

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(à utiliser que pour les commandes de reproduction)

2 640 976

(21) N° d'enregistrement national :

88 16993

(51) Int Cl⁵ : C 07 J 31/00; A 61 K 31/565.

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 22 décembre 1988.

(71) Demandeur(s) : ROUSSEL-UCLAF, Société anonyme à directoire et conseil de surveillance. — FR.

(30) Priorité :

(72) Inventeur(s) : Jean-François Gourvest ; Dominique Le-suisse ; Daniel Philibert ; Jean-Paul Vevert.

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 26 du 29 juin 1990.

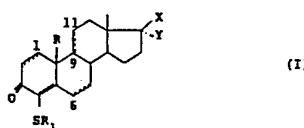
(73) Titulaire(s) :

(60) Références à d'autres documents nationaux appartenus :

(74) Mandataire(s) : Hubert Fritel, Roussel-Uclaf.

(54) Nouveaux produits stéroïdes comportant un radical alkylthio en position 4, leur procédé de préparation, leur application comme médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

(57) L'invention a pour objet les produits de formule I :



dans laquelle :

R = alkyle, alcényle, alcynyle ou CN

R₁ = alkyle C₁₋₆ substitué par un ou plusieurs radicaux choisis parmi alkylxy, alkylthio C₁₋₄, NO₂, CN, halogènes.

X et Y représentent :

soit ensemble un groupe oxo

soit X = OH éventuellement acylé ou éthérifié

et Y = H

les traits pointillés en 1(2), 6(7) et 9(11) représentent une éventuelle double liaison;

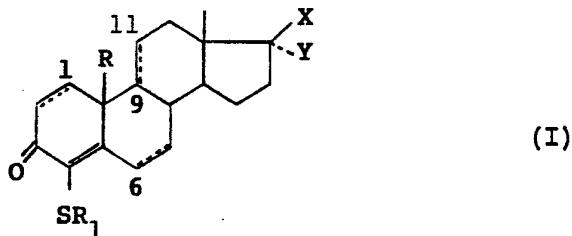
leur procédé de préparation, leur application comme médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

2 640 976 - A1

La présente invention concerne de nouveaux produits stéroïdes comportant un radical alkylthio substitué en position 4, leur procédé de préparation, leur application comme médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

5 L'invention a pour objet, les produits de formule générale (I) :

10



15

dans laquelle le substituant R représente un radical alkyle alcényle ou alcynyle ayant au plus 4 atomes de carbone ou un radical CN ;

20 R₁ représente un radical alkyle de 1 à 6 atomes de carbone substitué par un ou plusieurs substituants compris dans le groupe formé par les radicaux alkyloxy ou alkylthio ayant de 1 à 4 atomes de carbone, nitro, cyano et les atomes d'halogènes ; les substituants X et Y sont tels que soit ils représentent ensemble un groupement oxo soit X représente un radical hydroxy éventuellement acyclé ou éthérifié et Y représente un atome d'hydrogène, les traits pointillés en position 1(2), 6(7) et 9(11) indiquent la présence éventuelle d'une seconde liaison entre les carbones qui les portent.

25 Parmi les valeurs de R, on peut citer les radicaux méthyle, éthyle, propyle, butyle, isobutyle, vinyle, allyle, éthynyle, propynyle. On préfère les valeurs méthyle, éthyle, éthynyle ou propynyle. La valeur préférée est la valeur méthyle. Par propynyle on entend 1 ou 2-propynyle.

30 Parmi les valeurs de R₁, on peut citer les valeurs méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, butyle secondaire, tert-butyle, pentyle, hexyle. On préfère les valeurs alkyle ayant de 1 à 4 atomes de carbone. La valeur méthyle est la valeur préférée.

35 Parmi les radicaux alkyloxy et alkylthio qui substituent

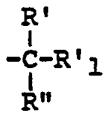
le radical alkyle, on peut citer les valeurs méthoxy, méthylthio, éthoxy et éthylthio, propyloxy et propylthio ainsi que n-butyl, sec-butyl ou tert-butyloxy ou thio. On préfère les radicaux alkyloxy et alkylthio ayant 1 ou 2 atomes de carbone et de préférence encore les radicaux méthoxy et méthylthio.

Les atomes d'halogènes peuvent aussi être des atomes de fluor, chlore, brome ou iodé. On préfère les atomes de fluor ou de chlore.

Par radical hydroxy éventuellement acylé ou éthérifié on entend un radical OR_{17} dans lequel R_{17} représente un atome d'hydrogène, un radical acyle dérivé d'un acide organique carboxylique ayant de 1 à 18 atomes de carbone ou le reste d'un radical éther facilement éliminable. Lorsque R_{17} représente un radical acyle, R_{17} représente de préférence le reste d'un acide aliphatique ou cycloaliphatique saturé ou insaturé et notamment le reste d'un acide alcanoïque tel que par exemple l'acide acétique, propionique, butyrique ou isobutyrique, valérique ou undécylque, le reste d'un acide hydroxyalcanoïque tel que par exemple l'acide hydroxyacétique, le reste d'un acide cycloalkylcarboxylique ou (cycloalkyle) alcanoïque tel que par exemple l'acide cyclopropyl, cyclopentyl ou cyclohexylcarboxylique, cyclopentyle ou cyclohexyle acétique ou propionique, le reste d'un acide benzoïque ou d'un acide phénylalcanoïque tel que l'acide phényl acétique ou phényl propionique, le reste d'un amino acide tel que l'acide diéthylamino acétique ou aspartique ou le reste de l'acide formique. On préfère les radicaux acétyle, propionyle ou benzoyle. Parmi les radicaux éthers facilement éliminables on préfère les radicaux tert-butyle, benzyle ou méthoxyméthyle.

Il est entendu que le radical R_1 peut être monosubstitué par l'un des radicaux mentionnés ci-dessus ainsi que par les radicaux nitro et cyano mais qu'il peut être substitué par plusieurs substituants identiques ou différents. Parmi les radicaux pluri-substitués on préfère les radicaux pluri-substitués par des atomes d'halogènes tels que les radicaux CHF_2 .

Parmi les valeurs de R_1 , on préfère les radicaux du type :



dans lesquels R' représente un atome d'hydrogène ou d'halogène, R'' représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone et R'₁ représente un radical alkyloxy ou alkylthio ayant de 1 à 4 atomes de carbone, nitro, cyano ou un atome d'halogène.

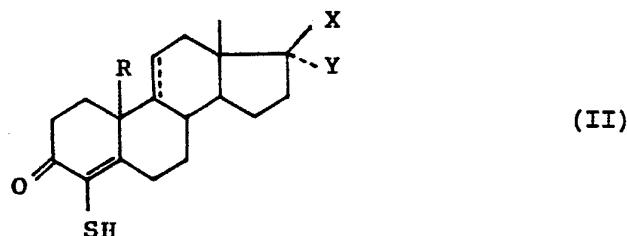
Parmi les produits de formule (I) telle que définie ci-dessus on préfère les produits de formule (I) dans laquelle R représente un radical méthyle et R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Hal ou CHHal₂ dans lesquels Hal représente un atome d'halogène, CH₂CN, CH₂OCH₃, CH₂SCH₃ et CH₂NO₂ et plus particulièrement encore les produits de formule (I) dans laquelle R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Cl, CH₂F ou CHF₂ et R représente un radical méthyle.

Parmi les produits de formule (I), l'invention a particulièrement pour objet les produits décrits ci-après dans les exemples et en particulier :

- la 4-[(fluorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione et
- la 4-[(chlorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione.

La présente invention a aussi pour objet un procédé de préparation des produits de formule générale (I), caractérisé en ce que l'on fait agir un halogénure de formule Hal'R₁ dans laquelle Hal' représente un atome d'halogène sur un produit de formule (II) :

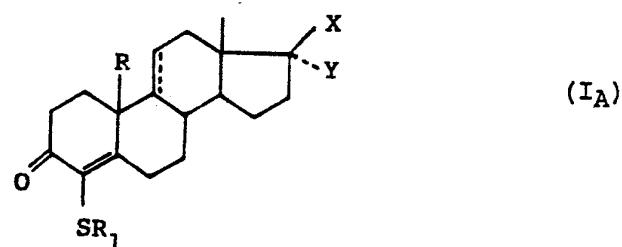
25



30

pour obtenir un produit de formule (I_A) :

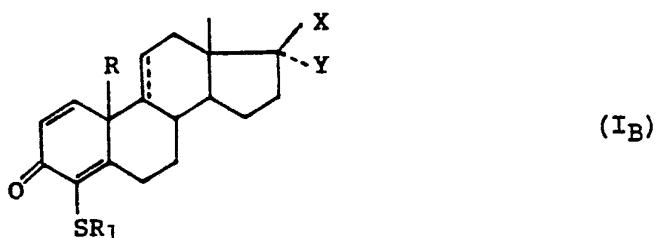
35



40

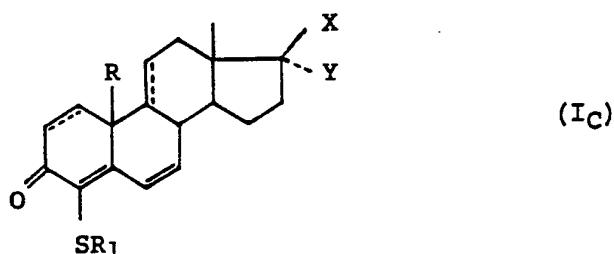
correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle les traits pointillés en position 1(2) et 6(7) représentent une simple liaison entre les carbones qui les portent et si désiré l'on fait agir, sur le produit de formule (IA) un réactif de déshydrogénéation pour obtenir un produit de formule (IB) :

10



correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle le trait pointillé en position 1(2) indique la présence d'une seconde liaison entre les carbones qui le portent et le trait pointillé en position 6(7) représente une simple liaison et si désiré l'on fait agir, sur les produits de formule (IA) ou (IB) d'abord un réactif de protection de la fonction 3-céto delta-4 puis un réactif de déshydrogénéation pour obtenir un produit de formule (IC) :

25



correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle le trait pointillé en position 6(7) indique la présence d'une seconde liaison entre les carbones qui le portent.

Dans des conditions préférentielles d'exécution de ce procédé, décrit ci-dessus, on opère comme suit :

- on fait d'abord agir sur le produit de formule (II) une base forte qui peut être par exemple le tert-butylate de potassium, l'hydrure de sodium ou le diisopropylamidure de lithium. On opère par exemple dans un solvant tel que le tétrahydrofurane.
- l'halogénure Hal'R₁ que l'on utilise est de préférence le bromure, ou l'iodure. On peut aussi utiliser le chlorure.

- la transformation éventuelle des produits de formule (I_A) en produits de formule (I_B) est réalisée de préférence par la DDQ.
 - la transformation éventuelle des produits de formules (I_A) ou (I_B) en produits de formule (I_C) est réalisée de préférence par action d'abord d'un orthoformiate tel que l'orthoformiate d'éthyle en présence par exemple, d'acide para-toluènesulfonique dans l'éthanol ou un solvant usuel, puis par action du chloranile dans un solvant tel que l'acétone aqueux.
- 10 L'observation selon laquelle environ 35 % des cancers du sein sont estrogéno dépendants a conduit à rechercher les moyens de limiter la production d'estrogènes.
- Après avoir utilisé des méthodes chirurgicales consistant à supprimer les sources d'estrogènes (ovaires) ou les sources de leurs précurseurs biosynthétiques, les androgènes (glandes surrénales) on a cherché à développer des méthodes moins traumatisantes.
- (ABUL-HAJJ Y.J.O. Steroid Biochem 13 (1980), 1935 ; BRODIE A.M.H. Cancer Res. 42, (1982), 3312).
- 20 A cet égard l'inhibition spécifique du dernier stade enzymatique de l'aromatisation des androgènes 3-céto delta-4 en estrogènes phénoliques, semble le moyen le plus efficace et le moins perturbant. L'enzyme responsable de cette transformation est une mono-oxygénase connue comme étant un cytochrome P450 : l'AROMATASE (BRODIE A.M.H. J. Endocrinol. Invest. 2 (1979) 445) qui requiert de l'oxygène et la NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide phosphate réduit) pour effectuer l'aromatisation des androgènes en estrogènes.
- Sur la base d'un autre mécanisme, d'autres auteurs (par exemple MARCOTTE et Al, Biochemistry 21, (1982) 2773, FLYNN et Al Biochem. Biophys. Res. Com. 103 (1981) 713) ont proposé des inhibiteurs suicides pour l'Aromatase. Des inhibiteurs compétitifs tels que l'Aminoglutéthimide ont également été proposés dans le traitement des cancers métastasiques du sein. Ce produit s'est cependant révélé comme n'étant pas spécifique de l'Aromatase : il s'attaque en effet à d'autres processus enzymatiques que celui conduisant des androgènes aux estrogènes.
- Les produits objets de la présente invention présentent au contraire une activité spécifique du type inhibiteurs suicides de l'aromatase (cytochrome P450 aromatase).

Cette propriété inhibitrice de l'aromatase rend les produits de la présente invention aptes à être utilisés dans les affections suivantes :

- cancers du sein, de l'endomètre, de l'ovaire et du pancréas,
- 5 - gynécomasties,
- troubles bénins du sein,
- endométriose,
- affections polycystiques de l'ovaire,
- hyperplasie prostatique et plus généralement dans le traitement des hyperestrogénémies.
- 10

L'invention a donc pour objet, à titre de médicaments, les produits de formule générale (I) telle que décrite ci-dessus.

L'invention a plus spécialement pour objet, à titre de médicaments, les produits de formule générale (I), dans laquelle R représente un radical méthyle et R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Hal ou CHHal₂ dans lesquels Hal représente un atome d'halogène, CH₂CN, CH₂OCH₃, CH₂SCH₃ et CH₂NO₂, ainsi que les produits de formule générale (I) dans laquelle R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Cl, CH₂F ou CHF₂ et R représente un radical méthyle.

L'invention a tout spécialement pour objet, à titre de médicament :

- la 4-[(fluorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione et
- la 4-[(chlorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione.

La posologie varie en fonction de l'affection à traiter et de la voie d'administration. Elle peut varier par exemple de 0,1 à 50 mg/kg de préférence 0,5 à 10 mg/kg et par jour chez l'adulte par voie orale.

Les nouveaux produits de formule (I) peuvent être employés pour préparer des compositions pharmaceutiques renfermant, à titre de principe actif, l'un au moins desdits produits.

Les produits de formule (I) sont utilisés par voie digestive, parentérale ou locale par exemple par voie transdermique. Ils peuvent être prescrits sous forme de comprimés simples ou dragéifiés, de gélules, de granulés, de suppositoires, d'ovules, de préparations injectables, de pommades, de crèmes, de gels, de patches, lesquels sont préparés selon les méthodes usuelles.

Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des excipients habituellement employés dans ces compositions phar-

maceutiques, tels que le talc, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le beurre de cacao, les véhicules aqueux ou non, les corps gras d'origine animale ou végétale, les dérivés paraffiniques, les glycols, les divers agents mouillants, dispersants ou émulsifiants, les conservateurs.

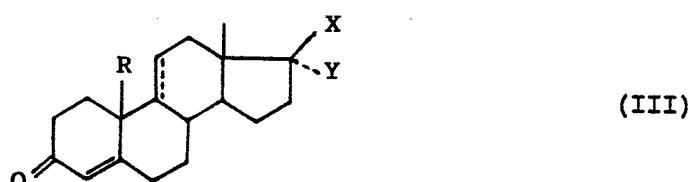
L'invention a donc pour objet les compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un produit de formule (I).

- 10 Certains des produits de formule (II) utilisés au départ du procédé de l'invention sont connus. C'est ainsi que le 4-thioandrostènedione utilisé au départ des produits décrits ci-après dans les exemples est décrit dans les publications suivantes :
- 15 - J. Med. Chem. 28, 788 (1985)
 - J. Med. Chem. 29, 582 (1986).

Les produits de formule (II) qui ne sont pas connus peuvent être préparés comme suit :

On fait agir sur un produit de formule (III) :

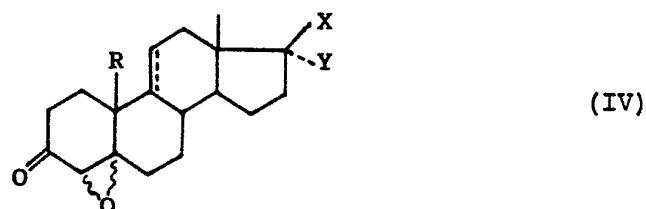
20



25

un agent d'époxydation qui peut être par exemple, l'eau oxygénée en présence de soude dans un mélange de solvant tel que le chlorure de méthylène et le méthanol ou le peroxyde de tert-butyle en présence de triton B dans le méthanol, pour obtenir un produit de formule (IV) :

35



40

sur lequel on fait agir l'acide thioacétique dans un solvant tel que le dioxane ou le méthanol puis,
soit un acide tel que l'acide chlorhydrique dans un solvant tel que le méthanol, le tétrahydrofurane, l'acétone,
5 soit un alcoolate alcalin tel que le méthylate de sodium dans le méthanol,
soit la potasse dans le méthanol, pour obtenir le produit de formule (II).

Les produits de formule (III) à leur tour sont décrits ou
10 sont accessibles par des méthodes connues de l'homme du métier.

Des produits de formule (III) possédant une double liaison en position 9(11) sont décrits, notamment, dans les références suivantes :

15 R = alkyle : Brevet français 1.255.101 ; Brevet britannique GB 1.081.307 ; Bull. Soc. Chim-Fr. 1970 (7) p. 2556-64.

R = alcényle : Brevet américain USP 3.284.448. Steroïds 1981, 37 (4), 361-82.

20 R = alcynyle : Brevet allemand 36.44.358, J. Biol. Chem. 1981, 256 (3), 1076-9.

Les produits de formule (III) ne possèdent pas de double liaison en position 9(11) sont décrits, notamment dans les références suivantes :

25 R = alkyle, alcényle, alcynyle et CN : Steroïds 1982, 39 (3) p. 325-44.

R = alcynyle : Brevet américain USP 3.218.316.

En plus des produits décrits dans les exemples, qui illustrent l'invention sans toutefois la limiter, les produits suivants constituent des produits pouvant être obtenus dans le cadre de la présente invention, les substituants R, R₁, X et Y sont ceux indiqués dans la formule (I).

| | R | R ₁ | X | Y | |
|----|-----------------------|--------------------|-----|---|--|
| 35 | C≡C-H | CH ₂ Cl | C=O | | |
| | CH ₃ | " | " | " | |
| 40 | CH ₂ -C≡CH | " | " | " | |

EXEMPLE 1 : 4-[(fluorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione.a) Préparation du fluoroacétate d'argent

On mélange 25 g d'acide fluoroacétique, 250 cc d'acétone et 50 cc d'eau. On additionne en 5 minutes 25 cc d'ammoniaque 5 22°Be. On agite durant 20 minutes à température ambiante. Le mélange est ensuite amené à sec sous vide. On reprend par 50 cc d'acétone et 20 cc d'eau et évapore à nouveau. Le solide est remis en suspension dans 500 cc d'acétone et on additionne 100 cc d'eau. On refroidit à 5°C puis additionne sous agitation 10 54,4 g de nitrate d'argent. Le mélange est agité durant 1 heure à 0-5°C, filtre, lave à l'acétone, puis à l'éther et séche sous vide à 70°C à l'abri de la lumière. On obtient 57 g de produit utilisé tel quel pour la réaction suivante.

b) Préparation du bromofluorométhane

15 On mélange 6,3 g de sel d'argent, préparé ci-dessus, 100 cc de tétrachlorure de carbone et 1,8 cc de brome (0,031 mm). On agite à reflux (environ 64°C) pendant 2 heures 30 minutes jusqu'à fin de dégagement de CO₂. On refroidit à 0°C.

c) Préparation du thiolate

20 A un mélange de 2 g de 4-thioandrostènedione en solution dans 80 cc de tétrahydrofurane, à 0°C, on additionne 1 g de tert-butylate de potassium. On agite durant 30 minutes à 0°C.

d) Réaction d'alkylation

25 On fait passer le bromofluorométhane formé dans la solution de thiolate pendant 2 heures à 20°C à l'aide d'azote comme gaz vecteur. On verse sur 80 ml d'une solution saturée de chlorure d'ammonium et 120 ml de dichlorométhane. On extrait au dichlorométhane, séche sur MgSO₄ et concentre. Le produit brut est chromatographié sur silice (éluant : AcOEt-Hexane (3:7)). On obtient de cette façon le produit attendu (RF = 0,56, dans 30 AcOEt-Hexane 1:1). On le met en solution dans du dichlorométhane et traite à chaud avec du charbon actif. On obtient 457 mg (21 %) d'une huile jaune qui cristallise. Une recristallisation dans l'éther diéthylique fournit le produit sous 35 forme de cristaux incolores (210,6 mg). F = 129°C.

Analyses

- RMN (CDCl₃, 300 MHz) 0,93 (18-Me), 1,28 (19-Me), 3,77 (dt, H6éq), 5,49 (d, SCH₂F, J=53 Hz).

- IR (CHCl₃) 1735 cm⁻¹ (17-cétone), 1675 et 1560 (3-cétone).

40 - Microanalyse :

10

| | C % | H % | S % | F % |
|-----------|-------|------|------|------|
| Calculé : | 68,54 | 7,76 | 9,15 | 5,42 |
| Trouvé : | 68,8 | 8,0 | 9,0 | 5,2 |

EXAMPLE 2 : 4-(chlorométhylthio) androst-4-ène-3,17-dione

5 On mélange 1 g de 4-thioandrostènedione, 50 ml de tétra-hydrofurane à 0°C et on ajoute 422,6 mg de tert-butylate de potassium. La solution est agitée 15 minutes à 0°C. On additionne ensuite 0,43 mg de bromochlorométhane, le mélange est agité 15 minutes à température ambiante. On additionne 10 ml
10 d'une solution saturée de chlorure d'ammonium et extrait le mélange au dichlorométhane. Les extraits organiques sont séchés sur MgSO₄, concentrés et chromatographiés (mélange éluant : AcOEt-Hexane 3:7 puis 1:1). Une première fraction (Rf=0,63 dans AcOEt-Hexane 1:1) (100 mg, 9,6 %) est du
15 androsta-3,5-dièno[4,3-d][1,3-oxathiole]-17-one. La fraction suivante est le produit attendu (Rf=0,48) qui après une recristallisation dans l'éther éthylique fournit 420 mg (36 %) de produit attendu.

Analyses

- 20 - RMN (CDCl₃, 90Mhz) 0,96 (s, 18-Me), 1,3 (s, 19-Me), 3,65-3,81 (m, H6) 4,81 (s, CH₂S).
- IR (CHCl₃) 1734 (17-cétone), 1675, 1555 (cétone conjuguée).
- SM 366 (M⁺), 330 (M-HCl), 315, 300.

Pf=174°C.

- 25 - Microanalyse :

| | C % | H % | S % |
|-----------|------|------|------|
| Calculé : | 65,5 | 7,42 | 8,74 |
| Trouvé : | 65,8 | 7,7 | 8,2 |

Analyses de l'androsta-3,5-dièno[4,3-d][1,3-oxathiole]-17-one

- 30 - RMN (CDCl₃, 90Mhz) 0,92 (s, 18-Me), 1,03 (s, 19-Me) 5,16(H5), 5,51 (CH₂S).
- IR (CHCl₃) 1734 (17-cétone), 1657, 1634 (système conjugué).

EXAMPLE 3 : 4-[(méthylthio) méthylthio] androst-4-ène-3,17-dione.

35 On mélange 1 g de 4-thioandrostènedione, 40 cc de tétra-hydrofurane, refroidit le mélange à 0°C et additionne à cette température 387 mg de tert-butylate de potassium. On agite 30 minutes à 0°C. On additionne ensuite 0,313 ml de chlorométhyle thiométhyle éther. On agite le mélange 30 minutes à température ambiante, verse dans 40 ml d'une solution saturée
40

de chlorure d'ammonium et 60 ml de dichlorométhane. On extrait au dichlorométhane, séche sur $MgSO_4$ et concentre. Le produit brut est chromatographié sur silice (éluant : AcOEt-Hexane (3:7)). Une première fraction non identifiée est éliminée. On 5 collecte ensuite le produit attendu sous forme d'une huile jaune (560 mg). Une cristallisation dans l'éther diéthylique fournit 260 mg de produit attendu.

Analyses

- RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) 0,93 (18-Me), 1,28 (19-Me) 2,14 (s, SMe), 3,82 (AB, SCH_2S).
- IR ($CHCl_3$) 1735 et 1406 cm^{-1} (17-cétone), 1673 et 1557 (3-cétone).
- Microanalyse :

| | C % | H % | |
|--------------|-------|------|-------|
| 15 Calculé : | 66,62 | 7,99 | 16,94 |
| Trouvé : | 66,7 | 8,0 | 16,6 |

EXEMPLE 4 : 4-[méthoxyméthyl] thio androst-4-ène-3,17-dione

On mélange 1 g de 4-thioandrostènedione, 40 cc de tétra-hydrofurane, refroidit le mélange à 0°C et ajoute à cette 20 température 387 mg de tert-butylate de potassium. On agite 30 minutes à 0°C. On additionne ensuite 0,308 ml de bromométhyle méthyle éther. On agite le mélange 30 minutes à température ambiante, verse dans 40 ml d'une solution saturée de chlorure d'ammonium et 60 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est 25 extraite au dichlorométhane, on séche sur $MgSO_4$ et concentre. Le produit brut est chromatographié sur silice (éluant : AcOEt-Hexane (3:7)). Le produit obtenu ($RF = 0,5$, AcOEt-Hexane 1:1) sous forme d'une huile jaune est cristallisé dans l'éther diéthylique, on obtient 109 mg de produit attendu, sous forme 30 d'une poudre orange.

Analyses

- RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) 0,93 (18-Me) 1,26 (19-Me) 3,74 (s, OMe) 3,76 (ddd, H6équat.) 4,69 et 4,73 (2d, SCH_2O).
- IR ($CHCl_3$) 1735 cm^{-1} (17-cétone) 1674 et 1558 (3-cétone).
- 35 - Microanalyse :

| | C % | H % | S % |
|-----------|-------|------|------|
| Calculé : | 69,57 | 8,34 | 8,94 |
| Trouvé : | 69,5 | 8,1 | 8,6 |

EXEMPLE 5 : 4-(difluorométhylthio) androst-4-ène-3,17-dione

40 On mélange 1 g de 4-thioandrostènedione et 20 ml de tétra-

hydrofuranne, refroidit le mélange à 0°C et additionne à cette température, 422,6 mg de tert-butylate de potassium. On agite durant 5 minutes à 0°C. On introduit ensuite une quantité importante de fréon en une fois. L'excédent de fréon remplit 5 le ballon de baudruche vide relié à l'appareil. On agite le mélange durant 12 heures à température ambiante. Après concentration, on chromatographie sur silice (éluant : AcOEt-Hexane 3:7, suivi de 1:1). On obtient 610 mg de produit attendu. Une recristallisation dans l'AcOEt fournit 400 mg de composé 10 attendu, sous forme de cristaux.

Analyses

- RMN (CDCl_3 , 250 Mhz) 0,93 (s, 18-Me) 1,29 (s, 19-Me) 6,91 (t, $J=59\text{Hz}$, CHF_2) 3,68 (H6).
- IR (CHCl_3) 1735 (17-cétone) 1680, 1559 (cétone conjuguée) 15 1050-1070 (C-F).
- SM 368 (M+), 348 (M-F) 317 (M- CHF_2) 285 (M- SCHF_2) 267
- PF = 129°C.
- Microanalyse :

| | C % | H % | S % | F % |
|-----------|-------|------|-----|-----------|
| Calculé : | 65,19 | 7,11 | 8,7 | 10,31 |
| Trouvé : | 65,4 | 7,2 | 8,4 | 9,6 - 9,9 |

EXEMPLE 6 : [(3,17-dioxo 4-androstène-4-yl) thio] acetonitrile

On mélange 1 g de 4-thioandrostènedione, 40 cc de tétra-hydrofuranne, refroidit à 0°C et ajoute à cette température 25 387 mg de tert-butylate de potassium. On agite 30 minutes à 0°C. On ajoute ensuite 0,263 mg de bromoacétonitrile et agite 30 minutes à température ambiante. On verse dans 40 ml d'une solution saturée de chlorure d'ammonium et 60 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane, séchée sur MgSO_4 et concentrée. Le produit brut est chromatographié sur silice (éluant : AcOEt-Hexane (3:7)). On obtient de cette façon 640 mg de produit attendu sous forme 30 d'une huile. Une cristallisation dans l'éther diéthylique fournit 260 mg de produit sous forme de cristaux.

Analyses

- RMN (CDCl_3 , 300 MHz) 0,93 (18-Me) 1,31 (19-Me) 3,51 et 3,60 (2d, $J=17\text{Hz}$, SCH_2CN) 3,75 (dt, H6équat.).
- IR (CHCl_3) 2232 cm^{-1} (CN), 1735 cm^{-1} (17-cétone) 1675 et 1556 (3-cétone).
- 40 - Microanalyse :

| | C % | H % | S % | N % |
|-----------|-------|------|------|------|
| Calculé : | 70,55 | 7,61 | 8,97 | 3,92 |
| Trouvé : | 70,7 | 7,7 | 8,7 | 3,9 |

EXEMPLE 7 : 4-[(nitrométhyl) thiol] androst-4-ène-3,17-dione

5 On mélange 1 g de 4-thiandrostènedione, 40 cc de tétrahydrofuranne, refroidit à 0°C et ajoute à cette température 387 mg de tert-butylate de potassium. On agite 30 minutes à 0°C. On ajoute ensuite 0,263 ml de bromonitrométhane, agite 30 minutes à température ambiante et verse dans 40 ml d'une 10 solution saturée de chlorure d'ammonium et 60 ml de dichlorométhane, la phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le produit brut est chromatographié sur silice (éluant : d'AcOEt-Hexane (3:7)). On obtient de cette façon 134 mg de produit attendu.

15 Analyses

- RMN (CDCl₃, 200 MHz) 0,93 (18-Me) 1,28 (19-Me) 3,61 (ddd, H6équat.) 5,34 (AB, J=12,5Hz, SCH₂NO₂).
- IR (CHCl₃) 1735 cm⁻¹ (17-cétone) 1677 et 1553 (3-cétone).

Etude pharmacologique des produits de l'invention.

20 Inhibition dépendante de la concentration (mesure de la CI₅₀ = concentration de l'inhibiteur nécessaire pour réduire l'activité enzymatique de 50 %).

On utilise des placentas humains qui une heure au plus après l'accouchement sont lavés, perfusés par du serum physiologique (5 litres) via la veine ombilicale puis congelés à : 25 -40°C.

1) Obtention des microsomes placentaires

Les placentas sont décongelés à 4°C puis homogénéisés (1:3) dans un tampon phosphate 10 mM, pH = 7,0 ; contenant 30 100 millimoles de chlorure de potassium (KCl), 10 millimoles de dithiothreitol (DTT), 10 millimoles d'acide éthylénediaminetetraacétique (EDTA), 40 millimoles de nicotinamide et 250 millimoles de sucrose.

Les homogénats sont ensuite soumis à différentes phases de 35 centrifugation jusqu'à l'obtention du surnageant "9000 g" (correspondant au cytosol et au réticulum endoplasmique).

Ce surnageant est alors soumis à une étape d'ultracentrifugation (1 heure 30 minutes, 105000 g) pour obtenir le culot microsomal.

40 Les microsomes sont alors resuspendus dans un tampon phosphate

- 50 millimoles, pH = 7,4, contenant 100 millimoles KCl, 1 millimole EDTA, 1 millimole DTT et du glycérol (10 %). La suspension microsomale est ensuite aliquotée et les fractions congelées à la température de l'azote liquide.
- 5 La concentration en protéines de la suspension microsomale est déterminée par la méthode de BRADFORD (BRADFORD M., Anal. Biochem., 72, (1976) 248).
- 10 2) Mesure de la CI₅₀ de chaque inhibiteur
A 960 microlitres de tampon phosphate (50 millimoles, pH = 7,2), 2,5 millimoles glucose-6-phosphate, et contenant 0,16 unité internationale de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH), on ajoute dans l'ordre :
- 15 1° - 10 microlitres d'inhibiteur, solubilisé dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), pour donner des concentrations finales allant de 10⁻⁶ M à 10⁻⁹ M.
- 20 2° - 10 microlitres de substrat. Le substrat est de l'Androstènedione 60 nM solubilisée dans l'éthanol et contenant de la 1béta-2béta-(³H)-Androstènedione à dilution isotopique connue (~ 200.000 désintégrations par minute).
- 25 3° - 10 microlitres de suspension microsomale, équivalant à 25 microgrammes de protéines par test.
La réaction enzymatique est alors très rapidement initiée par un ajout de 10 microlitres de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) solubilisé dans l'eau.
- 30 25 Après agitation, chaque test est incubé à 37°C pendant 10 minutes. La réaction est ensuite stoppée par un ajout de chloroforme (4 ml).
Après agitation vigoureuse des tubes, ceux-ci sont décantés et centrifugés à 4°C pendant 10 minutes à la vitesse de 3000 r.p.m. (rotations par minutes) soit 600 X g.
- 35 30 Après centrifugation, et pour chaque tube, 100 microlitres de surnageant sont prélevés et mis à compter en présence de liquide scintillant.
Cette méthode est dérivée des procédures décrites par REED et Coll. (J.Biol. Chem., 251, (1976), 1625) et THOMPSON et Coll. (J.Biol. Chem., 249, (1974), 5364).
- 40 35 L'activité enzymatique (aromatase), est proportionnelle au pourcentage de tritium relargué sous forme d'eau tritiée (³H₂O) au cours de la réaction.
40 L'inhibition obtenue pour chaque concentration de chaque

produit inhibiteur de l'invention est calculée comme un pourcentage des contrôles (100 % arbitraire, obtenus en absence de tout inhibiteur).

La CI_{50} est égale à la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer de 50 % l'activité enzymatique.

Les valeurs des CI_{50} obtenues pour les produits inhibiteurs de l'invention sont les suivantes :

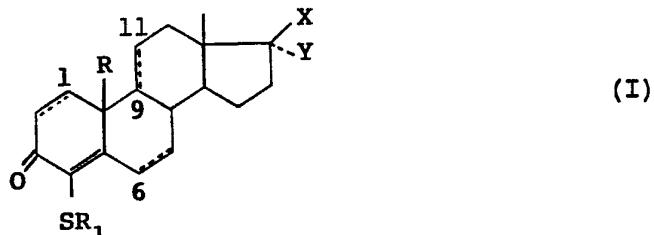
Produit de l'exemple 1 : $CI_{50} = 0,07$ micromole

Produit de l'exemple 2 : $CI_{50} = 0,075$ micromole.

REVENDICATIONS

1) Les produits de formule générale (I) :

5



10

dans laquelle le substituant R représente un radical alkyle alcényle ou alcynyle ayant au plus 4 atomes de carbone ou un radical CN ;

15 R₁ représente un radical alkyle de 1 à 6 atomes de carbone substitué par un ou plusieurs substituants compris dans le groupe formé par les radicaux alkyloxy ou alkylthio ayant de 1 à 4 atomes de carbone, nitro, cyano et les atomes d'halogènes ;

20 les substituants X et Y sont tels que soit ils représentent ensemble un groupement oxo soit X représente un radical hydroxy éventuellement acylé ou éthérifié et Y représente un atome d'hydrogène, les traits pointillés en position 1(2), 6(7) et 9(11) indiquent la présence éventuelle d'une seconde liaison entre les carbones qui les portent.

25 2) Les produits de formule générale (I) telle que définie à la revendication 1 dans laquelle R représente un radical méthyle et R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Hal ou CHHal₂ dans lesquels Hal représente un atome d'halogène, CH₂CN, CH₂OCH₃, CH₂SCH₃ et CH₂NO₂.

30 3) Les produits de formule générale (I) telle que définie à l'une des revendications 1 ou 2 dans laquelle R₁ est choisi parmi les radicaux CH₂Cl, CH₂F ou CHF₂ et R représente un radical méthyle.

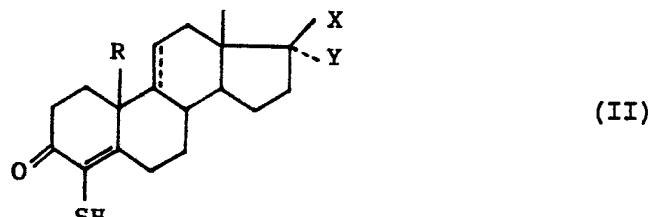
35 4) Les produits de formule générale (I) telle que définie à l'une des revendications 1 à 3 et répondant aux formules suivantes :

- la 4-[(fluorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione et
- la 4-[(chlorométhyl) thio] androst-4-ène-3,17-dione.

40 5) Procédé de préparation des produits de formule générale (I) telle que définie à la revendication 1 caractérisé en ce que

l'on fait agir un halogénure de formule $\text{Hal}'R_1$ dans laquelle Hal' représente un atome d'halogène sur un produit de formule (II) :

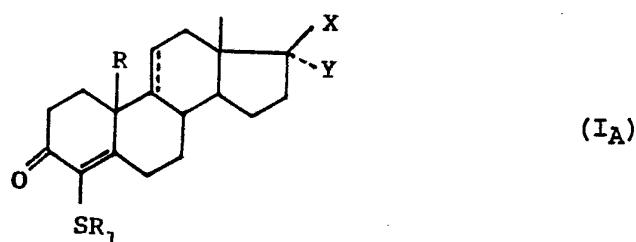
5



10

pour obtenir un produit de formule (I_A) :

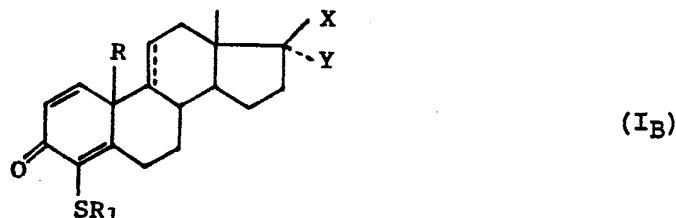
15



20

correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle les traits pointillés en position 1(2) et 6(7) représentent une simple liaison entre les carbones qui les portent et si désiré l'on fait agir, sur le produit de formule (I_A) un réactif de déshydrogénéation pour obtenir un produit de formule (I_B) :

30



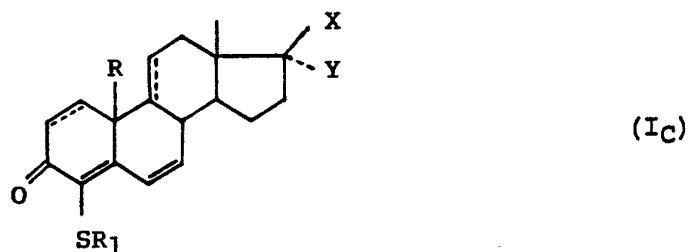
35

correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle le trait pointillé en position 1(2) indique la présence d'une seconde liaison entre les carbones qui le portent et le trait

40

pointillé en position 6(7) représente un simple liaison et si désiré l'on fait agir, sur les produits de formule (I_A) ou (I_B) d'abord un réactif de protection de la fonction 3-céto delta-4 puis un réactif de déshydrogénéation pour obtenir un 5 produit de formule (I_C) :

10



- 15 correspondant à un produit de formule (I) dans laquelle le trait pointillé en position 6(7) indique la présence d'une seconde liaison entre les carbones qui le portent.
- 6) A titre de médicaments, les produits de formule générale (I) telle que décrite à la revendication 1.
- 20 7) A titre de médicaments, les produits de formule générale (I) telle que décrite à l'une des revendications 2, 3 ou 4.
- 8) Les compositions pharmaceutiques renfermant, à titre de principe actif l'un au moins des médicaments définis à l'une 25 des revendications 7 ou 8.