

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1999 - 3098

(22) Přihlášeno: 31.08.1999

(40) Zveřejněno: 16.01.2002

(Věstník č. 1/2002)

(47) Uděleno: 05.06.2002

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 14.08.2002

(Věstník č. 8/2002)

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 J 43/00

C 09 B 47/00

C 07 D 207/333

(73) Majitel patentu:

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE AV
ČR, Praha, CZ;
VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V
PRAZE, Praha, CZ;

(72) Původce vynálezu:

Dukh Mykhaylo Ing. CSc., Lviv, UA;
Černý Ivan RNDr. CSc., Praha, CZ;
Urbanský Marek RNDr. CSc., Praha, CZ;
Pouzar Vladimír RNDr. CSc., Praha, CZ;
Král Vladimír RNDr. Doc. CSc., Praha, CZ;
Drašar Pavel RNDr. CSc., Praha, CZ;

(74) Zástupce:

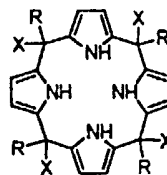
Kubičková Květoslava Ing., Doubravčická 2201, Praha
10, 10000;

(54) Název vynálezu:

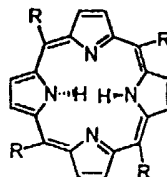
**Polycyklické makrocykly obsahující pyrrol s
přímo vázanými steroidními substituenty v
mesopolohách**

(57) Anotace:

Polycyklické makrocykly, kterými jsou meso-tetrasteroidylporfyrinogeny obecného vzorce I, kde R a X jsou různé, R jsou steroidní substituenty s bočním řetězcem v poloze 17 a substituentem na skeletu vybrané ze skupiny tvořené homopregnany, dinor-cholestany, trinor-cholestany a cholovými kyselinami a X je atom vodíku nebo alkyl s počtem atomů uhlíku 1 až 4 a meso-tetrasteroidylporfyriny obecného vzorce III, kde R má vpředu uvedený význam. Sloučeniny lze použít pro výrobu přípravků a výrobků majících transportní a komplexační schopnosti k iontům vybraným ze skupiny jednomocných a dvojmocných kationtů, halogenů, fosfátů a polyfosfátů, a substrátům, vybraným ze skupiny tvořené sacharidy, aminokyselinami a oligonukleotidy a při přípravě analytických senzorů.



(I)



(III)

Polycyklické makrocykly obsahující pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty v mesopolohách

5 Oblast techniky

Vynález se týká nových polycyklických makrocyklů obsahujících pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty v mesopolohách, zejména calix[4]-pyrrolů substituovaných v mesopolohách steroidními substituenty (meso-tetraasteroidylporfyrinogeny, neboli 2,7,12,17-tetra-steroidyl-21,22,23,24-tetraaza-pentacyklo[16.2.1.1^{3,6}.1^{8,11}.1^{13,16}]tetracos-1(20),3,5,8,10,13,15,-18-oktaenů a steroidylovaných porfyrinů (2,7,12,17-tetraasteroidyl-21,22,23,24-tetraazapentacyklo[16.2.1.1^{3,6}.1^{8,11}.1^{13,16}]tetrakosa-1,3,5,7,9,11(23),12,14,16,18(21),19-undekaenů.

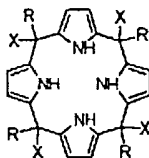
15 Dosavadní stav techniky

Calix[n]pyrroly a porfyriny jsou dostatečně známy pro svoje vlastnosti komplexovat ionty a skládat se do suprasytémů. Sessler J. L., Gale P. A., Genge J. W.: Chem. Eur. J., 4, 1095 (1998).

20

Podstata vynálezu

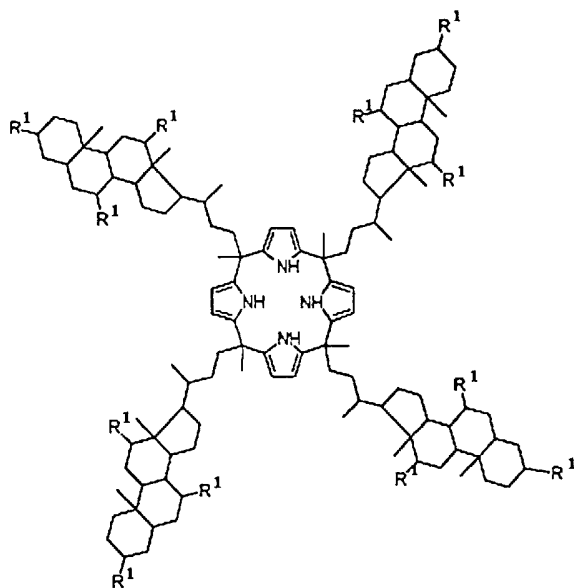
Podstatou vynálezu jsou nové polycyklické makrocykly obsahující pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty, jako jsou calix[4]pyrroly substituované v mesopolohách steroidními substituenty meso-tetraasteroidyl porfyrinogeny, neboli 2,7,12,17-tetraasteroidyl-21,22,23,24-tetraazapentacyklo[16.2.1.1^{3,6}.1^{8,11}.1^{13,16}]tetracos-1(20),3,5,8,10,13,15,18-oktaeny, obecného vzorce I



(I),

30 kde R a X jsou různé, R jsou steroidní substituenty s bočním řetězcem v poloze 17 a substituentem na skeletu, vybrané ze skupiny tvořené homopregnany, dinor-cholestany, trinor-cholestany a cholovými kyselinami a X je atom vodíku nebo alkyl s počtem atomů uhlíku 1 až 4.

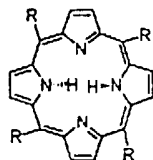
35 Příkladem takových sloučenin jsou deriváty odvozené od cholové kyseliny. Jsou to sloučeniny obecného vzorce II



(II),

ve kterém R^1 znamená atom vodíku či hydroxylovou skupinu v poloze α či β , kde hydroxyl může být chráněn jako ester nebo ether.

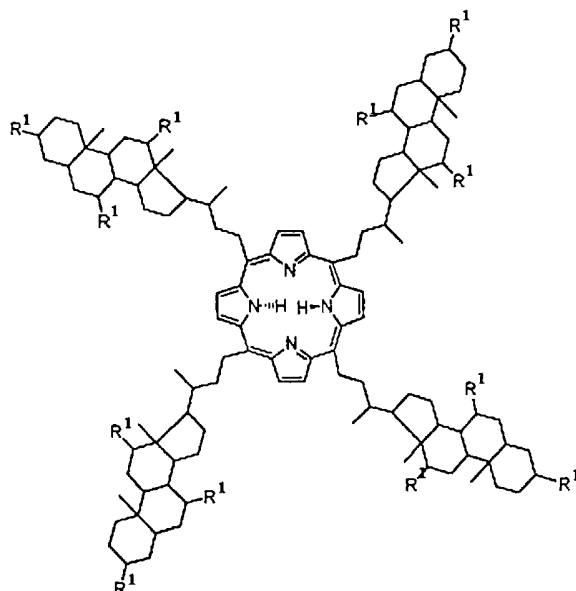
- 5 Dále jsou předmětem vynálezu polycyklické makrocykly obsahující pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty v mesopolohách, jako jsou mesotetrasteroidylporfyriny, neboli 2,7,12,17-tetrasteroidyl-21,22,23,24-tetraazapentacyklo-[16.2.1.1^{3,6}.1^{8,11}.1^{13,16}]tetracosa-1(20)-3,5,8,10,13,15,18-oktaeny, obecného vzorce III



(III),

- 10 kde R jsou steroidní substituenty s bočním řetězcem v poloze 17 a substituentem na skeletu, vybrané ze skupiny tvořené homopregnany, dinor-cholestany, trinor-cholestany a cholovými kyselinami.

Jako příklad takové sloučeniny je uvedena sloučenina obecného vzorce IV



(IV),

kde R^1 jsou atomy vodíku nebo hydroxyskupiny, přičemž hydroxyskupiny mohou být chráněny například jako estery nebo ethery.

- 5 Způsob přípravy polycyklických makrocyklů obsahujících pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty v mesopolohách podle vynálezu spočívá v tom, že se kondenzací steroidního ketonu s pyrrolem připraví calix[n]pyrrol a použitím odpovídajícího steroidního aldehydu se připraví porfyrin. Uvedené reakce probíhají v kyselém prostředí, s dobrým výtěžkem a umožňují snadnou izolaci produktů.

10

Sloučeniny obecného vzorce I se připraví tak, že se kondenzuje steroidní keton s pyrrolem v prostředí organického rozpouštědla, s výhodou alkoholu či směsi halogenovaného uhlovodíku a alkoholu, za přítomnosti kyseliny.

15

Sloučeniny obecného vzorce III se připraví ze steroidních aldehydů za katalýzy kyselinou, s výhodou Lewisovou, a následnou reakcí vzniklého tetrasubstituovaného porfyrinogenu s tetrachlor-1,4-benzochinonem (p-chloroanilem). Všechny reakce se provádějí za teploty -15 až $+75$ °C.

20

Izolaci produktu lze provést z reakční směsi např. chromatograficky.

25

Calix[n]pyrroly a porfyriny obecných vzorců I a III vykazují významnou transportní a komplexační schopnost k celé řadě iontů a substrátů, jak bylo zjištěno spolupracujícím pracovištěm, University of Texas, Austin a podle zjištění spolupracující VŠCHT Praha se uplatní při konstrukci analytických senzorů. Nové sloučeniny mají oproti calix/n/pyrrolům a po porfyrinům vyšší afinitu pro komplexaci aniontů odpovídající velikosti kavity v supramolekule.

30

Vlastnosti nově připravených látek a způsob přípravy jsou doloženy následujícími příklady, aniž by jimi byly jakkoliv omezeny.

Příklady provedení

Příklad 1

5

Steroidní keton, v tomto příkladu 3 β -acetoxy-21-homopregn-5-en-21-on (100 mg), byl rozpuštěn ve směsi dichlormethan-ethanol (1 : 1,2 ml) a ke směsi byl přidán pyrrol (17 mg) a 2 kapky vodné chlorovodíkové kyseliny (35%) a směs byla míchána při laboratorní teplotě 72 hodin.

10

Reakční směs byla poté odpařena do sucha, odparek rozpuštěn v dichlormetanu (4 ml) a chromatografován na koloně silikagelu mobilní fází dichlormetan-metanol 9 : 1. Bylo získáno 46 mg (40,6 %) calix[4]pyrolu o t.t. 234 až 237 °C, [α]_D²⁵ 66,8 (c= 0,5, dichlormetan). IČ spektrum (cm⁻¹, chloroform) 3437, 3111, 1573, 976 a 957 (NH, pyrrol), 1725 (C=O), 1669 (C=C), 1367 (methyl acetátu), 1199 (C-O acetátu). ¹H-NMR spektrum: 0,60 a 1,01 2s, 2x 12 H (angulární methyly), 2,03 s a 2,15 s 2x 6H (CH₃COO-), 4,6 a 3,5 2m 4H (C₃-H), 5,39 m (4H C₆-H), 5,3 až 5,8 m 8H (pyrrol C-H), 6,7 až 7,1 série multipletů 4H (NH pyrrolu). Hmotové spektrum FAB (m/z): 1690, 1675, 1659, 1642, 1628, 1615, 1583, 1313, 1289, 1001, 959, 556. Pro C₁₁₂H₁₅₆N₄O₈ (1686,5) vypočteno 79,77 %C, 9,32 %H, 3,32 %N, nalezeno 79,26 %C, 9,12 %H, 2,95 %N.

20

Příklad 2

Příprava byla provedena jako v příkladu 1, jako steroidní keton byl použit 3 α -hydroxy-26,27-dinor-5 β -cholestan-24-on. Reakce byla prováděna ve směsi chloroform-metanol při teplotě 0 °C, po dobu 145 h. Bylo získáno 38,3 mg (33,5 %) calix[4]pyrolu o t.t. 164 až 168 °C, [α]_D²⁵ 93,1 (c= 0,5, dichlormetan). IČ spektrum (cm⁻¹, chloroform) 3609, 1036 (OH), 3439 (NH), 3109, 1576, 1030 (pyrrol), 1718 (C=O), 1736 (CH₃). H-NMR spektrum: 0,4 a 0,91 2 s 2x 12 H (angulární methyly), 3,6 m 4H (C₃-H), 5,88 m 8 H (C-H, pyrrol). Hmotové spektrum FAB (m/z): 1695 (M+1, 40 %), 1628 (80 %), 1395, 1362,5 (60 %), 1204 (100 %), 1031, 889, 848, HR 1695,43 C₁₁₆H₁₈₂N₄O₄. Pro C₁₁₆H₁₈₀N₄O₄ (1694,7) vypočteno 82,21 %C, 10,71 %H, 3,31 %N, nalezeno 82,53 %C, 11,01 %H, 3,14 %N.

30

35 Příklad 3

Příprava byla provedena podle příkladu 1 s tím, že jako reakční prostředí byl použit ethanol, reakce byla prováděna při laboratorní teplotě 72 hodin a produkt a výsledek reakce byly shodné.

40

Příklad 4

Příprava byla provedena jako v příkladu 1, jako steroidní keton byl použit 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-26,27-dinor-5 β -cholestan-24-on. Reakce byla prováděna ve směsi dichlormetan-propanol při teplotě 55 °C po dobu 57 h. Bylo získáno 55,1 mg (49,1 %) calix[4]pyrolu o t.t. 227 až 230 °C, [α]_D²⁵ 119 (c= 0,5 methanol). IČ spektrum (cm⁻¹ KBr) cm⁻¹: 3434, 3270 (OH, NH), 3109 (pyrrol, C-H), 1580 (pyrrol, kruh), 1376 (CH₃), 1044, 1028, 1009, 981 (C-OH). ¹H-NMR spektrum: 0,52 a 0,89, 2s 2x12H (angulární methyly), 3,2 s 4H, 3,6 s 4H, 3,76 s 4H, 4,0 m 8H, 4,3 s 4H, 5,65 bm 8H (= CH- pyrrol), 6,4 až 7,35 série signálů 4H (NH). Hmotové spektrum (m/z, FAB): 1823 (M+2, 15 %), 1565 (7 %), 1536 (18 %), 1458,7 (100 %), HR MS 1823 C₁₁₆H₁₈₂N₄O₁₂. Pro C₁₁₆H₁₈₀N₄O₁₂ (1822) vypočteno 76,44 %C, 9,95 %H, 3,07 %N, nalezeno 76,14 %C, 9,36 %H, 2,22 %N.

50

Příklad 5

3 α ,7 α ,12 α -Tris(methoxymethoxy)-25,26,27-trinor-5 β -cholestan-24-al (200 mg, 0,38 mmol) byl rozpuštěn v dichlormetanu (38,5 ml) v aparatuře pod dusíkovou atmosférou a ke směsi byl
 5 přidán pyrrol (26 mg, 0,39 mmol) a bortrifluorid etherát (18 mg, 0,125 mmol). Po jedné hodině byl k reakční směsi přidán tetrachloro-1,4-benzochinon (70 mg) a směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 1 h. Po ochlazení byla směs vytřepána 5% vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (40 ml). Organické vrstvy byly spojeny a promyty vodou (3 x 40 ml) vysušeny
 10 bezvodým síranem sodným a odpařeny do sucha. Odparek byl rozpuštěn v dichlormethanu a chromatografován na koloně silikagelu soustavou dichlormethan-methanol 9 : 1. Bylo získáno 16 mg (7,3 %) porfyriu ve formě sirupu, $[\alpha]_D^{25}$ 78 (c = 0,5, dichlormetan). IČ spektrum (cm⁻¹, chloroform): 3320 (porfyrin, slabý pás), 2825, 1646, 1038, 1102 a 913 (COCOC), 1376 a 913 (CH₃). UV spektrum (dichlormethan): 419 nm (log ϵ 3,29). ¹H-NMR spektrum (500 MHz, aceton-ds): 9,8–7,5 (8H, m, porfyrin CH), 5,56 (4H, m, steroid Cs-H), 3,2 až 4,9 (8+12H, m,
 15 O-CH₃-O + O-CH₃), 0,8 a 0,6 (2x 12H, 2s, angulární methyly), -2,6 (2H, porfyrin NH). Hmotové spektrum FAB (m/z): 2289 (M⁺, 100 %), 2245,5 (80 %), 2216 (75 %), 2198 (50 %). Pro C₁₃₆H₂₁₄N₄O₂₄ (2289,17) vypočteno 71,36 %C, 9,42 %H, 2,45 %N; nalezeno 71,08 %C, 9,30 %H, 2,75 %N.

20

Příklad 6

3 α -Methoxymethoxy-25,26,27-trinor-5 β -cholestan-24-al (100 mg, 0,27 mmol) byl rozpuštěn v dichlormetanu (27 ml) v aparatuře pod dusíkovou atmosférou a ke směsi byl přidán pyrrol
 25 (18 mg, 0,27 mmol) a bortrifluorid etherát (12,5mg, 0,09 ml). Po jedné hodině byl k reakční směsi přidán tetrachloro-1,4-benzochinon (51 mg, 0,21 mmol) a směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 1 hodiny. Po ochlazení byla směs byla vytřepána 5% vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (40 ml). Organické vrstvy byly spojeny a promyty vodou (3 x 40 ml) vysušena
 30 bezvodým síranem sodným a odpařena do sucha. Odparek byl rozpuštěn v dichlormethanu a chromatografován na koloně silikagelu soustavou dichlormethan-methanol 9 : 1. Bylo získáno 6,1 mg (5,29 %) porfyriu ve formě sirupu, $[\alpha]_D^{25}$ 176,2 (c = 0,5, dichlormetan). IČ spektrum (cm⁻¹, CHCl₃), cm⁻¹: 3323 (porfyrin, slabý pás), 1149, 1039, 1102, 916 (COCOC), 1379 (CH₃). ¹H-NMR spektrum (500 MHz, aceton): 9,6 až 7,6 (8H, m, porfyrin CH), 5,3 (4H, m, steroid C₆-
 35 H), 4,7 (8H, s, O-CH₃-O), 3,4 (12H, s O-CH₃), 0,2 a 1,0 (12H, 2s, angulární methyly), -2,6 (2H, m, porfyrin NH). UV spektrum (dichlormethan): 419 (log ϵ 5,44). Hmotové spektrum FAB (m/z): 1633,5 (M+1, 100 %), 1440,5 (10 %), 1304,0 (50 %). Pro C₁₀₈H₁₅₀N₄O₈ (1632,37) vypočteno 79,46 %C, 9,26 %H, 3,43 %N; nalezeno 80,11 %C, 10,01 %H, 3,18 %N.

40 Příklad 7

Transportní experiment byl proveden v U trubici, v níž čerstvě připravený roztok steroidyl-porfirinů o koncentraci 10⁻⁴ mol/l v dichlormethanu sloužil jako komplexační a transportní
 45 prostředek pro transport glukózy a D-fenylalaninu. Časový průběh transportu přes tuto modelovou kapalinovou membránu byl sledován po dobu 2 až 48 hodin. Za 24 h přes modelovou kapalinovou membránu bylo přetransportováno 10 % z původního množství glukózy a za 48 h bylo přetransformováno 12 % z původního množství D-fenylalaninu.

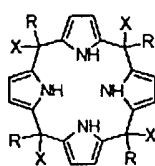
Průmyslová využitelnost

Sloučeniny podle vynálezu jsou použitelné pro výrobu přípravků a výrobků využívajících transportní a komplexační schopnost polycyklických makrocyklů obsahujících pyrrol s přímo vázanými steroidními substituenty k celé řadě iontů a substrátů a při přípravě analytických senzorů.

10

PATENTOVÉ NÁROKY

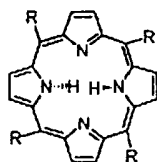
1. Polycyklické makrocykly, kterými jsou meso-tetrasteroidylporfyrinogeny obecného vzorce I

**(I),**

15

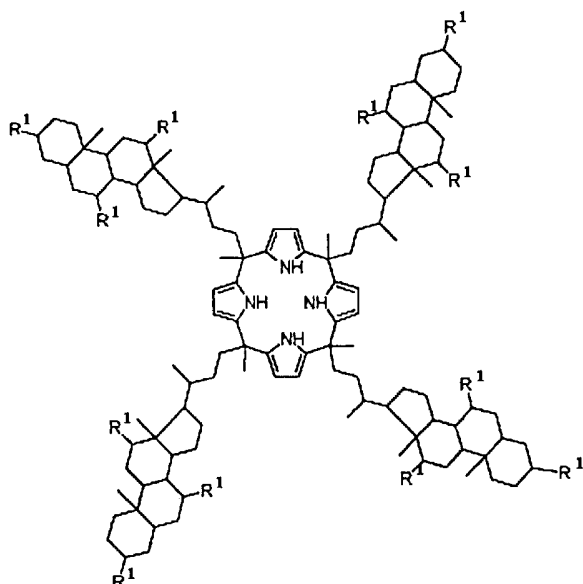
kde R a X jsou různé, R jsou steroidní substituenty, s bočním řetězcem v poloze 17 a substituentem na skeletu, vybrané ze skupiny tvořené homopregnany, dinor-cholestany, trinor-cholestany a cholovými kyselinami a X je atom vodíku nebo alkyl s počtem atomů uhlíku 1 až 4.

20 2. Polycyklické makrocykly, kterými jsou meso-tetrasteroylporfyriny obecného vzorce III

**(III),**

kde R je steroidní substituent s bočním řetězcem v poloze 17 a substituentem na skeletu, vybraný ze skupiny tvořené homopregnany, dinor-cholestany, trinor-cholestany a cholovými kyselinami.

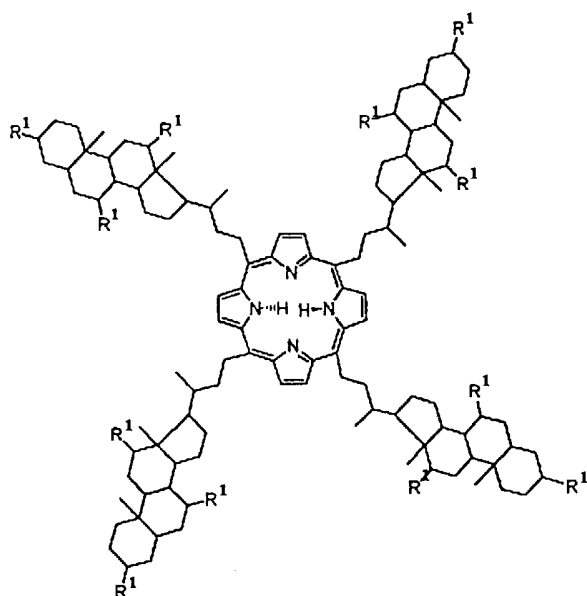
25 3. Polycyklické makrocykly podle nároku 1 obecného vzorce II, odvozené od cholové kyseliny,



(II),

kde R^1 znamená atom vodíku či hydroxylovou skupinu v poloze α či β , kde hydroxyl může být chráněn jako ester nebo ether.

5 4. Polycyklické makrocykly podle nároku 2 obecného vzorce IV



(IV),

kde R^1 jsou vodíky nebo hydroxyskupiny, přičemž hydroxyskupiny mohou být chráněny jako estery nebo ethery.

10 5. Způsob přípravy sloučenin obecných vzorců I, II, III a IV, kde R a X mají vpředu uvedený význam, podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že se na steroidní karbonylovou sloučeninu působí pyrrolem v přítomnosti kyseliny.

15 6. Způsob přípravy sloučenin obecného vzorce I, kde R a X mají vpředu uvedený význam, podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se na steroidní keton působí pyrrolem v organickém rozpouštědle s výhodou v halogenovaných rozpouštědlech s přídavkem alkoholu, za působení kyseliny.

7. Způsob přípravy sloučenin obecného vzorce III, kde R má vpředu uvedený význam, podle
nároku 2, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se na steroidní aldehyd působí pyrrolem a kyselinou,
s výhodou Lewisovou kyselinou, s výhodou bortrifluorideterátem v organickém rozpouštědle,
5 s výhodou v halogenovaných rozpouštědlech, například v dichlormethanu a následně se působí
tetrachlor-1,4-benzochinonem.

8. Použití sloučenin podle nároků 1 až 4 pro výrobu přípravků a výrobků majících transportní
a komplexační schopnosti k iontům vybraným ze skupiny jednomocných a dvojmocných kation-
10 tů, halogenů, fosfátů a polyfosfátů, a substrátům, vybraným ze skupiny tvořené sacharidy,
aminokyselinami a oligonukleotidy.

9. Použití sloučenin podle nároků 1 až 4 při přípravě analytických senzorů.

15

Konec dokumentu
