisk carbonhydrid eller halogencarbonhydrid, såsom hexan, i nærværelse af et neutraliseringsmiddel, såsom natriumbicarbonat, ved reaktionsblandingsens kogepunktstemperatur.

Uden adskillelse af 7 β -halogenisomeren fra 7 α -isomeren dehydrohalogeneres forbindelsen med den almene formel VI-B til en steroid-5,7-dien med den almene formel VI-C



i hvilken R⁵ har den ovenfor anførte betydning, ved hjælp af en heteroaromatisk tertiær amin, såsom en pyridin, fx en picolin, lutidin eller collidin; eller en alifatisk tertiær amin, fx triethylamin, tripropylamin, 1,5-diazabicyclo(4.3.0)non-5-en eller 1,4-diazabicyclo-(2.2.2)octan. Trialkylphosphitter kan også anvendes ved dehydrohalogeneringstrinnet. Reaktionen udføres hensigtsmæssigt i et inert organisk opløsningsmiddel, såsom et aromatisk eller alifatisk opløsningsmiddel, fx xylene, ved en temperatur mellem ca. 50°C og tilbagesvalingstemperaturen af reaktionsblandingen. Steroid-5,7-dienen med den almene formel VI-C kan derefter isoleres på i og for sig kendt måde ved hjælp af kemiske eller fysiske metoder, såsom chromatografi, og på denne måde adskilles fra uønskede urenheder, såsom den tilsvarende 4,6-dien.

Steroid-5,7-dienen med den almene formel VI-C omløjres derefter til et præcholecalciferol-1 α ,3 β -dialkanoat med den almene formel II-B



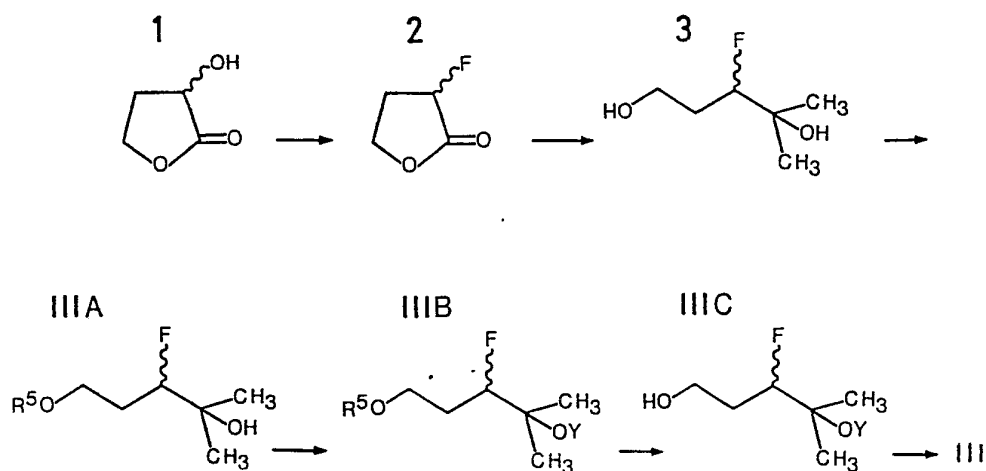
i hvilken R⁵ har den ovenfor anførte betydning, ved bestråling i en
 5 inert atmosfære, såsom nitrogen, ved en temperatur mellem ca. -40 og
 +25°C. Som strålingskilder kan hensigtsmæssigt anvendes høj- eller
 lavtrykskviksløvlamper. Ved bestrålingen anvendes hensigtsmæssigt
 inerte organiske opløsningsmidler, såsom blandinger af mættede alipha-
 tiske carbonhydrider og etheropløsningsmidler, fx blandinger af hexan
 10 og tetrahydrofuran.

Efter bestrålingen fjernes opløsningsmidlet ved afdampning, og rema-
 nensen adskilles i rent præcholecalciferol-1 α ,3 β -dialkanoat med den
 almene formel II-B og rent uomsat steroid-5,7-dien med den almene
 formel VI-C ved hjælp af væskechromatografi under anvendelse af et
 15 fast absorptionsmiddel, såsom porasil, og under anvendelse af et inert
 organisk elueringsmiddel. Som elueringsmiddel kan hensigtsmæssigt
 anvendes blandinger af carbonhydrider og estere, såsom en blanding
 af n-hexan og ethylacetat.

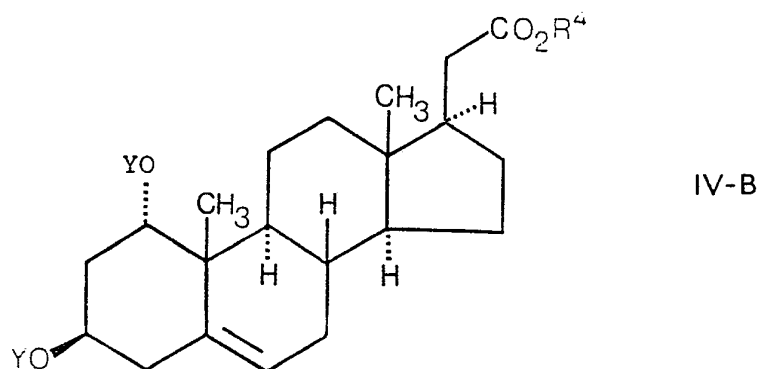
Uomsat 5,7-dien med den almene formel VI-C underkastes bestråling
 20 på ny, hvorved fås yderligere mængder rent præcholecalciferol-
 1 α ,3 β -dialkanoat med den almene formel II-B.

Forbindelsen med den almene formel II-B forsæbes derefter til en forbindelse med den almene formel II-A ved hjælp af en stærk base i et prot opløsningsmiddel. Som base kan hensigtsmæssigt anvendes alkali- eller jordalkalimetallhydroxider eller -alkoxider, såsom kaliumhydroxid. Som opløsningsmiddel anvendes hensigtsmæssigt alkoholer, såsom methanol, og vand med en blandbar cosolvent til solubilisering af de organiske reaktanter, såsom en ether, fx tetrahydrofuran. Fraspaltningen af alkanoylgrupperne R^5 udføres fortrinsvis ved en temperatur mellem ca. -20 og 60°C og under en inert atmosfære såsom nitrogen.

Forbindelser med den almene formel III kan fremstilles som vist i det følgende skema, hvori R^5 og Y har de ovenfor anførte betydninger, samt som beskrevet i eksemplerne.

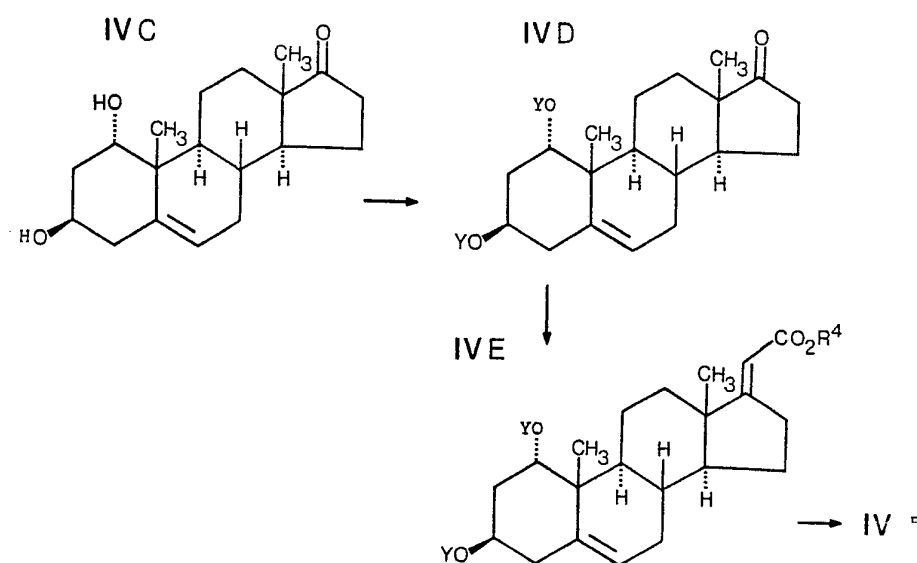


De metalliserede forbindelser med den almene formel IV-A kan fremstilles ved behandling af en forbindelse med den almene formel IV-B

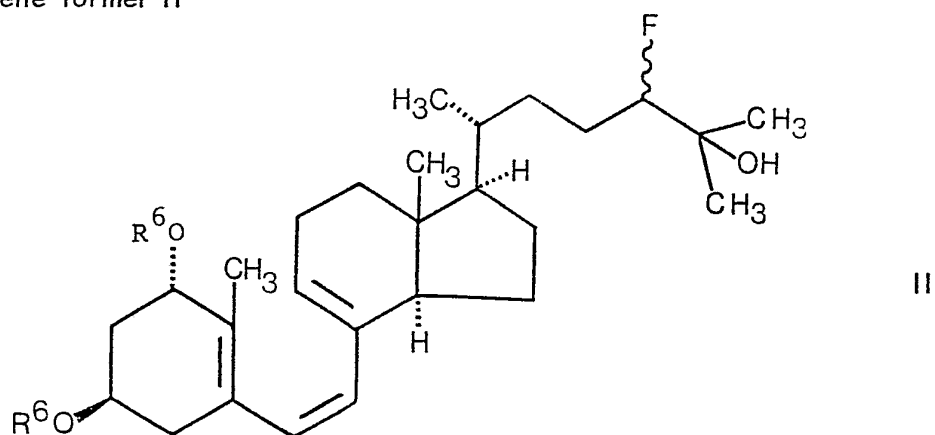


i hvilken R^4 og Y har den ovenfor anførte betydning, med et egnet metalorganisk reagens, som fx lithiumdiisopropylamid, natriumhexamethyldisilasan eller kaliumhydrid.

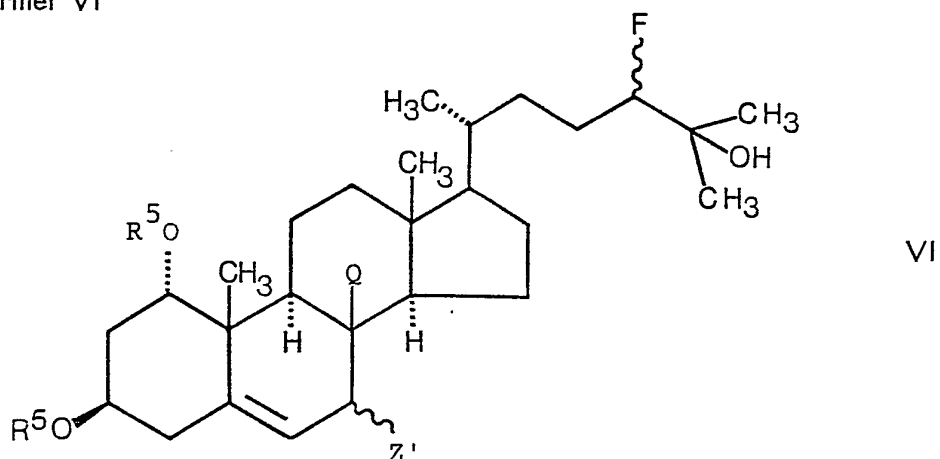
Forbindelserne med den almene formel IV-B kan fremstilles som vist i det følgende skema, i hvilket Y og R^4 har den ovenfor anførte betydning, og som beskrevet i eksemplerne.



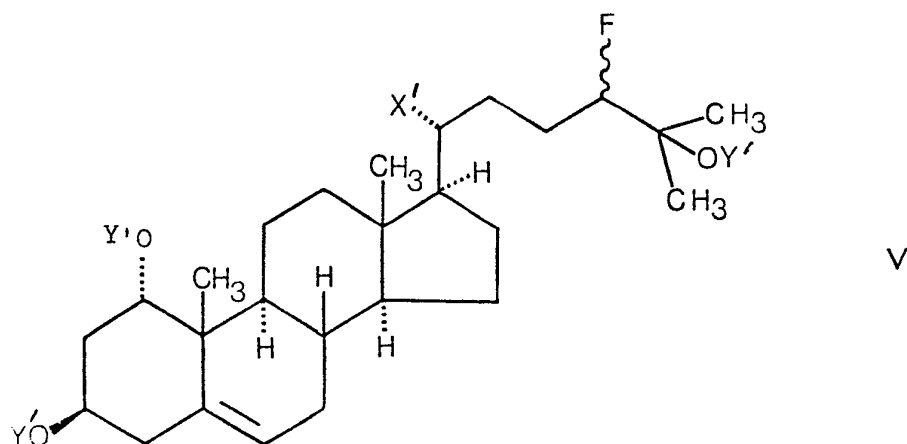
Forbindelserne med de almene formler II-A og II-B, dvs. med den almene formel II



- i hvilken R^6 betegner hydrogen eller lavere alkanoyl,
 5 med de almene formler VI-A, VI-B og VI-C, dvs. med den almene formel VI

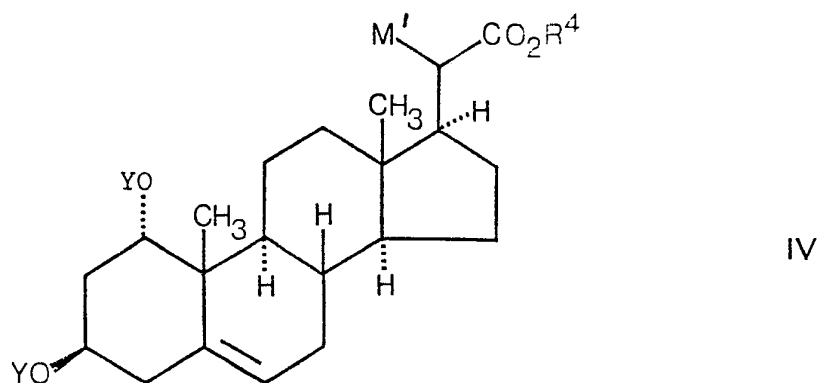


- i hvilken Q betegner hydrogen, og Z' betegner hydrogen, iod, brom
 eller chlor, eller Q og Z' tilsammen betegner endnu en 7,8-binding,
 10 og R^5 har den ovenfor anførte betydning,
 med de almene formler V-A, V-B, V-C, V-D og V-E, dvs. med den almene formel V



i hvilken Y' er hydrogen eller en gruppe Y , og X' er methyl, eller Y' er en gruppe Y , og X' er en gruppe $-CH_2X$, $-CH_2OH$ eller $-COOR^4$, og Y , X og R^4 har den ovenfor anførte betydning,

5 med de almene formler IV-A og IV-B, dvs. med den almene formel IV



i hvilken M' er hydrogen eller en gruppe M , og M , R^4 og Y har den ovenfor anførte betydning,

såvel som forbindelserne med de almene formler 2, 3, III-A, III-B,

10 III-C og III er hidtil ukendte.

Forbindelserne med den almene formel I er nyttige til forøgelse af den intestinale calciumtransport, calcium- og fosfatniveauet i serum

såvel som aflejringen af disse mineraler i knoglerne. Disse forbindelser kan derfor finde anvendelse som erstatning for $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol til behandling af sygdomme kendetegnet ved metabolisk calcium- og fosfatmangeltilstande. Eksempler på sådanne sygdomme

5 er osteomalaci, osteoporosis, rachitis, osteitis fibrosa cystica, renal osteodystrofi, osteosclerose, konvulsioner, osteopeni, fibrogenesis imperfecta ossium, sekundær hyperparathyroidi, hypoparathyroidi, hyperparathyroidi, cirrhosis, obstruktiv gulsot, farmakainduceret

10 metabolisme, medullært carcinom, kroniske renale sygdomme, hypophosphatæmisk vitamin D-resistent rachitis, vitamin D-afhængig rachitis, sarcoidose, glucocorticoidantagonisme, misabsorptionssyndrom, steatorrhea, tropisk sprue, idiopatisk hypercalcæmi og mælkefeber.

$1\alpha,25$ -Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol er blevet påvist som værende aktiv ved anti-rachitogene forsøg med kyllinger. Endvidere blev der

15 ved en oral engangsindgivelse af 100 ng $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol påvist en stimulering af den intestinale calciumabsorption, der varede i 24 timer, og som var sammenlignelig med den med $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol opnåede stimulering.

Hvide leghorn-kyllinger blev under UV-fri belysning givet en vitamin

20 D-fattig diæt indeholdende 1% calcium og 0,7% phosphor. Testforbindelserne, der var opløst i propylenglycol, blev indgivet over 21 dage til de ved forsøgets begyndelse 1 eller 2 dage gamle kyllinger. Kontrol dyr blev behandlet med vehikel. Dagen efter den sidste behandlingsdag blev kyllingerne dissekeret, og askevægten af tibia blev

25 bestemt. Der anvendtes 9 eller 10 kyllinger i hver behandlingsgruppe og i kontrolgruppen. Resultaterne af de antirachitogene aktivitetsforsøg for $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol (forbindelse X) og for den i *Chemical Abstracts*, 93, 1980, 186685a beskrevne forbindelse 24,24-difluor- $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol (forbindelse A) er vist i

30 tabel 1. Resultaterne viser, at $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol udviser en betragtelig og i forhold til forbindelse A overlegen antirachitogenvirkning.

I et andet forsøg blev kyllingerne over en periode på 21 dage og under UV-fri bestråling givet en vitamin D-fattig diæt. Til bestemmelse af indflydelsen af forbindelse X på den intestinale calciumabsorpti-

35

on blev der indgivet en oral enkeldosis opløst i propylenglycol. Derefter blev der på forskellige tidspunkter oralt indgivet 2 $\mu\text{Ci}^{45}\text{Ca}$ (chlorid), hvorefter radioaktiviteten i serum målt 45 minutter efter indgivelse af isotopen. I hver forsøgsperiode anvendtes kontrol dyr, 5 der kun var blevet indgivet vehikel. I hver behandlingsgruppe og i hver kontrolgruppe anvendtes 10 kyllinger. Resultaterne er vist i tabel 2. Resultaterne viser, at 1 α ,25-dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol medfører intestinal calciumabsorption i ca. 24 timer.

Tabel 1

10	Dosis ng/kylling/dag	Gennemsnitlig tibiaaskevægt (mg) forbindelse	
		A	X
15	0	120,9 $\pm$ 8,3	
	3	192,2 $\pm$ 6,2	293,3 $\pm$ 4,8
	10	258,6 $\pm$ 10,0	330,4 $\pm$ 7,7
	30	229,8 $\pm$ 14,2	337,9 $\pm$ 10,6

Tabel 2

20	Behandling	Tid (timer)	Serum ^{45}Ca cpm/0,2 ml	
25	0,2 ml vehikel	24	408 $\pm$ 30	
	Forbindelse X		793 $\pm$ 73*	
	0,2 ml vehikel	48	439 $\pm$ 30	
	Forbindelse X		520 $\pm$ 38	NS
30	0,2 ml vehikel	72	398 $\pm$ 31	
	Forbindelse X		372 $\pm$ 39	NS

* = Statistisk signifikant resultat.

NS = Statistisk ikke-signifikant resultat.

- 1 α ,25-Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol kan, ved sygdomme, hvor koncentrationen af endogent produceret 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol ligger under normalværdien, indgives i dagsdoser på ca. 0,10-3,0 mikrogram, fortrinsvis 0,25-2,0 mikrogram. Sådanne sygdomme er
- 5 osteodystrofi, osteopeni induceret af steroider, hypoparathyroidi, hypophosphatæmisk rachitis og hypophosphatæmisk osteomalaci.
- 1 α ,25-Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol kan administreres oralt, subcutant, intramuskulært, intravenøst, intraperitonealt eller topisk. Eksempler på farmaceutiske præparater er tabletter, kapsler eller
- 10 eliksirer til oral indgivelse, eller sterile opløsninger eller suspensioner til parenteral indgivelse. Disse farmaceutiske præparater kan indeholde følgende hjælpestoffer: et bindemiddel, såsom tragantgummi, akacie, majsstivelse eller gelatine; en excipiens såsom calciumphosphat; et fyldmiddel, såsom majs, kartoffelstivelse eller alginsyre; et
- 15 glittemiddel, såsom magnesiumstearat; et sødemiddel, såsom saccharose, lactose eller saccharin; et smagsstof, såsom pebermynte, vintergrønt eller sherryolie. Der kan anvendes andre materialer, såsom overtræk til modificering af præparatets aspekter. Tabletter kan fx overtrækkes med shellaksukker eller "Weide". En sirup eller eliksir
- 20 kan indeholde det aktive middel, saccharose som sødemiddel, methyl- og propylparaben som konserveringsmiddel, et farvestof og et smagsstof, såsom kirsebær- eller orangearoma.

- 1 α ,25-Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol kan anvendes i doser på 100-1500 mikrogram/dag i sædvanlige doseringsformer til behandling af
- 25 mælkefeber hos drægtige drøvtyggere.

- Sterile præparater til injicering og/eller til topisk administration kan fremstilles på sædvanlig måde ved, at 1 α ,25-dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol opløses eller suspenderes i en vehikel, såsom en 10-20%'s ethanol-vandblanding, en 10-20%'s propylenglycol-vandblanding, en
- 30 naturligt forekommende planteolie, såsom sesamolie, jordnøddolie, bomuldsolie; eller et syntetisk fedt bindemiddel, såsom ethyloleat. Således indeholder et præparat egnet til intravenøs injektion 2-3 ml af en 10-20%'s ethanol-vandblanding eller en 10-20%'s propylenglycol-vandblanding og 200-1000 mikrogram 1 α ,25-dihydroxy-24R-fluorchole-
- 35 calciferol. Et præparat egnet til topisk administration består fx af en

opløsning eller suspension af 200-1000 mikrogram $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol i en planteolie. Til oral indgivelse kan også $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol anvendes i mængder på 100-1500 mikrogram i fedtsyrepiller.

- 5 Til intramuskulær injektion kan også $1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol anvendes i mængder på 100-1500 mikrogram suspenderet i en vehikel såsom en planteolie, en ethanol-vandopløsning eller en propylenglycol-vandopløsning indeholdende 80-95% ethanol eller propylen-glycol.

10 EKSEMPEL 1

- A. En blanding af 0,104 g (0,00024 mol) $[1\alpha,3\beta,6Z,24R]$ -24-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol og 80 mg p-dioxan opvarmes under tilbagesvaling (100°C) i 1 time og afkøles derefter. Blandingen inddampes til tørhed. Remanensen oprenses på silicagel
15 med 3:1 ethylacetat-hexan som elueringsmiddel. Herved fås $[1\alpha,3\beta,5Z,7E,24R]$ -24-fluor-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-trien-1,3,25-triol ($1\alpha,25$ -dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol).

$$[\alpha]_D^{23} = +68^{\circ} \text{ (c = 0,5 i MeOH)}.$$

B. Udgangssecocholestanen kan fremstilles på følgende måde:

- 20 a) En opløsning af 1,2 ml diisopropylamin i 4 ml tetrahydrofuran tilsættes 4,5 ml (0,0072 mol) 1,6M butyllithium i hexan ved -30°C . Efter omrøring i 1/2 time tilsættes dråbevis en opløsning af 3,57 g (0,0065 mol) $[1\alpha,3\beta]$ -1,3-bis-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pregn-5-en-21-carboxylsyreethylester i 36 ml tetrahydrofuran. Blandingen
25 omrøres 1 time ved -30°C og afkøles derefter til -70°C . Der tilsættes derefter dråbevis en opløsning af 3,40 g (0,011 mol) 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-1-iod-4-methylpentan i 6 ml hexamethylphosphoramid. Blandingen omrøres 1 time ved -70°C , opvarmes til 25°C og omrøres derefter 1 time. Blandingen fortyndes med 9:1 hexan-ether. Opløsning
30 gen vaskes med vand og mættet kogsaltopløsning. Den organiske fase

tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Remanensen oprenses ved søjlechromatografi på silicagel. Herved fås [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluor-cholest-5-en-21-carboxylsyreethylester.

5 $[\alpha]_D^{20} = +18^\circ$ (c = 1,0 i CHCl₃).

b) En blanding af 0,34 g (0,0090 mol) lithiumaluminiumhydrid og 17 ml tetrahydrofuran tilsættes ved 0°C 4,26 g [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-carboxylsyreethylester i 60 ml tetrahydrofuran. Blandingen opvarmes til 50°C i 1 1/2 time, afkøles til 0°C og fortyndes med 200 ml ether. Blandingen tilsættes 0,68 ml vand og 0,55 ml 10% vandig natriumhydroxidopløsning. Blandingen omrøres 1/2 time ved 25°C og filtreres. Det faste stof rives med ether og filtreres. Efter inddampning af opløsningsmidlet fås [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol.

15 $[\alpha]_D^{25} = +7^\circ$ (c = 1,1 i CHCl₃).

c) En blanding af 3,99 g (0,0058 mol) [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol, 15 ml pyridin og 2,20 g (0,0115 mol) p-toluensulfonylchlorid omrøres i 18 timer ved 0°C. Blandingen afkøles ved tilsætning af is. Blandingen hældes derefter ud i vand og ekstraheres med methylenchlorid. Den organiske fase vaskes med 10% vandig svovlsyre og mættet vandig natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol-21-(4-methylbenzensulfonat).

25 $[\alpha]_D^{20} = +8^\circ$ (c = 1,0 i CHCl₃).

d) En blanding af 0,223 g (0,00026 mol) [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol-21-(4-methylbenzensulfonat) og 0,105 g (0,0010 mol) natriumiodid i 2 ml acetone opvarmes til 50°C i 18 timer og afkøles derefter.

30

Blandingen hældes ud i vand, og produktet ekstraheres med methylenchlorid. De organiske faser vaskes med vandig natriumsulfitopløsning og mættet vandig natriumbicarbonatopløsning. De organiske faser tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås [1 α ,3 β ,24R]-
 5 1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluor-21-iodcholest-5-en.

e) 1) En blanding af 0,710 g (0,0187 mol) lithiumaluminiumhydrid, 80 ml tetrahydrofuran og 4,85 g (0,0057 mol) [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-
 10 21-ol-21-(4-methylbenzensulfonat) opvarmes under tilbagesvaling (60°C) i 1 time og afkøles derefter til 0°C. Blandingen fortyndes med 200 ml ether, og der tilsættes 1,4 ml vand og 1,1 ml af en 10%'s natriumhydroxidopløsning. Blandingen omrøres 1 time og filtreres. Det
 15 faste stof rives med ether og filtreres. De kombinerede filtrater inddampes til tørhed og chromatograferes på silicagel. Herved fås [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en.

$$[\alpha]_D^{20} = +7^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

e) 2) I en reaktionsvariant omrøres en blanding af 0,206 g (0,00025
 20 mol) [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluor-21-iodcholest-5-en, 0,087 g (0,00030 mol) tri-n-butyltinhydrid og 3 ml tetrahydrofuran i 18 timer under argon ved 25°C. Blandingen inddampes til tørhed, og remanensen oprenses chromatografisk på silicagel. Herved fås [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis-[(tetra-
 25 hydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en.

$$[\alpha]_D^{21} = +7^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

f) En blanding af 3,56 g (0,0053 mol) [1 α ,3 β ,24R]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en, 140 ml methanol og 0,58 g p-toluensulfonsyremonohydrat omrøres i 3 timer
 30 ved 25°C. Blandingen tilsættes 1 g natriumbicarbonat. Efter omrøring i 1/2 time inddampes blandingen til tørhed. Remanensen rives med ethylacetat, filtreres og inddampes til tørhed. Det rå faste stof om-

krystalliseres af ethylacetat. Herved fås $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol, smeltepunkt 156-158°C.

$$[\alpha]_D^{21} = +4^\circ \text{ (c = 0,5 i MeOH)}.$$

- g) En blanding af 1,53 g (0,0035 mol) $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol, 13 ml pyridin og 6 ml eddikesyreanhydrid omrøres i 1 time ved 0°C og 17 timer ved 25°C. Blandingen fortyndes med 20 ml methanol ved 0°C og indampes til tørhed. Residualen opløses i methylenchlorid. Opløsningen vaskes med 10% vandig svovlsyre og mættet natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og indampes til tørhed. Herved fås $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat.

$$[\alpha]_D^{23} = -7^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

- h) En blanding af 0,520 g (0,0010 mol) $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat, 0,45 g natriumbicarbonat, 0,192 g (0,00066 mol) 1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoin og 25 ml hexan opvarmes til tilbagesvaling (80°C) i 1 time og afkøles derefter. Blandingen filtreres, og det faste stof rives med hexan og filtreres. Filtraterne indampes til tørhed, og der fås $[1\alpha,3\beta,7,24R]$ -7-brom-24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat.

- i) En blanding af 0,605 g (0,001 mol) $[1\alpha,3\beta,7,24R]$ -7-brom-24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat, 0,6 ml s-collidin og 18 ml xylen opvarmes til tilbagesvaling (140°C) i 1/2 time og afkøles derefter. Blandingen fortyndes med 30 ml toluen. Opløsningen vaskes med 10% svovlsyre og mættet natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og indampes til tørhed. Residualen oprenses ved søjlechromatografi på silicagel, hvorved fås $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholesta-5,7-dien-1,3,25-triol-1,3-diacetat.

$$[\alpha]_D^{23} = -21^\circ \text{ (c = 0,5 i CHCl}_3\text{)}.$$

- j) En blanding af 0,258 g (0,0005 mol) $[1\alpha,3\beta,24R]$ -24-fluorcholesta-5,7-dien-1,3,25-triol-1,3-diacetat i 40 ml hexan og 10 ml tetrahydrofu-

ran bestråles under argon og ved -5°C med en 450 W Hanovia-højtrykskviksløvs-lampe med Vycorglas-kølefingere. Opløsningen indampes til tørhed, og remanensen oprenses ved væskechromatografi på silica-gel med en 4:1 n-hexan/ethylacetatblanding som elueringsmiddel.

- 5 Herved fås $[1\alpha,3\beta,6Z,24R]$ -24-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol-1,3-diacetat.

- k) En opløsning af 0,125 g (0,00024 mol) $[1\alpha,3\beta,6Z,24R]$ -24-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol-1,3-diacetat og 15 ml 1% kaliumhydroxid i methanol omrøres i 4 timer ved 0°C . Blandingen
10 neutraliseres til en pH-værdi på 7,5 med iseddike i methanol. Opløsningen indampes til tørhed ved 0°C . Remanensen deles mellem ethylacetat og vand. Den organiske fase vaskes med mættet kogsaltopløsning og tørres. Blandingen filtreres og indampes til tørhed. Herved
15 fås $[1\alpha,3\beta,6Z,24R]$ -24-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol.

C. Mellemproduktet 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-1-iod-4-methylpentan kan fremstilles på følgende måde:

- a) En opløsning af 16,5 g (0,102 mol) diethylaminosvovltrifluorid i 20 ml methylenchlorid tilsættes dråbevis 3,5 g (0,034 mol) (-)-2S-hydroxy-4-butyrolacton i 30 ml methylenchlorid ved -70°C . Blandingen
20 omrøres 1 time ved -70°C og opvarmes til 25°C over en periode på 1 time under omrøring. Blandingen hældes ud i en mættet natriumbicarbonatopløsning ved 0°C . Produktet ekstraheres med methylenchlorid. Den organiske fase tørres, filtreres og indampes til tørhed.
25 Remanensen oprenses ved søjlechromatografi på silicagel, hvorved fås 2R-fluor-4-butyrolacton.

$$[\alpha]_D^{22} = +50^{\circ} \text{ (c = 1,0 i } \text{CHCl}_3\text{)}.$$

- b) En opløsning af 16,8 ml 1,5M ætherisk methyllithium (0,025 mol) tildryppes ved 0°C 1,05 g (0,010 mol) 2R-fluor-4-butyrolacton i 35 ml
30 ether. Remanensen omrøres 1 time ved 0°C og 1 time ved 25°C . Blandingen tilsættes 2 ml mættet kogsaltopløsning ved 0°C . Blandingen hældes ud i mættet kogsaltopløsning, og produktet ekstraheres med

ether. Etherfasen tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås 4-methyl-3R-fluor-1,4-pentandiol.

$$[\alpha]_D^{22} = +39^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

- 5 c) En blanding af 0,540 g (0,0040 mol) 4-methyl-3R-fluor-1,4-pentandiol og 3 ml pyridin tilsættes ved 0°C 2 ml eddikesyreanhydrid, og blandingen omrøres i 1 time ved 0°C og 1 time ved 25°C. Blandingen tilsættes 10 ml methanol, og opløsningen inddampes til tørhed. Herved fås 4-methyl-3R-fluor-1,4-pentandiol-1-acetat.

$$[\alpha]_D^{22} = +49^\circ \text{ (c = 0,5 i CHCl}_3\text{)}.$$

- 10 d) En blanding af 2,48 g (0,014 mol) 4-methyl-3R-fluor-1,4-pentandiol-1-acetat, 65 ml ethylvinylether og 0,25 g p-toluensulfonsyremonohydrat omrøres 1 time ved -70°C. Blandingen tilsættes 8 ml triethylamin og inddampes derefter til tørhed. Remanensen tages op i ether. Opløsningen vaskes successivt med mættet natriumbicarbonatopløsning
15 og mættet kogsaltopløsning. Etherfasen tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås en olie, der indeholder 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-acetat.

- e) En blanding af 0,79 g (0,021 mol) lithiumaluminiumhydrid i 40 ml ether tilsættes dråbevis ved 0°C 3,48 g (0,014 mol) 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-acetat i 100 ml ether. Blandingen
20 opvarmes 3 timer under tilbagesvaling og afkøles derefter til 0°C. Blandingen tilsættes dråbevis først 1,5 ml vand og derefter 1,2 ml 10% natriumhydroxidopløsning. Blandingen omrøres 1/2 time ved 25°C og filtreres. Det faste stof rives med ether og filtreres. Efter afdampning af opløsningsmidlet og søjlechromatografi af remanensen på silicagel
25 fås 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol.

$$[\alpha]_D^{24} = +18^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

- f) En blanding af 3,34 g (0,016 mol) 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol, 12 ml pyridin og 4,67 g (0,024 mol) p-toluensulfonylchlorid omrøres i 18 timer ved 0°C. Blandingen tilsættes is.
30

Blandingen hældes derefter ud i vand og ekstraheres med methylenchlorid. Den organiske fase vaskes successivt med 10% svovlsyre og mættet natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-(4-methylbenzensulfonat) i form af en olie.

g) En blanding af 5,42 g (0,015 mol) 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-(4-methylbenzensulfonat), 70 ml acetone, 1 ml diisopropylethylamin og 30,3 g (0,202 mol) natriumiodid omrøres i 18 timer ved 25°C. Blandingen inddampes til tørhed. Remanensen deles mellem en 5% natriumsulfitopløsning og methylenchlorid. Den organiske fase vaskes med mættet natriumbicarbonatopløsning, tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås 4-(1-ethoxyethoxy)-3R-fluor-1-iod-4-methylpentan.

$$[\alpha]_D^{24} = +43^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

D. Mellemproduktet, [1 α ,3 β]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-pregn-5-en-21-carboxylsyreethylester kan fremstilles på følgende måde:

a) En blanding af 0,91 g (0,0030 mol) 1 α ,3 β -dihydroxyandrost-5-en-17-on, 15 ml tetrahydrofuran, 1,26 g (0,015 mol) 3,4-dihydro-2H-pyran og 0,028 g p-toluensulfonsyremonohydrat omrøres i 18 timer ved 25°C. Blandingen fortyndes med methylenchlorid. Opløsningen vaskes derefter med mættet natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Herved fås [1 α ,3 β]-1,3-bis-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]androst-5-en-17-on.

$$[\alpha]_D^{20} = +34,3^\circ \text{ (c = 1,0 i CHCl}_3\text{)}.$$

b) En blanding af 1,00 g (0,0021 mol) [1 α ,3 β]-1,3-bis-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]androst-5-en-17-on, 1,94 g (0,0087 mol) triethylphosphonacetat og 14 ml ethanol tilsættes 0,68 g (0,010 mol) natriumethoxid i 7 ml ethanol. Blandingen omrøres under tilbagesvaling i 18 timer og afkøles derefter. Blandingen koncentrerer under reduceret tryk og deles derefter mellem vand og ether. Den organiske fase

vaskes med mættet kogsaltopløsning. Den organiske fase tørres, filtreres og inddampes til tørhed. Remanensen chromatograferes på silicagel. Herved fås $[1\alpha,3\beta,17(20)E]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]\text{pregna-5,17(20)dien-21-carboxylsyreethylester}$.

5 $[\alpha]_D^{20} = -8^\circ$ ($c = 1,0$ i CHCl_3).

c) En blanding af 0,32 g (0,00059 mol) $[1\alpha,3\beta,17(20)E]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]\text{pregna-5,17(20)dien-21-carboxylsyreethylester}$, 0,10 g plantinoxid og 20 ml ethanol omrøres i 2 timer under hydrogen ved 1 atmosfære. Blandingen filtreres gennem diatoméjord.

- 10 Det faste stof vaskes med methanol. De kombinerede filtrater inddampes til tørhed. Herved fås $[1\alpha,3\beta]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]\text{pregn-5-en-21-carboxylsyreethylester}$.

$[\alpha]_D^{23} = -13^\circ$ ($c = 1,0$ i CHCl_3).

EKSEMPEL 2

- 15 A. På en måde analog med den i eksempel 1 A beskrevne omdannes $[1\alpha,3\beta,6Z,24S]-24\text{-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol}$ til $[1\alpha,3\beta,5Z,7E,24S]-24\text{-fluor-9,10-secocholesta-5,7,10(19)trien-1,3,25-triol}$ ($1\alpha,25\text{-dihydroxy-24S-fluorcholecalciferol}$).

20 $[\alpha]_D^{23} = +45^\circ$ ($c = 1,0$ i CH_3OH).

B. Udgangssecocholestanforbindelsen kan analogt med eksempel 1B fremstilles ud fra

$[1\alpha,3\beta]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]\text{pregn-5-en-21-carboxylsyreethylester}$ via de følgende mellemprodukter:

- 25 $[1\alpha,3\beta,24S]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]-25\text{-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-carboxylsyreethylester}$ og $[1\alpha,3\beta,24S]-1,3\text{-bis}[(\text{tetrahydro-2H-pyran-2-yl})\text{oxy}]-25\text{-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol}$,

- [1 α ,3 β ,24S]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en-21-ol-21-(4-methylbenzensulfonat),
 [1 α ,3 β ,24S]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluor-21-iodcholest-5-en,
 5 [1 α ,3 β ,24S]-1,3-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-25-(1-ethoxyethoxy)-24-fluorcholest-5-en,
 [1 α ,3 β ,24S]-24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol,
 [1 α ,3 β ,24S]-24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat,
 [1 α ,3 β ,7,24S]-7-brom-24-fluorcholest-5-en-1,3,25-triol-1,3-diacetat,
 10 [1 α ,3 β ,24S]-24-fluorcholesta-5,7-dien-1,3,25-triol-1,3-diacetat og
 [1 α ,3 β ,6Z,24S]-24-fluor-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-1,3,25-triol-1,3-diacetat.

C. Mellemproduktet 4-(1-ethoxyethoxy)-3S-fluor-1-iod-4-methylpentan
 $[\alpha]_D^{22} = -38^\circ$ (c = 1,0 i CHCl₃)

- 15 kan analogt med eksempel 1C fremstilles ud fra (+)-2R-hydroxy-4-butyrolacton via de følgende mellemprodukter:

2S-fluor-4-butyrolacton, $[\alpha]_D^{23} = -51^\circ$ (c = 0,9 i CHCl₃).

4-methyl-3S-fluor-1,4-pentandiol $[\alpha]_D^{22} = -40^\circ$ (c = 1,0 i CHCl₃)

4-methyl-3S-fluor-1,4-pentandiol-1-acetat, $[\alpha]_D^{22} = -49^\circ$ (c = 0,5 i
 20 CHCl₃)

4-(1-ethoxyethoxy)-3S-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-acetat

4-(1-ethoxyethoxy)-3S-fluor-4-methyl-1-pentanol, $[\alpha]_D^{22} = -16^\circ$ (c = 1,0 i CHCl₃) og

- 25 4-(1-ethoxyethoxy)-3S-fluor-4-methyl-1-pentanol-1-(4-methylbenzen-sulfonat).

EKSEMPEL 3

Der fremstilles kapsler ved opløsning af bestanddelene 1, 3 og 4 i bestanddel 2 under kvælstof og påfyldning i kapsler.

<u>Bestanddele</u>		<u>mg/kapsel</u>			
5	1. 1 α ,25-Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol	0,00010	0,00025	0,00050	0,00100
	2. Polyethylenglycol	200,00	200,00	200,00	200,00
	3. Butyleret hydroxy-anisol	0,100	0,100	0,100	0,100
	4. Ascorbylpalmitat	1,00	1,00	1,00	1,00

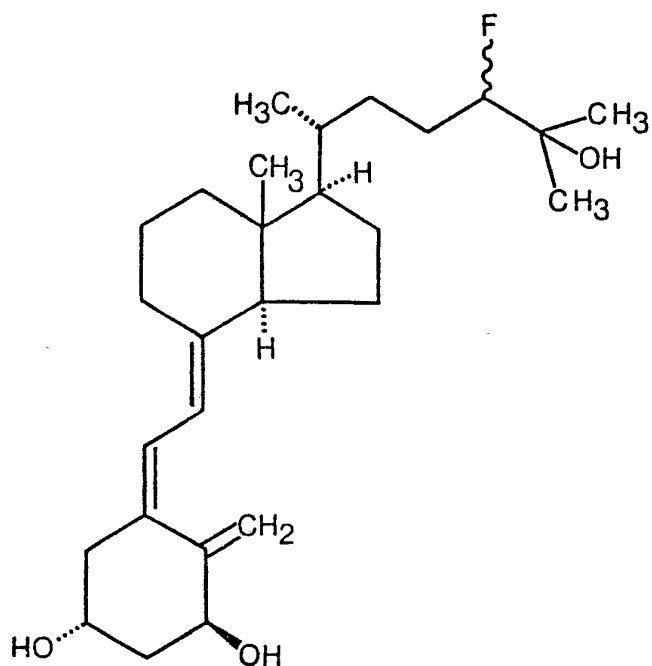
10 EKSEMPEL 4

Der fremstilles en opløsning til intramuskulær injektion ved opløsning af bestanddelene 1 og 2 under kvælstof.

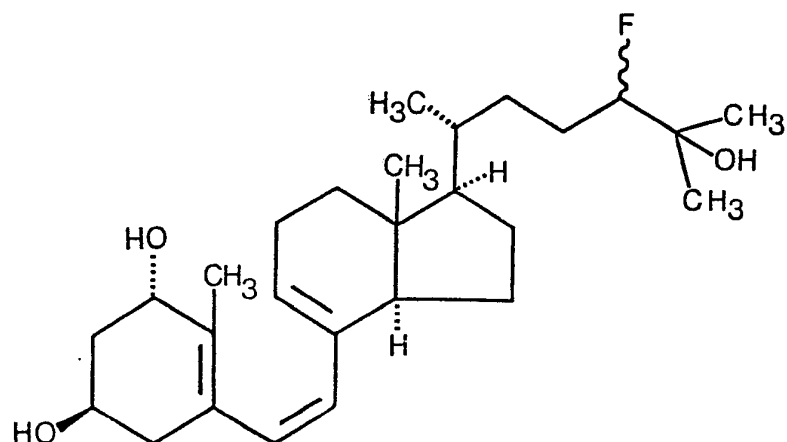
15	1. 1 α ,25-Dihydroxy-24R-fluorcholecalciferol	0,10 mg	0,50 mg	1,00 mg
	2. 95% Ethanol - 5% vand	2,00 ml	3,00 ml	3,00 ml

PATENTKRAV

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af et cholecalciferolderivat med den almene formel I



- 5 hvor F-atomet er α - eller β -stillet,
k e n d e t e g n e t ved, at der foretages termisk isomerisering af
et præcholecalciferolderivat med den almene formel II-A



2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at der fremstilles $1\alpha,25$ -dihydroxy-(24R
eller 24S)fluorcholecalciferol.