



**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪ Gesuchsnummer: 1341/86

⑪ Anmeldungsdatum: 31.07.1984

⑪ Patent erteilt: 30.06.1988

⑪ Patentschrift veröffentlicht: 30.06.1988

⑬ Inhaber:  
Vsesojuzny Onkologichesky Nauchny Tsentr  
Akademii Meditsinskikh Nauk SSSR, Moskau  
(SU)

⑭ Erfinder:  
Kurdjumova, Kira Nikolaevna, Moskau (SU)  
Shkodinskaya, Elizaveta Nikolaevna, Moskau  
(SU)  
Sushinina, Ljudmila Pavlovna, Moskau (SU)  
Yaguzhinskaya, Valentina Petrovna, Moskau  
(SU)  
Lagova, Nina Dmitrievna, Moskau (SU)  
Sofina, Zoya Petrovna, Moskau (SU)  
Valueva, Irina Mikhailovna, Moskau (SU)  
Lopatin, Petr Vyacheslavovich, Moskau (SU)  
Krasnova, Margarita Andreevna, Moskau (SU)  
Syrkin, Anatoly Borisovich, Moskau (SU)  
Mikhailova, Ljudmila Mikhailovna, Moskau (SU)

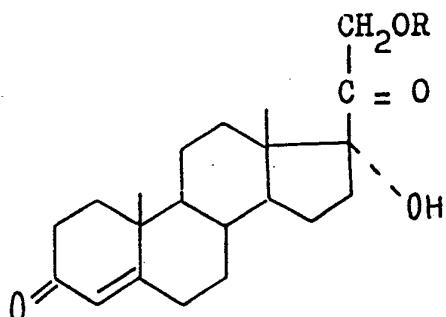
⑮ Vertreter:  
Patentanwälte Schaad, Balass & Partner, Zürich

⑯ Internationale Anmeldung: PCT/SU 84/00043  
(Ru)

⑰ Internationale Veröffentlichung: WO 86/00908  
(Ru) 13.02.1986

⑮ Derivate von 11-Desoxy-17 alpha-oxykortikosteron.

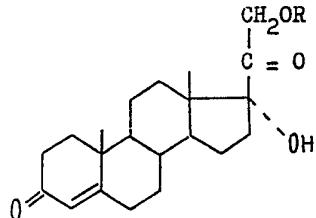
⑯ Die neuen Derivate des 11-Desoxy-17 alpha-oxykortikosterons entsprechen der allgemeinen Formel



worin R = -OC(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl)<sub>2</sub> und n = 1,3  
bedeuten. Diese Verbindungen haben tumorhemmende  
hormonale Aktivität und können zur Behandlung von  
Krebs und als Immundepressante angewendet werden.

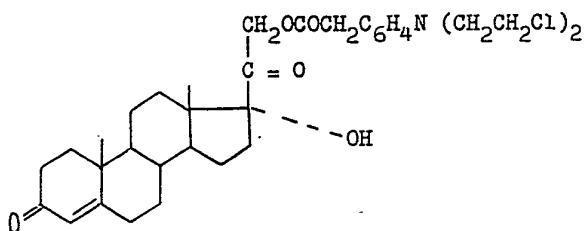
## PATENTANSPRÜCHE

1. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron der allgemeinen Formel



worin R =  $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n \text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$  und n = 1, 3 bedeuten.

2. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron nach Anspruch 1 der Formel



## BESCHREIBUNG

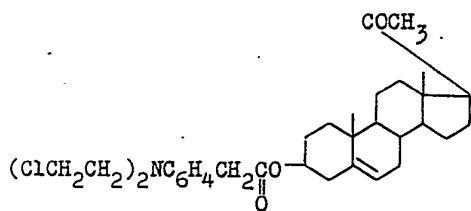
## Technisches Gebiet

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf neue Derivate von 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron (Hormonzytostatika), die tumorhemmende hormonale Aktivität aufweisen und in der Medizin bei der Behandlung von Krebs und als Immuno-depressante Anwendung finden können.

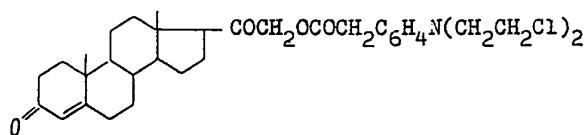
## Stand der Technik

Bekannte sind Kortikoidester, Zwischenprodukte ihrer Biosynthese und zytotoxischer Säuren verschiedener Struktur.

Zu ihnen gehören Ester des Pregnenolons und der n-di(2-chloräthan)aminophenyllessigsäure (Chlorphenazyl): 3 $\beta$ -oxy-5-Pregnen-20-on-3 $\beta$ -[n-di(2-Chloräthan)aminophenylazetat]



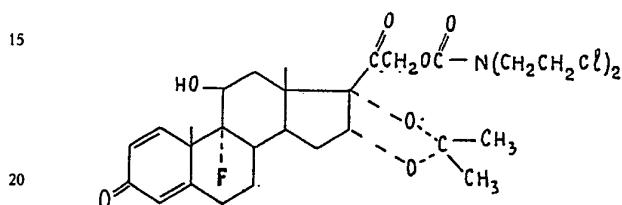
sowie des Desoxykortikosterons und Chlorphenazyl-21-oxy-4-pregnen-3,20-dion-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetats]



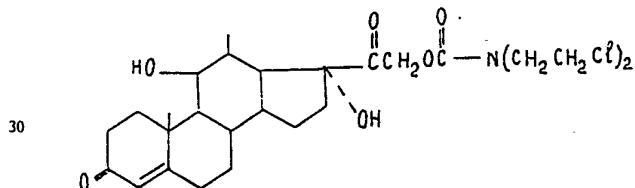
Tumorhemmende Eigenschaften dieser Verbindungen sind unzureichend untersucht. Festgestellt wurde ihre tumorhemmende Aktivität in bezug auf Waker W-256 Karzinosarkom, chronische Leukämie bei Ratten und einige Geschwülste, die aus hormonabhängigen Geweben stammen, Gebär-

mutterhalskrebs RShM-5, Ductus-lactiferi-Karzinom R-13762. Diese Stoffe zeigten jedoch keine Aktivität gegenüber der lymphoiden Leukämie L1210 (Z.P. Sofina, N.D. Lagova, I.M. Valueva, Z.V. Kuzmina, E.N. Shkodinskaya, A.M. Khatetsky. Werke der I. Unionskonferenz für Chemotherapie bösartiger Geschwülste, Riga, 1968, S. 441-443; M. Wall, G. Abernethy, F. Carroll, D. Taylor, J. Med. Chem., 1969, 12 No. 5, S. 810-818; N.D. Lagova. Experimentelle Onkologie, 1982, B. 4, Nr. 5, S. 38-42).

Bekannt sind Kortikoidester, insbesondere des Hydrokortisons und der  $\beta$ -Chloräthanskarbaminsäure: 9 $\alpha$ F,11 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,26-Tetraoxypregnen, 1,4-dien-3,20-dion-21-[bis(c-chloräthan)karbamat], 16,17-Azetonid

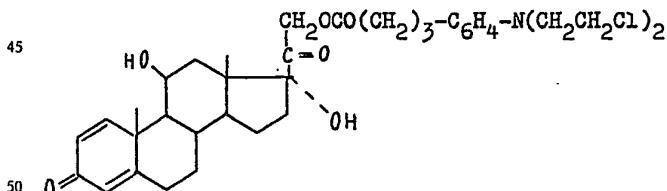


sowie Triamzynolon-azetonid und  $\beta$ -Chloräthanskarbaminsäure: 11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-Trioxypregnen-4-3,20-dion-21-[bis(2-chloräthan)karbamat].



Die Verbindungen sind biologisch aktiv. Sie hemmen das Wachstum der Kulturen der Mäusefibroplaste L-929 und wirken mit Zellenrezeptoren zusammen. Diese biologischen Effekte sind jedoch umkehrbar. (A. Masry, V. Braun, C. Nielsen, W. Pratt, J. Med. Chem. 1977, v. 20, No. 9, 1143-1139).

Bekannt ist ein Ester des synthetischen Kortikoids, des Prednisolons und n-di(2-chloräthan)aminophenylbuttersäure (chlorambuzyl): Pregnen-1,4-dien-3,20-dion, 11 $\alpha$ ,17,21-Trioxypregn-20-en-3 $\beta$ -[n-di(2-Chloräthan)aminophenylazetat], folgender Formel



die Verbindung wurde «Prednimustin» bezeichnet (D. Alftchew, I. Rush. Ann. Chir. Gynaecol. Fenw., 1969, v. 56, p. 234; J. Kaufmann, G. Hunjura, A. Mittelmann, C. Arengsta, G. Murphy, Cancer Treat. Rep. 1976, v. 60, No. 3, 277-279).

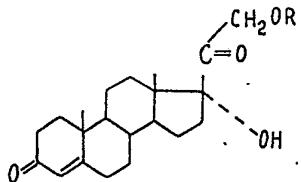
«Prednimustin»-Präparat wird in der onkologischen Klinik für die Behandlung von Systemerkrankungen des Blutes und im geringeren Masse für die Behandlung des Ductus-lactiferi-Karzinoms verwendet. Nebeneffekte des «Prednimustins» hängen vorwiegend mit der Hämatotoxizität zusammen.

## Darstellung der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Derivate des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosterons zu entwickeln, die eine umfassende Palette der antineoplastischen Wirkung und hormonale Aktivität aufweisen.

Die erfindungsgemäßen Derivate des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosterons sind neu, und es gibt darüber keine Veröffentlichungen.

Die Aufgabe wurde dadurch gelöst, dass die Derivate des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosterons erfindungsgemäss Verbindungen allgemeiner Formel darstellen



worin R =  $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n \text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$  und  $n = 1,3$ .

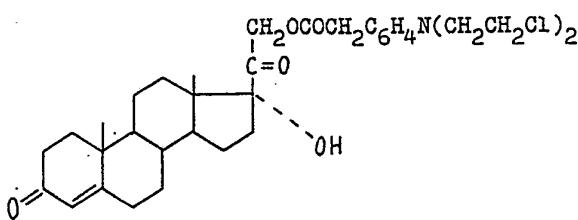
In den erfindungsgemäßen Verbindungen wird als Steroid 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron verwendet, das ein Mittler-Hormon bei der Biosynthese von Mineral- und Glukokortikoiden darstellt und fähig ist, auch nach dem östrogenen Typ zu metabolisieren.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen stellen Ester des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosterons und der n-di(2-chloräthan)aminophenylalkansäuren dar.

Beispiele der Verbindungen sind, erfindungsgemäss: 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]-kortikosteron und 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)-aminobutyrat]-kortikosteron.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen stellen feinkristalline Stoffe mit weisser oder mit weissgelber Farbtönung dar, sind praktisch wasserunlöslich, in organischen Lösungsmitteln (Chloroform, Benzol, Äthylazetat) löslich, sind nicht hydroskopisch, gewinnen bei einer längeren Lagerung in Licht eine gelbliche Farbtönung. Die Verbindungen sind eine längere Zeit in der Dunkelheit bei einer Temperatur von +5° bis 0 °C stabil.

Zweckmässigerweise ist das Derivat des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosterin folgender Formel zu verwenden:



#### Bester Weg zur Ausführung der Erfindung

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen eine hohe antineoplastische Aktivität, was an den Überimpfleukosen bewiesen wurde. Der antineoplastische Effekt kommt in der Verlängerung der Lebensdauer von Tieren und in der Genesung eines Teils davon zum Ausdruck.

Der Vorteil der erfindungsgemäßen Verbindungen ist ihre geringere Toxizität gegenüber den zu ihnen gehörenden hochtoxischen alkylierenden Komponenten, Chlorphenazyl und Chlorambuzyl. So übersteigt die äquimolare Dosis des Chlorphenazyls und Chlorambuzyls, die in therapeutischen Dosen der erfindungsgemäßen Verbindungen enthalten ist, ihre eigene therapeutische Dosis um ein 5- bis 10faches.

Zur Untersuchung der antineoplastischen Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen wurden Überimpfungshämoblastosen, solide Überimpfungsgeschwulste, induzierte und spontane Mäuse- und Rattenkrebs verwendet. Verwendet wurden folgende Modelle: L-1210, R-388, Hämblastose La, MORS-406, Mazurenko-Virelympholeukose L MS-1, Sa-755, Ductus-lactiferi-Karzinom, die in die Lunge metastasierende KML, Ductus-lactiferi-Alveolar-Karzinom RMK-I, Adenokarzinom des Dünndarms AKATON, Adenokarzinom

des Dickdarms AKATOL, Louis-Lungenkarzinom LL, Lungen-Adenokarzinom RL-67, Hepatome G-22s, G-60, G-61, Sarkome S-37 und S-180, DMBA(Dimethylbenzanthren)-induzierte und spontane Geschwulste der Ductus-lactiferi sowie DMH(Dimethylhydrazin)-induzierte Geschwulste des Dickdarmes.

Die Untersuchung erfolgte an den Linienmäusen und ihren Bastarden der ersten Generation sowie an rassenlosen Mäusen und Ratten.

Die Stoffe wurden den Tieren subkutan in Steinkernöl eingeführt. Die Verfahrensweise der Einführung ist in Tabellen aufgeführt. Zum Vergleich verwendete man das bekannte Hormonzytostatik, Estrazit(estradiol-3,5(10)-trien-3,17 $\beta$ -diol-3N-[bis(2-chloräthan)karbamat]-17-Natriumphosphat), das subkutan in der 0,9%igen NaCl-Lösung eingeführt wurde, das Chlorphenazyl und Chlorambuzyl, die intraperitoneal in der 10%igen Äthylalkohollösung eingeführt wurde, Sarkolysin ( $\beta$ -[n-di(2-chloräthan)aminophenyl]- $\alpha$ -alanin, chlorhydrat) wurde intraperitoneal in der 0,9%igen NaCl-Lösung eingeführt, Prednisolon(pregnadien-1,4-triol-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -21-dion-on-3,20) wurde per os im Stärkekleister eingeführt.

Als Kriterien für die tumorhemmende Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen dienten: Verlängerung der Lebensdauer der Tiere (VLD, %) und Hemmung des Wachstums von Geschwulsten (HWG, %).

$$VLD, \% = \frac{C - T}{C} \cdot 100$$

worin es bedeuten:

T – die durchschnittliche Lebensdauer der behandelten Tiere,

C – die durchschnittliche Lebensdauer der Kontrolltiere.

$$HWG, \% = \frac{K - O}{K} \cdot 100$$

worin es bedeuten:

O – durchschnittlicher Umfang einer Geschwulst der behandelten Tiere,

K – durchschnittlicher Umfang einer Geschwulst bei Kontrolltieren.

Bei der Verwendung spontaner oder mit Kanzerogenstoffen induzierter Geschwulste dienten als Kriterien des tumorhemmenden Effektes folgende Faktoren: HWG, % oder Verkürzung der Grösse der Geschwulste (%) im Vergleich zu ihrer Ausgangsgrösse. Die Behandlung der spontanen und induzierten Geschwulste begann man nach der Erreichung einer bestimmten Grösse durch diese Geschwulste, die die Möglichkeit einer spontanen Regression ausschloss.

In der Tabelle 1 werden Angaben der antileukosen Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen aufgeführt.

Tabelle 1  
Tumorhemmende Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen auf Überimpfungshämoblastosen

lfd. Nr.	Bezeichnung der Verbindung	Bereich der wirksamen Dosen (mg/kg), Intervall (h) x-Zahl der Einführungen	Verlängerung der Lebensdauer, %		
			1	2	3
65	1. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]-kortikosteron	10-25/24 x 5	4	5	31

lfd. Nr.	Bezeichnung der Verbindung	Bereich der wirksamen Dosen (mg/kg), Intervall (h)	x-Zahl der Einführungen	Verlängerung der Lebensdauer, %	
				L-1210	Tage der Behand- lung nach der Überimpfung 1-5      2-6
1	2	3	4	5	
2.	11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy- 21-[n-di(chlor- äthan)aminophenyl- butyrat]kortikoste- ron	15-35/24 x 5		20	
3.	Chlorphenazyl	1,5-3/24 x 5		15	
4.	Chlorambuzyl	2,5-4/24 x 5		7	
5.	11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy- kortikosteron	7-15/24 x 5		6	
6.	11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy- kortikosteron + Chlorphenazyl	7/24 x 5 + 1,5/ 24 x 5			
7.	11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy- kortikosteron- + Chlorambuzyl	7-15/24 x 5- + 2,5-4/24 x 5		19	

Fortsetzung der Tabelle 1

25

lfd. Nr.	Verlängerung der Lebensdauer, %					
	R-388	MORS-406	La	Mazurenko-Viruslympho- leukose LMS-1	Tage der Behandlung nach der Überimpfung	
	1-5:	2-6	1-5:	2-6	1-5	2-6
1	6	7	8	9	10	11
1.	81		76		105	344 (33% der Heilung)
2.					70	18
3.					41	46
4.					35	9
5.					-7	0
6.					46	17
7.					57	35

Tabelle 2  
Tumorhemmende Wirkung des  
11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazet-  
tat]kortikosterons auf solide Überimpfungsgeschwülste

lfd. Nr.	Bezeichnung der Verbindung	Bereich der wirksamen Dosen (mg/kg), Intervall (h)	x-Zahl der Einführun- gen	Maximale Hemmung des Wachstums der Geschwülste %			
				Sa-755	S-37	2	2-6
1	2	3	4	5	6	7	
1.	11-Desoxy-17 $\alpha$ - oxy-21-[n- di(2-chloräthan) aminophenyl azetat] kortikosteron	45 x 1	94		99		
2.	Chlorphenazyl	10-25/24 x 5		99	99		
3.	11-Desoxy-17 $\alpha$ - oxykortikosteron	1,5-2/24 x 5		87	94		
4.	Prednisolon	7-10/24 x 5		+ 105	29		
5.	Sarkolysin	4-10/24 x 5		70	44		
6.	Estrazyt	2-3/24 x 5		83	95		
		100/24 x 5		+ 6	85		

Fortsetzung der Tabelle 2

lfd. Nr.	Maximale Hemmung des Wachstums von Geschwülsten, %							
	S-180	Adeno-Karzi-LL	Hepatome G-22s	G-60	G-61	Ductus-lacti- feri-Alveolar- krebs RMK-1		
5								
10								
1								
1.								
	93		90					
			92	98		81	80	99
						89	89	59
2.			56	46		16	29	86
						53	53	27
3.			+ 41			28	3	38
						37	44	
4.			67			30		
5.			76	56		58		90
							87	+ 86
6.			+ 23			29		

20 Anmerkung: Zeichen + bedeutet die Stimulierung des Wachstums einer Geschwulst.

25

30 35 Aus der Tabelle ist zu ersehen, dass die beiden erfundungsgemäßen Stoffe eine tumorhemmende Aktivität aufweisen, was in der Verlängerung der Lebensdauer der Tiere mit Hämobilostosen L-1210, R-388, MORS-406, La und LMS-1 zum Ausdruck kommt.

40 Der tumorhemmende Effekt der erfundungsgemäßen Verbindungen übersteigt den Effekt der zu ihrem Molekül gehörenden alkylierenden Komponenten (Chlorphenazyl und Chlorambuzyl). Er ist auch höher als der Kombinationseffekt des Chlorphenazyls und Chlorambuzyls mit 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron.

45 In der Tabelle 2 sind Angaben über die tumorhemmende Wirkung des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons in bezug auf solide Geschwülste aufgeführt.

50 Aus der Tabelle 2 ist zu ersehen, dass die erwähnte Verbindung eine hohe tumorhemmende Aktivität sowie eine tumorhemmende Wirkung in einem weiten Bereich aufweist. Sie hemmt das Wachstum fast aller Geschwülste auf 80 bis 99%. Diese Verbindung ist bei der Behandlung der Tiere mit Geschwülsten wirksam, die gegenüber den Komponenten,

55 aus denen sich ihr Molekül zusammensetzt, sowie gegenüber anderen Kortikoiden und dem Hormonzytostatikum, Estrazyt, unempfindlich sind. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron übersteigt an vielen Modellen in seiner Wirkung das bekannte alkylierende Präparat Sarkolysin.

60 65 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron ruft einen andauernden tumorhemmenden Effekt hervor und hemmt das Wachstum von Geschwülsten während eines Monates und mehr nach der Beendigung des Behandlungszeitraumes, was zur Verlängerung der Lebensdauer der Tiere um 27 bis 73% gegenüber den kontrollierten (Tabelle 3) führt.

Tabelle 3

Dauer der tumorhemmenden Wirkung des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons

lfd.	Geschwulstmodelle	Nr.	Dosis (mg/kg), Intervall (h) x-Zahl der Einführungen	3
1	2			
1.	Lungen-Adenokarzinom	RL-67	45 x 1	
2.	Ductus-lactiferi-Karzinom, KLM das in die Lunge metastasiert		45 x 1	
3.	Sarkom	S-37	45 x 1	
4.	Hepatom	G-22s	15/24 x 5	10
5.	Louis-Lungen-Epidermo- karzinom	LL	15/24 x 5	
6.	Ductus-lactiferi-Adenokar- zinom	Sa-755	15/24 x 5	
7.	Adenokarzinom des Dünndarmes	AKATON	15/24 x 5	20

Fortsetzung der Tabelle 3

lfd.	Tage der Behandlung nach der Überimpfung	Hemmung des Wachstums der Geschwulst, % Versuchstage	15	22	29	Verlängerung der Lebensdauer, %	25
			5	6	7	8	30
1	4						
1.	2	81	82	80	27		
2.	10	80	53	61	57		
3.	2	99	94	91	42 (28% der Heilung)	35	
4.	6-10	80	68	57	65		
5.	2-6	76	56	39	38		
6.	2-6	92	73	82	73		
7.	2-6	66	55	46	46		

11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron ruft eine Verringerung der Abmessungen der induzierten und spontanen Geschwulste der Milchdrüse bei Mäusen und Ratten im Vergleich zu den Abmessungen derselben vor der Behandlung hervor, wobei es eine Aktivität bei wiederholten Behandlungzyklen zeigt (Tabelle 4), was auf das Fehlen einer Resistenz gegen Arzneimittel bei dem Stoff verweist.

Die Hormonwirkung des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons hängt mit der Erscheinung der Glukokortikoid-Aktivität zusammen. Bei einer bestimmten Anwendungsweise verlängert die Verbindung die Lebensdauer der 25tägigen adrenalektomierten Junggratten (biologischer Test auf Glukokortikoid-Aktivität) genauso wie auch das zu dieser Verbindung gehörende 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosteron (um 113 und 115% entsprechend). Die Besonderheit der Hormonwirkung der erfundungsgemässen Verbindung besteht in ihrer Fähigkeit, eine kurzzeitige Estralreaktion bei Tieren hervorzurufen. Die Kortikoidaktivität der Verbindung ist auch bei der Untersuchung des biochemischen Mechanismus ihrer tumorhemmenden Wirkung nachgewiesen. Der Stoff reagiert mit zytoplasmatischen Rezeptoren der Glukokortikoide und hemmt die Bindung von  $^3\text{H}$ -Dexametason mit denselben. Von der hohen Verwandtschaft des Stoffes mit den Rezeptoren der Glukokortikoide zeugt eine niedrige Grösse der Dissoziationskonstante seines Rezeptorkomplexes, die  $9,5 \times 10^{-8}\text{M}$  beträgt.

11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron reagiert mit Rezeptoren der Glukokortikoide in Überimpfungsgeschwulsten der Tiere - RL-67, G-60, G-61, G-22s, Sa-755, S-37, AKATOL, AKATON, bei denen es eine hohe tumorhemmende Aktivität zeigt. Die Hemmung der spezifischen Bindung von  $^3\text{H}$ -Dexametason in Geschwülsten bei den Tieren durch dieses Präparat beträgt 70 bis 100%. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron reagiert auch mit zytoplasmatischen Rezeptoren der Glukokortikoide in Geschwülsten beim Menschen. Die Hemmung der spezifischen Bindung von  $^3\text{H}$ -Dexametason beim Lungenkrebs bei einem Menschen durch dieses Präparat beträgt 83%, bei Milchdrüsengeschwulst (Ductus-lactiferi-Karzinom) - 53%, bei Magenkrebs - 69%, bei Nierenkarzinom

15 - 84%.

Tabelle 4

Wirkung des  
11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons auf spontane und induzierte Geschwülste der Milchdrüse bei wiederholten Behandlungszyklen

lfd.	Geschwülste	Gruppe	Dosis (mg/kg), Intervall (h)	Verringerung oder Vergrösserung (+)			30
				Nr.	x-Zahl der Geschwülste	gegenüber der Ausgangsgrösse, %	
1	2	3	4	1	2	3	35
1.	Spontane Geschwülste der Milchdrü- sen bei Mäusen	Kontrolle		+ 25	+ 42	+ 89	
2.	11-Desoxy- 17 $\alpha$ -oxy-21-(2 [n-di(2-chl- oräthan)- aminophe- nylaze- tat]kortiko- steron	15/24 x 5					
3.	DMBA- induzierte Geschwülste der Milchdrüse bei Ratten	Kontrolle		+ 86	+ 160	+ 215	
4.	11-Desoxy- 17 $\alpha$ -oxy-21-(2 [n-di(2-chl- oräthan)- aminophe- nylaze- tat]kortiko- steron	15/24 x 5					

Fortsetzung der Tabelle 4

lfd. Nr.	Verringerung oder Vergrösserung (+) der Abmessungen der Geschwülste gegenüber der Ausgangsgrösse, %						Verlänge- rung der Lebens- dauer, %
	4	5	6	7	8	13	
1	8	9	10	11	12	13	
1.	+ 155	+ 230	+ 330	+ 505	+ 412		
2.	+ 64	20	50	25	16	11	
3.	+ 258	+ 269	+ 355	+ 400	+ 409		
4.	24	+ 26	23	+ 3	13	18	

11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron dringt in den Kern einer Zelle ein und wirkt mit Akzeptorenbereichen des Chromatins von Geschwulst- und Normalzellen zusammen (Nierenkarzinom RA der Ratten der Wistar-Linie, eine normale Niere).

11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron unterscheidet sich im Charakter der Erscheinung der alkylierenden Eigenschaften, insbesondere in der Wirkung auf eine Geschwulst, von dem sich in ihrer Zusammensetzung befindlichen Chlorphenazyl. Über die alkylierende Fähigkeit urteilt man nach der Dynamik des Auftretens von Vernetzungs- und Spaltungsstellen in Molekülen der Desoxyribonukleinsäure (DNS) der Geschwulst- (Sarkom S-37) und Normalzellen (Milz), indem man die Methode der Sedimentierung in einem Gradienten der Dichte der Alkali-Saccharose anwendet. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron übertrifft das in ihm enthaltene Chlorphenazyl nach der Menge und der Dauer der Aufrechterhaltung von Vernetzungsstellen in Molekülen der DNS der S-37-Zellen. Im normalen Gewebe beginnt die Regenerierung der durch 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron beschädigten DNS früher als im Geschwulstgewebe, was davon zeugt, dass die Verbindung die Selektivität beschädigender Wirkung auf die DNS der Geschwulstzellen besitzt.

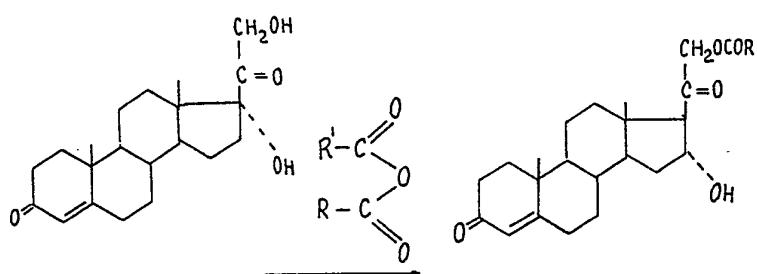
Toxikologische Untersuchungen der erfindungsgemässen Stoffe wurde an Mäusen durchgeführt. Nachgewiesen wurde, dass die Kluft zwischen den toxischen und verträglichen Dosen ausreichend gross ist. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron weist eine um das 3fache geringere Toxizität als das zu ihm gehörende Chlorphenazyl auf. Die MPD- und LD<sub>50</sub>-Grössen sind bei der einmaligen Einführung des Stoffes entsprechend gleich 44 und 80 mg/kg, für Chlorphenazyl – 15 und 24 mg/kg. 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylbutyrat]kortikosteron besitzt eine noch geringere Toxizität. Für das letztere ist die MPD-Grösse bei der einmaligen Einführung gleich 350 mg/kg, wenn sie für Chlorambuzyl gleich 25 mg/kg ist.

Toxikologische Untersuchung zeigte, dass die Anwendung von 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosteron kann die Magen-Darm- und Neurotoxizität (durchfall, Brechen, Krämpfe) limitieren, deren Erscheinungsgrad von der Dosisgrösse abhängig ist. Hematotoxizität, die gewöhnlich die Anwendung der Präparate mit alkylierenden Eigenschaften und des «Prednimustin»-Präparates einschränkt, limitiert nicht die Anwendung des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons.

Die erfindungsgemässen Verbindungen zeigen eine immundepressive Wirkung. Die Kennziffern der humoralen Immunität nach der einmaligen Einführung der Stoffe in MPD-Grössen verringern sich wesentlich im Vergleich zur Kontrolle und bleiben während 1,5 Monate auf niedrigem Niveau. Von Bedeutung ist, dass die immundepressive Wirkung der Stoffe in bezug auf T-Suppressore zutage tritt, dabei in Dosen, die unter der einmaligen therapeutischen Dosis liegen.

Das Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemässen Verbindungen ist einfach in technologischer Durchführung und wird wie folgt realisiert.

Synthese der erfindungsgemässen Verbindungen kann man durch folgendes Schema darstellen:



worin: R' = -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
und R = -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl)<sub>2</sub>, n = 1,3.

Diese Verbindungen werden im Verfahren der gemischten Anhydride hergestellt, das, wie die experimentellen Angaben zeigen, zu besseren Ergebnissen im Vergleich zum Anhydrid- und Chlor-Anhydrid-Verfahren führt. Das Verfahren der gemischten Anhydride beruht auf der Azylierung einer steroiden Oxyverbindung mit gemischem Anhydrid eines zytotoxischen Derivats der Phenylalkansäure und Isovaleriansäure.

Die Herstellung des gemischten Anhydrids führt man im Medium eines Aprotion-Lösungsmittels – beispielsweise Benzols – bei einer Temperatur von + 5 °C in Gegenwart einer Molarmenge des Triäthylamins durch. Das gemischte Anhydrid führt man in die Reaktion der Azylierung der Oxygruppe in der Seitenkette des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxykortikosters.

Das erfindungsgemäss Verfahren ist unter den grosstechnischen Bedingungen leicht realisierbar, weil es einfach in technologischer Durchführung ist und keines grossen Energieaufwands bedarf.

Alle Reaktionsteilnehmer, die in diesem Verfahren zum Einsatz kommen, sind bekannte Stoffe und zugänglich.

Zum besseren Verständnis der vorliegenden Erfindung werden nachstehend konkrete Beispiele angeführt.

60

### Beispiel 1

Herstellung des 11-Desoxy-17 $\alpha$ -oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylazetat]kortikosterons (I).

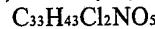
15,9 g (0,057 g-Mol) Chlorphenazyl löst man im trockenen Benzol auf, fügt man 8,0 ml (5,83 g, 0,57 g-Mol) Triäthylamin und 7,8 ml (7,71 g, 0,064 g-Mol) Chloranhydrid der Isovaleriansäure bei einer Temperatur von + 5 °C hinzu.

Das Reaktionsgemisch vermischt man bei einer Temperatur von +5 °C während 1 Stunde, wonach man 200 ml des trockenen Azetonitrils und 20,0 g 11-Desoxy-17α-oxykortikosterons (0,057 g-Mol) hinzufügt. Das Reaktionsgemisch erwärmt man bei einer Temperatur von 80 °C während 4 Stunden, man setzt 100 ml Benzol hinzu, wonach man die entstandene organische Schicht aufeinanderfolgend mit Wasser, mit Kalumbikarbonat-Lösung und wieder mit Wasser wäscht.

Die organische Schicht scheidet man ab und trocknet mit wasserfreiem Natriumsulfat. Das Lösungsmittel wird in Vakuum bei einer Temperatur nicht über 50 °C, bis es trocken wird, abgetrieben. Den angefallenen Rückstand löst man in Benzol auf, trägt ihn auf eine mit Silikagel gefüllte Säule auf und eluiert mit dem Benzol-Äthylazetat-Gemisch (6:1). Man nimmt Fraktionen ab, die 11-Desoxy-17α-oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylbutyrat]kortikosteron mit Rf von etwa 0,50 im Benzol-Äthylazetat-System (3:2) auf Silufol-UV<sub>254</sub>-Platten enthalten.

Man treibt das Lösungsmittel in Vakuum ab und kristallisiert das Fertigprodukt (I) aus Ester, die Ausbeute beträgt 17,99 g (51,54%).

Berechnet, %: C 65,55; H 7,16; Cl 11,73.



Gefunden, %: C 65,44; H 7,12; Cl 11,56.

UV-Spektrum (im Alkohol):  $\lambda_{\text{max}}$ . 256 Nm;

IR-Spektrum:  $\nu_{\text{C-Cl}}$  1742 cm<sup>-1</sup>, 1723 cm<sup>-1</sup>, 1653 cm<sup>-1</sup>,  $\nu_{\text{C=Cl}}$  744 cm<sup>-1</sup>, 686 cm<sup>-1</sup>, 655 cm<sup>-1</sup>.

### Beispiel 2

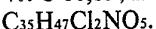
Herstellung des 11-Desoxy-17α-oxy-21-[n-di(2-chloräthan)aminophenylbutyrat]kortikosterons (II).

Die Herstellung der Verbindung II führt man ähnlich wie bei der Synthese der in Beispiel 1 beschriebenen Verbindung durch.

In die Azylierungsreaktion führt man 11-Desoxy-17α-oxykortikosteron und gemischtes Anhydrid der n-di(2-chloräthan)aminophenylbuttersäure und der Isovaleriansäure ein.

Das Reaktionsgemisch vermischt man bei einer Temperatur von 80 °C während 4 Stunden. Die anschliessenden Operationen führt man wie in Beispiel 1. Man chromatographiert in einer Säule mit Silikagel und eluiert mit einem Benzol-Äthylazetat-Gemisch (6:1). Die Ausbeute der Verbindung II beträgt 15 40%, bezogen auf das Ausgangshormon.

Gefunden, %: C 66,85; H 7,59; Cl 11,19;



Berechnet, %: C 66,43; H 7,48; Cl 11,22.

### 20 Gewerbliche Anwendbarkeit

Die erfindungsgemässen Derivate des 11-Desoxy-17α-oxykortikosterons können Anwendung in der Medizin bei der Behandlung von Krebs und bei Transplantation von Organen und Geweben finden.

25