

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 931373 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **931373**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07J 9/00
C07J 1/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **26.03.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **26.03.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **28.09.1993**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

27.03.1992 US 858908 03.03.1993 US 018985

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, INDIANAPOLIS, IN 46285, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

- 1 • Archer, Robert Allen**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 2 • Beavers, Lisa Selsam**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 3 • Galski, Robert Alan**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 4 • Lin, Ho-Shen**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 5 • McClure, Don B.**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 6 • McCowan, Jefferson Ray**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 7 • Pawlak, Joseph Matthew**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 8 • Rampersaud, Ashraff Ali**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 9 • Schmidt, Robert John**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 10 • Schreyer, Teri Ann**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
- 11 • Yu, Melvin Joseph**, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaareaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Steroidijohdannaisia

Steroidderivat

Steroidijohdannaisia

Tämän keksinnön kohteena ovat steroidijohdannaiset, farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät näitä yhdis-
5 teitä ja menetelmät niiden käyttöä varten.

Kaikki nisäkässolut tarvitsevat kolesterolia niiden solukalvojen rakenneaineosana ja ei-steroli lopputuotteita varten. Kolesterolia tarvitaan myös steroidihormonisynteesiä varten. Huolimatta tästä ominaisuudesta, joka tekee
10 kolesterolista hyödyllisen solukalvoissa, sen liukenemattomuus veteen tekee siitä myös potentiaalisesti kuolettavan. Kun kolesterolia kertyy väärään kohtaan, esimerkiksi valtimon seinämään, sitä ei voida helposti saada liikkeelle ja sen läsnäolo johtaa valtimon haurauskovetustautia aiheuttavan plakin kehittymiseen. Veriseerumin koles-
15 terolin kohonneiden pitoisuuksien yhdessä alhaisen lipoproteiinien tiheyden kanssa on osoitettu olevan päätekijä valtimon haurauskovetustaudin kehittymisessä ja etenemisessä.

20 Nisäkkäissä seerumilipoproteiini muodostuu kolesterolista yhdessä kolesteryyliestereiden, triglyseridien, fosfolipidien ja apoproteiinien kanssa. Seerumi- tai plasmalipoproteiini koostuu monista osista. Plasmalipoproteiinien pääosia tai luokkia ovat hyvin alhaisen tiheyden lipoproteiini (VLDL, very low density lipoprotein), väli-
25 tuote tiheys lipoproteiini (IDL, intermediate density lipoprotein), alhaisen tiheyden lipoproteiini (LDL, low density lipoprotein) ja korkean tiheyden lipoproteiini (HDL, high density lipoprotein). Nämä luokat poikkeavat toisistaan koon ja tiheyden suhteen suhteessa triglyseridien ja kolesteryyliestereiden osuuksiin ytimessä ja apoproteiinien luonteeseen pinnalla.
30

Nisäkkäissä veriseerumikolesterolia muodostuu sekä ulkopuolisesti ruokavaliosta että sisäsyntyisesti. Koles-
35 terolin sisäsyntyinen synteesi käsittää monimutkaisen sar-

5 jan entsyymi-katalysoituja reaktioita ja säätömekanismeja, joita yleisesti kutsutaan mevalonaattireitiksi. Solut kohtaavat monia ongelmia mevalonaattisynteesin säätelyssä, koska kolesterolia, mevalonaattiaineenvaihdunnan bulkkilopputuotetta, muodostuu veriplasman alhaisen tiheyden lipoproteiinista, joka tunkeutuu soluun reseptorivälitteisellä endosytoosilla, kuten myös synteesissä solun sisällä. Jokaisen solun on tasapainotettava nämä sekä ulkoiset
 10 että sisäiset lähteet niin, että ylläpidetään mevalonaattisynteesi samalla välttämällä sterolin liiallinen kertyminen. Tämä tasapaino saavutetaan vähintään kahden sekvenssientsyymin, 3-hydroksi-3-metyyliglutaryylikoentsyymi A:n (HMG-CoA) syntaasin ja HMG-CoA:n reduktaasin ja myös LDL reseptoreiden palautussäädöllä mevalonaattisynteesissä.
 15 LDL:n poissaollessa nisäkässolut ylläpitävät korkeita aktiivisuuksia kahdelle entsyymille syntetisoiden täten mevalonaattia kolesterolin, kuten myös ei-sterolituotteiden, valmistukselle. Kun LDL on läsnä ulkopuolisista lähteistä, HMG-CoA syntaasi- ja reduktaasiaktiivisuus on tukahdutettu ja solut muodostavat pienempiä määriä mevalonaattia ei-steroli lopputuotteita varten.
 20

On olemassa runsaasti todisteita, jotka osoittavat, että veren runsaan lipoproteiinipitoisuuden hoito vähentää tai estää valtimon hauraskovetustaudin komplikaatioita.
 25 Ruokavalion lisäksi, joka ylläpitää normaalin elopainon ja minimoi lipidien pitoisuudet veriplasmassa, terapeuttiset toimintamenetelmät käsittävät tekijöiden, jotka pahentavat veren runsasta lipoproteiinipitoisuutta, eliminoinnin ja terapeuttisten aineiden antamisen, jotka alentavat lipoproteiinien pitoisuutta veriplasmassa joko vähentäen lipoproteiinien tuotantoa tai parantaen tehokkuutta niiden poistamisessa veriplasmasta.
 30

Tällä hetkellä ei ole olemassa kolesterolia alentavia lääkkeitä, joiden tiedetään toimivan geeniekspres-
 35 siotasolla.

Lupaavin luokka lääkkeitä, joita nykyään on ollut saatavissa veren runsaan lipoproteiinipitoisuuden hoitamiseksi, toimii inhiboimalla HMG-CoA reduktaasia, endogeenisen kolesterolisynteesin nopeuteen vaikuttavaa entsyymiä. Tämän luokan lääkkeet inhiboivat kilpailukykyisesti entsyymien aktiivisuutta. Mahdollisesti tämä alentaa kolesterolin endogeenistä synteesiä ja, normaaleilla homeostaattisilla mekanismeilla, plasmakolesterolin ottavat talteen LDL reseptorit palauttaakseen solunsisäisen kolesterolitasapainon.

Suhteessa muihin soluihin kehossa, maksasoluilla on tärkeä osa veriseerumin kolesterolihomöostaasin ylläpitämisessä, sekä vapauttamalla LDL:n prekursoreita että reseptorivälitteisen LDL:n talteenoton kautta veriseerumista. Sekä ihmis- että eläinmalleissa näyttää esiintyvän käänteistä korrelaatiota maksan LDL reseptoreiden ja LDL:ään liittyvien seerumikolesterolitasojen välillä. Yleisesti, korkea hepatosyyttireseptoreiden lukumäärä johtaa alempiin LDL:ään liittyviin seerumikolesterolitasoihin. Hepatosyytteihin vapautunut kolesterolia voi varastoitua kolesteryyliesterinä, muuttua sappihapoiksi ja vapautua sappitiehyihin, tai muodostaa oksikolesterolikasauman. Uskotaan, että tämä oksikolesterolikasauma liittyy sekä LDL reseptorin geenien että entsyymien, lopputuoterepressioon, joka liittyy kolesterolin synteesireittiin.

LDL reseptorigeenin transkription tiedetään tukahduttuvan kun soluissa on ylimäärä kolesterolia, luultavasti oksikolesterolin muodossa. DNA sekvenssi LDL reseptorin promoottorialueella, joka tunnetaan sterolien reaktio-osana (sterol response element), näyttää aiheuttavan tämän sterolien lopputuoterepression. Tätä osaa on tutkittu laajalti (Brown, Goldstein ja Russell, US-patenttijulkaisut 4 745 060 ja 4 935 363) ja se näyttää koostuvan 16 emäsparisekvenssistä, joka esiintyy 5'-päässä LDL reseptorin koodausalueella. Sterolireaktioalue voidaan liittää gee-

neihin, jotka tavallisesti eivät reagoi kolesterolille, aikaansaaden sterolilopputuotteen repression kimeerisessä geenissä. Tämän repression tarkkaa mekanismia ei ymmärretä. On kuitenkin olemassa runsaasti todisteita siitä, että

5 polaariset välituotteet kolesterolin biosynteesissä, ja luonnossa esiintyvät, kuten myös synteettiset hydroksisterolit, tukahduttavat geenejä, jotka sisältävät steroli-reaktioalueen.

On esitetty, että solussa oleva kolesterolimäärä

10 säätää solun syntetisoitujen LDL reseptoreiden lukumäärää. On ehdotettu, että hydroksikolesteroli-sidosproteiini toimii reseptorina. Kun reseptori on sitoutunut oksisteroliin, se vaikuttaa sterolireaktio-osaan säääten transkriptiota mekanismin avulla, joka on samanlainen kuin

15 supergeeniperheen steroidihormonireseptorin jäsenien vaikutus. Brown ja Goldstein ovat kuvanneet menetelmiä sterolireaktio-osan käyttämiseksi pikakokeessa lääkkeille, jotka voivat stimuloida soluja syntetisoimaan LDL reseptoreita (US-patenttijulkaisu 4 935 363). Tämän keksinnön

20 kohteena ovat menetelmät ja yhdisteet, jotka inhiboivat suoraan tai epäsuorasti LDL reseptorigeenin lopputuoterepressiota puuttumalla hydroksikolesterolireseptoreiden vuorovaikutukseen niiden luonnollisten ligandien kanssa. Interferenssi voi olla joko antagonistin tai molekyylin muodossa, joka suoraan tai epäsuorasti alentaa pitoisuutta tai ligandien saatavuutta, jotka liittyvät LDL reseptorin lopputuoterepressioon. Tämän tulisi johtaa LDL reseptorin induktioon maksasolujen pinnalla, helpottaen LDL:n talteenottoa, sappihapposynteesiä ja eritystä kolesterolin aineenvaihduntatuotteiden poistamiseksi ja alentaen LDL, joka liittyy seerumin kolesterolitasoihin.

25

30

Olisi hyvin toivottavaa, että voitaisiin kiihdyttää LDL reseptoreiden synteesejä kromosomitasolla. LDL reseptorisynteesin kiihdyttäminen kromosomitasolla johtaa uu-

siin veriseerumin kolesterolitason arvoihin, jotka ovat alhaisempia ja kliinisesti haluttavampia.

Vastaavasti, tämän keksinnön kohteena ovat yhdisteet, jotka suoraan tai epäsuorasti kiihdyttävät LDL reseptorin synteesiä kromosomitasolla ja jotka ovat hyödyllisiä veren liikkokolesterolisuuden hoidossa.

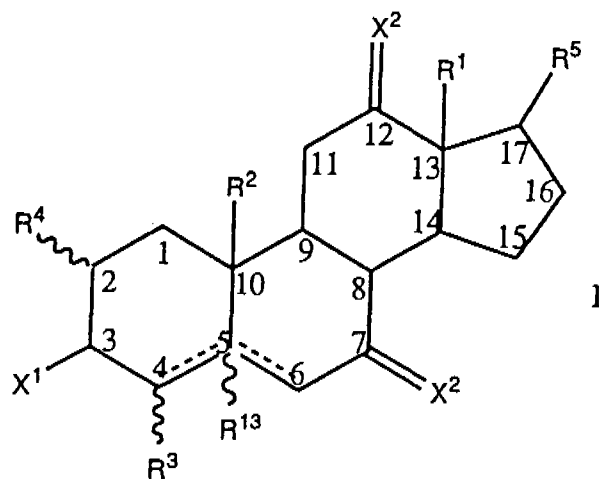
Tämän keksinnön lisäkohteena ovat terapeuttiset koostumukset mainitun tilan hoitamiseksi.

Lisäkohteena ovat menetelmät LDL reseptorisynteesin kiihdyttämiseksi veriseerumin LDL kolesterolitasojen alen-
tamiseksi ja valtimon hauraskovetustaudin inhiboimiseksi.

Muut kohteet, piirteet ja edut ovat ilmeisiä alaan perehtyneelle seuraavista kuvauksista ja patenttivaatimuksista.

Tämän keksinnön kohteena ovat uudet steroidijohdannaiset, jotka kiihdyttävät LDL reseptorin geeni-ilmaisua.

Erityisemmin tämän keksinnön kohteena ovat yhdisteet, joilla on kaava (I) ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat;



jossa ryhmät R^1 , R^5 , X^2 , R^{13} , R^3 , X^1 , R^4 ja R^2 ovat kuten tässä edellä on määritetty.

Tämän keksinnön kohteena ovat myös farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät kaavan (I) yhdistettä yh-

dessä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantoaineen, laimentimen tai täyteaineen kanssa.

Tämän keksinnön kohteena on myös monimuotoinen farmaseuttinen koostumus, joka sisältää kaavan (I) yhdistettä yhdessä muiden kolesterolin säätöaineiden (kolesterolia säätelevien aineiden) kanssa.

Tämän keksinnön kohteena on myös parannettu menetelmä kolesterolin säätelemiseksi nisäkkäissä, antamalla sekä tämän keksinnön yhdisteitä että muita kolesterolia sääteleviä aineita.

Tämän keksinnön lisäsuoritusmuotona on menetelmä LDL reseptorisynteesin kiihdyttämiseksi geeniekspressiossa nisäkkäissä.

Lisäsuoritusmuotona on menetelmä veren liikakolesterolin hoitamiseksi nisäkkäissä.

Edelleen keksinnön kohteena on menetelmä valtimon hauraskovetustaudin hoitamiseksi.

Näissä menetelmissä annetaan nisäkkäälle, joka tarvitsee LDL reseptorisynteesin skiihdyttämistä, vähennettyjä veriseerumin LDL kolesterolin tasoja tai valtimon hauraskovetustaudin inhibitiota, LDL reseptorigeenin ekspressiota ylöspäin säätävä annos, veeriseerumin kolesterolia alentava annos tai valtimon hauraskovetustautia inhiboiva annos kaavan (I) yhdistettä.

Termi "alkyyli" sinänsä tai toisen substituentin osana tarkoittaa, jollei toisin ilmoiteta, haarautumatonta tai haarautunutta hiilivetyketjua, jolla on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja, ja käsittää haarautuneet tai haarautumattomat ketjuryhmät, kuten metyylin, etyylin, n-propyylin, isopropyylin, n-butyylin, t-butyylin, isobutyylin, sek-butyylin ja missä esitetty, korkeammat homologit ja isomeerit, kuten n-pentyylin, n-heksyylin, 2-metyylipentyylin, 1,5-dimetyyliheksyylin, 1-metyyli-4-isopropyyliheksyylin ja vastaavat. Kaksiarvoinen radikaali, joka on johdettu alkaanista, on esimerkiksi $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Kaksiar-

voinen radikaali, joka on johdettu alkeenista, on esimerkiksi $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$. Termi "amino" tarkoittaa ryhmää $-\text{NM}_2$. Termi "substituoitu amino" tarkoittaa aminoryhmää, jossa yksi tai molemmat aminovedyt on riippumattomasti korvattu

5 C_1 - C_4 -alkyyylillä, C_2 - C_4 -alkenyylillä, halogeenillä, C_1 - C_4 -alkoksilla, $-\text{OH}$:lla, $-\text{SH}$:lla tai $-\text{S}(\text{C}_1\text{-}\text{C}_4\text{-alkyyli})$ -ryhmällä. Termi "halogeeni" on kloori, bromi, fluori tai jodi. Termi "merkaptto" on ryhmä $-\text{SH}$. Termi "asetamido" on ryhmä $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NH}-$. Termi "alkenyyli", käytettynä pelkästään tai

10 yhdessä muiden kanssa, on haarautumaton tai haarautunut monotyydyttymätön hiilivetyryhmä, jossa on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja, kuten vinyyli, propenyli(allyyli), krotyyli, isopentenyli ja useita butenyli-isomeerejä, ja missä esitetty, korkeampia homologeja ja isomeerejä. Termi

15 "sykloalkenyli" on substituoimaton tai substituoitu yksiarvoinen monotyydyttynyt syklinen hiilivetyradikaali, jolla on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja, mukaanlukien monet syklopentylin ja sykloheksenylin isomeerit. Substituentteina voidaan käyttää yhtä tai kahta samaa tai erilaista substituenttia valittuna ryhmästä halogeeni, hydroksi, syaani, merkaptto, $-\text{S}(\text{C}_1\text{-}\text{C}_4\text{-alkyyli})$, amino, substituoitu amino, asetamido, karboksi, trifluorimetyyli, C_1 - C_4 -alkoksi, $(\text{C}_1\text{-}\text{C}_4\text{-alkoksi})$ karbonyyli ja aminokarbonyyli. Ter-

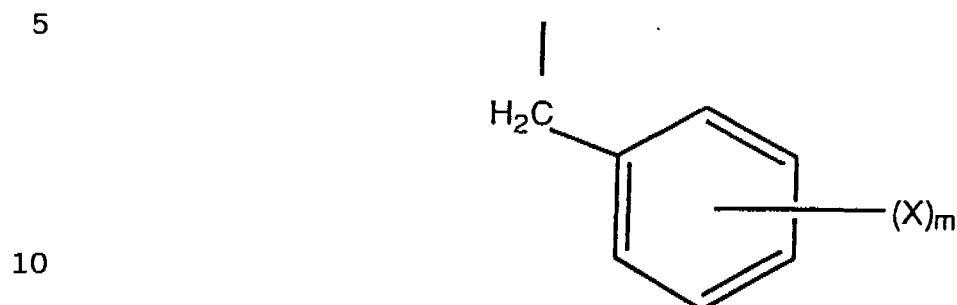
20 mi "sykloalkadienyli" tarkoittaa yksiarvoista di-tyydyttymätöntä syklistä radikaalia, jossa on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja, mukaanlukien syklopentadienylin ja sykloheksadienylin monet isomeerit.

25

Katkoviiva 4,5 ja 5,6 asemien välillä kuvaa lisäsidoksen läsnäoloa tai poissaoloa; toisin sanoen tyydyttymättömyyttä. Ainoastaan yksi tyydyttymättömyys voi esiintyä kerrallaan. 5-aseman vetyatomi, joka on esitetty kaavassa (I) R^{13} :na, ei tietenkään ole läsnä kun tyydyttymättömyyttä esiintyy.

30

Fenyylirengas, joka muodostaa osan bentsyylirengasta, joka on liittynyt steroidirenkaan 4-asemaan, on substituoitu tavalla, joka on esitetty kaavalla:



jossa X on ryhmä, joka on valittu ryhmästä vety, hydroksi, -SH, $-\text{S}(\text{C}_1-\text{C}_4\text{-alkyyli})$, hydroksialkyyli, halogeeni, $-\text{COOH}$,
 15 esteri, alkoksi, asetamido, alkoksialkyyli, alkoksiaryyli ja jossa m on 1 - 3, joista vähintään yksi X on para-asemassa suhteessa hiiliatomiin, joka on liittynyt steroidiytimeen.

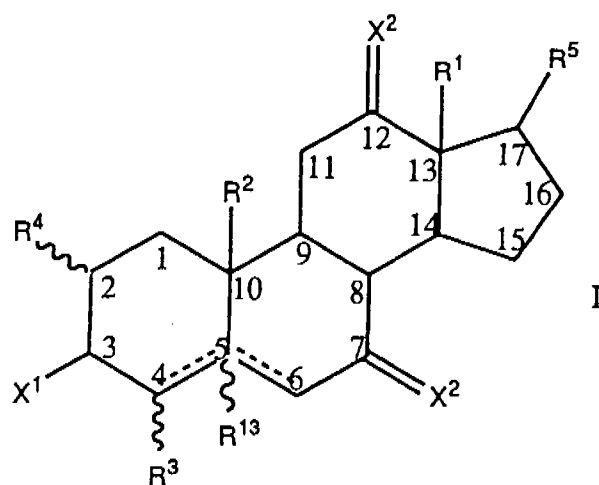
Edullisesti substituointi tapahtuu yhdellä X ryhmällä (jossa $m = 1$).

Termi "heterosyklinen" tarkoittaa substituoimatonta tai substituoitua stabiilia 5- tai 6-jäsenistä monosyklistä heterosyklistä rengasta, joka koostuu hiiliatomeista ja 1 - 3:sta heteroatomista, joka on valittu ryhmästä, jossa
 25 on N, O, S ja jossa typpi- ja rikkiheteroatomit voidaan valinnaisesti hapettaa ja typpiheteroatomi voidaan valinnaisesti kvaternisoida. Heterosyklinen rengas voidaan liittää, jollei toisin mainita, mihin tahansa heteroatomiin tai hiiliatomiin, joka muodostaa stabiilin rakenteen. Heterosyklinen rengas on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai kahdella substituentilla, jotka on riippumattomasti valittu ryhmästä halogeeni, -OH, -SH, $-\text{S}(\text{C}_1-\text{C}_4\text{-alkyyli})$, $\text{C}_1-\text{C}_5\text{-alkyyli}$, $\text{C}_1-\text{C}_5\text{-alkoksi}$, karboksi, $(\text{C}_1-\text{C}_4\text{-alkoksi})\text{karbonyyli}$, aminokarbonyyli, $\text{C}_1-\text{C}_4\text{-alkyyliaminokarbonyyli}$, amino, asetamido, $\text{C}_1-\text{C}_4\text{-alkyyliamino}$, di-

(C₁-C₄-alkyyli)amino tai ryhmä -(CH₂)_q-R, jossa q on 1, 2, 3 tai 4 ja R on hydroksi, C₁-C₄-alkoksi, karboksi, C₁-C₄-alkoksikarbonyyli, amino, aminokarbonyyli, C₁-C₄-alkyyli-amino tai di(C₁-C₄-alkyyli)amino. Esimerkkejä tällaisista heterosyklisistä yhdisteistä ovat piperidinyyli, piperatsinyyli, 2-oksopiperatsinyyli, 2-oksopiperidinyyli, 2-okso-pyrrolodinyyli, 2-oksoatsepinyyli, atsepinyyli, pyrrolyyli, 4-piperidonyyli, pyrrolidinyyli, pyratsolyyli, pyratsolidinyyli, imidatsolyyli, imidatsolinyyli, imidatsolidinyyli, pyridyyli, pyratsinyyli, pyrimidinyyli, pyridatsinyyli, oksatsolyyli, oksatsolidinyyli, isoksatsolyyli, isoksatsolidinyyli, morfolinyyli, tiatsolyyli, tiatsolidinyyli, isotiatsolyyli, isotiatsolidinyyli, tiadiatsolyyli, furyyli, tetrahydrofuryyli, tetrahydropyranyyli, tienyyli, tiamorfolinyyli, tiamorfolinyylisulfoksidi, tiamorfolinyylisulfoni, oksadiatsolyyli ja triatsolyyli.

X²:n määritelmä kuvaa kaksiarvoista oksoatomia tai kahta vetyatomia, yhtä vetyä ja yhtä hydroksiryhmää, tai yhtä vetyä ja yhtä merkaptoryhmää, yhtä vetyä ja yhtä halogeeniryhmää ja kahta halogeeniryhmää.

Laajimman määritelmän mukaisesti tämän keksinnön yhdisteet ovat kaavan (I) yhdisteitä ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja;



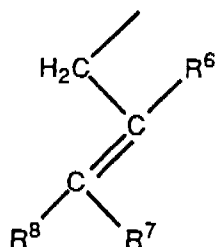
jossa ryhmät R^1 , R^5 , X^2 , R^{13} , R^3 , X^1 , R^4 ja R^2 ovat kuten tässä edellä on määritetty.

R^1 on haarautumaton C_1 - C_4 -alkyyli tai C_1 - C_4 -halogeenialkyyli;

5 R^2 on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

R^3 on vety, C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli tai ryhmä

10



15 jossa R^6 on vety, halogeeni, C_1 - C_4 -alkyyli, C_1 - C_4 -halogeenialkyyli, C_2 - C_4 -alkenyli tai C_2 - C_4 -halogeenialkenyyli;

R^7 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

20 R^6 ja R^7 ovat yhdistyneet hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, muodostaen substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkenylin, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkadienylin, substituoidun fenyylin tai substituomattoman tai substituoidun heterosyklisen renkaan;

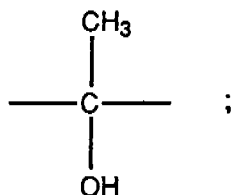
25 R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni;

30 R^4 on vety, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{X}^4)_2$, substituoitu bentsyyli tai $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}^4$, jossa $n = 1 - 6$ ja X^4 on riippumattomasti vety, $-\text{OH}$, C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli, C_1 - C_6 -alkoksi, C_1 - C_6 -halogeenialkoksi, substituoitu tai substituomaton fenyyli, substituoitu tai substituomaton fenoksi, substituoitu tai substituomaton bentsyylioksi, $-\text{SH}$, $-\text{S}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{-alkyyli})$ tai monosyklinen heterosyklinen rengas;

35 R^5 on ryhmä
 $-\text{A}-\text{Z}-\text{R}^{10}-\text{X}^3$

jossa A on sidos -O-, -CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-,
-CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

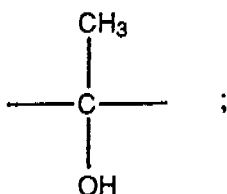
5



10

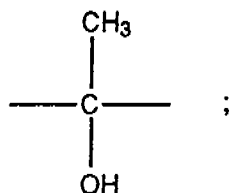
ja Z on sidos -O-, -CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-,
-CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

15



edellyttäen että ainoastaan toinen A:sta ja Z:sta on -O-,
-CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

20



25

R¹⁰ on

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton radikaalijohdannainen, joka
on johdettu C₁-C₁₂-alkaanista, tai

30

(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton, tyydyttymätön radikaali,
joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

35

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai
useampia, samoja tai erilaisia, ryhmästä hydroksi,
-CH₂N(alkyyli)₂, asetamido, substituoitu amino, amino, mer-
kapto, -S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä

hiiliatomia voivat kumpikin sitoutua samaan happiatomiin muodostaen epoksidin;

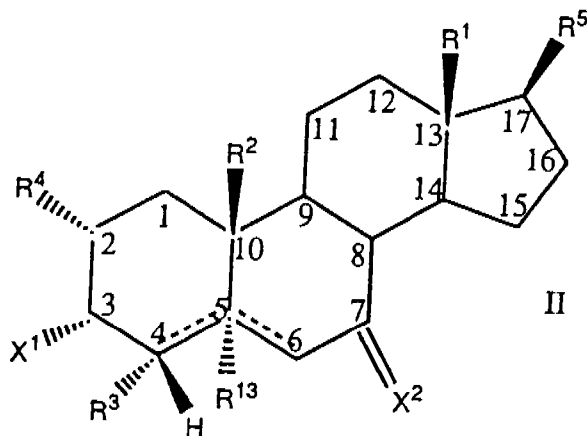
X^3 on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyyli, substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substituoimaton tai substituoitu bentsyylioksi, halogeeni, halogeenialkyyli, OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-alkenyyli, -OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli, -C(O)(C₂-C₆-alkenyyli), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli), -NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², jossa R¹¹ ja R¹² ovat riippumattomasti vety tai C₁-C₄-alkyyli;

R¹³ on vety, edellyttäen, että steroidiydin on tyydyttynyt tai R¹³ ei ole läsnä kun ydin on tyydyttymätön 4,5 tai 5,6-asemassa;

X¹ on hydroksi, asyylioksi, amino, asetamido, substituoitu amino, merkpto, =O tai (C₁-C₄-alkoksi)karbonyylioksi; ja

kukin X² on riippumattomasti happi; vety, vety; vety, hydroksi; vety, merkpto; halogeeni, vety; tai halogeeni, halogeeni.

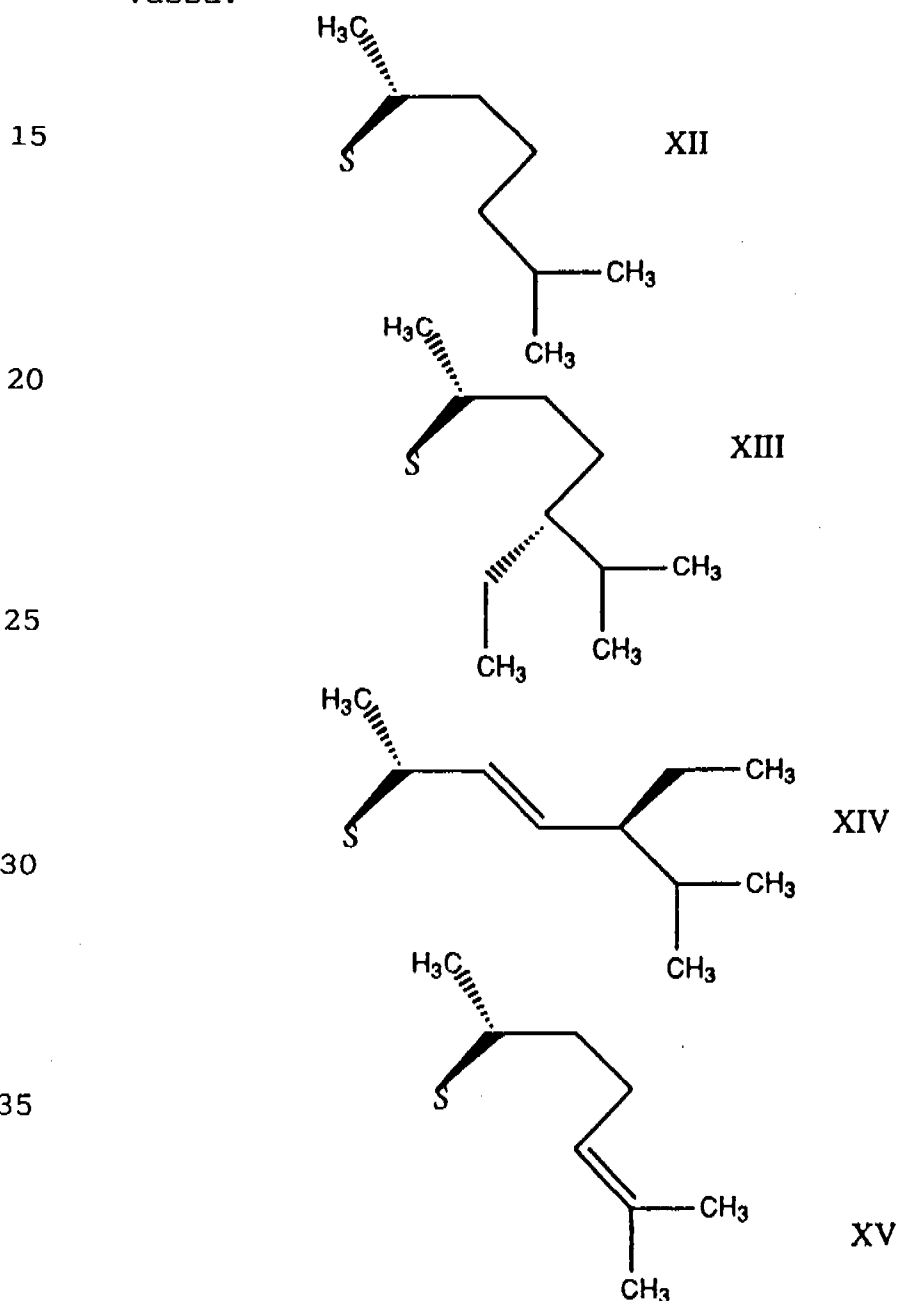
Tämän keksinnön yhdisteillä, kuten alaan perehtynyt ymmärtää, on monia mahdollisia kiraalisia hiiliatomeja. Näistä kiraliakeskuksista johtuen tämän keksinnön yhdisteet esiintyvät rasemaatteina, raseemisina seoksina, yksittäisinä diastereomeereinä ja pääosin puhtaina isomeereinä. Kaikki asymmetriset muodot, yksittäiset isomeerit ja niiden yhdistelmät kuuluvat tämän keksinnön piiriin. Edullisella yhdisteiden luokalla on seuraava osittain steerinen konfiguraatio, joka on esitetty kaavassa (II):



jossa substituentit R^1 , R^5 , X^2 , R^{13} , R^3 ja R^4 ja R^2 ovat kuten edellä on määritetty kaavalle (I) ja X^1 on valittu ryhmästä, jossa on hydroksi, amino, asetamido, substituoitu amino, merkapto, etyleenidioksi ja (C_1 - C_4 -alkoksi)karbonyylioksi.

Ryhmä R^3 on edullisesti 2-propenylyli, 2-butenyyli, 2-metyyli-2-propenylyli tai 2-halogeeni-2-propenylyliryhmä, jossa halogeeni on edullisesti fluori, kloori tai bromi.

Lisäksi ryhmällä R^5 voi olla monia steerisiä muotoja. Edullisia muotoja R^5 :lle ovat ne, jotka on esitetty kaavoilla XII, XIII, XIV ja XV, jotka on esitetty seuraavassa:

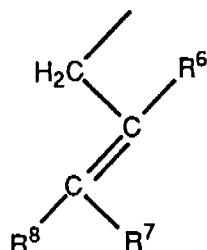


jossa S on ryhmän liittymiskohta asemaan 17 kaavan II steroidirenkaassa.

Erityisen edullinen luokka tämän keksinnön yhdisteitä, joilla on aktiiviset substituentit steroidiytimen 4-asemassa, ovat kaavan II yhdisteet, joilla on substituenttien seuraavat yhdistelmät (1) tai (2):

(1) R^4 on vety; ja

R^3 on C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli, ryhmä



R^6 on vety, halogeeni, C_1 - C_4 -alkyyli, C_1 - C_4 -halogeenialkyyli, C_2 - C_4 -alkenylyli tai C_2 - C_4 -halogeenialkenylyli;

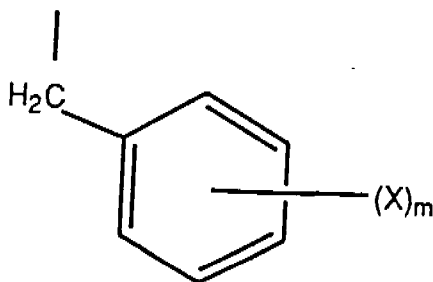
R^7 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

R^6 ja R^7 muodostavat yhdessä hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, substituoidun tai substituoimattoman C_5 - C_6 -sykloalkenyylin, substituoidun tai substituoimattoman C_5 - C_6 -sykloalkadienyylin, substituoidun feenylin tai substituoimattoman tai substituoidun heterosyklisen renkaan;

R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

(2) R^4 on vety; ja

R^3 on bentsyyli-ryhmä, jolla on kaava:

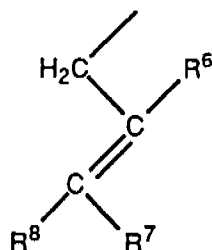


jossa X on ryhmä, joka on valittu ryhmästä vety, hydroksi, hydroksialkyyli, halogeeni, -COOH, ester, alkoksi, alkoksialkyyli, alkoksiaryyli ja jossa m on 1 - 3, niin että vähintään yksi X on para-asemassa suhteessa hiiliatomiin, joka on liittynyt steroidiytimeen.

Erityisen edullinen luokka tämän keksinnön yhdisteitä, joilla on substituentit steroidiytimen 2-asemassa, ovat kaavan II yhdisteet, joilla on seuraavat substituenttien yhdistelmät:

(1) R^3 on vety; ja

R^4 on C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli tai ryhmä



jossa R^6 on vety, halogeeni, C_1 - C_4 -alkyyli, C_1 - C_4 -halogeenialkyyli, C_2 - C_4 -alkenyli tai C_2 - C_4 -halogeenialkenyyli;

R^7 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

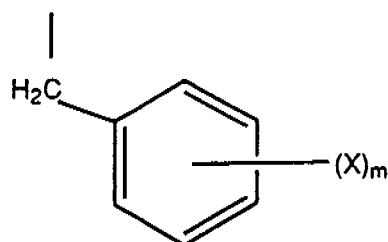
R^6 ja R^7 muodostavat yhdessä hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkenylin, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkadienylin, substituoidun feynylin tai substituoidun tai substituomattoman heterosyklisen renkaan;

R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

(2) R^3 on vety; ja

R^4 on bentsyyli-ryhmä, jolla on kaava:

5



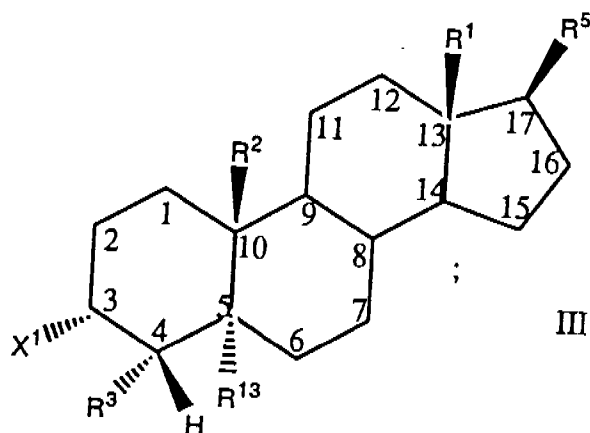
10

jossa X on ryhmä, joka on valittu ryhmästä vety, hydroksi, hydroksialkyyli, halogeeni, -COOH, ester, alkoholi, alkoksialkyyli, alkoksiaryyli ja jossa m on 1 - 3, niin että vähintään yksi X on para-asemassa suhteessa hiiliatomiin, joka on liittynyt steroidiytimeen.

15

Edullisimpia, johtuen niiden valmistuksen helppoudesta, ovat steroidiyhdisteet tyydyttyneellä renkaalla, joilla on seuraava kaava III:

20



25

30

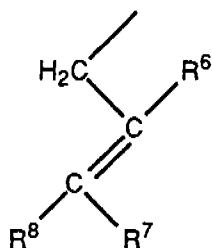
jossa:

R^1 on haarautumaton C_1 - C_4 -alkyyli tai C_1 - C_4 -halogeenialkyyli;

R^2 on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

35

R^3 on vety, C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli tai ryhmä



jossa R^6 on vety, halogeeni, C_1 - C_4 -alkyyli, C_1 - C_4 -halogeenialkyyli, C_2 - C_4 -alkenyyli tai C_2 - C_4 -halogeenialkenyyli;

10 R^7 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

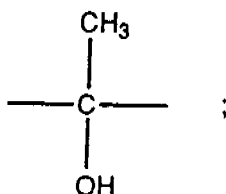
R^6 ja R^7 muodostavat yhdessä hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkenyylin, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkadienyylin, substituoidun fe-
 15 nyylin tai substituomattoman tai substituoidun heterosyklisen renkaan;

R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni;

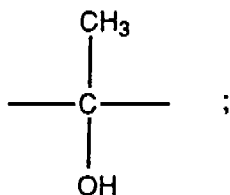
20 R^5 on ryhmä



25 jossa A on sidos $-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{halo})-$, $-\text{C}(\text{halo})_2-$, tai



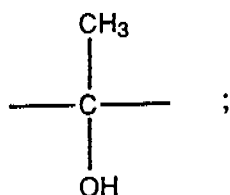
30 ja Z on sidos $-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{halo})-$, $-\text{C}(\text{halo})_2-$, tai



5

edellyttäen, että ainoastaan toinen A:sta ja Z:stä on
-O-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

10

15 R¹⁰ on

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton radikaalijohdannainen, joka
on johdettu C₁-C₁₂-alkaanista, tai

(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton, tyydyttymätön radikaali,
joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai
useampia, samoja tai erilaisia, ryhmästä hydroksi,
-CH₂N(alkyyli)₂, asetamido, substituoitu amino, amino, mer-
kapto, -S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä
hiiliatomia voivat kumpikin sitoutua samaan happiatomiin
muodostaen epoksidin;

X³ on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyyli,
substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substituoimaton
tai substituoitu bentsyylioksi, halogeeni, halogeenialkyyli,
OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-alkenyyli,
-OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli,
-C(O)(C₂-C₆-alkenyyli), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli),
-NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², jossa R¹¹ ja R¹² ovat riippumattomasti
vety tai C₁-C₄-alkyyli;

X^1 on hydroksi, asyylioksi, amino, asetamido, substituoitu amino, merkaptto, =O, etyleenidioksi tai (C_1 - C_4 -alkoksi)karbonyylioksi;

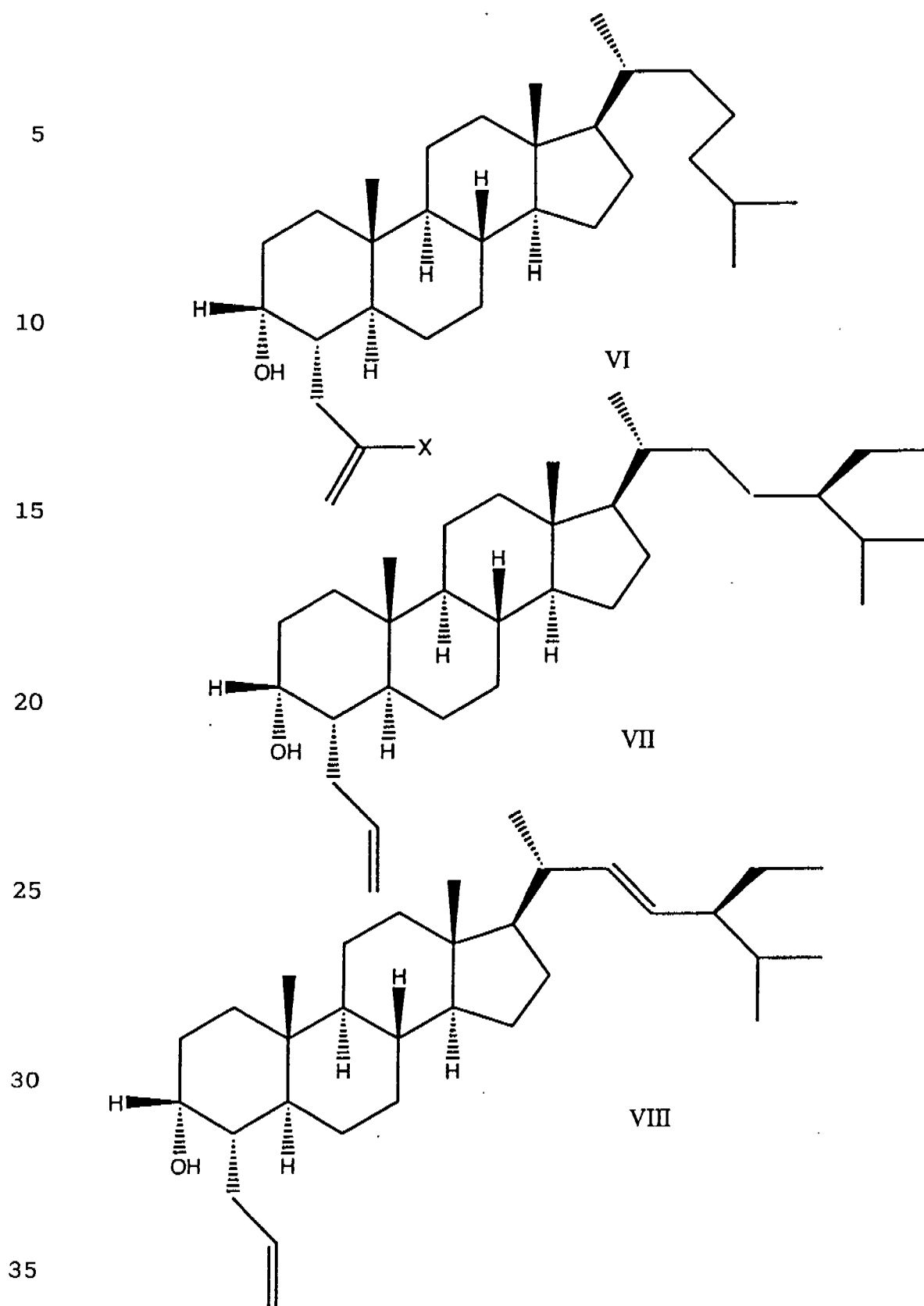
R^{13} on vety.

- 5 Kuvaavia spesifisiä yhdisteitä, joista on hyötyä farmaseuttisten koostumusten valmistuksessa ja tämän keksinnön menetelmien hyödyntämisessä, ovat seuraavat:
- [4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)kolestan-3a-oli,
 [4a,5a]-4-(1-propenyyli)kolestan-3a-oli,
 10 [4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)-25-hydroksikolestan-3a-oli,
 [4a,5a]-4-butyylidikolestan-3a-oli,
 [4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)-3a-aminokolestaani,
 [4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)-3a-asetamidokolestaani,
 [4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)-3β-asetamidokolestaani,
 15 4a-(4-fluoribentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-bromibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-jodibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-trifluorimetyylibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-diklooribentsyyli)kolestan-3a-oli,
 20 4a-(4-syaanibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-metoksikarbonylibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-trifluorimetoksibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-klooribentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-bentsyylioksibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 25 4a-(4-hydroksimetyylibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-karboksibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3a-oli,
 4a-bentsyyli-4-kolestan-3a-oli,
 4a-allyyli-5-kolestan-3a-oli,
 30 4a-allyyli-kolaani-24-N,N-dimetyyliamino-3a-oli,
 3a,12a-dihydroksi-25-atsakoprostaani,
 3a-hydroksi-25-atsakoprostaani,
 3a,7a-dihydroksi-25-atsakoprostaani,
 3a,7a,12a-trihydroksi-25-atsakoprostaani,
 35 3a,7a,12a-dihydroksi-25-atsakoprostaani,

- (3 α ,4 α ,5 α)-17-(pentyylioksi)-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 (3 α ,4 α ,5 α)-17-(oktyylioksi)-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 5 (3 α ,4 α)-17-[(4-metyylipentyyli)oksi]-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 (3 α ,4 α)-17-(3-fenyylipropoksi)-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 (3 α ,4 α)-17-(fenyylimetoksi)-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 10 (3 α ,4 α)-17-[(4,4-dimetyylipentyyli)oksi]-4-(2-propenyyli)androstan-3-oli,
 2-(hydroksimetyleeni)-4 α -(2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (2 α ,3 α ,5 α)-2-(2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 15 (3 β ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(3,3-difluori-2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3-amiini,
 (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-propyylikolestan-3-oli,
 20 (3 α ,4 α)-4-(2-metyyli-2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (3 α ,4 α)-4-(2-kloori-2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (3 α ,4 α)-4-(2-bromi-2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 (3 α ,4 α ,24R)-4-(2-propenyyli)-24-(etyyli)kolestan-3-oli ja
 (3 α ,4 α ,22E,24R)-4-(2-propenyyli)-24-(etyyli)kolest-22-en-3-oli.

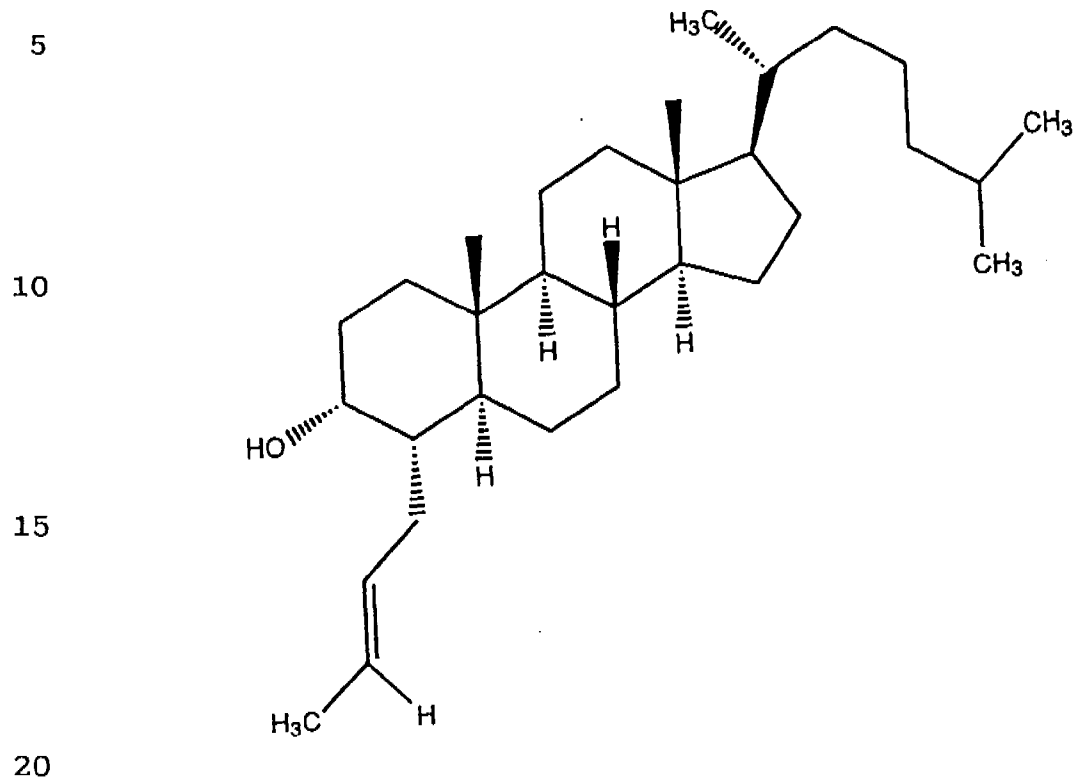
Muita hyvin edullisia yhdisteitä ovat:

- (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-kloori-2-propenyyli)kolestan-3-oli ja
 (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-bromi-2-propenyyli)kolestan-3-oli,
 joita edustaa kaava VI;
 30 (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-propenyyli)stigmastan-3-oli, jota edustaa kaava VII; ja
 (3 α ,4 α ,5 α ,22E)-4-(2-propenyyli)stigmast-22-en-3-oli, jota edustaa kaava VIII, kuten seuraavassa:

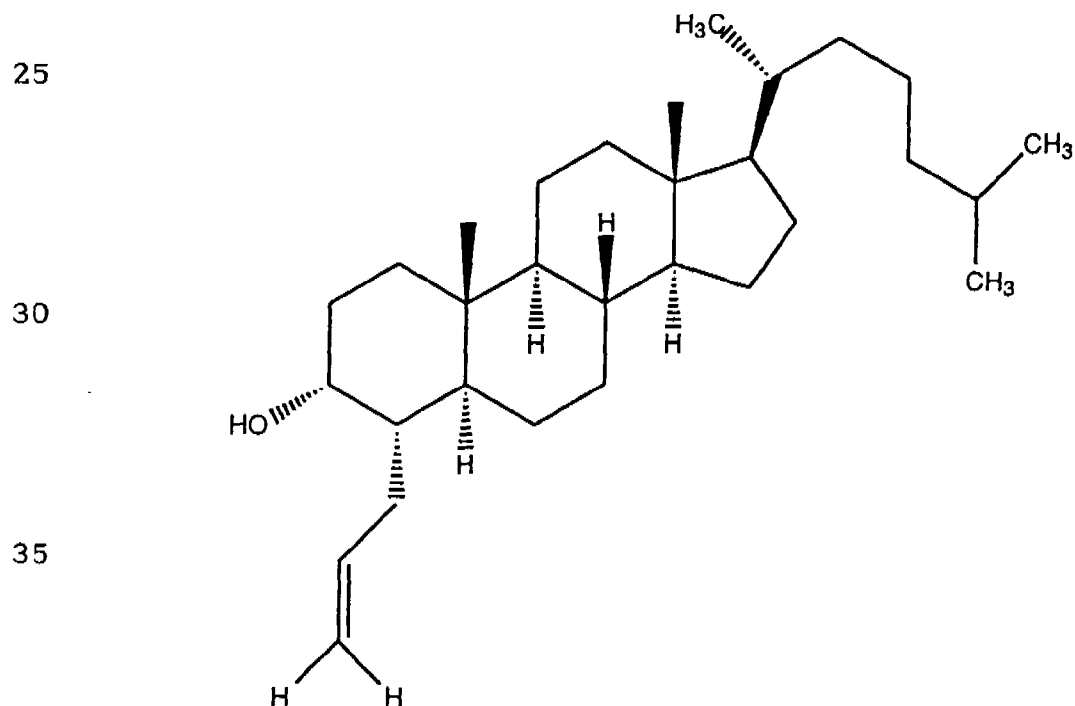


Edullisimpia ovat seuraavat yhdisteet:

[4 α (E),5 α]-4-(2-butenyyli)kolestan-3 α -oli, jota edustaa
kaava:



ja [4 α ,5 α]-4-(2-propenyyli)kolestan-3 α -oli, jota edustaa
kaava:

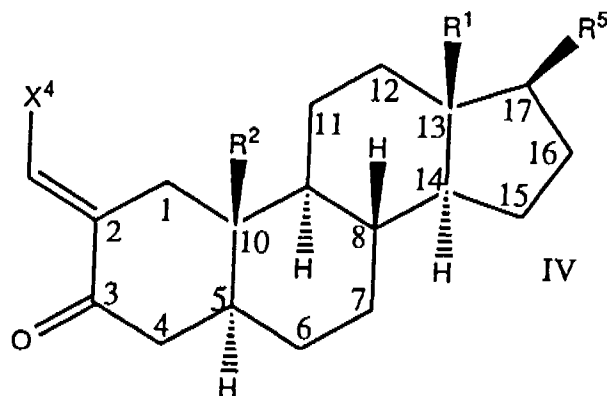


Muita spesifisiä keksinnön yhdisteitä, joilla on kolesterolia ja/tai lipidia alentavia vaikutuksia, on esitetty kaavoissa IV ja V, kuten seuraavassa on määritetty:

Kaavalle IV:

5

10



15

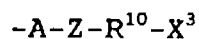
jossa

R^1 on haarautumaton C_1 - C_4 -alkyyli tai C_1 - C_4 -halogeenialkyyli;

R^2 on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

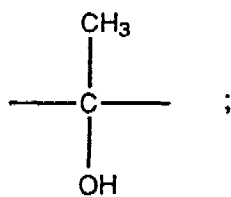
20

R^5 on ryhmä



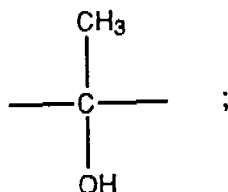
25

jossa A on sidos $-O-$, $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH(CH_2CH_3)-$, $-CH(halo)-$, $-C(halo)_2-$, tai



30

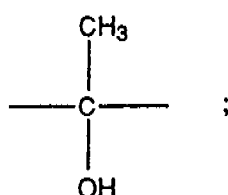
ja Z on sidos $-O-$, $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH(CH_2CH_3)-$, $-CH(halo)-$, $-C(halo)_2-$, tai



5

edellyttäen, että ainoastaan toinen A:sta ja Z:stä on
-O-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

10

15 R¹⁰ on

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton radikaalijohdannainen, joka
on johdettu C₁-C₁₂-alkaanista, tai

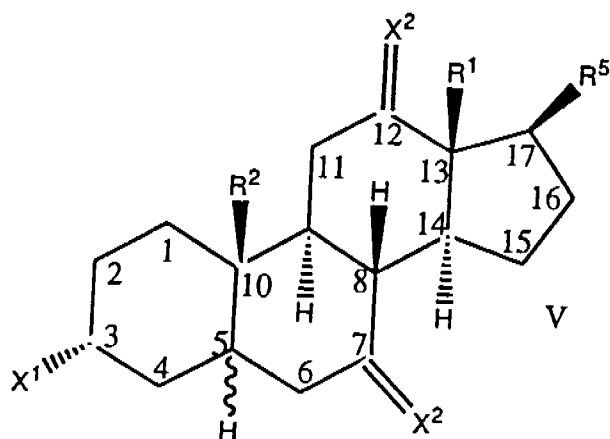
(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton, tyydyttymätön radikaali,
joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai
useampia, samoja tai erilaisia, ryhmästä hydroksi,
-CH₂N(alkyyli)₂, substituoitu amino, amino, merkapto,
-S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä hiili-
atomia voivat kumpikin sitoutua samaan happiatomiin muo-
dostaen epoksidin;

X³ on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyyli,
substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substituoimaton
tai substituoitu bentsyylioksi, halogeeni, halogeenialkyyli,
OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-alkenyyli,
-OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli,
-C(O)(C₂-C₆-alkenyyli), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli),
-NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², jossa R¹¹ ja R¹² ovat riippumattomasti
vety tai C₁-C₄-alkyyli; X⁴ on vety, -OH, C₁-C₆-alkoksi, sub-

stituoitu tai substituimaton fenoksi, substituoitu tai substituimaton bentsyylioksi tai $-NR^8R^9$, jossa R^8 ja R^9 ovat riippumattomasti vety tai C_1 - C_4 -alkyyli tai ne muodostavat yhdessä typpiä atomin kanssa, johon ne ovat sitoutuneet, substituoidun tai substituimattoman tyyppiä sisältävän heterosyklisen renkaan.

Kaavalle V:



jossa

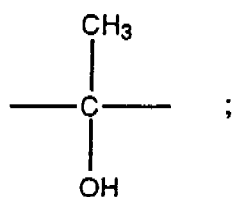
R^1 on haarautumaton C_1 - C_4 -alkyyli tai C_1 - C_4 -halogeenialkyyli;

R^2 on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

R^5 on ryhmä

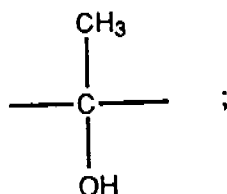
$-A-Z-R^{10}-X^3$

jossa A on sidos $-O-$, $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH(CH_2CH_3)-$, $-CH(halo)-$, $-C(halo)_2-$, tai



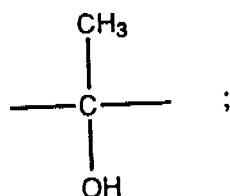
ja Z on sidos -O-, -CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-,
-CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

5



edellyttäen, että ainoastaan toinen A:sta ja Z:stä on
10 -O-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

15



R¹⁰ on

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton radikaalijohdannainen, joka
20 on johdettu C₁-C₁₂-alkeenista, tai

(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton, tyydyttymätön radikaali,
joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai
25 useampia, samoja tai erilaisia, ryhmästä hydroksi,
-CH₂N(alkyyli)₂, asetamido, substituoitu amino, amino, merk-
kapto, -S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä
hiiliatomia voivat kumpikin sitoutua samaan happiatomiin
muodostaen epoksidin;

30

X³ on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyyli,
substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substituoimaton
tai substituoitu bentsyylioksihalogeeni, halogeenialkyyli,
OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-
alkenyli, -OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli,

-C(O)(C₂-C₆-alkenyyli), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli), tai monosyklinen heterosyklinen rengas;

X¹ on hydroksi, asyylioksi, amino, asetamido, substituoitu amino, merkpto, =O tai (C₁-C₄-alkoksi)karbo-
nyylioksi; ja

kukin X² on riippumattomasti happi; vety, vety; vety, hydroksi; vety, merkpto; halogeeni, vety; tai halogeeni, halogeeni.

Kuten edellä on mainittu, keksintö käsittää edeltävässä kaavassa määritettyjen yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat. Tämän keksinnön erityinen yhdiste voi reagoida minkä tahansa lukumäärän kanssa ei-myrkyllisiä epäorgaanisia emäksiä ja ei-myrkyllisiä epäorgaanisia ja orgaanisia happoja, muodostaen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan. Hapot, joita tavallisesti käytetään happoadditiosuolojen muodostamiseen, ovat epäorgaanisia happoja, kuten vetykloridihappo, vetybromidihappo, vetyjodidihappo, rikkihappo, fosforihappo ja vastaavat ja orgaanisia happoja, kuten p-tolueeni-sulfonihappo, metaanisulfonihappo, oksaalihappo, p-bromi-fenyylisulfonihappo, hiilihappo, meripihkahappo, sitruunahappo, bentsoehappo, etikkahappo ja vastaavat. Esimerkkejä tällaisista farmaseuttisesti hyväksyttävistä suoloista ovat täten sulfaatti, pyrosulfaatti, bisulfaatti, sulfiitti, bisulfiitti, fosfaatti, monovetyfosfaatti, divetyfosfaatti, metafosfaatti, pyrofosfaatti, kloridi, bromidi, jodidi, asetaatti, propionaatti, dekanoaatti, kaprylaatti, akrylaatti, formiaatti, isobutyraatti, kaproaatti, heptanoaatti, propiolaatti, oksalaatti, malonaatti, sukkinaatti, suberaatti, sebakaatti, fumaraatti, maleaatti, butyyni-1,4-dioaatti, heksyyni-1,6-dioaatti, bentsoaatti, klooribentsoaatti, metyylibentsoaatti, dinitrobentsoaatti, hydroksibentsoaatti, metoksibentsoaatti, ftalaatti, sulfonaatti, ksyleeni-sulfonaatti, fenyyliasetaatti, fenyylipropionaatti, fenyylibutyraatti, sitraatti, laktaatti, gamma-hydroksibuty-

raatti, glykolaatti, tartraatti, metaanisulfonaatti, pro-
 paanisulfonaatti, naftaleeni-1-sulfonaatti, naftaleeni-2-
 sulfonaatti, mandelaatti ja vastaavat. Edullisia farma-
 seuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja ovat ne,
 5 jotka on muodostettu mineraalihapoista, kuten vetykloridi-
 haposta ja vetybromidihaposta ja ne, jotka on muodostettu
 orgaanisista hapoista, kuten maleiinihaposta ja metaani-
 sulfonihaposta.

Emäshapposuoloja ovat ne epäorgaanisista emäksistä
 10 johdetut yhdisteet, kuten ammonium- tai alkali- tai maa-
 alkalimetallihydroksidit, karbonaatit, bikarbonaatit ja
 vastaavat. Tällaiset emäkset ovat hyödyllisiä tämän keksin-
 nön suolojen valmistuksessa, kuten natriumhydroksidin,
 kaliumhydroksidin, ammoniumhydroksidin, kaliumkarbonaatin,
 15 natriumkarbonaatin, natriumbikarbonaatin, kaliumbikarbo-
 naatin, kalsiumhydroksidin, kalsiumkarbonaatin ja vastaa-
 vien valmistuksessa. Kalium- ja natriumsuolamuodot ovat
 erityisen edullisia.

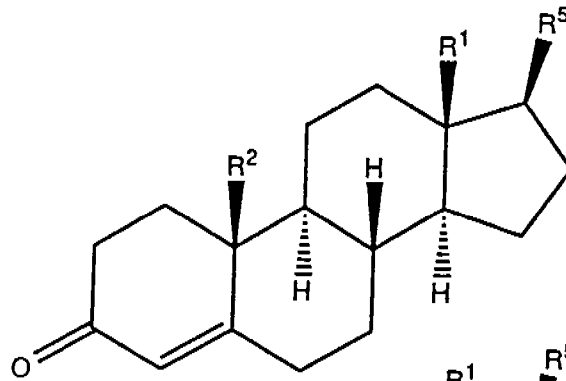
Tämän keksinnön yhdisteet tai niiden prekursorit
 20 valmistetaan käyttäen menetelmiä, jotka ovat tunnettuja
 tavallisesti alaan perehtyneelle.

Tämän keksinnön yhdisteet, joita sinänsä voidaan
 käyttää välituotteina tämän keksinnön yhdisteiden valmis-
 25 tuksessa, on valmistettu tavallisesti reaktioiden mukai-
 sesti, joita on esitetty kaavioissa 1 - 8.

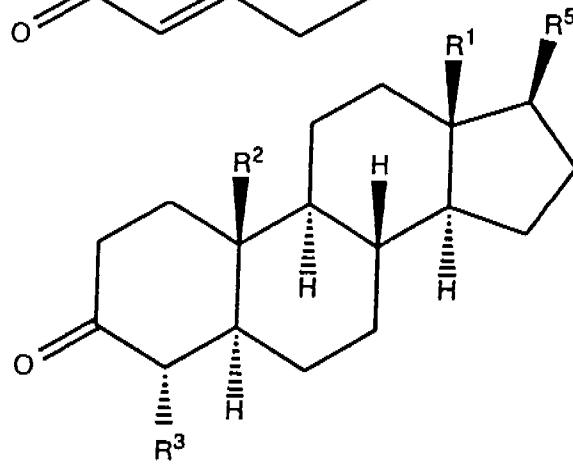
Kaavio 1

A.

5

Pelkistävä
alkylointi →

10



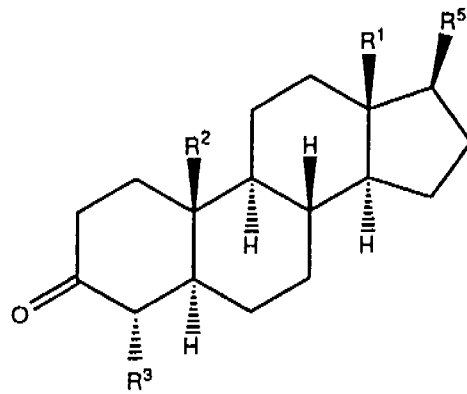
15

20

Kaavio 1:

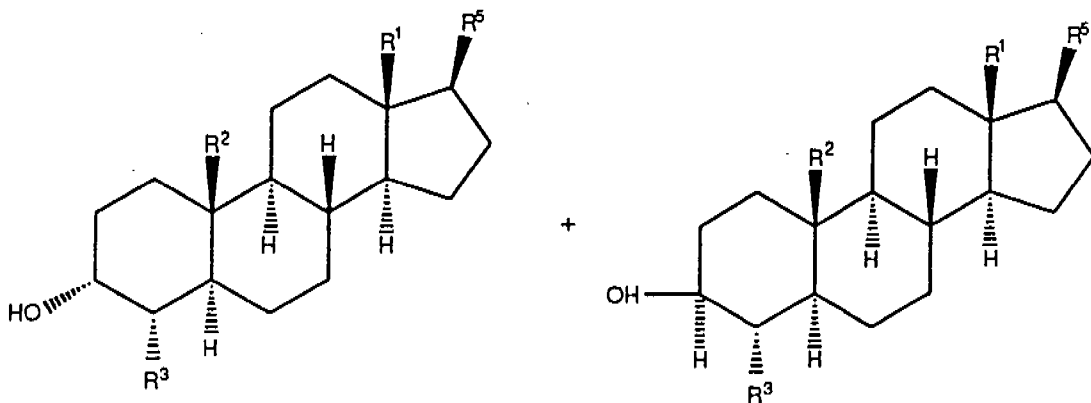
B.

25



Pelkistys →

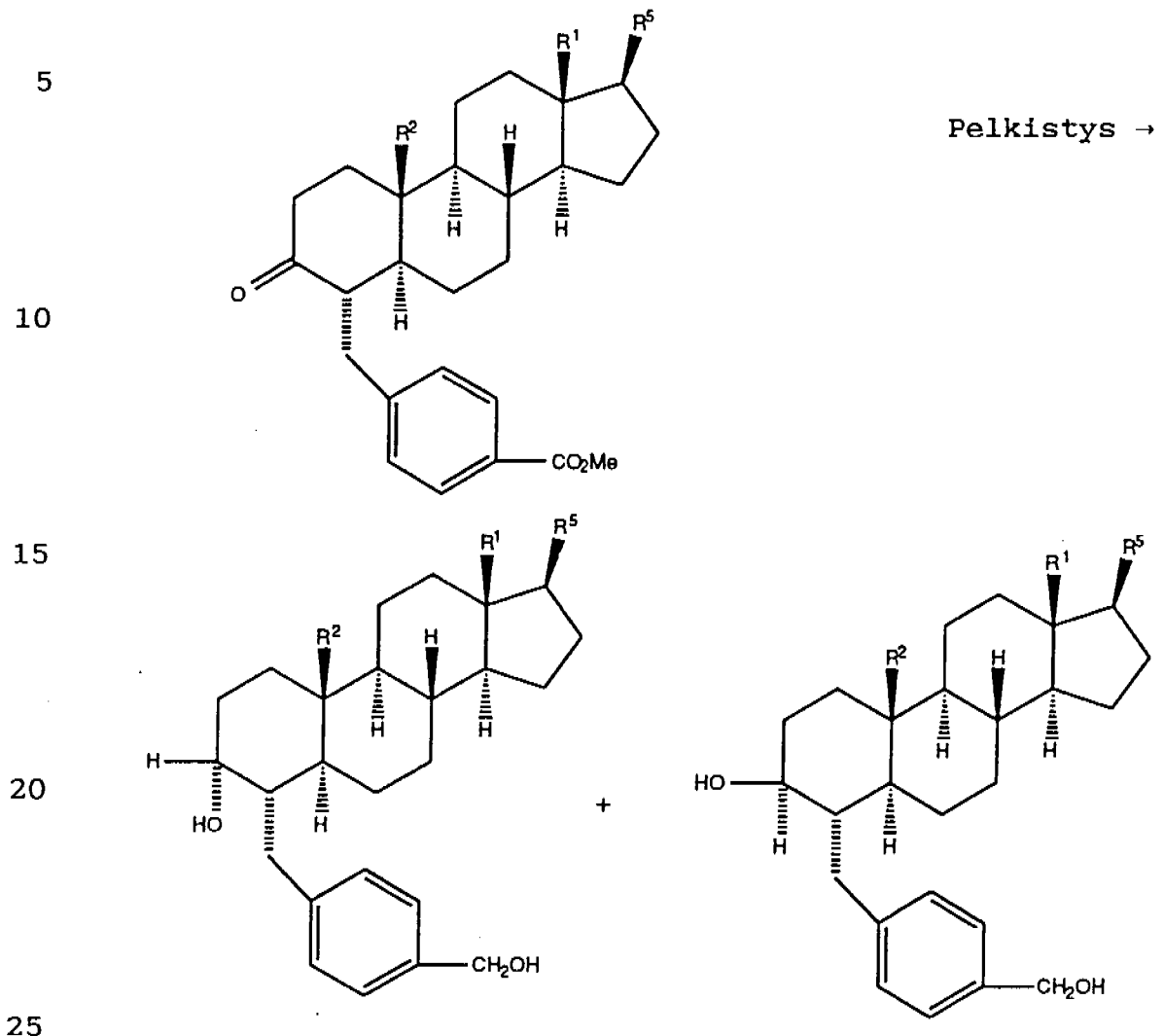
30



35

Kaavio 1:

C.



Kaavio 1

D.

5

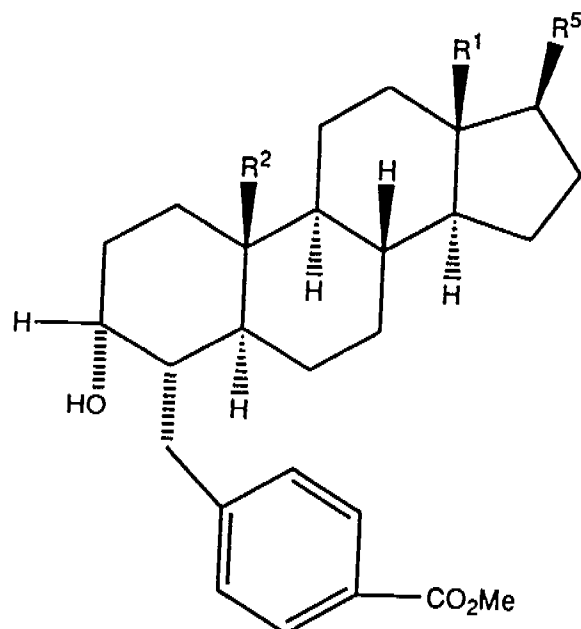
10

15

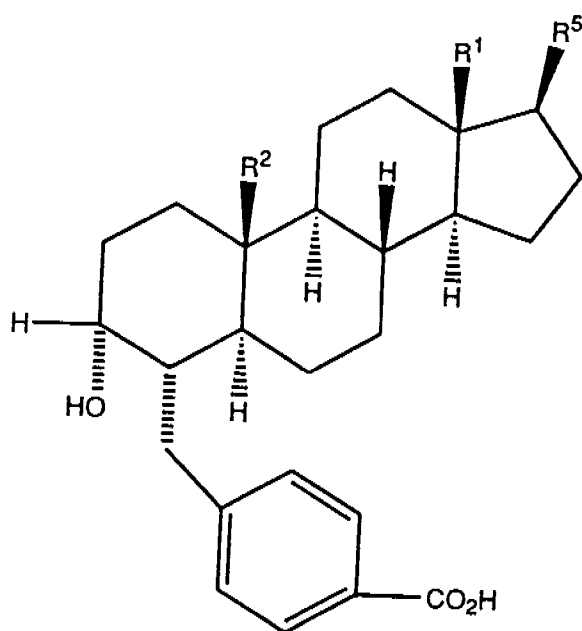
20

25

30



Emäksinen
hydrolyysi $\rightarrow$



Kaavio 1

E.

5

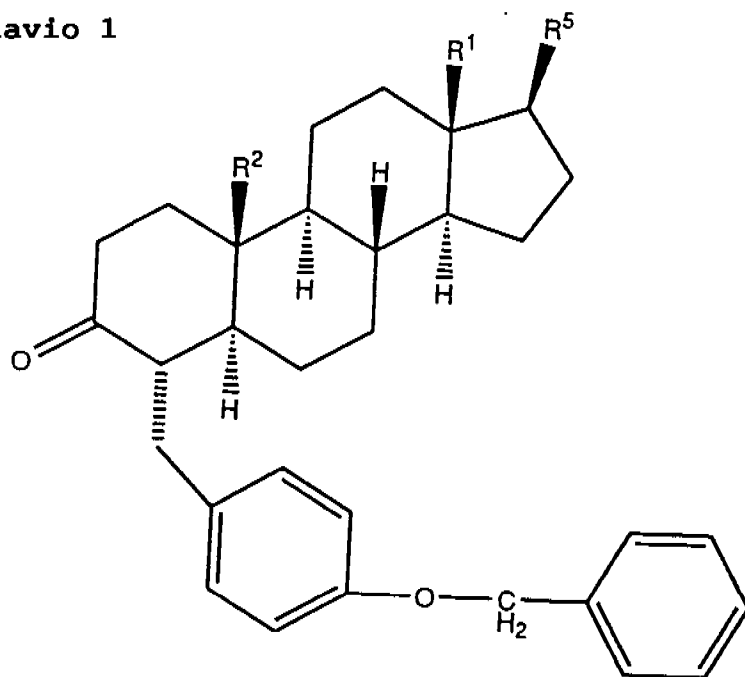
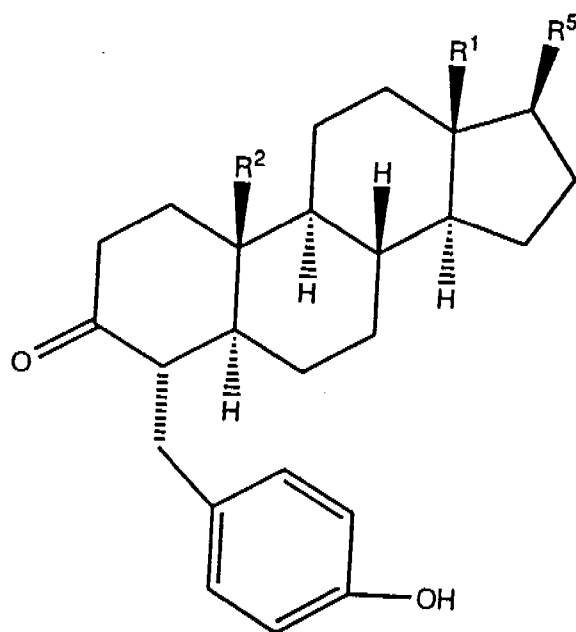
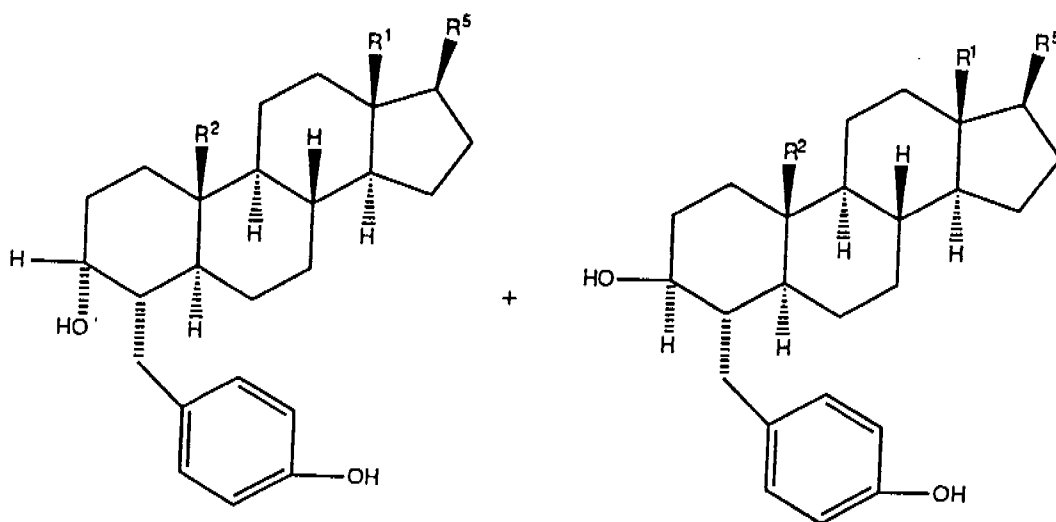
10

15

20

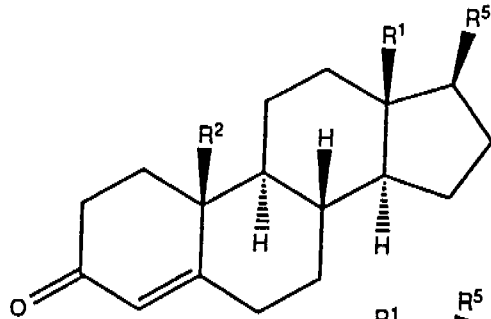
25

30

Hydraus $\rightarrow$ Pelkistys $\rightarrow$ 

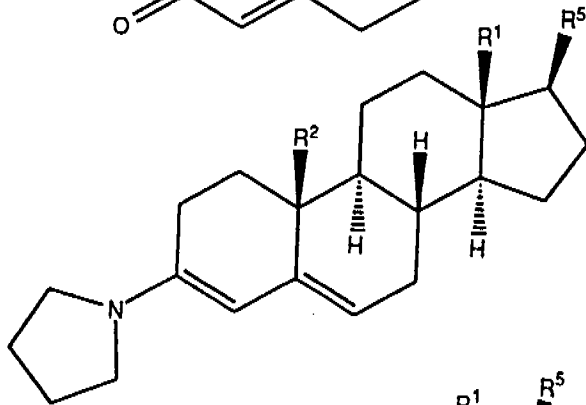
Kaavio 2

5



Enamiinin
muodostus ->

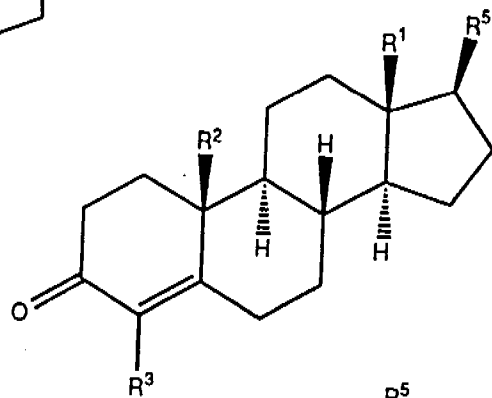
10



1) Alkylointi
2) Hydrolyysi ->

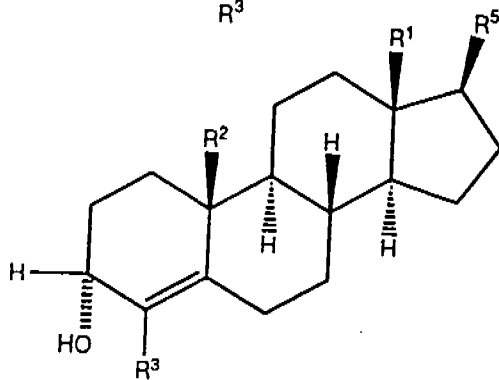
15

20

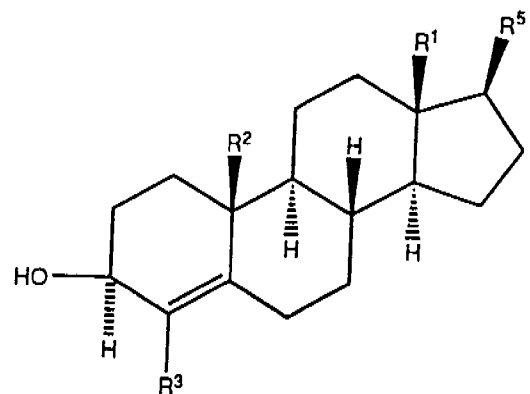


Pelkistys ->

25



+

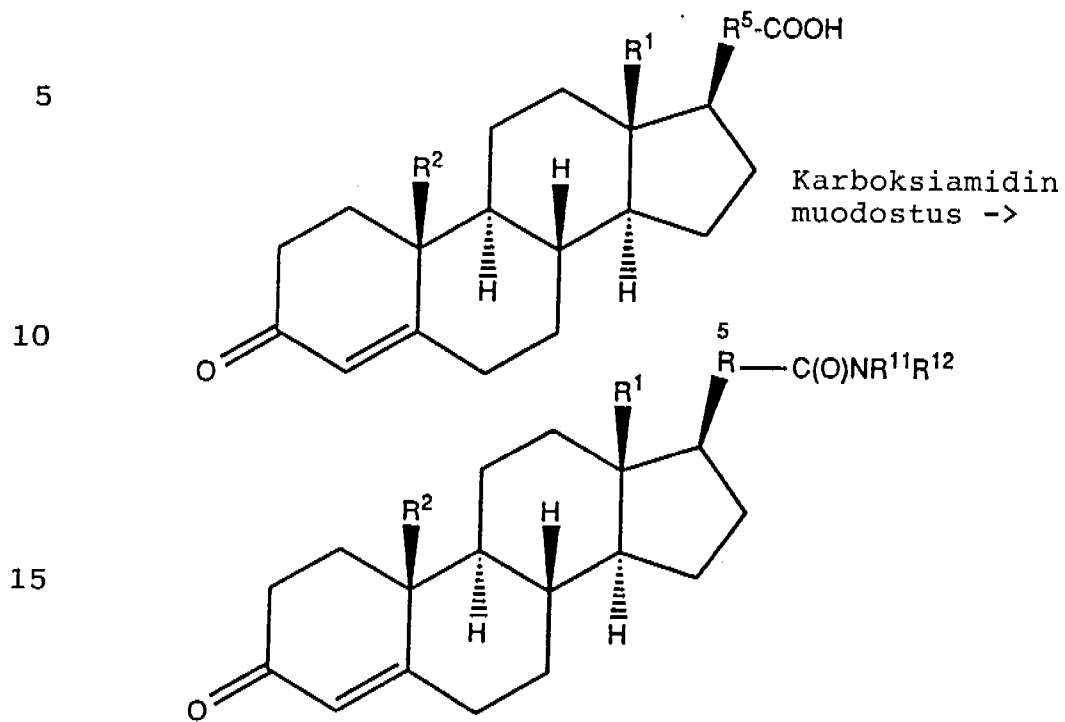


30

35

Kaavio 3

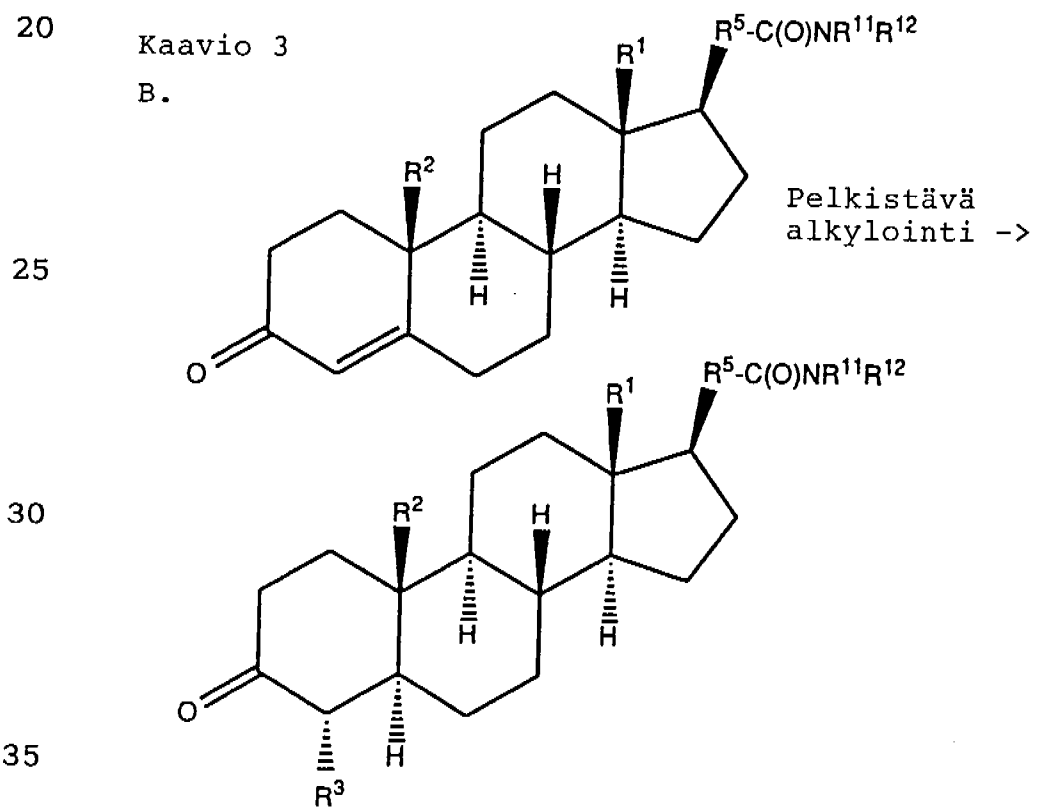
A.



20

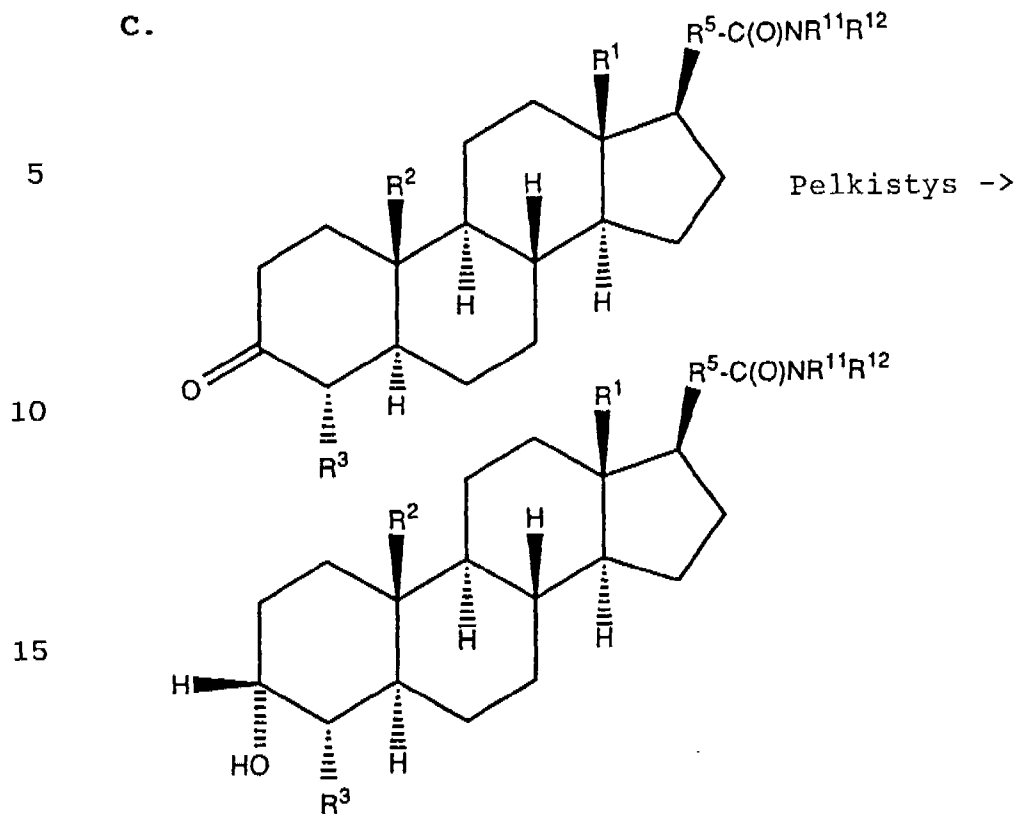
Kaavio 3

B.



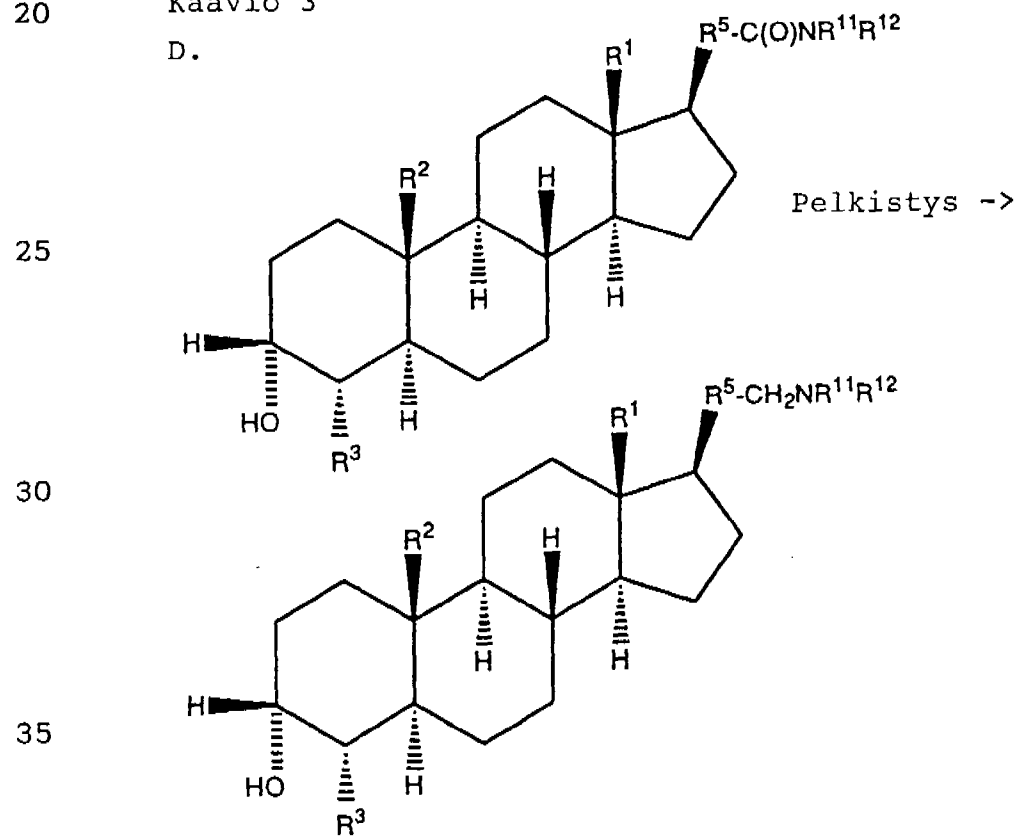
Kaavio 3

C.



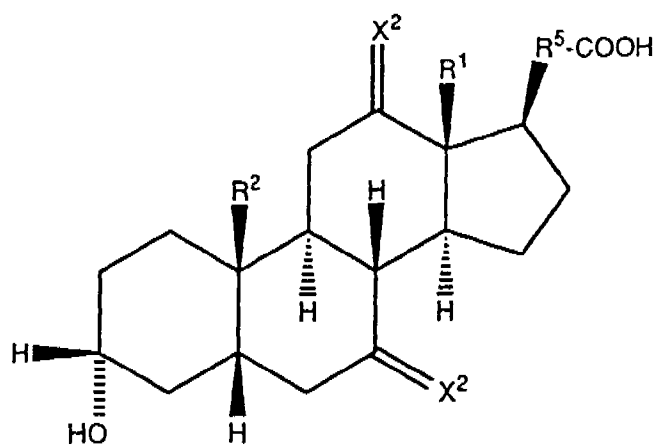
Kaavio 3

D.



A.

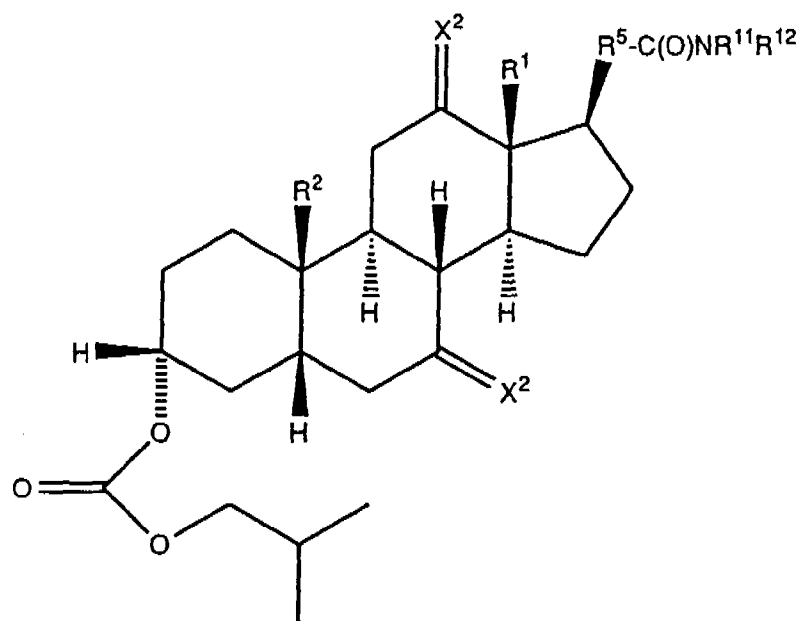
10



2) Karboksi-
amidin muo-
dostus →

15

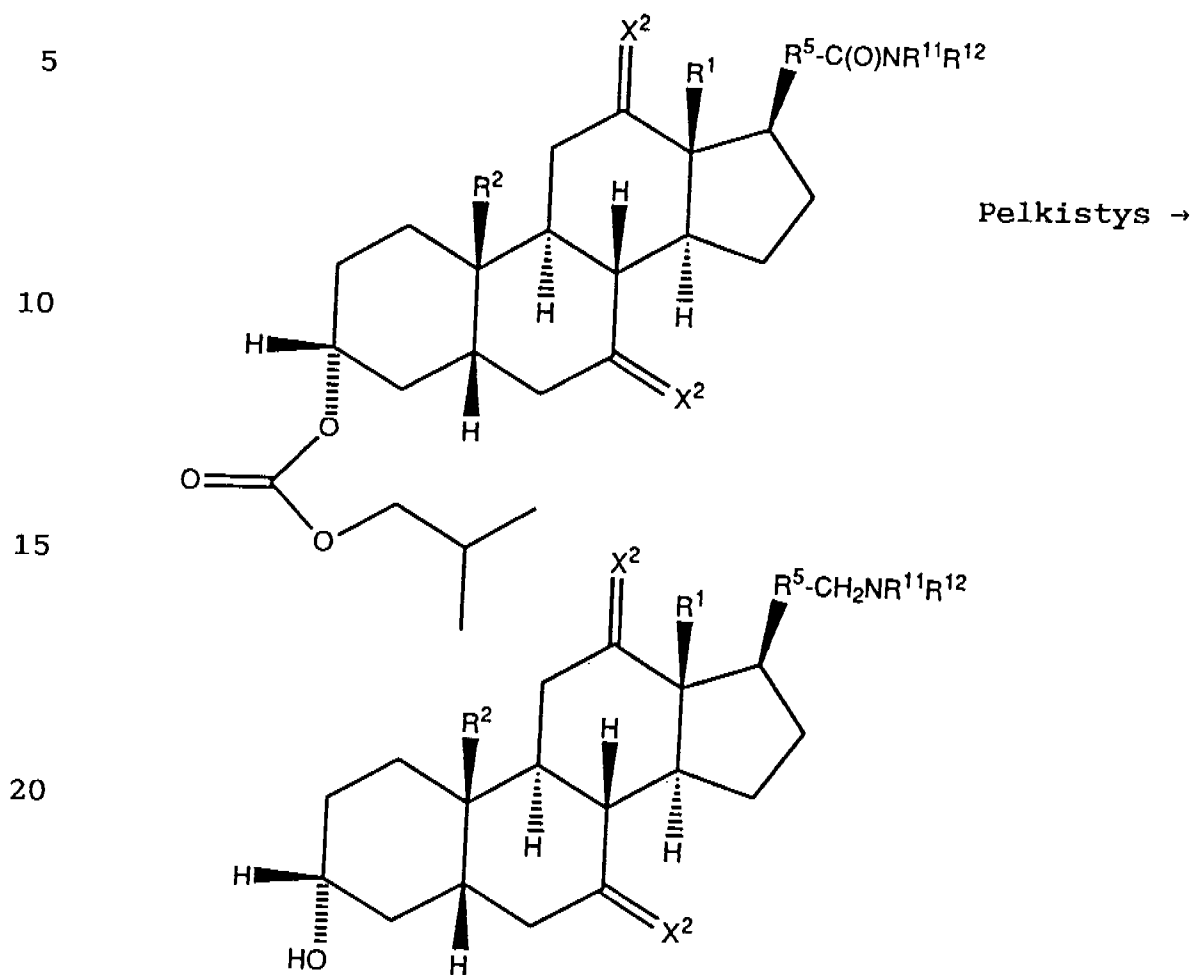
20



30

Kaavio 4

B.



Kaavio 5

Osa 1.

5

10

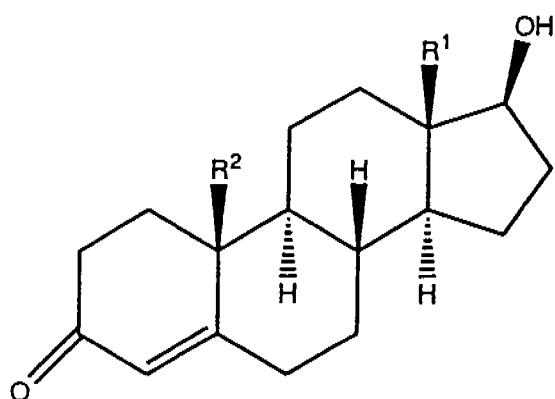
15

20

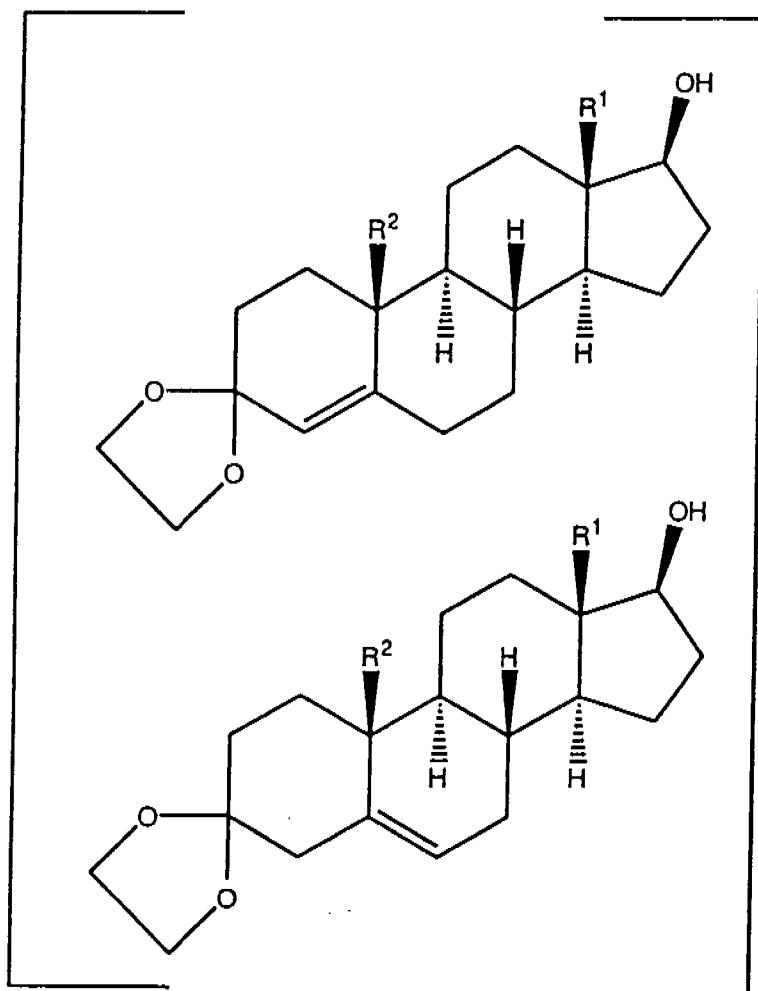
25

30

35



Syklinen
ketalisaatio →



Alkylointi →

Kaavio 5
Osa 2.

5

10

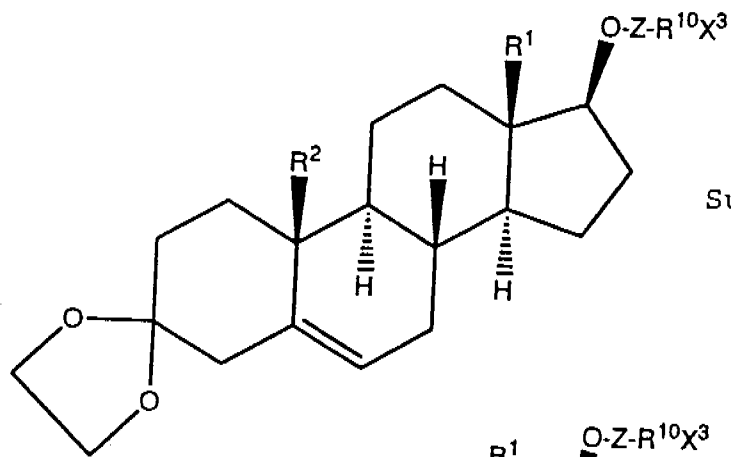
15

20

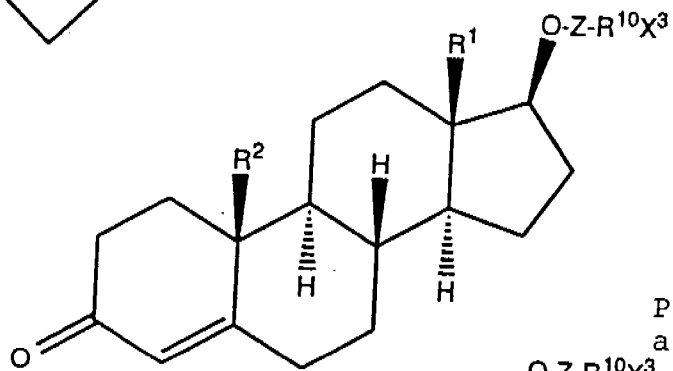
25

30

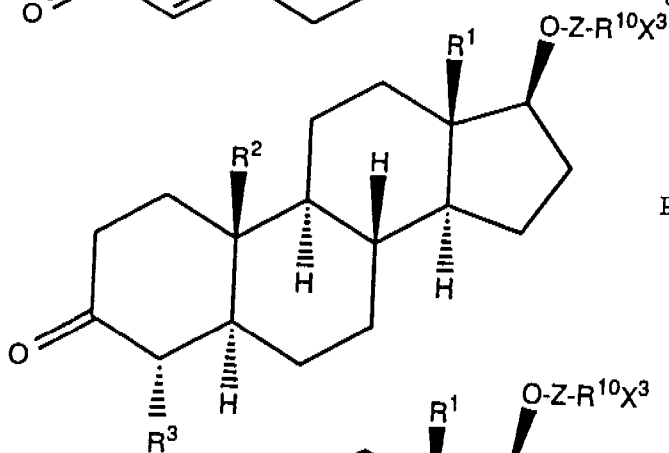
35



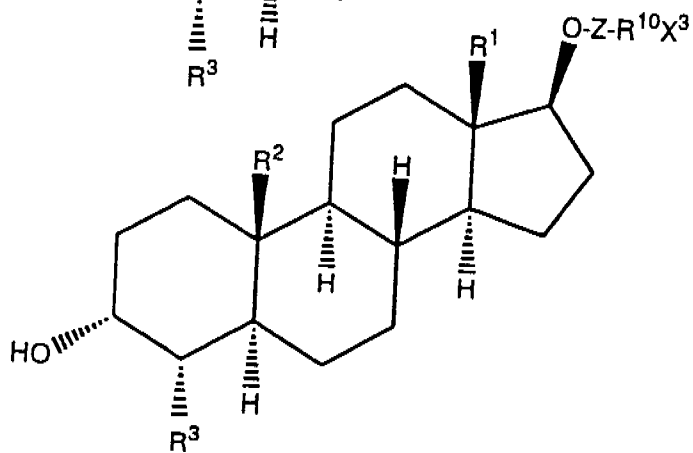
Suojauksenpoisto ->



Pelkistävä
alkylointi ->

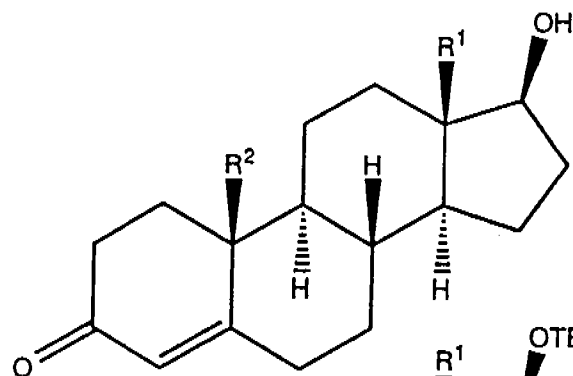


Pelkistys ->



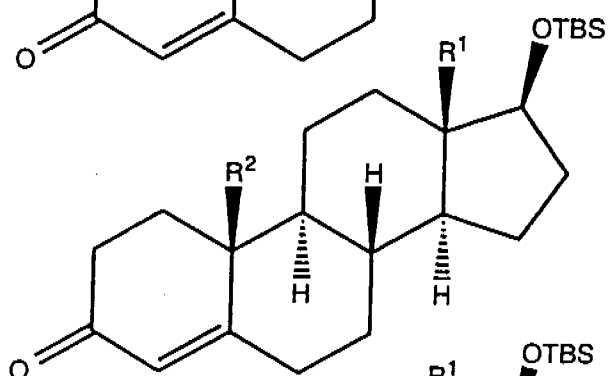
Kaavio 6
Osa 1.

5



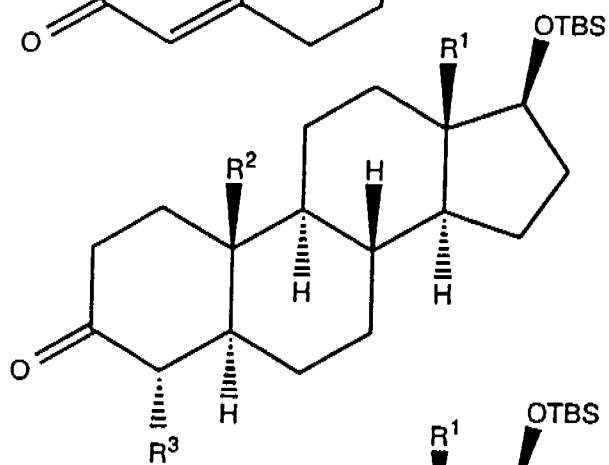
Suojaus ->

10

Pelkistävä
alkylointi ->

15

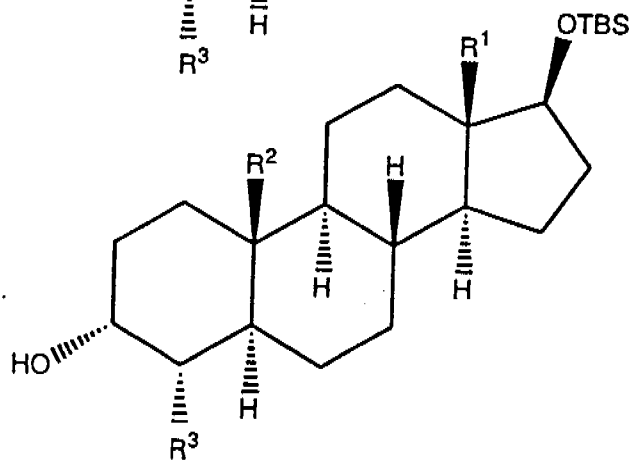
20



Pelkistys ->

25

30



1) Suojaus

2) Suojauksenpoisto ->

35

Kaavio 6
Osa 2.

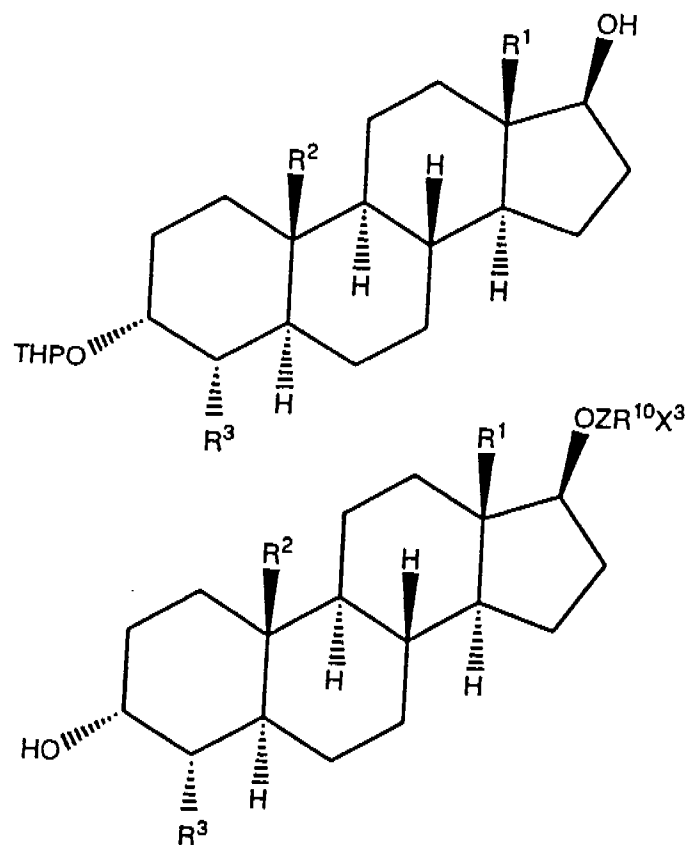
5

10

15

20

25



- 1) Alkylointi
- 2) Suojauksen poisto →

Kaavio 7
Osa 1.

5

10

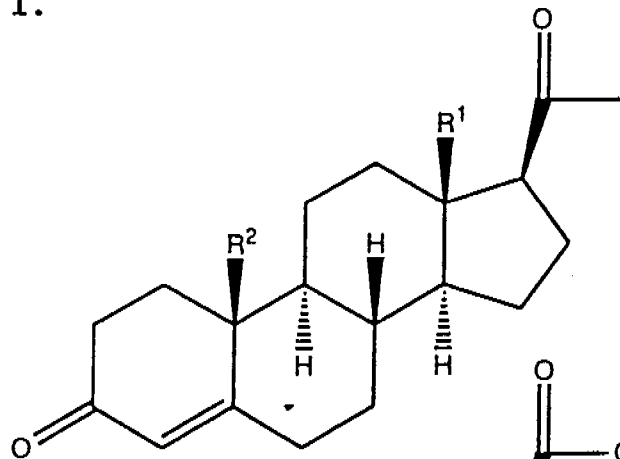
15

20

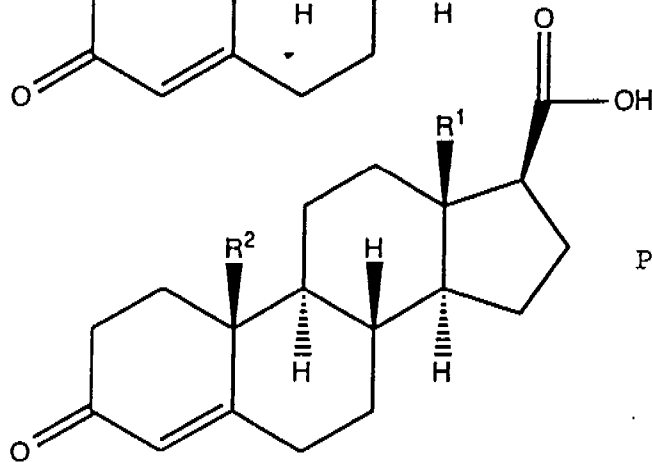
25

30

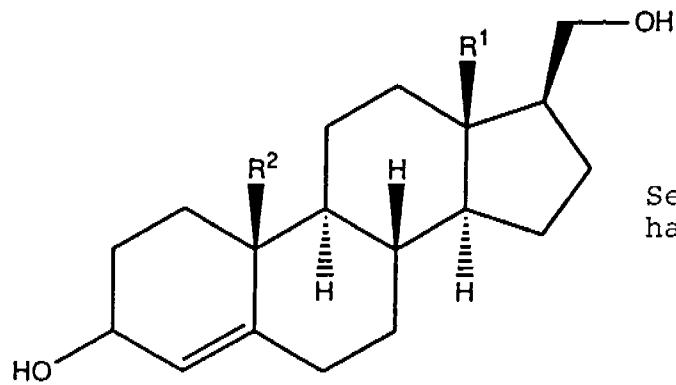
35



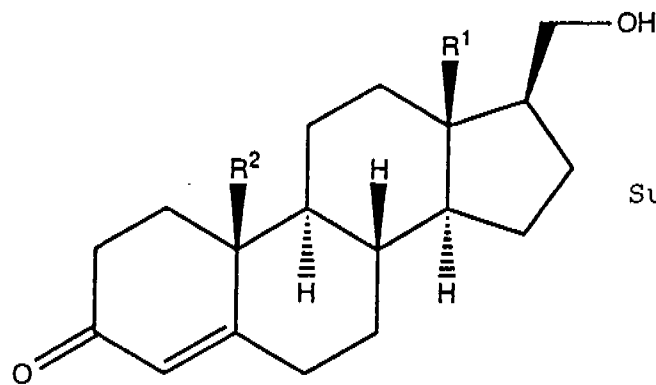
Hapetus-
reaktio ->



Pelkistys ->



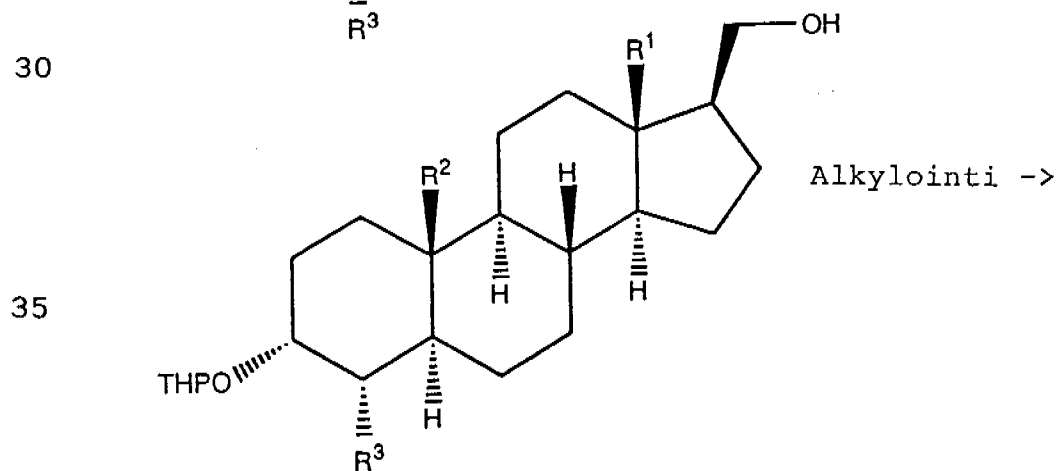
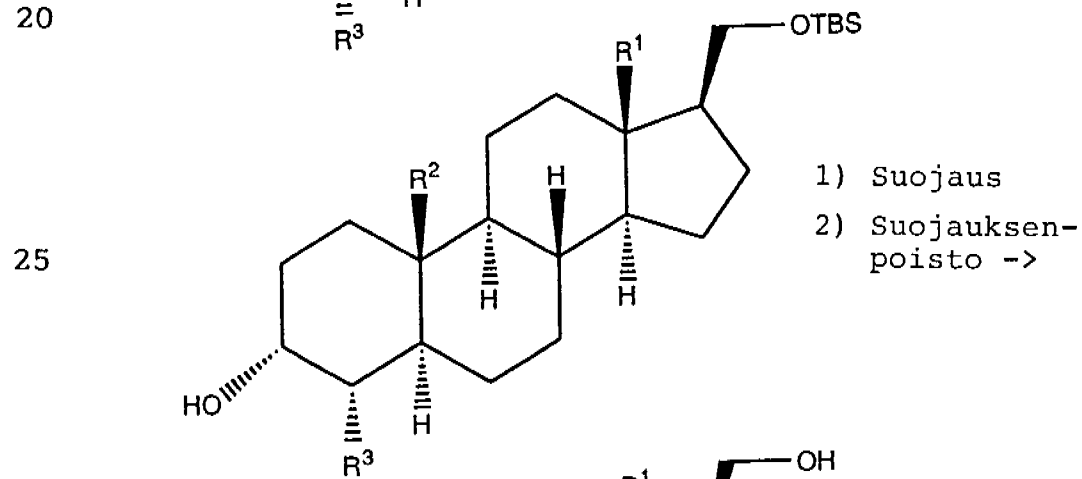
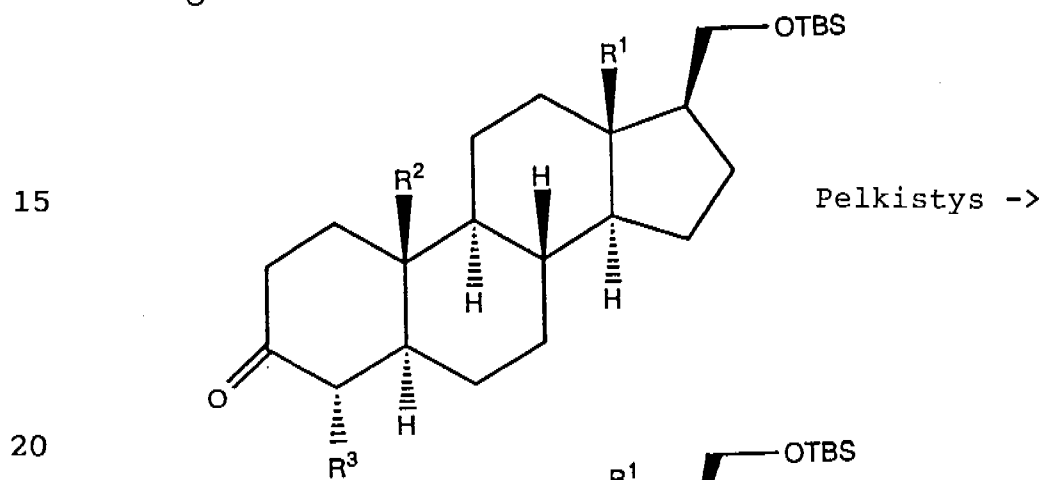
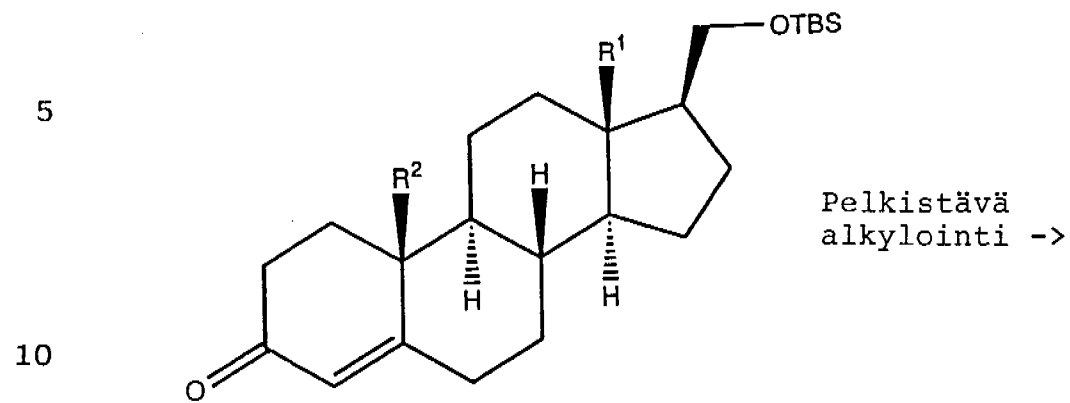
Selektiivinen
hapetus ->



Suojaus ->

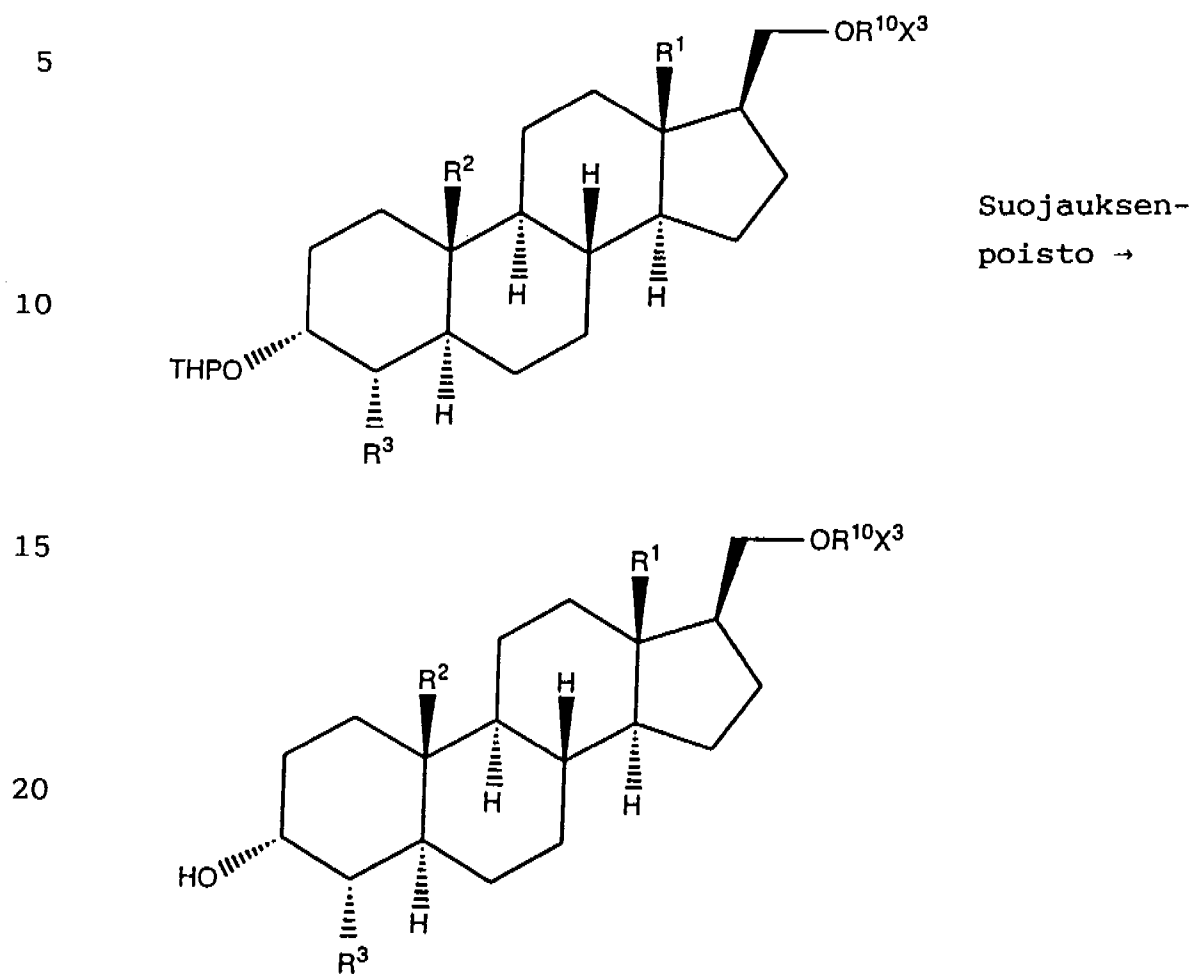
Kaavio 7

Osa 2.

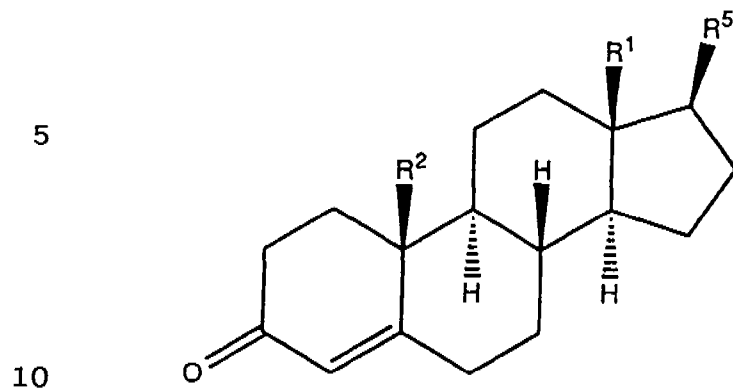


Kaavio 7

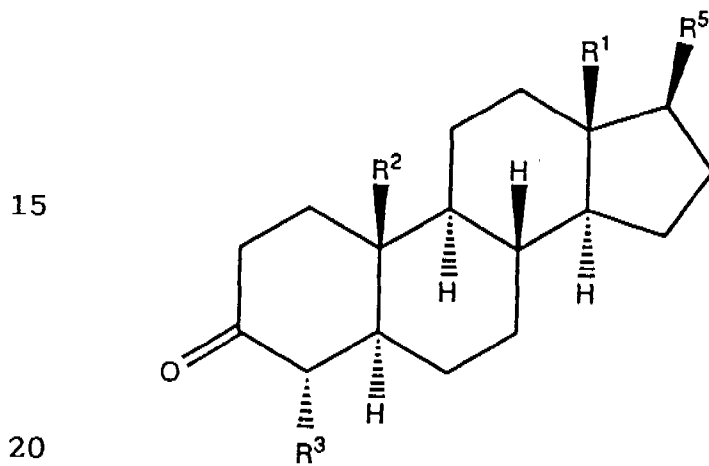
Osa 3.



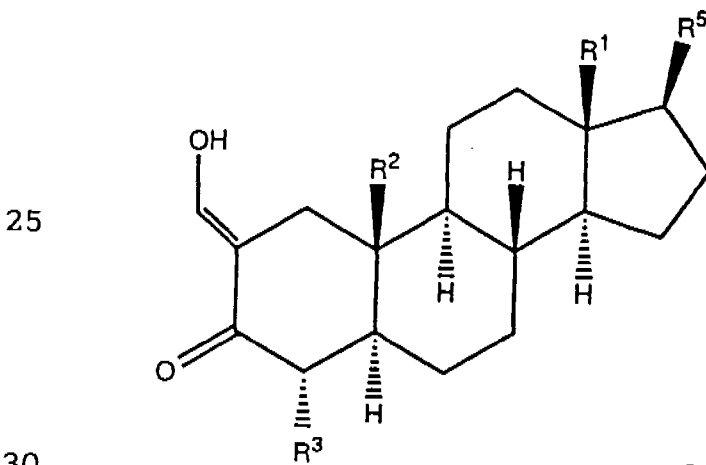
Kaavio 8



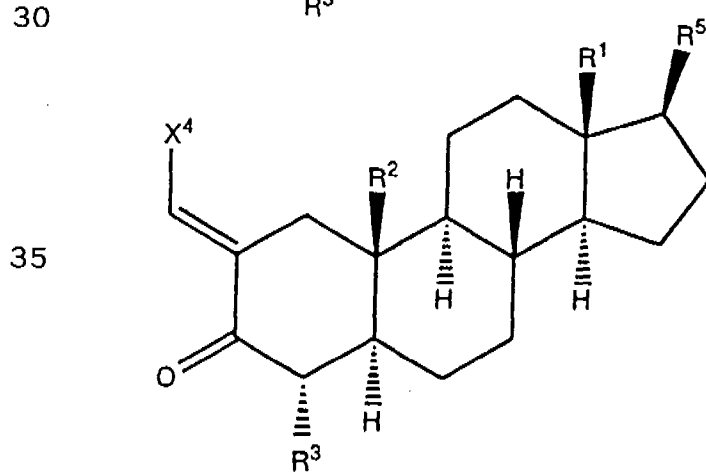
Pelkistävä
alkylointi →



Formylointi →



Michael-
additio →



Kaavioissa 1 - 8 R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^{11} , R^{12} , Z , R^{10} , X^2 , X^3 ja X^4 ovat kuten edeltävässä kaavassa I on määritetty, jollei toisin mainita.

5 Kuten kaaviossa 1, vaiheessa A on esitetty, sopiva 4-kolesten-3-oni alkyloidaan pelkistävästi sopivalla alkyylialidilla, bentsyylihalidilla tai 2-propenyylialidilla vahvan emäksen ja protonilähteen läsnä ollessa inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa muodostamaan vastaava 4-substituoitu-kolestan-10 3-oni.

Edullinen vahva emäs on alkalimetalli, edullisesti litium tai natrium, nestemäisessä ammoniakissa. Edullinen protonidonori on myös läsnä ja on edullisesti etanoli, t-butanoli ja edullisesti t-butanoli. Yleensä tässä reaktiossa käytetyt lämpötilat ovat n. $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ - n. $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. 15 Kaavion 1 vaiheessa B 3-oni yhdiste pelkistetään vastaaviksi α - ja β -isomeereiksi hydridipelkistyksen kautta, inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa. Sopivia hydridipelkistimiä ovat di-isobutyylialumiinihydridi, 20 kaliumtri-sek-butyyliboorihydridi (K-selektridi) ja litiumalumiinihydridi. Sopivia liuottimia tälle reaktiolle ovat klooratut hiilivedyt tai eetteripitoiset liuottimet. Edullisia liuottimia ovat eetteriliuottimet ja edullisin on tetrahydrofuraani (THF). Yleensä käytetään lämpötiloja alueelta n. $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ - 25 n. $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vaiheen B reaktiosta saadut α -hydroksi- ja β -hydroksi-isomeerit erotetaan yleensä kromatografisesti vaikka muita erotusmenetelmiä, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle, voidaan käyttää.

30 Kaavion 1 vaihe C kuvaa edeltävän vaiheen B kaltaista hydridipelkistystä ja osoittaa, että pelkistys voi vaikuttaa haluttaessa useampaan kuin yhteen molekyylin karbonyyliryhmään.

35 Kaavion 1 vaihe D kuvaa edelleen yhdisteiden, jotka kuuluvat kaavan I piiriin, modifiointeja, antaen edelleen

haluttuja yhdisteitä, jotka kuuluvat kaavan I piiriin. Erityisesti kaavio D kuvaa emäshydrolyysiä käyttäen sopivaa emästä, kuten natriumhydroksidia, kaliumhydroksidia tai litiumhydroksidia eetteripitoisen liuottimen ja alkoholiliuottimen seoksessa (yleensä 4 : 1 (tilav. : tilav.)) liuottimen tai liuottimien seoksen likimääräisessä palautusjäähdytyslämpötilassa.

Kaavion 1 vaihe E kuvaa vielä toista sarjaa reaktioita, joita voidaan käyttää lähtien yhdisteistä, jotka kuuluvat kaavan I piiriin, antaen lisää tämän keksinnön yhdisteitä, jotka myös kuuluvat kaavan I piiriin. Vaiheessa E bentsyyliosa poistetaan hydrauksella. Tämä reaktio toteutetaan edullisesti palladium/hiilen läsnä ollessa inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa, edullisesti eetteripitoisessa ja edullisimmin THF:ssä, antamaan vastaava 4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3-oni, joka sitten pelkistetään hydridipelkistyksellä, kuten edellä on kuvattu, antamaan 3 α - ja 3 β -isomeerit, jotka erotetaan kromatografisesti.

Kaavio 2 kuvaa reaktioita, joita voidaan käyttää antamaan ainakin ne tämän keksinnön yhdisteet, jotka sisältävät 4-substituentin ja 4-eeni-tyydyttymättömyyttä. Ensimmäisessä reaktiossa sopiva 4-kolesten-3-oni saatetaan reagoimaan sekundaarisen amiinin, edullisesti pyrrolidiinin (joka on esitetty) inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa, mainitun liuottimen likimääräisessä palautusjäähdytyslämpötilassa antamaan vastaava 3-pyrrolidino-3,5-kolestadieeni. Sopivia liuottimia tälle reaktiolle ovat yleensä aproottiset liuottimet ja bentseeni on edullinen. 3-pyrrolidino välituote alkyloidaan sitten käyttäen sopivaa alkyylihalidia tai 2-propenyylihalidia, edullisesti bromidia tai jodidia, inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa ja hydrolysoidaan sitten antamaan vastaava 4-substituoitu kolest-4-en-3-oni. Edullinen liuotin

alkylointireaktiolle on dimetyyliformamidi tai dioksaani. Edullisesti lisätään lisäliuotinta, kuten dioksaania, hydrolyysireaktion aikana. Alkylointireaktio toteutetaan korkeissa lämpötiloissa n. 150 - 200 °C:ssa ja hydrolyysi toteutetaan lämpötiloissa n. 80 °C - n. 130 °C. 3-oni-4-
 5 eeniyhdiste voidaan sitten pelkistää hydridipelkistyksen kautta vastaaviksi α -hydroksi- ja β -hydroksi-isomeereiksi, jotka eristetään edullisesti kromatografisesti.

Vaikka kaavion 3 vaiheessa A reagoivana aineena
 10 käytetyn steroidirenkaan 17-asema on R⁵-COOH, on ymmärrettävä, että tämän kaavion päätarkoitus on kuvata eri yhdisteiden, jotka kuuluvat tämän keksinnön piiriin ja joissa on karboksyylihappo, amiini, karboksiamidi ja vastaavankaltaisia ryhmiä X³ määritelmän mukaisesti, valmistusta.
 15 Vaiheessa A käytetään sopivaa yhdistettä, jolla on päätekarboksyylihapporyhmä, lähtöaineena. Mainitut yhdisteet valmistetaan pääosin menetelmien mukaisesti, joita on kuvattu kirjallisuudessa, kuten Miyamoto, et al., Synthetic Communications, 16 nro. 5, 513 - 521 (1986) ja Demir, et al., Organic Prop. and Proc. International Organic Prep. and Proc., 19 (2 - 3), 197 - 208 (1987), jotka on liitetty
 20 tähän viitteinä. Karboksyylihappo saatetaan reagoimaan sopivan primaarisen tai sekundaarisen amiinisuolan kanssa hapon poistajan ja halidilähteen läsnä ollessa inertissä tai
 25 pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa antamaan vastaava karboksiamidi. Sopivia hapon poistajia käytettäväksi tässä reaktiossa, ovat yleensä tertiäariset amiinit ja N-metyylimorfoliini on edullinen. Edullinen halidi on kloori ja butyylikloroformiaatti on edullinen.
 30 Sopivat liuottimet tälle reaktiolle ovat yleensä luonteeltaan aproottisia ja klooratut hiilivedyt ovat edullisia ja edullisin on metyleenikloridi. Sopivia lämpötiloja tälle reaktiolle ovat n. -25 °C - n. 25 °C. Kaavion 3 vaiheessa B nähdään pelkistävä alkylointi, joka toteute-

taan pääosin samoissa olosuhteissa, joita on edellä kuvattu tälle reaktiolle.

Vastaavasti, 3-oniryhmän pelkistys vastaavaksi 3 α -hydroksiyhdisteeksi toteutetaan hydridipelkistimellä käyttäen pääosin samoja menetelmiä ja olosuhteita, joita on edellä kuvattu tälle reaktiolle.

Karboksiamidi voidaan pelkistää kuten kaavion 3 vaiheessa D on esitetty, antamaan vastaava aminoyhdiste hydridipelkistyksen kautta käyttäen pääosin samoja menetelmiä ja olosuhteita, joita on edellä kuvattu vastaaville reaktioille. Edullinen pelkistin tälle reaktiolle on litiumalumiinihydridi inertissä tai pääosin inertissä liuotimessa tai liuottimien seoksessa noin -25 °C:ssa - noin 25 °C:ssa antamaan vastaava aminoyhdiste.

Kaavio 4 kuvaa vaihtoehtoista tämän keksinnön yhdisteiden, joissa on 7-asema ja/tai 12-asema substituentti, valmistusmenetelmää, vaikkakin on ymmärrettävä, että tämä kaavio ei rajoitu näihin yhdisteisiin. Kaavion 4 vaiheessa A, 3 α -hydroksiyhdiste, jolla on päätekarboksyylihapporyhmä, saatetaan reagoimaan halogeeni muurahaishappoesterin kanssa hapon poistajan läsnä ollessa inertissä tai pääosin inertissä liuotimessa tai liuottimien seoksessa, antamaan vastaava dikarbonaatti, joka edelleen saatetaan reagoimaan primaarisen tai sekundaarisen amiinisoolan kanssa, eristämättä, antamaan 3-asemassa vastaava karbonaatti, jolla on karboksiamidiryhmä X³-ryhmänä R⁵-asemassa. Edullinen halogeeni muurahaishappoesteri on isobutyrylikloroformiaatti. Yleensä käytetään tertiaarisia amineja hapon poistajina ja edullisin hapon poistaja on N-metyylimorfoliini. Sopivia liuottimia tälle reaktiolle ovat klooratut hiilivedyt ja metyleenikloridi on edullisin. Dikarbonaatin muodostusreaktiossa käytetyt lämpötilat ovat yleensä n. -20 °C - n. 30 °C.

Kaavion 4 vaiheessa B nähdään, miten 3-asemassa oleva karbonaattiryhmä pelkistetään hydridipelkistyksellä

käyttäen tälle reaktiolle edellä kuvattuja olosuhteita ja menetelmiä. Tulisi ymmärtää, että haluttaessa karbonaattiryhmä voidaan myös hydrolysoida. Edullinen pelkistin tälle vaiheen B reaktiolle on litiumalumiinihydridi.

- 5 Kaavio 5 koskee pääosin niitä tämän keksinnön yhdisteitä, joissa A on happiatomi, vaikka on ymmärrettävä, että monet muut yhdisteet, jotka kuuluvat tämän keksinnön piiriin, voidaan aikaansaada tällä kaaviolla. Ensimmäinen reaktio käsittää syklisen ketalisaation, jota kuvataan
- 10 testosteronin reaktiolla etyleeniglykolin kanssa happokatalyytin, edullisesti orgaanisen hapon, läsnä ollessa, inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa, antamaan vastaava 3,3-etyleenidioksi yhdiste yhdessä vastaavan 3,3-etyleenidioksi-5-eeeni-isomeerin kanssa. Edullinen orgaaninen happokatalyytti on
- 15 p-tolueenisulfonihappo monohydraatti. Reaktio toteutetaan yleensä n. liuottimen palautusjäähdytyslämpötilassa. Sopivia liuottimia ovat ne, jotka mahdollistavat veden atseotrooppisen poistamisen, kuten inertit aromaattiset liuottimet ja edullinen liuotin on tolueeni.
- 20

- Seuraavana vaiheena on alykoida 3,3-etyleenidioksi isomeerit halutulla alkyylihalidilla tai alkenyyli (esim. 2-propenyli) halidilla vahvan emäksen läsnä ollessa inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa, antamaan vastaava 17-alkoksi- tai alkenyylioksi
- 25 yhdiste. Sopivia vahvoja emäksiä tälle reaktiolle ovat hydridit ja edullinen on kaliumhydridi. Edullisia liuottimia tälle reaktiolle ovat THF ja dimetyylisulfoksidin (DMSO) tai dimetyyliformamidin (DMF) seokset. Sopiva lämpötila-alue tälle reaktiolle on yleensä noin -20 °C - noin 50 °C.
- 30

- Seuraavassa vaiheessa kuvataan 4-en-3-oni ryhmän regenerointia. 4-en-3-oni ryhmä muodostetaan tekemällä 3,3-etyleenidioksi yhdiste happamaksi inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa.
- 35

Hyödylliset hapot ovat edullisesti orgaanisia happoja, joista etikkahappo on edullisin. Tavallisesti on myös vet-
tää hapon mukana. Sopivia liuottimia tälle reaktiolle ovat
eetteripitoiset liuottimet, joista THF on edullinen. So-
piva lämpötila-alue reaktiolle on yleensä noin 50 °C -
noin 100 °C.

Lisää tämän keksinnön yhdisteitä voidaan saada al-
kyloimalla pelkistävästi 4-en-3-oni yhdiste käyttäen edel-
lä kuvattuja menetelmiä tälle reaktiolle. Lisää tämän kek-
sinnön yhdisteitä voidaan saada pelkistämällä alkyloitu
välituote hydridipelkistyksellä, myös yhdenmukaisesti
edellä kuvattujen menetelmien kanssa. Edullisesti tämä
hydridipelkistys toteutetaan käyttäen K-selektridiä, vaik-
ka natriumboorihydridiä käytetään myös hyödyllisenä pel-
kistimenä.

Kaavio 6 kuvaa vaihtoehtoista valmistusmenetelmää
pääosin niille tämän keksinnön yhdisteille, joissa A on
happiatomi. Tämän kaavion ensimmäisessä vaiheessa nähdään
testosteronin tai muun sopivan lähtöaineen reaktio t-bu-
tyylidimetyylisilyylikloridin kanssa käyttäen standardi
happisilylointi olosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan
perehtyneelle. Tämän kaavion seuraavassa vaiheessa nähdään
pelkistävä alkylonti, joka on yhdenmukainen edellä kuvat-
tujen menetelmien kanssa tälle reaktiolle, mitä seuraa
hydridipelkistys, jälleen käyttäen edellä kuvattuja mene-
telmiä tälle reaktiolle. Seuraava vaihe on 3-hydroksiryh-
män suojaus tetrahydropyran-4-yyli (THP) ryhmällä käyttäen
standardi THP muodostusolosuhteita, jotka ovat tunnettuja
alaan perehtyneelle. Tätä seuraa t-butyylidimetyylisilyyli
(TBS) ryhmän suojauksen poisto käyttäen standardi desily-
lointi olosuhteita, jotka myös ovat tunnettuja alaan pe-
rehtyneelle.

Tämän kaavion seuraava vaihe on alkylointi, käyt-
tään tarkoituksenmukaista alkyylihalidia tai 2-propenyyl-
halidia vahvan emäksen läsnä ollessa inertissä tai pääosin

inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa. Näitä alkylointiolosuhteita on kuvattu edellä. Tässä kaaviossa esitetty lopullinen valmistusvaihe on suojauksen poisto 3-asemassa käyttäen standardi THP lohkaisuosuhteita, jotka ovat hyvin tunnettuja alaan perehtyneelle.

Kaaviossa 7 esitetyt reaktiot kohdistuvat pääosin tämän keksinnön yhdisteisiin, joissa Z on happiatomi. Tämän reaktion ensimmäisessä vaiheessa hapetetaan metyyliketoni vastaavaksi karboksyylihapokseen käyttäen bromoform reaktiota. Yleensä tässä reaktiossa saatetaan metyyliketoni reagoimaan seoksessa, jossa on bromia, vettä ja sopivaa emästä, edullisesti natriumhydridiä, lämpötila-alueella n. -20 °C - n. 20 °C. On edullista, että lisäliuotinta, kuten dioksaania, lisätään liukoisuuden parantamiseksi. Tämän kaavion seuraava vaihe on hydridipelkistys käyttäen edellä kuvattuja menetelmiä tälle reaktiolle. Edullisesti tässä pelkistyksessä käytetään vahvaa hydridipelkistintä, kuten Red-Al[®]:ia. Tämä reaktio antaa vastaavan 3-hydroksi-17-hydroksimetyyli välituotteen. Tämä välituote hapetetaan sitten selektiivisesti käyttäen mangaanidioksidia inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa antamaan vastaava 3-oni välituote. Edullisia liuottimia tälle reaktiolle ovat klooratut hiilivedyt ja kloroformi on edullisin. 20-oli välituote silyloidaan sitten, edullisesti TBS:llä, käyttäen standardi olosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle, tätä reaktiota varten. Seuraava vaihe on pelkistävä alkylointi käyttäen jälleen tälle reaktiolle aikaisemmin kuvattuja menetelmiä ja olosuhteita, mitä seuraa hydridipelkistys käyttäen myös tälle reaktiolle edellä kuvattuja menetelmiä. Seuraava vaihe on sitten 3-hydroksiryhmän suojaus käyttäen standardi THP eetterinmuodostusolosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle. Tätä seuraa disilylointi, siis suojauksen poistaminen käyttäen tälle reaktiolle standardi olosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle.

Sitten hydroksiryhmä alkyloidaan käyttäen edellä kuvattuja alkylointiolosuhteita tälle reaktiolle sopivalla alkyyli- tai alkenyyli (esim. 2-propenyylä) halidialkylointiaineella vahvan emäksen läsnä ollessa inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa. Sitten THP ryhmä lohkaistaan käyttäen tälle reaktiolle standardi olosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle.

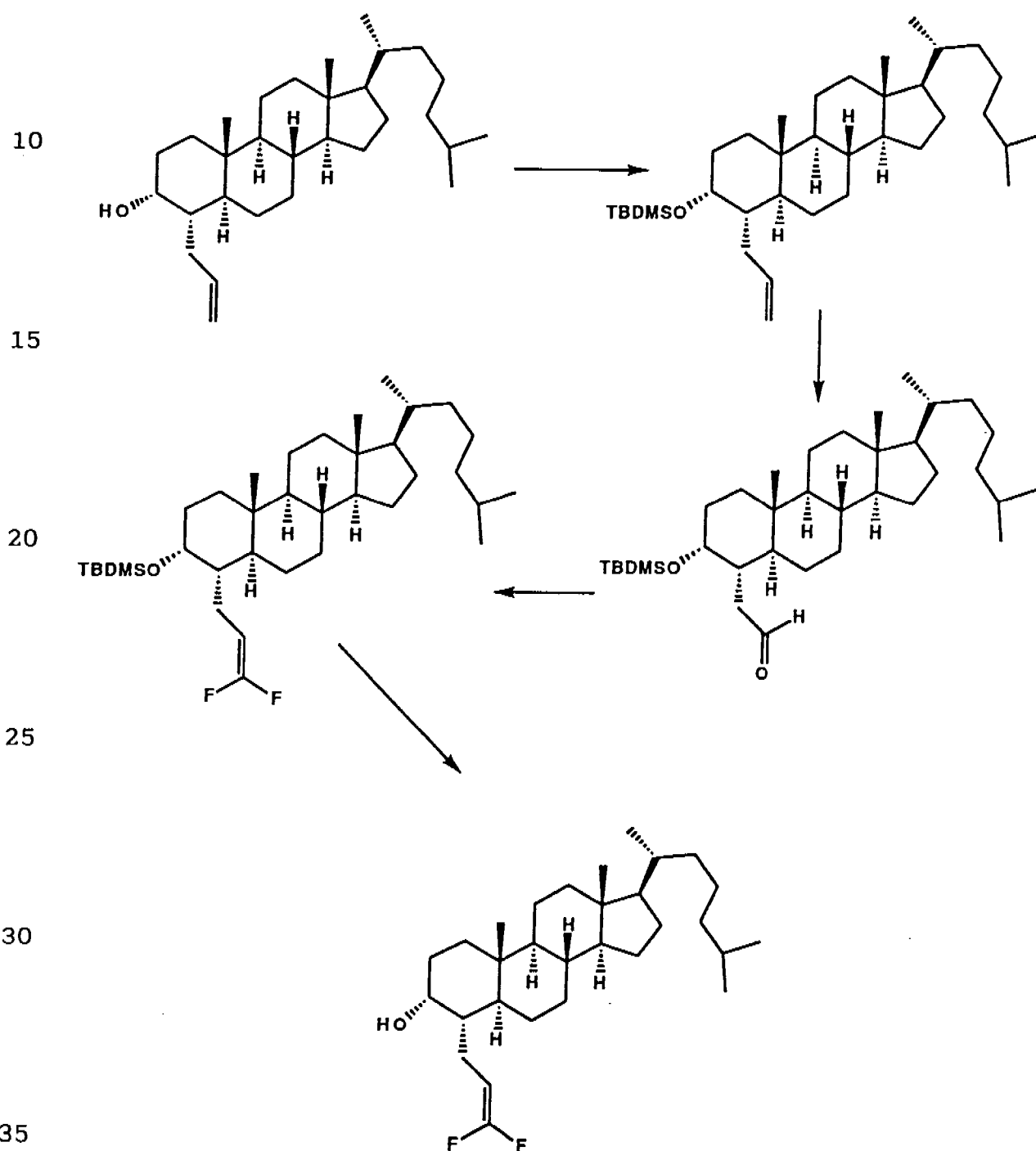
Kaavio 8 kohdistuu pääosin niihin tämän keksinnön yhdisteisiin, joissa on substituentti 2-asemassa. Yleensä sopiva yhdiste alkyloidaan pelkistäen antamaan substituentti 4-asemassa. Tämä pelkistävä alkylointi toteutetaan käyttäen olosuhteita ja menetelmiä, joita aikaisemmin on kuvattu tälle reaktiolle. Kaaviossa 8 esitetty seuraava vaihe on formylointi. Yleensä yhdiste saatetaan reagoimaan hydridin ja etyyliformiaatin kanssa inertissä tai pääosin inertissä liuottimessa tai liuottimien seoksessa, edullisesti tolueenissa, antamaan hydroksimetyleeniryhmä 2-asemassa. Sopivia liuottimia tälle reaktiolle ovat yleensä aromaattiset hiilivedyt ja edullinen on tolueeni. 2-hydroksimetyleeniyhdiste voidaan sitten edelleen saattaa reagoimaan, kuten on kuvattu Michael additioreaktiossa, antamaan edelleen yhdisteitä, jotka kuuluvat tämän keksinnön piiriin. Michael additio toteutetaan käyttäen tälle reaktiolle standardi olosuhteita, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneelle.

On huomattava, että kaavioissa 1 - 8 kuvatuilla reaktioilla ja näiden reaktioiden yhdistelmillä voi alaan perehtynyt valmistaa kaavan I yhdisteitä.

Lisävalmistusmenetelmä on esitetty seuraavassa kaaviossa 9 esimerkin 85 yhdisteen (3 α ,4 α ,5 α ,20B)-4-(3,3-difluori-2-propenyylä)kolestan-3-olin valmistamiseksi, käyttäen esimerkissä 5 valmistettua yhdistettä (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-propenyylä)kolestan-3-oni, esimerkissä 83 valmistettua yhdistettä (3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyyli-silyyli]oksi]kolestaani-4-asetaldehydi, esimerkissä 82

valmistettua yhdistettä (3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyyli-
etyyli)dimetyyllisilyyli]oksi]kolestan-4-asetaldehydi ja
esimerkissä 84 valmistettua yhdistettä (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-
(3,3-difluori-2-propenyli)kolestan-3-oli.

5



Kuten edellä on todettu, kaavan (I) yhdisteiden optisesti aktiiviset diastereomeerit kuluvat tämän keksinnön piiriin. Tällaisia optisesti aktiivisia isomeerejä voidaan valmistaa niiden vastaavista optisesti aktiivisista prekursoreista edellä kuvatuilla menetelmillä tai resoluimalla raseemiset seokset. Resoluutio voidaan toteuttaa resolointiaineen läsnä ollessa, kromatografisesti tai toistokiteyttämällä tai jollakin näiden menetelmien yhdistelmällä, jotka ovat tunnettuja alaan perehtyneille. Lisäksi yksityiskohtia resoluutioiden suhteen voi löytää Jacques et al:in julkaisusta *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons 1981.

Lähtöaineena käytetyt yhdisteet tämän keksinnön yhdisteiden valmistusmenetelmissä ovat hyvin tunnettuja ja mikäli niitä ei ole kaupallisesti saatavissa, ne voidaan helposti valmistaa standardi menetelmien avulla, joita alaan perehtyneet tavallisesti käyttävät.

Keksinnön farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat muodostetaan tavallisesti saattamalla kaavan I yhdiste reagoimaan ekvimolaarisen määrän tai ylimäärän kanssa happoa tai emästä. Reagoivat aineet yhdistetään tavallisesti yhteisessä liuottimessa, kuten dietyylieetterissä tai bentseenissä, happoadditiosuoloille tai vedessä tai alkoholeissa, emäsadditiosuoloille ja suolat saostuvat tavallisesti liuoksesta n. yhdessä tunnissa - n. kymmenessä päivässä ja ne voidaan eristää suodattamalla tai muilla tavallisilla menetelmillä.

Lisäksi jotkut kaavan I yhdisteistä voivat muodostaa solvaatteja veden tai muun tavallisen orgaanisen liuottimen kanssa. Tällaiset solvaatit kuuluvat tämän keksinnön yhdisteiden piiriin.

Farmaseuttiset koostumukset käyttäen veren kolesterolipitoisuutta ja/tai rasvapitoisuutta alentavien aineiden yhdistelmää

5 Tämän keksinnön yhdisteitä, kuten kaaviossa I on esitetty, voidaan edullisesti käyttää yhdessä muiden veren kolesterolipitoisuutta ja/tai rasvapitoisuutta alentavien aineiden kanssa. Tavallisia aineita, jotka ovat hyödyllisiä farmaseuttisissa koostumuksissa yhdessä kaavan (I) yhdisteiden kanssa, ovat seuraavat:

10 (a) Sappihapon sekvestrausaineet - nämä aineet sitovat sappihappoja suolistoseudulla ja parantavat niiden erittymistä. Tavallisia sappihapon sekvestrausaineita ovat kvaternaariset amiinit, kuten kolestyryiamiini ja kolestipoli.

15 (b) Nikotiinihappo ja sen johdannaiset - nämä B-vitamiinit inhiboivat lipoproteiinien muodostumista maksa-

20 (c) HMG-CoA reduktaasi inhibiitit - nämä veriseerumin kolesterolia alentavat lääkkeet inhiboivat kolesterolisynteesin nopeutta säättävää entsyymiä. Tavallisia lääkkeitä tässä ryhmässä ovat mevastatiini, pravastatiini ja simvastatiini.

25 (d) Gemfibrosiili ja muut kuituhapot - nämä aineet ovat lipidipitoisuutta alentavia aineita. Tavallisia lääkkeitä tässä ryhmässä ovat gemfibrosiili, klofibraatti, fenofibraatti, bentsafibraatti ja kiprofibraatti.

30 (e) Probukoli - tätä ainetta käytetään kolesterolia alentavana ja se näyttää estävän LDL:n hapettumista. Toimintamekanismista ollaan epävarmoja.

35 (f) Raloksifeeni ja sen johdannaiset - raloksifeeniä (CAS rekisteröintinumero 84449-90-1, 6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-3-[4-(2-piperidinoetoksi)bentsoyyli]bentsotiofeeniä) ja sen estereitä ja eettereitä on kuvattu U.S. patentissa nro. 4 418 068, joka on liitetty tähän viitteenä.

(g) (a):n, (b):n, (c):n, (d):n, (e):n ja (f):n seokset. Näillä aineilla on kyky alentaa kolesterolitasoa veriseerumissa yhdessä tästä seuraavien hyödyllisten vaikutusten, kuten vähentyneen luukadon vaihdevuosissa olevilla naisilla, kanssa.

Sitoutumatta millään tavalla mihinkään toimintateoriaan, uskotaan, että tämän keksinnön kaavan (I) yhdisteiden lipidiä ja kolesterolia alentavat vaikutukset saavutetaan katkaisemalla oksisterolin vuorovaikutus tavallisen proteiinin kanssa, mikä vuorostaan heikentää geenin aktiivisuutta, joka koodaa LDL reseptoria, vaikuttamalla geenin promoottorialueeseen. Aikaisemman alan kolesterolia ja lipidiä säätelevien aineiden uskottiin parantavan niiden hyödyllisiä vaikutuksia muiden mekanismien avulla.

Esimerkiksi, farmaseuttinen koostumus voidaan muodostaa esimerkin 5 yhdisteestä yhdessä mevastatiinin ja/tai raloksifeenin kanssa yhdessä sopivien täyteaineiden ja kantoaineiden kanssa.

Monimuotoiset farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät kaavojen I, II, III, IV tai V yhdistettä kolesterolin kontrolliaineiden (a), (b), (c), (d), (e) tai (f) kanssa, formuloidaan tavalla, jolla välttyään haitallisista tai antagonistisista aineosien yhdistelmistä, jotka ovat tunnettuja alalla.

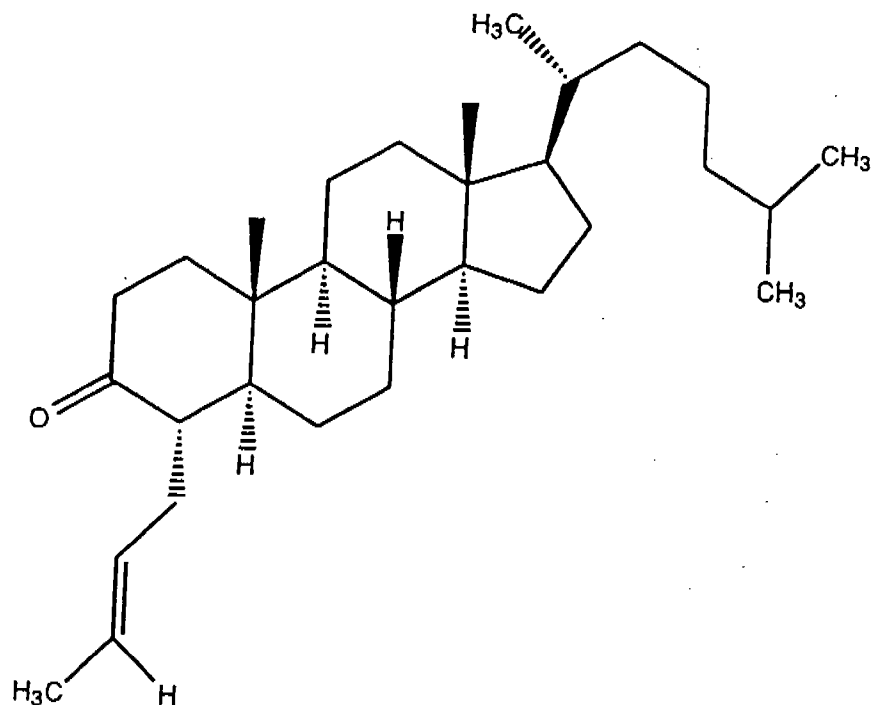
Vaihtoehtoisesti, aineosien yhdistelmää voidaan käyttää menetelmässä estettäessä kolesterolista indusoitu valtimon haurauskovettumatauti, antamalla nisäkkäälle samanaikaisesti tai missä tahansa järjestyksessä (1) keksinnön yhdistettä ja (2) yhtä tai useampaa aineista (a), (b), (c), (d), (e), (f) tai niiden yhdistelmää, kuten edellä on kuvattu. Tämä terapeuttiivinen menetelmä vaatii ainoastaan sitä, että aineosia (1) ja (2) annetaan nisäkkäälle ajanjakson aikana, jona ne yhdessä aikaansaavat terapeuttiivisen vaikutuksen.

Seuraavat esimerkit kuvaavat tämän keksinnön yhdisteitä ja menetelmiä niiden valmistamiseksi. Esimerkkien tarkoitus ei ole rajoittaa keksinnön piiriä millään tavalla eikä niitä tulisi sellaisina pitää.

Jollei toisin ilmoiteta, esimerkeissä esiintyvät NMR tiedot viittaavat kyseisen yhdisteen vapaaseen emäkseen.

Esimerkki 1

[4a(E),5a]-4-(2-butenyyli)kolestan-3-onin valmistus



Litiumlankaa (1,2 g, 0,171 moolia) pantiin liekki-
kuivattuun pulloon, jossa oli mekaaninen sekoitin ja hiili-
lihappojääjäähdytin typen paineessa. Hiilihappojää/isopro-
panolihaudetta käytettiin jäähdyttämään pullo samalla kun
60 - 70 ml nestemäistä ammoniakkia (tislattu Li:stä) li-
sättiin. Seosta sekoitettiin hitaasti antamaan yhtenäinen
liete, johon lisättiin nopeasti sekoittaen 50 ml kuivaa
THF muodostamaan pronssisakka. Litiumpronssiin THF:ssä

lisättiin nopeasti tipoittain liuos, jossa oli (+)-4-kolestien-3-onia (30 g, 0,078 moolia, Aldrich 18,817-4) 200 ml:ssa kuivaa THF ja t-butanolia (7,2 ml, 0,078 moolia), mikä sai aikaan keltaisen sakan muodostumisen. Li-

5 säyksen jälkeen kylmähaude poistettiin viideksi minuutiksi. Isopreeniä (5,3 g, 0,078 moolia) lisättiin ja saatua seosta sekoitettiin viisi lisäminuuttia. Krotonbromidia (52,6 g, 0,390 moolia, Aldrich C8,640-5) lisättiin nopeas-

10 ti. Reaktioseosta sekoitettiin 10 lisäminuuttia hiilihap-
pojää/isopropanoli palautusjäähdytysjäähdyttimen kanssa. Seos jäähdytettiin ennen kun lisättiin varovasti kiinteää ammoniumkloridia nopeudella, joka ei aiheuttanut hajoamis-

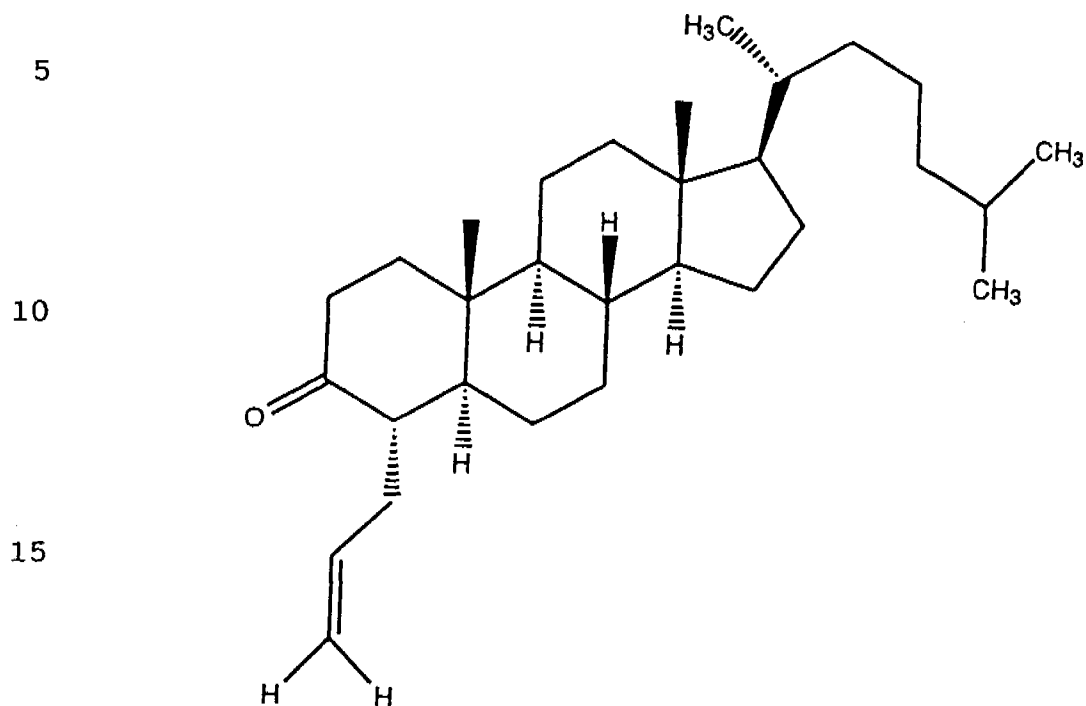
15 ta vaahdoksi hiilihappojääjäähdyttimeen. Kylmähaude pois-
tettiin, reaktioseosta sekoitettiin n. 30 minuuttia ja
vettä (250 ml) lisättiin. Orgaaninen kerros erotettiin,
mitä seurasi vesikerroksen uuttaminen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteen kuivatettiin (MgSO_4) ja väke-

20 vöitiin antamaan öljy, joka edelleen puhdistettiin valmis-
tavalla HPLC:llä käyttäen 0 - 8 %:n etyyliasetaatin pitoi-
suusgradienttia heksaanissa 30 minuutin aikana ja 375 ml:n
jakeet kerättiin joka 1,5. minuutti. Jakeet, jotka sisäl-

25 sivät tuotetta, yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan
valkoinen kiinteä aine, joka uudelleenkiteytettiin etano-
li/vedestä antamaan 18,75 g (55 %) otsikkoyhdistettä: ^1H
NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ , 5,55 - 5,30 (m, 2H), 2,50 - 1,95
(m, 5H), 1,64 (m, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,87 (m, 9H), 0,68
(s, 3H).

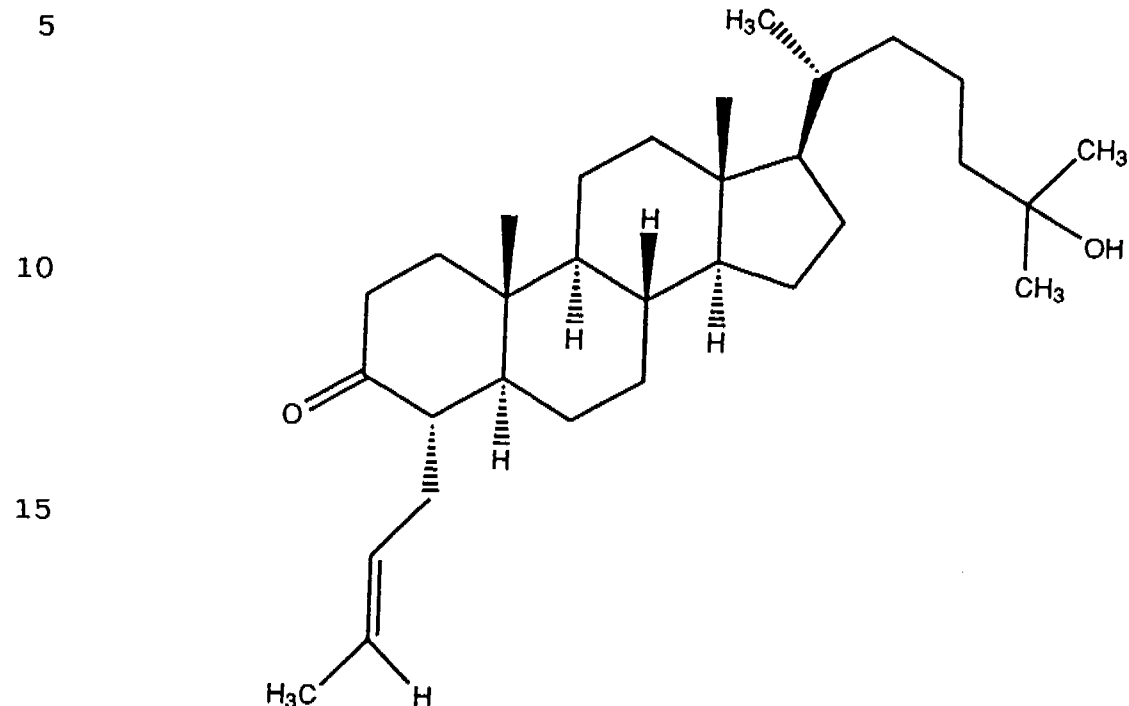
Seuraten edeltävässä esimerkissä 1 kuvattuja mene-
telmiä, valmistettiin esimerkkien 2 ja 3 yhdisteet.

Esimerkki 2

[4 α ,5 α]-4-(1-propenyyl)kolestan-3-onin valmistus

20 Litium (2,6 g, 0,378 moolia), (+)-4-kolesten-3-oni (66,12 g, 0,172 moolia) ja allyylibromidi (62,4 g, 0,516 moolia, Aldrich A2.958-5) antoivat 27,33 g (37 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiteisenä aineena: MS/FD m/e 426; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz).

Esimerkki 3

[4 α (E),5 α]-4-(2-butenyyli)-25-hydroksikolestan-3-onin valmistus

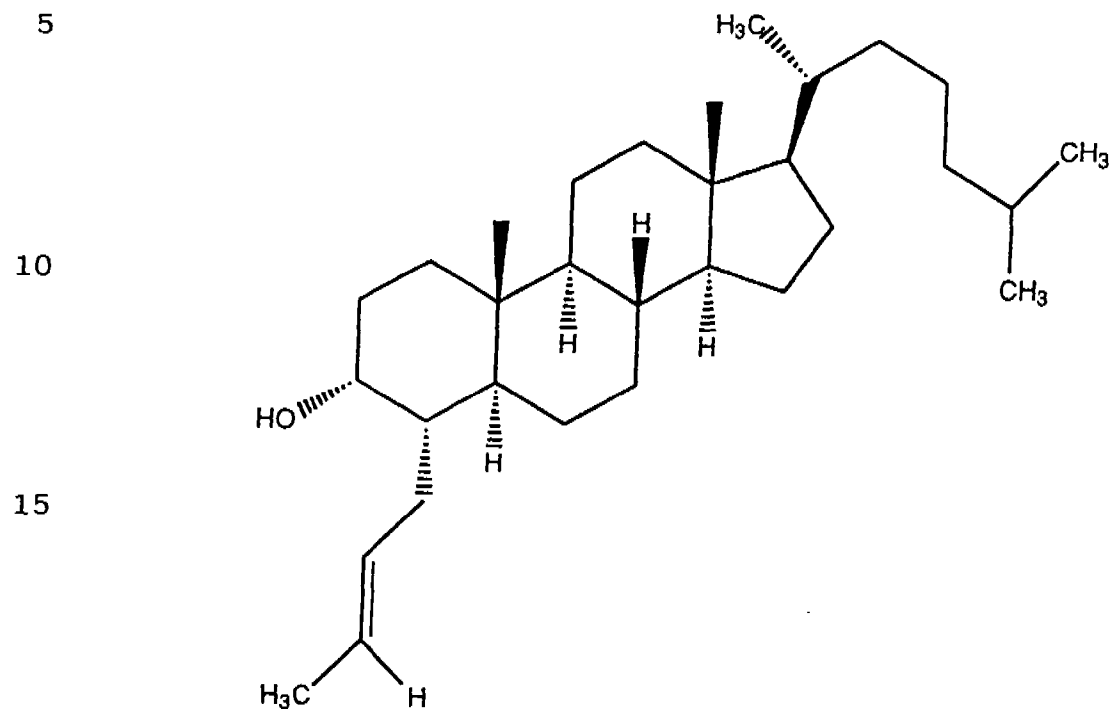
20

25

Litium (20,5 mg, 2,98 mmoolia), 25-hydroksi-(+)-4-kolesten-3-oni [500 mg, 1,35 mmoolia, joka oli saatu Oppenauer hapetuksen avulla 25-hydroksikolesterolista (Steraloids Inc. C 6510)] ja krotonbromidi (1,1 g, 8,1 mmoolia, Aldrich C8,640-5) antoivat 167,2 mg (27 %) otsikko-yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena: MS/FD m/e 457; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz).

Esimerkki 4

[4 α (E),5 α]-4-(2-butenyyli)kolestan-3 α -olin valmistus



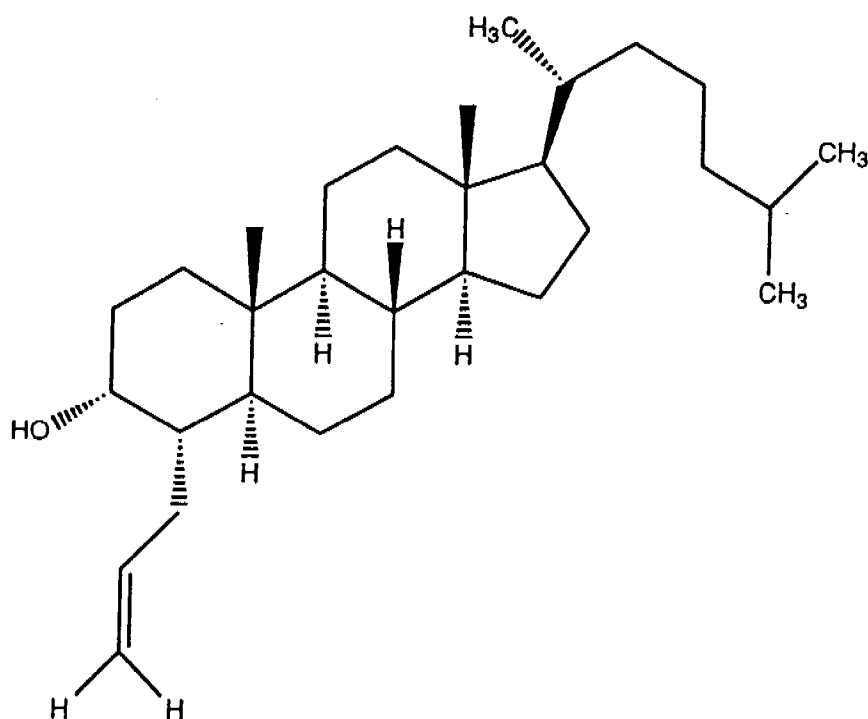
Liuos, jossa oli 7,6 g (17 mmoolia) esimerkin 1 yhdistettä 75 ml:ssa kuivaa THF, lisättiin tipoitain 34 ml:aan (2 ekvivalenttia) K-selektridiä (1 M) THF:ssä -78 °C:ssa. Reaktioseosta sekoitettiin 2,5 tuntia, lämmitettiin sitten 0 °C:seen, minkä jälkeen lisättiin 3,11 ml vettä, 11,75 ml 2B etanolia ja 9,31 ml 5 N natriumhydroksidia. Sitten 11,75 ml 30-%:ista vetyperoksidia lisättiin tipoitain samalla pitäen lämpötila alle 20 °C. Kun päästiin huoneenlämpötilaan liuos haihdutettiin alennetussa paineessa THF:n poistamiseksi. Vesipitoinen kerros uutettiin eetterillä ja orgaaniset uutteet kuivattiin (MgSO₄) ja väkevöitiin antamaan 7,43 g (97 %) keltaista vaahtoa, jota puhdistettiin edelleen valmistavalla HPLC:llä käyttäen 0 - 8-%:ista etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia heksaanissa 30 minuutin ajan ja 375 ml:n jakeet kerättiin

joka 1,5. minuutti. Jakeet, jotka sisälsivät tuotetta, yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan valkoinen kiinteä aine, joka uudelleenkiteytettiin etanoli/vedestä antamaan 6,77 g (90 %) otsikkoyhdistettä: sp. 108 - 109 °C; MS/FD m/e 442; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz).

Pääosin seuraten esimerkin 4 menetelmiä, valmistettiin esimerkkien 5, 6 ja 7 yhdisteet.

Esimerkki 5

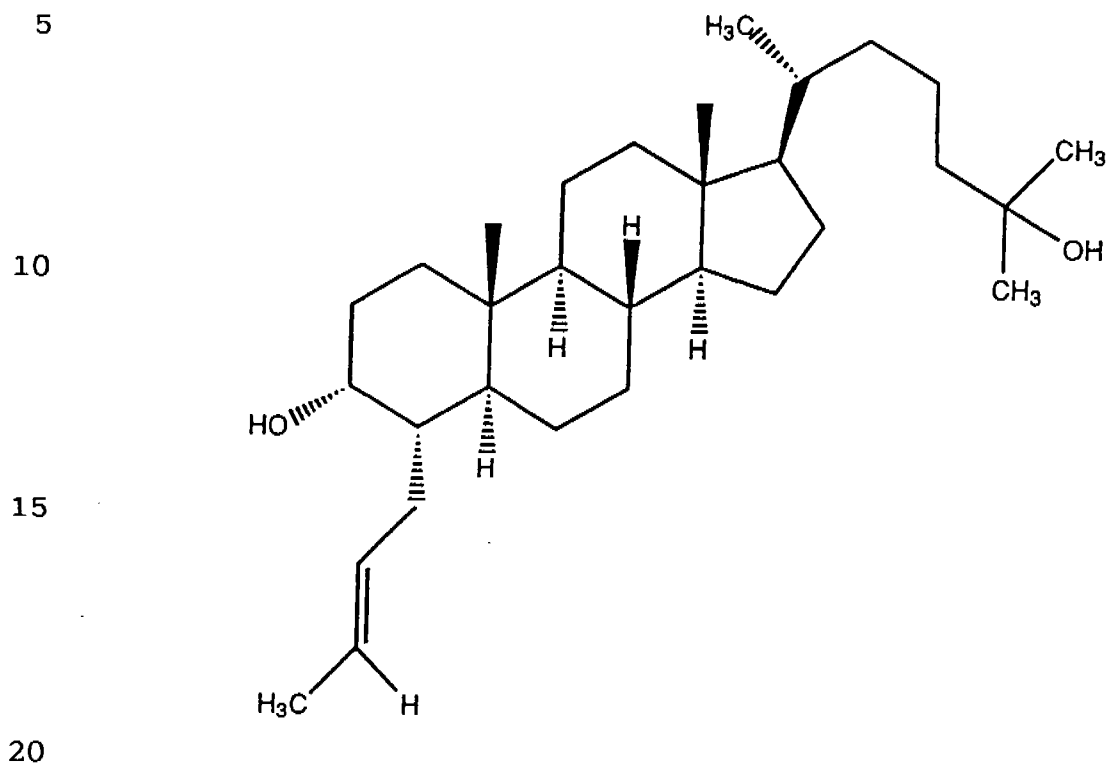
[4α,5α]-4-(2-propenyyli)kolestan-3α-olin valmistus



Esimerkin 2 yhdiste [4α,5α]-4-(1-propenyyli)kolestan-3-oni [27,33 g, 0,064 moolia] antoi 34,5 g (90 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiteisenä aineena: MS/FD m/e 428; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz)
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz).

Esimerkki 6

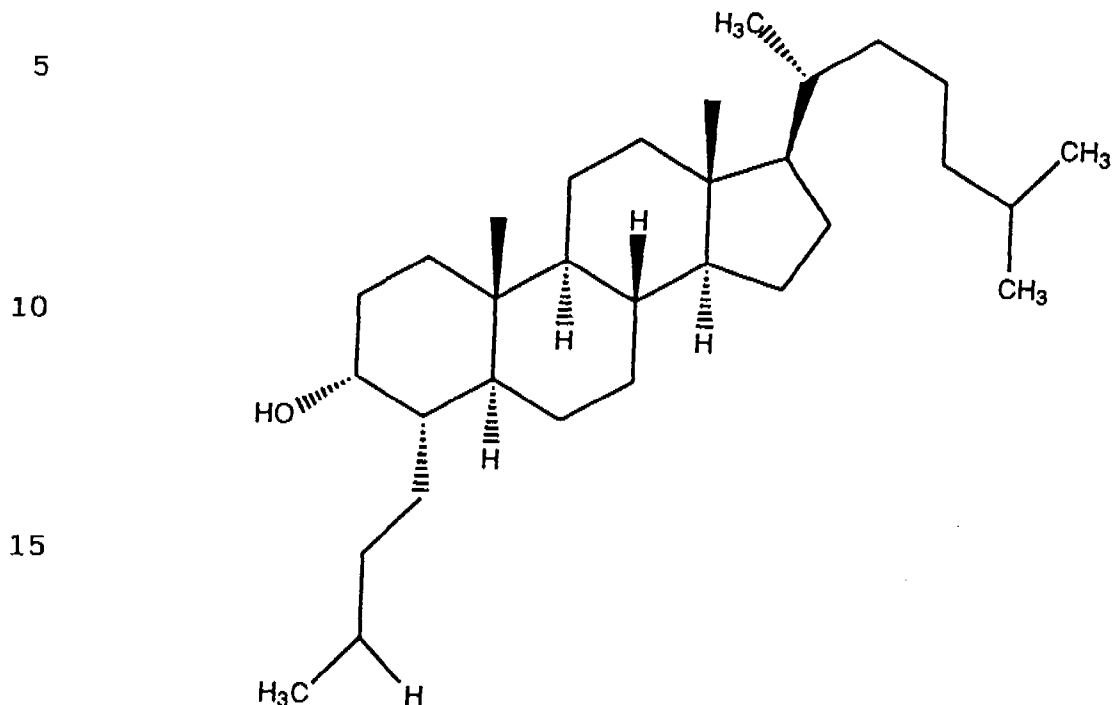
[4 α (E),5 α]-4-(2-butenyyli)-25-hydroksikolestan-3 α -
olin valmistus



25

Esimerkin 3 yhdiste [4 α (E),5 α]-4-(2-butenyyli)-25-
hydroksikolestan-3-oni [140 mg, 0,307 mmoolia] antoi
flashkromatografian (EtOAc) jälkeen 28,1 mg (21 %) otsik-
koyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena: MS/FD+ m/e 428;
1H NMR (CDCl₃, 300 MHz).

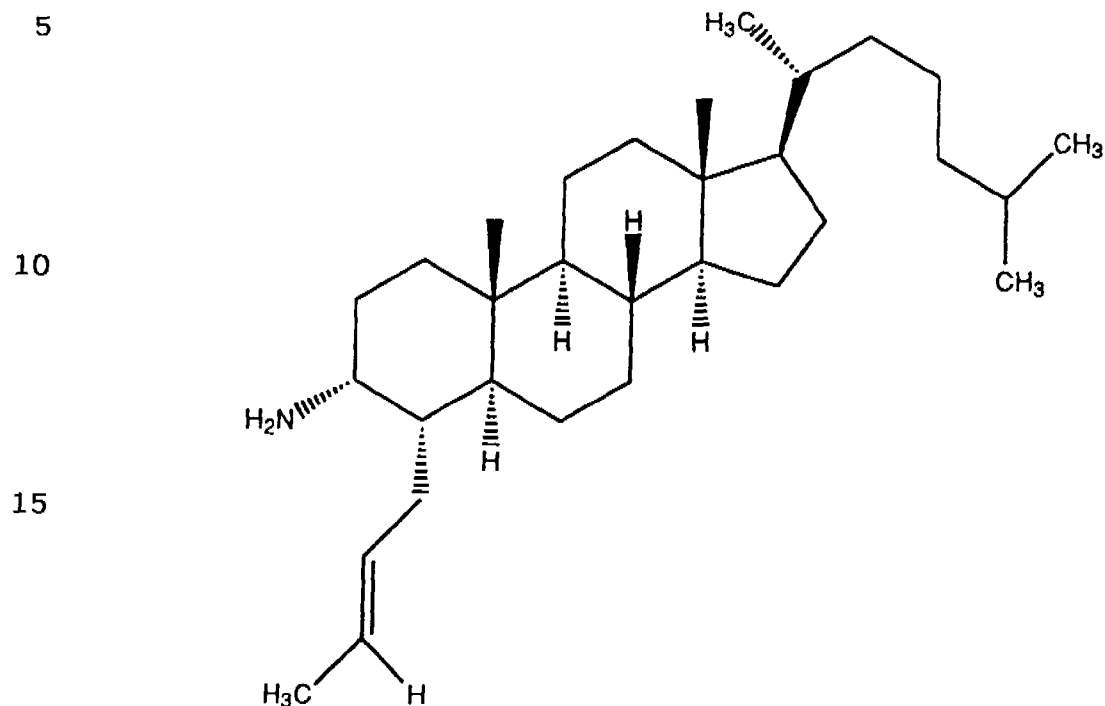
Esimerkki 7

[4 α ,5 α]-4-butylikolestan-3 α -olin valmistus

20 Seos, jossa oli 533 mg (1,2 mmoolia) esimerkin 4 yhdistettä ja 53 mg 5-%:ista Pd/C 50 ml:ssa etyyliasetaattia, altistettiin 60 psi:n vetypaineeseen huoneenlämpötilassa kahdeksaksi tunniksi. Reaktioseos suodatettiin Fullerin maalla, mitä seurannut haihduttaminen antoi 436 mg (82 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, jonka puhtaus todettiin yhdellä täplällä ohutkerroskromatografiassa (10-%:inen EtOAc : heksaani): MS/FD m/e 444; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz).

25

Esimerkki 8

[4 α (E), 5 α]-4-(2-butenyyli)-3 α -aminokolestonin valmistus

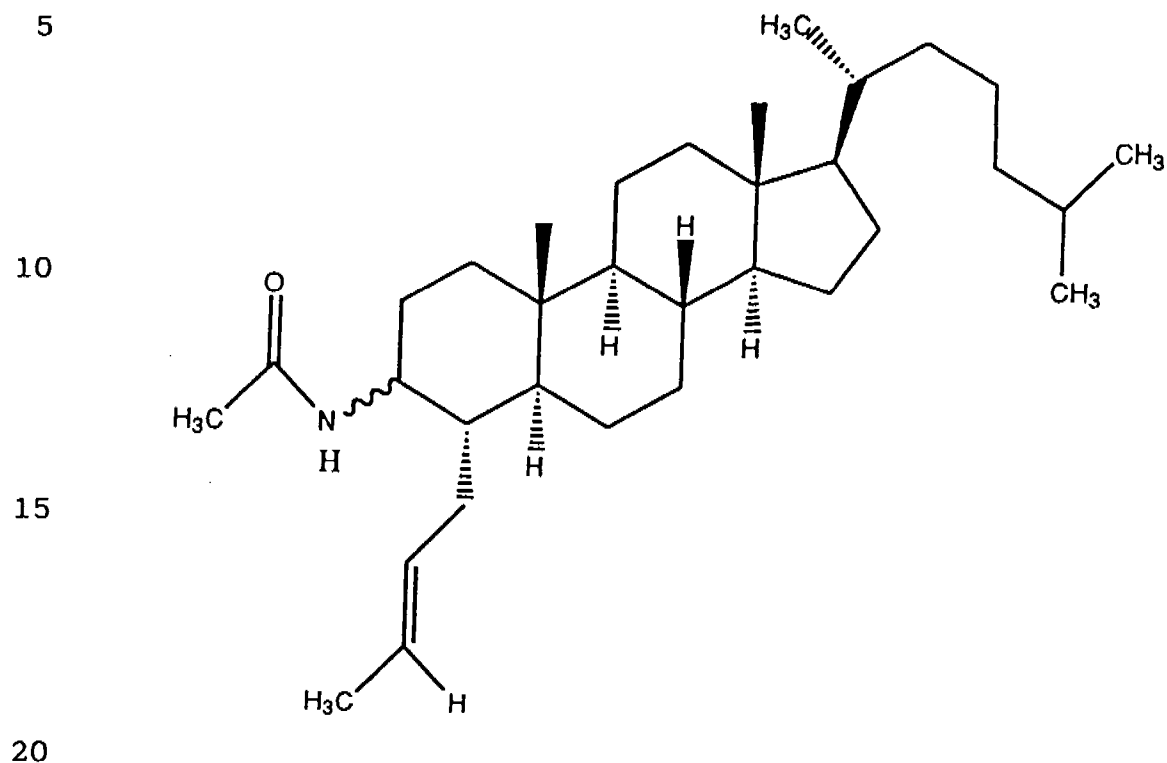
25

30

Seokseen, jossa oli 5,0 g (11,3 mmoolia) esimerkin 1 yhdistettä, 8,7 g (113 mmoolia, 10 ekvivalenttia) ammoniumasetaattia, 4,0 g (63,7 mmoolia, 5,6 ekvivalenttia) natriumsyaaniboorihydridiä ja 70 ml kuivaa THF liekkikuivatussa pullossa typen paineessa, lisättiin 70 ml metanolia. Liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli, mitä seurasi 5-%:isen natriumhydroksidin lisääminen. Vesipitoinen liuos uutettiin eetterillä, orgaaniset uutteet yhdistettiin, kuivattiin (MgSO₄) ja väkevöitiin antamaan 4,95 g (99 %) otsikkoyhdistettä lasimaisena puolikiinteänä aineena.

Esimerkit 9 ja 10

[4 α (E), 5 α]-4-(2-butenyyli)-3 α ja 3 β -asetamidokolestonien valmistus



25

30

Seosta, jossa oli 4,0 g (9,05 mmoolia) esimerkin 8 yhdistettä, 2,3 g (2,5 ekvivalenttia) etikkahappoanhydridiä ja 3,6 ml (5,0 ekvivalenttia) pyridiiniä 50 ml:ssa tolueenia, kuumennettiin palautusjäähdyttään yksi tunti. Jäähdyttämisen jälkeen huoneenlämpötilaan seos väkevöitiin antamaan valkoinen kiinteä aine, jota edelleen puhdistettiin HPLC:llä käyttäen 15 - 50 %:n EtOAc : heksaani-pitoisuusgradienttia 20 minuuttia. Jakeet, jotka sisälsivät tuotteita, yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan yksittäisiä 3-asetamidokolestaani-isomeerejä valkoisina kiinteinä aineina. Esimerkki 9: 1,08 g (24,6 % 3 α -isomeeriä MS/FD m/e 483; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz). Esimerkki 10: 1,31 g (30 %) 3 β -isomeeriä: MS/FD m/e 483; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz).

Esimerkki 11

4 α -(4-syaanibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

Liekkikuivatusta kolmikaupullossa, joka oli varustettu ammoniakikisissäntulolla, hiilihappojääjäähdyt-
 5 timellä ja väliseinällä, oli lasisekoitintanko ja litium-
 hiutaleita (79,4 mg, 11,4 mmoolia) argonin ilmakehässä.
 30 ml kuivaa ammoniakia kerättiin pulloon, joka oli hii-
 lihappojää/asetonihauteessa. Saatua syvänsinistä liuosta
 sekoitettiin 10 minuuttia ennen kun se laimennettiin
 10 10 ml:lla kuivaa tetrahydrofuraania.

Liuos, jossa oli 4-kolesten-3-onia (2,00 g, 5,20 mmoolia) ja tert-butyylialkoholia (340 ml, 3,64 mmoolia) 15 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, lisättiin tipoittain syvänsiniseen liuokseen voimakkaasti sekoittaen kolmen
 15 minuutin aikana -78 °C:ssa. Vaaleansinistä liuosta sekoi-
 tettiin -78 °C:ssa 45 minuuttia. Liuos, jossa oli α -bromi-
 p-tolueeninitriiliä (3,05 g, 15,6 mmoolia) 20 ml:ssa kui-
 vaa tetrahydrofuraania, lisättiin siniseen liuokseen no-
 peasti putken kautta. Hiilihappojää/asetonihaute poistet-
 20 tiin ja saadun vihertävän suspension annettiin lämmitä
 hitaasti kolme tuntia haihduttaen ammoniakki. 10 ml vesi-
 pitoista ammoniumkloridiliuosta (588 mg, 11,0 mmoolia)
 lisättiin reaktioseokseen, mitä seurasi 30 ml dietyylieet-
 25 teri/metyleenikloridia (2 : 1); ja orgaaninen kerros ero-
 tettiin. Vesipitoinen kerros uutettiin dietyylieetteri/me-
 tyleenikloridilla (2 : 1); ja orgaaninen kerros erotet-
 tiin. Vesipitoinen kerros uutettiin dietyylieetteri/me-
 tyleenikloridilla (2 : 1) (50 ml x 2). Yhdistetyt orgaani-
 set kerrokset pestiin 20 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin
 30 vedettömällä magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja väke-
 vöitiin antamaan valkoinen kiinteä jäännös, joka altistet-
 tiin flashpölväskromatografialle silikageelillä (etyyli-
 asetaatti/tolueeni 0 $\rightarrow$ 4 % eluenttina) antamaan 1,28 g
 (2,55 mmoolia 49 %) 4 α -(4-syaanibentsyyli)kolestan-3-onia.

Uudelleenkiteyttäminen tolueenissa antoi neulamaisia kiteitä.

IR(CHCl₃, cm⁻¹): 2230, 1706

300MHz ¹H NMR(CDCl₃, ppm) δ 0,68 (s, 3H, CH₃), 0,87 (d, J = 6,6 Hz, 6H, -CH(CH₃)₂), 0,91 (d, J = 6,5 Hz, 3H, -CH(CH₃)-), 1,09 (s, 3H, -CH₃), 0,70 - 1,65 (m, 22H), 1,70 - 1,95 (m, 3H), 1,95 - 2,10 (m, 2H), 2,26 - 2,35 (m, 1H), 2,44 (td, J = 14,0 Hz, 6,2 Hz, 1H), 2,54 - 2,64 (m, 1H), 2,87 (dd, J = 14,2 Hz; 3,1 Hz, 1H), 3,02 (dd, J = 14,2 Hz; 7,8 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 8,2 Hz, 2H).

Massa (FD): 501 (M⁺);

Alkuaineanalyysi: laskettu C₃₅H₅₁ON:lle:

C, 83,78; H, 10,24; N, 2,79;

Havaittu: C, 84,07; H, 10,42; N, 2,86

Seuraten pääosin edeltävässä esimerkissä 11 kuvattuja menetelmiä valmistettiin esimerkkien 12 - 21 yhdisteet.

Esimerkki 12

4α-bentsyylikolestan-3-onin valmistus

16,9 %:n saanto; sp. 163,0 - 168 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);

IR(CHCl₃, cm⁻¹): 1704;

NMR 300MHz (CDCl₃) δ 0,65 (s, 3H, metyyli), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,70 - 1,60 (m, 22H), 1,04 (s, 3H, metyyli), 1,65 - 1,90 (m, 3H), 1,90 - 2,06 (m, 2H), 2,25 - 2,36 (m, 1H), 2,42 (td, J = 1,39, 6,3 Hz, 1H), 2,50 - 2,59 (m, 1H), 2,80 (dd, J = 14,3, 3,2 Hz, 1H), 3,01 (dd, J = 14,2, 7,2 Hz, 1H), 7,10 - 7,28 (m, 5H, aromaattinen);

MS-FD M/e 476(M⁺);

Analyytisesti laskettu C₃₄H₅₂O:lle:

C, 85,65; H, 10,99

Havaittu: C, 85,94; H, 11,37.

Esimerkki 13

4α-(4-fluoribentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

19,7 %:n saanto; sp. 175,0-177,0 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);

IR(CHCl₃, cm⁻¹): 1704;

NMR 300MHz (CDCl₃) δ 0,65 (s, 3H, metyyli), 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,88 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,65 - 1,60 (m, 22H), 1,04 (s, 3H, metyyli), 1,70 - 1,84 (m, 3H), 1,94 - 2,02 (m, 2H), 2,26 (leveä J = 11,8 Hz, 1H), 2,38 (dd, J = 13,8, 6,4 Hz, 1H), 2,44 - 2,55 (m, 1H), 2,8 (leveä dd, J = 14,3, 3,0 Hz, 1H), 2,92 (dd, J = 1,42, 7,4 Hz, 1H), 6,89 (t, J = 8,7 Hz, 2H aromaattinen), 7,10 - 7,14 (m, 2H aromaattinen);

MS-FD M/e 494(M⁺);

Analyttisesti laskettu C₃₄H₅₁FO:lle:

C, 82,54; H, 10,39

Havaittu: C, 82,63; H, 10,46.

Esimerkki 14

4α-(4-bromibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

24 %:n saanto; sp. 163,0 - 165,8 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);

IR(CHCl₃, cm⁻¹): br 1705;

NMR 300MHz (CDCl₃) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,91 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,70 - 1,60 (m, 22H), 1,07 (s, 3H, metyyli), 1,72 - 1,92 (m, 3H), 1,97 - 2,08 (m, 2H), 2,29 (br d, J = 9,1 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 15,2, 7,1 Hz, 1H), 2,52 - 2,56 (m, 1H), 2,79 (dd, J = 14,2, 3,1 Hz, 1H), 2,93 (dd, J = 1,42, 7,4 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 8,2 Hz, 2H aromaattinen), 7,35 (d, J = 8,3 Hz, 2H aromaattinen);

MS-FD M/e 556(M⁺);

Analyttisesti laskettu C₃₄H₅₁BrO:lle:

C, 73,49; H, 9,25

Havaittu: C, 73,72; H, 9,28

Esimerkki 15

4α-(4-jodibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

17,3 %:n saanto; sp. 161,5-163,0 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);

IR(CHCl₃, cm⁻¹): 1705

NMR 300MHz (CDCl₃) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,90 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,07 (s, 3H, metyy-

li), 0,70 - 1,60 (m, 22H), 1,71 - 1,86 (m, 3H), 1,97 - 2,05 (m, 2H), 2,29 (br d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 2,43 (td, $J = 13,9, 6,4$ Hz, 1H), 2,49 - 2,58 (m, 1H), 2,78 (dd, $J = 14,2, 2,8$ Hz, 1H), 2,92 (dd, $J = 14,2, 7,3$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H aromaattinen), 7,55 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H aromaattinen);

MS-FD M/e 602(M^+);

Analyttisesti laskettu $C_{34}H_{51}IO$:lle:

C, 67,76; H, 8,53

10 Havaittu: C, 67,98; H, 8,59

Esimerkki 16

4 α -(4-trifluorimetyyllibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

22 %:n saanto; sp. 165,0 - 166,0 °C (CH_2Cl_2/CH_3CN);

15 IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 1705

NMR ($CDCl_3$) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,91 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,09 (s, 3H, metyyli) 0,70 - 1,60 (m, 22H), 1,73 (m, 22H), 1,73 - 1,87 (m, 3H), 1,96 - 2,07 (m, 2H), 2,31 (br d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,44 (td, $J = 14,0, 6,4$ Hz, 1H), 2,56 - 2,63 (m, 1H), 2,86 (br dd, $J = 14,2, 3,0$ Hz, 1H), 3,05 (dd, $J = 14,2, 7,6$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H aromaattinen) 7,49 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H aromaattinen);

MS-FD M/e 544(M^+);

25 Analyttisesti laskettu $C_{35}H_{51}F_3O$:lle:

C, 77,17; H, 9,44

Havaittu: C, 77,46; H, 9,60

Esimerkki 17

4 α -(4-metoksikarbonyyllibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

30 IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 1711

300MHz 1H NMR($CDCl_3$, ppm) δ 0,67 (s, 3H, CH_3), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H, $-CH(CH_3)_2$), 0,90 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, $-CH(CH_3)-$), 1,08 (s, 3H, $-CH_3$), 0,70 - 1,66 (m, 22H), 1,66 - 1,92 (m, 3H), 1,92 - 2,10 (m, 2H), 2,26 - 2,35 (m, 1H), 2,44 (td,

$J = 13,9 \text{ Hz}, 6,2 \text{ Hz}, 1\text{H}), 2,55 - 2,65 \text{ (m, 1H)}, 2,87 \text{ (dd, } J = 14,2 \text{ Hz; } 3,2 \text{ Hz, 1H)}, 3,06 \text{ (dd, } J = 14,2 \text{ Hz; } 7,4 \text{ Hz, 1H)}, 3,90 \text{ (s, 3H, } -\text{CO}_2\text{CH}_3), 7,27 \text{ (d, } J = 8,11 \text{ Hz, 2H)}, 7,91 \text{ (d, } J = 8,1 \text{ Hz, 2H)}.$

5 Massa (M/z , FD^+): 534 (M^+);

Alkuaineanalyysi: laskettu $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_3$:lle:

C, 80,85; H, 10,18

Havaittu: C, 81,01; H, 10,05

Esimerkki 18

10 **4α -(4-bentsyylioksibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus**

12,5 %:n saanto; sp. 175,0-178,0 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$);

IR(CHCl_3 , cm^{-1}): 1703

15 NMR 300MHz (CDCl_3) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}, 6\text{H}$), 0,91 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}, 3\text{H}$), 0,70 - 1,62 (m, 22H), 1,70 - 1,90 (m, 3H), 1,95 - 2,08 (m, 2H), 2,28 (br d, $J = 14,6 \text{ Hz}, 1\text{H}$), 2,35 - 2,58 (m, 2H), 2,80 br dd, $J = 14,4, 3,2 \text{ Hz}, 1\text{H}$), 2,93 (dd, $J = 14,0, 7,0 \text{ Hz}, 1\text{H}$), 5,03 (s, 2H, bentsyyli), 6,86 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 7,10 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 7,36 - 7,50 (m, 5H, aromaattinen);

20 MS-FD M/e 582(M^+);

Analyyttisesti laskettu $\text{C}_{41}\text{H}_{58}\text{O}_2$:lle:

C, 84,48; H, 10,03

Havaittu: C, 84,58; H, 10,07

25 **Esimerkki 19**

4α -(4-trifluorimetoksibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

14 %:n saanto; sp. 128 - 130 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$);

IR(CHCl_3 , cm^{-1}): 1705

30 NMR (CDCl_3) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}, 6\text{H}$), 0,91 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}, 3\text{H}$), 1,08 (s, 3H, metyyli), 0,70 - 1,66 (m, 22H), 1,73 - 1,87 (m, 3H), 1,96 - 2,07 (m, 2H), 2,26 - 2,36 (m, 1H), 2,39 - 2,61 (m, 2H), 2,81 (dd, $J = 14,2, 2,7 \text{ Hz}, 1\text{H}$), 2,98 (dd, $J = 14,3, 7,5 \text{ Hz}, 1\text{H}$),

7,07 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, aromaattinen), 7,21 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, aromaattinen);

MS-FD m/e 560 (M^+);

Analyttisesti laskettu $C_{35}H_{51}F_3O_2$:lle:

5 C, 74,96; H, 9,17

Havaittu: C, 75,00; H, 9,09

Esimerkki 20

4α -(4-klooribentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

37 %:n saanto; sp. 157 - 159 °C (CH_2Cl_2/CH_3CN);

10 IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 1704

NMR ($CDCl_3$) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,91 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,07 (s, 3H, metyyli), 0,72 - 1,68 (m, 22H), 1,73 - 1,87 (m, 3H), 1,96 - 2,07 (m, 2H), 2,26 - 2,36 (m, 1H), 2,39 - 2,61 (m, 2H), 2,81 (dd, $J = 14,2, 2,7$ Hz, 1H), 2,98 (dd, $J = 14,3, 7,5$ Hz, 1H), 7,12 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, aromaattinen), 7,20 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, aromaattinen);

MS-FD m/e 511 (M^+), 513 (^{37}Cl M^+);

Analyttisesti laskettu $C_{35}H_{51}ClO$:lle:

20 C, 79,88; H, 10,06

Havaittu: C, 79,78; H, 10,15

Esimerkki 21

4α -(3,4-diklooribentsyyli)kolestan-3-oninvalmistus

9 %:n saanto; sp. 156 - 158 °C (CH_2Cl_2/CH_3CN);

25 IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 1706

NMR ($CDCl_3$) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,91 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,07 (s, 3H, metyyli), 0,72 - 1,68 (m, 22H), 1,73 - 1,87 (m, 3H), 1,96 - 2,07 (m, 2H), 2,26 - 2,36 (m, 1H), 2,39 - 2,61 (m, 2H), 2,81 (dd, $J = 14,2, 2,7$ Hz, 1H), 2,98 (dd, $J = 14,3, 7,5$ Hz, 1H), 7,01 - 7,04 (m, 2H, aromaattinen), 7,25 - 7,36 (m, 2H, aromaattinen);

MS-FD m/e 545 (M^+), 547 (^{37}Cl M^+4);

Analyttisesti laskettu $C_{34}H_{50}Cl_2O$:lle:

35 C, 74,84; H, 9,24

Havaittu: C, 75,07; H, 9,31

Esimerkki 22

4 α -bentsyylikolestan-3 α -olin valmistus

Pelkistys di-isobutyrylialumiinihydridillä.

- 5 Liuos, jossa oli di-isobutyrylialumiinihydridiä (1,0 M tolueenissa, 0,31 ml, 0,31 mmoolia) lisättiin tipoitain sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli 4 α -bentsyylikolestan-3-onia (159 mg, 0,33 mmoolia) 6 ml:ssa kuivaa metyleenikloridia -78 °C:ssa argonin ilmakehässä. Saatua seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 30 minuuttia ennen kun sen
- 10 annettiin lämmetä 0 °C:seen, jossa se tukahdutettiin 5 ml:lla 1 N HCl (vesipitoinen) ja 10 ml:lla dietyylieetteriä. Kaksifaasiseosta sekoitettiin voimakkaasti 30 minuuttia. Orgaaninen kerros erotettiin ja pestiin peräkkäisesti 5 ml:lla kyllästettyä vesipitoista natriumbikarbonaattia ja 5 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin vedettömällä MgSO₄:llä, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös altistettiin MPLC erotukselle silikageelillä (n-heksaani → 15-%:inen etyyliasetaatti/n-heksaani eluenttina) antamaan
- 15 45,0 mg (28 %:n saanto) haluttua 4 α -bentsyylikolestan-3 α -olia ja 85,0 mg (53 %:n saanto) 4 α -bentsyylikolestan-3 β -olia.

28 %:n saanto; sp. 145,0 - 146,0 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);IR (KBr) br cm⁻¹): 3485

- 25 NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,64 (s, 3H, metyyli), 0,82 (s, 3H, metyyli) 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,89 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 1,90 - 2,00 (M, 1H), 2,37 (br t, J = 12,0 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 13,1; 4,5 Hz, 1H), 3,46 (br d, J = 1,9 Hz 1H), 7,10 - 7,32 (m, 5H);

MS-FD m/e 478 (M⁺);

- 30 Analyytisesti laskettu C₃₄H₅₄O:lle:

C, 85,29; H, 11,36

Havaittu: C, 85,59; H, 11,72

Seuraten pääosin esimerkissä 22 kuvattuja menetelmiä valmistettiin esimerkkien 23 - 27 yhdisteet.

Esimerkki 23**4 α -(4-fluoribentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**27 %:n saanto; sp. 174,0 - 175,5 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);IR(CHCl₃, cm⁻¹): br 3618

5 NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,64 (s, 3H, metyyli), 0,81 (s, 3H, metyyli), 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,89 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,65 - 1,90 (m, 30H), 1,95 (br d, J = 11,7 Hz, 1H), 2,37 (br t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,80 (dd, J = 13,2, 4,4 Hz, 1H), 3,44 (br d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,94 (t, J = 8,5 Hz, 2H

10 aromaattinen), 7,15 (dd, J = 8,1, 6,7 Hz, 2H aromaattinen);

MS-FD M/e 497 (1+M⁺);Analyttisest laskettu C₃₄H₅₃FO:lle:

C, 82,20; H, 10,75

15 Havaittu: C, 82,23; H, 10,83

Esimerkki 24**4 α -(4-bromibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**41,5 %:n saanto; sp. 177,0-178,0 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);IR(CHCl₃, cm⁻¹): br 3625

20 NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,65 (s, 3H, metyyli), 0,81 (s, 3H, metyyli) 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,89 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,70 - 1,88 (m, 30H), 1,96 (br d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,32 - 2,40 (m, 1H), 2,78 (dd, J = 13,2, 4,7 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 2H aro-

25 maattinen), 7,37 (d, J = 8,2 Hz, 2H);

MS-FD M/e 558 (M⁺);Analyttisest laskettu C₃₄H₅₃BrO:lle:

C, 73,22; H, 9,58

Havaittu: C, 73,34; H, 9,49

Esimerkki 25**4 α -(4-jodibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**37,3 %:n saanto; sp. 187,0-188,5 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);IR(CHCl₃, cm⁻¹): br 3625

35 NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,67 (s, 3H, metyyli), 0,83 (s, 3H, metyyli) 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,91 (d, J = 6,3Hz,

3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 1,98 (br dd, $J = 11,9$ Hz, 1H), 2,37 (br t, $J = 12,2$ Hz, 1H), 2,80 (dd, $J = 13,2, 4,4$ Hz, 1H), 3,46 (br d, $J = 2,4$ Hz, 1H) 7,0 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H aromaattinen), 7,59 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H aromaattinen);

5 MS-FD M/e 604 (M^+);

Analyyttisesti laskettu $C_{34}H_{53}IO$:lle:

C, 67,53; H, 8,84

Havaittu: C, 67,58; H, 8,96

Esimerkki 26

10 **4 α -(4-trifluorimetyylibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**

33 %:n saanto; sp. 174,5 - 175,5 °C (CH_2Cl_2/CH_3CN);

IR($CHCl_3$, cm^{-1}): br 3610

15 NMR 300 MHz ($CDCl_3$) δ 0,65 (s, 3H, metyyli), 0,82 (s, 3H, metyyli) 0,85 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,89 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 1,94 - 1,99 (m, 1H), 2,48 (br d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 2,88 (dd, $J = 13,2, 4,3$ Hz 1H), 3,40 (br d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 7,9$ Hz 2H aromaattinen), 7,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H aromaattinen);

20 MS-FD M/e 546(M^+);

Analyyttisesti laskettu $C_{35}H_{53}F_3O$:lle:

C, 76,88; H, 9,77

Havaittu: C, 76,96; H, 9,83

Esimerkki 27

25 **4 α -(3,4-diklooribentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**

12,5 %:n saanto; sp. 168 - 170 °C (CH_2Cl_2/CH_3CN);

IR 3617 (br) cm^{-1} ;

30 NMR ($CDCl_3$) δ 0,67 (s, 3H, metyyli), 0,84 (s, 3H, metyyli), 0,88 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H), 0,91 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 1,95 - 2,03 (m, 1H), 2,41 (br. t, $J = 11,7$ Hz, 1H), 2,79 (dd, $J = 13,0, 4,3$ Hz, 1H), 3,46 (br s, 1H), 7,05 - 7,15 (m, 1H, aromaattinen), 7,33 - 7,40 (m, 2H, aromaattinen)

35 MS-FD m/e 547 (^{35}Cl , M^+), 549 (^{37}Cl , M^+);

Analyyttisesti laskettu $C_{34}H_{52}Cl_2O$:lle:

C, 74,56; H, 9,57

Havaittu: C, 74,80; H, 9,42

Esimerkki 28

5 4α -(4-syaanibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus

Pelkistys K-selektridi kalium tri-sek-butyyliboori-
hydridillä K-selektridiä (1,0 M THF:ssä, 0,553 ml, 0,553
mmoolia) lisättiin tipoittain sekoituksenalaiseen liuok-
seen, jossa oli 4α -(4-syaanibentsyyli)kolestan-3-onia
10 (154 mg, 0,307 mmoolia) 4 ml:ssa kuivaa THF -20 °C:ssa
argonin ilmakehässä. Yhden tunnin kuluttua -20 °C:ssa
reaktioseos tukahdutettiin 500 μ l:lla etikkahappoa ja an-
nettiin lämmetä ympäristön lämpötilaan, jossa sitä seko-
tettiin 15 lisäminuuttia. Suspensio suodatettiin lyhyen
15 silikageelipylvään läpi (etyyliasetatti eluenttina), ja-
keet, jotka sisälsivät tuotetta, kerättiin ja väkevöitiin
antamaan valkoinen kiinteä jäännös, joka uudelleenkitey-
tettiin asetonitriili/metyleenikloridista antamaan 135 mg
20 (0,268 mmoolia, 87 %:n saanto) 4α -(4-syaanibentsyyli)ko-
lestan-3 α -olia.

IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 3616, 2230

300MHZ 1H NMR($CDCl_3$, ppm) δ 0,67 (s, 3H, CH_3), 0,84 (s, 3H,
- CH_3), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H, - $CH(CH_3)_2$), 0,91 (d, J =
6,7 Hz, 3H, - $CH(CH_3)-$), 0,70 - 1,92 (m, 30H), 1,99 (leveä
25 d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,52 (leveä t, J = 12,0 Hz, 1H), 2,88
(dd, J = 13,1 Hz, 4,4 Hz, 1H), 3,39 (leveä s, 1H), 7,34
(d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 2H)

Massa (FD⁺): 503 (M⁺);

Alkuaineanalyysi: laskettu $C_{35}H_{53}NO$:lle:

30 C, 83,44; H, 10,60; N, 2,78;

Havaittu: C, 83,14; H, 10,67; N, 2,85.

Esimerkki 29

4α -(4-metoksikarbonyylibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus

35 IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 3625, 1717

300MHz ¹H NMR(CDCl₃, ppm) δ 0,67 (s, 3H, CH₃), 0,84 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH(CH₃)-), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH(CH₃)-), 0,91 (d, J = 6,5 Hz, 3H, -CH(CH₃)-), 0,70 - 1,92 (m, 30H), 1,98 (leveä d, J = 12,9 Hz, 1H), 2,50 (leveä t, J = 12,0 Hz, 1H), 2,90 (dd, J = 13,1 Hz, 4,6 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H, -CH₃), 7,30 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,95 (d, J = 8,1 Hz, 2H)

Massa (FD):535 (M⁺-1);

Alkuaineanalyysi: laskettu C₃₆H₅₆O₃:lle:

10 C, 80,54; H, 10,51;

Havaittu: C, 80,43; H, 10,49

Esimerkki 30

4α-(4-trifluorimetoksibentsyyli)kolestan-3α-olin valmistus

15 48 %:n saanto;

IR (CHCl₃) 3600 (br), cm⁻¹;

NMR (CDCl₃) δ 0,64 (s, 3H, metyyli), 0,82 (s, 3H, metyyli), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,89 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 1,94 - 1,99 (m, 1H), 2,48 (br t, J = 12,1 Hz, 1H), 2,88 (dd, J = 13,2 Hz, 3 Hz, 1H), 3,40 (br d, J = 2,4 Hz, 1H) 7,08 - 7,15 (m, 1H, aromaattinen), 7,20 - 7,23 (m, 1H, aromaattinen);

MS-FD m/e 562 (M⁺);

Esimerkki 31

25 4α-(4-klooribentsyyli)kolestan-3α-olin valmistus

8 %:n saanto;

NMR (CDCl₃) δ 0,67 (s, 3H, metyyli), 0,84 (s, 3H, metyyli), 0,88 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,91 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,70:1,94 (m, 30H), 1,96 - 2,03 (m, 1H), 2,40 (dd, J = 13,1, 11,3 Hz, 1H), 2,82 (dd, J = 13,2, 4,6 Hz, 1H), 3,46 (br d, J = 2,5 Hz, 1H) 7,15 s, (d, J = 8,3 Hz, aromaattinen), 7,24 (d, J = 8,2 Hz, aromaattinen).

Esimerkki 32**4 α -(4-bentsyylioksibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus**

Seuraten pääosin esimerkin 28 ja sitten esimerkin 22 menetelmiä ja käyttäen esimerkin 18 yhdistettä, valmistettiin otsikkoyhdiste.

44,8 %:n saanto; sp. 208,0 - 209,5 °C (CH₂Cl₂/CH₃CN);

IR(CHCl₃, cm⁻¹) br 3600

NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,67 (s, 3H, metyyli), 0,84 (s, 3H, metyyli) 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,92 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,70 - 1,90 (m, 30H), 2,0 (br d., J = 12,0 Hz, 1H), 2,35 (br t. J = 11,3 Hz, 1H), 2,82 (dd, J = 13,4, 4,4 Hz, 1H), 3,51 (br d. J = 2,3 Hz, 1H, 5,05 (s, 2H, bentsyyli), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 2H, aromaattinen), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 2H, aromaattinen), 7,30 - 7,50 (m, 5H aromaattinen);

MS-FD M/e 584 (M⁺);

Analyttisesti laskettu C₄₁H₆₀O₂:lle:

C, 84,19; H, 10,34

Havaittu: C, 84,44; H, 10,28

Esimerkki 33

4 α -(4-hydroksimetyyllibentsyyli)kolestan-3 α -olin valmistus

Liuos, jossa oli di-isobutyylialumiinihydridiä (1,0 M tolueenissa, 1,69 ml, 1,69 mmoolia), lisättiin tipoit-
 tain sekoituksenalaisen liuokseen, jossa oli 4 α -(4-metok-
 sikarbonyyllibentsyyli)kolestan-3-onia (200 mg, 0,375 mmoo-
 lia) 6 ml:ssa kuivaa THF -10 °C:ssa argonin ilmakehässä.
 Saatua seosta sekoitettiin -10 °C:ssa yksi tunti ja sitten
 5 ml 1 N HCl (vesipitoinen) lisättiin. Kaksifaasi-seosta
 sekoitettiin voimakkaasti ympäristön lämpötilassa 30 mi-
 nuuttia. Orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen ker-
 ros uutettiin metyleenikloridilla (30 ml x 2). Yhdistetyt
 orgaaniset kerrokset pestiin peräkkäisesti 3 ml:lla kyl-
 lästettyä NaHCO₃ (vesipitoinen), 3 ml:lla H₂O ja 3 ml:lla
 suolaliuosta, kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatil-

la, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäljellejäänyt valkoinen kiinteä aine liuotettiin pieneen määrään THF/CH₂Cl₂ (1 ml), altistettiin sitten MPLC erotukselle silikageelillä (etyyliasetatti/tolueeni: 10 % → 35 %, eluenttina) antamaan
 5 59,0 mg (0,11 mmoolia, 31 %:n saanto) 4α-(4-hydroksimetyyli-
 libentsyyli)-kolestan-3α-olia ja 131 mg (0,258 mmoolia, 69 %:n saanto) 4α-(4-hydroksimetyyllibentsyyli)kolestan-
 3β-olia. Molemmat uudelleenkitetyttiin asetonitriilistä antamaan valkoisia neulasia.

10 IR(CHCl₃, cm⁻¹): 3615

300MHz ¹H NMR(CDCl₃, ppm) δ 0,67 (s, 3H, CH₃), 0,84 (s, 3H, -CH₃), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H, -CH(CH₃)₂), 0,91 (d, J = 6,5 Hz, 3H, -CH(CH₃)), 0,70 - 1,90 (m, 31H), 1,98 (leveä d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 13,0 Hz, 1H), 2,87 (dd, J = 13,3 Hz, 4,6 Hz, 1H), 3,48 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H), 7,22 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,29 (d, J = 8,0 Hz, 2H).

Massa (FD⁺): 508 (M⁺);

Alkuaineanalyysi: laskettu C₃₅H₅₆O₂:lle:

20 C, 82,62; H, 11,09;

Havaittu: C, 82,87; H, 11,27

Esimerkki 34

4α-(4-karboksibentsyyli)kolestan-3α-olin valmistus

0,784 ml:n määrä 2 N LiOH (vesipitoinen) lisättiin
 25 sekoituksenalaiseen kirkkaaseen liuokseen, jossa oli
 4α-(4-metoksikarbonyyllibentsyyli)kolestan-3α-olia
 (84,0 mg, 0,157 mmoolia) THF (4 ml)/CH₃OH:n (1 ml) liuok-
 sessa ympäristön lämpötilassa. Saatu suspensio kuumennet-
 tiin palautusjäähdytyslämpötilaan yhdeksi tunniksi typen
 30 ilmakehässä. Ympäristön lämpötilassa reaktioseosta käsi-
 teltiin 1,8 ml:lla 1 N HCl (aq), mitä seurasi 30 ml H₂O.
 Saatu valkoinen sakka suodatettiin pois ja pestiin H₂O:lla.
 Kuivaamisen jälkeen tyhjöuunissa 60 °C:ssa yksi tunti,
 35 saatiin 84,1 mg (0,142 mmoolia, saanto 90 %) haluttua tuo-
 tetta valkoisena kiinteänä aineena.

IR(CHCl₃, cm⁻¹): 3620, 1690

300MHz ¹H NMR(CDCl₃ ppm) δ 0,67 (s, 3H, CH₃), 0,85 (s, 3H, -CH₃), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H, -CH(CH₃)₂), 0,91 (d, J = 6,5 Hz, 3H, -CH(CH₃)-), 0,70 - 1,90 (m, 31H), 1,99 (leveä d, J = 12,0, 1H), 2,53 (leveä t, J = 12,1 1H), 2,92 (dd, J = 13,3 Hz, 4,4 Hz, 1H), 3,44 (leveä s, 1H), 7,34 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 8,02 (d, J = 8,1 Hz, 2H).

Massa (FD):522 (M⁺)' 505 (M⁺-OH);

Alkuaineanalyysi: laskettu C₃₅H₅₄O₃ . C₄H₈O:lle (THF):

10 C, 78,74; H, 10,50;

Havaittu: C, 78,43; H, 10,34

Esimerkki 35

4α-(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3-onin valmistus

[Nimi korjattu]

15 10-%:ista Pd/C (154 mg) palladium/hiiltä lisättiin sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli 4α-(4-bentsyyli-oksibentsyyli)kolestan-3-onia (770 mg, 1,32 mmoolia) 8 ml:ssa THF ympäristön lämpötilassa argonin ilmakehässä. Argon poistettiin ja vetyä lisättiin pallosta, joka oli

20 täytetty vedyllä. Reaktioseosta sekoitettiin vedyn ilmakehässä yön yli. Suodattamisen jälkeen lyhyen piimaakeroksen läpi suodos väkevöitiin ja kiinteä jäännös uudelleenkiteytettiin tolueenista antamaan 400 mg (62 %:n saanto) 4α-(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3-onia.

25 53 %:n saanto; sp. 234,0 - 236,0 °C (CH₂Cl/CH₃CN);

IR (CHCl₃, cm⁻¹): br 3604, 1702

NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,68 (s, 3H, metyyli), 0,87 (J = 6,6 Hz, 6H), 0,90 (d, J = 6 Hz 3H), 1,05 (s, 3H, metyyli), 0,70 - 1,65 (m, 22H), 1,72 - 1,90 (m, 3H), 1,96 - 2,08 (m, 2H), 2,28 (br d., J = 6,9, 1H), 2,35 - 2,55 (m, 2H), 2,80 (dd, J = 14,3, 3,3 Hz, 1H), 2,91 (dd, J = 14,3, 7,2 Hz, 1H) 4,70 (br. s, 1H, -OH), 6,70 (d, J = 8,3 Hz, 2H aro-

30 maattinen), 7,06 (d, J = 8,3 Hz, 2H, aromaattinen);

MS-FD M/e 492 (M⁺);

35 Analyttisesti laskettu C₃₄H₅₂O₂:lle:

C, 82,87; H, 10,64

Havaittu: C, 83,11; H, 10,41

Esimerkki 36

4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3- α -olinvalmistus

5 Edeltävä 4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3-oni
esimerkistä 35 pelkistettiin kuten aikaisemmin on kuvattu
esimerkissä 22, käyttäen di-isobutyryylialumiinihydridiä
antamaan 42 %:n saanto 4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-
3-olia ja 44 %:n saanto 4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-
10 3 β -olia.

42 %:n saanto; sp. hajoaa 215,0 °C:ssa (EA/CH₃CN);

IR (CHCl₃) br 3607 cm⁻¹;

NMR 300 MHz (CDCl₃) δ 0,67 (s, 3H), 0,84 (2, 3H, metyyli),
0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,91 (d, J = 6,4 Hz 3H), 0,70 -
15 1,90 (m, 31H), 2,0 (br d, J = 11,9 Hz, 1H), 2,33 (br t,
J = 11,3 Hz, 1H), 2,81 (dd, J = 13,5, 4,4 Hz, 1H), 3,51
(br d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 8,2 Hz, 2H, aromaat-
tinen), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 2H, aromaattinen);

MS-FD M/e 494 (M⁺);

20 Analyttisesti laskettu C₃₄H₅₄O₂:lle:

C, 82,53; H, 11,00

Havaittu: C, 82,73; H, 10,72

Esimerkki 37

4-bentsyyli-4-kolesten-3-onin valmistus

25 Liuos, jossa oli 4-kolesten-3-onia (30,4 g,
79,0 mmoolia) ja pyrrolidiinia (33,0 ml, 395 mmoolia)
120 ml:ssa bentseeniä, kuumennettiin palautusjäähdytysläm-
pötilaan typen paineessa poistamalla jatkuvasti vettä 24
tuntia. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä kuiviin antamaan
30 34,9 g (79,0 mmoolia, 100 %:n saanto) 3-pyrrolidino-3,5-
kolestadieeniä kellertävänä kiinteänä aineena.

Sekoituksenalaista suspensiota, jossa oli 3-pyrro-
lidino-3,5-kolestadieeniä (438 mg, 1,00 mmoolia) ja bent-
syylibromidia (178 μ l, 1,50 mmoolia) 6 ml:ssa kuivaa DMF,
35 kuumennettiin öljyhauteessa 180 °C:ssa argonin paineessa

kaksi tuntia, sitten öljyhauteen lämpötila jäähdytettiin n. 100 °C:seen. Reaktioseokseen lisättiin 4 ml vettä ja 3 ml dioksaania. Saatua seosta sekoitettiin 100 °C:ssa 1,5 tuntia ennenkuin sen annettiin jäähtyä ympäristön lämpötilaan. Eetteriä, 20 ml, ja 20 ml vettä lisättiin seokseen. Orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin etyyllieetterillä (20 ml x 2). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin 10 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin vedettömällä MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin. Öljymäinen jäännös altistettiin MPLC erotukselle silikageelillä (etyyliasetatti/n-heksaani: 10 → 20 %, eluenttina) antamaan 252 mg (0,532 mmoolia, 53 %:n saanto) 4-bentsyyli-4-kolesten-3-onia värittömänä viskoosisena öljynä.

Sp: öljymäinen tuote

15 IR (filmi, cm^{-1}): 1667

300MHz ^1H NMR(CDCl_3 , ppm) δ 0,71 (s, 3H, CH_3), 0,87 (d, J = 6,4 Hz, 6H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,92 (d, J = 6,4 Hz, 3H, $-\text{CHCH}_3-$), 1,23 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 0,77 - 1,65 (m, 19H), 1,65 - 1,95 (m, 3H), 1,95 - 2,19 (m, 3H), 2,40 - 2,59 (m, 2H), 2,76 (b leveä d, J = 14,7 Hz, 1H), 3,70 (d, J = 15,4 Hz, 1H), 3,76 (d, J = 15,4 Hz, 1H), 7,09 - 7,30 (m, 5H).c;

Massa (M/Z, FAB): laskettu $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{O}$:lle ($\text{M}^+ + 1$) 475,3940;

Alkuaineanalyysi:

Havaittu: C, 475,3935

25 **Esimerkki 38**

4-bentsyyli-4-kolesten-3 α -olin valmistus

4 α -bentsyyli-4-kolesten-3-oni (213 mg, 0,449 mmoolia) esimerkistä 37 pelkistettiin kuten aikaisemmin on kuvattu käyttäen di-isobutyryylialumiinihydridiä antamaan 21,5 mg (0,0452 mmoolia, 10 %:n saanto) 4 α -bentsyyli-4-kolesten-3 α -olia ja 189 mg (0,397 mmoolia, 88 %:n saanto) 4 α -bentsyyli-4-kolesten-3 β -olia, molemmat värittöminä viskooseina öljyinä.

IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3608

300MHz ^1H NMR(CDCl_3 , ppm) δ 0,65 (s, 3H, CH_3), 0,89 (d, J = 6,6 Hz, 6H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,92 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 0,97 (d, J = 6,5 Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$), 0,68 - 1,65 (m, 25H), 1,71 - 1,86 (m, 2H), 1,95 (leveä d, J = 12,4 Hz), 2,50 (leveä d, J = 14,2 Hz, 1H), 3,50 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,56 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,79 (s, 1H), 6,98 - 7,16 (m, 5H);
 Massa 475 (M^+-1);

Esimerkki 39

4 α -(2-propenylyli)-5-kolesten-3-onin valmistus

10 Seuraten pääosin edeltävässä esimerkissä 37 kuvattuja menetelmiä ja käyttäen allyylibromidia reagoivana aineena, valmistettiin otsikkoyhdiste.

10 %:n saanto; sp. 77 - 78,5 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$);

15 NMR (d_6 -bentseeni) δ 0,58 (s, 3H, metyyli), 0,85 (s, 3H, metyyli), 0,86 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 0,94 (d, J = .4 Hz, 3H), 0,70 - 1,59 (m, 21H), 1,70 - 2,10 (m, 5H), 2,20 - 2,33 (m, 1H), 2,78 - 2,91 (m, 1H), 2,93 - 3,0 (m, 1H), 4,96 - 5,09 (m, 2H); 5,23 - 5,29 (m, 1H); 5,87 - 6,02 (m, 1H);
 MS-FD m/e 424 (M^+);

20 Analyytisesti laskettu $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$:lle:

C, 84,84; H, 11,39

Havaittu: C, 85,09; H, 11,71

Esimerkki 40

4 α -(2-propenylyli)-5-kolesten-3 α -olin valmistus

25 Seuraten pääosin esimerkissä 28 kuvattuja menetelmiä valmistettiin otsikkoyhdiste.

30 %:n saanto;

30 NMR (CDCl_3) δ 0,66 (s, 3H, metyyli), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 1,02 (s, 3H, metyyli), 0,70 - 2,43 (m, 30H), 3,89 (br s, 1H), 4,96 - 5,13 (m, 2H), 5,35 - 5,46 (m, 1H), 5,76 - 5,93 (m, 1H).

Esimerkki 41

4-kolesten-24-N,N-dimetyyliamidi-3-onin valmistus

35 Yhdiste 4 α -kolest-4-en-24-oiinihappo-3-oni valmistettiin pääosin menetelmien mukaisesti, joita ovat kuvan-

neet Miyamoto *et al.* julkaisussa *Synthetic Communications*, 16, nro 5, 513 - 521 (1986) ja Demir *et al.* julkaisussa *Organic Prep. and Proc. International*, 19 (2 - 3), 197 - 208 (1987), jotka on liitetty tähän viitteinä.

5 -5 °C:teista liuosta, jossa oli 4 α -kolest-4-eeni-24-oiinihappo-3-onia (2,5 g, 6,71 mmoolia) kuivassa metyleenikloridissa (20,0 ml), käsiteltiin N-metyylimorfoliinilla (2,58 ml, 23,49 mmoolia), mitä seurasi isobutyyliekloroformiaatti (1,05 ml, 8,1 mmoolia). Suspensiota sekoitettiin 10 minuuttia ja sitten lisättiin N,N-dimetyyliamiini hydrokloridisuolaa (1,1 g, 13,42 mmoolia). Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia ja laimennettiin sitten 40 ml:lla CH₂Cl₂. Reaktioseos suodatettiin piimaakerroksen läpi ja orgaaninen aines pestiin 30 ml:lla tislattua vettä ja sitten suolaliuoksella (30 ml). Kuivattu orgaaninen aines suodatettiin sitten pois ja suodos väkevöitiin antamaan keltainen kiinteä aine, joka flashkromatografoitiin (60-%:inen EtOAc/tolueeni - 80-%:inen EtOAc/tolueeni) antamaan haluttu yhdiste (2,51 g, 6,73 mmoolia, 94 %) kiinteänä aineena. Kiteyttäminen CH₂Cl₂/EtOAc:stä ja heksaanista antoi valkeahkon kiinteän aineen, sp. 173 - 174,5 °C. IR (CHCl₃), 1632, 1047 cm⁻¹);

HNMR (CDCl₃) δ 0,72 (s, 3H, metyyli), 0,95 (d, J = 6,4 Hz, 3H, metyyli), 1,19 (s, 3H, metyyli), 0,74 - 2,5 (m, 25H), 2,9 (br s, 6H), 5,73 (s, 1H, vinyyli);

MS-FD m/e 399 (M⁺);

Analyttisesti laskettu C₂₆H₄₁NO₂:lle:

C, 78,15; H, 10,34; N, 3,51

Havaittu: C, 78,39; H, 10,31; N, 3,71

30 Esimerkki 42

4 α -(2-propenyyl)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3-onin valmistus

4 α -(2-propenyyl)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3-oni (420 mg, 0,95 mmoolia), 38 %, valmistettiin esimerkissä 22 kuvattujen menetelmien avulla 4-kolesten-24-N,N-di-

metyyliamid-3-onista (1,0 g, 2,5 mmoolia), litiumlangasta (38 mg, 5,5 mmoolia), tislatusnestemäisestä ammoniakista (15 ml), tertiaarisesta butyylialkoholista (165 µl, 1,75 mmoolia) ja allyylibromidista (650 µl, 7,5 mmoolia) liuotettuina kuivaan tolueeniin (16 ml) ja kuivaan THF:ään (25 ml) -78 °C:ssa.

38 %:n saanto; sp. 83 - 85 °C.

IR (CHCl₃) 1704, 1631, 1049 cm⁻¹:

¹HNMR (CDCl₃) δ 0,69 (s, 3H, metyyli), 0,94 (d, J = 6,4 Hz, 3H, metyyli), 1,06 (s, 3H, metyyli), 0,71 - 2,56 (m, 29H), 2,98 (br s 6H), 4,95 - 5,06 (m, 2H vinyyli), 5,70 - 5,86 (m, 1H vinyyli);

MS-FD m/e 441 (M⁺);

Analyttisesti laskettu C₂₉H₄₇NO₂:lle:

C, 78,86; H, 10,73; N, 3,17

Havaittu: C, 79,06; H, 10,85; N, 3,10

Esimerkki 43

4α-(2-propenyli)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3α-olin valmistus

4α-(2-propenyli)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3α-oli (92 mg, 0,20 mmoolia, 46 %) valmistettiin esimerkissä 28 kuvattujen menetelmien mukaisesti käyttäen 4α-(2-propenyli)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3-onia (200 mg, 0,45 mmoolia) ja 1,0 M K-selektridiä (1,58 ml, 1,58 mmoolia) kuivassa THF:ssä (2,0 ml) -78 °C:ssa.

53 %:n saanto; sp. 218 - 220 °C (tolueeni);

IR (CHCl₃) 1631, 1052 cm⁻¹;

¹HNMR (CDCl₃) δ 0,66 (s, 3H, metyyli), 0,82 (s, 3H, metyyli), 0,95 (d, J = 6,4 Hz, 3H, metyyli), 0,71 - 2,04 (m, 27H), 2,16 - 2,46 (m, 3H), 2,99 (br s, 6H), 3,91 (br s, 1H), 5,00 - 5,16 (m, 2H, vinyyli), 5,80 - 5,99 (m, 1H, vinyyli);

MS-FD m/e 443 (M⁺+1).

Esimerkki 44**4 α -(2-propenylyli)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamino-3 α -olin valmistus**

Jääkylmää suspensiota, jossa oli litiumalumiinihydridiä (26 mg, 0,69 mmoolia) kuivassa THF:ssä (2,0 ml), käsiteltiin 4 α -(2-propenylyli)-kolaani-24-N,N-dimetyyliamid-3 α -olilla (100 mg, 0,23 mmoolia), liuotettuna kuivaan THF:ään (5,0 ml) ja lisättiin reaktioseokseen putken kautta. Reaktioseosta sekoitettiin yksi tunti 0 °C:ssa, tu-
 10 kahdutettiin 5,0 ml:lla EtOAc, mitä seurasi 2 N NaOH (5,0 ml). Reaktioseosta sekoitettiin voimakkaasti 45 minuuttia, faasit erotettiin ja orgaaniset kerrokset pestiin suolaliuoksella (4,0 ml) ja väkevöitiin tyhjässä antamaan kiinteää aine. Kiinteät aineet puhdistettiin edelleen
 15 flashkromatografisesti (CHCl₃ - 5-%:inen MeOH/CHCl₃ yhdessä 0,45-%:isen NEt₃:n kanssa) antamaan haluttu yhdiste (88 mg, 0,198 mmoolia; 96 %). Kiteyttäminen CH₃CN/CH₂Cl₂:sta antoi valkoisen kiinteän aineen (sp. 146 - 148 °C).
 IR (CHCl₃) 3618 (br), 1049 cm⁻¹;
 20 ¹HNMR (CDCl₃) δ 0,66 (s, 3H, metyyli), 0,82 (s, 3H, metyyli), 0,92 (d, J = 6,4 Hz, 3H, metyyli), 0,70 - 2,04 (m, 27H), 2,23 - 2,53 (m, 3H), 3,91 (br s, 1H), 5,00 - 5,16 (m, 2H vinyyli), 5,80 - 5,98 (m, 1H, vinyyli);
 MS-FD m/e 429 (M⁺+1).

Esimerkki 45**3 α -(isobutyrylioksikarbonyylioksi)-12 α -hydroksi-kolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidin valmistus**

N-metyylimorfoliinia (2,82 ml, 25,6 mmoolia) lisät-
 tiin sekoituksenalaiseen suspensioon, jossa oli deoksiko-
 30 liinihappoa (1,00 g, 2,55 mmoolia) 6 ml:ssa kuivaa CH₂Cl₂ ympäristön lämpötilassa argonin ilmakehässä. Saatu kirkas liuos jäähdytettiin 0 °C:seen jäähauteessa ja käsiteltiin sitten tipoittain isobutyrylikloroformiaatilla (1,02 ml, 7,90 mmoolia) muodostamaan valkoinen suspensio. 45 minuut-
 35 tin kuluttua 0 °C:ssa kiinteää dimetyyliamiini hydroklori-

dia (624 mg, 7,65 mmoolia) lisättiin reaktioseokseen ja reaktioseosta sekoitettiin 0 °C:ssa kaksi lisätuntia. Reaktioseos laimennettiin 40 ml:lla EtOAc ennen kun se suodatettiin lyhyen silikageelikerroksen läpi (EtOAc eluenttina). Suodos, joka sisälsi haluttua amidia, väkevöitiin tyhjössä antamaan valkoinen kiinteä aine, joka puhdistettiin flashkromatografiapylväässä silikageelillä (gradientti EtOAc/n-heksaani: 50 % → 80 %) antamaan 989 mg (1,91 mmoolia, 75 %) valkoista kiinteää ainetta. Uudelleenkiteyttäminen CH₂Cl₂/n-heksaanista antoi valkoisia kiteitä, sp. 156,0 - 157,0 °C.

IR (KBr): 3418 (br), 2941, 2871, 1747, 1632 ja 1256 cm⁻¹
 NMR (300 MHz, CDCl₃): 0,70 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,96 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,00 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 2,10 - 0,85 (m, 26H), 2,30 - 2,16 (m, 1H), 2,47 - 2,33 (m, 1H), 2,96 (s, 3H), 3,03 (s, 3H), 3,91 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 3,99 (br s, 1H), 4,66 - 4,52 (m, 1H);
 Massa (FAB): 520 (M⁺+1), 519 (M⁺).

Seuraten pääosin esimerkissä 45 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkkien 46, 47, 48 ja 49 yhdisteet.

Esimerkki 46

3α-(isobutyrylioksikarbonyylioksi)-kolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidin valmistus

Kaavan molekyylipaino 503,65 C₃₁H₅₅NO₄ ¹H NMR (CDCl₃).

Esimerkki 47

3α-(isobutyrylioksikarbonyylioksi)-7α-hydroksikolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidin valmistus

Saanto 76 % (vaahto).

IR (filmi): 33420 (br), 2940, 2870, 1730, 1630 ja 1255 cm⁻¹
¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): 0,65 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 0,94 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 2,03 - 1,00 (m, 25H), 2,26 - 2,12 (m, 1H), 2,47 - 2,28 (m, 2H), 2,93 (s, 3H), 3,00 (s, 3H), 3,84 (br s, 1H), 3,86 (d, J = 6,7 Hz, 2H) ja 4,50 - 4,36 (m, 1H);

Massa (FAB): 520 (M⁺+1) C₃₁H₅₄NO₅, 520,4002

Havaittu:

520,4001

Esimerkki 48**3 α -(isobutyylioksikarbonyylioksi)-7 α ,12 α -dihydroksi-kolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidin valmistus**

Saanto 57 % (kumi)

- 5 IR (selvä) 3420 (br), 1260, 1250, 780, ja 760 cm⁻¹
¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): 0,71 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,95 (d, J = 6,7 Hz, 6H), 1,01 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 2,07 - 0,90 (m, 23H), 2,32 - 2,13 (m, 2H), 2,50 - 2,32 (m, 2H), 2,95 (s, 3H), 3,03 (s, 3H), 3,96 - 3,76 (m, 1H), 3,89 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 4,05 - 4,96 (m, 1H), ja 4,55 - 4,35 (m, 1H);
 10 Massa (FAB): 536 (M⁺+1), 535 (M⁺).

Esimerkki 49**3 α -(isobutyylioksikarbonyylioksi)-7 β -hydroksi-kolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidin valmistus**

- 15 Saanto 85 %

- ¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): 0,64 (s, 3H), 0,91 (d, J = 6,8 Hz, 9H), 0,92 (s, 3H), 2,00 - 0,80 (m, 26H), 2,24 - 2,10 (m, 1H), 2,39 - 2,26 (m, 1H), 2,90 (s, 3H), 2,98 (s, 3H), 3,60 - 3,45 (m, 1H), (d, J = 6,6 Hz, 2H), 4,56 - 4,42 (m, 1H).
 20

Esimerkki 50**3 α ,12 α -dihydroksi-25-atsakoprostaatin valmistus**

- Litiumalumiinihydridiä (110 mg, 2,89 mmoolia) lisättiin sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli 3 α -(isobutyylioksikarbonyylioksi)-12 α -(hydroksi)kolaani-24-okso-N,N-dimetyyliamidia (300 mg, 0,578 mmoolia) 6 ml:ssa kuivaa THF 0 °C:ssa argonin paineessa. Saatua tummanharmaata suspensiota sekoitettiin 0 °C:ssa kaksi tuntia. Reaktioseosta käsiteltiin tipoittain 2 ml:lla metanolia ja 12 ml:lla 2 N vesipitoista NaOH peräkkäisesti ja sekoitettiin sitten voimakkaasti ympäristön lämpötilassa 30 minuuttia. Seos uutettiin EtOAc/CH₂Cl₂:lla (3/1; 30 ml x 3). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä (30 ml x 3), kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä. Jäännös altistettiin
- 25
30
35

flashkromatografialle pylväässä silikageelillä (gradientti Et₃N/CH₃OH/CH₂Cl₂: 0/10/90 → 5/10/85 → 10/10/80) antamaan 215 mg (0,531 mmoolia) 92 % valkoista kiinteää ainetta. Uudelleenkiteyttäminen CH₂Cl₂/n-heksaanista antoi valkoisia kiteitä, sp. 240 °C (haj.).

Saanto 92 %

IR (KBr) 3418 (br), 2937, 2864 cm⁻¹

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): 0,69 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 2,00 - 1,00 (m, 28H), 2,81 (s, 3H), 2,83 (s, 3H), 3,07 - 2,85 (m, 2H), 3,69 - 3,58 (m, 1H), ja 3,99 (br s, 1H).

Massa (FAB): 406 (M⁺+1), 405 (M⁺).

Esimerkki 51

3α-hydroksi-25-atsakoprostaatin valmistus

IR (KBr): 3379 (br), 1068, 1041 cm⁻¹

¹HNMR (CDCl₃): δ 0,72 (s, 3H, metyyli), 0,79 - 1,00 (m, 6H), 1,01 - 2,00 (m, 30H), 2,4 - 2,63 (m, 7H), 3,53 - 3,70 (m, 1H);

MS-FD, m/e: 389 (M⁺).

Esimerkki 52

3α,7α-dihydroksi-25-atsakoprostaatin valmistus

Saanto 94 %; sp. (CH₃OH/Et₂O): 196,0 °C (haj.)

IR (KBr) 3355 (br), 2939, 2867 cm⁻¹

NMR (300 MHz, CDCl₃): 0,68 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,96 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 2,06 - 0,85 (m, 27H), 2,22 (J = 12,4 Hz, 1H), 2,57 (s, 6H), 2,75 - 2,42 (m, 2H), 3,58 - 3,40 (m, 1H), 3,87 (br. s, 1H)

Massa (FAB): 406 (M⁺+1), 405 (M⁺).

Esimerkki 53

3α,7α,12α-trihydroksi-25-atsakoprostaatin valmistus

Saanto 92 %, sp. (vaahto).

IR (CHCl₃): 3613, 3417 (br), 2945 ja 2867 cm⁻¹

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): 0,70 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 1,01 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 2,40 - 0,98 (m, 29H), 2,23 (s, 6H),

3,55 - 3,40 (m, 1H), 3,90 - 3,82 (m, 1H), ja 4,00 (br s, 1H);

Massa (FAB): laskettu $C_{26}H_{48}NO_3$:lle: 422,3634

Havaittu: 422,3635

5 Alkuaineanalyysi laskettu ($C_{26}H_{47}NO_5 \cdot H_2O$:lle:

C, 71,03; H, 11,23; N, 3,19

Havaittu: C, 70,94; H, 10,93; N, 2,95

Esimerkki 54

3 α ,7 α -dihydroksi-25-atsakoprostaatin valmistus

10 Saanto 83 %; sp. ($CH_3OH/CH_2Cl_2/Et_2O$): 195 °C

IR (KBr): 3413 (br), 2935, 2862 cm^{-1}

NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 0,69 (s, 3H), 0,95 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,96 (s, 3H), 1,98 - 0,95 (m, 27H), 2,02 (br d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 2,38 (br s, 8H, $CH_2N(CH_3)_2$), ja 3,70 - 3,55 (m, 2H);

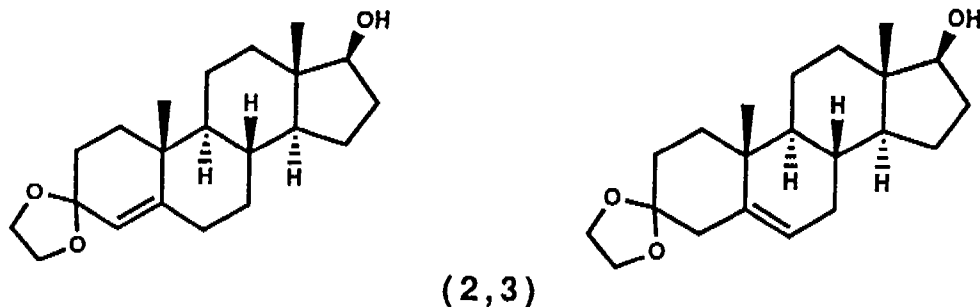
15 Massa (FAB): laskettu $C_{26}H_{48}NO_2$:lle 406,3685

Havaittu: 406,3697

Esimerkki 55

3,3-etyleenidioksi-17- β -pentyylioksikolest-5-eenin valmistus

20

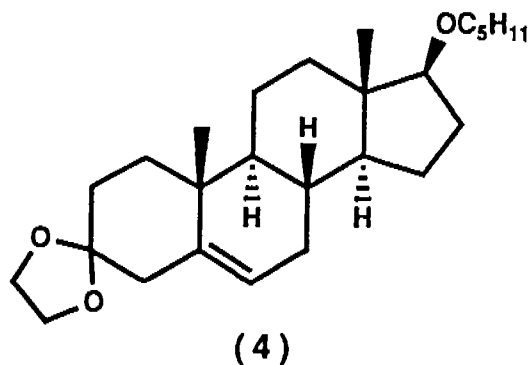


25

30

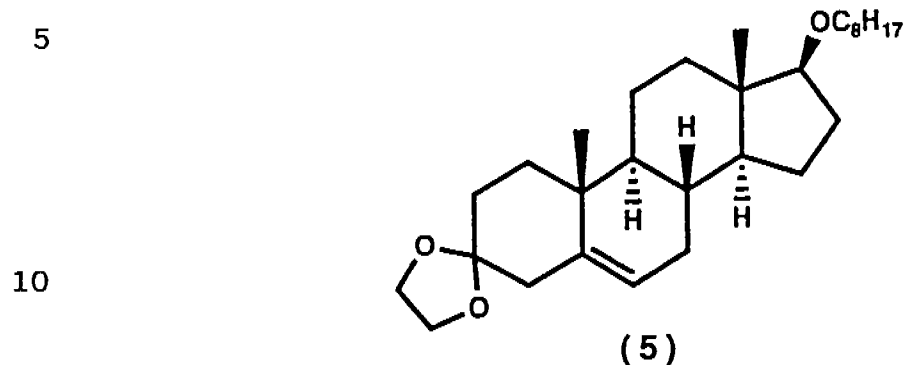
Testosteronia (14 g, 48 mmoolia) sekoitettiin tolu-
eenin (100 ml), etyleeniglykolin (100 ml) ja p-tolueeni-
sulfonihappo monohydraatin (1,4 g, 7 mmoolia) kanssa.
Seosta palautusjäähdytettiin Dean-Stark vesilukolla 8 tun-
tia. Väkevöinti tyhjössä antoi öljyn, joka sekoitettiin
35 EtOAc:n kanssa, pestiin kyllästetyllä $NaHCO_3$ liuoksella,

kuivattiin Na_2SO_4 :llä ja väkevöitiin alennetussa painees-
sa. Jäännös puhdistettiin valmistavalla silikageeli
HPLC:llä (15 - 30 % EtOAc - heksaaneja) antamaan 10,1 g
(62 %) väritöntä öljyä, isomeerien 2 ja 3 4 : 1 seosta,
5 vastaavasti. $^1\text{H-NMR}$



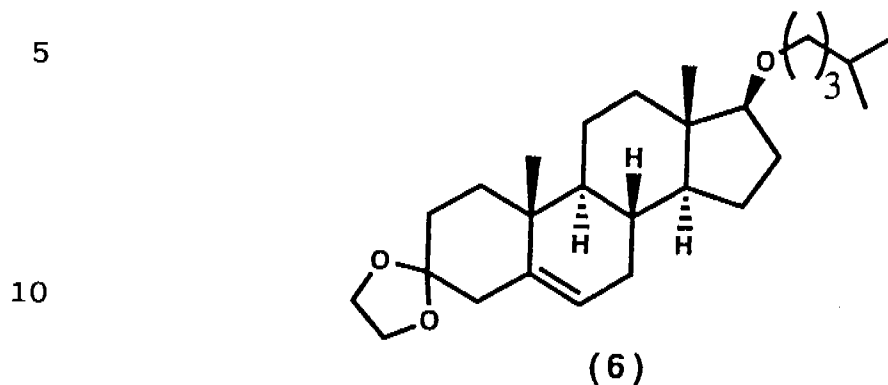
Pulloon, joka sisälsi kaliumhydridiä (0,72 g, 0,18
mmoolia) argonin paineessa, lisättiin kuivaa DMSO:ta
(20 ml). Seosta lämmitettiin varovasti kunnes kaasun muo-
dostuminen päättyi. Tähän lisättiin isomeerien 2 ja 3
liuos (4 g, 12,1 mmoolia) kuivassa THF:ssä (25 ml). Tämä
10 jäähdytettiin 0 °C:seen ennen pentyylibromidin (2,7 g,
18 mmoolia) lisäämistä puhtaana nesteenä, kaikki yhdellä
kertaa. Sekoittamisen jälkeen yön yli ympäristön lämpö-
tilassa reaktioseos kaadettiin veteen ja uutettiin
EtOAc:llä. Uutteet pestiin suolaliuoksella useita kertoja,
25 kuivattiin MgSO_4 :llä ja väkevöitiin sitten alennetussa pai-
neessa antamaan kiinteä aine, joka puhdistettiin flashkro-
matografisesti (SiO_2 , 10 - 50-%:inen EtOAc - heksaaneja)
antamaan 1,89 g lähtöainetta ja 1,42 g (55 %) yhdistet-
tä 4. $^1\text{H-NMR}$

Esimerkki 56

3,3-etyleenidioksi-17 β -oktyylioksikolest-5-eenin valmistus

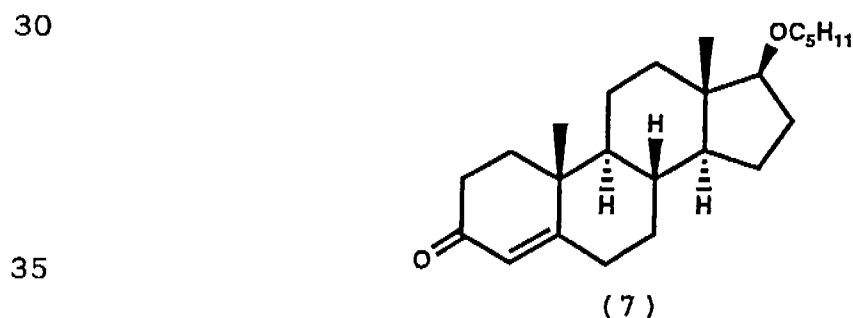
Natriumhydridiin (3 g, 76 mmoolia, 60-%:inen öljy-
dispersio), joka oli pesty heksaaneilla argonin paineessa,
15 lisättiin kuivaa DMSO:ta (50 ml). Seosta lämmitettiin
80 °C:ssa kunnes kaasun kehittyminen päättyi. Jäähdytet-
tiin 10 °C:seen ja lisättiin isomeerien 2 ja 3 liuos, joka
oli valmistettu esimerkin 55, osan A mukaisesti kuivassa
THF:ssä (60 ml). Oktyylibromidia (7,34 g, 38 mmoolia, jon-
20 ka oli annettu kulkea neutraalin alumiinioksidin läpi)
lisättiin. Kylmähaude poistettiin ja reaktioseosta sekoi-
tettiin ympäristön lämpötilassa yön yli. Reaktioseos tu-
kahdutettiin H₂O:lla, uutettiin EtOAc:llä, orgaaninen ker-
ros pestiin suolaliuoksella useita kertoja ja kuivattiin
25 MgSO₄:llä, väkevöitiin sitten alennetussa paineessa kiin-
teäksi aineeksi, joka kromatografoitiin (SiO₂, 10 - 15 %
EtOAc - heksaaneja) antamaan 1,89 g yhdistettä 5 valkoi-
sena kiinteänä aineena. ¹H-NMR.

Esimerkki 57

3,3-etyleenidioksi-17 β -(4-metyylipentyylioksi)-
kolest-5-eenin valmistus

Pulloon, joka sisälsi kaliumhydridiä (2 g, 50,6 mmoolia) ja kuivaa THF (20 ml) argonin paineessa, lisät-
 15 tiin isomeerien 2 ja 3 liuos, joka oli valmistettu esimer-
 kin 55, osan A mukaisesti THF:ssä (30 ml). Seos laimen-
 nettiin DMF:llä (10 ml) ja jäähdytettiin 0 °C:seen ennen
 1-bromi-4-metyylipentaanin (8,34 g, 50,6 mmoolia) lisää-
 mistä tipoittain ja kylmähaude poistettiin. Kahden tunnin
 20 sekoittamisen jälkeen ympäristön lämpötilassa reaktio tu-
 kahdutettiin H₂O:lla ja uutettiin EtOAc:llä. Orgaaniset uut-
 teet pestiin suolaliuoksella ja väkevöitiin sitten alenne-
 tussa paineessa. Saatu kiinteä aine puhdistettiin flash-
 kromatografisesti (SiO₂, 2,5 - 5 % EtOAc - heksaaneja) an-
 25 tamaan 3,65 g (87 %) yhdistettä 6 kiinteänä aineena.
¹H-NMR, IR, MS. Analyysi (C₂₇H₄₄O₃) C, H, N.

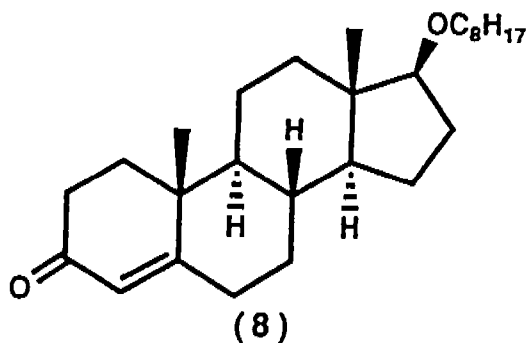
Esimerkki 58

17 β -pentyylioksi-4-kolesten-3-onin valmistus

Esimerkin 55, osan B yhdiste, joka oli valmistettu
 esimerkissä 55 kuvattujen menetelmien mukaisesti (4,22 g,
 10,5 mmoolia) sekoitettiin etikkahapon (66 ml), $H_2O:n$
 (33 ml) ja THF:n (50 ml) kanssa. Saatua seosta kuumennet-
 tiin 80 °C:ssa kolme tuntia, väkevöitiin tyhjössä, sekoi-
 tettiin tolueenin kanssa ja väkevöitiin uudestaan alen-
 netussa paineessa. Jäännös puhdistettiin flashkromatogra-
 fisesti (SiO_2 , 10 - 15 % EtOAc - heksaaneja) antamaan 3,6 g
 lähtöainetta ja 8,1 g (87 %) yhdistettä 7 valkoisena kiin-
 teänä aineena; ^1H-NMR .

Esimerkki 59

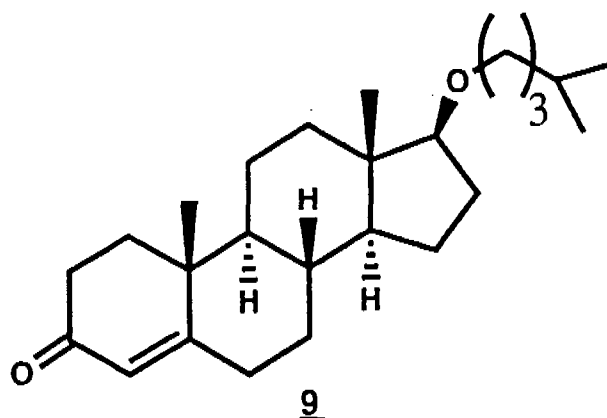
17 β -oktyylioksi-4-kolesten-3-onin valmistus



Esimerkin 56 yhdiste, joka oli valmistettu siinä
 kuvattujen menetelmien mukaisesti (7,6 g, 17,1 mmoolia)
 sekoitettiin etikkahapon (75 ml), $H_2O:n$ (25 ml) ja THF:n
 (50 ml) kanssa. Saatua seosta kuumennettiin 80 °C:ssa vii-
 si tuntia, väkevöitiin tyhjössä, sekoitettiin tolueenin
 kanssa ja väkevöitiin uudestaan alennetussa paineessa.
 Jäännös puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO_2 , 15 %
 EtOAc - heksaaneja) antamaan 6 g (87 %) yhdistettä 8 vä-
 rittömänä öljynä.

Esimerkki 60

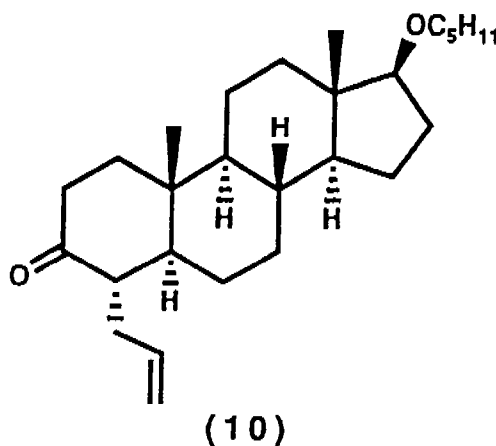
17 β -(4-metyylipentyylioksi)-4-kolesten-3-onin valmistus



Otsikkoyhdiste valmistettiin pääosin seuraten esimerkissä 59 kuvattuja menetelmiä. (87 %). $^1\text{H-NMR}$, IR, MS. Anal. ($\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$) C, H, N.

Esimerkki 61

4 α -(2-propenylyli)-17 β -pentyylioksikolestan-3-onin valmistus

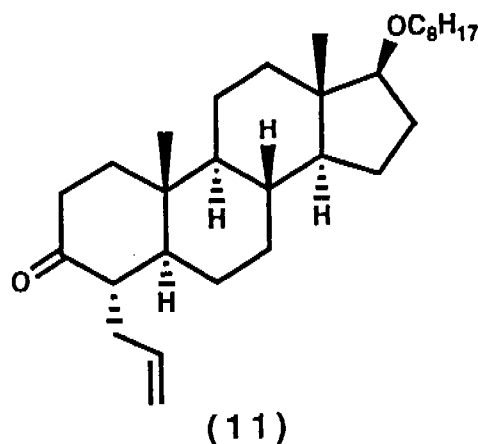


Ammoniakkia (35 ml) kondensoitiin pulloon, joka sisälsi litiummetallia (0,2 g, 29 mmoolia) argonin paineessa, upottamalla se hiilihappojää/asetonihauteeseen. Jäähdyttämistä jatkettiin sekoittaen 10 minuuttia ennen kuivan THF:n (10 ml) lisäämistä, mitä seurasi liuos, jossa

oli esimerkin 58 yhdistettä (3,44 g, 10 mmoolia) ja H₂O:ta (130 µl, 8 mmoolia) THF:ssä (15 ml). Kylmähaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin 10 minuuttia. Isopreeniä (2 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin viisi minuuttia ja
 5 jäähdytettiin sitten uudestaan -78 °C:seen. Allyylibromidia (3,6 g, 30 mmoolia) lisättiin ja sekoittamista jatkettiin 7 minuuttia ennen tukahduttamista NH₄Cl:llä (2 g, 37 mmoolia) ja H₂O:lla (10 ml). Orgaaniset aineet uutettiin EtOAc:llä, kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa öljyksi, joka puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 10 - 15 % EtOAc - heksaaneja) antamaan
 10 0,94 g (24 %) yhdistettä 10 öljynä. ¹H-NMR

Esimerkki 62

4α-(2-propenylyli)-17β-oktyylioksikolestan-3-onin valmistus
 15

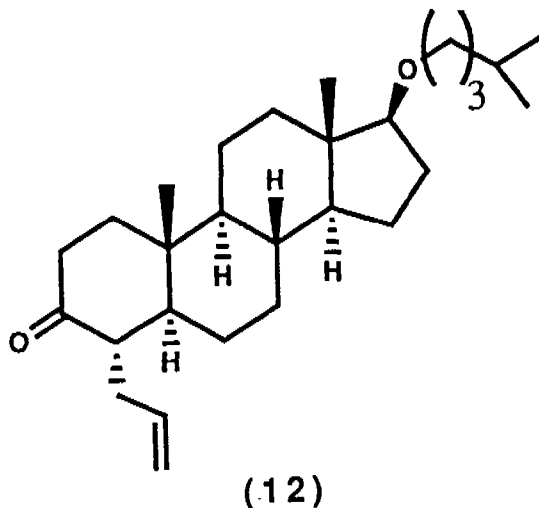


Ammoniakkia (25 ml) kondensoitiin pulloon, joka sisälsi litiummetallia (0,3 g, 44,2 mmoolia) argonin paineessa, upottamalla se hiilihappojää/asetonihauteeseen. Jäähdyttämistä jatkettiin sekoittaen 10 minuuttia ennen kuivan THF:n (20 ml) lisäämistä, mitä seurasi liuos, jossa oli esimerkin 59 yhdistettä (5,9 g, 15 mmoolia) ja H₂O (270 µl, 15 mmoolia) THF:ssä (20 ml). Kylmähaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin 15 minuuttia. Isopreeniä (2 ml) lisättiin ja reaktioseosta sekoitettiin 10 minuut-

tia ja jäähdytettiin sitten uudestaan -78°C :seen. Allylibromidia (9,1 g, 75 mmoolia) lisättiin ja sekoittamista jatkettiin 8 minuuttia ennen tukahduttamista NH_4Cl :llä (5 g, 94 mmoolia) ja H_2O :lla (10 ml). Suolaliuosta lisättiin ja orgaaniset aineet uutettiin EtOAc :llä, kuivattiin MgSO_4 :llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa öljyksi, joka puhdistettiin valmistavalla silikageeli HPLC:llä (5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 1,72 g (26 %) yhdistettä 11 öljynä; $^1\text{H-NMR}$.

Esimerkki 63

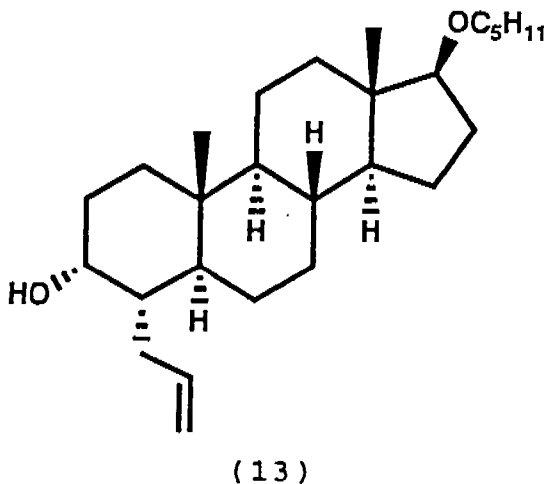
4α -(2-propenylyli)- 17β -(4-metyylipentyylioksi)kolestan-3-onin valmistus



Seuraten pääosin esimerkissä 61 kuvattuja menetelmiä valmistettiin otsikkoyhdiste (saanto: 42 %).

Esimerkki 64

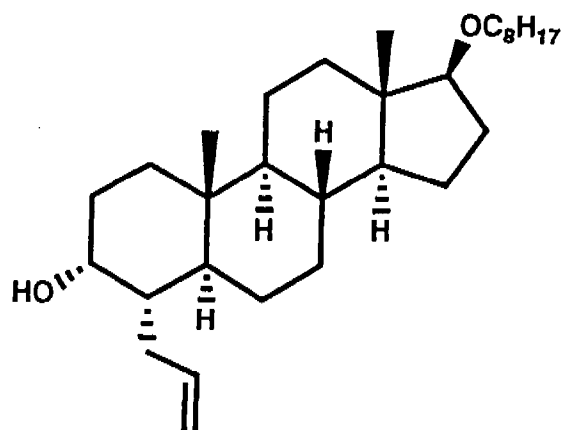
($3\alpha, 4\alpha, 5\alpha$)- 17 -(pentyylioksi)- 4 -(2-propenylyli)androstan- 3 -olin valmistus



- Liuokseen, jossa oli esimerkin 61 yhdistettä
 (400 mg, 1 mmooli) kuivassa THF:ssä (30 ml) argonin paineessa 78 °C:ssa, lisättiin K-selektridiä (2 ml, 2 mmoolia, 1 M THF:ssä) tipoittain. Kylmähaude poistettiin ja
 5 reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yön yli. Jäähdytettiin jäähauteessa, tukahdutettiin sitten H₂O:lla (0,18 ml), EtOH:lla (0,68 ml), 30-%:isella H₂O₂:lla (0,68 ml) ja 5 N NaOH:lla (0,5 ml), väkevöitiin tyhjässä ja jäännös sekoitettiin EtOAc:n ja suolaliuoksen kanssa.
 10 Orgaaninen kerros kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa öljyksi, joka puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 196 mg (24 %) yhdistettä 13 valkoisena kiinteänä aineena, sp. 74 - 75 °C; ¹H-NMR, IR, MS.
 15 Anal. (C₂₇H₄₆O₂) C, H, N.

Esimerkki 65

(3 α ,4 α ,5 α)-17-(oktyylioksi)-4-(2-propenylyli)androstan-3-olin valmistus



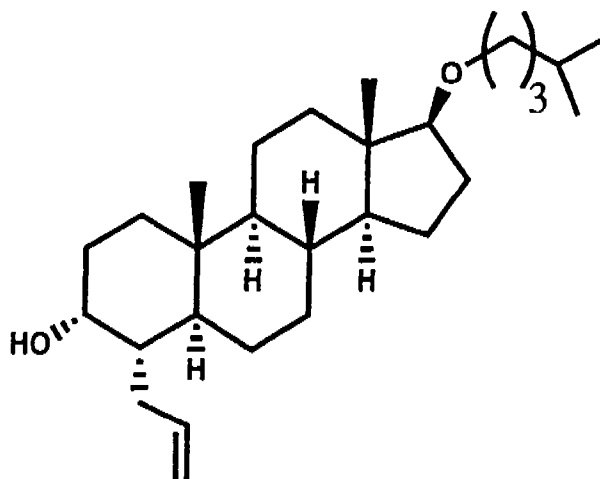
(14)

- 30 Liuokseen, jossa oli esimerkin 62 yhdistettä (0,6 g, 1,4 mmoolia) THF:ssä (10 ml) ja EtOH:ssa (10 ml) huoneenlämpötilassa, lisättiin NaBH₄ (0,1 g, 2,8 mmoolia). Kahden tunnin sekoittamisen jälkeen reaktio tukahdutettiin 1 N HCl:llä (3 ml) ja väkevöitiin sitten tyhjässä. Saatu
 35 kiinteä aine jaettiin 2 N NaOH:n ja EtOAc:n kesken. Orgaa-

ninen kerros kuivattiin MgSO_4 :llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan öljy, joka puhdistettiin flash-kromatografisesti (SiO_2 , 10-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 118 mg haluttua isomeeriä 14 (20 %), sp. 57 - 60 °C. Anal. ($\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_2$) C, H, N. Otettiin talteen myös 340 mg ekvatoriaalista isomeeriä, 3B-olia, sp. 103 - 105 °C. Anal. ($\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_2$) C, H, N.

Esimerkki 66

(3 α ,4 α)-17-[(4-metyylipentyyli)oksi]-4-(2-propenyli)androstan-3-olin valmistus

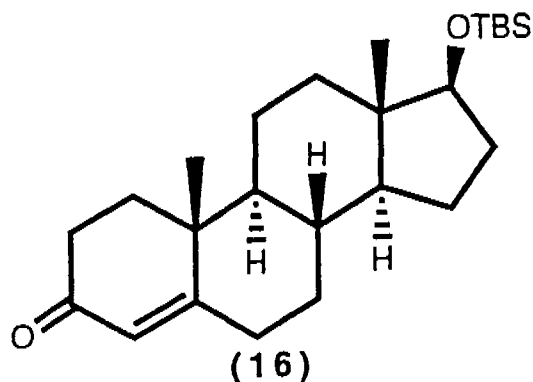


(15)

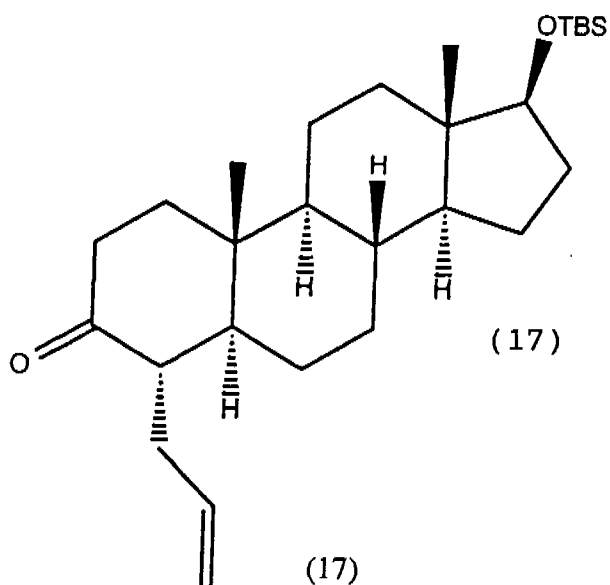
Seuraten pääosin esimerkissä 64 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin otsikkoyhdiste (saanto: 87 %), sp. 68 - 71 °C. ^1H -NMR, IR, MS. ($\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_2$).

Esimerkki 67

(3 α ,4 α)-17-(3-fenyylipropoksi)-4-(2-propenylyli)androstan-3-olin valmistus

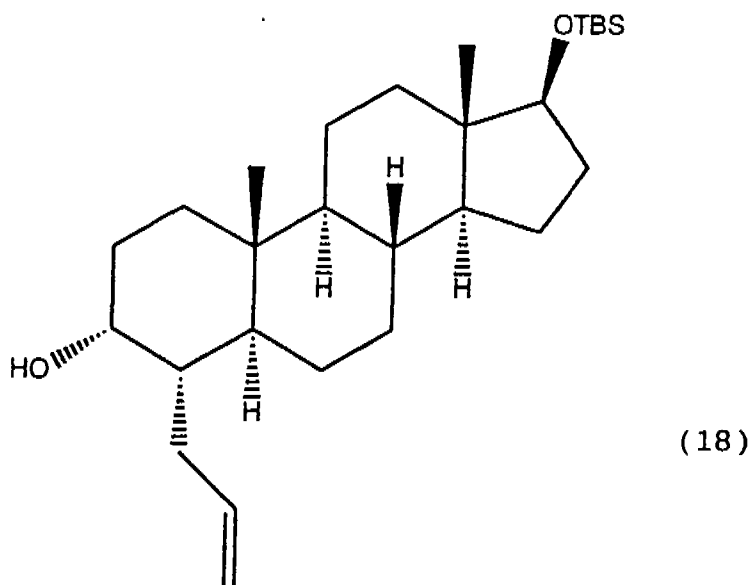


Testosteronia (22,38 g, 77,6 mmoolia), imidatsolia (13,2 g, 194 mmoolia) ja t-butyylidimetyylisilyyli (TBS) kloridia (17,6 g, 117 mmoolia) yhdistettiin kuivan DMF:n (150 ml) kanssa ja seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. Reaktioseos tukahdutettiin H₂O:lla ja uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin H₂O:lla kolme kertaa ja suolaliuoksella kolme kertaa, kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan 30,5 g (>100 %) yhdistettä 16, jota käytettiin ilman jatkopuhdistusta.



B.

Ammoniakkia (25 ml) kondensoitiin pulloon, joka sisälsi litiummetallia (1,2 g, 167 mmoolia) argonin paineessa upottamalla se hiilihapojää/asetonihauteeseen. Kuivaa THF (50 ml) lisättiin ja jäähdyttämistä jatkettiin sekoittaen viisi minuuttia ennen liuoksen lisäämistä, jossa oli yhdistettä 16 (30,5 g, 75,9 mmoolia) ja t-butanolia (5,7 ml, 61 mmoolia) THF:ssä (125 ml). Kylmähaude poistettiin ja reaktioseosta sekoitettiin viisi minuuttia. Allylibromidia (29 g, 239 mmoolia) lisättiin, mitä seurasi isopreeni (10 ml) ja sekoittamista jatkettiin 30 minuuttia. Reaktioseos tukahdutettiin NH_4Cl :llä (10 g, 187 mmoolia) ja H_2O :lla ja uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros kuivattiin MgSO_4 :llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa öljyksi, joka puhdistettiin valmistavalla silikageeli HPLC:llä (2-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 15,5 g (35 %) haluttua yhdistettä (17) öljynä; $^1\text{H-NMR}$.



C. (18)

Liuokseen, jossa oli yhdistettä 17 (15 g, 34 mmoolia) kuivassa THF:ssä (60 ml) argonin paineessa $-78\text{ }^\circ\text{C}$:ssa, lisättiin K-selektridiä (68 ml, 68 mmoolia, 1 M THF:ssä) tipoittain. Kylmähaude poistettiin ja reak-

10

15

20

25

30

35

The chemical structure shows a steroid nucleus with several substituents: a THPO group at C-3 (dashed bond), a vinyl group at C-4 (dashed bond), a methyl group at C-10 (wedged bond), a hydrogen at C-13 (wedged bond), a hydrogen at C-14 (dashed bond), a hydrogen at C-15 (wedged bond), a methyl group at C-13 (wedged bond), and a hydroxyl group at C-14 (wedged bond).

(19)

D.

Liuokseen, jossa oli yhdistettä 18 (10 g, 22,4 mmoolia) CH_2Cl_2 :ssa (50 ml), lisättiin 3,4-dihydro-2H-py-raania (5,7 g, 67,3 mmoolia) ja pyridiini p-tolueenisul-fonaattia (0,6 g, 2,4 mmoolia) ja reaktioseosta sekoitet-tiin huoneenlämpötilassa yön yli. Seos väkevöitiin alenne-tussa paineessa ja jaettiin EtOAc:n ja H_2O :n kesken. Or-gaaninen kerros pestiin H_2O :lla ja sitten suolaliuoksella,

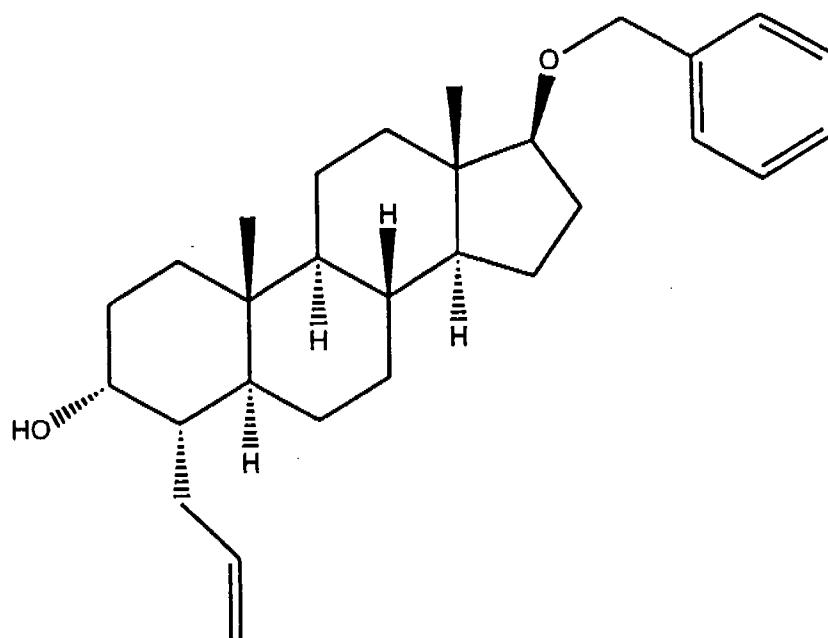
[illegible]

Pulloon, joka sisälsi kaliumhydridiä (96 mg, 2,5 mmoolia) ja kuivaa THF (5 ml) argonin paineessa, lisättiin liuos, jossa oli yhdistettä 19 THF:ssä (10 ml). Tämä seos jäähdytettiin 0 °C:seen ja laimennettiin DMF:llä (3 ml) ennen 1-bromi-3-fenyylipropanin (0,48 g, 2,5 mmoolia) lisäämistä puhtaana nesteenä, kaikki yhdellä kertaa. Kylmähaude poistettiin. Sekoittamisen jälkeen yön yli ympäristön lämpötilassa reaktio tukahdutettiin H₂O:lla ja

uutettiin EtOAc:llä. Uutteet pestiin suolaliuoksella ja väkevöitiin sitten alennetussa paineessa. Saatu öljy sekoitettiin etikkahapon (5 ml), H₂O:n (2 ml) ja THF:n (5 ml) kanssa. Tätä seosta kuumennettiin 80 °C:ssa yön yli ja väkevöitiin sitten alennetussa paineessa. Jäännös puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 150 mg (86 %) yhdistettä 20 kiinteänä aineena, sp. 108 - 109 °C. ¹H-NMR, IR, MS. (C₃₁H₄₆O₂).

Esimerkki 68

(3α,4α)-17-(fenyyli-metoksi)-4-(2-propenyyl)-antros-tan-3-olin valmistus

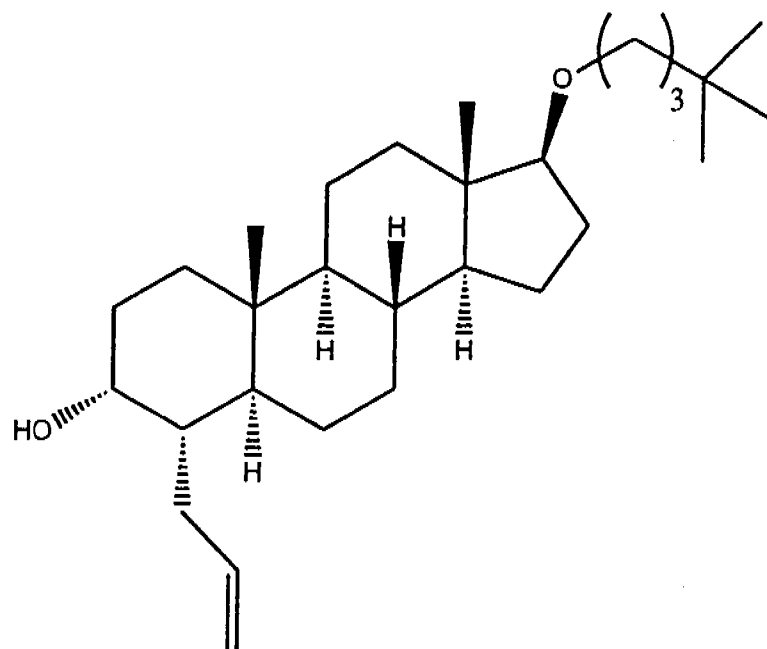


(21)

Seuraten pääosin esimerkin 67 menetelmiä valmistettiin otsikkoyhdiste. (Saanto: 62 %), sp. 146 - 147 °C. ¹H-NMR, IR, MS. Anal. (C₂₉H₄₂O₂) C, H, N.

Esimerkki 69

(3 α ,4 α)-17-[(4,4-dimetyylipentyyli)oksi]-4-(2-propenyli)-androstan-3-olin valmistus

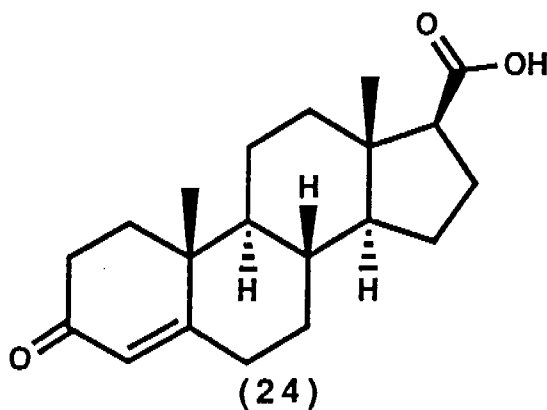


(22)

Seuraten pääosin esimerkin 67 menetelmiä valmistettiin otsikkoyhdiste (saanto: 98 %), sp. 139 - 141 °C. ¹H-NMR, IR, MS. Anal. (C₂₉H₅₀O₂) C, H, N

Esimerkki 70

(3 α ,4 α)-17-(butoksimetyyli)-4-(2-propenyli)andros-
tan-3-olin valmistus



(24)

A.

Bromia (18 g, 113 mmoolia) lisättiin tipoittain liuokseen, jossa oli NaOH:ta (33,3 g, 832 mmoolia) H₂O:ssa (300 ml) -5 °C:ssa. Seosta sekoitettiin 15 minuuttia -5 °C:ssa ja laimennettiin sitten kylmällä (12 °C) dioksaanilla. Saatua liuos lisättiin välittömästi sekoitus-

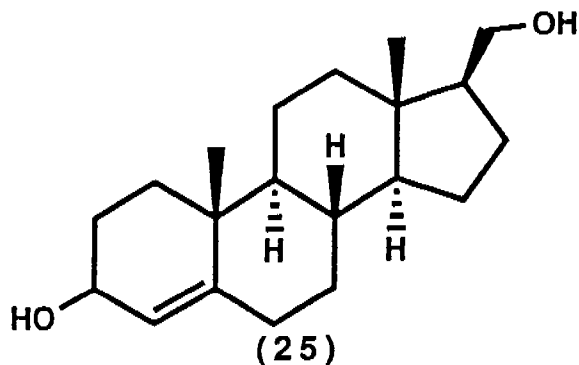
5 senalaiseen seokseen, jossa oli progesteronia (20 g, 64 mmoolia), dioksaania (1,1 l) ja H₂O (310 ml) 8 °C:ssa. Neljän tunnin sekoittamisen jälkeen, pitäen lämpötila alle 10 °C, seos kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilaan ja liuos, jossa oli Na₂SO₃ (10 g, 79 mmoolia) H₂O:ssa (100 ml) lisättiin. Seos neutraloitiin väkevällä HCl:llä (50 ml),

10 jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja uutettiin EtOAc:llä. Uutteet väkevöitiin tyhjiössä ja jaettiin 1,4 N NaOH:n (550 ml) ja EtOAc:n kesken. Vesipitoinen kerros pestiin

15 EtOAc:llä, tehtiin happamaksi väkevällä HCl:llä ja uutettiin EtOAc:llä. Uutteet kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan 17,68 g yhdistettä 24 valkeahkona kiinteänä aineena (88 %); ¹H-NMR.

20

25



B.

30

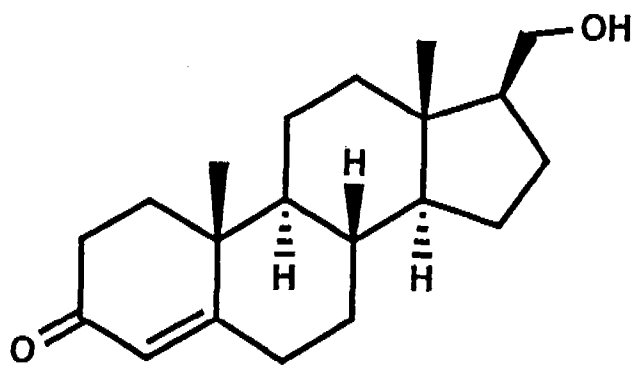
35

Red-Al:ia (81 ml, 275 mmoolia, 3,4 M tolueenissa) lisättiin tipoittain liuokseen, jossa oli yhdistettä 24 (14,69 g, 46 mmoolia) THF:ssä (500 ml) argonin paineessa 0 °C:ssa. Kylmähaude poistettiin. Sekoittamisen jälkeen ympäristön lämpötilassa kaksi tuntia reaktio tukahdutet-

tiin lisäämällä 1 N HCl (600 ml) tipoittain. Sitten se uutettiin EtOAc:llä useita kertoja. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset kuivattiin Na_2SO_4 :llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan 13,64 g (98 %) kiinteää ainetta; ^1H -NMR.

5

10



C.

(26)

15

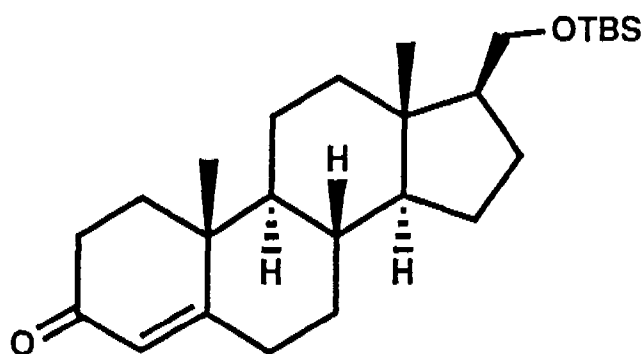
Seokseen, jossa oli yhdistettä 25 (13,3 g, 44 mmoolia) ja CHCl_3 (500 ml), lisättiin MnO_2 (66,5 g, 0,74 mmoolia). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli huoneenlämpötilassa ja väkevöitiin sitten puoleen alkuperäisestä tilavuudestaan alennetussa paineessa käyttäen 55°C :teista vesihaudetta. Seos suodatettiin piimaan läpi ja väkevöitiin antamaan 13,3 g (kvantitatiivinen) yhdistettä 26; ^1H -NMR.

20

25

30

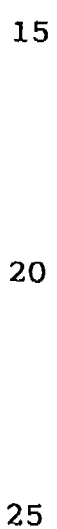
35



D.

(27)

5
10



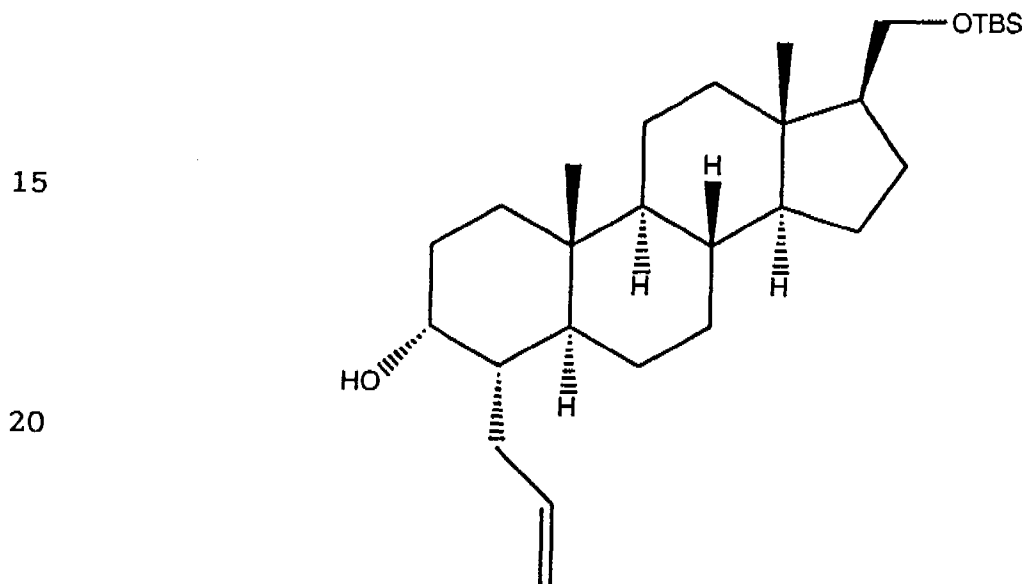
30

35

Ammoniakkia (25 ml) kondensoitiin pulloon, joka sisälsi litiummetallia (0,42 g, 61,3 mmoolia) argonin paineessa, upottamalla se hiilihappojää/asetonihauteeseen. Jäähdyttämistä jatkettiin sekoittaen 10 minuuttia ennen kuivan THF:n (20 ml) lisäämistä, mitä seurasi liuos, jossa oli yhdistettä 27 (10,2 g, 24,5 mmoolia) ja t-butanolia (1,4 ml, 14,7 mmoolia) THF:ssä (20 ml). Kylmähaude poistettiin ja reaktioseosta sekoitettiin 10 minuuttia. Reak-

tioseos jäädytettiin -78 °C:seen ja isopreeniä (5 ml) lisättiin. Reaktioseosta sekoitettiin 10 minuttia ennen allyylibromidin (8,9 g, 74 mmoolia) lisäämistä. Sekoittamista jatkettiin 15 minuuttia ja tukahdutettiin sitten NH₄Cl:llä (10 g, 187 mmoolia) ja H₂O:lla ja uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan öljy, joka puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 2,5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 2,14 g (19 %) yhdistettä 28 öljynä.

¹H-NMR



F.

(29)

(3α,4α)-17-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]metyyli]-4-(2-propenylyli)androstan-3-oli

Liuokseen, jossa oli yhdistettä 28 (2 g, 4,4 mmoolia) kuivassa THF:ssä (20 ml) argonin paineessa -78 °C:ssa, lisättiin K-selektridiä (2 ml, 2 mmoolia, 1 M THF:ssä) tipoittain. Kylmähaude poistettiin ja reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 36 tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen jäähauteessa reaktioseos tukahdutettiin 5 N NaOH:lla (3 ml) ja 30-%:isella H₂O₂:lla (3 ml).

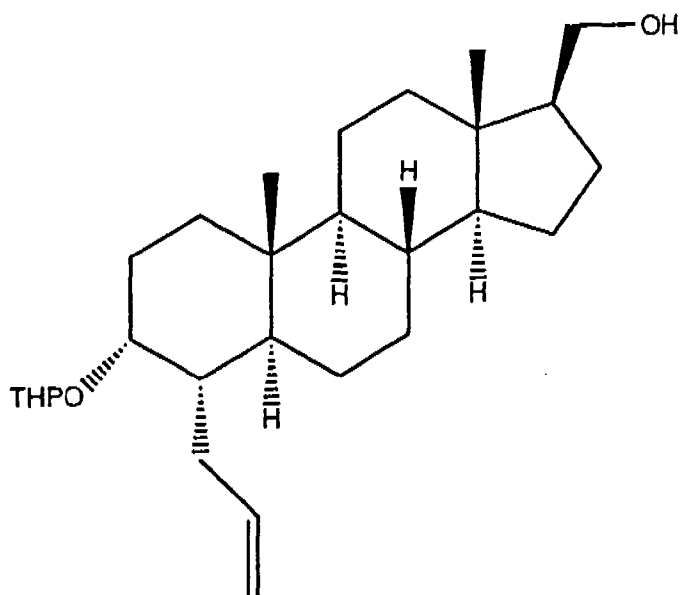
Kylmähaude poistettiin ja reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yksi tunti. Reaktioseos väkevöitiin alennetussa paineessa, sekoitettiin suolaliuoksen kanssa ja uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros kuivattiin
 5 MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan öljy, joka puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 1,09 g (54 %) yhdistettä 29 valkoisena kiinteänä aineena, sp. 160 - 161 °C.

10

15

20

G.



(30)

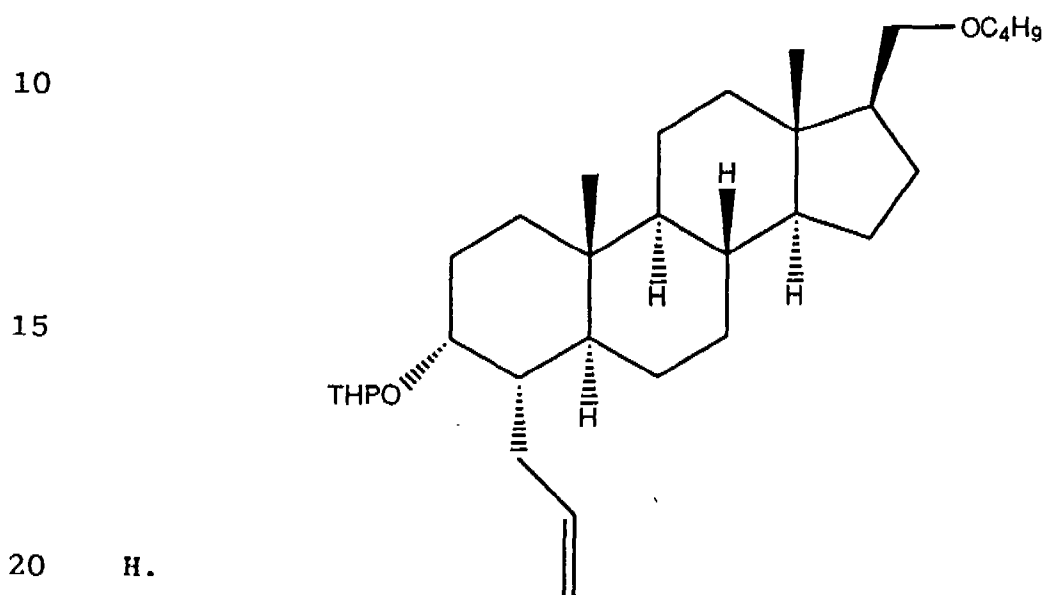
25

30

35

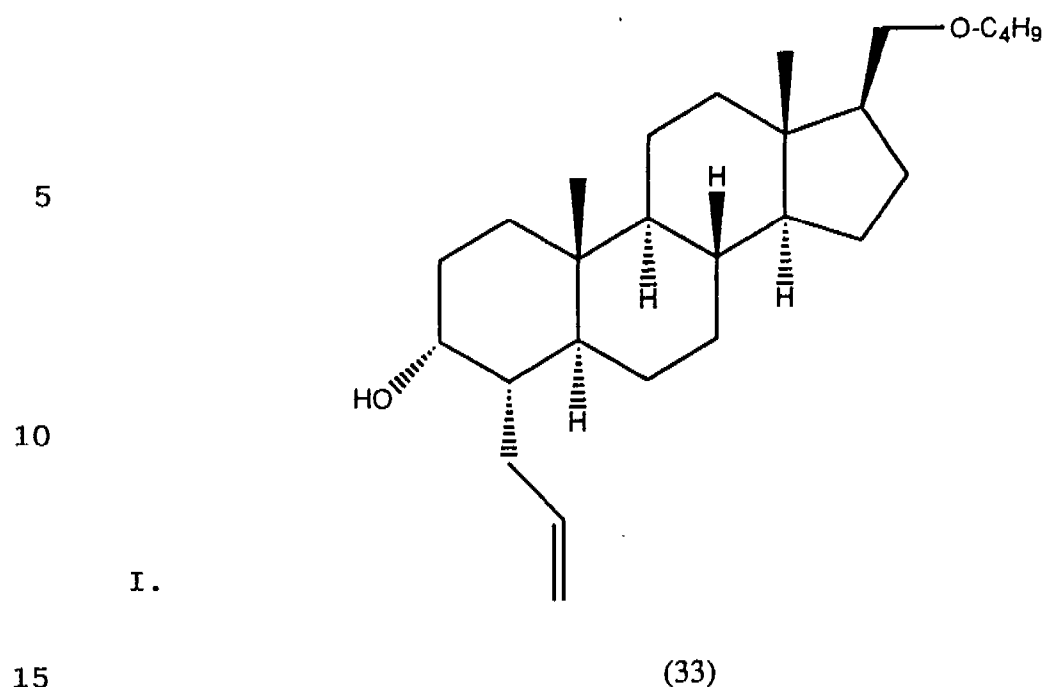
Liuokseen, jossa oli yhdistettä 29 (1 g, 2,2 mmoolia) CH₂Cl₂:ssa (30 ml), lisättiin 3,4-dihydro-2H-pyraania (0,6 g, 6,6 mmoolia) ja pyridiini p-tolueenisulfonaattia (55 mg, 0,22 mmoolia). Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli, väkevöitiin alennetussa paineessa ja jaettiin EtOAc:n ja H₂O:n kesken. Orgaaninen kerros pestiin H₂O:lla ja suolaliuoksella ja kuivattiin sitten MgSO₄:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa. Jäännös sekoitettiin THF:n (25 ml) kanssa ja käsiteltiin tetra-n-butyylammoniumfluoridilla (11 ml, 11 mmoolia, 1 M THF:ssä) huoneenlämpötilassa kaksi tuntia. Reaktioseos väkevöitiin alenne-

tussa paineessa, sekoitettiin EtOAc/heksaanien (1/1) kanssa ja pestiin H_2O :lla useita kertoja. Orgaaninen kerros kuivattiin $MgSO_4$:llä ja väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan öljy, joka puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 10 - 15-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 0,9 g (95 %) yhdistettä 30 öljynä. (THP on tetrahydropyran-4-yyli) ¹H-NMR



(31)

25 Pulloon, jossa oli kaliumhydridiä (0,19 g, 4,75 mmoolia) ja kuivaa THF (5 ml) argonin paineessa, lisättiin liuos, jossa oli yhdistettä 30 THF:ssä (5 ml). Tämä seos jäähdytettiin 0 °C:seen ennen butyylibromidin (0,64 g, 4,6 mmoolia) lisäämistä puhtaana nesteenä, kaikki yhdellä kertaa, ja poistettiin kylmähauteesta. Yhden tunnin sekoittamisen jälkeen ympäristön lämpötilassa reaktioseos tukahdutettiin suolaliuoksella ja uutettiin EtOAc:llä. Uutteet pestiin suolaliuoksella, kuivattiin $MgSO_4$:llä ja väkevöitiin sitten alennetussa paineessa. Saatu öljy puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 2,5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 355 mg (81 %) yhdistettä 31.

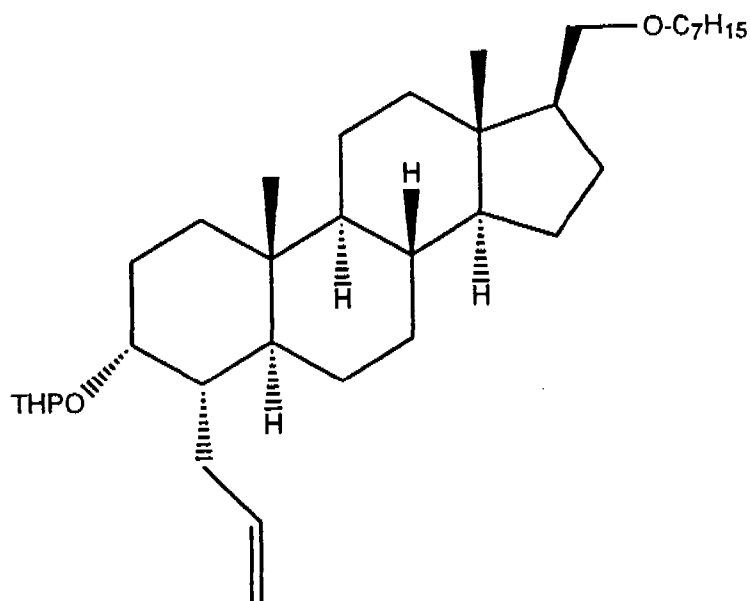


(3 α ,4 α)-17-(butoksimetyyli)-4-(2-propenyyli)andros-
tan-3-oli

20 Vältuote 31 (300 mg, 0,6 mmoolia) sekoitettiin
etikkahapon (4 ml), H₂O:n (1 ml) ja THF:n (1 ml) kanssa.
Seosta kuumennettiin 60 °C:ssa neljä tuntia ja väkevöitiin
sitten alennetussa paineessa. Jäännös puhdistettiin flash-
kromatografisesti (SiO₂, 1-%:inen EtOAc - heksaaneja) an-
tamaan 198 mg (82 %) yhdistettä 33 kiinteänä aineena, sp.
25 96 - 98 °C. ¹H-NMR, IR, MS. Anal. (C₂₇H₄₆O₂ . 0,22 H₂O)
C, H, N.

Esimerkki 71

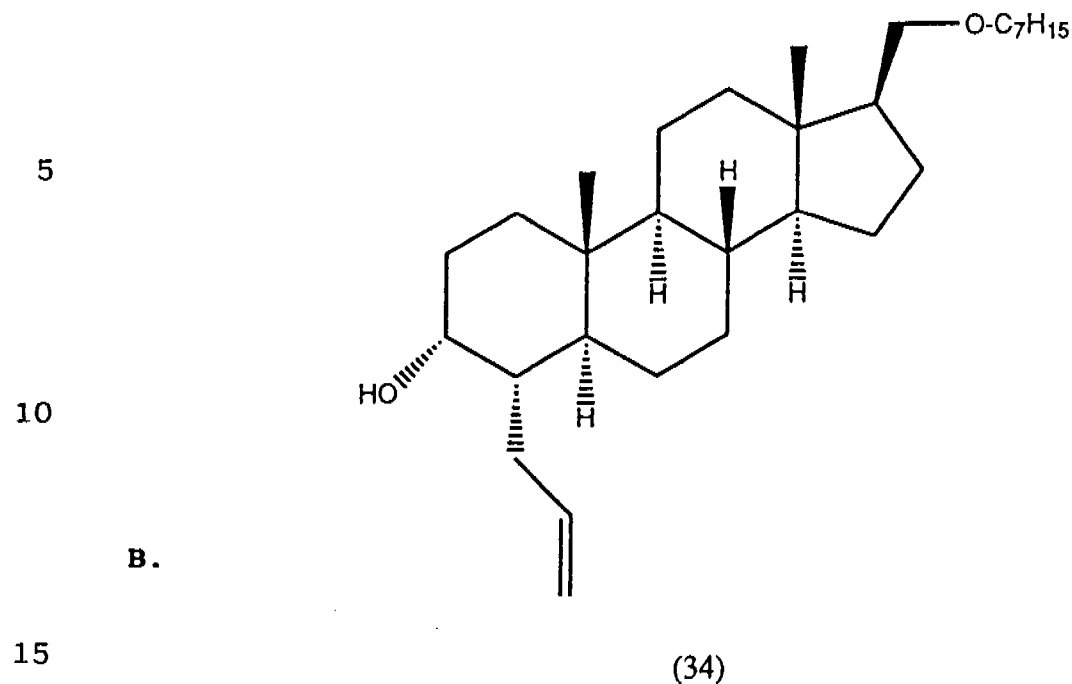
(3 α ,4 α)-17-[(heptyylioksi)metyyli]-4-(2-propenyyl-)androstan-3-olin valmistus



A.

(32)

Pulloon, joka sisälsi kaliumhydridiä (0,19 g, 4,75 mmoolia) ja kuivaa THF (10 ml) argonin paineessa, lisättiin liuos, jossa oli yhdistettä 30, joka oli valmistettu esimerkissä 70, A - G, kuvattujen menetelmien mukaisesti, THF:ssä (10 ml). Tämä seos jäähdytettiin 0 °C:seen ja laimennettiin DMF:llä (5 ml) ennen heptyyllibromidin (0,83 g, 4,6 mmoolia) lisäämistä puhtaana liuoksena, kaikki yhdellä kertaa. Kylmähaude poistettiin. 48 tunnin sekoittamisen jälkeen ympäristön lämpötilassa reaktioseos tukahdutettiin suolaliuoksella ja uutettiin EtOAc:llä. Uutteet pestiin suolaliuoksella, kuivattiin MgSO₄:llä ja väkevöitiin sitten alennetussa paineessa. Saatu öljy puhdistettiin flash-kromatografisesti (SiO₂, 2,5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 436 mg (92 %) yhdistettä 32.

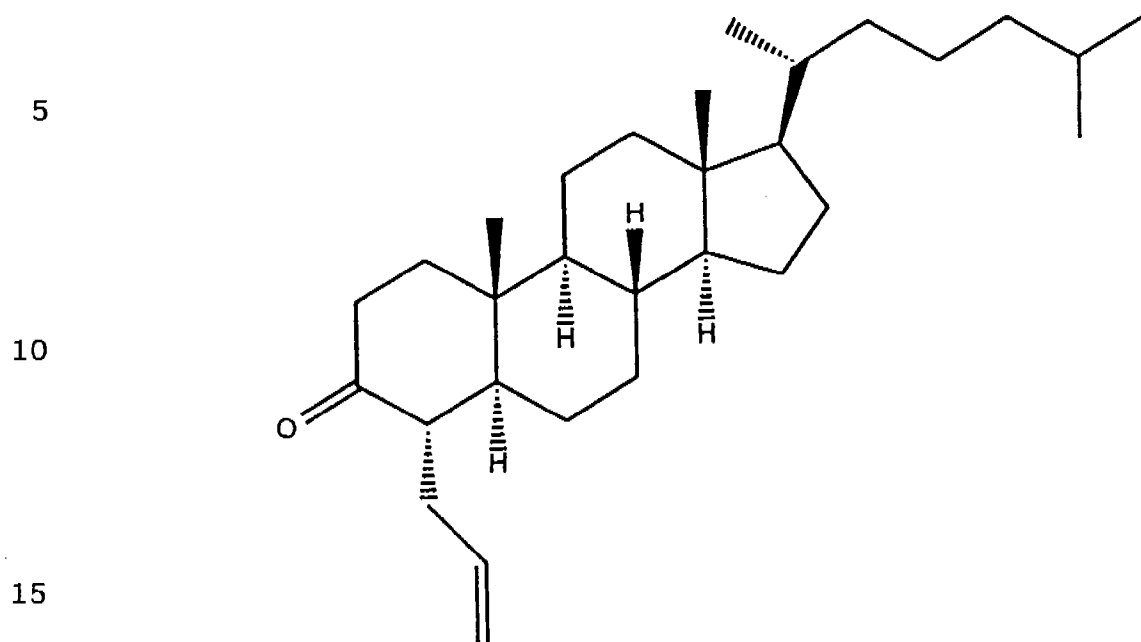


(3a,4a)-17-[(heptyylioksi)metyyli]-4-(2-propenyyli)antrastan-3-oli

20 Välituote 32 (330 mg, 0,63 mmoolia) sekoitettiin etikkahapon (4 ml), H₂O:n (1 ml) ja THF:n (2 ml) kanssa. Seosta kuumennettiin 80 °C:ssa yön yli ja väkevöitiin sitten alennetussa paineessa. Jäännös puhdistettiin flashkromatografisesti (SiO₂, 1 - 5-%:inen EtOAc - heksaaneja) antamaan 238 mg (86 %) yhdistettä 34 kiinteänä aineena, sp. 62 - 64 °C. ¹H-NMR, IR, MS. (C₃₀H₅₂O₂)

25

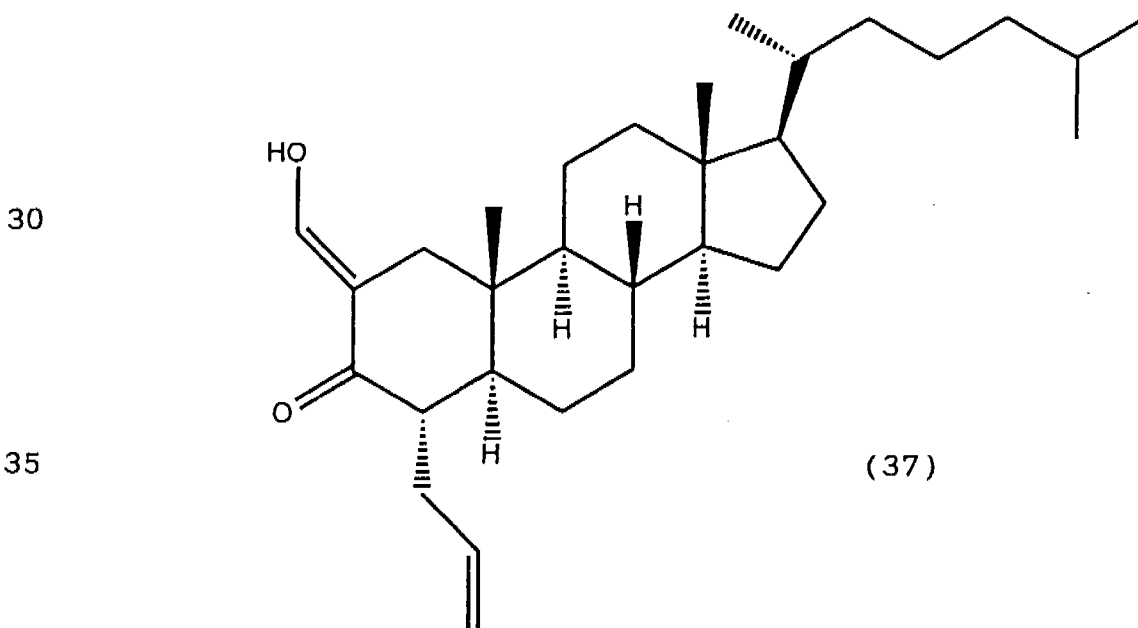
Esimerkki 72

4 α -4-(2-propenyly)kolestan-3-onin valmistus

(36)

20 Seuraten pääosin esimerkissä 67 vaiheessa B kuvatuja menetelmiä ja lähtien 4-kolesten-3-onista, valmistettiin otsikkoyhdiste. (Saanto: 16 %) ^1H -NMR, IR, MS. ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$).

Esimerkki 73

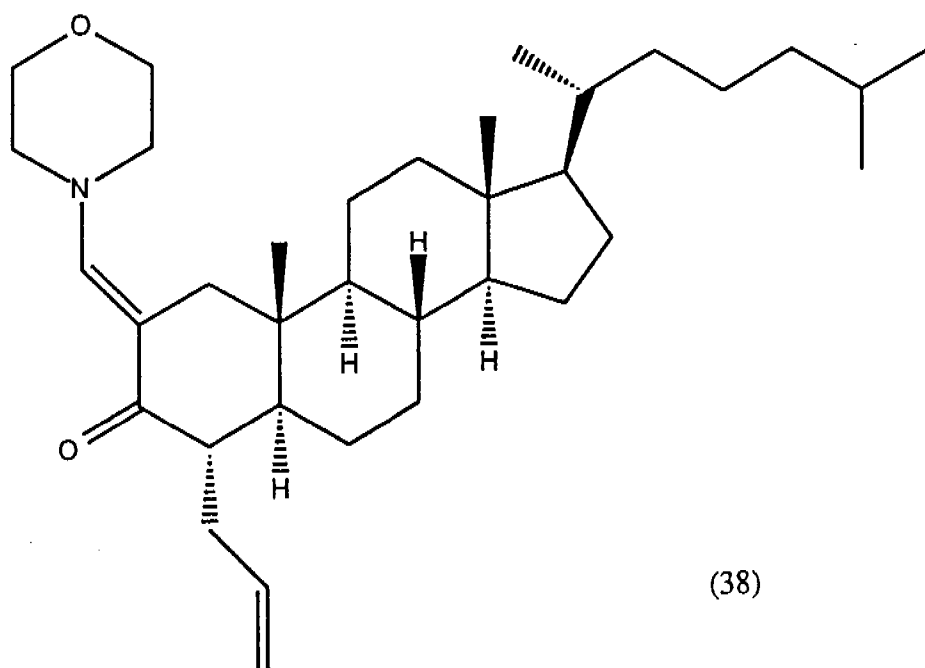
4 α -2-(hydroksimetyleeni)-4-(2-propenyly)kolestan-3-onin valmistus

(37)

Natriumhydridi (1,6 g, 41 mmoolia, 60-%:inen öljy-dispersio) pestiin heksaaneilla argonin paineessa ja sekoitettiin tolueenin (50 ml) kanssa. Seokseen lisättiin liuos, jossa oli esimerkin 72 yhdistettä (3,5 g, 8,2 mmoolia) tolueenissa (50 ml), mitä seurasi etyyliformiaatti (5,6 ml). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli ympäristön lämpötilassa ja tukahdutettiin sitten H₂O:lla (5 ml). Reaktioseokseen lisättiin 1 N HCl (50 ml) ja uutettiin sitten EtOAc:llä. Uutteet pestiin 1 N HCl:llä ja suolaliuoksella ja kuivattiin MgSO₄:llä. Tämä aines väkevöitiin alennetussa paineessa antamaan 3,6 g (97 %) yhdistettä 37 öljynä, joka kiteytyi seistessään, sp. 84 - 94 °C. ¹H-NMR

Esimerkki 74

(4α)-2-(4-morfolinyylimetyleen)-4-(2-propenyyl)-kolestan-3-onin valmistus



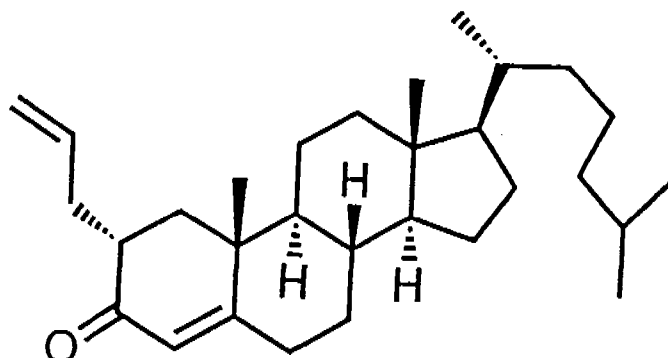
Morfoliinia (1,8 g, 20,5 mmoolia) lisättiin liuokseen, jossa oli esimerkin 73 yhdistettä (3,1 g, 6,8 mmoolia) EtOH:ssa (30 ml) ja palautusjäähdytettiin kaksi tuntia. Reaktioseos väkevöitiin alennetussa paineessa ja puh-

distettiin flashkromatografisesti (SiO_2 , 1 - 5-%:inen $\text{MeOH} - \text{CHCl}_3$) antamaan 3 g (84 %) yhdistettä 38 vahtona. ^1H -NMR, IR, MS.

Esimerkki 75

5 (2 α)-2-(2-propenyyl)kolest-4-en-3-onin valmistus

10



15

10 ml liuosta, jossa oli 4-kolesten-3-onia (500 mg, 1,30 mmoolia) kuivassa THF:ssä, lisättiin tipoitain 10 ml:aan liuosta, jossa oli $\text{NaN}(\text{TMS})_2$ (1,69 ml, 1 M THF:ssä) -78°C :ssa argonin paineessa ja saatua kylläny-
 20 ristä liuosta sekoitettiin 45 minuuttia ennen kun sitä käsiteltiin allyylijodidilla (238 ml, 2,60 mmoolia). Seos-
 ta sekoitettiin -78°C :ssa kuusi tuntia ja lämmitettiin sitten hitaasti ympäristön lämpötilaan. Etikkahappoa
 25 (0,5 ml) ja EtOAc:tä (30 ml) lisättiin seokseen, mitä se-
 rasi kyllästetty vesipitoinen NaCl (10 ml). Orgaaninen kerros erotettiin, kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä antamaan öljymäinen jäännös, joka flashkromatografoitiin silikageelillä (EtOAc/heksaani:
 30 pitoisuusgradientti 2 % - 10 %) antamaan 422 mg (76 %) otsikkoyhdistettä öljynä.

IR (CHCl_3) 2933 ja 1673 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,72 (3H, s), 0,87 (3H, d, $J = 6,6\text{ Hz}$), 0,88 (3H, d, $J = 6,6\text{ Hz}$), 0,92 (3H, d, $J = 6,5\text{ Hz}$), 1,20 (3H, s), 0,75 - 1,70 (20H, m), 1,78 - 1,91 (2H,

35

m), 1,98 - 2,14 (3H, m), 2,20 - 2,48 (3H, m), 2,68 - 2,77 (1H, m), 5,02 - 5,10 (2H, m), 5,72 (1H, d, $J = 1,0$ Hz), ja 5,75 - 5,88 (1H, m);

FDMS: 424 (M^+);

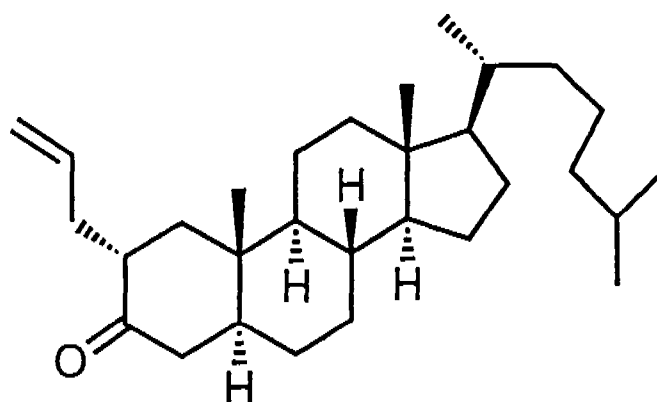
5 Analyttisesti laskettu $C_{30}H_{48}O$:lle:

C, 84,84; H, 11,39

Havaittu: C, 84,64; H, 11,53

Esimerkki 76

(2 α ,5 α)-2-(2-propenyyli)kolestan-3-onin valmistus



20

Litiumlastuja (24,6 mg, 3,54 mmoolia) ja lasipäällystetty sekoitintanko pantiin liekkikuivattuun, kolmikaulapyörökolviin, joka oli varustettu hiilihappojääjäähdyttimellä, argonin paineessa. 30 ml nestemäistä ammoniakkia kerättiin pulloon -78 °C:ssa muodostamaan syvänsininen liuos ja tätä seurasi sitten kuivan THF:n (15 ml) lisääminen. 15 ml:n liuos, jossa oli (2 α)-2-(2-propenyyli)kolest-4-en-3-onia (430 mg, 1,01 mmoolia) ja t-BuOH (95,2 ml, 1,01 mmoolia) kuivassa THF:ssä, lisättiin tipoittein syvänsiniseen liuokseen. Lisäämisen jälkeen saatua sinistä liuosta sekoitettiin viisi minuuttia ennen kun se tehtiin värittömäksi muutamalla tipalla 1,3-pentadieeniä. 10 ml kyllästettyä vesipitoista NH_4Cl lisättiin varovasti valkoiseen suspensioon, sitten kylmähaude poistettiin ja

seoksen annettiin lämmitä ympäristön lämpötilaan. Kiinteää NaCl lisättiin vesipitoisen kerroksen kyllästämiseksi ennen kun se uutettiin EtOAc:llä (30 ml); orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä (10 ml),
 5 kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin antamaan öljymäinen jäännös. Flashkromatografian jälkeen silikageelillä (tolueeni/heksaani: pitoisuusgradientti 50 % - 100 %), saatiin 407 mg (94 %) otsikkoyhdistettä öljynä. IR (selvä) 2929 ja 1711 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,69 (3H, s), 0,88 (6H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,91 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,06 (3H, s), 0,70 - 2,15 (29H, m), 2,29 - 2,50 (2H, m), 2,52 - 2,62 (1H, m), 4,99 - 5,06 (2H, m) ja 5,71 - 5,86 (1H, m);
 FDMS: 427 ($M^+ + 1$);

15 Analyttisesti laskettu $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$:lle:

C, 84,44; H, 11,81

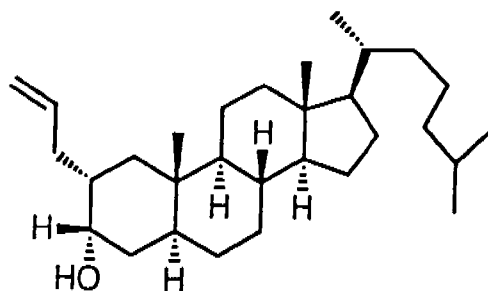
Havaittu: C, 84,72; H, 11,68.

Esimerkki 77

Tämä esimerkki kuvaa keksinnön yhdisteiden valmistusta, joilla on farmaseuttisesti vaikuttava substituentti sterolilytimen 2-asemassa.

(2 α ,3 α ,5 α)-2-(2-propenylyli)kolestan-3-olin valmistus

25



30

35

Tämä esimerkki kuvaa keksinnön yhdisteiden valmistusta, joilla on farmaseuttisesti vaikuttavia substituentteja sterolilytimen 2-asemassa.

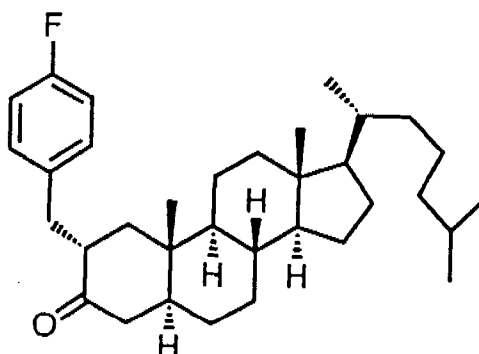
- K-selektridiä (23,6 ml, 1 M THF:ssä) lisättiin sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli (2*a*,5*a*)-2-(2-propenyli)kolestan-3-onia (5,03 g, 11,8 mmoolia) kuivassa THF:ssä (100 ml) -78 °C:ssa argonin paineessa ja saatua
- 5 keltaista liuosta sekoitettiin sitten 0 °C:ssa yksi tunti. Ylimäärä K-selektridiä tukahdutettiin varovasti metanolilla (5 ml) ja liuosta käsiteltiin peräkkäisesti 5 N NaOH:lla (14,1 ml, 70,8 mmoolia) ja 30-%:isella H₂O₂:lla (7,20 ml, 70,8 mmoolia). Kylmähaude poistettiin ja seosta
- 10 sekoitettiin neljä tuntia. Etikkahappoa (5 ml) ja EtOAc:tä (100 ml) lisättiin seokseen ja sitten se pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä (20 ml x 2), kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös flashkromatografoitiin silikageelillä (tolueeni/heksaani: pitoisuusgradientti 40 % - 100 %) antamaan 3,92 g (77 %) otsik-
- 15 koyhdistettä, joka uudelleenkiteytettiin Et₂O/CH₃CN:stä; sp. 72,0 - 73,5 °C;
- IR (KBr) 3376 ja 2931 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,66 (3H, s), 0,80 (3H, s), 0,87 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,88 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,91 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,65 - 1,70 (29H, m), 1,75 - 1,90 (1H, m), 1,95 - 2,06 (2H, m), 2,09 - 2,21 (1H, m), 3,89 (1H, br s), 5,00 - 5,12 (2H, m) ja 5,76 - 5,91 (1H, m);
- 20 FDMS: 429 (M⁺+1);
- 25 Analyttisesti laskettu C₃₀H₅₂O:lle:
C, 84,04; H, 12,22
- Havaittu: C, 83,97; H, 12,40

Esimerkki 78

(2 α ,5 α)-2-[(4-fluorifenyyli)metyyli]kolestan-3-onin valmistus

5

10



15

20

25

30

NaN(TMS)₂ (1,83 ml, 1 M THF:ssä) lisättiin tipoit-
 tain sekoituksenlaiseen liuokseen, jossa oli 5 α -kolestan-
 3-onia (545 mg, 1,41 mmoolia) 10 ml:ssa kuivaa THF
 -78 °C:ssa argonin paineessa ja saatua suspensiota sekoi-
 tettiin yksi tunti ennen kun sitä käsiteltiin 5 ml:lla THF
 liuosta, jossa oli 4-fluoribentsyylijodidia (499 mg, 2,11
 mmoolia). Suspensiota sekoitettiin -78 °C:ssa 12 tuntia ja
 annettiin sitten lämmitä ympäristön lämpötilaan. Etikka-
 happoa (0,5 ml) ja EtOAc (30 ml) lisättiin seokseen ennen
 kun se pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä
 (10 ml x 2), kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja väke-
 vöitiin. Flashkromatografian jälkeen silikageelillä (tolu-
 eeni/heksaani: pitoisuusgradientti 50 % → 100 %), saatiin
 424 mg (61 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä ai-
 neena, joka kiteytettiin Et₂O/CH₃CN:stä. Sp. 131,0 -
 132,5 °C;
 IR (CHCl₃) 2928, 1712, 1509 ja 1217 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300
 MHz) δ 0,65 (3H, s), 0,88 (6H, d, J = 6,6 Hz), 0,89 (3H,
 d, J = 7,0 Hz), 0,99 (3H, s), 0,64 - 2,02 (27H, m), 2,10
 (1H, dd, J = 14,0 ja 3,6Hz), 2,28 -2,41 (2H, m), 2,50 -

2,64 (1H, m), 3,22 (1H, dd, $J = 14,0$ ja $5,0$ Hz), 6,90 - 7,00 (2H, m) ja 7,07 - 7,15 (2H, m);

FDMS: 495 ($M^+ + 1$);

Analyyttisesti laskettu $C_{34}H_{51}FO$:lle:

5 C, 82,54; H, 10,39

Havaittu: C, 82,80; H, 10,65.

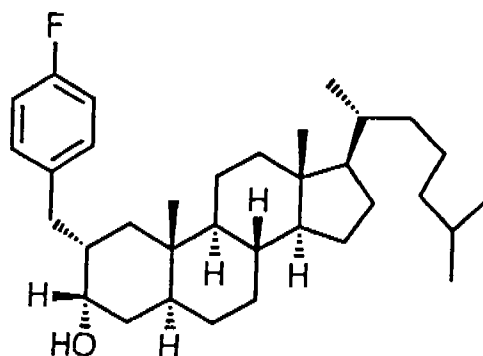
Seuraten edeltävässä esimerkissä 77 kuvattuja menetelmiä valmistettiin esimerkin 79 yhdiste.

Esimerkki 79

10 (2 α ,3 α ,5 α)-2-[(4-fluorifenyyli)metyyli]kolestan-3-olin valmistus

15

20



25

Tämä esimerkki kuvaa keksinnön yhdisteiden valmistusta, joissa on farmaseuttisesti vaikuttavia substituentteja steroliytimen 2-asemassa.

30

(2 α ,5 α)-2-[(4-fluorifenyyli)metyyli]kolestan-3-oni (213 mg, 0,431 mmoolia), K-selektridi (647 ml, 1 M THF:ssä), 5 N NaOH (388 ml, 1,94 mmoolia) ja 30-%:inen H_2O_2 (198 ml, 1,94 mmoolia) antoi 156 mg (73 %) otsikko-yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, joka uudelleen-

35

kiteytettiin Et_2O/CH_3CN :stä. Sp. 148,5 - 150,5 °C;

IR (KBr) 3622, 2931, 2869 ja 1509 cm^{-1} ;

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0,65 (3H, s), 0,76 (3H, s), 0,88

(6H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,91 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 0,90 - 1,90

(30H, m), 1,97 (1H, br d, $J = 11,9$ Hz), 2,49 (1H, dd, $J = 13,5$ ja $6,6$ Hz), 2,68 (1H, dd, $J = 13,5$ ja $8,6$ Hz), 3,71 (1H, s), 6,90 - 7,02 (2H, m) ja 7,10 - 7,20 (2H, m);

FDMS: 497 ($M^+ + 1$);

5 Analyttisesti laskettu $C_{34}H_{53}FO$:lle:

C, 82,20; H, 10,75

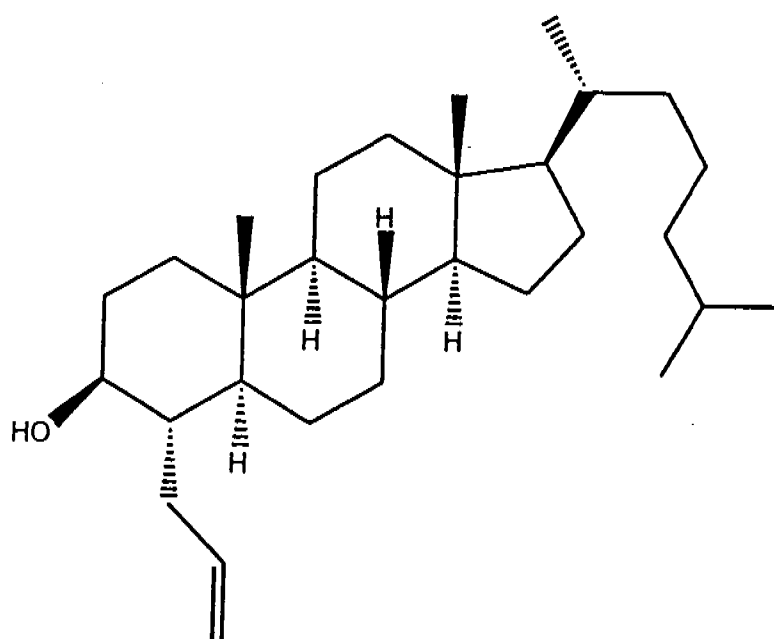
Havaittu: C, 82,33; H, 10,93

Esimerkki 80

10

15

20



(3β,4α,5α,20β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-olinvalmistus

25

Seosta, jossa oli 10 g (0,0235 moolia) 4α-4-(2-propenyyli)kolestan-3-onia, 4,4 g (0,117 moolia) natriumboorihydridiä, 25 ml metanolia ja 50 ml tetrahydrofuraania, kuumennettiin palautusjäähdyttään 10 tuntia. Reaktioseos jäähdytettiin jäähauteessa ja tukahdutettiin 50-%:isella etikkahapolla (aq). Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja otettiin talteen etyyliasetaattiin, pestiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatti (aq) liuoksella. Orgaaninen kerros kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä. Raaka isomeerinen seos erotettiin ja puhdistettiin valmistavalla HPLC:llä (pitoisuusgradientti 0 - 10 % etyy-

30

35

liasettaatti : heksaaneja). Muodostui kaksi päätuotetta (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli ja (3 β ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli. Jakeet, jotka sisälsivät (3 β ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-olia, yhdistettiin ja 7,2 g (3 β ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-olia eristettiin.

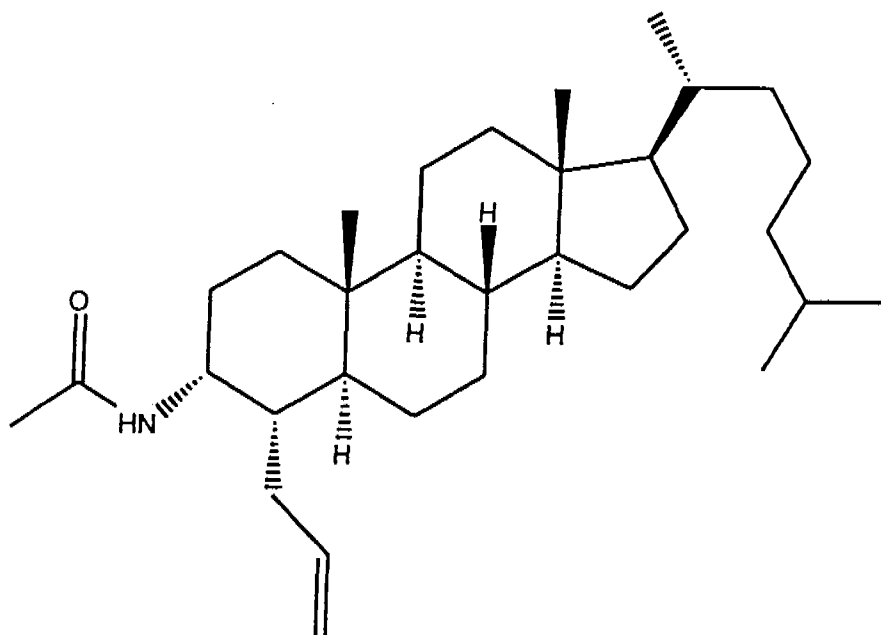
M.S. (FD) MH⁺ = 429

Alkuaineanalyysi C₃₀H₅₂O:lle

	Laskettu	Havaittu
10 C	84,04	84,20
H	12,23	12,04

¹H NMR (CDCl₃) δ 3,35 (m, 1H, H-COH) 4,98 - 5,15 (m, 2H H₂C = CH) 5,79 - 5,95 (m, 1H, -HC=CH₂)

Esimerkki 81



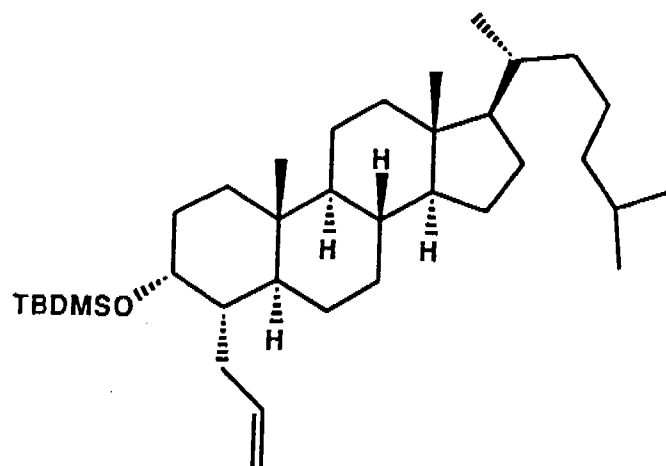
N-[(3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli]asetamidin valmistus

3,0 g (6,79 mmoolia) seosta, jossa oli 3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3-amiinia ja (3 β ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3-amiinia, yhdistettiin 1,6 ml:n (17,0 mmoolia) kanssa etikkahappoanhydridiä,

3,5 ml:n (33,9 mmoolia) kanssa pyridiiniä ja 40 ml:n kanssa tolueenia. Reaktioseosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä yksi tunti. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin valmistavalla HPLC:llä (15 - 50 %:n pitoisuusgradientti etyyliasetaatti : heksaaneja). Oikea asetamidi-isomeeri (LY306873) eristettiin antamaan 1,38 g. M.S. (FD) $MH^+ = 470$

1H NMR ($CDCl_3$) δ 2,01 (s, 3H, H_3C-CON), 4,18 (br s, 1H, H-CN) 4,92 - 5,01 (m, 2H, $H_2C=CH$) 5,65 (br s, 1H, HN-CO) 5,70 - 5,85 (m, 1H, $HC=CH_2$)

Esimerkki 82



(3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]-4-(2-propenylyli)kolestaaniin valmistus

Seosta, jossa oli 3,0 g (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-propenylyli)kolestaani-3-olia (7,0 mmoolia), 1,3 g tert-butyylidimetyylisilyylikloridia (8,5 mmoolia) ja 0,578 g imidatsoolia (8,5 mmoolia) 20 ml:ssa dimetyyliformamidia, sekoitettiin 10 tuntia huoneenlämpötilassa. Sitten reaktiotuote kaadettiin 75 ml:aan vettä ja tuote uutettiin dietyylieetterillä, kuivattiin Na_2SO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä antamaan öljy. Sitten öljy liuotettiin 100 ml:aan heksaania ja suodatettiin silikageelikerroksen läpi ja väkevöitiin tyhjössä antamaan 3,34 g (88,8 %)

(3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]-oksi]-4-(2-propenyli)kolestaania.

M.S. (FD) MH⁺ = 543

Alkuaineanalyysi C₃₆H₆₆OSi:lle

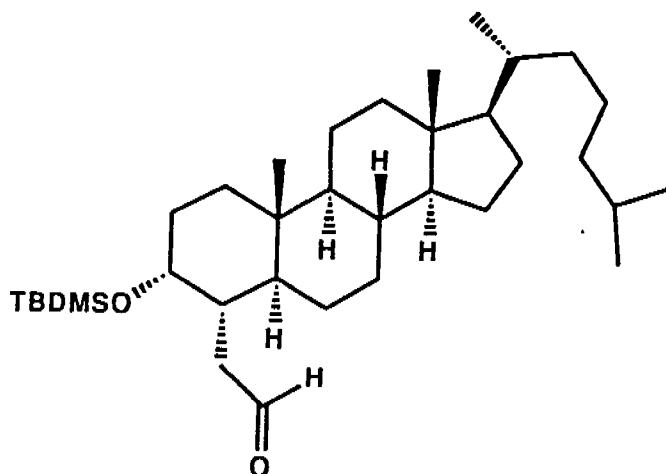
5 Laskettu Havaittu

C 79,90 79,63

H 12,53 12,25

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,0 (m, 6H, (CH₃)₂-Si), 0,89 (s, 9H, (CH₃)₃C-Si)

10 Esimerkki 83



(3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]kolestaani-4-asetaldehydin valmistus

25 Otsonia kuplitettiin liuoksen läpi, jossa oli 20 g (3 α ,4 α ,5 α)-3-[[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]-4-(2-propenyli)kolestaania (36,6 mmoolia) CH₂Cl₂:ssa -78 °C:ssa kunnes reaktio muuttui tummanpurppuranpunaiseksi. Reaktioseosta sekoitettiin 30 minuuttia -78 °C:ssa. Typeä kuplitettiin reaktioseokseen kunnes väri katosi ja 24 g trifenyylifosfiinia (92,2 mmoolia) lisättiin reaktioseokseen. Seosta sekoitettiin yön yli kylmähaude poistettuna. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja raaka tuote puhdistettiin valmistavalla HPLC:llä (5-%:inen etyyliasetaatti : heksaaneja) antamaan 15,5 g (77,5 %) (3 α ,4 α ,5 α)-3-

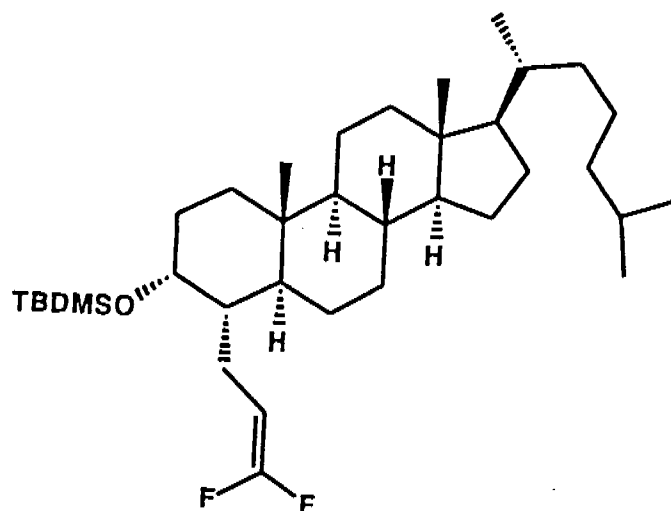
[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]kolestaani-4-asetaldehydiä.

M.S. (FD) $MH^+ = 545$

Alkuaineanalyysi $C_{35}H_{64}O_2Si$:lle

5		Laskettu	Havaittu
	C	77,14	77,34
	H	11,84	11,91
	1H NMR ($CDCl_3$) δ 9,81 (s, 1H, H-C=O)		

Esimerkki 84



(3 α ,4 α ,5 α)-4-(3,3-difluori-2-propenyli)-3-[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]kolestaani-4-asetaldehydiä valmistus

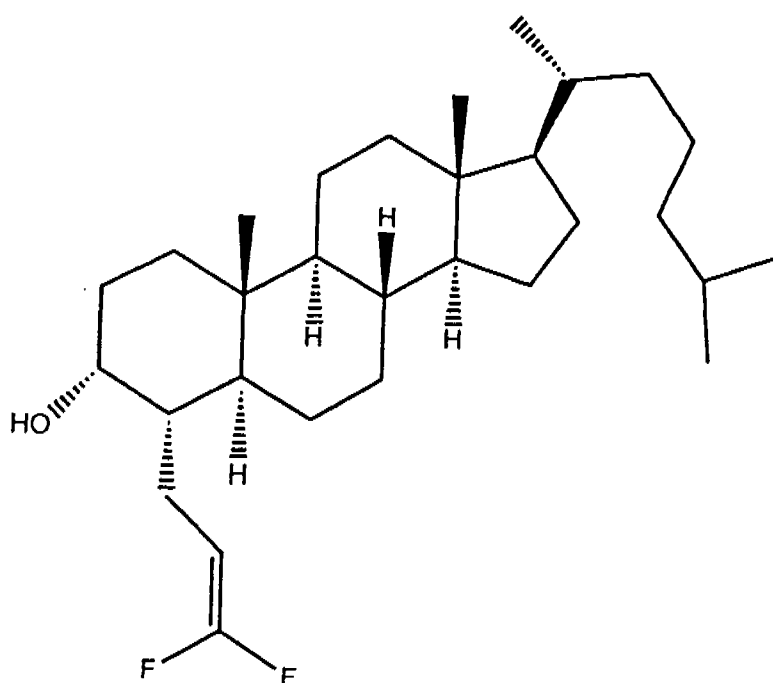
Jäähdytettyyn liuokseen (-78 °C), jossa oli 0,70 g difluorimetyylidifenyyli fosfiinioksidia (3,50 mmoolia) THF:ssä, lisättiin tipoittain 2,4 ml butyyllitiumin 1,6 M liuosta heksaaneissa. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia. Reaktioseokseen lisättiin tipoittain liuos, jossa oli 1,71 g (3 α ,4 α ,5 α)-3-[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyylisilyyli]oksi]kolestaani-4-asetaldehydiä (3,15 mmoolia) THF:ssä, ja kylmähaude poistettiin. Reaktioseosta sekoitettiin kolme tuntia ja tukahdutettiin kyllästetyllä ammoniumkloridilla (vesipitoinen). Tuote uutettiin dietyyli-eetterillä ja orgaaninen liuos kuivattiin $MgSO_4$:llä, suo-

datettiin ja väkevöitiin tyhjössä antamaan öljy. Raaka
tuote puhdistettiin flashkromatografisesti (4-%:inen etyy-
liasetaatti : heksaaneja) antamaan 120 mg (3 α ,4 α ,5 α)-4-
(3,3-difluori-2-propenyyli)-3-[[(1,1-dimetyylietyyli)di-
5 metyyilisilyyli]oksi]kolestaania.

M.S. (FD) MH⁺ 576

¹H NMR (CDCl₃) δ 3,93 (s, 1H, H-COTBS) 4,08 - 4,21 (m, 1H,
H-C=CF₂)

Esimerkki 85



(3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(3,3-difluori-2-propenyyli)koles- tan-3-olin valmistus

30 Liuokseen, jossa oli 100 mg (3 α ,4 α ,5 α)-4-(3,3-di-
fluori-2-propenyyli)-3-[[(1,1-dimetyylietyyli)dimetyyli-
silyyli]oksi]kolestaania 10 ml:ssa CH₂Cl₂, lisättiin 1 ml
booritrifluoridieteraattia. Liuosta sekoitettiin 10 tuntia
huoneenlämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja
jäännös liuotettiin dietyylieetteriin ja pestiin kylläste-
35 tyllä natriumbikarbonaattiliuoksella (vesipitoinen). Or-

gaaninen kerros kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja vä-
kevöitiin tyhjössä. Raaka tuote puhdistettiin kromatogra-
fisesti (10-%:inen etyyliasetaatti : heksaaneja) antamaan
81 mg $(3\alpha,4\alpha,5\alpha,20\beta)$ -4-(3,3-difluori-2-propenylyli)koles-
tan-3-olia.

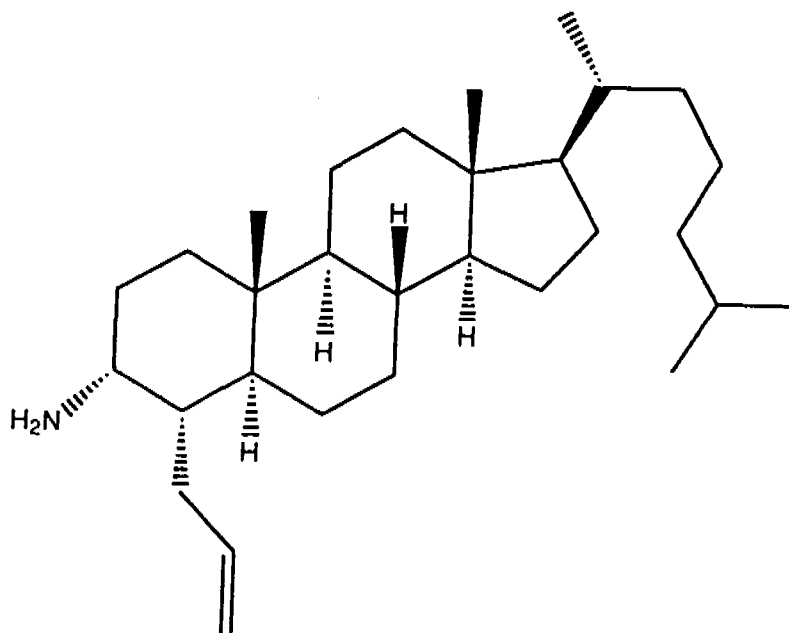
M.S. (FD) $\text{MH}^+ = 465$

Alkuaineanalyysi $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{F}_{20}$:lle

	Laskettu	Havaittu
C	77,53	77,77
H	10,85	11,07

^1H NMR (CDCl_3) δ 3,91 (s, 1H, H-COH) 4,12 - 3,21 (m, 1H,
H-C=CF₂)

Esimerkki 86



$(3\alpha,4\alpha,5\alpha,20\beta)$ -4-(2-propenylyli)kolestan-3-amiinin valmistus

Seosta, jossa oli 4,0 g $(4\alpha,5\alpha)$ -4-(2-propenylyli)-
kolestan-3-onia (9,37 mmoolia), 7,2 g ammoniumasetaattia
(93,7 mmoolia), 3,3 g natriumsyaaniboorihydridiä (52,6
mmoolia), 3 Å molekyyliseuloja, 25 ml metanolia ja 50 ml
THF, sekoitettiin 10 tuntia huoneenlämpötilassa. Reaktio-
seos kaadettiin sitten Fullerin maahan ja suodos väkevöi-

tiin tyhjössä, jäännös otettiin talteen 5-%:iseen NaOH:hon ja tuote uutettiin dietyylieetterillä. Orgaaninen kerros kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä ja tuote puhdistettiin kromatografisesti (9 : 1 dikloori-
 5 metaani : metanoli) antamaan (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-(2-propenylyli)kolestaani-3-amiini.

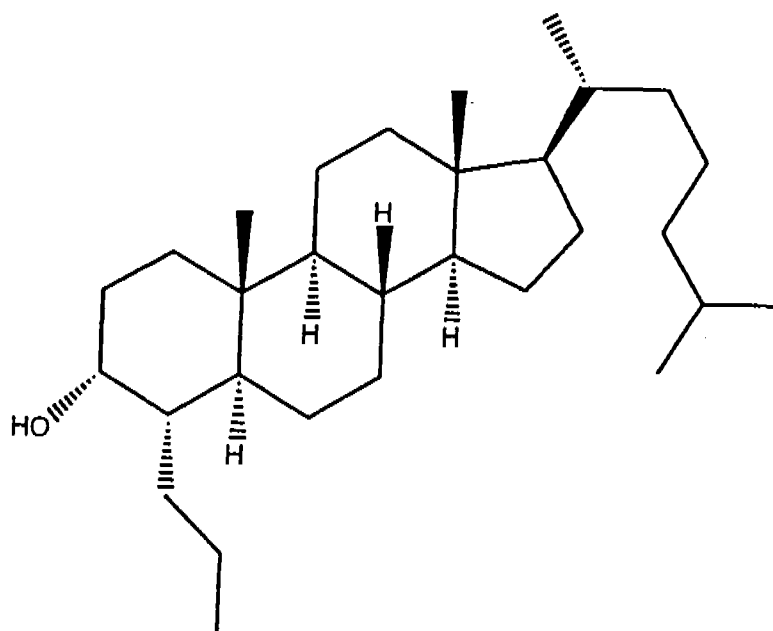
M.S. (FD) MH^+ 428

Alkuaineanalyysi $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{N}$:lle

		Laskettu	Havaittu
10	C	84,24	84,02
	H	12,49	12,48
	N	3,27	3,14

^1H NMR (CDCl_3) δ 3,62 (br s, 1H, H-C NH_2)

Esimerkki 87



(3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-propenylkolestan-3-olin valmistus

Seos, jossa oli 2 g (3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-propenylyli)kolestan-3-olia (4,67 mmoolia) ja 0,320 g 5-%:ista Pd/C 100 ml:ssa etyyliasetaattia, altistettiin 60 psi:n vety-
 35 paineelle huoneenlämpötilassa kahdeksaksi tunniksi. Reaktioseoksen suodattaminen Fullerin maalla, mitä seurasi

haihduttaminen, antoi 1,54 g (3 α ,4 α ,5 α ,20 β)-4-propyylikolestan-3-olia.

M.S. (FD) MH⁺ = 430

Alkuaineanalyysi C₃₀H₅₄O:lle

5 Laskettu Havaittu

C 83,65 83,80

H 12,64 12,62

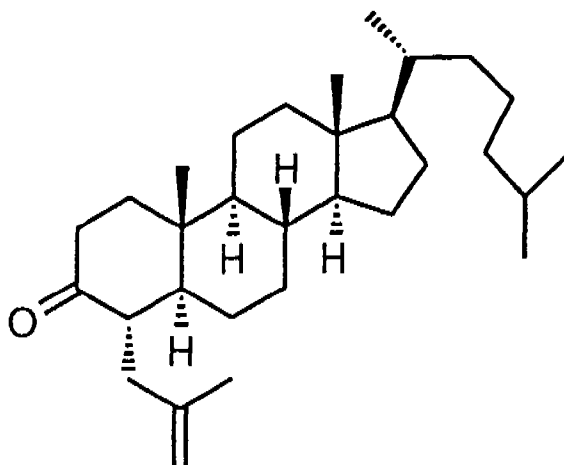
¹H NMR (CDCl₃) δ 3,92 (s, 1H, H-COH)

Esimerkki 88

10 (4 α ,5 α)-4-(2-metyyli-2-propenylyl)kolestan-3-onin valmistus

15

20



25

Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

30

Litiumlastuja (32,5 mg, 4,68 mmoolia) ja lasilla päällystetty sekoitintanko pantiin liekkikuivattuun kolmi-
 kaulapyörökolviin, joka oli varustettu hiilihappojääjäähdyttimellä, argonin paineessa. 40 ml nestemäistä ammoniak-
 kia kerättiin pulloon -78 °C:ssa muodostamaan tummansini-
 nen liuos, mitä seurasi kuivan THF:n (25 ml) lisääminen.
 15 ml liuosta, jossa oli (+)-4-kolesten-3-onia (600 mg,
 1,56 mmoolia) ja t-BuOH (0,147 ml, 1,56 mmoolia) kuivassa

35

- THF:ssä, lisättiin tipoittain tummansiniseen liuokseen. Lisäämisen jälkeen aikaansaatus sinistä liuosta sekoitettiin viisi minuuttia ennen kun se tehtiin värittömäksi muutamalla tipalla 1,3-pentadieeniä. Metalliylijodidia
- 5 (0,480 ml, 4,67 mmoolia) lisättiin valkoiseen suspensioon ja saatua seosta sekoitettiin -78 °C:ssa kolme tuntia. Metanolia (1 ml) ja kyllästettyä vesipitoista NH_4Cl (10 ml) lisättiin varovasti valkoiseen suspensioon. Kylmähaude poistettiin ja seoksen annettiin, haihdutettaessa ammoniakki, lämmetä ympäristön lämpötilaan. 10 ml kyllästettyä NaCl lisättiin seokseen ennen kun se uutettiin EtOAc:llä (30 ml x 2); yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin kyl-
- 10 lästetyllä vesipitoisella NaCl:llä (10 ml), kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin. Erottamisen jälkeen flashkromatografisesti silikageelillä (etyyliasetatti/heksaani pitoisuusgradientti 4 % → 6 %) saatiin 212 mg (31 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, joka uudelleenkiteytettiin $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$:stä. Sp. 104,0 - 105,5 °C;
- 15 IR (KBr) 2950 ja 1712 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,69 (3H, s), 0,88 (6H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,08 (3H, s), 1,71 (3H, s), 0,65 - 1,90 (24H, m), 1,95 - 2,20 (4H, m), 2,30 - 2,60 (4H, m), 4,61 (1H, s) ja 4,73 (1H, s);
- 20 FDMS: 440 (M^+);
- 25 Analyttisesti laskettu $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}$:lle:
C, 84,48; H, 11,89.
Havaittu: C, 84,43; H, 11,68.

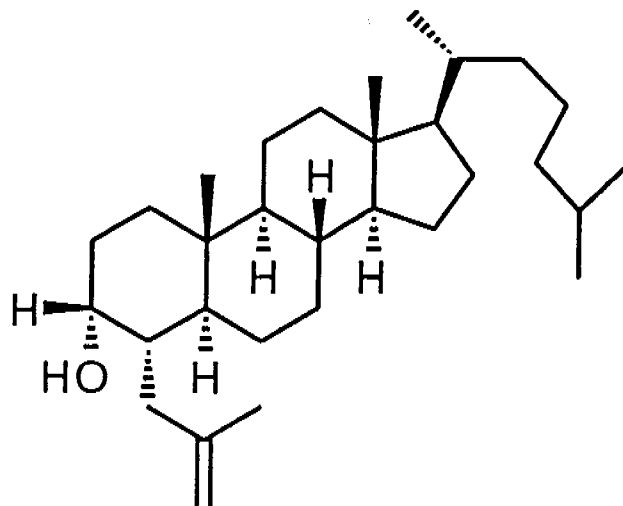
Esimerkki 89

(3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-metyyli-2-propenylyli)kolestan-3-
olin valmistus

5

10

15



20

25

30

35

K-selektridiä (0,368 ml, 1 M THF:ssä) lisättiin sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli (4 α)-4-(2-metyyli-2-propenylyli)kolestan-3-onia (108 mg, 0,245 mmoolia) kuivassa THF:ssä (4 ml) -78 °C:ssa argonin paineessa ja saatua kellertävää liuosta sekoitettiin sitten 0 °C:ssa yksi tunti. Ylimäärä K-selektridiä tukahdutettiin varovasti metanolilla (0,5 ml) ja liuosta käsiteltiin peräkkäisesti 5 N NaOH:lla (0,220 ml, 1,10 mmoolia) ja 30-%:isella H₂O₂:lla (0,113 ml, 1,10 mmoolia). Kylmähaude poistettiin ja seosta sekoitettiin kaksi tuntia. Puoleksi kyllästettyä vesipitoista NaCl (10 ml) ja EtOAc:tä (30 ml) lisättiin seokseen, orgaaninen kerros erotettiin, pestiin puoleksikyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä (10 ml x 2), kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös altistettiin flashkromatografialle silikageelillä (etyyliasetatti/heksaani pitoisuusgradientti 4 % → 8 %) antamaan 85,5 mg (79 %) otsikkoyhdistettä, joka uudelleenki-
teytettiin Et₂O/CH₃CN:stä, sp. 129,0 - 130,5 °C;
IR (KBr) 3581, 3472 ja 2937 cm⁻¹;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,66 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,88 (6H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,91 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,73 (3H, s), 0,65 - 2,05 (32H, m), 2,20 (1H, dd, $J = 13,3$ ja 4,3 Hz), 3,79 (1H, br s), 4,78 (1H, s) ja 4,81 (1H, s);

5 FDMS: 443 ($M^+ + 1$);

Analyttisesti laskettu $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{O}$:lle:

C, 84,09; H, 12,29

Havaittu: C, 84,35; H, 12,06

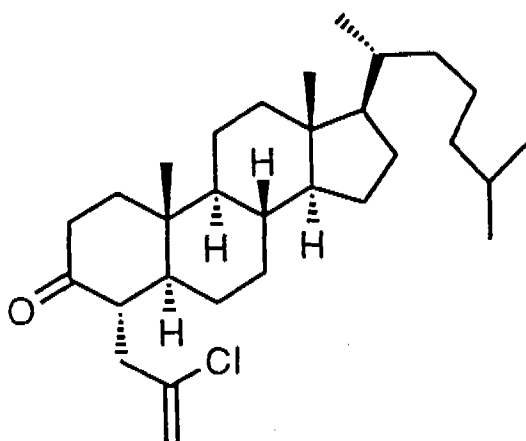
10 Seuraten edellä kuvatun esimerkin 88 menetelmiä, valmistettiin esimerkin 90 yhdiste.

Esimerkki 90

(4 α , 5 α)-4-(2-kloori-2-propenylyli)kolestan-3-onin valmistus

15

20



25

Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

30

Litiumlastut (32,5 mg, 4,68 mmoolia), nestemäinen ammoniakki (30 ml)/THF (30 ml), (+)-4-kolestan-3-oni (600 mg, 1,56 mmoolia), t-BuOH (0,147 ml, 1,56 mmoolia), 1,3-pentadieeni (muutama tippa) ja 2-klooriallyylijodidi (0,500 ml) antoivat 377 mg (52 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena sekoittamisen jälkeen -78 °C:ssa 6,5 tuntia ja flashkromatografia-erottamisen jälkeen sili-

35

kageelillä (etyyliasetatti/heksaani pitoisuusgradientti 4 % → 6 %), joka uudelleenkiteytettiin Et₂O/CH₃CN:stä, sp. 107,0 - 109,0 °C;

IR (KBr) 2945, 1714, 1639 ja 1467 cm⁻¹;

5 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,69 (3H, s), 0,88 (6H, d, J = 6,6 Hz), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz), 1,11 (3H, s), 0,70 - 1,65 (22H, m), 1,65 - 1,90 (3H, m), 1,95 - 2,12 (2H, m), 2,32 - 2,68 (4H, m), 2,92 (1H, dd, J = 15,0 ja 7,0 Hz), 5,19 (1H, s) ja 5,22 (1H, s);

10 FDMS: 460 (M⁺, ³⁵Cl) ja 462 (M⁺, ³⁷Cl);

Analyttisesti laskettu C₃₀H₄₉ClO:lle:

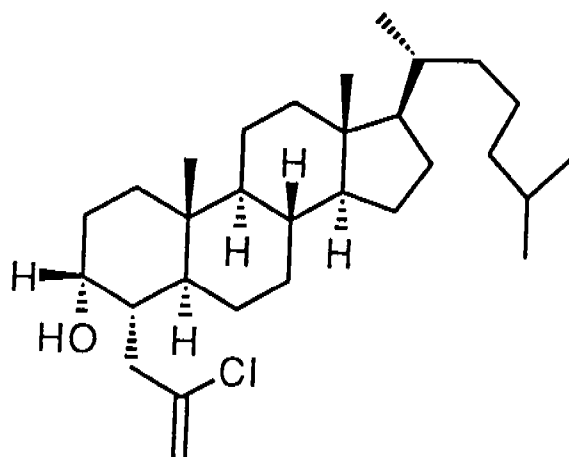
C, 78,13; H, 10,71.

Havaittu: C, 77,99; H, 10,42.

15 Seuraten edeltävässä esimerkissä 89 kuvattuja menetelmiä valmistettiin esimerkin 91 yhdiste.

Esimerkki 91

(3α,4α,5α)-4-(2-kloori-2-propenylyli)kolestan-3-olin valmistus



30 K-selektridi (0,586 ml, 1 M THF:ssä), (4α)-4-(2-kloori-2-propenylyli)kolestan-3-oni (180 mg, 0,390 mmoolia), THF (5 ml), metanoli (0,15 ml), 5 N NaOH (0,352 ml, 1,76 mmoolia) ja 30-%:inen H₂O₂ (0,179 ml, 1,76 mmoolia) antoivat 124 mg (69 %) otsikkoyhdistettä

valkoisena kiinteänä aineena flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (tolueeni/heksaani pitoisuusgradientti 60 % → 100 %), joka uudelleenkitetyttiin Et₂O/-CH₃CN:stä. Sp. 130,0 - 131,5 °C;

5 IR (KBr) 3599, 3497 ja 2933 cm⁻¹;

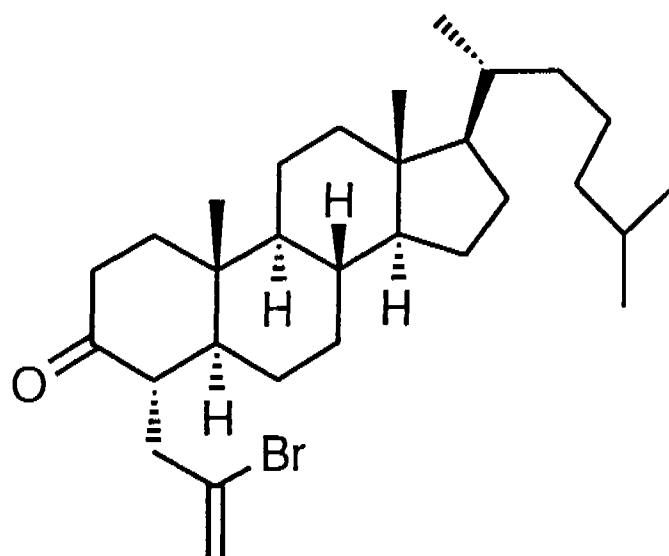
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,67 (3H, s), 0,86 (3H, s), 0,87 (3H, d, J = 6,7 Hz), 0,88 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,70 - 1,90 (30H, m), 1,98 (1H, br d, J = 12,2 Hz), 2,33 (1H, dd, J = 13,9 ja 10,6 Hz), 2,47 (1H, dd, J = 13,9 ja 4,7 Hz), 3,91 - 3,93 (1H, m) ja 5,23 (2H, s) ;

FDMS: 462 (M⁺, ³⁵Cl) ja 464 (M⁺, ³⁷Cl).

Seuraten edeltävässä esimerkissä 88 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 92 yhdiste.

15 **Esimerkki 92**

(4α,5α)-4-(2-bromi-2-propenylyli)kolestan-3-onin valmistus



Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

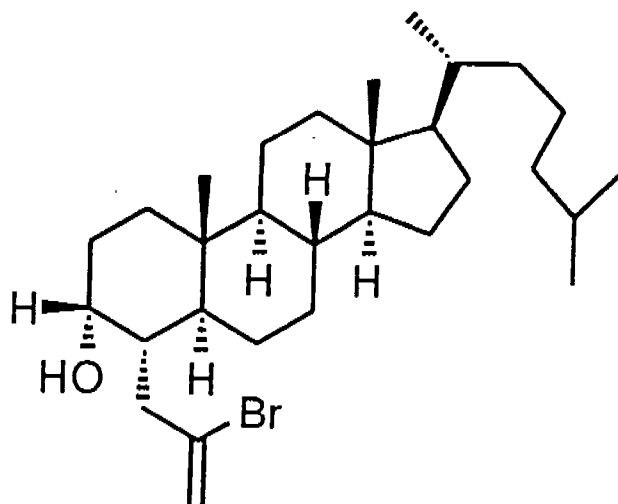
Litiumlastut (32,5 mg, 4,68 mmoolia), nestemäinen NH_3 (35 ml)/THF (35 ml), (+)-4-kolesten-3-oni (600 mg, 1,56 mmoolia), t-BuOH (0,147 ml, 1,56 mmoolia), 1,3-pentadieeni (muutama tippa) ja 2-bromiallylibromidi (0,484 ml, 4,68 mmoolia) antoivat 70,0 mg (8,8 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena kuuden tunnin sekoittamisen jälkeen -78°C :ssa ja flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (etyyliasetatti/heksaani pitoisuusgradientti 4 % $\rightarrow$ 6 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,69 (3H, s), 0,87 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,88 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,91 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,12 (3H, s), 0,65 - 1,90 (25H, m), 1,95 - 2,10 (2H, m), 2,30 - 2,70 (4H, m), 3,01 (1H, dd, $J = 15,0$ ja 7,0 Hz), 5,43 (1H, s) ja 5,66 (1H, s).

Seuraten edeltävässä esimerkissä 89 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 93 yhdiste.

Esimerkki 93

(3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-bromi-2-propenylyli)kolestan-3-olin valmistus



K-selektridi (0,278 ml, 1 M THF:ssä), (4 α)-4-(2-bromi-2-propenylyli)kolestan-3-oni (70,0 mg, 0,139 mmoolia), THF (3 ml), metanoli (0,15 ml), 5 N NaOH

(0,167 ml, 0,834 mmoolia) ja 30-%:inen H_2O_2 (0,085 ml, 0,834 mmoolia) antoivat 47,0 mg (67 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (tolueeni/heksaani pitoisuusgradientti 60 % → 100 %). Sp. 144,0 - 147,0 °C;

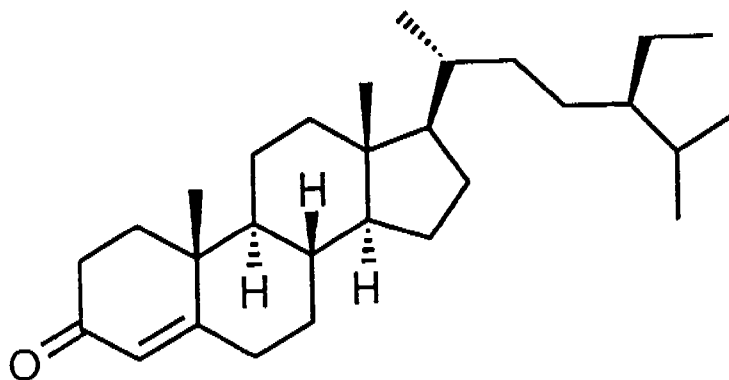
IR (KBr) 3601, 3478 ja 2931 cm^{-1} ;

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0,67 (3H, s), 0,87 (3H, s), 0,88 (6H, d, $J = 6,8$ Hz), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 0,70 - 1,90 (30H, m), 1,99 (1H, br d, $J = 12,3$ Hz), 2,40 (1H, dd, $J = 14,0$ ja 10,5 Hz), 2,55 (1H, dd, $J = 14,0$ ja 4,5 Hz), 3,91 - 3,94 (1H, m), 5,48 (1H, s) ja 5,68 (1H, s);

FDMS: 506 (M^+ , ^{79}Br) ja 508 (M^+ , ^{81}Br).

Esimerkki 94

(14 α)-stigmast-4-en-3-onin valmistus



Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

Suspensio, jossa oli β -sitosterolia (30,0 g, 72,5 mmoolia), alumiini-isopropoksidia (7,40 g, 36,2 mmoolia) ja metyylietyyliketonia (97,0 ml, 1,09 moolia) kuivassa tolueenissa (180 ml), kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilaan, sekoittaen 21 tuntia argonin paineessa. Seos jäähdytettiin jäähauteessa, käsiteltiin 2,5 N HCl:llä (120 ml) ja sekoitettiin 30 minuuttia. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaCl:llä

(100 ml), kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja väkevöitiin; öljymäinen jäännös kromatografoitiin silikageelillä (pitoisuusgradientti 50-%:inen tolueeni/heksaani → 10-%:inen etyyliasettaatti/tolueeni) antamaan 23,9 g (80 %) 5
otsikkoyhdistettä, joka kiteytettiin $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$:stä.

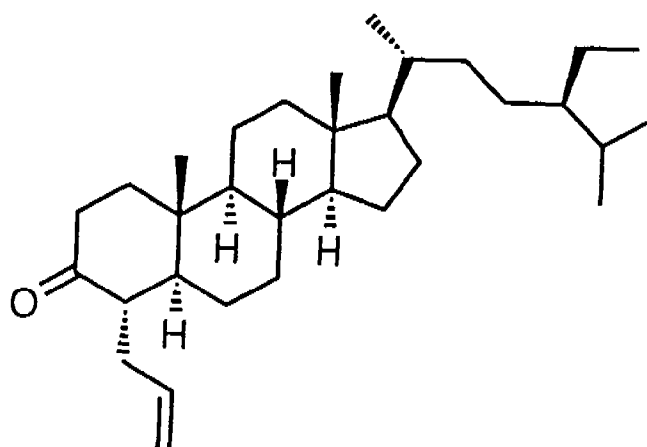
Sp. 73,0 - 75,0 °C;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,73 (3H, s), 0,83 (3H, d, J = 6,7 Hz), 0,85 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,86 (3H, t, J = 6,8 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,5 Hz), 1,20 (3H, s), 0,65 - 1,78 10
(21H, m), 1,80 - 1,95 (2H, m), 1,98 - 2,10 (2H, m), 2,24 - 2,53 (4H, m) ja 5,75 (1H, s)

Seuraten edeltävässä esimerkissä 88 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 95 yhdiste.

Esimerkki 95

15 (4 α ,5 α ,14 α)-4-(2-propenylyli)stigmastan-3-onin valmistus



Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

35 Litiumlastut (135 mg, 19,4 mmoolia), nestemäinen ammoniakki (100 ml)/THF (150 ml), (24R)-24-(etyyli)kolest-

4-en-3-oni (2,00 g, 4,85 mmoolia), t-BuOH (0,366 ml, 3,88 mmoolia), isopreeni (2 ml) ja allyylijodidi (0,886 ml, 9,70 mmoolia) antoivat 235 mg (11 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena sekoittamisen jälkeen

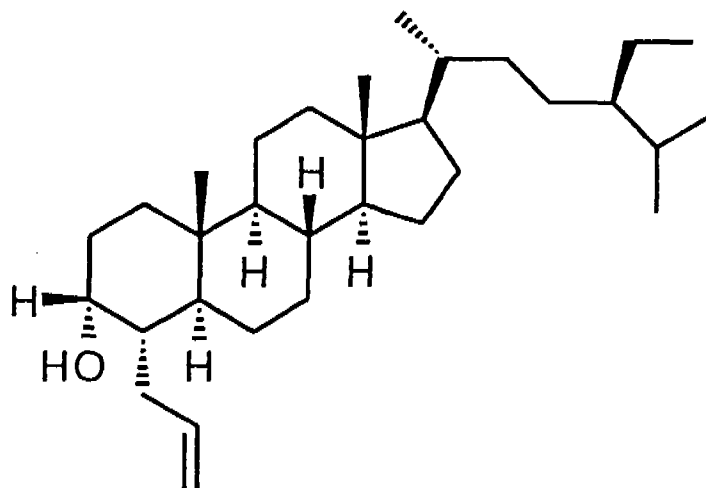
5 -78 °C:ssa kolme tuntia ja flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (pitoisuusgradientti 70 -%:inen tolueeni/heksaani → 5-%:inen etyyliasetaatti/tolueeni), joka uudelleenkiteytettiin CH₂Cl₂/CH₃CN:stä, sp. 81,0 - 82,0 °C;

10 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,69 (3H, s), 0,83 (3H, d, J = 6,7 Hz), 0,85 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,86 (3H, t, J = 6,7 Hz), 0,92 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,07 (3H, s), 0,65 - 1,94 (26H, m), 1,95 - 2,10 (2H, m), 2,20 - 2,55 (5H, m), 4,93 - 5,08 (2H, m) ja 5,70 - 5,88 (1H, m).

15 Seuraten edeltävässä esimerkissä 89 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 96 yhdiste.

Esimerkki 96

(3α,4α,5α)-4-(2-propenyyli)-stigmastan-3-olin valmistus



35 K-selektridi (0,440 ml, 1 M THF:ssä), (4α,24R)-4-(2-propenyyli)-24-(etyyli)kolestan-3-oni (100 mg, 0,220 mmoolia), THF (3 ml), metanoli (0,20 ml), 5 N NaOH

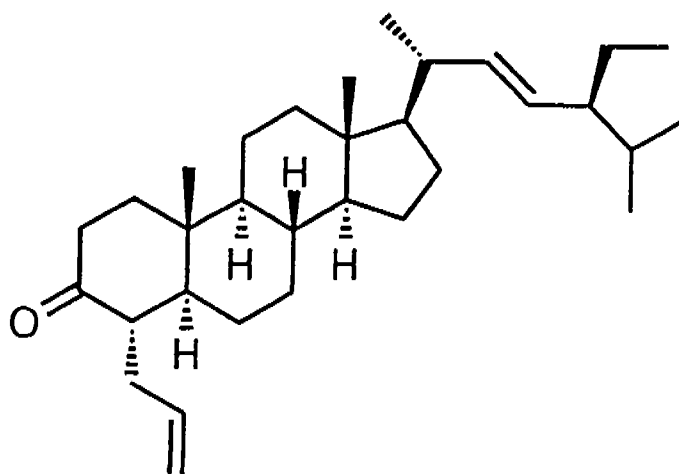
(0,264 ml, 1,32 mmoolia) ja 30-%:inen H_2O_2 (0,135 ml, 1,32 mmoolia) antoivat 95,0 mg (95 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (pitoisuusgradientti 70-%:inen tolueeni/heksaani → 5-%:inen etyyliasetaatti/tolueeni).
Sp. 118,0 - 120,5 °C;

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0,66 (3H, s), 0,83 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,84 (3H, s), 0,85 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,86 (3H, t, J = 6,9 Hz), 0,92 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,65 - 2,07 (33H, m), 2,24 - 2,35 (1H, m), 3,91 - 3,93 (1H, m), 5,00 - 5,15 (2H, m) ja 5,80 - 5,98 (1H, m).

Seuraten edeltävässä esimerkissä 88 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 97 yhdiste.

Esimerkki 97

(4 α ,5 α ,14 α ,22E)-4-(2-propenyyli)-stigmast-22-en-3-onin valmistus



Tämä esimerkki kuvaa 3-asemassa olevan ketonin valmistusta, joka on hyödyllinen välituotteena keksinnön yhdisteiden valmistuksessa.

Litiumlastut (67,0 mg, 9,76 mmoolia), nestemäinen NH_3 (60 ml)/THF (100 ml), (22E,24R)-24-(etyyli)kolesta-4,22-dien-3-oni (1,00 g, 2,44 mmoolia), t-BuOH (0,230 ml,

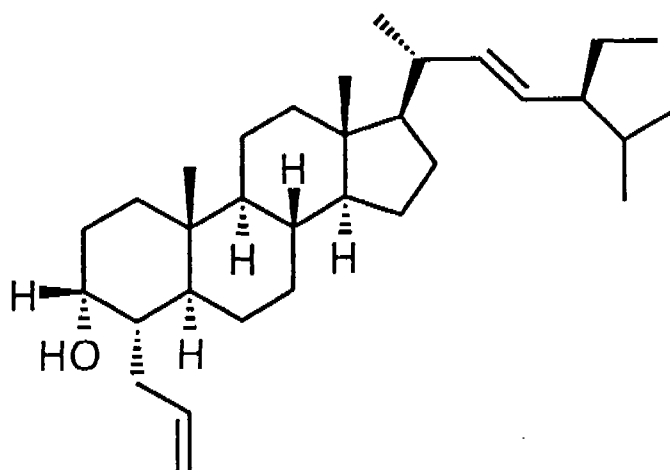
2,44 mmoolia), 1,3-pentadieeni (2 ml) ja allyylijodidi (0,670 ml, 7,32 mmoolia) antoivat 526 mg (48 %) otsikko-yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena kuuden tunnin sekoittamisen jälkeen -78 °C:ssa ja flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (tolueeni/heksaani pitoisuusgradientti 60 % → 100 %), joka uudelleenkitetyttiin CH₂Cl₂/CH₃CN:stä, sp. 109,0 - 111,0 °C;

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,71 (3H, s), 0,81 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,82 (3H, t, J = 6,5 Hz), 0,86 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,02 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,07 (3H, s), 0,65 - 1,60 (18H, m), 1,62 - 1,80 (3H, m), 1,94 - 2,09 (3H, m), 2,20 - 2,54 (5H, m), 4,95 - 5,08 (3H, m), 5,16 (1H, dd, J = 15,1 ja 8,5 Hz) ja 5,72 - 5,86 (1H, m).

Seuraten edeltävässä esimerkissä 89 kuvattuja menetelmiä, valmistettiin esimerkin 98 yhdiste.

Esimerkki 98

(3α,4α,5α,22E)-4-(2-propenyyli)-stigmast-22-en-3-onin valmistus



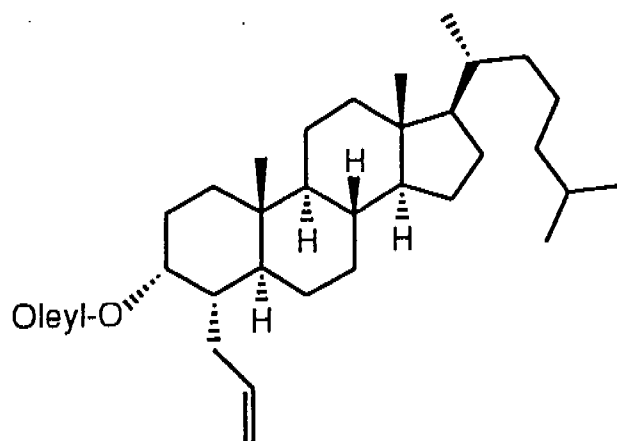
K-selektridi (0,880 ml, 1 M THF:ssä), (4α,22E,24R)-4-(2-propenyyli)-24-(etyyli)kolest-22-en-3-oni (200 mg, 0,440 mmoolia), THF (5 ml), metanoli (0,20 ml), 5 N NaOH (0,572 ml, 2,86 mmoolia) ja 30-%:inen H₂O₂ (0,292 ml, 2,86

mmoolia) antoivat 186 mg (93 %) otsikkoyhdistettä valkoisena kiinteänä aineena flashkromatografiaerottamisen jälkeen silikageelillä (pitoisuusgradientti 60-%:inen tolueni/heksaani → 5-%:inen etyyliasetaatti/tolueni).

5 Sp. 141,0 - 142,0 °C;

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,68 (3H, s), 0,81 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,82 (3H, t, J = 6,7 Hz), 0,83 (3H, s), 0,86 (3H, d, J = 6,5 Hz), 1,02 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,65 - 1,78 (26H, m), 1,93 - 2,10 (3H, m), 2,23 - 2,34 (1H, m), 3,90 - 3,93 (1H, m), 4,97 - 5,21 (4H, m) ja 5,82 - 5,96 (1H, m).

Esimerkki 99



(3α,4α,5α)-4-(2-propenylyl)kolestan-3-oli-oktadekanoaatin (esteri) valmistus

Oleiinihapon happokloridi valmistettiin seoksesta, jossa oli 4,0 g oleiinihappoa (14,0 mmoolia), 1,8 g oksa-
 25 yylikloridia (14,0 mmoolia), 1,1 g pyridiiniä (14,0 mmoolia), katalyyttinen määrä DMF ja 50 ml CH₂Cl₂ ja jota sekoitettiin huoneenlämpötilassa yksi tunti. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja 50 ml CH₂Cl₂ lisättiin raakaan happokloridiin. Reaktioseos jäähdytettiin 0 °C:seen ja liuos,
 30 jossa oli 3,0 g [4α,5α]-4-(2-propenylyl)kolestan-3α-olia (7,0 mmoolia) 25 ml:ssa CH₂Cl₂, lisättiin tipoittain. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli ilman jäähäudetta. Reaktio

väkevöitiin tyhjössä ja raaka tuote puhdistettiin valmistavalla HPLC:llä (pitoisuusgradientti 0 - 5 % etyyliasettaatti : heksaaneja) antamaan 2,25 g (46 %) öljyä.

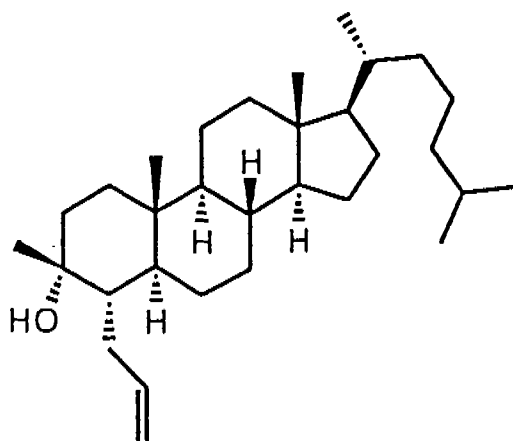
M.S. (FD) $MH^+ = 693$

5 Alkuaineanalyysi $C_{48}H_{86}O_2$:lle

	Laskettu	Havaittu
C	82,93	82,91
H	12,47	12,55

1H NMR ($CDCl_3$) δ 4,88 (s, 1H, HC-OCOCH₃), 4,98 (m, 2H, H₂=CH), 5,36 (m, 2H, -HC=CH-), 5,62 - 5,79 (m, 1H, HC=CH₂)

Esimerkki 100



(3B, 4a, 5a)-3-metyyli-4-(2-propenylyli)kolestan-3-olin valmistus

25 Liuos, jossa oli 2,0 g 4a-4-(2-propenylyli)kolestan-3-onia (4,7 mmoolia) 10 ml:ssa dietyylieetteriä, jäähdytettiin -78 °C:seen. Liuokseen lisättiin hitaasti 2,0 M metyylimagnesiumbromidiliuosta dietyylieetterissä. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli antaen sen hitaasti lämmitä huoneenlämpötilaan. Kyllästettyä ammoniumkloridiliuosta (aq.) lisättiin ja orgaaninen kerros eristettiin ja kuivatettiin $MgSO_4$:llä ja väkevöitiin tyhjössä. Raaka tuote puhdistettiin flashkromatografisesti (8-%:inen etyyliasettaatti:heksaaneja) antamaan 620 mg tuotetta.

35 M.S. (FD) $MH^+ = 442$

Alkuaineanalyysi $C_{31}H_{54}O$:lle

	Laskettu	Havaittu
C	84,09	84,13
H	12,29	12,39

5 1H NMR ($CDCl_3$) d 4,98 - 5,14 (m, 2H, $H_2C=CH$), 5,91 - 6,08 (m, 1H, $HC=CH_2$)

Esimerkki T-1

Seuraavat esimerkit toteutettiin, jotta osoitettaisiin tämän keksinnön yhdisteiden kyky kiihdyttää LDL reseptorisynteesiä.

Menetelmä

Ihmisen LDL reseptoripromoottorin 1546 emäsparisekvenssiä levennettiin käyttäen polymeraasi ketjureaktiota. Reaktioseos, joka sisälsi 20 mmoolia kutakin synteettistä oligonukleotidia

5'-GCGCCATATGAGTCTTAAGTCCCAAAATTCTTATCATCAAT-3'

(Sekv. I.D. nro.:1) ja

5'-AAGCAAGCTTTCGCAGCCTCTGCCAGGCAGTGTCCCGACCCGGA-3',

(Sekv. I.D. nro.:2)

20 1 μg ihmisen genomi-DNA:ta puhdistettuna rauhassyöpäsolinjasta P3UCLA, 200 μM kutakin dATP, dGTP, dCTP ja TTP, 2,5 yksikköä Taq DNA-polymeraasia, 10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 0,1 % gelatiinia 100 μl :n lopputilavuuteen, altistettiin 30:lle 15 sekunnin syklille

25 96 °C:ssa, 30 sekunnin syklille 55 °C:ssa ja yhden minuttin syklille 72 °C:ssa. Aine altistettiin geelielektroforeesille 1-%:isella agarosigeelissä ja 1546 emäsparin jakso eristettiin ja pilkottiin restriktioentsyymillä Hind III:lla ja Nde I:llä. Tämä fragmentti sidottiin plasmidi pSP72:een (ProMega Biotech), joka oli aikaisemmin restriktioentsyyminukleaasi, joka oli pilkottu Hind III:lla ja Nde I:llä. Saatu vektori, pNLDLRP, oli restriktioendonukleaasi, joka oli pilkottu NdeI:llä ja Hind III:lla, ja aine ajettiin uudestaan 1-%:sella agarosigeelillä 1546 emäsparin LDL reseptorisekvenssin eristämiseksi uudestaan.

30

35

Plasmidivektori pSv2 muodostettiin pilkkoamalla plasmidi pSv2-globiini Hind III:lla ja Bgl II:lla, sitten sitomalla NruI-XhoI sitoja vektoriin. Plasmidia pSv2 globiinia on kuvattu U.S. patentissa nro. 4 775 624, joka
 5 kokonaisuudessaan on liitetty tähän viitteenä. Sitojalla oli seuraavat sekvenssit:

5'-AGCTTCGCGACTCGAGA-3' (Sekv.. I.D. nro.:3) ja
 5'-GATCTCTCGAGTCGCGA-3' (Sekv. I.D. nro:4). Saatu vektori pilkottiin pSv2-H NX:ssä, koska se sisälsi BamH I kohdan,
 10 NruI kohdan ja XhoI kohdan ja BglII kohdan. Plasmidin pAlc4(NRRL B-18783) Hind III-Bgl II fragmentti, joka sisälsi tulikärpäsän luriferaasigeeniä, sidottiin sitten plasmidin pSv2-HNXB:n Hin III-Bgl II kohtaan. Neomysiini resistenssiä vahvistava geeni sidottiin sitten saadun
 15 plasmidin Bam HI kohtaan muodostamaan plasmidi pSv2.

1546 emäsparin jakso eristettiin ja kloonattiin MdeI ja HindIII (osittain) restriktio pilkotuksi vektoriksi pSv2, joka sisälsi tulikärpäsän lusiferaasi tiedonvälitysgeniä ja geeniä neomysiiniresistenssille. Saatu vektori,
 20 pLDL-Luc1Neo-10, sisältää ihmisen LDL reseptoripromoottoria, joka ekspressoit tulikärpäsän lusiferaasigeeniä, geenikoodausta neomysiinin resistenssille, ampisilliinille vastustuskykyisen kohdan ja replikaation käynnistymisen.

Plasmidia pLDL-Luc 1 Neo-10 käytettiin jakamaan stabiilisti kiinalaisen hamsterin munasolut, käyttäen lipofektio reagenssia (Lipofection Reagent kit) ja menetelmää Gibco BRL Research Products Division life Technologies Inc:stä. Transformantit valittiin valitsemalla yksittäiset kannat, jotka oli kasvatettu Dulbeccon modifioidussa
 25 Eaglen elatusnesteessä, johon oli lisätty 10- μ g/ml naudan sikiön veriseerumia ja joka sisälsi 500 μ g/ml 25 hydroksikolesterolia. Valittiin solukanta (S27/B30), jolla oli korkein lusiferaasin tuotanto ja vähintään 50 %:n repressio genetisiin (G-418) läsnä ollessa. Kloonit S27/B30
 30 käytettiin seuraavassa pikakokeessa.
 35

Kehitettäessä soluun perustuvaa pikakoetta, on tärkeää, että on olemassa negatiivinen kontrolli. Virus SV40 promoottori on ideaalinen tätä tarkoitusta varten, koska sillä on SP1 jaksojen lukumäärä, joka kiihdyttää geenin kopiointia. Nämä jaksot eivät ole lopputuoterepressiosäädön alaisia; mutta niillä on korkea sekvenssihomologisuusaste 16 emäsparia pitkällä sterolireaktio-osalla, joka on LDL reseptoripromoottorissa. Täten SV40 promoottorin tulisi olla herkkä menetelmä pikakokeeksi aineille, jotka indusoivat ei-spesifistä transskriptiota.

Kiinalaisen hamsterin munasolut transvektoitettiin uudestaan vektorilla pSV2AL-A 5', joka sisälsi SV40 promoottoria, joka ekspressoitui tulikärpäsen lusiferaasigeeniä, ja toisella vektorilla pSV2 NeoBam, joka sisälsi neomysiiniresistenssikohdan. Transfektiot toteutettiin käyttäen lipofektiinireagenssia ja Gibco BRL Research Products Division Life Technologies Inc:in menetelmää. Transformantit valittiin valitsemalla yksittäiset viljelmät, jotka oli kasvatettu Dulbeccon modifioitussa Eaglen elatusnesteessä, johon oli lisätty 10-%:ista naudan sikiön veriseerumia ja joka sisälsi 500 µg/ml genetisiiniä. Yksittäiset kloonit valittiin, liuotettiin ja analysoitiin lusiferaasivalmistuksen suhteen. Kloonilla SV40 LN 9 havaittiin olevan korkein lusiferaasiekspressio ja sitä käytettiin negatiivisena kontrollina LDL reseptorin pikakokeessa.

Koe

A. Elatusneste

Sekä "kasvuelatusneste" että "näyte-elatusneste" valmistettiin samasta peruselatusnesteestä, joka koostui kolmesta osasta Dulbeccon modifioitua Eaglen elatusnestettä ja yhdestä osasta (tilavuus) Ham'in F-12 elatusnestettä, johon oli lisätty 10^{-8} M seleniumia, 50 µM etanoli-amiinia ja 20 mM hydroksietyylipiperatsiini etaanisulfonylhappoa. Kasvuelatusneste oli peruselatusneste, johon oli lisätty 5-%:ista tilavuus/tilavuus naudan sikiön verisee-

rumia. Näyte-elatusneste oli peruselatusneste, johon oli lisätty 0,5-%:ista Bovuminar Cohn jae V jauhetta (naudan albumiini) ja 0,5 µg/ml 25-hydroksikolesterolia.

B. Soluviljelmä

5 Rekombinaatti CHO solulinjoja (klooni 8, klooni 527B30 tai klooni SV40-LN9) kasvatettiin 5×10^4 solua/-kuoppa 24-kuoppalevyssä 0,5 ml:ssa kasvuelatusnestettä ja inkuboitiin 37 °C:ssa kostutetussa ilmakehässä, jossa oli 5 % CO₂. Kun solukko oli yhtenäinen (2 - 3 päivää viljelyn aloittamisesta), kasvuelatusneste poistettiin, monokerrokset pestiin kerran elatusnesteellä (0,5 ml/kuoppa) ja joko liuotinta tai koeyhdistettä lisättiin kuoppien kolminkertaistamiseksi. Levyjä inkuboitiin vielä 24 tuntia ja sitten analysoitiin lusiferaasiaktiivisuus.

15 C. Lusiferaasiaktiivisuus

 Kukin kuoppa pestiin kerran fosfaatilla puskuroidulla suolaliuoksella ilman Ca⁺² tai Mg⁺² (500 µl/kuoppa) ja solumonokerros liuotettiin lisäämällä 100 µl/kuoppa näytepuskuria, joka sisälsi 1-%:ista Triton X-100, 25 mM glyssyyliiglysiiniä (pH 7,8), 15 mM MgSO₄, 1 mM ditiotreitolia ja 1 mM ATP. 50 µl:n osa kutakin lyaattia laimennettiin 425 µl:ksi edeltävässä näytepuskurissa ja pantiin LKB valaisumittariin ja reaktio käynnistettiin injektoimalla 25 µl 1mM lusiferiinia. Ulostuleva valomäärä 25 lusiferaasireaktiosta ilmoitettiin huippuluminesenssina ja on suhteessa lusiferaasipitoisuuteen. Kokonaisproteiinipitoisuus määritettiin kullekin lyaatille (n. 5 µl) Coomassien kirkassini G250:n sitoutumisella proteiiniproteiininäytteellä (Bio Rad Laboratories).

30 Lusiferaasiaktiivisuus ilmoitettiin valoyksikköinä/µg proteiinia (spesifinen aktiivisuus). Pienimpänä vaikuttavana annoksena määritettiin aineen moolipitoisuus, joka vaaditaan lusiferaasin spesifisen aktiivisuuden kasvamiseksi 30 %:lla suhteessa kontrolliin. Suhteellinen 35 vaikuttava annos on yhdisteen lusiferaasi spesifinen ak-

tiivisuus jaettuna yhdisteen $[4\alpha(E),5\alpha]-4-(2\text{-butenyyli})\text{-kolestan-}3\alpha\text{-olin}$ spesifisellä aktiivisuudella. Numero, joka on pienempi kuin 1, edustaa yhdistettä, joka on aktiivisempi kuin $[4\alpha(E),5\alpha]-4-(2\text{-butenyyli})\text{kolestan-}3\alpha\text{-oli}$

5 kiihdyttämään LDL reseptorin promoottoritranskriptiota.

Tulokset tämän keksinnön yhdisteiden arvioimisesta on esitetty seuraavassa taulukossa I.

Taulukko I

(in vitro lusiferaasiaktiivisuuskoe)

10	Esim.				
	nro	MED	RED	MA%	
	3 ¹	2,2	0,97	144	
	4 ¹	2,2	1,00	80	
	5 ²	5,8	1,02	121	
15	5 ²	2,3	0,20	120	
	5 ²	2,3	1,00	135	
	6 ²	21,7	0,96	72	
	6 ²	21,7	1,90	67	
	7 ²	11,2	1,97	46	
	7 ²	45	45	30	
20	8 ¹	5,6	2,50	51	
	9 ¹	2,0	0,88	60	
	10 ¹	10,3	4,5	55	
	11 ¹			NA	
	12 ¹			NA	
	13 ¹			NA	
	14 ¹			NA	
25	15 ¹			NA	
	16 ¹			NA	
	17 ¹			NA	
	18 ¹			NA	
	19 ¹			NA	
	20 ¹			NA	
30	21 ¹			NA	
	22 ¹			18% (NA)	
	23 ²	5,02	0,44	49	
	23 ²	10,12	1,8	37	

35

Esim.

	nro	MED	RED	MA%
	24 ²	8,9	1,57	37
	24 ²	8,9	0,78	48
	24 ²	1,8	0,32	87
5	25 ²	4,1	0,72	89
	25 ²	4,1	0,36	64
	25 ²	8,3	1,46	79
	26 ²	9,1	0,79	59
	26 ²	9,1	1,6	34
	27 ²	9,1	4,0	32
10	29 ²	14	2,5	37
	30 ²	8,9	3,2	76
	30 ¹	17,3	3,2	65
	30 ¹	8,9	0,8	92
	31 ²	9,7	4,3	46
	32 ²	8,6	3,8	36
	33 ²	9,8	4,3	28
15	34 ²	4,8	2,1	38
	35 ¹			NA
	36 ²	40	17,6	20
	36 ¹			NA
	37 ¹			NA
	38 ²	84	7,37	33
	38 ²	42	3,7	58
20	39 ¹			NA
	40 ²	2,3	1,0	99
	40 ¹	2,9	0,51	110
	40 ¹	5,9	0,52	71
	41 ¹			NA
	42 ¹			NA
25	43 ¹			NA
	44 ²	5,8	2,5	62
	44 ²	1,16	1,05	78
	44 ¹	11,6	2,04	77
	44 ¹	2,9	0,5	56
	45 ¹			NA
	46 ¹			NA
30	47 ¹			NA
	48 ¹			NA
	49 ¹			NA
	50 ¹	6,2	1,09	81
	50 ¹	6,2	0,54	92

35

Esim.

nro

MED

RED

MA%

	512	1,28	1,16	173
	511	6,4	1,13	112
5	521	1,5	0,13	121
	521	12,3	1,08	85
	521	1,5	0,26	136
	521	3	0,53	86
	521	6,2	0,54	84
	531	11,9	2,1	57
	531	5,9	0,52	99
10	541	12,3	1,08	102
	541	12,3	4,3	92
	551			NA
	561			NA
	581			NA
	621			NA
15	642	6,2	2,73	141
	642	12,4	1,09	49
	642	6,2	1,10	70
	642	6,2	5,46	77
	642	24,9	8,8	119
	652	11,3	5	100
20	652	22,5	3,96	71
	652	11,3	9,9	38
	661	12	1,06	73
	661	6	0,53	73
	661	24	21,8	100
	661	6	5,45	105
25	661	3	1,06	118
	672	5,5	0,48	116
	672	5,0	5,0	118
	672	22,2	20,2	74
	671	11,1	3,9	111
	671	22,2	1,9	76
	681	2,4	0,2	42
30	681			NA
	681	11,8	10,7	33
	681	47,4	16,7	39
	681			NA
	692	46,5	20,5	48
	691	46,5	16,4	39
35	691	23,2	8,2	47
	701			NA

	Esim. nro	MED	RED	MA%
	711			NA
	732	11,0	0,97	27
5	771	40,8	4,6	60 (n=4)
	791	40,3	5,4	29 (n=2)
	801			NA
	811	44,9	7,9	32
	851	2,7	0,36	138 (n=2)
	861	5,6	2,0	89
10	871	23,2	8,3	14 (n=2)
	891	2,8	0,25	102 (n=2)
	911	2,7	0,24	96 (n=2)
	931	4,9	0,43	131 (n=2)
	961	8,3	0,73	93 (n=3)
	981	22	2,0	66

15

¹ Kokeet käyttäen 30-%:ista lusiferaasi aktiivisuutta rajana (ts. testattavalla yhdisteellä on oltava 30 % suurempi valoemissio kuin esimerkin 4 kontrolliyhdisteellä)

20 ² Kokeet käyttäen 15 %:n lusiferaasi aktiivisuutta rajana (ts. testattavalla yhdisteellä on oltava 15 % suurempi valoemissio kuin esimerkin 4 kontrolliyhdisteellä)

MED on minimi vaikuttava annos

25 RED on suhteellinen vaikuttava annos (verrattuna esimerkin 4 yhdisteeseen)

MA on maksimi aktiivisuus (%) suhteessa kontrolliin

NA ei ole aktiivinen

Näytteiden lukumäärä tässä kokeessa on yksi (n = 1), jollei toisin ilmoiteta.

30 Seuraava jakso kuvaa eläinkokeita, jotka kuvaavat tämän keksinnön yhdisteiden ja menetelmän kolesterolia alentavaa tehokkuutta.

Esimerkki T-2

35 Keksinnön yhdisteiden in vivo testaus tehtiin kuten seuraavassa on kuvattu:

Syyrialaisia kultahamstereita ruokittiin kolesteroli-
 liruokavaliolla, joka oli valmistettu 10 %:sta maissiöljyä
 ja 0,12 %:sta kolesterolia (paino) Purina 5001 Rodent
 Chow:ssa indusoimaan liikakolesterolisuutta veressä.

- 5 Kahden viikon kuluttua kolesterolikoeruokavaliolla
 olleista hamstereista otettiin verta silmäkuopasta kevyen
 CO₂-nukutuksen aikana. Seerumi valmistettiin ja kolesteroli
 analysoitiin käyttäen kaupallista koejärjestelmää (Cho-
 lesterol High Performance, Single Vial™, Boehringer Man-
 10 nheim Corp.:in tuote, Indianapolis, IN, USA). Hamsterit
 erotettiin kuuden eläimen ryhmiksi, niin että kullakin
 ryhmällä oli likimäärin sama kolesterolitasojen keskiarvo
 veriseerumissa. Keksinnön valitut yhdisteet yhdistettiin
 kolesterolikoeruokavalioon 0,2-%:isesti (paino/paino) ja
 15 syötettiin hamstereille yhden viikon aikana. Hamstereiden
 kontrolliryhmässä jatkettiin kolesterolikoeruokavaliota
 saman yhden viikon aikana. Keksinnön yhdisteiden annos
 vastasi 100 mg/kg/päivä, perustuen hamstereiden painoon ja
 niiden ruokavalioon. Koejakson jälkeen eläimistä otettiin
 20 verta ja veriseerumin kolesteroli määritettiin kuten edel-
 lä.

Koetulokset:

- 25 Keskimääräisiä veriseerumin kolesteroliarvoja koeh-
 amstereista verrattiin arvoihin kontrolliryhmästä ja mer-
 kittävyys tutkittiin $\leq 0,05$ tasolla käyttäen Dunnettin tes-
 tiä. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa I:

Taulukko 1

5	Tutkittu yhdiste	Seerumi Keski-arvo	Kolesteroli $\pm$ SEM (mg/dl)	Kolesterölin prosentuaalinen aleneminen kontrolliarvoon nähden*	
				Keski-arvo	$\pm$ SEM
		337	11	0,0	3,1
10	(1)	163	9	51,8	2,7**
	(2)	171	5	49,2	1,6**
	(3)	181	15	46,3	4,4**
	(4)	198	11	41,4	3,4**
	(5)	202	13	40,2	3,8**
	(6)	209	13	38,0	4,0**
	(7)	209	15	38,0	4,4**
	(8)	210	14	37,8	4,2**
	(9)	222	13	31,2	4,0**
15	(10)	234	12	30,7	3,4**
	(11)	240	30	28,8	8,8**
	(12)	245	14	27,4	4,0**
	(13)	253	24	25,1	7,0**
	(14)	259	47	23,2	5,6
	(15)	261	6	22,6	1,9
	(16)	267	22	20,8	6,4
	(17)	269	23	20,2	6,8
	(18)	309	17	8,6	5,1
20	(19)	312	23	7,5	6,7
	(20)	328	37	2,7	11,1
	(21)	330	19	2,0	5,7
	(22)	345	28	-2,4	8,2
	(23)	364	26	-7,8	7,7
	(24)	422	42	-25,0	12,3
	(25)	464	22	-37,4	6,4

*negatiiviset arvot osoittavat, että veriseerumin kolesteroli kasvoi suhteessa kontrolliin.

**poikkeaa kontrolliarvosta Dunnettin testillä arvossa $p \leq 0,05$

Yhdisteiden tunnistaminen taulukkoa 2 varten:

4 α -alkyyli-5-kolestan-3 α -oli

[4 α ,5 α]-4-(2-propenyyl)i-kolestan-3 α -oli

4 α -(4-fluoribentsyyli)-kolestan-3 α -oli

- (3 α , 4 α , 5 α , 20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli
 4 α -bentsyylikolestan-3-oni
 (2 α , 3 α , 5 α)-2-(2-propenyyli)kolestan-3-oli
 4 α -(4-trifluorimetoksisibentsyyli)kolestan-3 α -oli
 5 [4 α (E), 5 α]-4-92-butenyyli)kolestan-3 α -oli
 (3 α , 4 α , 5 α , 20 β)-4-propyylikolestan-3-oli
 (3 α , 4 α)-17-[4-(metyylipentyyli)oksi]-4-(2-propenyyli)an-
 drostan-3-oli
 4 α -(4-jodibentsyyli)kolestan-3 α -oli
 10 (3 β , 4 α , 5 α)-4-(2-butenyyli)kolestan-3-oli
 (3 α , 4 α)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3, 20-dioli
 (3 α , 4 α , 5 α)-4-(3, 3-dibromi-2-propenyyli)kolestan-3-oli
 4 α -(4-hydroksibentsyyli)kolestan-3 α -oli
 4 α -4-(2-propenyyli)kolestan-3-oni
 15 (3 β , 4 α , 5 α)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli
 (3 α , 4 α)-17-(fenyylimetoksi)-4-(2-propenyyli)androstan-3-
 oli
 4 α -bentsyylikolestan-3-oni
 (3 α , 4 α , 5 α)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-oli-oktadekanoaatti
 20 4-(2-propenyyli)kolestan-3-oni
 (3 β , 4 α , 5 α , 20 β)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3-amiini
 N-[(3 α , 4 α , 5 α , 20 β)-4-(2-propenyyli)kolestan-3-yyli]asetami-
 di
 5 α -kolestan-3 α -oli
 25 (3 α , 4 α , 5 α , 20 β)-4-(2-propenyyli)kolestaani-3-amiini
Esimerkki T-3
 Esimerkin 5 yhdisteen apinakoetutkimus veriplasman
 kolesterolitasojen muuttamiseksi
Tarkoitus:
 30 Tutkitaan vaikutusta kolesterolipitoisuuksien alen-
 tamiseen veriplasmassa lyhyellä aikavälillä afrikkalaisis-
 sa vihreissä apinoissa.
Menetelmä:
 Kuudelle afrikkalaiselle vihreälle apinalle annet-
 tiin kolesterolipitoisuutta kasvattavaa ruokavaliota, joka

sisälsi 16,4 % silavaa ja 0,33 % kolesterolia, kahden viikon aikana, jotta voitaisiin määrittää kolesterolin perustaso. Tämän jälkeen annettiin kaksi päivittäistä annosta esimerkin 5 yhdistettä [14 α ,5 α]-4-(2-propenyyl)kolestan-3 α -olia niiden ruoassa 25 mg/kg/päivä päivittäisenä kokonaisannoksena. 10 päivän kuluttua lääkeannos nostettiin 50 mg:ksi/kg/päivä kolmeksi lisäviikoksi, mitä seurasi jakso, jolloin mitään lääkettä ei annettu ja kolesterolipitoisuutta kasvattavaa ruokavaliota jatkettiin. Verinäytteet otettiin ilmoitettuina päivinä ja veriplasma preparoitiin analyysiä varten. Kolesterolipitoisuus määritettiin entsyymaattisilla standardimenetelmillä (Allain et al.:in menetelmä käyttäen määrittystä varten korkean suorituskyvyn kolesterolireagenssia nro. 236691, Boehringer Mannheim Co:n tuote, Indianapolis, Indiana USA).

Tulokset:

Koetulokset on esitetty seuraavissa taulukoissa 3(a) ja 3(b)

20

Eläin nro	Päivä -12	Päivä -5	Päivä 0	Päivä 5	Päivä 8	Päivä 4
Annos ¹	ei yhtään	ei yhtään	ei yhtään	25	25	50

25

1	270	280	275	268	208	184
2	263	400	382	411	386	878
3	182	185	183	175	172	155
4	197	190	194	182	184	159
5	208	202	205	189	174	148
6	254	295	275	252	249	211

30

Keski- arvo	246	258	252	244	226	205
SEM ²	27	34	31	36	35	36

35

Taulukko 3(b)

	Eläin nro	Päivä 12	Päivä 20	Päivä 7 Ilman lääket- tä	Päivä 14 Ilman lääket- tä	Päivä 21 Ilman lääkettä
5	Annos ¹					
	1	172	188	209	226	270
	2	276	314	251	311	344
10	3	159	143	165	176	193
	4	169	161	192	159	168
	5	157	142	174	173	216
	6	206	206	200	213	246
	Keski- arvo	190	192	199	210	240
15	sem ²	19	26	12	23	26

¹annos mg/kg/päivä²SEM = keskiarvon standardivirhe

20

Johtopäätökset:

25 Tästä koetutkimuksesta nähdään, että [4 α ,5 α]-4-(2-propenyyl)kolestan-3 α -oli oli tehokas kolesterolitasojen alentaja veriplasmassa, käytetyssä eläinmallissa. Kuten edellä on todettu, tämän keksinnön yhdisteet ovat hyödyllisiä kiihdytettäessä LDL reseptorin synteesiä kromosomitasolla ja alennettaessa veriseerumin kolesterolitasoja. Termi "kiihdyttää" tarkoittaa, että kaavan I yhdisteen läsnäolo nisäkkäässä kasvattaa nopeutta, jolla RNA polymeraasi voi sitoutua geenin alkuun, joka koodaa LDL reseptoreita ja käynnistää mRNA:n synteesin mainituille LDL reseptoreille. Korkeammat määrät LDL reseptori mRNA:ta johtaa vuorostaan vastaavasti lisämäärään LDL reseptoreita. Ei ole selvää, tapahtuuko tämä kiihdytys kasvattamalla

30 LDL reseptorisynteesiä, poistamalla ligandi, joka on

35

vastuussa lopputuotteen repressiosta vai näiden syiden yhdistelmästä. Lisäksi tämän keksinnön suoritusmuotona on menetelmä LDL reseptorisynteesin kiihdyttämiseksi, jossa menetelmässä annetaan hoitoa tarvitsevalle nisäkkäälle LDL reseptorisynteesiä kiihdyttävä annos kaavan I yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia. Tämän keksinnön toisena suoritusmuotona on menetelmä LDL kolesterolitasojen alentamiseksi veriseerumissa, jossa menetelmässä annetaan hoitoa tarvitsevalle nisäkkäälle veriseerumin LDL kolesterolia alentava annos kaavan I yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia. Tämän keksinnön lisäsuoritusmuodossa annetaan hoitoa tarvitsevalle nisäkkäälle valtimon hauraskovetustautia inhiboiva annos kaavan I yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia. Edelleen keksinnön lisäsuoritusmuotona on keksinnön yhdisteiden käyttö aikaansaamaan kolesterolin siirtyminen HDL partikkeleista LDL partikkeleihin.

Tässä käytettynä termi "vaikuttava määrä" tarkoittaa tämän keksinnön yhdisteen määrää, joka pystyy kiihdyttämään LDL reseptorisynteesiä ja alentamaan LDL kolesterolitasoja veriseerumissa ja/tai inhiboimaan valtimon hauraskovetustautia. Tämän keksinnön LDL reseptorisynteesin kiihdyttäminen, seerumin LDL/kolesterolin alentaminen veriseerumissa ja valtimon hauraskovetustaudin esto käsiteltävät sekä terapeuttisen lääke- ja/tai ennaltaehkäisevän hoidon, tarkoituksenmukaisesti. Tämän keksinnön mukaisen yhdisteen annettava spesifinen annos terapeuttisen ja/tai ennaltaehkäisevän vaikutuksen aikaansaamiseksi määritetään tietenkin tapaukseen liittyvien erityisten olosuhteiden mukaan ottaen huomioon esimerkiksi annettava yhdiste, antoreitti ja hoidettava sairaus. Tavallinen päivittäinen annos sisältää ei-myrkyllisen annoksen alueelta n. 0,01 mg/kg - n. 50 mg/kg elopainoa tämän keksinnön vaikuttavaa yhdistettä. Edullinen päivittäinen annos on tavallisesti

n. 0,05 mg/kg - n. 20 mg/kg ja edullisesti n. 0,1 mg/kg - n. 10 mg/kg.

Yhdisteet voidaan antaa monia reittejä pitkin, mukaanlukien oraallinen, peräsuolensisäinen, ihonalainen, 5 laskimonsisäinen, lihaksensisäinen ja nenänsisäinen antomuoto. Tämän keksinnön yhdisteet formuloidaan edullisesti ennen antamista. Täten tämän keksinnön lisäsuoritusmuotona on farmaseuttinen valmistemuoto, joka sisältää vaikuttavan määrän kaavan I yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa ja farmaseuttisesti hyväksyttävän kantoaineen, laimentimen tai täyteaineen.

Tällaisissa valmistemuodoissa on vaikuttavaa aineosaa 0,1 paino-% - 99,9 paino-% valmistemuodosta. "Farmaseuttisesti hyväksyttävällä" tarkoitetaan kantoainetta, 15 laimenninta tai täyteainetta, joiden on oltava yhteensopivia valmistemuodon muiden aineosien kanssa eivätkä ole haitallisia potilaalle.

Nämä farmaseuttiset valmistemuodot valmistetaan tunnettujen menetelmien avulla käyttäen hyvin tunnettuja 20 ja helposti saatavissa olevia aineosia. Tämän keksinnön koostumusten valmistuksessa vaikuttava aineosa sekoitetaan tavallisesti kantoaineen kanssa tai laimennetaan kantoaineella tai suljetaan kantoaineeseen, joka voi olla kapselin, paperin tai muun säiliön muodossa. Kun kantoaine 25 toimii laimentimena, se voi olla kiinteä, puolijähmeä tai nestemäinen aine, joka toimii apuaineena, liuottimena tai väliaineena vaikuttavalle aineosalle. Täten koostumukset voivat olla tablettien, pillereiden, jauheiden, suspensioiden, emulsioiden, liuosten, siirappien, aerosolien 30 (kiinteässä tai nestemäisessä väliaineessa), voiteiden, jotka sisältävät aina 10 paino-%:iin asti vaikuttavaa yhdistettä, pehmeiden ja kovien gelatiinikapseleiden, peräpuikkojen, steriilien injektoitavien liuosten, steriilisti pakattujen jauheiden ja vastaavien, muodossa.

Farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät vaikuttavaa aineosaa, voivat olla oraalista käyttöä varten sopivassa muodossa, esimerkiksi tabletteina, vesipitoisina tai öljymäisinä suspensioina, dispergoituvina jauheina tai rakeina, emulsioina, kovina tai pehmeinä kapseleina, tai siirappeina tai eliksiireinä.

Oraalista käyttöä varten tarkoitetut koostumukset voidaan valmistaa millä tahansa alalla tunnetulla menetelmällä farmaseuttisten koostumusten valmistamiseksi ja tällaiset koostumukset voivat sisältää yhtä tai useampaa ainetta valittuna ryhmästä makeutusaineet, makuaineet, väriaineet ja säilöntäaineet, farmaseuttisesti syötäväksi kelpaavien valmisteiden aikaansaamiseksi. Tabletit sisältävät vaikuttavia aineosia seoksina ei-myrkyllisten farmaseuttisesti hyväksyttävien täyteaineiden kanssa, jotka ovat sopivia tablettien valmistamiseen. Näitä täyteaineita voivat esimerkiksi olla inertit laimentimet, kuten kalsiumkarbonaatti, natriumkarbonaatti, laktoosi, kalsiumfosfaatti tai natriumfosfaatti; granulointi- ja disintegroitaineet, esimerkiksi maissitärkkelys tai algiinihappo; sideaineet, esimerkiksi tärkkelys, gelatiini tai arabikumi ja voiteluaineet, kuten esimerkiksi magnesiumstearaatti, steariinihappo tai talkki. Tabletit voivat olla päällystämättömiä tai ne voidaan päällystää tunnettujen menetelmien avulla disintegroinnin ja absorption hidastamiseksi maha-suolistoseudulla ja täten aikaansaadaan viivytetty vaikutus pitempänä ajanjaksona.

Kaavan (I) yhdisteitä voidaan antaa myös peräpuikkojen muodossa lääkkeen peräsuolensisäistä antomuotoa varten. Nämä koostumukset voidaan valmistaa sekoittamalla lääke sopivan ei-ärsyttävän täyteaineen kanssa, joka on kiinteä normaali lämpötiloissa, mutta nestemäinen ruumiin lämmössä. Tällaisia aineita ovat kaakaovoi ja polyetyleeniglykolit.

- Seuraavat valmistemuotoesimerkit ovat pelkästään kuvaavia eikä niiden tarkoituksena ole rajoittaa keksinnön piiriä millään tavalla. "Vaikuttava aineosa" tarkoittaa tietenkin kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseut-
- 5 tisesti hyväksyttävää suolaa.

Valmistemuoto 1

Kovat gelatiinikapselit valmistetaan käyttäen seuraavia aineosia:

	Määrä
	<u>(mg/kapseli)</u>
10 vaikuttava aineosa	250
tärkkelys, kuivattu	200
magnesiumstearaatti	<u>10</u>
kokonaismäärä	460 mg

15 Valmistemuoto 2

Tabletti valmistetaan käyttäen seuraavia aineosia:

	Määrä
	<u>(mg/kapseli)</u>
vaikuttava aineosa	250
20 selluloosa, hienokiteinen	400
piidioksidi	10
steariinihappo	<u>5</u>
kokonaismäärä	665 mg

- Aineosat sekoitetaan ja puristetaan tableteiksi, jotka painavat 665 mg.
- 25

Valmistemuoto 3

Valmistetaan suihkeliuos, joka sisältää seuraavat aineosat:

	Paino
30 vaikuttava aineosa	0,25
etanoli	25,75
ponnekaasu 22	
(klooridifluorimetaani)	<u>70,00</u>
kokonaismäärä	100,00

- 5 Vaikuttava yhdiste sekoitetaan etanolin kanssa ja seos lisätään osaan ponnekaasua 22, jäähdytetään -30 °C ja siirretään täyttölaitteeseen. Tarvittava määrä syötetään sitten ruostumattomaan terässäiliöön ja laimennetaan jäljellejääneellä ponnekaasulla. Sitten venttiiliyksiköt kiinnitetään säiliöön.

Valmistemuoto 4

Tabletit, jotka sisältävät 60 mg vaikuttavaa aineosaa, valmistetaan seuraavasti:

10	vaikuttava aineosa	60 mg
	tärkkelys	45 mg
	hienokiteinen selluloosa	35 mg
	polyvinyylipyrrolidoni	4 mg
	(10-%:isena liuoksena vedessä)	
15	natriumkarboksimeetyylitärkkelys	4,5 mg
	magnesiumstearaatti	0,5 mg
	talkki	<u>1 mg</u>
	kokonaismäärä	150 mg

- 20 Vaikuttavan aineosan, tärkkelyksen ja selluloosan annetaan kulkea nro. 45 mesh U.S. seulan läpi ja sekoitetaan huolellisesti. Vesipitoinen liuos, joka sisältää polyvinyylipyrrolidonin, sekoitetaan jäljellejääneen jauheen kanssa ja sitten seoksen annetaan kulkea nro. 40 mesh U.S. seulan läpi. Näin valmistetut rakeet kuivataan 50 °C:ssa
- 25 ja niiden annetaan kulkea nro. 18 mesh U.S. seulan läpi. Natriumkarboksimeetyylitärkkelys, magnesiumstearaatti ja talkki, joka aikaisemmin on kulkenut nro. 60 mesh U.S. seulan läpi, lisätään sitten rakeisiin, jotka sekoittamisen jälkeen puristetaan tablettikoneessa antamaan tabletteja, jotka painavat 150 mg.
- 30

Valmistemuoto 5

Kapselit, jotka sisältävät 80 mg vaikuttavaa aineosaa, valmistetaan seuraavasti:

	vaikuttava aineosa	80 mg
5	tärkkelys	59 mg
	hienokiteinen selluloosa	59 mg
	magnesiumstearaatti	<u>2 mg</u>
	kokonaismäärä	200 mg

10 Vaikuttava aineosa, selluloosa, tärkkelys ja magnesiumstearaatti sekoitetaan, annetaan kulkea nro. 45 mesh U.S. seulan läpi ja täytetään koviin gelatiinikapseleihin 200 mg:n määrinä.

Valmistemuoto 6

15 Peräpuikot, jotka sisältävät 225 mg vaikuttavaa aineosaa, valmistetaan seuraavasti:

	vaikuttava aineosa	225 mg
	tyydyttyneitä rasvahappo glyseridejä	<u>2000 mg</u>
	kokonaismäärä	2225 mg

20 Vaikuttavan aineosan annetaan kulkea nro. 60 mesh U.S. seulan läpi ja suspendoidaan kyllästettyihin rasvahappoglyserideihin, jotka aikaisemmin on sulatettu käyttäen alhaisinta tarvittavaa lämpötilaa. Sitten seos kaadetaan peräpuikkomuottiin, jonka nimellinen kapasiteetti on 2 g, ja annetaan jäähtyä.

Valmistemuoto 7

25 Suspensiot, joista kukin sisältää 50 mg vaikuttavaa aineosaa/5 ml annosta, valmistetaan seuraavasti:

	vaikuttava aineosa	50 mg
	natriumkarboksimeetyyliselluloosa	50 mg
30	siirappi	1,25 ml
	bentsoehappoliuos	0,10 ml
	makuaine	q.v.
	väriaine	q.v.
	puhdistettua vettä	5 ml:ksi

- 5 Vaikuttavan aineosan annetaan kulkea nro. 45 mesh U.S. seulan läpi ja sekoitetaan natriumkarboksimeetylliselluloosan ja siirapin kanssa muodostamaan pehmeä tahna. Bentsoehappoliuos, makuaine ja väriaine laimennetaan osalla vedestä ja lisätään sekoittaen. Sitten lisätään riittävästi vettä halutun tilavuuden aikaansaamiseksi.

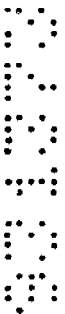
Valmistemuoto 8

Laskimonsisäinen valmistemuoto voidaan valmistaa seuraavasti:

- | | | |
|----|------------------------|---------|
| 10 | vaikuttava aineosa | 100 mg |
| | isotooninen suolaliuos | 1000 ml |

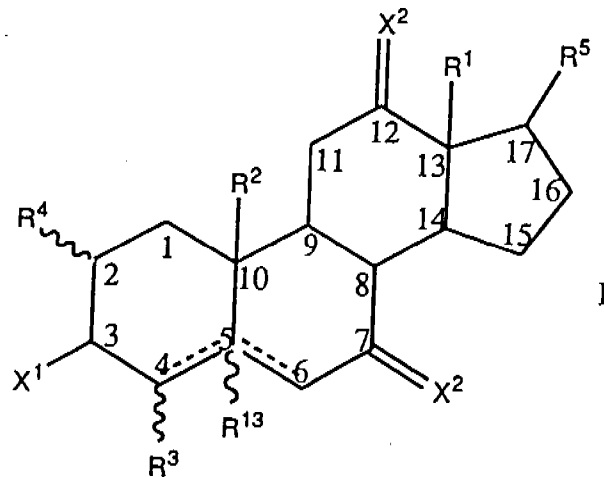
Edeltävien aineosien liuos annetaan tavallisesti laskimonsisäisesti potilaalle nopeudella 1 ml/minuutti.

- 15 Keksintö voi olla muina spesifisinä suoritusmuotoina poikkeamatta keksinnön hengestä tai pääominaisuuksista. Tämän keksinnön suoritusmuotoja pidetään täten kaikin tavoin kuvaavina eikä rajoittavina, keksinnön piiriä kuvaavat paremminkin liitetyt patenttivaatimukset kuin edeltävä kuvaus ja kaikki muutokset, jotka kuuluvat patenttivaatimusten piiriin, liittyvät suoritusmuotoon.
- 20



Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä yhdisteen, jolla on kaava (I) tai sen
5 farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi;

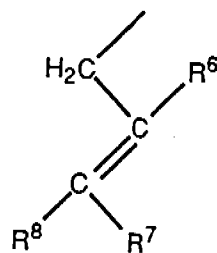


jossa:

20 R¹ on haarautumaton C₁-C₄-alkyyli tai C₁-C₄-haloge-
nialkyyli;

R² on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

R³ on vety, C₁-C₆-alkyyli, C₁-C₆-halogeenialkyyli tai
ryhmä



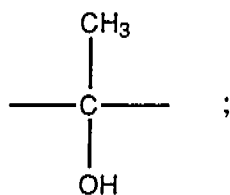
jossa R⁶ on vety, halogeeni, C₁-C₄-alkyyli, C₁-C₄-halo-
geenialkyyli, C₂-C₄-alkenyyli tai C₂-C₄-halogeenialkenyyli;
R⁷ on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

- R^6 ja R^7 ovat yhdistyneet hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, muodostaen substituoidun tai substituomattoman C_5-C_6 -sykloalkenyylin, substituoidun tai substituomattoman C_5-C_6 -sykloalkaanidienyylin, substituoidun fenyylin tai substituomattoman tai substituoidun heterosyklisen renkaan;
- R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni;
- R^4 on vety, $=C-X^4$, $-CH_2CH=C(X^4)_2$, substituoitu bentsyyli tai $-(CH_2)_n-X^4$, jossa $n = 1 - 6$ ja X^4 on riippumattomasti vety, $-OH$, C_1-C_6 -alkyyli, C_1-C_6 -halogeenialkyyli, C_1-C_6 -alkoksi, C_1-C_6 -halogeenialkoksi, substituoitu tai substituimaton fenyyli, substituoitu tai substituimaton fenoksi, substituoitu tai substituimaton bentsyylioksi, halogeeni, $-SH$ tai $-S(C_1-C_4\text{-alkyyli})$ tai monosyklinen heterosyklinen rengas;

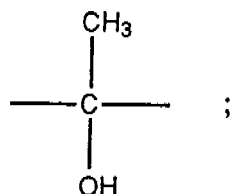
R^5 on ryhmä



- jossa A on sidos, $-O-$, $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH(CH_2CH_3)-$, $-CH$ -(halogeeni)-, $-C$ (halogeeni) $_2-$ tai

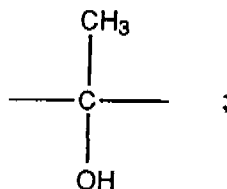


ja Z on sidos $-O-$, $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH(CH_2CH_3)-$, $-CH$ (halo)-, $-C$ (halo) $_2-$, tai



edellyttäen, että ainoastaan toinen A:sta ja Z:stä on -O-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

5



R¹⁰ on

10

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu, haarautunut tai haarautumaton radikaali, joka on johdettu C₁-C₁₂-alkaanista, tai

15

(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu, haarautumaton tai haarautunut, tyydyttymätön radikaali, joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

20

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai useampia, samoja tai erilaisia ryhmästä hydroksi, -CH₂N(alkyyli)₂, asetamido, substituoitu amino, amino, merkapto, -S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä hiiliatomia voi kumpikin olla sitoutuneena samaan happiatomiin muodostaen epoksidin;

25

X³ on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyyli, substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substituoimaton tai substituoitu bentsyylioksi, halogeeni, halogeenialkyyli, OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-alkenylyli, -OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli, -C(O)(C₂-C₆-alkenylyli), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli), -NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², jossa R¹¹ ja R¹² ovat riippumattomasti vety tai C₁-C₄-alkyyli;

30

R¹³ on vety, edellyttäen, että steroidiydin on tyydyttynyt tai R¹³ ei ole läsnä kun ydin on tyydyttymätön asemissa 4,5 tai 5,6;

35

X¹ on hydroksi, asyylioksi, amino, asetamido, substituoitu amino, merkapto, =O tai (C₁-C₄-alkoksi)karbonyylioksi; ja

kukin X^2 on riippumattomasti happi; vety, vety; vety, hydroksi; vety, merkapto; halogeeni, vety; tai halogeeni, halogeeni,

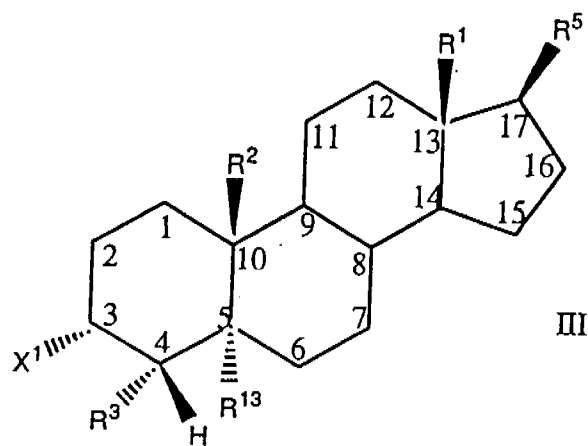
joka menetelmä on tunnettu siitä, että se käsittää seuraavat peräkkäiset vaiheet (i), (ii) ja (iii), joissa:

vaihe (i) on 4-kolesten-3-onin reaktio sekundaarisen amiinin kanssa,

vaihe (ii) on vaiheen (i) reaktiotuotteen alkylointi ja hydrolyysi ja

vaihe (iii) on vaiheen (ii) reaktiotuotteen pelkistys.

2. Menetelmä yhdisteen, jolla on kaava (III) tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi;



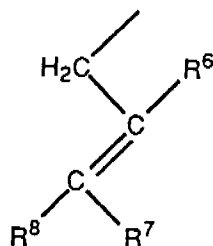
jossa:

R^1 on haarautumaton C_1 - C_4 -alkyyli tai C_1 - C_4 -halogeenialkyyli;

R^2 on vety, metyyli tai halogeenimetyyli;

R^3 on vety, C_1 - C_6 -alkyyli, C_1 - C_6 -halogeenialkyyli, ryhmä

5



10

R^6 on vety, halogeeni, C_1 - C_4 -alkyyli, C_1 - C_4 -halogeenialkyyli, C_2 - C_4 -alkenyylitai C_2 - C_4 -halogeenialkenyyli;

R^7 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni; tai

15

R^6 ja R^7 ovat yhdistyneet hiiliatomien kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet, muodostaen substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkenyylin, substituoidun tai substituomattoman C_5 - C_6 -sykloalkadienyylin, substituoidun fenyylin tai substituomattoman tai substituoidun heterosyklisen renkaan;

R^8 on vety, metyyli, halogeenimetyyli tai halogeeni;

20

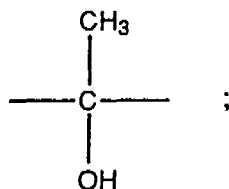
R^5 on ryhmä



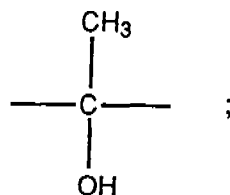
25

jossa A on sidos $-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{halo})-$, $-\text{C}(\text{halo})_2-$, tai

30



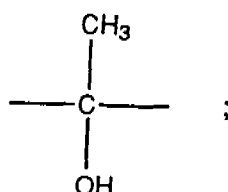
ja Z on sidos $-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{halo})-$, $-\text{C}(\text{halo})_2-$, tai



5

edellyttäen, että vain toinen A:sta ja Z:stä on
-O-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(halo)-, -C(halo)₂-, tai

10



15

R¹⁰ on

(i) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton radikaalijohdannainen, joka
on johdettu C₁-C₁₂-alkaanista, tai

20

(ii) kaksiarvoinen substituoimaton tai substituoitu,
haarautunut tai haarautumaton, tyydyttymätön radikaali,
joka on johdettu C₂-C₁₂-alkeenista,

25

jossa substituentteja (i) ja (ii) on yksi tai use-
ampia, samoja tai erilaisia, ryhmästä hydroksi,
-CH₂N(alkyyli)₂, asetamido, substituoitu amino, amino, mer-
kapto, -S(C₁-C₆-alkyyli), halogeeni, tai kaksi viereistä
hiiliatomia voivat kumpikin sitoutua samaan happiatomiin
muodostaen epoksidin;

30

X³ on vety, substituoimaton tai substituoitu fenyy-
li, substituoimaton tai substituoitu fenoksi tai substi-
tuoimaton tai substituoitu bentsyylioksi, halogeeni, halo-
geenialkyyli, OH, -SH, -S(C₁-C₆-alkyyli), -CF₃, -CN, C₂-C₆-
alkenyylili, -OC(F)₃, C₁-C₄-alkoksi, -C(O)C₁-C₄-alkyyli,
-C(O)(C₂-C₆-alkenyylili), -CHO, -COOH, -COO(C₁-C₄-alkyyli),
-NR¹¹R¹², -C(O)NR¹¹R¹², jossa R¹¹ ja R¹² ovat riippumattomasti
vety tai C₁-C₄-alkyyli;

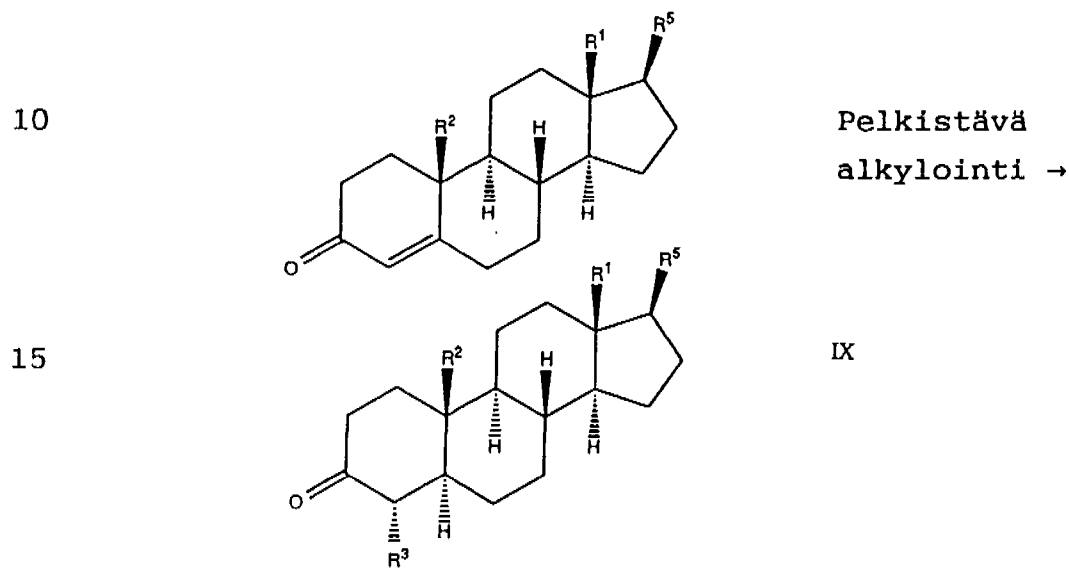
35

X^1 on hydroksi ja

R^{13} on vety,

joka menetelmä on tunnettu siitä, että se käsittää peräkkäiset vaiheet (i) ja (ii), joissa:

5 vaihe (i) on 4-kolesten-3-onin pelkistävä alkylointi, kuten reaktiosarjassa IX on esitetty ja;



20 vaihe (ii) on vaiheen (i) reaktiotuotteen pelkistys, kuten reaktiosarjassa X on esitetty.

