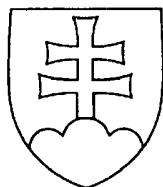


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: **10. 7. 2000**
 (31) Číslo prioritnej prihlášky: **99202348.1**
 (32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **16. 7. 1999**
 (33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **EP**
 (40) Dátum zverejnenia prihlášky: **4. 6. 2002**
 Vestník ÚPV SR č.: **6/2002**
 (62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
 (86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP00/06544**
 (87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/05806**

(11), (21) Číslo dokumentu:

71-2002

(13) Druh dokumentu: **A3**

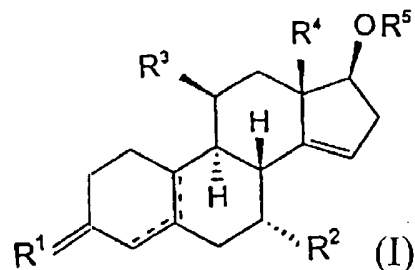
(51) Int. Cl.⁷ :

**C07J 1/00,
A61K 31/565,
A61P 5/26**

- (71) Prihlasovateľ: **Akzo Nobel N.V., Arnhem, NL;**
 (72) Pôvodca: **Loozen Hubert Jan Jozef, Uden, NL;**
Leysen Dirk, Lommel, BE;
Van der Louw Jaap, Oss, NL;
 (74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov **Androgénové zlúčeniny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom, ich použitie a súprava s ich obsahom**

- (57) Anotácia:
 Opísané sú zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde R¹ znamená O, (H, H), (H, OR), NOR, pričom R znamená vodík, (C₁₋₆)alkyl alebo (C₁₋₆)acyl; R² je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z (C₂₋₄)alkylu, (C₂₋₄)alkenylu alebo (C₂₋₄)alkinylu, z ktorých každý môže byť substituovaný halogénom; alebo R² znamená cyklopropyl alebo cyklopropenyl, z ktorých každý môže byť substituovaný (C₁₋₂)alkylom alebo halogénom; R³ znamená vodík, (C₁₋₂)alkyl alebo etenyl; R⁴ znamená (C₁₋₂)alkyl; R⁵ znamená vodík alebo (C₁₋₅)acyl a prerušovaná čiara znamená prípadnú väzbu, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie na prípravu liečiva na liečenie androgénovej nedostatočnosti.



Androgénové zlúčeniny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom, ich použitie a súprava s ich obsahom

Oblasť techniky

Predkladaný vynález poskytuje perorálne účinné androgénne hormóny, konkrétnejšie Δ^{14} deriváty 19-nortestosterónu.

Doterajší stav techniky

Testosterónové deriváty sú známe. Testosterónové liečivo, prírodný mužský hormón, má mnoho nevýhod čo sa týka spôsobov podávania. Má krátko trvajúcu aktivitu, je nerozpustný v bežných farmaceutických médiách a nie je veľmi účinný. Účinnejší dihydrotestosterón (5α -redukovaný z testosterónu) sa považuje za rizikový pre zdravie, najmä pre prostatu.

Účinnejším androgénom je 7α -metyl-19-nortestosterón (MENT) opísaný vo FR 4521 M a US 5 342 834. Závažným nedostatkom MENT je jeho nepriaznivá kinetika, ktorá obmedzuje jeho použitie ako perorálne účinného androgénu.

V oblasti farmaceutických prípravkov sa vo všeobecnosti požaduje, aby boli liečivé látky perorálne účinné. Perorálne dávkové formy, napríklad tuhé dávkové formy ako sú tablety a kapsuly, patria medzi najširšie prijateľné formy podávania. V oblasti androgénov existuje špecifická požiadavka na orálne podávanie v spojitosti s použitím ako mužskej antikoncepcie. Keďže v oblasti ženskej antikoncepcie sa slovo „pilulka“ stalo takmer synonymom pre spoľahlivú kontrolu počatia, je evidentné, že tiež v prípade mužskej antikoncepcie sa požaduje perorálna účinnosť lieku, aby sa mohla poskytnúť mužská „pilulka“.

Androgén, ktorý má špeciálne miesto v danej oblasti techniky, je takzvaný „Segaloffov steroid“, ktorý je 19-nortestosterónový derivát, ktorý má, ako MENT, 7α -metylovú skupinu, a ktorý má dvojitú väzbu medzi atómami uhlíka 14 a 15 (Δ^{14}). Táto špeciálna poloha má za následok skutočnosť, že bol dlho uznávaný ako najúčinnnejší známy perorálny androgén. Pozri, okrem iného Avery a ďalší, Steroidy, 55, 59 (1990). Zlúčenina, spolu s 7α -H analógom, je tiež známa z GB 1341601.

Napriek tomu, že má špeciálne miesto v danej oblasti techniky, „Segaloffov steroid“ nenašiel praktické použitie, čo môže byť dôsledok nedostatkov, ktoré má pri klinickom použití. Napríklad, u 19-nortestosterónov je metabolická stabilita problémom. Teda, je známe z GB 1 341 601, že tieto zlúčeniny majú sklon k metabolickej neúčinnosti vplyvom hepatickej 17β -hydroxysteroid dehydrogenázy. Predpokladá sa, že klasické riešenie tohto problému, zavedenie alkylovej skupiny do 17α polohy, je zodpovedné za neuspokojivé výsledky, ako je obmedzená aktivita.

Môže byť spomenutých niekoľko najmä veľmi starých publikácií, ktoré ďalej tvoria doterajší stav techniky, ktoré sa vzťahujú na skupinu steroidových zlúčenín, ktoré zahŕňajú 19-nortestosterónové deriváty. Žiaden z týchto odkazov neopisuje perorálne aktívne androgény.

Vo FR 1 432 561, zverejnenom v roku 1996, sa opisujú 19-nortestosteróny ako je MENT, ktoré majú alkylový substituent na C-7, a ktoré sa používajú ako východiskové materiály pre hormonálne látky, ktoré majú dvojitú väzbu medzi atómami vodíka 5 a 6. Iné alkylové skupiny ako metyl nie sú opísané.

BE 861 224 opisuje všetky možné estery širokého spektra 17-hydroxysteroidov. Opis z roku 1976 konkrétne uvádza, ktoré estery sú vhodné na predĺženú aktivitu steroidov. Vo veľkej skupine opísaných steroidov sú estrogény, antiestrogény, androgény a anaboliká. Je udaných mnoho možných substituentov v rôznych polohách, medzi inými aj metyl a etyl na C-7.

Chemical Abstracts 110: 95601y (1989) opisuje 17-hydroxyacetát 7-allyl-19-nortestosterónu ako medziprodukt na syntézu 7-allylestradiolu.

EP 159 739 opisuje imunomodulačné látky estránovej skupiny, ktoré zahŕňujú najmä Δ^4 - a $\Delta^{5(10)}$ -estrénové deriváty, ktoré majú alkylový substituent v polohe 6 alebo 7. Uvedeným alkylovým substituentom je obvyčajne metyl.

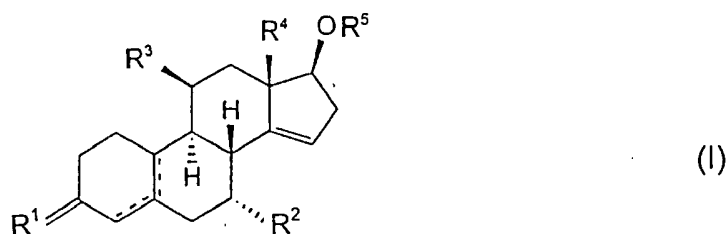
DE 20 43 404 sa týka 7 β -steroidov, ktoré majú anti-hormonálne účinky. Alkylový substituent je väčšinou metyl, ale uvádza sa aj etyl a propyl. V syntéze 7 β -etyl-19-nortestosterónu, čo je zlúčenina uvedená v DE 20 43 404, sa tiež vytvorí aj 7 α -izomér. Neopisuje sa žiadne použitie tohto izoméru, a tento dokument nerobí žiaden rozdiel medzi etylovým alebo propylovým substituentom pred metylovým substituentom.

Ďalším odkazom k doterajšiemu stavu techniky je Solo a ďalší, Steroids, 40, 603 až 614 (1990). Sú tu opísané rôzne 7α -alkylové deriváty testosterónu.

Cieľom tohto vynálezu je poskytnúť perorálne účinné androgény, ktoré sú vylepšené v porovnaní so Segaloffovými steroidmi v tom zmysle, že sú vhodnejšie na klinické použitie a najmä majú dostatočnú perorálnu účinnosť a metabolickú stabilitu.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu sú androgénové zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

R^1 znamená O, (H,H), (H,OR), NOR, kde R znamená vodík, (C_{1-6}) alkyl alebo (C_{1-6}) acyl;

R^2 je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z (C_{2-4}) alkylu, (C_{2-4}) alkenylu alebo (C_{2-4}) alkinylu, z ktorých každý môže byť substituovaný halogénom; alebo

R^2 znamená cyklopropyl alebo cyklopropenyl, z ktorých každý môže byť substituovaný (C_{1-2}) alkylom alebo halogénom;

R^3 znamená vodík, (C_{1-2}) alkyl alebo etenyl;

R^4 znamená (C_{1-2}) alkyl;

R^5 znamená vodík alebo (C_{1-15}) acyl;

a prerušovaná čiara znamená prípadné väzby.

Vynález zahŕňa farmaceuticky prijateľné soli alebo estery, proliečivá a prekursori vyššie uvedených steroidov.

Výraz (C_{1-6}) alkyl, ako je definovaný vo všeobecnom vzorci I znamená rozvetvenú alebo nerozvetvenú alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, napríklad metyl, etyl, propyl, izopropyl, butyl, izobutyl, terciárny butyl, pentyl a hexyl. Podobne

výraz (C₂₋₄)alkyl znamená rozvetvenú alebo nerozvetvenú alkylovú skupinu s 2 až 4 atómami uhlíka a výraz (C₁₋₂)alkyl znamená alkylovú skupinu s 1 až 2 atómami uhlíka.

Výraz (C₂₋₄)alkenyl znamená rozvetvenú alebo nerozvetvenú alkenylovú skupinu s aspoň jednou dvojitou väzbou a s 2 až 4 atómami uhlíka. Výhodne má alkenylová skupina 2 až 3 atómy uhlíka, ako je vinyl a propenyl.

Výraz (C₂₋₄)alkinyl znamená rozvetvenú alebo nerozvetvenú alkinylovú skupinu s aspoň jednou trojitou väzbou a s 2 až 4 atómami uhlíka. Výhodne má alkinylová skupina 2 až 3 atómy uhlíka, ako je etinyl a propinyl.

Výraz (C₁₋₆)acyl znamená acylovú skupinu odvodenú od karboxylovej kyseliny s 1 až 6 atómami uhlíka, napríklad formyl, acetyl, propanoyl, butyryl, 2-metylpropanoyl, pentanoyl, pivaloyl a hexanoyl. Podobne výraz (C₁₋₁₅)acyl znamená acylovú skupinu odvodenú od karboxylovej kyseliny s 1 až 15 atómami uhlíka. Definícia (C₁₋₆)acylu alebo (C₁₋₁₅)acylu zahŕňa tiež acylové skupiny odvodené od dikarboxylových kyselín, ako je napríklad hemi-maloyl, hemi-sukcinoyl, hemi-glutaroyl a tak podobne. Výhodný je hemi-sukcinoyl.

Výraz halogén znamená fluór, chlór, bróm alebo jód. Ak je halogén substituentom na alkylovej skupine, výhodne je to chlór a fluór. Fluór je najvýhodnejší.

Rozumie sa, že 7 α -substituované Δ^{14} -nandrolónové deriváty podľa vynálezu majú prirodzenú konfiguráciu 5 α , 8 β , 9 α , 10 β , 13 β a 17 β .

7 α -substituované Δ^{14} -nandrolónové deriváty podľa vynálezu majú prirodzenú konfiguráciu 5 α , 8 β , 9 α , 10 β , 13 β a 17 β a môžu mať tiež jeden alebo viac ďalších chirálnych uhlíkových atómov. Zlúčeniny sa môžu z tohto dôvodu získať ako čisté diasteroméry alebo ako zmesi diastereomérov. Spôsoby získania čistých diastereomérov sú dobre známe v danej oblasti techniky, napríklad kryštalizácia alebo chromatografia.

Zlúčeniny podľa vynálezu, ktoré sú odlišné od vyššie uvedeného známeho „Segaloffovho steroidu“ dĺžkou 7 α substituenta, majú neočakávane zlepšené vlastnosti ako uvedený steroid a majú neočakávané využitie v klinickom použití. To sa prejavuje, okrem iného, neočakávane lepšou perorálnou účinnosťou. Výhodné

zlúčeniny podľa vynálezu, ktoré sú ďalej uvedené, majú oveľa lepšiu metabolickú stabilitu ako Segaloffov steroid.

Výhodné zlúčeniny podľa vynálezu majú R^2 vybrané zo skupiny zahrnujúcej etyl, etenyl, etinyl, propyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 1-propinyl, 1,2-propadienyl a cyklopropyl.

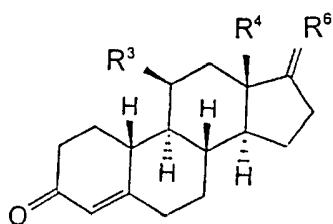
Ešte výhodnejšie zlúčeniny podľa vynálezu sú tie zlúčeniny, v ktorých R^1 je oxo, R^3 je vodík, R^4 je metyl a prerušovaná čiara znamená Δ^4 dvojitú väzbu.

Najvýhodnejšie sú tie zlúčeniny, v ktorých R^2 je C_2 s najvyššou preferenciou etylu alebo etenylu.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu vyrobiť rôznymi spôsobmi väčšinou známymi v danej oblasti organickej chémie a najmä v oblasti chémie steroidov (pozri napríklad Fried. J. a ďalší, Organic Reactions in Steroid Chemistry, zv. I a II, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1972).

Nevyhnutnosť je zavedenie nasýteného alebo nenasýteného 7α -substituenta (prípadne substituovaného halogénom) do jadra steroidu a zavedenie Δ^{14} dvojitej väzby.

Vhodný východiskový materiál na prípravu zlúčenín všeobecného vzorca I, kde R^1 je oxo, R^2 , R^3 a R^4 majú vyššie uvedený význam, R^5 je vodík, a prerušovaná čiara znamená Δ^4 dvojitú väzbu, je napríklad gon-4-én-3-ónový derivát všeobecného vzorca II, kde R^3 a R^4 majú vyššie uvedený význam a R^6 je oxo, (17α ,-H, 17β -OR⁷) alebo (17α -C $\equiv$ CH, 17β -OR⁷), kde R^7 je ochranná skupina hydroxyly, ako je acylová skupina, napríklad acetylová, benzoylová skupina alebo pivaloylová skupina, alkoxyalkylová skupina, napríklad etoxyetylová skupina alebo tetrahydro-pyranylová (THP) skupina, alebo silylová skupina, napríklad trimetylsilylová skupina alebo *tert*-butyldimetylsilylová skupina, ktorých syntézy sú známe z literatúry, alebo ktoré sa môžu pripraviť použitím štandardných spôsobov.



(II)

Možný spôsob syntézy je nasledujúci. Gon-4-én-3-ónový derivát všeobecného vzorca II sa môže konvertovať na príslušný gona-4,6-dién-3-ónový derivát použitím štandardných spôsobov, napríklad konverziou na 3-acyloxy- alebo 3-alkoxygona-3,5-diénový derivát, po čom nasleduje reakcia s 2,3,5,6-tetrachlór-1,4-benzochinónom (Solyom, S. a ďalší, Steroids, 35, 361, 1980). Potom sa zavedie 7α -substituent alebo jeho prekursor pomocou konjugovanej adície (1,6-adície). Pre túto reakciu je v danej oblasti techniky známych niekoľko metód, medzi inými:

- 1) Konjugovaná adícia organomeďných činidiel (pre konjugované adície organomeďných činidiel pozri Lipshutz, B. H. a ďalší v Org. Reactions 41, strana 135, Wiley, New York, 1992),
- 2) Reakcia sprostredkovaná prechodným kovom (TiCl_4 , AlCl_3 , ZrCl_4 , atď.) organokremičitých zlúčenín (bežne 1,6-adícia; pozri napríklad Nickisch, K. a ďalší, Tetrahedron Lett. 29, 1533, 1988),
- 3) Konjugovaná adícia katalyzovaná bázou dialkylmalonátu, 2,2-dimetyl-1,3-dioxán-4,6-diónu alebo alkylkyanoacetátu (pozri napríklad Cruz, R. a ďalší, Austr. J. Chem. 35, 451, 1982),
- 4) Konjugovaná adícia vhodného kyanidu ($\text{MC}\equiv\text{N}$, M je Li, Na, K, AlR^2 , SiR^3 atď.).

Tieto spôsoby majú prevážne za následok prevládajúcu alebo výlučnú tvorbu 7α -izoméru.

7α -substituovaný gon-4-én-3-ón takto získaný sa môže aromatizovať na 3-hydroxygona-1,3,5(10)-trién (Yung, S. S. a ďalší, Steroids 39, 279, 1982), ktorý sa potom môže metylovať na 3-metoxyderivát. Konverzia na 3-metoxygona-1,3,5(10)-trién sa môže dosiahnuť aj priamo (Brito, M. a ďalší, Synth. Commun. 26, 623, 1996). Keď R^6 je ($17\alpha\text{-H}, 17\beta\text{-OR}^7$), z 17-hydroxyskupiny sa odstráni ochranná skupina a potom sa oxiduje za vzniku 3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónového derivátu (pre oxidačnú reakciu pozri Hudlicky, M., Oxidations in Organic Chemistry, ACS Monograph 196, Washington, DC, 1990). Ak R^6 je ($17\alpha\text{-C}\equiv\text{CH}, 17\beta\text{-OR}^7$), zo 17-hydroxyskupiny sa takisto odstráni ochranná skupina a 17α -etynyl- 17β -hydroxyderivát sa konvertuje na 17-ketón, napríklad reakciou s uhličitanom strieborným na celite (Rao, P. N. a ďalší, Steroids 59, 621, 1994) alebo inými spôsobmi známymi

v danej oblasti techniky. V obidvoch prípadoch konverzia na 17-ketón sa môže uskutočniť aj pred aromatizáciou.

3-Metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónový derivát takto získaný sa môže priamo bromovať, napríklad reakciou s bromidom meďnatým v zmesi benzén/metanol (Segaloff, A. a ďalší, Steroids 22, 99, 1973). 3-Metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónový derivát sa môže tiež konvertovať na enolacetát, ktorý sa potom spracuje s brómom (Johnson, W. S. a ďalší, J. Am. Chem. Soc. 79, 2005, 1957), alebo na enolsilyléter, ktorý reaguje napríklad s *N*-brómsukcínimidom (Heathcock, C. H. a ďalší, J. Amer. Chem. Soc. 104, 6081, 1982). Dehydrobromácia 16 α -brómketónu, napríklad reakciou s LiBr/Li₂CO₃/DMF (Bull. J. R. a ďalší, J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 241, 1990), obyčajne poskytuje zmes (14 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónového a 3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónového derivátu. Tie sa môžu potom rozdeliť, ak sa druhý derivát redukuje na príslušný (17 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-olový derivát použitím tetrahydroborátu sodného, hydridu hlinitolitného alebo iných redukčných činidiel.

7 α -Substituovaný 3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-1-ónový derivát sa môže konvertovať na príslušný cyklický 1,2-etándiylacetál, ktorý sa potom bromuje za vzniku cyklického 1,2-etándiylacetálového derivátu (16 α)-16-bróm-3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónu. Bromácia sa môže uskutočniť za použitia pyridíniumtribromidu, fenytrimetylamóniumtribromidu alebo iných bromačných činidiel známych v danej oblasti techniky (Rasmusson, G. H. a ďalší, Steroids 22, 107, 1973). 16 α -Brómová zlúčenina sa dehydrobromuje reakciou s bázou, napríklad s kálium-*tert*-butoxidom v xyléne alebo dimetylsulfoxide, za vzniku Δ^{15} zlúčeniny (Johnson, *supra*; Poirier, D. a ďalší, Tetrahedron 47, 7751, 1991). Slabá hydrolýza etylénketálu, napríklad reakciou s kyselinou *p*-toluénsulfónovou v zmesi acetónu a vody (Johnson, *supra*) poskytuje 3-metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónový derivát, ktorý sa potom konvertuje na acetát 3-metoxygona-1,3,5(10),14,16-pentaén-17-olu kyselinou katalyzovanou reakciou s anhydridom kyseliny octovej, izopropenylacetátom alebo inými acetylačnými činidlami (Rasmusson, *supra*; Bull, *supra*). Acetát reaguje s tetrahydroborátom sodným alebo iným redukčným činidlom (Rasmusson, *supra*) za vzniku (17 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-olového

derivátu. Cyklický 1,2-etándiylacetál 3-metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónu sa môže konvertovať pomocou kyselinou katalyzovanej izomerizácie na príslušný Δ^{14} derivát (Ponsold, K. a ďalší, J. Prakt. Chem. 323, 819, 1981). Odstránenie acetálu a redukcia 17-oxoskupiny poskytne (17 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-olový derivát. 3-Metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ón sa môže podrobiť izomerizácii za vzniku zmesi (14 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónového a 3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónového derivátu, ktorá sa môže spracovať ako je uvedené vyššie.

Ďalšie spôsoby na zavedenie Δ^{15} dvojitej väzby zahŕňujú: konverziu 3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónového derivátu na enolacetát a reakciu s paladnatou soľou (Takahashi, T. a ďalší, Tetrahedron 41, 5747, 1985) alebo reakciu enolátu s metyl-2-pyridínsulfínátom (Dionne, P. a ďalší, Steroids 62, 674, 1997).

Birchova redukcia 7 α -substituovaného (17 β)-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-olového derivátu takto získaného (Caine, D. in Org. Reactions, 23, str. 1, Wiley, New York, 1976) a hydrolýza výsledného (17 β)-3-metoxygona-2,5(10),14-trién-17-olového derivátu potom poskytne 7 α -substituovaný (17 β)-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ónový derivát podľa vynálezu.

V prípadoch, keď 7 α -substituent je tvorený jeho prekursorom (t.j. nenasýtený 7 α -substituent, esterový fragment malónovej kyseliny alebo kyanoskupina, pozri vyššie), táto operácia, ktorá sa môže uskutočniť použitím štandardných spôsobov, sa často musí uskutočniť zároveň so zavedením Δ^{14} dvojitej väzby. Táto presne stanovená postupnosť reakčných krokov nevyhnutná na vytvorenie 7 α -substituenta a na zavedenie Δ^{14} dvojitej väzby, zahrňujúca Birchovu redukciu a konverziu výsledného gona-2,5(10)-diénu na 7 α -substituovaný (17 β)-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ónový derivát podľa vynálezu je predpísaná podľa spôsobov bežných v stratégii syntézy (pozri príklad 4 a 5).

Zlúčeniny podľa vynálezu, v ktorých R^1 je (H,H), (H,OR), NOR, kde R je vodík, (C₁₋₆)alkyl, (C₁₋₆)acyl, sú získané použitím spôsobov známych v danej oblasti techniky zo zlúčenín všeobecného vzorca I, v ktorých R^1 je oxo.

Zlúčeniny podľa vynálezu, v ktorých R^5 je (C_{1-15}) acyl sú získané použitím spôsobov známych v danej oblasti techniky zo zlúčenín všeobecného vzorca I, v ktorých R^5 je vodík.

Zlúčeniny podľa vynálezu, v ktorých prerušovaná čiara znázorňuje $\Delta^{5(10)}$ dvojito väzbu sú pripravené z $\Delta^{2,5(10)}$ diénov získaných Birchovou redukciou. Alternatívne sa môžu pripraviť z Δ^4 derivátov izomerizáciou. 5α -Redukované zlúčeniny podľa vynálezu sú pripravené z Δ^4 derivátov.

Vynález bude ďalej vysvetlený s odkazom na nasledujúce príklady.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

$(7\alpha,17\beta)$ -7-Etyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón (a) a

$(7\alpha,17\beta)$ -7-etyl-17-hydroxyestra-5(10),14-dién-3-ón (b)

i) Chlórtrimetylsilán (19 ml) sa pridal počas 5 minút do suspenzie (17α) -17-hydroxy-19-norpregna-4,6-dién-20-ín-3-ónu [Syntex S.A., GB 935116 (1958); 18,0 g] v zmesi dichlórmetánu (300 ml) a pyridínu (25 ml), a ochladil sa na 0 °C. Po 2 hodinách miešania pri teplote 0 °C sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Produkt sa extrahoval v dichlórmetáne, spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa poskytol (17α) -17-[(trimetylsilyl)oxy]-19-norpregna-4,6-dién-20-ín-3-ón (22,3 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

ii) Zmes lítia (5,0 g) a suchého dietyléteru (200 ml) sa ochladila na -30 °C. Po kvapkách sa pridal brómetán (26,9 ml), výsledný roztok etyllítia sa preniesol do suspenzie jodidu meďného (30,6 g) v suchom tetrahydrofuráne (140 ml), a tá sa ochladila na -30 °C. Výsledný meďný roztok sa miešal 45 minút pri tejto teplote a po kvapkách sa pridal roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (20,0 g) v suchom tetrahydrofuráne (160 ml). Po 45 minútach miešania pri -25 °C sa pridal

chlórtrimetylsilán (20 ml) a miešanie pokračovalo ďalších 30 minút. Reakčná zmes sa naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické vrstvy sa premyli nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 α)-7-etyl-3,17-bis[(trimetylsilyl)oxy]-19-norpregna-3,5-dién-20-ín (29,5 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

iii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (29,5 g) v acetóne (400 ml) sa prečistil kyselinou chlorovodíkovou (2,3 M, 20 ml). Po miešaní 1,5 hodiny pri teplote miestnosti sa reakčná zmes neutralizovala nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanom sodným. Acetón sa odstránil za zníženého tlaku a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 α)-7-etyl-17-hydroxy-19-norpregn-4-én-20-ín-3-ón (19,5 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

iv) Kyselina chlorovodíková (6M, 240 ml) sa pridala po kvapkách do suspenzie dikalitu (240 g) v metanole (1200 ml). Po 20 minútach miešania pri teplote miestnosti sa dikalit zozbieral filtráciou a premyl vodou, pokiaľ nebol neutrálny. Potom sa suspendoval vo vode (960 ml). Za energetického miešania sa pridal trihydrát dusičnanu meďnatého (145 g), nasledovalo opatrné pridanie roztoku uhličitanu sodného (72,2 g) vo vode (360 ml). Po 30 minútach miešania sa produkt zozbieral filtráciou a premyl vodou, pokiaľ nebol neutrálny. Produkt sa vysušil pri 80 °C za zníženého tlaku, čím sa získal uhličitan meďnatý na dikalite (310 g). Zmes produktu získaného z kroku iii (19,5 g) a uhličitanu meďnatého na dikalite (70 g) v toluéne (330 ml) sa zahrievala na teplotu refluxu počas 9 hodín za odstránenia vody v Dean-Starkovom odlučovači. Reakčná zmes sa prefiltrovala, zvyšok sa dôkladne premyl etylacetátom, a filtrát sa koncentroval za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa získal (7 α)-7-etylest-4-én-3,17-dión (9,14 g).

v) Roztok produkt získaného v predchádzajúcom kroku (9,14 g), bromidu meďnatého (13,6 g), a bromidu lítneho (2,64 g) v acetonitrile (285 ml) sa miešal pri teplote miestnosti 4 hodiny. Reakčná zmes sa naliala do vody a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α)-7-etyl-3-hydroxyestra-1,3,5(10)-trién-17-ón (6,54 g).

vi) Zmes produktu získaného v predchádzajúcom kroku (6,54 g), suchého uhličitanu draselného (18,6 g), jódmetánu (5,6 ml) a suchého dimetylformamidu (22 ml) sa miešala pri teplote miestnosti 3,5 hodiny. Reakčná zmes sa naliala do vody a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou, nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α)-7-etyl-3-metoxyesstra-1,3,5(10)-trién-17-ón (6,77 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

vii) Roztok diizopropylamínu (6,15 ml) v suchom tetrahydrofuráne (70 ml) sa ochladil na 30 °C. *n*-BuLi (1,6M roztok v hexánoch, 27,5 ml) sa pridal po kvapkách a miešanie pokračovalo 30 minút. Reakčná zmes sa ochladila na -50 °C a po kvapkách sa pridal roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (6,95 g) v suchom tetrahydrofuráne (100 ml). Miešanie pokračovalo 1 hodinu. Po ochladení na -60 °C sa pridal chlórtrimetylsilán (11,1 ml). Zmes sa miešala 20 minút a potom sa na ňu pôsobilo roztokom fenytrimetylamóniumtribromidu (10,0 g) v suchom pyridíne (31 ml). Po miešaní 1 hodinu pri -60 °C sa zmes naliala do vody a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom hydrogenuhlčitanu sodného a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α ,16 α)-16-bróm-7-etyl-3-metoxyesstra-1,3,5(10)-trién-17-ón (8,75 g).

viii) Zmes produktu získaného v predchádzajúcom kroku (8,75 g), bromidu lítneho (12,7 g) a uhličitanu lítneho (10,9 g) v suchom dimetylformamidu (77 ml) sa zohrieval za refluxu 3,25 h. Po ochladení sa reakčná zmes naliala do vody a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α)-7-etyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ón (4,31 g) a (7 α ,14 β)-7-etyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),15-tetraén-17-ón (1,0 g).

ix) Roztok tetrahydroborátu sodného (0,21 g) a hydroxidu sodného (0,44 g) v metanole (50 ml) sa pridal po kvapkách do roztoku (7 α)-7-etyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónu (4,31 g) v dichlórmétáne (12 ml) a metanole (20 ml), a ochladil sa na 0 °C. Reakčná zmes sa miešala 1,5 hodiny, uhasila acetónom (4 ml) a potom sa naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho. Produkt sa extrahoval v etylacetáte, spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 β)-7-etyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (4,28 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

x) Alkohol získaný v predchádzajúcom kroku (1,5 g) v suchom tetrahydrofuráne (24 ml) sa pridal do refluxujúceho roztoku lítia (2,12 g) v kvapalnom amoniaku (98 ml). Po 4,5 hodine miešania pri -35 °C sa počas 30 minút pridal 2-propanol a amoniak sa nechal odpariť. Pridala sa voda a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 β)-7-etyl-3-metoxiestra-2,5(10),14-trién-17-ol (1,65 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xi) Zmes oxidu kremičitého (5,2 g), nasýteného vodného roztoku kyseliny šťaveľovej (0,52 ml) a dichlórmétanu (14 ml) sa miešala pri teplote miestnosti 10 minút. Potom sa pridal roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (1,6 g)

v dichlórmetáne (5 ml) a miešanie pokračovalo 1,5 hodinu. Pridal sa tuhý hydrogenuhličitan sodný a miešanie pokračovalo 10 minút. Zmes sa prefiltrovala a filtrát sa koncentroval za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou surového produktu sa poskytol (7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestra-5(10),14-dién-3-ón (1,03 g), ¹H-NMR (CDCl₃) δ 5,04 (bs, 1H), 4,03 (t, 1H, J = 8,4 Hz), 2,76 (bs, 2H), 0,98 (s, 3H), 0,93 (t, 3H, J = 6,6 Hz).

xii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (0,45 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón (0,24 g), teplota topenia 102 až 105 °C.

Príklad 2

(7 α ,17 β)-7-Etenyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón

i) Roztok (17 β)-17-(acetyloxy)estra-4,6-dién-3-ónu [Syntex, DE 1143199 (1963); 50,0 g], lítiumtiofénoxidu (1,0M roztok v tetrahydrofuráne, 16 ml), komplex bromidu meďného-dimetylsulfidu (3,18 g) a brómidu lítneho (1,38 g) v suchom tetrahydrofuráne (167 ml) sa ochladil na -15 °C. Vinylmagnéziumchlorid (2M roztok v tetrahydrofuráne, 159 ml) sa pridal po kvapkách (T $\leq$ -15 °C) a miešanie pokračovalo 30 minút. Po kvapkách sa pridal nasýtený vodný roztok chloridu amónneho a miešanie pokračovalo ďalších 15 minút. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez dikalit a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa koncentrovali za zníženého tlaku a zvyšok sa rozpustil v acetóne (1000 ml). Pridala sa kyselina chlorovodíková (4M, 100 ml) a zmes sa miešala pri teplote miestnosti 30 minút. Pridal sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného a acetón sa odstránil za zníženého tlaku. Produkt sa extrahoval v etylacetáte a spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím získala zmes (7 α ,17 β)-17-(acetyloxy)-7-etenylestr-4-én-3-ónu a (7 β ,17 β)-17-(acetyloxy)-7-etenylestr-4-én-3-ónu (57,3 g, pomer 85:15). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

ii) Hydroxid draselný (26,7 g) sa po dávkach pridal do roztoku produktu získaného v predchádzajúcom kroku (57,3 g) v tetrahydrofuráne (833 ml), metanole (738 ml) a vode (238 ml). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 45 minút a potom sa neutralizovala koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou (20 ml). Tetrahydrofurán a metanol sa čiastočne odstránili za zníženého tlaku a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α ,17 β)-7-etenyl-17-hydroxyestr-4-én-3-ón (36,7 g).

iii) Zmes produktu získaného v predchádzajúcom kroku (66,2 g), trimetylortoformiátu (80 ml), bromidu meďnatého (65,2 g) a metanolu (1788 ml) sa zahrievala za refluxu 50 minút. Po ochladení sa reakčná zmes prefiltrovala. Filtrát sa koncentroval za zníženého tlaku a zvyšok sa rozpustil v etylacetáte. Etylacetátový roztok sa premyl nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, vysušil nad síranom sodným a koncentroval za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α ,17 β)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10)-trién-17-ol (42,9 g).

iv) Tetrapropylamóniumrutenistan (2,76 g) sa pridal do roztoku produktu získaného v predchádzajúcom kroku (41,1 g) a 4-metylmorfolín-*N*-oxidu (46,2 g) v acetóne (1080 ml). Po 1 hodine miešania pri teplote miestnosti sa reakčná zmes prefiltrovala cez dikalit a oxid kremičitý. Filtrát sa koncentroval za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10)-trién-17-ón (38,1 g).

v) Kyselina *p*-toluénsulfónová (3,21 g) pridala do roztoku produktu získaného v predchádzajúcom kroku (36,05 g) v zmesi etylénglykolu (108 ml) a trietylortoformiátu (188 ml). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny. Pridala sa voda (1800 ml) a miešanie pokračovalo 1 hodinu. Produkt sa extrahoval v etylacetáte, spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-

etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10)-trién-17-ónu (41,37 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

vi) Fenytrimetylamóniumtribromid (22,6 g) sa pridal po dávkach do roztoku produktu získaného v predchádzajúcom kroku (21,37 g) v suchom tetrahydrofuráne (114 ml). Reakčná zmes sa miešala 40 minút, potom sa na ňu pôsobilo ďalšími dávkami fenytrimetylamóniumtribromidu pokým reakcia nebola úplná. Po 30 minútach miešania sa zmes naliala do vodného roztoku natriumtiosulfátu (10%) a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím a získal cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α ,16 α)-16-bróm-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10)-trién-17-ónu (34,91 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

vii) Na roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (34,91 g) v suchom dimetylsulfoxide (178 ml) sa pôsobilo *tert*-butoxidom draselným (13,5 g) a reakčná zmes sa miešala pri 40 °C 3 hodiny. Ďalšia dávka *tert*-butoxidu draselného (13,5 g) sa pridala po 30 minútach a nasledujúca po 1 hodine. Zmes sa naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónu (17,54 g).

viii) Na roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (31,47 g) v zmesi acetónu (507 ml) a vody (43 ml) sa pôsobilo kyselinou *p*-toluénsulfónovou (1,48 g) a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny. Reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),15-tetraén-17-ón (23,92 g).

ix) Na roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (23,9 g) v suchom toluéne (970 ml) sa pôsobilo kyselinou *p*-toluénsulfónovou (13,5 g) a ten sa potom zahrieval za refluxu 15 minút. Po ochladení sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa poskytol (7 α)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ón (14,9 g) a (7 α ,14 β)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),15-tetraén-17-ón (7,32 g).

x) Tetrahydroborát sodný (1,47 g) sa pridal do roztoku (7 α)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónu (1,5 g) získaného v predchádzajúcom kroku v zmesi tetrahydrofuránu (27,8 ml), etanolu (27,8 ml) a vody (4,55 ml). Reakčná zmes sa miešala 50 minút a potom sa naliala do vody. Produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali, čím sa získal (7 α ,17 β)-7-etenyl-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol. Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xi) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (1,47 g) v suchom tetrahydrofuráne (26 ml) sa pridal do refluxujúceho kvapalného amoniaku (105 ml). Pridal sa lítiový granulát (0,95 g) a reakčná zmes sa miešala 1,25 hodiny. Pridal sa suchý *terc*-butanol (9,2 ml) a reakčná zmes sa miešala ďalších 30 minút. Pridal sa tuhý chlorid amónny a následne sa amoniak nechal odpariť. Pridala sa voda a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 β)-7-etenyl-3-metoxiestra-2,5(10),14-trién-17-ol (1,48 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii príkladu 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (1,48 g) sa hydrolyzoval, čím sa po

stĺpcovej chromatografii a kryštalizácii získal (7 α ,17 β)-7-etenyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón (0,419 g), teplota topenia 129 až 136 °C.

Príklad 3

(7 α ,17 β)-17-Hydroxy-7-propylestra-4,14-dién-3-ón

V nadpise uvedená zlúčenina sa pripravila postupom analogickým postupu opísanému v príklade 1.

¹H-NMR (CDCl₃) δ 5,86 (bs, 1H), 5,08 (m, 1H), 4,00 (q, 1H, J = 7,2 Hz), 1,00 (s, 3H), 0,89 (t, 3H, J = 6,2 Hz).

Príklad 4

(7 α ,17 β)-17-Hydroxy-7-(2-propenyl)estra-4,14-dién-3-ón

i) Zmes lítiového granulátu (obsahujúca 0,5 % sodíka; 5,6 g) v suchom dietyl-éteri (250 ml) sa ochladila na -30 °C. Počas 45 minút sa pridal 1-bróm-3-[[[(1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]propán (101,2 g), pričom sa teplota počas pridávania udržiavala pod 0 °C. Po pridaní bromidu sa reakčná zmes miešala ďalších 45 minút pri 20 °C. V druhej banke sa suspenzia jodidu meďného (38,1 g) v suchom tetrahydrofuráne (200 ml) ochladila na -30 °C. Počas 5 minút sa pridal roztok organolítiovej zlúčeniny (-20 °C $\leq$ T $\leq$ -10 °C) a miešanie pokračovalo ďalších 5 minút. Potom sa počas 5 minút pridal roztok (17 α)-17-[(trimetylsilyl)oxy]-19-nor-pregna-4,6-dién-20-ín-3-ónu (príklad 1, krok i; 51,6 g) v suchom tetrahydrofuráne (200 ml) a reakčná zmes sa miešala pri -20 °C 1 hodinu. Zmes sa naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho a koncentrovaného amóniaku (9:1) a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, vysušili nad sa síranom sodným a koncentrovali. Zvyšok sa rozpustil v acetóne (500 ml). Pridala sa kyselina chlorovodíková (6M, 25 ml) a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny. Pridal sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného a acetón sa odstránil. Produkt sa extrahoval v etylacetáte a spojené organické fázy

sa premyli soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali. Stĺpcovou chromatografiou sa získal (7 α ,17 α)-17-hydroxy-7-(3-hydroxypropyl)-19-norpregn-4-én-20-ín-3-ón (39,4 g).

ii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (38,4 g) v zmesi pyridínu (215 ml) a anhydridu kyseliny octovej (108 ml) sa miešal pri teplote miestnosti 1 hodinu. Reakčná zmes sa naliala do vody (1000 ml) a miešanie pokračovalo ďalšiu 1 hodinu. Produkt sa extrahoval v etylacetáte, spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 α)-17-hydroxy-7-[3-(acetyloxy)propyl]-19-norpregn-4-én-20-ín-3-ón. Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

iii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iv príkladu 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (40,5 g) sa konvertoval na (7 α)-7-[3-(acetyloxy)propyl]estr-4-én-3,17-dión (39,0 g).

iv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku v príkladu 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (39,0 g) sa konvertoval na (7 α)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-3-hydroxyestra-1,3,5(10)-trién-17-ón (36,8 g).

v) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vi príkladu 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (36,8 g) sa konvertoval na (7 α)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-3-metoxyesra-1,3,5(10)-trién-17-ón (19,3 g).

vi) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku v príkladu 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (19,3 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-3-metoxyesra-1,3,5(10)-trién-17-ónu (21,8 g).

vii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (21,8 g) v suchom tetrahydrofuráne (224 ml) sa pridal po kvapkách do suspenzie hydridu hlinitolítneho (6,58 g) v suchom tetrahydrofuráne (448 ml) a tá sa ochladila na 0 °C. Po 1 hodine miešania sa reakčná zmes uhasila pridaním nasýteného vodného roztoku síranu sodného. Pridal sa etylacetát a zmes sa prefiltrovala cez dikalit. Filtrát sa koncentroval za zníženého tlaku, čím sa získal cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxyesetra-1,3,5(10)-trién-17-ónu (18,9 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

viii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (18,7 g) v suchom dimetoxetáne (80 ml) sa po kvapkách pridal do roztoku pyridíniumtribromidu (35,9 g) v zmesi suchého dimetoxetánu (80 ml) a etylénglykolu (28 ml), kým teplota nebola vyššia ako teplota miestnosti. Reakčná zmes sa po 1 hodine miešania naliala do roztoku natriumtiosulfátu (27,1 g) vo vode (159 ml) a produkt sa extrahoval v etylacetáte. Spojené organické fázy sa premyli vodou, nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α ,16 α)-16-bróm-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxyesetra-1,3,5(10)-trién-17-ónu (24,3 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

ix) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii príkladu 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (24,3 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxyesetra-1,3,5(10)-tetraén-17-ónu (13,1 g).

x) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku viii príkladu 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (5,46 g) sa konvertoval na (7 α)-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxyesetra-1,3,5(10)-tetraén-17-ón (5,01 g).

xi) Roztok ketónu získaného v predchádzajúcom kroku (3,19 g) a pyridium-*p*-toluénsulfonát (0,94 g) v izopropenylacetáte (94 ml) sa zahrieval pod refluxom 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa po ochladení naliala do nasýteného vodného roztoku

hydrogenuhličitanu sodného. Produkt sa extrahoval v dietyléteri, spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal acetát (7 α)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-3-metoxiestra-1,3,5(10),14,16-pentaén-17-olu (3,69 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku x príkladu 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,69 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (5,01 g).

xiii) Na roztok alkoholu získaného v predchádzajúcom kroku (2,49 g) a imidazolu (2,2 g) v suchom dichlórmetáne (13 ml) sa pôsobilo *tert*-butyldimetylsilylchloridom (1,46 g). Po 2 hodinách miešania pri teplote miestnosti sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Produkt sa extrahoval v dietyléteri, spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku, čím sa získal (7 α ,17 β)-7-[3-(acetyloxy)propyl]-17-[[[(1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén (3,43 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xiv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,43 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-17-[[[(1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxiestra-1,3,5(10),14-tetraén (1,96 g).

xv) Jód (0,292 g) sa pridal do roztoku trifenyfosfínu (0,32 g) a imidazolu (0,082 g) v suchom dichlórmetáne (7,5 ml). Po zreagovaní jódu, sa pridal roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (0,25 g) v suchom dichlórmetáne (3 ml) a zmes sa miešala 30 minút pri teplote miestnosti. Potom sa naliala do nasýteného vodného roztoku natriumtiosulfátu a produkt sa extrahoval v dietyléteri. Spojené organické fázy sa premyli vodou, nasýteným vodným roztokom hydrogen-

uhličitanu sodného a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa získal $(7\alpha,17\beta)$ -17-[[$(1,1$ -dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-7-(3-jódpropyl)-3-metoxyesstra-1,3,5(10),14-tetraén (0,29 g).

xvi) Na roztok jodidu získaného v predchádzajúcom kroku (0,17 g) v dimetyl-sulfoxide (5 ml) sa pôsobilo *tert*-butoxidom draselným (1,62 g) a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 1 hodinu. Zmes sa naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho a produkt sa extrahoval v dietyléteri. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, vysušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcovou chromatografiou sa získal $(7\alpha,17\beta)$ -3-metoxy-7-(2-propenyl)estra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (0,075 g).

xvii) Alkohol získaný v predchádzajúcom kroku (0,15 g) v suchom tetrahydrofuráne (5 ml) sa pridal do refluxujúceho roztoku lítia (0,42 g) v kvapalnom amoniaku (30 ml). Po 1 hodine miešania pri teplote $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sa pridal *tert*-butanol (4 ml) a miešanie pokračovalo 30 minút. Pridal sa etanol (8 ml) a amoniak sa nechal odpariť. Zmes sa naliala do vody a produkt sa extrahoval do etylacetátu. Spojené organické fázy sa premyli soľankou, sušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku za získania zmesi $(7\alpha,17\beta)$ -3-metoxy-7-(2-propenyl)estra-2,5(10),14-trién-17-olu a $(7\alpha,17\beta)$ -3-metoxy-7-propylestra-2,5(10),14-trién-17-olu (0,144 g, pomer 2:3).

xviii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (0,144 g) sa hydrolyzoval za získania po stĺpcovej chromatografii a preparatívnej HPLC (reverzná fáza), $(7\alpha,17\beta)$ -17-hydroxy-7-(2-propenyl)estra-4,14-dién-3-ónu (0,018 g), $[\alpha]_D^{20} = +6,2^{\circ}$ ($c = 0,89$, dioxán).

Príklad 5

$(7\alpha,17\beta)$ -7-Butyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón (a) a

$(7\alpha,17\beta)$ -7-(3-butenyl)-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón (b)

i) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iv v príklade 2, $(7\alpha,17\beta)$ -17-[[$(1,1$ -dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-7-(3-hydroxypropyl)-3-metoxyesstra-1,3,5(10),14-tetraén (príklad 4, krok xiv; 0,40 g) sa konvertoval na 3-[($7\alpha,17\beta$)-17-[[$(1,1$ -dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-3-metoxyesstra-1,3,5(10),14-tetraén-7-yl]propanál (0,40 g).

ii) Zmes metyltrifenylfosfóniumbromidu (0,94 g), *tert*-butoxidu draselného (0,26 g) a suchého toluénu (10 ml) sa zahrievala za refluxu 1 hodinu. Pridal sa roztok aldehydu získaný v predchádzajúcom kroku (0,40 g) v suchom toluéne (5 ml) a zahrievanie pokračovalo ďalšiu hodinu. Po ochladení, sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho. Produkt sa extrahoval do etylacetátu; spojené organické fázy sa premyli soľankou, sušili nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcová chromatografia poskytla $(7\alpha,17\beta)$ -7-(3-butenyl)-17-[[$(1,1$ -dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-3-metoxyesstra-1,3,5(10),14-tetraén (0,40 g).

iii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (0,40 g) sa konvertoval na $(7\alpha,17\beta)$ -7-(3-butenyl)-3-metoxyesstra-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (0,39 g).

iv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xvii v príklade 4, produkt opísaný v predchádzajúcom kroku (0,39 g) sa konvertoval na zmes $(7\alpha,17\beta)$ -7-butyl-3-metoxyesstra-2,5(10),14-trién-17-olu a $(7\alpha,17\beta)$ -7-(3-butenyl)-3-metoxyesstra-2,5(10),14-trién-17-olu (0,37 g, pomer 3:1).

v) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (0,37 g) sa hydrolyzoval za získania, po stĺpcovej chromatografii a preparatívnej HPLC (reverzná fáza), $(7\alpha,17\beta)$ -7-butyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ónu (0,043 g), $[\alpha]_D^{20} = +7,6^\circ$ ($c = 0,185$, dioxán) a $(7\alpha,17\beta)$ -7-(3-butenyl)-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ónu (0,077 g), $[\alpha]_D^{20} = +4,4^\circ$ ($c = 0,475$, dioxán).

Príklad 6

(7 α ,17 β)-7,13-Dietyl-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ón

i) K roztoku 13-etylgon-4-én-3,17-diónu [Hoffman-La Roche a Co.; AG, DE 1806410 (1967); 100,0 g] v zmesi etanolu (600 ml), dioxánu (800 ml) a trietylortoformiátu (199 ml) sa pridal pyridínium-*p*-toluénsulfonát (5,0 g). Po miešaní počas 4,5 hodiny pri teplote miestnosti sa pridal pyridín (100 ml) a reakčná zmes sa naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Produkt sa extrahoval do etylacetátu; spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, sušili sa nad síranom horečnatým a koncentrovali za zníženého tlaku za získania 3-etoxy-13-etylgon-3,5-dién-17-ónu (146,3 g) Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

ii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku sa (72,3 g) konvertoval na (17 β)-3-etoxy-13-etylgon-3,5-dién-17-ol (58,0 g).

iii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (58,0 g) v tetrahydrofuráne (215 ml), obsahujúci pyridín (2,5 ml) sa pridal k suspenzii tetrachlór-1,4-benzochinónu (49,6 g) v zmesi etanolu (525 ml) a vody (60 ml). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 4,5 hodiny a potom sa spracovala s roztokom hydrogensiričitanu sodného (26,7 g) vo vode (385 ml). Po miešaní počas 30 minút sa pridal nasýtený vodný roztok siričitanu sodného a produkt sa extrahoval do etylacetátu. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom siričitanu sodného, vodou a soľankou, sušili nad síranom horečnatým a koncentrovali za zníženého tlaku za získania 79,0 g surového produktu. Stĺpcová chromatografia spojených surových produktov poskytla (17 β)-13-etyl-17-hydroxygona-4,6-dién-3-ón (56,3 g).

iv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xiii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (56,3 g) sa konvertoval na (17 β)-17-[[1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]-13-etylgon-4,6-dién-3-ón (65,6 g).

v) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku i v príklade 2, použitím etylmagnéziumbromidu sa produkt získaný v predchádzajúcom kroku (25,0 g) konvertoval na (17 α ,17 β)-7,13-dietyl-17-hydroxygon-4-én-3-ón (8,13 g).

vi) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (8,24 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ol (6,28 g).

vii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iv v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (5,72 g) sa konvertoval na (7 α)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ón (5,61 g).

viii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku v v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (5,61 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónu (6,99 g).

ix) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vi v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (6,27 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α ,16 α)-16-bromo-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10)-trién-17-ónu (8,47 g).

x) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (8,47 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónu (8,47 g).

xi) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (4,61 g) v suchom toluéne (120 ml) sa spracoval s pyridínium-*p*-toluénsulfonátom (3,18 g) a zahrieval

sa za refluxu 1 hodinu. Po ochladení sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a produkt sa extrahoval do etylacetátu. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, sušili nad síranom horečnatým a koncentrovali za zníženého tlaku za získania cyklického 1,2-etándiylacetálu (7α)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónu (4,44 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xii) Roztok produktu získaného v predchádzajúcom kroku (4,44 g) v suchom toluéne (120 ml) sa spracoval s kyselinou *p*-toluénsulfónovou (2,29 g) a zahrievan sa za refluxu 45 minút. Po ochladení sa reakčná zmes naliala do nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a produkt sa extrahoval do etylacetátu. Spojené organické fázy sa premyli vodou a soľankou, sušili sa nad síranom horečnatým a koncentrovali za zníženého tlaku za získania (7α)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónu (3,89 g). Produkt sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

xiii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,89 g) sa konvertoval na (7α ,17 β)-7,13-dietyl-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (2,79 g).

xiv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xvii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (2,0 g) sa konvertoval na (7α ,17 β)-7,13-dietyl-3-metoxygona-2,5(10),14-trién-17-ol (1,77 g).

xv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (1,77 g) sa konvertoval na (7α ,17 β)-7,13-dietyl-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ón (0,36 g) s teplotou topenia 181,5 až 183,5 °C.

Príklad 7

(7α ,17 β)-7-Etenyl-13-etyl-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ón

i) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku i v príklade 2, (17 β)-17-[[1,1-dimetyletyl]dimetylsilyl]oxy]-13-etylgon-4,6-dién-3-ón (príklad 6, krok vi; 25,0 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-etenyl-13-etyl-17-hydroxygon-4-én-3-ón (8,20 g).

ii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (7,76 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10)-trién-17-ol (5,16 g).

iii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iv v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (5,43 g) sa konvertoval na (7 α)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10)-trién-17-ón (5,08 g).

iv) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku v v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (4,92 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10)-trién-17-ónu (5,42 g).

v) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vi v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (5,08 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α ,16 α)-16-bróm-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10)-trién-17-ónu (7,41 g).

vi) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 2, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (7,41 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10),15-tetraén-17-ónu (3,87 g).

vii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xi v príklade 6, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,42 g) sa konvertoval na cyklický 1,2-etándiylacetál (7 α)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxYGON-1,3,5(10),14-tetraén-17-ónu (3,30 g).

viii) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xii v príklade 6, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,30 g) sa konvertoval na (7 α)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ón (3,0 g).

ix) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (3,00 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxygona-1,3,5(10),14-tetraén-17-ol (1,70 g).

x) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku xvii v príklade 4, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (1,49 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-etenyl-13-etyl-3-metoxygona-2,5(10),14-trién-17-ol (1,60 g).

xi) Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku iii v príklade 1, produkt získaný v predchádzajúcom kroku (1,60 g) sa konvertoval na (7 α ,17 β)-7-Etenyl-13-etyl-17-hydroxygona-4,14-dién-3-ón (0,47 g) s teplotou topenia 141 až 145 °C.

Príklad 8

(3 β ,7 α ,17 β)-Etylestera-4,14-dién-3,17-diol

Nasleduje postup analogický postupu opísanému v kroku vii v príklade 4, v nadpise uvedená zlúčenina sa pripravila zo (7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ónu (príklad 1a). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 5,39 (m, 1H), 5,01 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 0,98 (s, 3H), 0,87 (t, 3H, J = 7,6 Hz).

Príklad 9

(5 α ,7 α ,17 β)-7-Etyl-17-hydroxyester-14-én-3-ón

Roztok (7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ónu (príklad 1a; 0,67 g) v suchom tetrahydrofuráne (13 ml) sa pridal do refluxujúceho roztoku lítia (0,31 g) v kvapalnom amoniaku (44 ml). Po 30 minútovom miešaní pri teplote -40 °C sa

pridal tuhý chlorid amónny a amoniak sa nechal odpariť. Pridala sa voda a produkt sa extrahoval do etylacetátu. Spojené organické fázy sa premyli nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho a soľankou, sušili sa nad síranom sodným a koncentrovali za zníženého tlaku. Stĺpcová chromatografia poskytla (5 α ,7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestr-14-én-3-ón (0,21 g), ¹H-NMR (CDCl₃) δ 5,02 (s, 1H), 3,98 (t, 1H, J = 8,4 Hz), 0,99 (s, 3H), 0,89 (t, 3H, J = 7,5 Hz).

Príklad 10

Test potlačovania LH: určenie perorálnej aktivity

In vivo účinnosť (po) niekoľkých androgénov podľa vynálezu sa určila v modeli dospelého mužského vykastrovaného potkana v porovnaní so Segaloffovou zlúčeninou.

V tomto modeli je sérový LH vysoký (50x krát vyšší ako u intaktných potkanov, kvôli neprítomnosti negatívnej spätnej väzby testikulárneho testosterónu). Týmto potkanom sa počas 4 dní denne perorálne (po) podávala zlúčenina podľa vynálezu v kvapalnej suspenzii podzemnicového oleja. Pred podaním a 3 hodiny po poslednej orálnej dávke sa zhromaždila krv z chvostovej žily a určil sa sérový LH. Účinnosť (po) androgénov (ED₅₀) sa vyjadrila ako množstvo (mg/kg) androgénu, ktoré potlačuje sérový LH na 50 % (± 10 %).

Časovo rozdelený imunologický fluorometrický test potkanieho LH (TR-IFMA) bol vyvinutý doma, použitím doma vyrobených činidiel, monoklonálnej zachytávajúcej protilátky orientovanej proti β -podjednotke ľudského choriónového gonadotropínu (hCG, ktorý skrížene reaguje s potkaňou β -podjednotkou) a zistenej protilátky značenej biotínom (králičia polyklonálna protilátka orientovaná proti α -podjednotke rekombinantného potkanieho LH). Rekombinantný potkaní LH sa pripravil spôsobmi opísanými Hakolom a ďalšími (1997). V tomto dvojmiestnom-IFMA, sa len intaktný potkaní LH určil konečnou inkubáciou so streptavidín-európiom. Stanovenie v IMFA je založené na fluorescencii lantanideurópie počas relatívne dlhej excitačnej periódy. Rozmedzie koncentrácie štandardného potkanieho LH je 0,001 až 10 ng/ml, pre optimálnu správnosť meraní sérového LH

sa sérové vzorky 8-krát zriedili s testovým pufrom [Hakola, K., Boogaart, P. V., Mulders, J., de Leeuw, R., Schoonen, W., Heyst, J. V., Swolfs, A., Casteren. J. V., Huhtaniemi, I., a Kloosterboer, H. J., Rekombinant rat luteinizing hormone; production by Chinese hamster ovary cells, purification and functional characterization, Molecular & Cellular Endocrinology 128, 47 (1997)].

Výsledky

Tabuľka

ED₅₀ (po) androgénov podľa vynálezu požadovaná na potlačenie sérového LH na 50 % (±10 %).

Príklad	ED ₅₀ (mg/kg)
1a	0,2
2	0,5
Segaloffova zlúčenina*	5

* (7 α ,17 β)-7-metyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón

Príklad 11

Určenie t_{1/2} androgénov podľa vynálezu po inkubácii s ľudskými hepatocytmí

Polčas rozpadu zlúčeniny ako výsledok kontaktu s ľudskými hepatocytmí sa považuje za spoľahlivú indikáciu metabolickej stability. Ako je dobre známe, absorpcia tejto triedy steroidov je vysoká, tento test poskytuje *in vitro* model pre perorálnu aktivitu u ľudí. Bude zrejmé, že kratší polčas rozpadu naznačuje, že zlúčenina bude metabolizovaná rýchlejšie alebo, obrátene, čím dlhší je polčas rozpadu, tým lepšie môže zlúčenina uplatniť svoje účinky na ľudské telo keď sa podáva orálne.

Hepatocyty zozbierané zo zdravých mladých (25 až 45 rokov) mužských darcov orgánov sa chránili vymrazením v tekutom dusíku a držali sa tam až do použitia. Potom sa nechali rozmraziť na 37 °C vo vodnom kúpeli, umiestnili sa okamžite na ľad, dvakrát sa premyli v jednom objeme studeného (4 °C) inkubač-

ného média [Williamovo médium E (bez fenolovej červenej) s Glutamaxom I®, gentamicín 50 µg/ml, inzulín 1 µM, hydrokortizón hemisukcinát 10 µM, sérum fetálneho mláďaťa 0 % (obj.)], odčítanie a preverenie životaschopnosti sa uskutočnilo pomocou exklúzie Trypanovej modrej. Bunky sa inkubovali ako suspenzie v 12-jamkových (nepotiahnutých) platniach pri nominálnej hustote $0,5 \times 10^6$ buniek/jamku v 1,5 ml média pri 37 °C so zmesou vzduch/O₂/CO₂ (55/40/5). Platne sa položili na kruhový trepačku s približne 10 otáčkami za minútu.

Hepatocyty sa inkubovali s konečnou koncentráciou 10nM testovanej zlúčeniny. Inkubácie sa skončili po 0,5, 1 a 3 hodinách pipetovaním celej inkubačnej zmesi do sklenenej skúmavky a pridaním jedného objemu acetónu na ľade. Acetón sa sušil pod dusíkovým prúdom pri teplote miestnosti, objem sa upravil na 1,5 ml a skúmavky sa odstreďovali pri teplote 4 °C pri 10000 x g počas 30 minút. Deproteinizované supernatanty sa zozbierali na LC-MS/MS analýzu.

Výsledky

Tabuľka

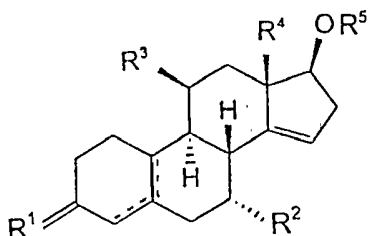
$t_{1/2}$ androgénov podľa vynálezu po inkubácii s ľudskými hepatocytmi

Príklad	$t_{1/2}$
1a	157
2	40
Segaloffova zlúčenina*	60

* (7 α ,17 β)-7-metyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Androgénové zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

R^1 znamená O, (H,H), (H,OR), NOR, kde R znamená vodík, (C_{1-6}) alkyl alebo (C_{1-6}) acyl;

R^2 je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z (C_{2-4}) alkylu, (C_{2-4}) alkenylu alebo (C_{2-4}) alkinylu, z ktorých každý môže byť substituovaný halogénom; alebo

R^2 znamená cyklopropyl alebo cyklopropenyl, z ktorých každý môže byť substituovaný (C_{1-2}) alkylom alebo halogénom;

R^3 znamená vodík, (C_{1-2}) alkyl alebo etenyl;

R^4 znamená (C_{1-2}) alkyl;

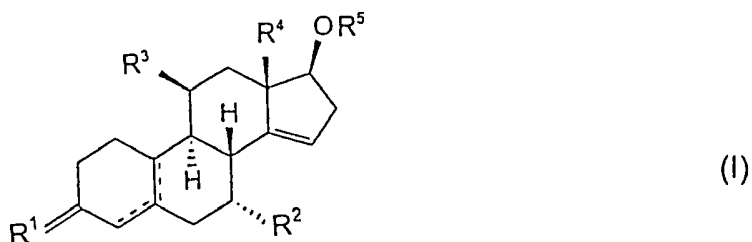
R^5 znamená vodík alebo (C_{1-15}) acyl;

a prerušovaná čiara znamená prípadné väzby.

2. Androgénové zlúčeniny podľa nároku 1, kde R^2 je vybrané zo skupiny zahrnujúcej etyl, etenyl, etinyl, propyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 1-propinyl, 1,2-propadienyl a cyklopropyl.

3. Androgénové zlúčeniny podľa nároku 2, kde R^2 je C_2 .

4. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje ako účinnú látku steroidnú zlúčeninu vzorca I



R¹ znamená O, (H,H), (H,OR), NOR, kde R znamená vodík, (C₁₋₆)alkyl alebo (C₁₋₆)acyl;

R² je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z (C₂₋₄)alkylu, (C₂₋₄)alkenylu alebo (C₂₋₄)alkinylu, z ktorých každý môže byť substituovaný halogénom; alebo

R² znamená cyklopropyl alebo cyklopropenyl, z ktorých každý môže byť substituovaný (C₁₋₂)alkylom alebo halogénom;

R³ znamená vodík, (C₁₋₂)alkyl alebo etenyl;

R⁴ znamená (C₁₋₂)alkyl;

R⁵ znamená vodík alebo (C₁₋₁₅)acyl;

a prerušovaná čiara znamená prípadné väzby,

a farmaceuticky prijateľný nosič.

5. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 4, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v steroidnej zlúčenine R² je vybrané zo skupiny zahrnujúcej etyl, etenyl, etinyl, propyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 1-propinyl, 1,2-propadienyl a cyklopropyl.

6. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 4, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že steroidnou zlúčeninou je (7 α ,17 β)-7-etyl-17-hydroxyestra-4,14-dién-3-ón alebo (7 α ,17 β)-7-etenyl-17-hydroxyestra-5(10),14-dién-3-ón.

7. Farmaceutický prostriedok podľa ktoréhokoľvek z nárokov 5 až 6, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že je vhodný na orálne podávanie.

8. Použitie androgénovej zlúčeniny všeobecného vzorca I na výrobu lieku na liečenie androgénovej nedostatočnosti.

9. Súprava pre mužskú antikoncepciu, obsahujúca prostriedky na podávanie progestagénu a prostriedky na podávanie androgénu, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že druhými prostriedkami je farmaceutický prostriedok podľa ktoréhokoľvek z nárokov 4 až 7.