

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2009-521**
(22) Přihlášeno: **04.08.2009**
(40) Zveřejněno: **15.09.2010**
(Věstník č. 37/2010)
(47) Uděleno: **06.08.2010**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **15.09.2010**
(Věstník č. 37/2010)

(11) Číslo dokumentu:

302 050

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07J 17/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

US 3 031 444 B; WO 95/21617 A1; WO 93/03732 A1; WO 02/053577 A2; US 3 480 620 B.

Chem. Pharm. Bull., 1975, 23 (7), 1458-1479, název: Shidasterone, an insect Metamorphosing Substance from Blechnum niponicum: Structure.

(73) Majitel patentu:

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd ČR,
v.v.i., Praha 6, CZ

Fyziologický ústav Akademie věd ČR, v.v.i., Praha 4,
CZ

Psychiatrické centrum Praha, Praha 8, CZ

(72) Původce:

Kasal Alexander RNDr. DrSc., Praha 10, CZ

Buděšínský Miloš RNDr. CSc., Praha 8 Kobylisy, CZ

Mareš Pavel Prof. MUDr. DrSc., Praha 10 - Kolovraty,
CZ

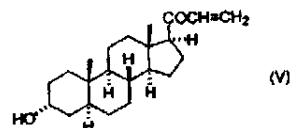
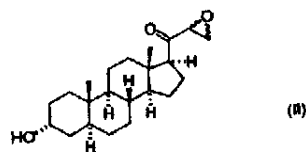
Křišťofková Zdena Ing. Ph.D., Praha 8 Bohnice, CZ

(54) Název vynálezu:

3 α -Hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-on, způsob jeho výroby a jeho použití

(57) Anotace:

3 α -Hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-on
vzorce II. Způsob jeho výroby, který spočívá v Mannichově
kondenzaci formaldehydu a dimethylaminu, a rozkladu
příslušného meziprojektu na 3 α -hydroxy-21-homo-5 α -pregn-
21-en-20-on vzorce V, který se epoxiduje peroxidem vodíku v
alkalickém prostředí. 3 α -Hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -
pregnan-20-on vzorce II se dále používá pro výrobu léčiva
určeného k předcházení a potlačení epileptických záchvatů.



CZ 302050 B6

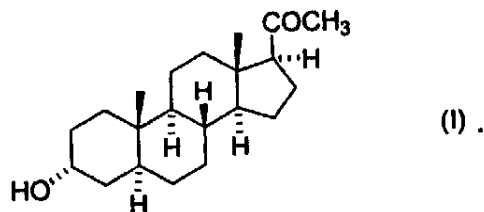
3 α -Hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-on, způsob jeho výroby a jeho použití5 **Oblast techniky**

Tento vynález se týká 3 α -hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-onu, způsobu jeho výroby a jeho použití při potlačení epileptických záchvatů.

10

Dosavadní stav techniky

Epileptické záchvaty jsou projevem náhlých elektrických impulsů projevujících se v části či celém mozku, při němž může, ale nemusí dojít k poruše vědomí. Záchvat může být ztišen řadou látek, které tlumí přenos nervových signálů, jako jsou benzodiazepiny a barbituráty, které působí prostřednictvím receptoru γ -aminomáselné kyseliny (GABA). Nově může být tento receptor modulován i neurosteroidy typu allopregnanolonu vzorce I



20

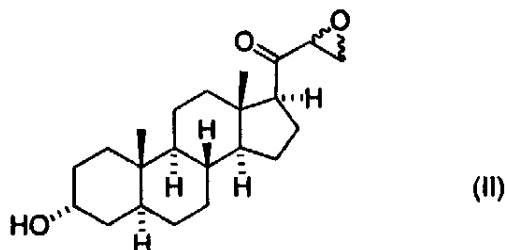
Tyto látky působí jako pozitivní allosterické modulátory GABA receptorů tím, že zvyšují proudy jak co do frekvence otevření iontového kanálu, tak i délky jeho otevření. Neurosteroidy tedy mohou být použity jako anestetika, anxiolytika i látky s protikřečovým účinkem [Veleiro AS, Burton G. Structure-Activity Relationships of Neuroactive Steroids Acting on the GABA(A) Receptor. *Curr Med Chem* 2009; 16:455–72] [Scaglione JB, Jastrzebska I, Krishnan K, Li P, Akk G, Manion BD, Benz A, Tailor A, Rath NP, Evers AS, Zommski CF, Mennerick S, Covey DF. Neurosteroid analogues. 11. Alternativě ring system scaffolds: gamma-aminobutyric acid receptor modulation and anesthetic actions of benz[f]indenes. *J Med Chem* 2006;49:4595–605], [Eisenman LN, Shu H-J, Akk G, Wang C, Manion BD, Kress GJ, Evers AS, Steinbach JH, Covey DF, Zorumski CF, Mennerick S. Anticonvulsant and anesthetic effects of a fluorescent neurosteroid analog activated by visible light. *Nature Neurosci* 2007;10:523–30].

35

Nevýhodou endogenního allopregnanolonu I je, že se v těle rychle metabolizuje. Proto byla hledána analoga allopregnanolonu, která byla založena na nejrůznějších modifikacích steroidního skeletu [Veleiro AS, Burton G. Structure-Activity Relationships of Neuroactive Steroids Acting on the GABA(A) Receptor. *Curr Med Chem* 2009;16:455–72].

40

Nyní jsme překvapivě zjistili, že námi syntetizovaná nová sloučenina, 3 α -hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-on vzorce II

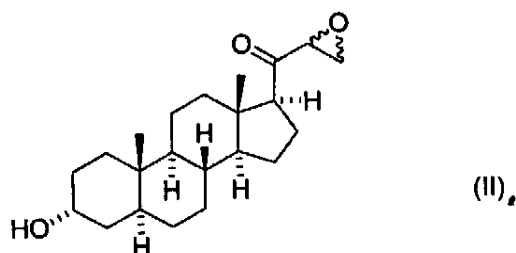


se váže na GABA_A receptor *in vitro* a v souladu s tím i potlačuje dva typy křečí indukovaných pentylentetrazolem u potkanů srovnatelně s účinky ganaxolonu. Příprava látky vzorce II a její biologická aktivita je předmětem tohoto vynálezu.

5

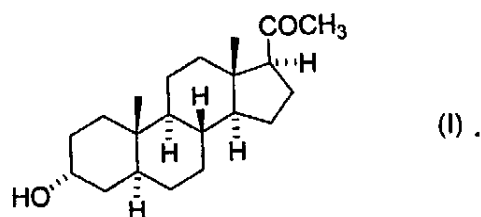
Podstata vynálezu

Tento vynález se týká 3 α -hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-onu vzorce II



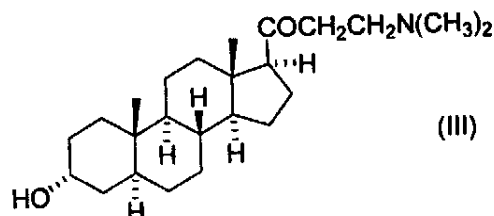
10

Dále se tento vynález týká syntézy 3 α -hydroxy-21 ξ ,22-oxido-21-homo-5 α -pregnan-20-onu II, která spočívá v tom, že se známý allopregnanolon vzorce I



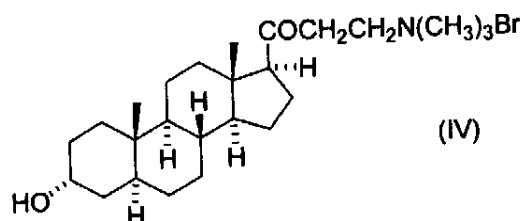
15

za podmínek Mannichovy kondenzace převede na amin vzorce III



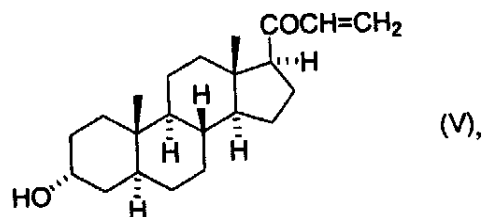
20

jehož N-methylbromid vzorce IV

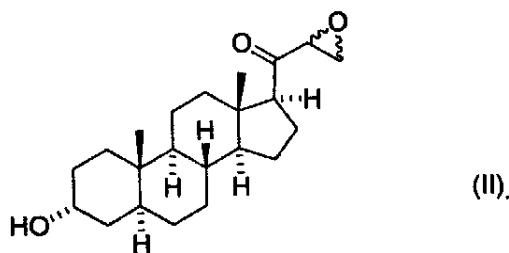


25

se rozloží na 21-homo-3 α -hydroxy-5 α -pregn-21-en-20-on vzorce V



který se oxiduje peroxidem vodíku na látku II



Tento vynález bude podrobněji ilustrován na následujících příkladech, které není možné brát jako omezení předloženého vynálezu, ale pouze jako jeho ilustraci.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Výroba 3α-hydroxy-21ξ,22-oxido-21-homo-5α-pregnan-20-onu (II)

Roztok vodného peroxidu vodíku (33%, 2,0 mL) a hydroxidu sodného (4 N, 0,4 mL) v methanolu (8,0 mL) se přidá k roztoku olefinu V (150 mg, 0,45 mmol) ve směsi methanolu a THF (25 mL, 1:1) při 0 °C. Po 4 hodinách se rozpouštědlo částečně odpaří ve vakuu a produkt se vysráží přidáním nasyceného vodného roztoku chloridu sodného. Extrakce octanem ethylnatým poskytne bílé krystaly látky II (120 mg, 76 %). Tt. 172–175 °C (aceton/heptan). $[\alpha]_D^{+122}$ (CHCl₃, c 0,3). IR (CHCl₃): 3616, 3489, 1001 (OH); 3063 (epoxid); 1712 (C=O). Pro C₂₂H₃₄O₃ (346,5) vypočteno: 76,26 %C, 9,89 %H; nalezeno: 76,04 %C, 10,14 %H. Pro NMR spektrum, viz Tabulka 1.

Příklad 2

Výroba 3α-Hydroxy-21-homo-5α-pregn-21-en-20-onu (V)

Allopregnanolon (I) byl podroben Mannichově reakci a rozkladu příslušné kvartérní amoniové base podle japonských autorů [Hikino H, Okuyama T, Arihara S, Hikino Y, Takemoto T, Mori H, Shibata K. Steroids. 24. Shidasterone, an insect metamorphosing substance from Blechnum-niponicum – structure. *Chem Pharm Bull* 1975;23:1458–79]. Látka V tvoří bílé krystaly, tt. 153 až 154 °C (aceton/heptan). $[\alpha]_D^{+127}$ (CHCl₃, c 0,2). IR (CHCl₃): 3616, 3479, 1002 (OH); 1689, 1664, 1618, 1609, 986, 960 (C=C-C=O). Pro C₂₂H₃₄O₂ (330,5) vypočteno: 79,95 %C, 10,37 %H; nalezeno: 79,55 %C, 10,45 %H. NMR spektrum viz následující tabulka.

Tabulka 1

¹³C a ¹H NMR spektra popisovaných látek

5

Pozice	Olefin V		Epoxid II			
	¹³ C	¹ H	hlavní 53 % [21R]	vedlejší 47 % [21S]	hlavní 53 % [21R]	vedlejší 47 % [21S]
			¹³ C		¹ H	
1	32,16	1,32;1,46	32,15	32,16	1,33;1,47	
2	28,98	1,63;1,68	28,97		1,63;1,68	
3	66,52	4,05	66,49		4,05	
4	35,83	1,38;1,51	35,80		1,37;1,53	
5	39,09	1,55	39,04	39,06	~1,55	
6	28,43	~1,22 (2H)	28,39		~1,22 (2H)	
7	31,99	0,97;1,69	31,94		0,97;1,68	
8	35,58	1,38	35,60	35,48	1,38	1,41
9	54,21	0,81	54,10	54,13	0,83	0,81
10	36,11	--	36,09	36,11	--	--
11	20,76	1,25;1,60	20,71	20,75	1,27;1,63	
12	39,27	1,38;1,89	39,20	39,07	1,51;1,92	1,46;2,04
13	44,96	--	45,78	45,55	--	--
14	57,00	1,22	56,85	56,87	1,23	
15	24,51	1,22;1,70	24,58	24,48	1,23;1,71	
16	22,67	1,64;2,27	22,60	23,02	1,60;2,22	1,70;2,18
17	60,99	2,79	59,16	60,98	2,74	2,72
18	13,66	0,578	14,00	13,96	0,606	0,690
19	11,16	0,774	11,16		0,777	0,787
20	201,07	--	207,60	207,18	--	--
21	137,11	6,42 J=17,4, 10,5	53,27	52,41	3,46 dd J=4,6, 2,5	3,52 dd J=4,4, 2,4
22	127,05	5,67 dd, J=10,5, 1,5 6,20 dd, J=17,4, 1,5	46,21	47,11	2,76 dd, J=6,4,2,5, 2,95 dd, J=6,4,4,6	2,87 dd, J=6,7, 2,4 2,92 dd, J=6,7,4,4

Příklad 3

Aktivita

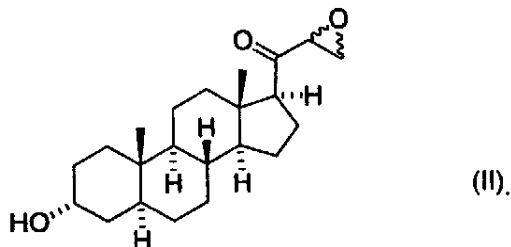
- 5 Látka II vykazala v GABA_A receptorovém testu s použitím TBPS jako radioligandu tuto aktivitu: látka modulovala GABA_A receptor s mohutností účinnosti $\text{IC}_{50} = 50\text{nM}$ a efektivitou $\text{I}_{\text{max}} = 40\%$. Tento výsledek ukazuje, že tato sloučenina je účinná při ovlivňování stavu řízených inhibičními účinky γ -aminomáselné kyseliny, např. epileptických záchvatů.

10

PATENTOVÉ NÁROKY

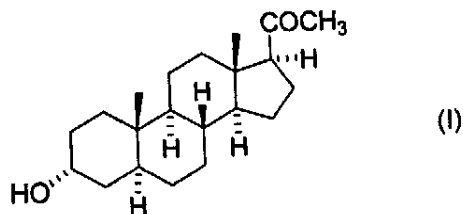
15

1. 3α -Hydroxy- $21\xi,22$ -oxido- 21 -homo- 5α -pregnan- 20 -on vzorce II



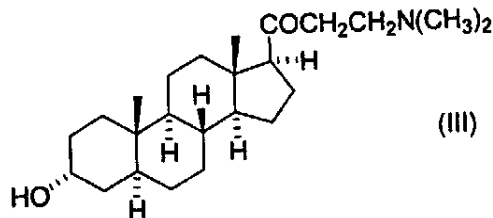
20

2. Způsob výroby sloučeniny vzorce II podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se známý allopregnanolon vzorce I



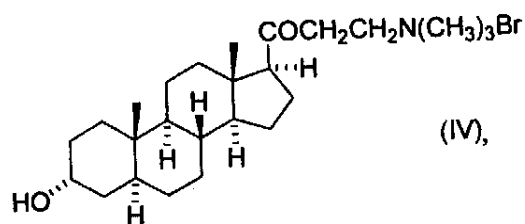
25

- za podmínek Mannichovy kondenzace převede na amin vzorce III

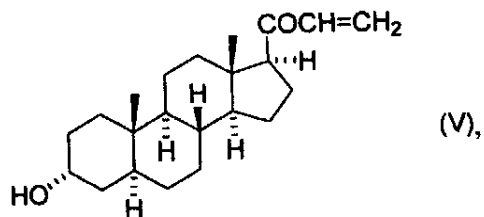


- který se převede na N-methylbromid vzorce IV

30



jenž se nechá rozložit na 21-homo-3α-hydroxy-5α-pregn-21-en-20-on vzorce V



5

a 21-homo-3α-hydroxy-5α-pregn-21-en-20-on vzorce V se nechá zoxidovat peroxidem vodíku.

- 10 **3.** Použití 3α-hydroxy-21ξ,22-oxido-21-homo-5α-pregnan-20-onu vzorce II podle nároku 1 pro výrobu léčiva určeného k předcházení a potlačení epileptických záchvatů.

15

Konec dokumentu
