



(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

84834

C (45) Patentti myönnetty
Patent mottolant 27 01 1988

(51) Kv.1k.5 - Int.c1.5

C 07J 1/00, 41/00

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	860815
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	25.02.86
(24) Alkupäivä - Löpdag	27.06.84
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	25.02.86
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.10.91
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	SU84/00033

(71) Hakija - Sökande

1. Vsesojuzny Onkologicheskyy Nauchny Tsentr Akademii Meditsinskikh Nauk SSSR, Kashirskoe shosse 24, Moskva, USSR, (SU)
2. Kharkovsky Nauchno-Issledovatel'sky Institut Endokrinologii i Khimii Gormonov, ulitsa Artema, 10, Kharkov, USSR, (SU)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Sofiina, Zoya Petrovna, Kashirskoe shosse, 28, korpus 1, kv. 9, Moskva, USSR, (SU)
2. Larionov, Leonid Fedorovich, USSR, (SU)
3. Lagova, Nina Dmitrievna, Kashirskoe shosse, 60, korpus 2, kv. 25, Moskva, USSR, (SU)
4. Platonova, Galina Nikolaevna, ulitsa Akademika Pavlova, 48, kv. 9, Moskva, USSR, (SU)
5. Valueva, Irina Mikhailovna, Kashirskoe shosse, 28, korpus 2, kv. 55, Moskva, USSR, (SU)
6. Kurdjumova, Kira Nikolaevna, Volokolamskoe shosse, 80, kv. 34, Moskva, USSR, (SU)
7. Shkodinskaya, Elizaveta Nikolaevna, Kashirskoe shosse, 28, korpus 1, kv. 40, Moskva, USSR, (SU)
8. Sushinina, Ljudmila Pavlovna, ulitsa Matveevskaya, 10, korpus 4, kv. 124, Moskva, USSR, (SU)
9. Volovelsky, Lev Natanovich, ulitsa 2-i Pyatiletki, 2a, kv. 13, Kharkov, USSR, (SU)
10. Kuznetsova, Irina Mikhailovna, Orekhovy proezd, 15, kv. 257, Moskva, USSR, (SU)
11. Degtyar, Vladislav Grigorievich, ulitsa Pivchenkova, 1, korpus 3, kv. 113, Moskva, USSR, (SU)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

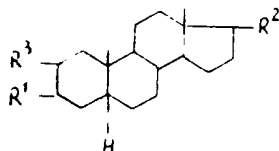
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten androstaanisarjan steroidijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara steroidderivat av androstanserien

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI C 57114 (C 07J 41/00)

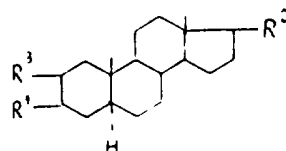
(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Androstaanisarjan steroidijohdannaisia käsit-
tään yhdisteet, joilla on yleinen kaava:



jossa R¹ on -OCOCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂; -OH;
-O-; R² on -OCO(CH₂)_nC₆H₄N(CH₂CH₂X)₂, jossa
n on 1,3; X on Cl, Br, J; -OH; -O-;
-OCOCHCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂;
NHCOCH₃
R³ on -CH₃; -H.

Steroidderivaten i androstanserien utgöres av
föreningar med den allmänna formeln:



där R¹ är -OCOCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂; -OH;
-O-; R² är -OCO(CH₂)_nC₆H₄N(CH₂CH₂X)₂, där n
är 1,3; X är Cl, Br, J; -OH; -O-;
-OCOCHCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂;
NHCOCH₃
R³ är -CH₃; -H.

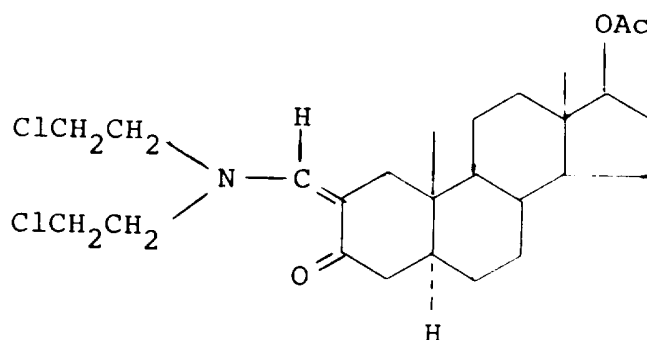
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten androstaanisarjan steroidijohdannaisten valmistamiseksi

Keksinnön ala

5 Esillä oleva keksintö koskee bio-orgaanista kemiaa ja tarkemmin määriteltynä androstaanisarjan uusien steroidijohdannaisten (hormonisytostaattisten aineiden) valmistusta, joilla on sekä kasvaimia torjuvaa että hormonaalista aktiviteettia ja jotka ovat käyttökelpoisia lääketieteessä syövän hoitoon ja hedelmöitystä ehkäisevinä aineina.

Keksinnön tausta

Tällä alalla tunnetaan eräs androstaanisarjan steroidijohdannainen 2[bis(2-kloorietyyli)aminometyleen]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni-17 β -asetaatti (katso: S. Burstein, H. Ringold, J. Org. Chem., 26, s 3085, 1961)



jossa alkyloiva ryhmä on kiinnittynyt hormonin molekyyliin, jolla on androgeenisia ominaisuuksia. On todettu, että tämä yhdiste ei ole myrkyllinen tutkittuna hiirillä 6 päivää kestäneen lääkkeenannon jälkeen annosten ollessa 500 mg/kg päivää kohti. Sen kasvaimia torjuvaa vaikutusta ei ole tähän asti selostettu.

Tällä alalla tunnetaan joukko androstaanisarjan steroidijohdannaisia, jotka osoittavat kasvaimia torjuvaa ja hormonaalista aktiviteettia. Näistä johdannaisista voi-

daan mainita esimerkkeinä p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylitietikkahapon (kloorifenasyyli) ja steroidi-alkoholien esterit - dehydroepiandrosteroni ja testosteroni. Nämä yhdisteet vaikuttavat kasvaimiin, jotka ovat erittäin herkkiä alkylointiaineille (Walker'in karsinosarkooma Ca-755 hiirillä) sekä eräisiin rintasyöpiin hiirillä ja rotilla (HK, R-13762), jotka syöpäkasvaimet eivät ole oleellisesti herkkiä alkylointiaineille. Nämä yhdisteet ovat vähemmän myrkyllisiä kuin niihin sisältyvä kloorifenasyyli. Vaikkakin kloorifenasyylin optimaaliset terapeutiset annokset ovat 1-1,5 mg/kg hiirille 5-10 päivän pituisen lääkkeenantoajan, annetaan dehydroepiandrosteronin johdannaisista (DEA-sinappi) 15-20 mg/kg suuruisina annoksina samanpituisen lääkityksajan. Yhdiste vaikuttaa kuitenkin myrkyllisesti vaikutusta organismiin, mikä ilmenee neurotoksiteettina, veren imusoluniukkuutena ja kuolioiden aiheina maksassa ja munuaisissa (katso: Soph'ina Z.P., Lagova N.D., Valueva I.M., Kuz'mina Z.V., Shkodinskaya E.N., Khaletsky A.M. Proceedins of the Ist All-Union Conference on Chemiotherapy of Malignant Tumors, Riika, 1968, s 441-443; M. Wall, G. Abernethy, F. Carrol, D. Taylor, J. Med. Chem., 1969, 12, 5, s 810-818; U. Schaeppi, J. Heyman, R. Fleishman, H. Rozenkrants, V. Glievski, R. Phelan, D. Cooney, R. Davis, Canc. Chem. rep., 1973, 3, 41 s 85-95; Lagova N.D. kirjassa: "Urgent Problems of the Experimental Chemiotherapy of Tumors", Chernogolovka, 1980, vol. I, sivut 222-225).

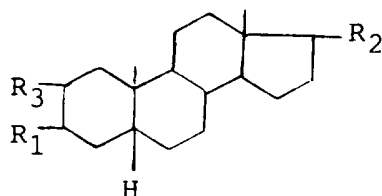
Keksinnön kuvatus

Esillä olevan keksinnön tarkoituksena oli aikaansaada uusia androstaanisarjan steroidijohdannaisia, joilla on kasvaimen vastainen ja hormonaalinen aktiviteetti, joka erityisesti keskittyy kohteena oleviin kudoksiin ja näissä kudoksissa alkunsa saaviin kasvaimiin.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetut androstaanisarjan steroidijohdannaiset ovat uusia ja tähänastisessa kirjallisuudessa tuntemattomia.

Keksinnön kohteena on uusien steroidijohdannaisten valmistus, joiden yleinen kaava on

5



10 jossa R₁ on -OCOCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂; - OH, =O;

R₂ on -OCO(CH₂)_nC₆H₄N(CH₂CH₂X)₂,

jossa n on 1,3; X = Cl, Br, J;

-OH; -OCOCHCH₂C₆H₄N(CH₂CH₂Cl)₂;

NHCOCH₃

15

R₃ = -CH₃; -H, sillä edellytyksellä, että R₁ ja R₂ eivät voi samanaikaisesti tarkoittaa hydroksiryhmää ja R₁ ei voi olla oksoryhmä kun R₂ on hydroksiryhmä.

20

Esillä olevan keksinnön mukaiset androstaanisarjan steroidijohdannaiset (hormonisyntetisatit) käsittävät steroideina testosteronin metaboliitteja tai niiden synteettisiä analogeja ja ovat 5α-androstaenin estereitä, jotka on substituoitu 2-, 3- ja 17-asemassa.

25

Keksinnön mukaiset yhdisteet käsittävät amorfisia tai hienokiteisiä jauhemaisia aineita, jotka ovat väriltään valkoisia tai keltaiseen vivahtavan valkoisia, ja liukoisia orgaanisiin liuottimiin. Yhdisteet ovat stabiileja varastoitaessa niitä pitkän ajan pimeässä lämpötilassa, joka on välillä +5 ja 0°C; valossa ne saavat keltaisen värin.

30

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat seuraavat:

17β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (I);

35

17β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylibutyraatti]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (II);

17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenylyli-N-asetyyli]alanyyli]-
5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (III);

17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenylyli-N-asetyyli]alanyyli]-
2 α -metyyli-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (IV);

5 3 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenylyiasetaatti]-5 α -androst-
andioli-3 β ,17 β (V);

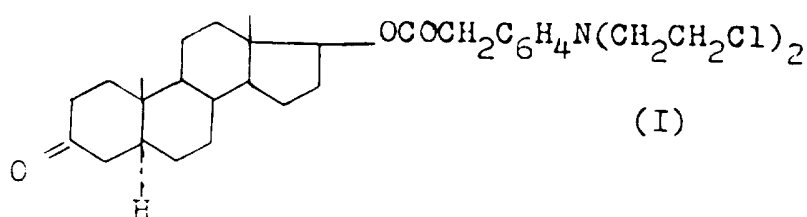
17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenylyiasetaatti]-5 α -andros-
tandioli-3 β ,17 β (VI);

10 17 β -[p-di(2-bromietyyli)aminofenylyiasetaatti]-5 α -andros-
tan-17 β -oli-3-oni (VII);

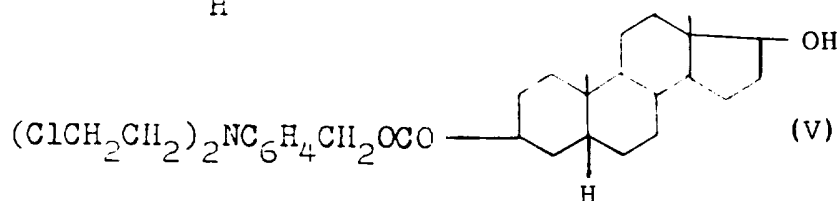
17 β -[p-di(2-jodietyyli)-aminofenylyiasetaatti]-5 α -andros-
tan-17 β -oli-3-oni (VIII).

On suositeltavaa käyttää seuraavia androstaani-
sarjan steroidijohdannaisia:

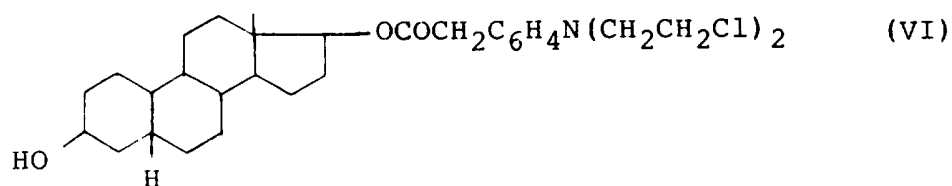
15



20



25



30

Paras tapa keksinnön suorittamiseksi

Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet osoitta-
vat huomattavaa kasvaimia torjuvaa ja hormonaalista (sekä
androgenistä että anabolista) aktiviteettia, jonka luonne
on riippuvainen näiden yhdisteiden molekyylin hormoniosan

35

rakenteesta samoin kuin alkyloivan ryhmän rakenteesta ja sen kiinnittymiskohdasta steroidiin.

5 Esillä olevan keksinnön mukaisilla yhdisteillä on eräänä etuna se, että niiden vaikutus keskittyy kohteena oleviin kudoksiin ja niihin muodostuneisiin kasvaimiin, mikä antaa niiden kasvaimia torjuvan vaikutuksen vaikutus-
10 spektrille erityisiä piirteitä verrattuna tunnettuihin hormonisytostaatteihin. Esillä olevan keksinnön mukaisten hormonisytostaattien parenteraalinen (hypodermaalinen) lääkkeenantotapa takaa vähäisemmän myrkyllisyyden ja yhdisteiden biologisen vaikutuksen suuremman orientoitumisen verrattuna suun kautta tapahtuvaan lääkkeenantotapaan, koska tuloksena ei ole molekyylin hajoaminen hormonaaliin ja erittäin myrkyllisiin alkylointiosiin.

15 Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden kasvaimia torjuvaa aktiviteettia on tutkittu lukuisiin kudoksen siirroilla aiheutettujen kiinteiden kasvaimien ja leukoosien kantoihin hiirillä ja rotilla: nisän adenokarsinooma Ca-755, Lewis'in keuhkon adenokarsinooma (LL, kohdunkaulakarsinooma SC-5, Walker'in karsinosarkooma W-256,
20 munasarjakasvain OT ja lymfaattinen leukoosi L 1210.

Vertailun vuoksi on tutkittu esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden rinnalla seuraavia aineita: dihydrotestosteroni (5 α -androstan-17 β -oli-3-oni), dehydroepiandrosteroni ja kloorifenasyyli tai sarkolysiinivalmiste (β -[p-di-(2-kloorietyyli)aminofenyyl]- α -alaniinihydrokloridi), jotka sisältyvät useimpien esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden molekyyliin, samoin kuin tunnetut hormonisytostaatit: dehydroepiandrosteronin esteri kloorifenasyylin kanssa (DEA-sinappi) sekä estrasyytti-
25 valmiste (estra-1,3,5(10)-trieeni-3,17 β -dioli, 3N-[bis-(2-kloorietyyli)]karbamaatti-17-natriumfosfaatti).
30

Yhdisteitä annettiin eläimille hypodermisesti öljyssä, annoksina, jotka oli laskettu mg:oissa kiloa kohti
35 kehonpainoa, 5-10 päivän ajan aikavälein, jotka oli sovi-

tettu kyseisten kasvainten tutkimusta silmälläpitäen (24 tai 28 tuntia kasvaimen kudoksensiirron jälkeen). Estrasyöttiä annettiin suunnilleen samalla tavalla NaCl:n 0,9-%:isessa liuoksessa.

5 Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden vaikutuksen suuntautuvuuden tutkimiseksi käytettiin spontaanisesti aiheutuneita ja/tai syöpätartunnan aiheuttamia kasvaimia hiirissä ja rotissa, jotka kasvaimet olivat saaneet alkunsa kohteena olevissa kudoksissa. Näissä tapauksissa käsittely aloitettiin sen jälkeen kun kasvaimet olivat saavuttaneet määrätyn koon, jolloin kasvainten spontaanisen taantumisen mahdollisuus on poissuljettu.

10 Kasvaimia torjuvan aktiviteetin kriteerit olivat seuraavat: eläimen elinajan piteneminen (EAL, %) ja kiinteiden kasvainten kasvun estyminen (GIT, %).

$$\text{EAL \%} = \frac{T-C}{C} \cdot 100$$

20 jossa T on käsiteltyjen eläimien keskimääräinen elinaika;
C - kontrollieläinten keskimääräinen elinaika;

$$\text{GIT \%} = \frac{K-O}{K} \cdot 100$$

25 jossa O on kasvaimen keskimääräinen tilavuus (massa) käsiteltyjen eläinten ryhmässä; K on kasvaimen keskimääräinen tilavuus (massa) kontrollieläimissä.

30 Kasvaimia torjuvan vaikutuksen kriteerit spontaanisesti syntyneiden ja aiheutettujen kasvaimien käsittelyssä olivat seuraavat: eläinten tervehtyminen (%) ja muutos kasvaimen dimensioissa verrattuna niiden alkuperäisiin arvoihin (%).

35 Tutkimukset suoritettiin on line-hiirille ja niiden ensimmäisen sukupolven hybrideille.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden kasvaimia torjuvan aktiviteetin tutkimuksessa saadut tulokset muutamien kudoksensiirrolla aiheutettujen kasvainten osalta on esitetty seuraavassa taulukossa 1.

5

Taulukko 1

Esillä olevan keksinnön mukaisten androstaanisarjan steroidijohdannaisten kasvaimia torjuva aktiviteetti

Nro	Yhdiste	Annos mg/kg päivä	Käsittelypäivät kasvaimen kudok- sensiirron jäl- keen
1	2	3	4
15	1 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (I)	25-50	2-6
	2 17 β -[p-di-(2-kloorietyyli)-aminofenyylibutyraatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (II)	30-50	2-6
20	3 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyli-N-asetyyli-alanyyli]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (III)	10-100	2-6
25	4 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyli-N-asetyyli-alanyyli]-2 α -metyyli-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (IV)	10-100	2-6
30	5 3 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstandioli-3 β ,17 β (V)	5-30	2-6
	6 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstandioli-3 β ,17 β (VI)	5-50	2-6
35	7 17 β -[p-di(2-bromietyyli)-aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (VII)	10-50	2-6

	1	2	3	4
	8	17β-[p-di(2-jodietyyli)amino-fenyyliasetaatti]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (VIII)	25-100	2-6
5	9	Dihydrotestosteroni	10-15	2-6
10	10	Kloorifenasyyli	1,5-2	2-6
	11	Sarkolysiini	2-3	2-6
			7	2-6
	12	DEA-sinappi	10-15	2-11
10			50	2-6
	13	Estrasyytti	100	2-6

Taulukko 1 (jatkoa)

15	Nro	Kasvaimen kasvun maksimiehkäisy %				Elinajan pite- neminen %	
		Ca-755	LL	W-256	Ca-755	L-1210	W-256
	1	5	6	7	8	9	10
	1	98	66	99	59	41	160
20				71			
			30 %:n parantuminen				47
	3	98	71		122	82	
	4	96	58		79	82	
	5	95	66		31	28	
25	6	95	60		32	25	
	7	97			54		
	8	65			47		
	9	16	+77				
	10	33		97			
30	11	83	58		32	90	
	12	10					
			59			57	
	13	+6	29			4	

35 Merkki "+" tarkoittaa kasvaimen kasvun kiihtymistä

Kuten edellä olevasta taulukosta 1 ilmenee, esillä olevan keksinnön mukaisilla yhdisteillä on voimakas kasvaimia torjuva vaikutus useisiin kudoksensiirrolla aiheutettuihin kasvaimiin nähden, mikä todetaan kasvaimen kasvun huomattavana ehkäisyssä - 58-99 %:lla ja/tai käsiteltyjen eläinten eliniän pitenemisessä 25-160 %:lla. Erityisen selvästi nähdään esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden edut kysymyksen ollessa tapauksesta Ca-755. Yhdisteet eivät ainoastaan ehkäise Ca-755:n kasvua 65-98 %:lla, vaan myös ne pidentävät eläinten elinikää 31-122 %:lla. Androstaanisarjan tunnettu hormonisytostaatti, nimittäin DEA-sinappi, samoinkuin estrasytytti eivät ole osoittaneet mitään aktiviteettia tämän kasvaimen suhteen.

Edellä olevasta taulukosta 1 nähdään myös, että esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet eroavat niiden molekyyliin sisältyvistä alkylointiaineista kloorifenasyylistä ja sarkolysiinistä kasvainten torjuntavaiikutuksen suuruudessa ja laajuudessa samoinkuin myrkyllisyydessä. Tällöin esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden terapeuttiset annokset vaihtelevat alueella 5-150 mg/kg annettaessa niitä päivittäin 5 päivän aikana, kun taas kloorifenasyliin ja sarkolysiinin siedettävät maksimiannokset samoissa käsittelyolosuhteissa ovat vastaavasti 1,5 ja 3 mg/kg.

Seuraavat yhdisteet:

17β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (I),

3β-[p-di-(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5α-androstandioli-3β,17β (V) ja

17β[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5α-androstandioli-3β,17β (VI)

ovat osoittaneet suurempaa suuntautuvuutta ja eroa tehossa kasvainten suhteen, jotka ovat saaneet alkunsa hormonista riippuvissa kudoksissa, ja joita ovat kudoksensiirrolla aiheutetut kohdunkaulasyöpä CC-5, munasarjan kasvaimet OT samoinkuin aiheutetut ja spontaaniset muna-

- sarjan kasvaimet ja nisän kasvaimet hiirillä ja rotilla. Samanaikaisesti todettiin edellämainittujen yhdisteiden olevan vähemmän aktiivisia käsiteltäessä eläimiä, joilla oli leukoosi L-1210 (taulukko 1), mikä viittaa niiden vähäisempään alkylointivaikutukseen. Taulukossa 2 olevista tuloksista nähdään, että yhdiste I vaikuttaa vain vähän munasarjakasvaimen OT kasvuun, kun taas yhdiste VI ja erityisesti yhdiste V aikaansaavat tämän kasvaimen kasvun voimakkaan ehkäisyn. Samasta taulukosta käy myös ilmi, että CC-5 ja OT ovat vain vähäisessä määrin herkkiä tai kokonaan epäherkkiä dihydrotestosteronin ja kloorifenasyklin suhteen, samalla kun estrogenosytostaattinen estrasytti jopa edistää CC-5:n kasvua. Taulukossa 3 esitetyistä tuloksista nähdään selvästi yhdisteiden I, III ja VI edut aikaisemmin tunnettuun androgeeniseen aineeseen testosteronipropionaattiin nähden mitä tulee niiden kasvaimia torjuvaan aktiviteettiin aiheutettuihin ja spontaanisiin munasarjan ja nisän kasvaimiin nähden hiirillä ja rotilla.
- Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden yleisen myrkyvaikutuksen tutkimus on osoittanut, että näiden yhdisteiden myrkyllisyys on suhteellisen vähäinen. Hiiret sietävät näiden yhdisteiden 5-kertaisen antamisen annoksina, jotka ovat alueella 5-100 mg/kg. Pääosalla yhdisteitä on huomattava terapeuttisten annosten alue (taulukko 4). Ne aikaansaavat tehokkaan kasvaimia torjuvan vaikutuksen annoksina, jotka eroavat suuruudeltaan 3-10 kertaaisesti.

Taulukko 2

Androstaanisarjan steroidijohdannaisten kasvaimia
Torjuva aktiviteetti kasvaimiin nähden, jotka ovat
saaneet alkunsa kohteena olevissa kudoksissa

5

	Yhdiste	Kasvaimen kasvun Elinajan maksimiehkäisy % piteneminen %		
		CC-5	OT	OT
	1	2	3	4
10	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyliasetaatti]-5 α -androstan- 17 β -oli-3-oni (I)	82	37	0
15	3 β [p-di(2-kloorietyyli)aminofe- nyyyliasetaatti]-5 α -androstan- 3 β ,17 β (V)	80	94	25
	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyliasetaatti]-5 α -androstan- dioli-3 β ,17 β (VI)	79	73	33
20	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyli-N-asetyyli-alanyyli]-5 α - androstan-17 β -oli-3-oni (III)	87	97	57
25	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyli-N-asetyyli-alanyyli-2 α -me- tyyli-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (IV)	99	92	37
	Dihydrostetosteroni	13	54	0
	Kloorifenasyyli	35	25	0
	Estrasyytti	+322	29	0

Taulukko 3

Androstaanisarjan steroidijohdannaisten kasvaimia torjuva vaikutus kohteena olevissa kudoksissa alkunsa saaneiden aiheutettujen ja spontaanisten kasvainten suhteen

5

Nro Kasvaimet Kasvaimen dimensioiden pieneneminen tai sen kasvun kiihtyminen (+) verrattuna dimensioihin ennen käsittelyn alkamista, %

10

17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino-fenyylasetaat]i]-5 α -androsta-
17 β -oli-3-oni (I)

15

1	2	3
1	Biskindma'illa aiheutetut hiiren munasarjan kasvaimet	Kasvun pysähtyminen
2	Biskindham'illa aiheutetut rotan munasarjan kasvaimet	27
3	Spontaaniset hiiren nisän kasvaimet	Kasvun pysähtyminen
4	DMBA'lla aiheutetut nisän kasvaimet rotissa	60

25

Kasvaimen dimensioiden pieneneminen tai sen kasvun kiihtyminen (+) verrattuna dimensioihin ennen käsittelyn alkamista, %

5	3 β -[p-di(2-kloori- etyyli)aminofenyyli- asetaat]i]-5 α -and- rostan-17 β -oli-3- oni (V)	17 β -[p-di(2-kloori- etyyli)aminofenyyli- asetaat]i]-5 α -and- rostan-17 β -oli-3- oni (VI)	Testoste- ronipro- pionaatti	Kont- rolli
---	---	---	------------------------------------	----------------

	Nro				
	1	4	5	6	7
	1		7	+256	+21
10	2			64	+32
	3	35	24	+33	+88
	4			Kasvun py- sähtyminen	+280

15 Taulukko 4

Androstaanisarjan steroidijohdannaisten siedettävät
maksimiannokset (MBD) ja terapeuttisten annosten
alue (hiiret, 5 kertaa tapahtuva annostus)

20	Yhdiste	mg/kg MBD	Terapeutti- set annokset
	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyliasetaatti]-5 α -androstan- 17-oli-3-oni (I)	25	20-25
25	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyylibutyraatti]-5 α -androstan- 17-oli-oni (II)	50	30
30	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyli-N-asetyyli-alanyyli]- 5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (III)	100	10-100
	17 β -[p-di-(2-kloorietyyli)- aminofenyyli-N-asetyyli-al- anyyli]-2 α -metyyli-5 α -and- rostan-17 β -oli-3-oni (IV)	100	10-100
35	3 β -[p-di(2-kloorietyyli)amino- fenyyliasetaatti]-5 α -andros- tandioli-3 β ,17 β (V)	30	5-30

(Taulukko 4, jatkoa)

	Yhdiste	mg/kg	Terapeutti-
		MBD	set annokset
5	17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyliaasettaatti]-5 α -androstadioli-3 β ,17 β (VI)	50	10-30
10	17 β -[p-di(2-bromietyyli)-aminofenyyliaasettaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (VII)	50	10-50
	17 β -[p-di(2-jodietyyli)amino-fenyyliaasettaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (VIII)	100	25-100
	Kloorifenasyyli	3	1,5-2
15	Sarkolysiini	5	2-3

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden tehon suuntautuvuuden tutkimiseksi kohteena oleviin kudoksiin tutkittiin niiden hormonaaliset ominaisuudet biologisten (androgeenisten ja anabolisten vaikutusten) sekä biokemiallisten (spesifinen sitoutuminen dihydrotestosteronin ja estradioli 17 β :n reseptoreihin) kokeiden avulla. Yhdisteiden androgeeninen ja anabolinen aktiviteetti määritettiin vastaavasti eturauhasen ja peräaukon kohottajalihasen massan muutoksen avulla kuohituilla nuorilla rotille ja ilmaistiin indekseillä (kyseisten elimien suhteellisen massan suhde käsittelyn jälkeen vastaavaan massaan vertailukohteessa, jonka massan oletettiin olevan arvoltaan 1). Dihydrotestosteronin spesifistä sitoutumista reseptoreihin (vapaita kiinnittymiskohtia) tutkittiin normaalien ja etukäteen (2 viikkoa aikaisemmin) kuohittujen rottien ventraalisessa prostataassa, joita rottia oli käsitelty valmisteilla terapeuttisen käsittelyn kuluessa. Dihydrotestosteronin ja estradioli 17 β :n spesifisen sitoutumisen määrittäminen suoritettiin kudoksen sytosolifraktioissa saostamalla proteiinit protaminosulfaatilla sen jälkeen kun sytosoleja oli inkuboitu [3 H]-dihydrotestosteronin ja

[³H]-estradioli 17β:n kyllästyskonsentraatioilla 0°C:n lämpötilassa. Nukleaariset reseptorit määritettiin puhdistettujen ytimien fraktiosta, joka oli etukäteen uutettu 0,4N KCl:lla saostamalla hormonireseptorikompleksi protamino-

5

sulfaatilla. Tulokset, jotka valaisevat esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden androgeenisia ja anabolisia vaikutuksia esitetään jätkeämpänä taulukossa 5.

Taulukosta 5 nähdään, että pääosalla esillä olevan keksinnön mukaisista androstaanisarjan steroidijohdannaisista on alhainen anabolinen aktiviteetti. Niiden androgeeninen aktiviteetti riippuu suuressa määrässä yhdisteen hormonaalisen osan rakenteesta. Androgeenisina aineina ovat yhdisteet I ja III voimakkaampia muihin verrattuna. Yhdisteet I ja III osoittavat myös pisintä androgeenisen vaikutuksen kestoaikaa. Yhdisteen I androgeeninen aktiviteetti on kuitenkin oleellisesti alhaisempi kuin testosteronipropionaatin (eräs tunnettu androgeeninen aine).

15

On huomattu, että esillä olevan keksinnön mukaiset androstaanisarjan steroidijohdannaiset sitoutuvat spesifisesti vastaavien hormonien reseptoreihin. Niinpä yhdiste I sitoutuu dihydrotestosteronin sytoplasmareseptoreihin, jota seuraa keskinäinen vuorovaikutus kromatiinin vastaavien akseptorivyöhykkeiden kanssa sekä normaaleissa kudoksissa (rottien ventraalinen prostata ja kohtu) sekä eläinten että ihmisten kasvaimissa, jotka ovat saaneet alkunsa androgeeneille kohteena olevissa kudoksissa (ni-

25

sän rauhanen). Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden, nimittäin yhdisteiden I, V ja VI hormonaaliset ominaisuudet on myös selvästi osoitettu tehossa estradioli 17β:n reseptioon ventraalisen prostatan kudoksessa. Tällöin on osoitettu eroavaisuus yhdisteiden välillä. Esimerkiksi koskemattomissa rotissa suureni yhdisteen V antamisen jälkeen [³H]-estradioli 17β:n spesifinen sitoutuminen sytosoliin 5-kertaiseksi, kun taas yhdisteen I antamisen jälkeen 10-kertaiseksi. Yhdisteen VI antamisen jälkeen ei havaittu

30

35

minkäänlaista [³H]-estradioli 17β:n spesifistä sitoutumista sytosoliin (se estyi täydellisesti). Näin ollen esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet ovat huomattavasti muuttaneet eläinten herkkyyttä estrogeeneihin nähden.

5 Tarkastelun alaisena olevat yhdisteet I, V ja VI eroavat myös metabolismin osalta kohteena olevissa kudoksissa androgeenien suhteen. Nämä eroavaisuudet ilmenevät jo androgeenimetabolismin pääasiallisen entsyymin -5α-reduktaasin tasolla, samoin kuin 3β,3α,6α,7α-hydroksylaasien
10 tasolla.

 Mitä tulee kasvaimia torjuvan vaikutuksen, yleisen myrkky- ja hormonivaikutusten laajuuteen samoin kuin metabolismin kohteena olevissa kudoksissa, niin tällöin esillä olevan keksinnön mukaiset androstaanisarjan steroidi-
15 johdannaiset eroavat toinen toisistaan. Jokaiselle näistä yhdisteistä on tunnusomaista erittäin yksilölliset biologisen vaikutuksen erityisominaisuudet, minkä vuoksi ne ovat jokainen toisista riippumatta kiinnostavia.

Taulukko 5

Hormonisyntetisointien - androstaanisarjan steroidi-
johdannaisien androgeenisia ja anabolisia ominai-
suuksia

5

	Nro	Yhdiste	Annos, mg/kg/aikaväli
			(h) x antokertojen lu- kumäärä
10	1	17β-[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyliaasetatti]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (I)	25/24 x 10
15	2	3β-[p-di(2-kloorietyyli)amino-fenyyliaasetatti]-5α-androstan-dioli-3β,17β (V)	20/24 x 10
20	3	17β-[p-di(2-kloorietyyli)amino-fenyyliaasetatti]-5α-androstan-dioli-3β,17β (VI)	20/24 x 10
25	4	17β-[p-di(2-kloorietyyli)amino-fenyli-N-asetyyliälyyli]-5α-androstan-17β-oli-3-oni (III)	25/24 x 10
			50/24 x 10
30	5	17β-[p-di(2-kloorietyyli)amino-fenyli-N-asetyyliälyyli]-2α-metyyli-5α-androstan-17β-oli-3-oni (IV)	25/24 x 10
			50/24 x 10
35	6	DEA-sinappi	5/24 x 10
			10/24 x 10
40	7	Dihydrotestosteroni	15/24 x 10
	8	Dehydroepiandrosteroni	0,5/24 x 10 1/24 x 10
45	9	Testosteronipropionaatti	15/24 x 10
	10	Sarkolysiini	2/24 x 10
	11	Kloorifenasyyli	1/2 x 10

(Taulukko 5, jatkoa)

Nro	Päiviä käsit-	Anabolinen	Androgeeninen
	telyn jälkeen	indeksi	indeksi
	1	4	5
	6		
5	1	1	2,4
	10	1,3	5,2
	2	1	0,9
	10	1,3	2,4
	3	1	1,2
10	10	1,4	1,3
	4	1	1,7
	10	1,2	1,1
	5	1	2,1
	10	1,3	4,5
15	1	1,7	1,6
	10	1,2	0,8
	1	2,3	1,5
	10	1,6	1,8
	6	1	1,3
20	1	1,2	2,2
	7	1	1,6
	10	1,1	0,9
	8	1	1,5
	1	1,1	1,4
25	9	1	2,7
	10	2,1	8,2
	10	1	0,8
	11	1	1,0
			0,9

30 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-
5 α -androstan-17 β -oli-3-onin (I) hormonaalisen tehon kine-
tiikan tutkimuksessa on havaittu kiintoisaa säännöllisyyt-
tä: kohteena olevien elinten (eturauhanen, kives, siemen-
nesterakkulat) stimuloitumisjakson korvautuminen 1,5 kuu-
35 kauden jälkeen niiden voimakkaan estymisen jaksolla, kun
taas niissä eläimissä, joille annettiin ainoastaan dihyd-
rotestosteronia, palautui edellämainittujen elinten massa

normaaliksi tämän jakson päättyessä. Myöskin todettiin yhdisteen I pitkäaikainen ehkäisevä vaikutus kilpirauhaseen urospuolisissa ja naaraspuolisissa rotissa (samalla tavoin dihydrotestosteronin vaikutus), samoin kuin kohtuun ja munasarjoihin, niin että näiden elinten massa ei palautunut normaaliksi edes 3 kuukauden kuluttua valmisteiden antamisen keskeyttämisen jälkeen. Yhdisteen I aiheuttama tilapäisen "kemiallisen kastration" vaikutus todettiin naaraspuolisissa rotissa, joilla oli estrogenoaktiivisia munasarjarakkulakasvaimia. Yhdistettä I käyttäen suoritettua terapeuttista käsittelyä jälkeen rotilla luontainen jatkuva naaraan kiima lakkasi. Vatsan avaus ja munasarjojen histologinen tutkimus ovat osoittaneet, että kiiman keskeytys tapahtuu tuloksena munasarjojen rakkuloiden umpaankasvusta ja munasarjojen välikudoksen surkastumisesta, mikä on estrogenoaktiivinen rotissa. "Kemiallisen kastration" vaikutus on havaittu myös maidonerityksessä rotilla, jotka terapeuttista käsittelyä jälkeen käytettäessä 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5 α -androsta-17 β -oli-3-onia (I) menettivät lisääntymiskykynsä 5-7 kuukaudeksi. Nämä tulokset kuvaavat tämän yhdisteen hedelmöitystä ehkäiseviä ominaisuuksia.

On myös osoitettu, että yhdisteellä I on sitäpaitsi alkyloivia ominaisuuksia. Se häiritsee RNA:n transkriptio- ja siirtoprosesseja, aiheuttaa DNA:n rakennevikoja, jotka kuitenkin parantuvat nopeammin normaaleissa soluissa (perna) kuin kasvainten soluissa (sarkooma S-37). Viimemainittu seikat viittaavat kasvaimia torjuvan vaikutuksen selektiivisyyteen.

Käyttäen yhdistettä I esimerkkinä on tällöin osoitettu, että hormonisyntetisillä - esillä olevan keksinnön mukaisilla androstaanisarjan steroidijohdannaisilla on kaksinainen biologinen vaikutusmekanismi. Niillä on sekä alkyloiva että hormonaalinen vaikutus.

Keksinnöllisyyden perustelemiseksi FI-patentista 57 114 tunnettujen andosteeniesterijohdannaisten suhteen

on lisäksi osoitettu, että dihydrotestosteroni ja 5α -androstaaniidioli-3 β ,17 β (lyhennettynä 3 β -dioli), joista syntetisoimat uudet yhdisteet 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylasetatti-5 α -androstaani-17 β -oli-3-oni (yhdiste I),
5 3 β -[p-di(2-kloorietyyliaminofenyylasetatti]-5 α -androstaaniidioli-3 β ,17 β (yhdiste V) ja 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylasetatti]-5 α -androstaaniidioli-3 β ,17 β (yhdiste VI) rakentuvat, vaikuttavat eri tavalla 1) androgeenisiiin ja anabolisiin ominaisuuksiin (Taulukko 6); 2) vaikutuksen biokemialliseen mekanismiin - vaikutus DHT:n ja
10 estradioli 17 β :n reseptoreihin sitoutumiseen elimessä (Taulukko 7); sekä 3) kasvaimenvastaiseen aktiviteettiin hiiren hormonista riippuvaan munasarjakasvaimeen ja maksametastaattiseen nisäsyöpään (Taulukko 8).

Taulukko 6

Androstaanisarjan steroidijohdannaisten androgeeniset ja anaboliset ominaisuudet

Yhdiste	Annos (mg/kg) aikaväli (h) x antokertojen lukumäärä	Päiviä käsittelyn jäl- keen	Anabolinen indeksi	Androgeeni- nen indeksi
17β-[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyli-asetatti]-5α-androstaani-17β-oli-3-oni (I)	25/24 x 10	1 10	2,4 1,3	8,5 5,2
3β-[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyli-asetatti]-5α-androstaanidi-oli-3β,17β (V)	20/24 x 10	1 10	0,9 1,3	2,5 2,4
17β-[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyli-asetatti]-5α-androstaanidioli-3β,17β (VI)	20/24 x 10	1 10	1,2 1,4	2,6 1,3

Androgeeninen ja anabolinen indeksi määritettiin vastaavasti eturauhasen ja peräaukon kohottajalihaksen massan muutoksesta kastroituilla nuorilla rotilla (kyseisten elimien suhteellisen massan suhde käsittelyn jälkeen vertailueläimen vastaavaan massa, jolloin vertailueläimen oletettiin olevan arvoltaan 1).

Taulukko 7

Androstaanisarjan stereoidijohdannaisten vaikutus DHT:n ja estradioli 17 β :n [E₂] reseptoreihin sitoutumiseen rotan eturauhasessa

annos (mg/kg)		DHT:n reseptorit				E ₂ :n reseptorit			
aikaväli (h)		(mol/kg prot.)				(mol/mg prot.)			
x antokertojen lukumäärä		sytoplas-		tumai-		sytoplas-		tumai-	
		maattiset		set		maattiset		set	
		I ^x	C ^x	I	C	I	C	I	C
Kontrolli-									
eläimet (ei									
vaikutusta)		84	0	46	0	25	0	0	0
kloorifenasyyli	1,5/24x5	87	94	61	0	0	531	496	318
Dihydrotesto-									
steroni	10/24x5	0	0	0	0	0	74	0	99
yhdiste I	25/24x5	32	51	0	0	257	353	0	339
3β-dioli ^{xx}	10/24x5	55	37	210	117	0	134	84	52
yhdiste V	20/24x5	0	71	0	0	137	67	0	114
yhdiste VI	20/25	0	0	0	0	0	483	0	133

x I kastroimattomat eläimet

C kastroidut eläimet

xx 5 α -androstaanidioli-3 β ,17 β

Taulukko 8

Kloorifenasyyliesterin (DHT) [yhdiste I] ja 3 β -diolin [yhdiste V, VI] kasvaimen vastainen vaikutus hormonista riippuviin kasvaimiin

Yhdiste	Kasvaimen maksimiesto (eliniän piteneminen) %			
	Ca - 755	SC - 5	LMMC	OT
I	98(59)	82	41	37
V	95(32)	80	97	98(25)
VI	95(31)	79	81	73(83)

Taulukon 6 mukaan yhdisteiden V ja VI androgeeninen ominaisuus on heikompi kuin yhdisteen I vastaava ominaisuus (androgeeniset indeksit käsittelyn jälkeen 2,5; 2,6; 8,5 vastaavasti).

5 Yhdisteen VI androgeeninen vaikutus on lyhytaikainen, kun taas yhdisteen I ja V vaikutus ilmenee selvästi jopa 10 päivän kuluttua käsittelystä. Yhdisteillä V ja VI ei käytännöllisesti katsoen ole anabolista vaikutusta (indeksi 0,9 vastaavasti 1,2), kun taas yhdisteen I ko. indeksi on 2,4.

10 Taulukosta 7 havaitaan yhdisteiden I, V ja VI vaikutuserot DHT:n ja E_2 :n reseptoreihin tutkituille yhdisteillä käsiteltyjen eläinten eturauhasen sytosoleissa ja tumauutteissa. Kastroimattomilla eläimillä esim. yhdisteet I ja 3 β -dioli alentavat 3H -sitoutumisen noin puoleen - noin kolmasosaan ja yhdisteillä V ja VI arvoon 0 kontrollieläimiin verrattuna. Ero E_2 -reseptoreissa on vielä suurempi: annettaessa yhdistettä I kastroimattomille eläimille kasvaa spesifinen sitoutuminen 3HE_2 -reseptoreihin 10 kertaa

15 kontrollieläimiin verrattuna; annettaessa yhdistettä V on kasvu 5-kertainen ja annettaessa yhdistettä VI on kasvu täysin estynyt. Kysymyksen ollessa kastroiduista eläimistä käyttäytyvät yhdisteet toisella tavalla. Todettiin spesifistä sitoutumista 3H DHT-reseptoreihin annettaessa koe-

20 eläimille yhdisteitä I, V, 3 β -dioli ja kloorifenasyyli, kun taas yhdisteet VI ja DHT estivät sitoutumisen. Kaikki yhdisteet kohottivat voimakkaasti 3HE_2 :n spesifistä sitoutumista, uusista yhdisteistä varsinkin yhdiste VI. Määritettäessä 3H DHT:n ja 3HE_2 :n spesifinen sitoutuminen oli

25 uusien androgeeniyhdisten välinen ero vähemmän huomattava, vaikkakin 3HE_2 :n sitoutumisessa kastroidun rotan prostata-

30 tumauutteessa oli kvantitatiivinen ero. Näin ollen jokainen uusi yhdiste I, V ja VI vaikuttaa spesifisesti 3H DHT:n 3HE_2 :n sitoutumiseen ja vaikutus riippuu lisäksi siitä

35 ovatko eläimet kastroiduja vai kastroimattomia.

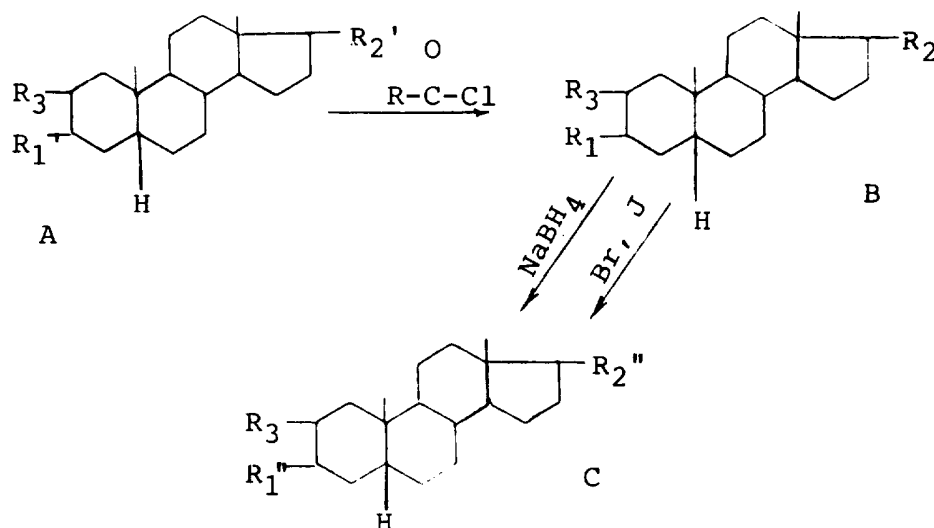
Taulukosta 7 ilmenee, että yhdisteiden I, V ja VI kasvaimenvastainen vaikutus hormonista riippuviin kasvai-
miin on erilainen: yhdisteet V ja VI ovat paljon aktiivi-
sempi kuin yhdiste I munasarjakasvainta vastaan ja yhdiste
5 V on parempi kuin yhdiste V maksametastaattista nisäsyöpää
vastaan.

Edellä esitetyn perusteella uusien yhdisteiden kas-
vaimen vastainen aktiviteetti riippuu niiden steroidiosan
- DHT:n ja 3 β -diolin rakenteesta. Tämä on osoitettu ohei-
10 sissä taulukoissa tutkimalla yhdisteiden androgeenisia ja
anabolisia ominaisuuksia sekä myös biokemiallisin kokein.

Menetelmä androstaanisarjan steroidijohdannaisten
valmistamiseksi on yksinkertainen.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden syn-
15 teesi suoritetaan noudattaen tunnettua menetelmää saat-
tamalla substituoitu 3 β ,17 β -2 α -androstaani reagoimaan sy-
totoksisen fenyylialkaanihappokloridin kanssa aproottises-
sa liuottimessa orgaanisen emäksen läsnäollessa liuottimen
kiehumispisteessä 8-24 tunnin ajan ja eristämällä toivot-
20 tu tuote preparatiivisen pylväskromatografiamenetelmän
avulla tai suorittamalla myöhempi halogeenien substituutio
reaktiotuotteessa Br:llä tai J:llä, tai suorittamalla myö-
hempi ketoryhmän pelkistys reaktiotuotteessa.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden syn-
25 teesiä tällä menetelmällä voidaan esittää seuraavan kaa-
vion avulla:



A. R_1' on $-OH$; $=O-$; $R_2' = =O-$; R_3' on $-CH_3$, $-H$; jolloin R_1' ja R_2' eivät voi samanaikaisesti olla $-OH$.

B. R_1 on $-OH$; $=O-$; $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; $R_2 = -OH$,
 $-OCO(CH_2)_n C_6H_4-N(CH_2CH_2Cl)_2$; jossa n on 1 tai 3,

5 $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; R_3 on CH_3 , $-H$, jolloin R_1 ja R_2
 $\quad \quad \quad |$
 $\quad \quad \quad NHCOCH_3$

eivät samanaikaisesti voi olla $-OH$ ja kun R_1 ei voi olla $=O$ kun R_2 on $-OH$

C. R_1'' on $-OH$, $=O$, $-OCOCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; $R_2'' = -OH$,
 10 $OCO(CH_2)_n C_6H_4-N(CH_2CH_2X)_2$; jossa n on 1 tai 3; X on Cl , Br ,
 J ; $-OCOCHCH_2C_6H_4N(CH_2CH_2Cl)_2$; R_3 on CH_3 , $-H$, jolloin R_1'' ja
 $\quad \quad \quad |$
 $\quad \quad \quad NHCOCH_3$

R_2'' eivät samanaikaisesti voi olla $-OH$ ja R_1 ei voi olla $=O$ kun R_2 on $-OH$.

15 Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden syn-
 teesi suoritetaan saattamalla p-di(2-kloorietyyli)aminofe-
 nyylietikkahappokloridi reagoimaan 5 α -androstaenin kanssa,
 joka on substituoitu 3 β - tai 17 β - tai 2 α -asemassa, minkä
 jälkeen esteröintituotteet pelkistetään natriumboorihyd-
 20 ridillä tai kloori korvataan bromilla tai jodilla.

Esillä olevan keksinnön ymmärtämiseksi paremmin
 esitetään seuraavassa joitakin erityisesimerkkejä asian
 valaisemiseksi.

Esimerkki 1

25 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-
 5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (I)

Suspensioon, joka sisältää 30,0 g (0,10 mmol) 5 α -
 androstan-17 β -oli-3-onia 500 ml:ssa kuivaa bentseeniä, li-
 sätään laskettu määrä trietyyliamiinia ja 38,0 g (0,11
 30 mmol) p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylietikkahappoklori-
 dia. Saatua seosta sekoitetaan 80°C:n lämpötilassa 24 tun-
 tia ja trietyyliamiinihydrokloridi erotetaan. Bentseeni-
 liuos pestään $KHCO_3$:n vesiliuoksella, H_2O :lla ja haihdute-
 taan kuiviin. Jäännös liuotetaan bentseeniin, lisätään
 35 pylvääseen, joka on täytetty Al_2O_3 :lla, ja eluoidaan bent-

seenillä. Bentseenieluaatti haihdutetaan, öljymäisen tuotteen muodossa oleva jäännös kiteytetään eetteristä. Tuotteen saanto on 27,8 g (49,2 % laskettuna lähtöaineena käytetystä hormonista), sp 99-101°C (eetteri).

5 Saadut arvot %: C 67,85, H 7,89, Cl 12,96. $C_{31}H_{43}NO_3Cl_2$.

Lasketut arvot %: C 67,89, H 7,84, Cl 12,95.

Esimerkki 2

17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyylibutyyraatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (II)

10 Tämän yhdisteen valmistus suoritetaan samalla tavalla kuin edellisessä esimerkissä 1 kuvatun yhdisteen synteesi.

Esteröintireaktioon osallistuvat: 5 α -androstaani-17 β -oli-3-oni ja p-di-(2-kloorietyyli)aminofenyylivoihappokloridi. Reaktioseosta sekoitetaan 80°C:n lämpötilassa 15 17 tuntia. Seuraavat käsittelyt suoritetaan edellä esimerkissä 1 kuvatulla tavalla.

Tuotteen saanto on 45,5 % laskettuna lähtöaineena käytetystä hormonista, sulamispiste on 100-102°C.

20 Saadut arvot %: C 68,65, H 8,15, Cl 11,98. $C_{33}H_{47}Cl_2NO_3$.

Lasketut arvot %: C 68,77, H 8,16, Cl 12,32.

Esimerkki 3

17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyl-N-asetyyli-alanyyli]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (III)

25 Tämän yhdisteen synteesi suoritetaan samalla tavalla kuin edellä esimerkissä 1 on selostettu. Esteröintireaktioon osallistuvat 5 α -androstan-17 β -oli-3-oni ja α -N-asetyyliamino- β -[p-di(2-kloorietyyli)-amino]fenyylialaniini happokloridimetyleenikloridissa.

30 Reaktioseosta sekoitetaan 40°C:n lämpötilassa 9 tuntia.

Seuraavat käsittelyt suoritetaan esimerkissä 1 kuvatulla tavalla.

35 Esteröintituote kromatografoidaan piihappogeelillä täytetyssä pylväässä käyttäen eluenttina bentseeni/etyyli-

asettaatti (1:1)-seosta. Tuotteen saanto on 14,5 % lasket-
tuna lähtöaineena käytetystä hormonista.

Saadut arvot %: C 65,87, H 7,72, Cl 11,11. $C_{34}H_{48}Cl_2N_2O_4$.

Lasketut arvot %: C 65,94, H 7,75, Cl 11,47.

5 Esimerkki 4

17β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyli-N-asetyyli-
alanyyli]-2α-metyyli-5α-androstan-17β-oli-3-oni
(IV)

10 Tämän yhdisteen valmistus suoritetaan samalla ta-
valla kuin edellä esimerkissä 1 on selostettu.

 Esteröintireaktioon osallistuvat 2α-metyyli-5α-and-
rostan-17β-oli-3-oni ja α-N-asetyyliamino-β-[p-di(2-kloo-
rietyyli)amino]fenyylialaniinihappokloridimetyleeniklori-
dissa. Reaktioseosta sekoitetaan 40°C:n lämpötilassa 9 tun-
15 tia.

 Seuraavat käsittelyt suoritetaan esimerkissä 1 ku-
vatulla tavalla.

 Esteröintituote kromatografoidaan piihappogeelillä
täytetyssä pylväässä käyttäen eluenttina bentseeni/etyyli-
20 asettaatti (1:1)-seosta. Tuotteen saanto on 30 % laskettuna
lähtöaineena käytetystä hormonista.

Saadut arvot %: C 66,41, H 7,96, Cl 10,91. $C_{35}H_{50}Cl_2N_2O_4$.

Lasketut arvot %: C 66,34, H 7,96, Cl 11,2.

Esimerkki 5

25 3β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5α-
androstandioli-3β,17β (V)

 4,2 g 3β-[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaat-
ti]-5α-androstan-17-onia sekoitetaan 90 ml:n kanssa kuivaa
metanolia ja joukkoon lisätään +5°C:n lämpötilassa 0,4 g
30 natriumboorihydridiä, seosta sekoitetaan tunnin ajan, se
tehdään happameksi etikkahapolla pH-arvoon 6; liuos haih-
dutetaan kuiviin, jäännös pestään vedellä ja kuivataan
natriumsulfaatin avulla. Bentseeniliuoksesta saadaan 4,0 g
amorfista jauhetta. Tuotteen saanto on 95 % (laskettuna
35 lähtöaineena käytetystä ketoyhdisteestä).

Saadut arvot %: C 67,59, H 8,25, Cl 12,88. $C_{31}H_{45}Cl_2NO_3$.

Lasketut arvot %: C 67,90, H 8,16, Cl 12,95.

Esimerkki 6

5 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-
5 α -androstandioli-3 β ,17 β (VI)

Tämän yhdisteen valmistus suoritetaan samalla tavalla kuin edellä esimerkissä 5 on selostettu.

10 Pelkistysreaktioon käytetään 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)-aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstan-3-onia. Seuraavat käsittelyt suoritetaan esimerkissä 5 kuvatulla tavalla.

15 Pelkistystuote kromatografoidaan piihappogeeelillä täytetyssä pylväässä (bentseeni/etyyliasetaatti (4:1)-seos) kokoamalla fraktiot, jotka sisältävät 3 α -OH-isomeeriä (R_f 0,41) ja 3 β -OH-isomeeriä (R_f 0,33). Toivotun β -isomeerin saanto on 67 % laskettuna lähtöaineena käytetystä 3-ketoyhdisteestä.

Saadut arvot %: C 67,54, H 8,26, Cl 13,03. $C_{31}H_{45}Cl_2NO_3$.

Lasketut arvot %: C 67,59, H 8,25, Cl 12,88.

20 Esimerkki 7

17 β -[p-di(2-bromietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (VII)

25 Liuokseen, joka sisältää 3,0 g 17 β -[p-di(2-kloorietyyli)aminofenyyliasetaatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-onia 40 ml:ssa metyylietyyliketonia, lisätään 5,7 g litiumbromidia (noin 7-kertainen ylimäärä) ja reaktioseosta kuumentaan 80°C:n lämpötilassa 35 tuntia. Liuotin haihdutetaan pois ja jäännös liuotetaan bentseeniin. Bentseeniliuos kromatografoidaan alumiinioksidilla täytetyssä pylväässä ja toivottu tuote eristetään öljynä, joka helposti kiteytyy eetteristä. Tuotteen sulamispiste on 106-108°C.

Tuotteen saanto on 54 % laskettuna lähtöyhdisteestä.

Saadut arvot %: C 58,28, H 6,79, Br 25,09. $C_{31}H_{43}Br_2NO_3$.

Lasketut arvot %: C 58,38, H 6,80, Br 25,08.

Esimerkki 8

17 β -[p-di(2-jodietyyli)aminofenyylasetatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-oni (VIII)

5 Liuokseen, joka sisältää 5 g 17 β -[p-di(2-kloori-
etyyli)aminofenyylasetatti]-5 α -androstan-17 β -oli-3-onia
50 ml:ssa metyylietyyliketonia, lisätään 7,5 g natriumjo-
dida (noin 6-kertainen ylimäärä) ja reaktioseosta kuumen-
netaan liuottimen kiehumispisteessä 72°C:ssa (79,5-80°C).
Liuottimen haihdutuksen jälkeen jäännös uutetaan bentsee-
10 nillä ja kromatografoidaan alumiinioksidilla täytetyssä
pylväässä käyttäen eluenttina bentseeniä. Bentseenieluaa-
tista otetaan talteen kiinteä tuote, joka kiteytetään eet-
teristä. Tuotteen saanto on 3,29 g (48,5 % laskettuna läh-
töaineena käytetystä hormonista), sulamispiste on 110-
15 112°C.

Saadut arvot %: C 50,70, H 5,87, J 34,07. C₃₁H₄₃J₂NO₃.

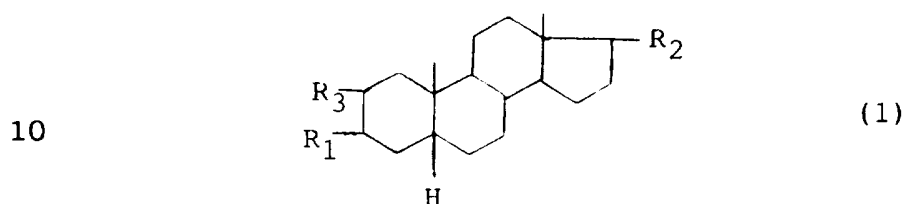
Lasketut arvot %: C 50,90, H 5,88, J 34,74.

Teollinen soveltuvuus

20 Androstaanisarjan steroidijohdannaiset ovat käyttö-
kelpoisia lääketieteen eri aloilla, kuten gynekologiassa
ja onkologiassa kasvaimia torjuvina ja hedelmöitystä eh-
käisevinä aineina.

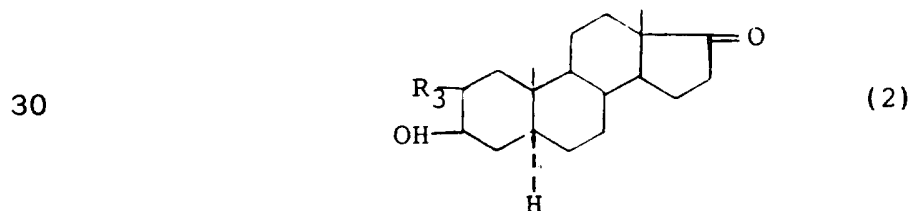
Patenttivaatimus

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten andros-
taanisarjan steroidijohdannaisten valmistamiseksi, joiden
5 yleinen kaava on



15 jossa R_1 on $-\text{OCOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$; $-\text{OH}$ tai, $=\text{O}$; R_2 on $-\text{OH}$
 $-\text{OCOCH}(\text{NHCCH}_3)\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$;
 $-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X})_2$, jossa n on 1 tai 3, ja X on Cl ,
 Br , J ; ja R_3 on $-\text{CH}_3$ tai $-\text{H}$, sillä edellytyksellä, että R_1
 20 ja R_2 eivät voi samanaikaisesti tarkoittaa hydroksiryhmää
 ja R_1 ei voi olla okso kun R_2 on hydroksiryhmä, t u n -
 n e t t u siitä, että

a) sellaisen kaavan (1) mukaisen yhdisteen saami-
seksi, jossa R_1 on $-\text{OCOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ ja R_2 on $=\text{O}$, saate-
 25 taan yhdiste, jonka kaava on

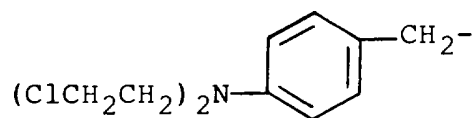


35 jossa R_3 tarkoittaa samaa kuin edellä, reagoimaan happoklo-
ridin kanssa, jonka kaava on



jossa R on

5

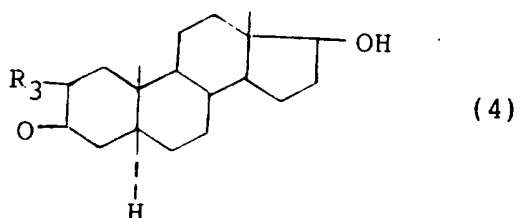


10

tai

15 b) sellaisen kaavan (1) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R_1 on $=\text{O}$ ja R_2 on $-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$, saatetaan yhdiste, jonka kaava on

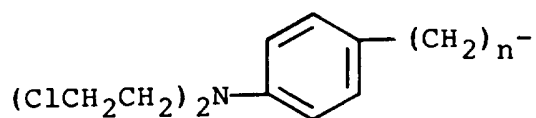
20



25

jossa R_3 tarkoittaa samaa kuin edellä, reagoimaan happokloridin kanssa, jonka kaava on

30



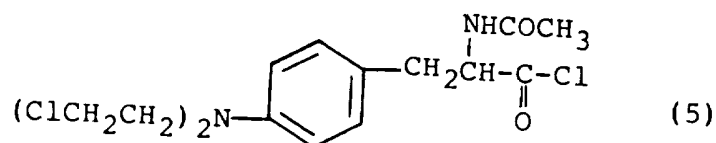
35

jossa n tarkoittaa samaa kuin edellä; tai

c) sellaisen kaavan (1) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R_2 on $-\text{OCOCHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$
 $\quad\quad\quad |$
 $\quad\quad\quad \text{NHCOCH}_3$

5 saatetaan kaavan (4) mukainen yhdiste reagoimaan α -N-asettyliamino- β -[p-di(2-kloorietyyli)amino]fenyylialaniinihappokloridin kanssa, jonka kaava on

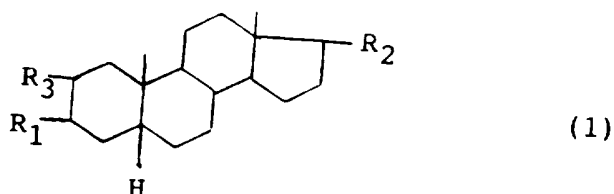
10



15 minkä jälkeen näin saadussa yhdisteessä oksoryhmä tarvittaessa pelkistetään natriumboorihydridillä, ja/tai kun kaavassa (1) radikaalin R_2 merkitys on $-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ niin kloori tarvittaessa korvataan bromilla tai jodilla.

Patentkrav

Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara steroider av androstanserien, vilka har formeln

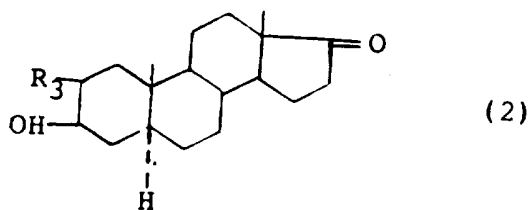


vari R_1 är $-\text{OCOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$; $-\text{OH}$ eller $=\text{O}$; R_2 är

$-\text{OH}$, $-\text{OCOCH}(\text{NHCCH}_3)\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$;

$-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X})_2$, vari n är 1 eller 3, och X är Cl , Br eller J ; och R_3 är $-\text{CH}_3$ eller $-\text{H}$, under förbehåll att R_1 och R_2 icke samtidigt kan beteckna en hydroxigrupp och R_1 icke kan vara oxo då R_2 är en hydroxigrupp, k ä n n e - t e c k n a t d ä r a v , a t t

a) för erhållande av en förening med formeln (1), vari R_1 är $-\text{OCOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ och R_2 är $=\text{O}$, omsätts en förening med formeln

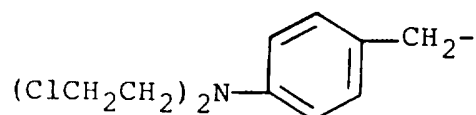


vari R_3 har ovan angivna betydelse, med en syraklorid med formeln



vari R är

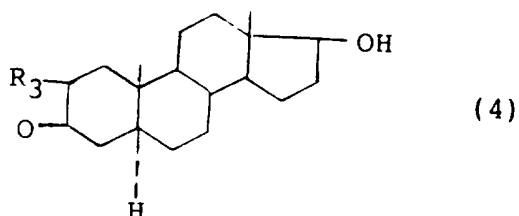
5



10

eller

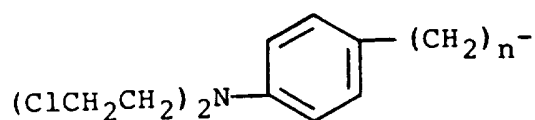
15 b) för erhållande av en förening med formeln (1),
vari R_1 är $=\text{O}$, och R_2 är $-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$, omsätts
en förening med formeln



20

25

vari R_3 har ovan angivna betydelse, med en syraklorid med
formeln



30

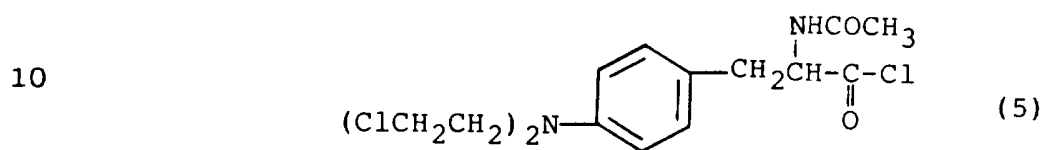
35

vari n har ovan angivna betydelse; eller

c) för erhållande av en förening med formeln (1),
vari R_2 är $-\text{OCOCHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$



5 omsätts en förening med formeln (4) med α -N-acetylamino-
 β -[p-di(2-kloretyl)amino]fenylalaninsyraklorid med for-
meln



15 varefter oxogruppen i den erhållna föreningen vid behov
reduceras med natriumborhydrid, och/eller när radikalen R_2
i formeln (1) betecknar $-\text{OCO}(\text{CH}_2)_n\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ då ersätts
kloren vid behov med brom eller jod.