

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

121569

Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 04.04.79 (P. 222926)

Pierwszeństwo: 05.04.78 Stany Zjednoczone
Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 02.01.81

Opis patentowy opublikowano: 10.01.1984

Int. Cl.³ C07J 31/00

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu: Syntex (U.S.A.) Inc., Palo Alto (Stany Zjednoczone Ameryki)

Sposób wytwarzania nowych estrów kwasu 4-chlorowco-3-ketoandrosteno-4-karbotiolowego-17 β

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych estrów kwasu 4-chlorowco-3-ketoandrosteno-4-karbotiolowego-17 β o wzorze 1, w którym X¹ oznacza atom fluoru lub chloru, X² oznacza atom fluoru, chloru lub wodoru, R oznacza grupę alkilową o 1–6 atomach węgla, R¹ oznacza grupę alkanoilową o 2–6 atomach węgla gdy R² oznacza grupę metylową w położeniu α lub β , względnie podstawniki OR¹ i R² tworzą wspólnie grupę izopropylidenodwuoksy, a linia ciągła i linia przerywana między atomami węgla w pozycjach 1 i 2 oznaczają, że między tymi atomami znajduje się wiązanie pojedyncze lub podwójne.

Związki o wzorze 1 mają właściwości przeciwzapalne i mogą stanowić substancje czynne leków nadających się do podawania ssakom.

Znane są kwasy 3-ketoandrosteno-4-karboksylowe-17 β , które w pozycji 9 podstawione są atomem chloru lub fluoru, a w pozycji 11 grupą ketonową, hydroksylową lub atomem chloru (patrz np. opis patentowy Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 3823080). Wiadomo ponadto, że kwasy 3-ketoandrosteno-4-karboksylowego-17 β mogą być podstawione atomem fluoru zarówno w pozycji 9a, jak i 6a, (patrz nr. opisy patentowe Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 3636010 i 4093721).

Z opisu patentowego St. Zjedn. Am. nr 3989686 wiadomo również, że steroidy o wzorze 3, w któ-

2

rym R¹ oznacza atom wodoru lub grupę metylową, R² oznacza atom wodoru lub grupę metylową, R³ oznacza atom wodoru lub gdy R² oznacza atom wodoru, R³ oznacza grupę alkoksylową o 1–6 atomach węgla, grupę alkilową o 1–5 atomach węgla, grupę tiocyjanianową lub atom chlorowca, R⁴ oznacza atom wodoru lub grupę metylową, a R⁵ oznacza grupę alkilową o 1–6 atomach węgla, ewentualnie podstawioną atomem chlorowca lub grupą o wzorze NR⁶R⁷, w którym R⁶ i R⁷ są jednakowe lub różne i oznaczają grupy alkilowe o 1–6 atomach węgla, bądź też R⁶ i R⁷ razem z atomem azotu tworzą grupę morfolinową, tio-morfolinową lub morfolinową podstawioną grupą alkilową o 1–6 atomach węgla. Liniami przerywanymi w pierścieniu „A” zaznaczono położenie podwójnych wiązań. Związki takie są użytecznymi środkami znieczulającymi.

Do znanych związków należy również ester metylowy kwasu 3 β -acetoksyallotiolocholanowego oraz ester metylowy kwasu 3 β -acetoksyatiolocholanowego-5 (Helv. Chem. Acta, 29, 684–92, (1946)).

Zgodnie z wynalazkiem nowe związki o wzorze 1, wytwarza się poddając związek o wzorze 2, w którym X¹, X², R, R¹, R² i linia ciągła i przerywana mają wyżej podane znaczenie, reakcji z zasadą.

Jedną z grup związków wytwarzanych sposobem według wynalazku są związki o wzorze 1, w któ-

rym X^1 oznacza atom fluoru lub chloru, X^2 oznacza atom fluoru lub wodoru, R oznacza grupę alkilową o 1—6 atomach węgla, R^1 oznacza grupę alkanoilową o 2—6 atomach węgla w przypadku, gdy R^2 oznacza grupę metylową w położeniu α lub β , bądź też podstawniki OR^1 i R^2 tworzą razem grupę izopropylidenodwuoksy. Do tej grupy należą z kolei związki o wzorze 1, w którym R^2 oznacza grupę metylową w położeniu α lub β , X^1 oznacza atom fluoru, X^2 oznacza atom wodoru lub fluoru, a linia ciągła i przerywana oznacza podwójne wiązanie. Spośród tych związków korzystnymi są te związki o wzorze 1, w którym podstawniki X^1 i X^2 oznaczają atomy fluoru, R oznacza grupę metylową, zaś OR^1 oznacza ugrupowanie octanowe, lub propionianowe.

Inną podgrupę związków otrzymywanych sposobem, według wynalazku stanowią związki o wzorze 1, w którym R oznacza grupę alkilową o 1—6 atomach węgla, OR^1 i R^2 tworzą razem grupę 16 α , 17 α -izopropylidenodwuoksy, a X^1 oznacza atom fluoru, a X^2 oznacza atom wodoru lub fluoru. Do tej podgrupy należą również te związki o wzorze 1, w którym R oznacza grupę metylową lub etylową, korzystnie metylową. Wśród nich korzystnymi są te związki o wzorze 1, w którym X^1 i X^2 oznaczają atomy fluoru.

Termin „grupa alkilowa” stosowany w niniejszym opisie oznacza proste lub rozgałęzione grupy alkilowe, takie jak grupa metylowa, etylowa, n-propylowa, izopropylowa, n-butyłowa, izobutyłowa, III-rz.-butylowa, pentylowa, izopentylowa, n-heksylowa itd.

Termin „grupa alkanoilowa” oznacza grupę o wzorze $R^4-C=O$, w którym R^4 oznacza grupę alkilową o 1—5 atomach węgla, np. grupę acetylową, propionylową, butyrylową, walerylową, kaproilową, itd.

Gdy we wzorze 1 podstawniki X^1 i X^2 oznaczają atomy fluoru, R oznacza grupę metylową, R^1 oznacza grupę acetoksyłową, a R^2 oznacza grupę metylową w położeniu α , to wówczas związek taki będzie nosił nazwę ester metylowy kwasu 17 α -acetoksy-9 α -chloro-11 β -hydroksy-4,6 α -dwufluoro-16 α -metylo-3-ketoandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β . Jeśli natomiast R oznacza atom wodoru, a podstawniki X^1 , X^2 , R^1 i R^2 mają niezmiennione znaczenie, to wówczas związek taki nosi nazwę kwas 17 α -acetoksy-9 α -chloro-11 β -hydroksy-4,6 α -dwufluoro-16 α -metylo-3-ketoandrostadieno-1,4-karbotiolowy-17 β .

Reakcję związku o wzorze 2, z zasadą prowadzi się w odpowiednim rozpuszczalniku organicznym zawierającym grupy wodorotlenowe, takim jak alkohol, np. metanol. Odpowiednimi zasadami stosowanymi w sposobie według wynalazku są węglany metali alkalicznych, np. węglan potasowy. Reakcję prowadzi się w atmosferze gazu obojętnego, w temperaturze 0—50°C.

Pochodną dienową—1,4 o wzorze 1 można łatwo przeprowadzić w odpowiednią pochodną zawierającą podwójne wiązanie w pozycji 4, stosując znane metody, takie jak uwodornienie za pomocą etanolowego roztworu tris/trójfenylofosfino/chlororodu.

Związki o wzorze 2, są związkami nowymi. Otrzymuje się je ze związków o wzorze 4, podając te związki reakcji chlorowcowania przy użyciu środka fluorującego, takiego jak fluorek perchlorylu (ClO_3F) lub fluorek trójfluorometoksylowy (CF_3OF), bądź środka zawierającego dodatni jon chlorkowy, takiego jak N-chloroskukcynimid, dwuchlorohydanteina, itp. Otrzymuje się 3-keto-4 α -fluoro/chloro lub bromo-steroid o wzorze 2.

Związki o wzorze 1 są użytecznymi środkami stosowanymi do łagodzenia stanów zapalnych u ssaków, a ściślej biorąc są one środkami użytecznymi przy likwidowaniu objawów stanów zapalnych przy chorobach skórnych, poddających się leczeniu kortykosteroidami.

Wstępne badania aktywności przeciwzapalnej przeprowadzono w sposób podany przez S. W. McKenzie i R. B. Stoughtona w „Method for Comparing Percutaneous Absorption of Steroids”, Arch. Dermat., 86, 608 (1962) lub stosując modyfikację tej metody.

Ogólnie, stany zapalne u ssaków, zwłaszcza u ludzi, likwiduje się podając cierpiącym ssakom terapeutyczną ilość nowych steroidów o wzorze 1, to znaczy taką ilość, która powoduje poprawę stanu zdrowia. Na miejsca chore korzystnie jest stosować steroid w postaci odpowiednio przygotowanego preparatu farmakologicznego, co zostanie omówione w dalszej części opisu.

Efektywnie działająca ilość związku zależy od warunków i rodzaju osobnika poddanego leczeniu i wynosi od 0,001 do 10% wagowych, a korzystnie od 0,01 do 1% wagowego substancji czynnej w przeliczeniu na masę preparatu. Takie ilości związku są terapeutycznie skuteczne, nie dając jednocześnie skutków ubocznych, to znaczy są one wystarczające do zlikwidowania stanów zapalnych, lecz nie tak duże, aby wywołać u pacjenta niepożądane skutki.

Związki o wzorze 1 wykazują nie tylko działanie przeciwzapalne lecz charakteryzują się również niską aktywnością ogólnoustrojową, co stwierdzono w badaniach laboratoryjnych.

Dzięki temu możliwe jest stosowanie tych związków w ilościach działających skutecznie, bez obawy wywołania zbyt dużych efektów ubocznych na pozostałe części organizmu.

Z nowych steroidów o wzorze 1 można wytwarzać środki lecznicze o działaniu przeciwzapalnym, mieszając te związki z odpowiednimi znanymi związkami. Z reguły efektywna ilość steroidu wynosi od około 0,001 do około 10% wagowych. Pozostała część preparatu stanowi co najmniej jedna zaróbka w ilości od około 90 do około 99,999% wagowych, która może także zawierać farmaceutycznie dopuszczalny rozpuszczalnik, jak również inne farmaceutycznie dopuszczalne substancje dodatkowe.

Działanie związków o wzorze 1 badano w następujących próbach.

Próba, A. Dawka DL_{50} .

Sześciu myszom szczepu Swisa-Webster, każda o wadze około 25 g, zaszczepiono podskórnie roztwór estru metylowego kwasu 4,6 α ,9 α -trójfluoro-

-11 β -hydroksy-16 α -metylo-3-keto-17 α -a-propionyloksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β w karbometoksyelulozie o stężeniu 10 ml/kg. Stosowana dawka wynosiła 25 mg/kg lub około 0,625 mg w odniesieniu do jednej myszy. Przez okres 21 dni codziennie obserwowano śmiertelność wśród myszy. Nie stwierdzono żadnej nieżywej myszy. Dawka LD₅₀ wynosi zatem powyżej 25 mg/kg.

Próba B. Aktywność biologiczna — działanie przeciwzapalne.

Omówiono wyniki badań otrzymane po miejscowym zastosowaniu związku o wzorze 1 o działaniu przeciwzapalnym (ester kwasu 4,6 α , 9 α -trójfluoro-11 β -hydroksy-16 α -metylo-17 α -propionyloksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β) w porównaniu z acetonidem fluocinolonu. Skuteczność przeciwdziałania stanom zapalnym określano po miejscowym zastosowaniu każdego ze związków, stosując zmodyfikowaną próbę Stoughtona/McKenzie na zwężenie naczyń u ludzi, opisaną przez V. A. Place i innych w Arch. Dermat. 101, 531—537 (1970).

Ośmiu normalnym, dorosłym ludziom zastosowano miejscowo w 4 punktach na obydwu przedramionach alkoholowe roztwory każdego ze związków o stężeniach 1×10^{-5} i 1×10^{-6} g/ml, otrzymując w ten sposób ogółem 64 miejsca testowe dla każdego związku w poszczególnych seriach (32 miejsca dla każdego stężenia). Przy pomocy gumowej pieczętki powleczonej smarem silikonowym zaznaczono na przedramionach pacjentów siatkę obszarów badanych i na każdy kwadrat o wymiarach 57 $\times$ 7 mm nanoszono po 10 mikrolitrów każdego roztworu. Po wyschnięciu preparatów na miejsca te nałożono opatrunek o nazwie Saran, zalepiając jego brzegi taśmą. Po upływie 18 godzin opatrunek zdjęto.

Po upływie 24 godzin od zastosowania związków, dwóch niezależnych obserwatorów stwierdzało wizualnie obecność lub brak objawów zwężenia naczyń, wyrażając to liczbą miejsc wykazujących objawy (zwężenie naczyń) i podając w procentach ilość takich miejsc w stosunku do całkowitej ilości miejsc testowych.

Intensywność objawów oznaczano w skali 0, 1, 2 zgodnie z którą cyfra „2” oznacza najintensywniejszą reakcję. W sposób opisany we wspomnianym powyżej artykule Place'a i innych sporządzono na podstawie obu wyników wykresy we współrzędnych: ilość dozowana-reakcja.

Próba C. Próby czynnościowe grasicy.

Stosując ten sam związek przeprowadzono próby czynnościowe grasicy porównując wyniki ze wzorcem hydrokortyzonowym. Związek stosowano w postaci zawiesiny o co najmniej trzech stężeniach, stosując jako nośnik sodową pochodną karboksymetylocelulozy. Przez trzy kolejne dni zwierzętom wstrzykiwano podskórnie po 0,5 ml zawiesiny badanego związku. Po upływie 4 godzin od ostatniego szczepienia szczury uśmiercano, usuwano im gruczoły grasicy i ważono je. Na podstawie ciężaru gruczołów sporządzano w znany sposób wykres reakcji na zastosowaną dawkę w zależności od tej dawki. Badany związek nie wykazywał

żadnej aktywności w zakresie dawek hydrokortyzonu (stanowiącego wzorec) i na tej podstawie uznano go za związek nieaktywny (o sile działania mniejszej niż $2 \times$ hydrokortyzon).

Wyniki tych testów wskazują, że przy stosowaniu miejscowym badany związek charakteryzuje się dobrym działaniem przeciwzapalnym (0,15 aktywności acetonidu fluocinolonu), wykazując jednocześnie w próbach czynnościowych grasicy niewielką aktywność (mniej niż $2 \times$ hydrokortyzon).

Znany związek wykazuje zatem dobre właściwości terapeutyczne z uwagi na to, że pożądaną efektywność uzyskuje się bez niekorzystnych ogólnoustrojowych efektów ubocznych.

Podobne właściwości wykazują inne związki o wzorze 1.

Przykład. W naczyniu reakcyjnym umieszczono 600 mg kwasu 6 α , 9 α -dwufluoro-11 β -hydroksy-16 α -metylo-3-keto-17 β -propionyloksyandrostadieno-1,4-karboksylowego-17 β , 8 ml czterowodorofuranu i 0,2 ml trójetyloaminy i całość mieszano w temperaturze pokojowej w atmosferze azotu. W ciągu 13 minut do mieszaniny wprowadzano roztwór zawierający 0,24 g chlorofosforanu dwumetylu w 8 ml czterowodorofuranu. Mieszanie kontynuowano w ciągu około 6 godzin dodając 0,04 ml trójetyloaminy, a następnie 0,05 g chlorofosforanu dwumetylu w 3 ml czterowodorofuranu. Całość mieszano w ciągu około 18 godzin, po czym wytrącony osad odsączono i przemyto 10 ml czterowodorofuranu. Do mieszaniny dodano następnie 2,05 ml roztworu sporządzonego z 20 ml dwumetyloformamidu, 0,758 g 57% roztworu wodoru sodu i 0,86 g siarczku metylu. Całość mieszano w ciągu około 5,5 godzin dodając dodatkowo 1 ml siarczku metylu i mieszanie kontynuowano w ciągu 1,5 godziny.

Mieszaninę reakcyjną wlało do 200 ml octanu etylu, przemyto dwukrotnie 200 ml wody i jeden raz solanką, po czym wysuszono w ciągu nocy w wymrażarce nad siarczanem sodu. Ciało stałe odsączono, a rozpuszczalnik usunięto w wyparce obrotowej. Surowy produkt w ilości 0,235 g rekrystalizowano z mieszaniny acetonu z heksanem uzyskując 54,3 mg estru metylowego kwasu 6 α , 9 α -dwufluoro-11 β -hydroksy-16 α -metylo-3-keto-17 α -propionyloksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β o temperaturze topnienia 305—308°C.

6 g tak otrzymanego związku zmieszano z 72 ml ortomrówczanu metylu i 24 ml bezwodnego metanolu zawierającego 0,3 ml dymiącego kwasu siarkowego. Całość utrzymywano w temperaturze 50°C w ciągu 30 minut, po czym na podstawie chromatografii cienkowarstwowej (eluent — mieszanina 35% octanu etylu i 65% heksanu) stwierdzono, że reakcja przebiegała do końca. Do mieszaniny reakcyjnej dodano 10 ml trójetyloaminy i rozpuszczalniki odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszczono w 30 ml metanolu i powoli rozcieńczano wodą aż do wytrącenia osadu. Po rozcieńczeniu do objętości 2 litrów krystaliczny osad odsączono.

Mokry placek filtracyjny rozpuszczono w 300 ml acetonu i 30 ml wody i w ciągu 10 minut

przepuszczono powoli przez mieszaninę reakcyjną strumień C_{10}F . Na podstawie chromatografii cienkowarstwowej (eluent — mieszanina 35% octanu etylu i 65% heksanu) stwierdzono, że reakcja przebiegała do końca. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczono 100 ml wody, po czym aceton odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Ciekłą pozostałość rozcieńczono wodą do objętości 1 litra, w wyniku czego wytrącił się półkrystaliczny osad, który odsączono i rozpuszczono w dwuchlorometanie.

Warstwę wodną oddzielono, a roztwór w dwuchlorometanie wysuszono nad bezwodnym siarczaniem sodu i przesączono. Przesącz przemywano na warstwie 70 g żelu krzemionkowego, 100% - owym roztworem dwuchlorometanu. Po odebraniu dwuchlorometanu połączono frakcje eluatu zatężano do sucha, a pozostałość rozpuszczono w około 10 ml metanolu i powoli rozcieńczono wodą do objętości 2 litrów, w wyniku czego wytrącił się krystaliczny osad, który odsączono, przemyto wodą i wysuszono na łaźni parowej, uzyskując ester metylowy kwasu 4 α , 6,9 α -trójfluoro-11 β -hydroksy-16 α -metylo-3-keto-17 α -propionyloksyandrostadieno-1,5-karbotiolowego-17 β o temperaturze topnienia 198—199,5° i $[\alpha]_D = 39^\circ$ (chloroform).

W odpowiednim naczyniu reakcyjnym umieszczono 1 g powstałego związku i 25 ml metanolu zawierającego 200 mg bezwodnego węglanu potasu. Całość mieszano w ciągu 2 godzin w temperaturze pokojowej w atmosferze azotu, po czym na podstawie chromatografii cienkowarstwowej stwierdzono, że reakcja przebiegała do końca. Do mieszaniny reakcyjnej dodano 1 ml kwasu octowego i metanol usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałą niewielką ilość cieczy rozcieńczono wodą do objętości 0,5 litra. Otrzymany krystaliczny osad odsączono i wysuszono uzyskując 960 mg związku,

który rekrytalizowano z mieszaniny chlorku metylenu z metanolem.

Po usunięciu rozpuszczalników uzyskano 560 mg estru metylowego kwasu 4,6 α , 9 α -trójfluoro-11 β -hydroksy-16 α -metylo-3-keto-17 α -propionyloksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β o temperaturze topnienia 287,5—290°C.

Analogicznie można otrzymywać inne związki o wzorze 1, takie jak ester metylowy kwasu 4,6 α , dwufluoro-11 β -hydroksy-16 β -metylo-3-keto-17 α -acetoksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β , o temperaturze topnienia 265—266°C, ester n-heksylowy kwasu 4,6 α , 9 α -trójfluoro-11 β -hydroksy-16 α , 17 α -izopropylidenodwuoksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β o temperaturze topnienia 270—272°C oraz ester metylowy kwasu 4,6 α , 9 α -trójfluoro-11 β -hydroksy-16 α , 17 α -izopropylodendwuoksyandrostadieno-1,4-karbotiolowego-17 β o temperaturze topnienia 284—287°C.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania nowych estrów kwasu 4-chlorowco-3-keto-androstano-4-karbotiolowego-17 β o wzorze 1, w którym X¹ oznacza atom fluoru lub chloru, X² oznacza atom fluoru, chloru lub wodoru, R oznacza grupę alkilową o 1—6 atomach węgla, R¹ oznacza grupę alkanoilową o 2—6 atomach węgla gdy R² oznacza grupę metylową w położeniu α lub β , względnie podstawniki OR¹ i R² tworzą wspólnie grupę izopropylidenodwuoksy, a linia ciągła i linia przerywana między atomami węgla w pozycjach 1 i 2 oznaczają, że między tymi atomami znajduje się wiązanie pojedyncze lub podwójne, **znamienny tym**, że związek o wzorze 2, w którym X¹, X², R, R¹, R² i linia ciągła i przerywana mają wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z zasadą.

