



F1000092706B

**(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT****92706****C (45) Patentti myönnetty
Patent maldelat 27 12 1991**

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07J 5/00, 7/00**SUOMI-FINLAND****(FI)****Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus - Patentansökning	893163
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	28.06.89
(24) Alkuperä - Löpdag	28.06.89
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	29.12.89
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.09.94
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
28.06.88 US 212409 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio 45215, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Holbert, Gene Warwick, 266 Stockton Drive, Loveland, Ohio 45140, USA, (US)
2. Johnston, John O'Neal, 9 Crooked Creek, Milford, Ohio 45150, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

**Menetelmä 19-hydroksylaasi-inhibiittoreina käyttökelpoisten 19-substituoitujen
progesteronijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av 19-substituerade progesteronderivat, vilka är användbara
som 19-hydroxylas-inhibitorer**

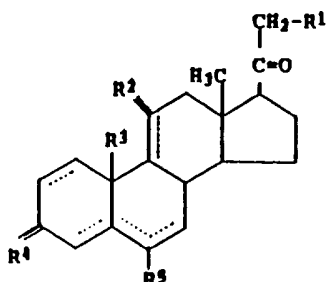
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI A 781828, FI C 83522, FI C 83088, FI C 82699, FI C 78710, EP A 47016,
US A 4473564, US A 4289762, US A 4322416, US A 4753932

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

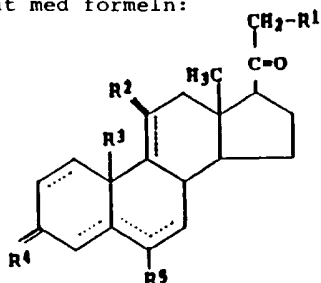
Keksintö koskee menetelmää 19-substituoitujen progesteronijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava

Em. yhdisteet ovat 19-hydroksylaasi-inhibiittoreita ja käyttökelpoisia korkeaa verenpainetta alentavina aineina.

jossa R¹ on vety, hydroksyyli tai

$\text{R}^6\text{-C(=O)-}$; R² on (H)(H), (H)(OH) tai O;
R³ on $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_n$ -, $\text{CH}_2\text{=CH-(CH}_2)_n$ -,
 $\text{Y-C}\equiv\text{C-CH}_2$ -, $\text{CH}_2\text{=C=CH-}$ -, syklopropyyli-
 $\text{N(R)-(CH}_2)_n$ - tai $\text{R}^7\text{-S-(CH}_2)_n$ -; R⁴ on -O,
(H)(OH), (H)(OR⁸) tai -CH_2 ; R⁵ on vety,
amino, hydroksyyli, okso tai metyleeni; R⁶
on alkyyli, sykloalkyyli tai fenyyli; R⁷
on vety, alkyyli, syklopropyyli, alkanoyyli,
bentsoyyli tai trifluoriasetyyli; R⁸ on
alkanoyyli; R on vety tai metyyli; Y on
kloori, bromi tai jodi; n on 1 - 4.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av 19-substituerade progesteron-derivat med formeln:



vari R^1 är väte, hydroxyl eller $R^6-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-O-$;
 R^2 är (H)(H), (H)(OH) eller O; R^3 är
 $CH\equiv C-(CH_2)_n-$, $CH_2=CH-(CH_2)_n-$, $Y-C\equiv C-CH_2-$,
 $CH_2=C=CH-$, cyklopropyl- $N(R)-(CH_2)_n-$ eller
 $R^7-S-(CH_2)_n-$; R^4 är $=O$, (H)(OR^8) eller
 $=CH_2$; R^5 är väte, amino, hydroxyl, oxo
eller metylen; R^6 är alkyl, cyklopropyl,
alkanoyl, bensoyl eller trifluoracetyl;
 R^8 är alkanoyl; R är väte eller metyl; Y
är klor, brom eller jod; n är 1-4.

Nämnda föreningar bildar 19-hydroxylasin-
hibitorer och de kan användas som anti-hy-
pertensiva medel.

Menetelmä 19-hydroksylaasi-inhibiittoreina käyttökelpoisten 19-substituoitujen progesteronijohdannaisten valmistamiseksi

5 19-nordeoksikortikosteronin (19-norDOC) on todettu osoittavan deoksikortikosteroniin (DOC) verrattuna paljon korkeampaa verenpainetta alentavaa aktiivisuutta [Funder et al., Endocrinology 103 (1978) 1514]. Se stimuloi yhtä tehokkaasti kuin aldosteroni Na⁺-kuljetusta korpisammakon
10 rakkopintasolukon läpi [Perrone et al., Am. J. Physiol. 41 (1981) E406], ja sen Na-pidätyskyky on DOC:hen verrattuna 2 - 5-kertainen [Kagawa et al., Soc. Exp. Biol. Med. 94 (1957) 444].

15 19-norDOC on eristetty rotista, jotka potevat lisämunuaiseen liittyvää, uudistuvaa liian korkeata verenpainetta (ARH:ta, engl. Adrenal Regenerating Hypertension) [Gomez-Sanchez et al., Endocrinology 105 (1979) 708], sekä ihmisestä [Dale et al., Steroids 37 (1981) 103]. Yhdisteen lisääntyntä eritystä on julkistettu esiintyvän kolmessa
20 korkean verenpaineen rottamallissa: ARH, itsestään liian korkeata verenpainetta potevat rotat (SHR, engl. Spontaneously Hypertensive Rats) sekä suolalle herkkä Dahl-suku-siitosrotta [Griffing et al., Endocrinology 121 (1987) 645; Dale et al., Endocrinology 110 (1982) 1989; Gomez-Sanchez et al., J. Steroid Biochem. 25 (1986) 106].
25 19-norDOC:n kohonneita pitoisuustasoja virtsassa on todettu useassa eri ryhmässä liian korkeata verenpainetta potevia ihmisiä [Griffing et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 56 (1983) 218].

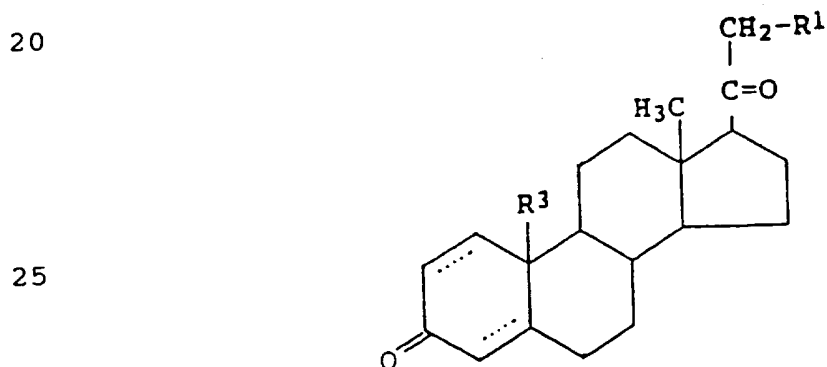
30 19-norsteroidien, kuten 19-norDOC:n, biosynteesin ensimmäinen vaihe on sopivan steroidin, kuten DOC:n, 19-hydroksylaatio lisämunuaisessa. 19-norDOC:n biosynteesin muodostumisen inhibointi inhiboimalla DOC:n 19-hydroksylaatio aiheuttaisi täten 19-norDOC-pitoisuustason alenemisen
35 kyseessä olevassa eläimessä ja vähentäisi tämän ai-

neen läsnäolosta johtuvia verenpainetta nostavia vaikutuksia.

On osoitettu, että 10-(2-propynylyl)estr-4-eeni-3,17-dioni (tunnettu aromataasi- ja 19-hydroksylaasi-inhibiittori) hidastaa liian korkean verenpaineen kehittymistä ja alentaa vapaan 19-norDOC:n pitoisuutta virtsassa annettaessa sitä vastavieroitetuille SHR-rotille [Melby et al., Hypertension 10 (1987) 484].

Keksintö koskee menetelmää 19-nordeoksikortikosteroni-inhibiittoreiden valmistamiseksi, jotka ovat progesteronijohdannaisia, joissa on erilaisia substituentteja 19-asemassa tai tietyissä, 19-metyyliryhmän asemesta läsnäolevissa ryhmissä. Näissä yhdisteissä on mahdollisesti hydroksyyli-substituentti tai esteröity hydroksyyli-substituentti 21-asemassa.

Keksintö koskee menetelmää terapeuttisesti käyttökelpoisten 19-substituoitujen progesteronijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava



jossa R^1 on vety, hydroksyyli tai $R^6-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-O-$; R^3 on $CH\equiv C-(CH_2)_n-$ tai $CH_2=CH-(CH_2)_n-$; R^6 on C_{1-6} -alkyyli ja n on kokonaisluku 1 - 4, jolloin menetelmälle on tunnusomaista, että

(a) 10-(2-propynylyl)-20-metoksi-19-norpregna-5,17(20)-dien-21-oaatti pelkistetään hydridipelkistimellä vastaavan 21-hydroksiyhdisteen saamiseksi, minkä jälkeen

mahdolliset suojaryhmät poistetaan tavanomaisia menettelyitä käyttäen;

(b) sopiva $5\alpha,10\alpha$ -epoksi-19-norpregnaani saatetaan reagoimaan propargyylimagnesiumbromidin kanssa vastaavan
5 5- α -hydroksi-10 β -propargyyli-19-norpregnaanin saamiseksi, minkä jälkeen mahdolliset suojaryhmät poistetaan tavanomaisia menettelyitä käyttäen, mahdollinen 3-hydroksiryhmän hapetetaan lopputuotteeseen halutuksi oksoryhmäksi tavanomaisia reagensseja käyttäen sekä mahdollinen 5-hydroksiryhmä poistetaan hapolla Δ^4 -yhdisteen saamiseksi; tai
10

(c) sopiva 10-(1-asetoksi-2-propynyli)-19-norpregnaani saatetaan reagoimaan pentynylikuparin ja butyyllitiumin kanssa 10-allenyyliryhmän käsittävän yhdisteen saamiseksi, minkä jälkeen mahdolliset suojaryhmät poistetaan
15 tavanomaisia menettelyitä käyttäen.

C_{1-6} -alkyyliryhmät, joihin edellä viitataan, voivat olla suoraketjuisia tai haarautuneita, ja sopivia esimerkkejä ovat metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli ja butyyli.

20 Yksityiskohtaisemmin kuvattuna 19-etynyylilyhdisteid^{den} valmistamiseksi sopiva välituote on $5\alpha,10\alpha$ -epoksisteroidi. Molekyyllissä tässä vaiheessa mahdollisesti esiintyvät hydroksyyli- tai ketoryhmät ovat suojattuja. Mahdollisten hydroksyyli-ryhmien suojaamiseksi käytetään edullisesti silyylieettereitä, kun puolestaan ketonit suojataan yleensä vastaavina ketaaleina, edullisesti etyleeniketaaleina. Tämä $5\alpha,10\alpha$ -epoksisteroidi saatetaan reagoimaan
25 propargyylimagnesiumbromidin kanssa vastaavan 5 α -hydroksi-10 β -propargyylilyhdisteen saamiseksi, joka voidaan nimetä myös 5 α -hydroksi-19-etynyylisteroidiksi. Mahdolliset suojaryhmät voidaan poistaa tässä tai jossain myöhemmässä tarkoituksenmukaisessa vaiheessa tavanomaisia menettelyitä käyttäen. Tavallisesti kyseessä on suojattu 3-hydroksyyli-ryhmä, jolloin poistamalla suojaryhmä saadaan vastaava
30 vapaa 3-hydroksiyhdiste. Tämä yhdiste voidaan hapettaa
35

vastaavaksi 3-ke-toniksi käyttäen tavanomaisia reagensseja ja menettelyitä, kuten Jones-reagenssia tai Oppenauer-hapetusta. Tätä menettelyä aloitettaessa mahdollisesti läsnä oleva 5-hydroksyyli-ryhmä voi dehydratoitua Δ^4 -yhdisteeksi hapetuksen yhteydessä tai se voidaan dehydratoida spesifisesti hapolla käsittelemällä. Itse asiassa reaktioiden suorittamisessa tietty jousto on mahdollinen, sitten kun propargyyli-ryhmä on paikoillaan.

Edellä mainittu lähtöaineena käytetty 5 α ,10 α -epoksiyhdiste saadaan vastaavasta steroidi-5(10)-eenista N-bromisukkinimidillä hapettamalla, mitä seuraa sitten ensin reaktio jonkin hydridin, kuten natriumboorihydridin, kanssa ja sitten natriumhydroksidin metanoliliuoksen kanssa. 5(10)-eeni sinänsä saadaan vastaavasta 1,3,5(10)-trienistä pelkistämällä vaiheittain tavanomaisia menettelyitä käyttäen. Tämän pelkistuksen kestäessä tai sitä varten valmistauduttaessa happea sisältäviä eri funktioita voidaan manipuloida kunkin yhdisteen kannalta tarkoituksenmukaisesti. Täten tällainen ryhmä voidaan liittää mukaan tai suojata tai hapettaa tai pelkistää, tai voidaan suorittaa mikä tahansa mainittujen operaatioiden yhdistelmä.

Näiden 19-etynyyliyhdisteiden saamiseksi vaihtoeh-toisen lähestymistavan mukaan lähtöaineena voidaan käyttää 3,3,17,17-bis(etyleenidioksi)-19-etynyyliandrost-5-eenia. Tämä bis-ketaali hydrolysoidaan selektiivisesti 17-asemas-sa käyttäen 0,3-%:ista perkloorihappoa t-butanolissa ja dikloorimetaanissa vastaavan 17-ke-tonin saamiseksi. Tämä ke-toni saatetaan sitten reagoimaan metyyli-metoksisasettiin ja litiumdi-isopropyylimidin kanssa, jolloin mainittu es-teri (eli sen metyleeniryhmä) liittyy 17-ke-tonin kaksois-sidokseen ja saadaan 17-substituoitu 17-hydroksisteroidi. Dehydratoimalla tämä saadaan 17-eksosyklinen kaksoissidos, minkä jälkeen saatu α -metoksi-esteri pelkistetään hydridi-pelkistimellä, kuten di-isobutyylialuminiumhydridillä, jolloin saadaan vastaava 2-metoksietanoli (enolieetteri),

jota käsitellään sitten edelleen hapolla sekä enolieetterin että samoin 3-ketaalin hydrolysoimiseksi halutun 21-hydroksi-20-oksopregnaanin saamiseksi. Tämän menetelmän muunnoksen mukaan on mahdollista käyttää lähtöaineena 19-
5 etynnyyliandrost-4-eeni-3,17-dionia, joka muutetaan vastaavaksi 3-etoksi-3,5-dieeniksi tavanomaisia menettelyitä käyttäen. Saatu 17-ketoni saatetaan sitten reagoimaan kuitenkin edellä, jolloin lopuksi, eri suojaryhmien poistamisen jälkeen, saadaan sama tuote kuin edellä kuvattu.

10 Keksinnön mukaisesti muiden 10-substituoitujen yhdisteiden valmistamiseksi käytetään sopivaa steroidia, jossa on sopiva funktionaalinen ryhmä 19-asemassa. Toisin sanoen käytetään sopivaa 19-hydroksisteroidia tai steroid-
15 19-aalia. Täten esimerkiksi 10-(1,2-propadienyyli)-yhdisteiden saamiseksi lähtöaineena käytetään 19-hydroksiprogesteronia. Tämä muutetaan vastaavaksi 19-esteriksi, minkä jälkeen läsnä olevat kaksi ketofunktiota suojataan etyleeniketaaleiksi. Sitten 19-asetaatit hydrolysoidaan takaisin
20 19-hydroksyyli-ryhmäksi ja kyseinen hydroksyyli-ryhmä hape- tetaan vastaavaksi 19-aaliksi. Saattamalla 19-aali reagoimaan ensin litiumtrimetyylisilyyliasetylidin ja sitten asetyylikloridin ja tetrabutyyliammoniumfluoridin kanssa saadaan vastaava 19-asetoksi-19-etynnyliyhdiste. Käsitte-
25 lemällä tätä yhdistettä pentynnylikuparilla ja butyyllil- tiumilla aikaansaadaan sitten 10-(1,2-propadienyyli)-ryh- män muodostuminen. Mahdolliset suojaryhmät poistetaan sit- ten tässä vaiheessa tavanomaisia menettelyitä käyttäen, jolloin saadaan haluttu 10-(1,2-propadienyyli)-steroidiyh-
diste.

30 Yhdisteitä, joissa n on 2 - 4, voidaan saada edellä jo aiemmin kuvattuihin nähden analogisilla menettelyillä. Täten esimerkiksi 5 α ,10 α -epoksisteroidiyhdiste voidaan saattaa reagoimaan sopivan Grignard-reagenssin kanssa, tai vaihtoehtoisesti kyseeseen tulee samankaltaisten menette-
35 lyiden käyttäminen kuin edellä aiemmin jo kuvattiin 19-

hydroksiyhdisteiden yhteydessä, jolloin kuitenkin lähtö-
aineina käytetään 19-(hydroksialkyyli)steroideja, jotka
hydroksialkyyliyhdisteet saadaan 19-hydroksiyhdisteistä
tavanomaisten menettelyiden mukaan.

5 21-hydroksiyhdisteiden estereitä saadaan tavanomai-
sia menetelmiä käyttäen eli käsittelemällä alkoholia tar-
koituksenmukaisella happokloridilla tai -anhydridilla jon-
kin tertiäärin amiinin, kuten pyridiinin tai trietyyli-
amiinin läsnä ollessa. Valinnaisen lisäliuottimen (esimer-
10 kiksi dikloorimetaanin) käyttö kuten myös katalyyttisen
määrän 4-dimetyyliaminopyridiiniä lisääminen on mahdolls-
ta.

 Keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat
hyödyllisiä 19-hydroksylaasi-inhibiittoreina sekä korkea-
15 verenpainetta alentavina aineina. Tarkemmin sanottuna yh-
disteiden inhibiittoriaktiivisuus lisämunuaiseen liittyvän
19-hydroksylaasin suhteen osoitetaan in vitro radioentsyy-
mimäärityksellä. Tutkittavat yhdisteet liuotetaan puskuri/
liuotin-väliaineeseen pitoisuutena 1 nM - 50 μ M, minkä
20 jälkeen liuoksia lisätään koeputkiin, joissa on lisämunu-
aismitokondriosuspensiota mitokondrioiden ollessa peräisin
rotasta, hamsterista, naudasta, kädellisestä tai ihmises-
tä, NADPH-muodostusjärjestelmää sekä radioaktiivisesti
leimattua deoksikortikosteronia. Määritykseen osallistujia
25 inkuboidaan vaihtelevan pituinen aika 25 - 37 °C:ssa, minkä
jälkeen reaktio pysäytetään. Hydroksyloidut kortikoidit
[eli 19-HO-DOC (19-hydroksidesoksikortikosteroni), 18-HO-
DOC (18-hydroksideoksikortikosteroni) ja kortikosteroni]
uutetaan orgaaniseen liuottimeen ja eristetään käyttäen
30 tavanomaisia kromatografisia menettelyitä. 19-hydroksylaa-
tion inhibitio arvioidaan vertaamalla puskuria sisältävien
verrokkimäärityspotkien antamia tuloksia inhibiittoriyh-
disteitä sisältäviin määrityspotkiin. Määritetään inhi-
biittoripitoisuudet, jotka aikaansaavat 50-%:isen inhi-
35 tion (IC_{50} -arvot). Tällä määrityksellä mitattuna yhdisteel-

le 21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-10-norpregn-4-eeni-3,20-dioni todettu IC_{50} oli noin 50 nM, joten tämä yhdiste inhiboi voimakkaammin kuin substraatti (DOC), jonka IC_{50} tai K_m oli 600 nM. Tarkemmin sanottuna 21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dionin affiniteetti 19-hydroksylaasin aktiivisen keskuksen suhteen on 12-kertainen luontaisen substraatin (DOC:n) affiniteettiin verrattuna.

Lisäksi yhdisteiden aktiivisuus korkeata verenpainetta alentavina aineina osoitetaan seuraavalla koemenet-
telyllä. Käytettiin urospuolisia, 4½ viikon ikäisiä, itsestään liian korkean verenpaineen omaavia rottia (SHR-rotta). Rotat majoitettiin metaboliahäkkeihin kukin omaan häkkiinsä, niille annettiin ravinnoksi valmistetta Purina Rat Chow, regular-laatu, sekä vesijohtovettä, lämpötila
häkeissä pidettiin vakiona ja valaistus vastasi 12 tunnin valoisa/pimeä-sykliä. Kuuden rotan ryhmän eläimille annettiin päivittäin ihonalaisena ruiskeena tutkittavaa yhdistettä 10 mg/kg, jolloin yhdisteliuos oli valmistettu 5-%:iseen etanoliliuokseen ja oliiviöljyyn ja käsitelty sit-
ten ultraäänellä. Seitsemän SHR-verrokkirottia saivat kantajaa käsittävät ruiskeet. Rottien käsittelyä jatkettiin usean viikon ajan, jolloin SHR-koerottaryhmälle annettiin päivittäinen ruiske tutkittavaa yhdistettä sekä SHR-verrokkirotille kantajaa.

Tajuissaan olevien, rauhallisten eläinten systolinen verenpaine (SBP) rekisteröitiin käyttäen häntämuhviin kytkettyä fysiografia sekä valokennotransduktoria äänieristetyssä, lämpötilaltaan vakiossa ympäristössä, jolloin mittaukset aloitettiin 3 viikon kuluttua käsittelyn aloittamisesta. Rotat totutettiin menettelyyn usean harjoitusrupeaman puitteissa. Ensimmäiset luotettavat SBP-mittaukset tehtiin rottien ollessa 7 - 8 viikon ikäisiä.

Haluttuun vaikutukseen, kuten liian korkean verenpaineen alenemiseen, pääsemiseksi yhdisteitä voidaan antaa
tällaista hoitoa tarvitsevalle potilaalle suun kautta,

ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti, esimerkiksi lihaksensisäisesti tai ihonalaisesti ruiskuttamalla. Ilmaisulla potilas tarkoitetaan lämminveristä eläintä, esimerkiksi nisäkästä, kuten rotta, hiiri, koira, kissa, hevonen, sika, lehmä, lammas, kädellislaji sekä ihminen. Yhdisteitä voidaan antaa hoidettavalle potilaalle yksinään tai sopivassa seoksessa farmaseuttisen valmisteiden muodossa. Annettava yhdistemäärä vaihtelee hoidettavan sairaustilan vakavuuden mukaan, ja toistuvien hoitajaksojen käyttö voi olla toivottavaa. Suun kautta tai ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettava yhdistemäärä, eli tehokas verenpainetta alentava määrä, on 0,1 - 150 mg/kg päivässä ja edullisesti 1 - 50 mg/kg päivässä. Suun kautta tai ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettavat yksikköannokset voivat sisältää esimerkiksi 5 - 250 mg vaikuttavaa ainesosaa. Yhdisteet voidaan antaa yksittäin tai toisiinsa yhdistettyinä.

Suun kautta tapahtuvaa lääkkeenantoa silmälläpitäen yhdisteet voidaan koostaa kiinteiksi tai nestemäisiksi valmisteiksi, kuten kapseleiksi, pillereiksi, tableteiksi, imeskeltäviksi tableteiksi, jauheiksi, liuoksiksi, suspensioiksi tai emulsioiksi. Kiinteä yksikköannostusmuoto voi olla kapseli, joka voi edustaa tavanomaista gelatiinityyppiä, joka sisältää vaikuttavaa yhdistettä ja kantajaa, esimerkiksi voiteluaineita ja inerttiä täyteainetta, kuten laktoosia, sakkaroosia tai maissitärkkelystä. Keksinnön mukaisesti valmistettava vaikuttava yhdiste voidaan tabletoida tavanomaisten tablettipohjien kanssa, joita ovat esimerkiksi laktoosi, sakkaroosi ja maissitärkkelys ja jotka on yhdistetty sideaineisiin, kuten arabikumi, maissitärkkelys ja gelatiini, hajottaviin aineisiin, kuten perunatarkkelys tai algiinihihapot, sekä voiteluaineeseen, kuten steariinihappo tai magnesiumstearaatti.

Lääkkeen antamiseksi ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti yhdisteet voidaan antaa ruiskutettavina annostuksina, jotka käsittävät yhdisteen liuoksen tai suspension fy-

siologisesti hyväksyttävässä laimentimessa farmaseuttisen kantajan ohella, joka voi olla steriili neste, kuten vesiöljyssä, johon on valinnaaisesti lisätty pinta-aktiivista ainetta tai muita farmaseuttisesti hyväksyttäviä lisäaineita. Esimerkkejä öljyistä, jotka soveltuvat käytettäväksi näissä valmisteissa, ovat kivi-, eläin-, kasviöljyt sekä synteettiset öljyt, esimerkiksi maapähkinäöljy, sojaöljy ja mineraaliöljy. Yleensä ottaen edullisia nestemäisiä kantajia ovat vesi, suolaliuos, dekstroosin vesiliuokset ja muut samantapaiset sokeriliuokset, etanoli ja glykolit, kuten propyleeniglykoli tai polyetyleeniglykoli, erityisesti ruiskeena annettavissa liuoksissa.

Yhdisteitä voidaan antaa iholaastarin, depotruiskeen tai istutettavan valmisteen muodossa, joka voidaan formuloida vaikuttavan ainesosan hitaan vapautumisen sallivaksi. Vaikuttava ainesosa voidaan puristaa pelleteiksi tai pieniksi sylintereiksi, jotka istutetaan ihon alle tai lihakseen depotruiskeeksi tai implantiksi. Implanteissa voidaan käyttää inerttejä materiaaleja, kuten biohajoavia polymeerejä ja synteettisiä silikoneja, esimerkiksi tuotetta Silastic, joka on valmistajan Dow-Corning Corporation valmistama silikonikumi. Lisäinformaatiota sopivista farmaseuttisista kantajista ja formulointimenettelyistä löytyy vakiolähdeteksteistä, kuten käsikirjasta Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.

Seuraavat esimerkit esitetään kyseisen keksinnön havainnollistamiseksi. Niitä ei tulisi tulkita sitä mitenkään rajaaviksi.

30 Esimerkki 1

Valmistetaan liuos, jossa on 3,14 g 3-metoksi-20 α -hydroksi-19-norpregna-1,3,5(10)-trieniä 100 ml:ssa vedetöntä eetteriä, ja saatuun liuokseen johdetaan noin 100 ml ammoniakkia. Sitten lisätään nopeasti litiumnauhaa (2,9 g) pieniksi palasiksi leikattuna. Kun tästä on kulunut 10 mi-

nuuttia, lisätään tipoittain 35 ml vedetöntä alkoholia 10 - 20 minuutin aikana. Seos jätetään yöksi seisomaan, jolloin ammoniakki haihtuu pois. Seokseen lisätään varovaisesti jäävettä, minkä jälkeen sitä uutetaan eetterillä, 5 eetterifaasi erotetaan, pestään kolmeen kertaan vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivataan sitten magnesiumsulfaattilla. Sitten liuos haihdutetaan kuiviin ja jäännös uudelleenkiteytetään eetteri/heksaanista, jolloin saadaan 3-metoksi-20 α -19-norpregna-2,5(10)-dieeniä värittöminä kiteinä. 10

Edellä saatu dieeni (3,16 g) liuotetaan seokseen, jossa on 70 ml t-butanolia, 20 ml dikloorimetaania, 20 ml vettä ja 0,1 ml 70-%:ista perkloorihappoliuosta, minkä jälkeen seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 2 tunnin 15 ajan. Sitten dikloorimetaaniliuos kaadetaan natriumbikarbonaatin kyllästettyyn vesiliuokseen, ja seosta uutetaan dikloorimetaanilla. Dikloorimetaanifaasi erotetaan, kuivataan magnesiumsulfaattilla ja haihdutetaan kuiviin, minkä jälkeen jäännös etyyliasetaatti/heksaanista uudelleenki- 20 teyttämällä saadaan 20 α -hydroksi-19-norpregn-5(10)-en-3-onia valkeina kiteinä.

Liuos, jossa on 3,02 g edellä saatua 5(10)-tyydyttymätöntä ketonia 75 ml:ssa t-butanolia, 11 ml:ssa dikloorimetaania ja 11 ml:ssa vettä, jäähdytetään samalla sekoittaen 0 °C:seen, minkä jälkeen siihen lisätään 0,1 ml 25 70-%:ista perkloorihappoliuosta 11 ml:ssa vettä. Sitten liuokseen lisätään N-bromisukkinimidiä (2,26 g), ja liuosta sekoitetaan 15 minuutin ajan 0 °C:ssa, minkä jälkeen se jäähdytetään -10 °C:seen ja lisätään 1 g natriumboorihydri- 30 diä. Seosta sekoitetaan 15 minuutin ajan, minkä jälkeen lisätään 24 ml natriumhydroksidin 1 N liuosta metanolissa. Saatua seosta sekoitetaan 0 °C:ssa tunnin ajan, minkä jälkeen se haihdutetaan pieneksi tilavuudeksi ja kaadetaan veteen. Saostuva kiinteä aine suodatetaan eroon, pestään 35 vedellä ja kuivataan ilmassa. Uudellenkiteyttämällä tämä

kiinteä aine etyyliasettaatti/heksaanista saadaan 5 α ,10 α -epoksinorpregnaani-3 β ,20 α -diolia valkeina kiteinä.

Liuokseen, jossa on edellä saatua epoksidia (3,20 g) 50 ml:ssa dikloorimetaania, lisätään 3,01 g t-butyylidimetyylisilyylikloridia 7 ml:n trietyyliamiinia sekä 0,12 g:n 4-dimetyyliaminopyridiiniä läsnä ollessa, ja seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa noin 30 tunnin ajan. Sitten liuos haihdutetaan kuiviin, ja jäännös lietetään eetteriin. Saatua eetteriliuosta pestään ensin kolmeen kertaan 1 N kloorivetyhapolla ja sitten kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella sekä suolaliuoksella. Liuos kuivataan (magnesiumsulfaatti), minkä jälkeen se suodattamalla ja kuiviin haihduttamalla saadaan 3 β ,20 α -bis-(t-butyylidimetyylisilyylioksi)-5 α ,10 α -epoksi-19-norpregnaania raskasliikkeisenä öljynä.

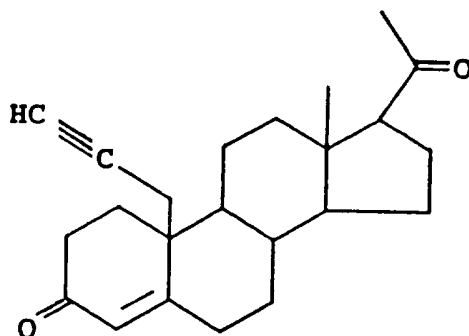
Liuos, jossa on 5,5 g edellä saatua bis-silyylieetteriä 50 ml:ssa vedetöntä eetteriä, lisätään liuokseen, jossa on propargyylimagnesiumbromidia, joka on valmistettu propargyylibromidista (0,30 g 80-paino-%:ista liuosta toluenissa) ja magnesiumlastuista (0,48 g) eetterissä (20 ml) huoneenlämpötilassa. Reaktioseosta sekoitetaan 2 tunnin ajan, minkä jälkeen se kaadetaan jäiden ja kyllästetyn ammoniumkloridiliuoksen seokseen. Seosta uutetaan eetterillä, eetterifaasi erotetaan, pestään kolmeen kertaan vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivataan sitten magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin. Jäännöksellä suoritetaan flash-kromatografia-ajo silikageelissä etyyliasettaatti/heksaanilla eluoiden, jolloin saadaan 3 β ,20 α -bis-(t-butyylidimetyylisilyylioksi)-5 α -hydroksi-10-(2-propynyli)-19-norpregnaania valkeana kiinteänä aineena.

Liuos, jossa on edellä saatua 19-propynyylisteroidia (5,89 g) 100 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisätään 25 ml:aan 1 N kloorivetyhappoa, ja saatua seosta sekoitetaan 24 tunnin ajan. Sitten seosta laimennetaan lisäämällä eetteriä ja muodostunut vesifaasi erotetaan. Orgaaninen faasi

pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella sekä kuivataan magnesiumsulfaatilla. Haihduttamalla liuotin saadaan jäännös, joka asetonista uudelleenkiteyttämällä saadaan 3 β ,5 α ,20 α -trihydroksi-10-(2-propynyli)-19-norpregnaania valkeina kiteinä.

Edellä saatu trihydroksiyhdiste (3,61 g) liuotetaan 100 ml:aan asetonia, liuos jäädytetään 0 °C:seen ja siihen lisätään ylimäärin tavanomaista Jones-reagenssia. Kun hapetusreaktio on ohutlevykromatografia-ajon mukaan mennyt loppuun, lisätään isopropanolia, kunnes hapettimen väri poistuu. Sitten liuos dekantoidaan ja haihdutetaan kuiviin. Saatu jäännös lietetään veteen, liuos pestään kolmeen kertaan vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivataan. Eetteriliuos kuiviin haihduttamalla saatu jäännös uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan 5 α -hydroksi-10-(2-propynyli)-19-norpregnaani-3,20-dionia.

Edellä valmistettu dioni (3,57 g) liuotetaan 50 ml:aan kloroformia, ja liuokseen lisätään 5-mooli-%:ista p-tolueenisulfonihappoa (95 mg), minkä jälkeen sekoitetaan yön yli. Saatu seos pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla sekä haihdutetaan kuiviin. Saatu jäännös uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan 10-(2-propynyli)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dionia valkeina kiteinä. Tämän yhdisteen rakennekaava on seuraava:



Esimerkki 2

3-metoksi-20 α -hydroksi-19-norpregna-1,3,5(10)-
trienä (3,14 g) liuotetaan 50 ml:aan asetonia, ja liuos
jäähdytetään 0 °C:seen, minkä jälkeen siihen lisätään ti-
5 poittain ylimäärin tavanomaista Jones-reagenssia. Kun re-
aktio on ohutlevykromatografia-ajon mukaan mennyt loppuun,
hapetinylimäärä tuhotaan lisäämällä isopropanolia. Liuos
dekantoidaan, ja kromisuolat huuhdotaan pienellä määrällä
asetonia. Liuos haihdutetaan kuiviin ja jäännös liuotetaan
10 eetteriin. Eetteriliuos pestään kolmeen kertaan vedellä
sekä sitten suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatil-
la sekä haihdutetaan kuiviin. Jäännös uudelleenkiteytetään
etyyliasetatti/heksaanista, jolloin saadaan 3-metoksi-19-
norpregna-1,3,5(10)-trienä-20-onia valkeina kiteinä.

15 Liuos, jossa on edellä saatua 20-onia (3,12 g) 35
ml:ssa tetrahydrofuraania, lisätään tipoittain liuokseen,
jossa on litiumdi-isopropyylimidia, joka on valmistettu
-78 °C:ssa 15 ml:aan tetrahydrofuraania 3,1 ml:sta di-iso-
propyylimidiä ja 12,5 ml:sta 1,6 M n-butyylilitiumliuos-
20 ta heksaanissa. Seosta sekoitetaan 30 minuutin ajan, minkä
jälkeen siihen lisätään tipoittain 2,8 ml klooritrimetyy-
lisilaania (joka on vastatislattu bariumoksidista) 10
ml:ssa tetrahydrofuraania. Liuosta sekoitetaan 10 minuut-
tia -78 °C:ssa, minkä jälkeen se lämmitetään 0 °C:seen,
25 laimennetaan lisäämällä heksaania sekä suodatetaan ja
haihdutetaan sitten kuiviin. Jäännös lietetään heksaanin
ja dikloorimetaanin seokseen, suodatetaan toistamiseen
sekä haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan väritön öljy,
joka on lähtöyhdiste-20-onin trimetyylisilyylienioliet-
30 ri.

Näin saatu silyylieniolietteri lietetään 25 ml:aan
dikloorimetaanin ja 25 ml:aan heksaania, ja saatu liuos
jäähdytetään 0 °C:seen käyttäen kalsiumsulfaattikuivausput-
kea. Liuokseen lisätään m-klooriperbentsoehappoa (1,76 g).
35 Seosta sekoitetaan, kunnes jodiditestiliuskan mukaan koko

hapetinmäärä on tullut käytetyksi. Sitten seos suodatetaan saostuneen m-klooribentsoehapon poistamiseksi. Suodokseen lisätään eetteriä, ja liuos pestään natriumtiosulfaatin 10-%:isella vesiliuoksella sekä sitten kahdesti kaliumkarbonaatin kyllästetyllä vesiliuoksella. Liuos kuivataan magnesiumsulfaatilla sekä haihdutetaan kuiviin, ja saatu jäännös lietetään 100 ml:aan tetrahydrofuraania. Liuokseen lisätään 1 N kloorivetyhappoa (20 ml), minkä jälkeen liuosta sekoitetaan tunnin ajan. Siihen lisätään eetteriä ja poistetaan vesifaasi. Orgaanista faasia pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella sekä suolaliuoksella, se kuivataan magnesiumsulfaatilla sekä haihdutetaan sitten kuiviin. Uudelleenkiteyttämällä jäännös etyyliasettaatti/heksaanista saadaan 21-hydroksi-3-metoksi-19-norpregna-1,3,5(10)-trieneni-20-onia.

Liuokseen, jossa on edellä saatu 21-hydroksi-20-oni 100 ml:ssa bentseeniä, lisätään 1,7 ml etyleeniglykolia ja 0,19 g p-tolueenisulfonihappoa, ja saatua seosta keitetään palautusjäähdyttäen 18 tunnin ajan käyttäen Dean-Stark-vesikerääjää. Seos jäähdytetään ja lisätään 1 ml pyridiiniä hapon neutraloimiseksi. Liuokseen lisätään eetteriä, minkä jälkeen se pestään kolmeen kertaan vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin. Jäännös uudelleenkiteytetään etyyliasettaatti/heksaanista, jolloin saadaan 20,20-etyleenidioksi-21-hydroksi-3-metoksi-19-norpregna-1,3,5(10)-trieneniä.

Edellä saatu ketaali (3,73 g) pelkistetään litiumilla ja ammoniakilla, kuten esimerkissä 1 on kuvattu 3-metoksi-20 α -hydroksi-19-norpregna-2,5(10)-dieenin valmistuksen yhteydessä, jolloin saadaan 20,20-etyleenidioksi-21-hydroksi-3-metoksi-19-norpregn-2,5(10)-dieeniävalkeina kiteinä.

Edellä saatua 2,5(10)-dieeniä (3,75 g) hydrolysoidaan selektiivisesti, kuten 21-hydroksi-19-norpregn-5(10)-

en-3-onin valmistuksen yhteydessä on kuvattu, ja loppu-
tuotteena saadaan 20,20-etyleenidioksi-21-hydroksi-19-nor-
pregn-5(10)-en-3-onia valkeina kiteinä.

5 5(10)-eeni-3-ketoniin (3,60 g) lisätään N-bromisuk-
kinimidiä ja laimeata perkloorihappoa ja sitten natrium-
boorihydridiä ja emästä, kuten 5 α ,10 α -epoksi-19-norpreg-
naani-3 β ,20 α -diolin valmistuksen yhteydessä on kuvattu.
Jatkotyöstämällä sekä etyyliasetaatti/heksaanista kiteyt-
tämällä saadaan valkeina kiteinä 5 α ,10 α -epoksi-20,20-ety-
10 leenidioksi-3 β ,21-dihydroksi-19-norpregnaania.

Silyloimalla edellä saatu epoksidioli, kuten esi-
merkissä 1 on kuvattu 3 β ,20 α -bis-(t-butyylidimetyylisilyy-
lioksi)-5 α ,10 α -epoksi-19-norpregnaanin valmistuksen yhtey-
dessä, saadaan 3 β ,21-bis-(t-butyylidimetyylisilyylioksi)-
15 5 α ,10 α -epoksi-20,20-etyleenidioksi-19-norpregnaania ras-
kasliikkeisenä öljynä.

Tähän bis-silyylioksiepoksidiin (6,07 g) lisätään
propargyylimagnesiumbromidia, kuten edellä 3 β ,20 α -bis-(t-
butyylidimetyylisilyylioksi)-5 α -hydroksi-10-(2-propyny-
20 li)-19-norpregnaanin valmistuksen yhteydessä on kuvattu.
Suorittamalla kromatografia-ajo sekä uudelleenkiteyttämäl-
lä saadaan 3 β ,21-bis-(t-butyylidimetyylisilyylioksi)-
20,20-etyleenidioksi-5 α -hydroksi-10-(2-propynyli)-19-nor-
pregnaania värittöminä kiteinä.

25 Tämä yhdiste (6,47 g) liuotetaan tetrahydrofura-
niin, liuos jäädytetään 0 °C:seen ja lisätään kaupallises-
ti saatavana olevaa tetrabutyyliammoniumfluoridiliuosta
(50 ml, 1 M liuos tetrahydrofuraanissa). Kun lähtöaine on
tullut käytetyksi (tarkkailu ohutlevykromatografian avul-
30 la), liuosta laimennetaan lisäämällä eetteriä, minkä jäl-
keen seos pestään useaan kertaan vedellä ja kerran suola-
liuoksella sekä kuivataan (magnesiumsulfaatti). Haihdut-
tamalla liuos kuiviin sekä uudelleenkiteyttämällä jäännös
etyyliasetaatti/heksaanista saadaan 20,20-etyleenidioksi-
35 3 β ,5 α ,21-trihydroksi-10-(2-propynyli)-19-norpregnaania
valkeina kiteinä.

Liuokseen, jossa on edellä saatu trihydroksiyhdiste (4,19 g) 75 ml:ssa bentseeniä, lisätään 2,04 g aluminiumisopropoksidia ja 14,5 ml sykloheksanonia, ja saatua seosta keitetään palautusjäähdyttään 3 tunnin ajan Dean-Stark-vesikerääjää käyttäen. Liuos jäähdytetään, pestään kolmeen kertaan 1 N kloorivetyhapolla sekä kerran suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla sekä haihdutetaan kuiviin. Jäännöksellä suoritetaan kromatografia-ajo silikageelilonnissa, minkä jälkeen uudelleenkiteyttämällä se etyyliasettaatti/heksaanista saadaan 20,20-etyleenidioksi-21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregn-4-en-3-onia valkeina kiteinä.

Liuokseen, jossa on edellä saatu pregn-4-en-3-oni (3,99 g) 100 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisätään 20 ml 1 N kloorivetyhappoa, ja saatua liuosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Sitten lisätään eetteriä ja erotetaan vesifaasi. Eetterifaasia pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella sekä suolaliuoksella, se kuivataan magnesiumsulfaatilla sekä haihdutetaan kuiviin. Jäännös uudelleenkiteytetään etyyliasettaatti/heksaanista, jolloin saadaan 21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dionia valkeina kiteinä.

Esimerkki 3

Liuokseen, jossa oli 6,11 g 3,3,17,17-bis-etyleenidioksi-10-(2-propynylyli)-19-norandrost-5-eenia 43 ml:ssa dikloorimetaania ja 150 ml:ssa t-butanolia, lisättiin 0,3-%:ista perkloorihappoa. Seosta keitettiin kevyesti samalla palautusjäähdyttään ja sekoittaen 2 tunnin ajan, minkä jälkeen se jäähdytettiin huoneenlämpötilaan. Kahden tunnin kuluttua reaktioseos kaadettiin natriumkarbonaatin kyllästettyyn vesiliuokseen, ja seosta uutettiin eetterillä. Eetteriuute pestiin vedellä ja suolaliuoksella sekä kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Haihduttamalla eetteriliuos kuiviin saatiin 3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynylyli)-19-norandrost-5-en-17-onia. Uudelleenkiteyttämällä raakatuote

etyyliasetaatista saatiin 3,2 g (47 %) analyysipuhdasta lopputuotetta; sp. 198 - 200 °C; nmr (CDCl₃): δ 0,98 (s, 3H, 13-CH₃); 3,95 (m, 4H, ketaali); 5,59 (m, 1H, H₆); ¹³C-nmr: 220,93 (17-karbonyyli); IR (KBr): 3385, 2110, 1735 cm⁻¹. MS: (EI) m/z 354 (M⁺, 1 %), 99 (100 %); CI (CH₄) m/z 355 (M+H, 76 %), 99 (100 %).

Emäliuokset kuiviin haihduttamalla saatiin vielä 1,07 g lopputuotetta, jolloin kokonaissaannoksi käyttökel-poista materiaalia tuli 78,7 %.

10 Liuokseen, jossa oli 12,4 ml metyyylimetoksisetaat-tia 40 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin 5 minuutin aikana kylmää (-78 °C) litiumdi-isopropyyliamidiliuosta, joka oli valmistettu di-isopropyyliamiinista (18 ml, 125 mmol) ja n-butyylilitiumin 2,9 M liuoksesta heksaanissa
15 (12,4 ml, 125 mmol) mainitussa liuottimessa (150 ml). Liuosta sekoitettiin -78 °C:ssa 45 minuutin ajan. Sitten siihen lisättiin tipoittain 5 - 10 minuutin aikana liuos, jossa oli 3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynylyli)-19-norand-rost-5-en-17-onia (5,55 g) 50 ml:ssa tetrahydrofuraania,
20 minkä jälkeen liuosta sekoitettiin 3 tunnin ajan mainitus-sa lämpötilassa. Sitten siihen lisättiin tipoittain ammo-niumkloridin kyllästettyä vesiliuosta (15 ml), seos kaa-dettiin jääveteen ja uutettiin etyyliasetaatilla. Saatu uute pestiin suolaliuoksella, kuivattiin magnesiumsulfaa-
25 tilla, suodatettiin sekä haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin metyyli-3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynylyli)-17β-hydroksi-20-metoksi-19-norpregn-5-en-21-oaattia. Saatu raakatuote (9,31 g) suodatettiin silikageelikolonnin läpi etyyliasetaatilla/heksaanilla (1:1) eluoiden, jolloin saa-
30 tiin 5,97 g (83 %) haluttua tuotetta isomeeriseoksena. Etyyliasetaatista uudelleenkiteyttämällä saatiin analyysi-näytteeksi yhtä yksittäistä isomeeriä; sp. 158 - 159 °C; nmr (CDCl₃): δ 0,94 (s, 3H, 13-CH₃); 3,12 (s, 1H, HO); 3,35 (s, 3H, eetteri-CH₃); 3,76 (s, 1H, H₂₀); 3,80 (s, 3H, este-
35 ri-CH₃); 3,95 (m, 4H, ketaali); 5,53 (m, 1H, H₆); IR (KBr):

3450, 2115, 1745 cm^{-1} ; MS: (EI) m/z 458 (M^+ , 1,4 %), 99 (100 %); (CI/ CH_4) m/z 459 (32 %, $M+H$), 441 (100 %).

5 Liuos, jossa oli 5,79 g metyyli-3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynyli)-17 β -hydroksi-20-metoksi-19-norpregn-5-en-21-oaattia 95 ml:ssa pyridiiniä, jäähdytettiin -20°C :seen ja lisättiin tipoittain 5 - 10 minuutin aikana 9,5 ml tionyylikloridia. Liuosta sekoitettiin 45 minuutin ajan mainituksessa lämpötilassa, minkä jälkeen se kaadettiin jääveteen. Tuote uutettiin etyyliasetaattiin, ja saatu uute
10 pestiin kahdesti suolaliuoksella, kuivattiin magnesiumsulfaattilla, suodatettiin sekä haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin 5,5 g (96 %) raakatuotetta. Suorittamalla tämän flash-kromatografia-ajo (20 % etyyliasetaattia/80 % heksaania) saatiin 2,59 g (45 %) metyyli-(E)-3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynyli)-20-metoksi-19-norpregna-5,17(20)-dien-21-oaattia. Analyysinäyte valmistettiin etyyliasetaatti/heksaanista kiteyttämällä; sp. 188 - 190°C ; nmr (CDCl_3): δ 1,02 (s, 3H, 13- CH_3); 3,55 (s, 3H, eetteri- CH_3); 3,77 (s, 3H, ester- CH_3); 3,95 (m, 4H, ketaali); 5,54 (m, 1H, H_6); IR (KBr): 3300, 2130, 1735 cm^{-1} ; MS: (EI) m/z 440 (M^+ , 12 %), 99 (100 %); (CI/ CH_4) m/z 441 ($M+H$, 100 %).
20

Liuos, jossa oli metyyli-(E)-3,3-etyleenidioksi-10-(2-propynyli)-20-metoksi-19-norpregna-5,17(20)-dien-21-
25 oaattia (2,34 g) 50 ml:ssa tolueenia, jäähdytettiin -20°C :seen ja siihen lisättiin tipoittain di-isobutyylialumiiniumhydridin 20-%:ista liuosta heksaanissa (11,7 ml). Liuosta sekoitettiin -20°C :ssa 30 minuutin ajan. Lisättiin vettä (6 ml), minkä jälkeen seosta sekoitettiin 0°C :ssa 30 minuutin ajan, se kaadettiin jääveteen ja uutettiin eetteri/dikloorimetaanilla 3:1. Saadut utteet pestiin suolaliuoksella, kuivattiin magnesiumsulfaattilla sekä haihdutettiin kuiviin. Jäännöksellä (2,06 g) suoritettiin flash-kromatografia-ajo etyyliasetaatti/heksaanilla (1:1) eluoiden, jolloin saatiin (E)-3,3-etyleenidioksi-21-hydroksi-
30 20-metoksi-10-(2-propynyli)-19-norpregna-5,17(20)-diee-

niä. Analyysinäyte valmistettiin etyyliasetaatista uudelleenkiteyttämällä; sp. 180 °C; nmr (CDCl₃): δ 0,96 (s, 3H, 13-CH₃); 2,01 (t, CCH, J=2,8); 3,54 (s, 3H, metoksi-CH₃); 3,95 (m, 4H, ketaali); 4,14 (dABq, 2H, H₂₁, J_{OH,CH}= 5,5, J_{AB}=-13,0); 5,55 (m, 1H, H₆);. D₂O-vaihtokoe osoitti hydrok-syyliprotonin läsnäolon kohdassa 1,54 miljoonaa (t, J=5,5); IR (KBr): 3480, 3290, 2130, 1685 cm⁻¹. MS: (EI) m/z 412 (M⁺, 7 %), 99 (100 %); (CI/CH₄) m/z 413 (M+H), 395 (100 %).

10 Liuokseen, jossa oli (E)-3,3-etyleenidioksi-21-hydroksi-20-metoksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregna-5,17(20)-dieeniä (1,15 g, 2,79 mmol) 50 ml:ssa asetonia ja 5 ml:ssa vettä, lisättiin pyridinium-p-tolueenisulfonaattia (10 mooli-%, 0,07 g). Liuosta keitettiin palautusjäähdyttämällä 2
15 tunnin ajan, jonka ajan kuluttua ohutlevykromatografinen analyysi osoitti, ettei lähtöyhdistettä ollut enää läsnä. Liuos haihdutettiin kuiviin, ja jäännös lietettiin eetteri/dikloorimetaaniin (3:1). Liuos pestiin kahdesti vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivattiin magnesiumsulfaattilla.
20 Haihduttamalla liuos kuiviin saatiin 3,3-etyleenidioksi-21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregn-5-en-20-onia, mikä todennettiin nmr:llä. Saatua materiaalia tarkemmin karakterisoimatta se liuotettiin 50 ml:aan metanolia, ja liuokseen lisättiin 5 ml 1 N kloorivetyhappoa,
: 25 minkä jälkeen sitä sekoitettiin 24 tunnin ajan, jonka ajan kuluttua ohutlevykromatografinen analyysi osoitti, ettei ketaalia ollut enää jäljellä. Liuos haihdutettiin kuiviin, ja jäännös lietettiin eetterin ja etyyliasetaatin seokseen. Saatu liuos pestiin toisiaan seuraten vedellä, natriumbikarbonaatin kyllästetyllä vesiliuoksella ja suolaliuoksella, sekä kuivattiin sitten magnesiumsulfaattilla. Liuos kuiviin haihduttamalla saatiin 0,98 g (99 %) epäpuhdasta materiaalia, josta 21-hydroksi-10-(2-propynylyli)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dioni (42 %) eristettiin suorittamalla
35 la flash-kromatografia-ajo sekä kiteyttämällä sitten etyy-

liasetaatista; sp. 169,5 - 171 °C; nmr (CDCl₃): δ 0,95 (s, 3H, 13-CH₃); 2,02 (t, 1H, HCC, J=2,8); 3,25 (t, 1H, OH, J=4,7); 4,19 (dABq, 2H, H₂₁, J_{OH,CH}= 4,7, J_{AB}= 19); 5,88 (lev. s, 1H, H₄); IR (KBr): 3500-3300, 3275, 2130, 1700, 1670, 1650 cm⁻¹; MS: (EI) m/z 354 (M⁺, 32 %), 323 (100 %); (CI) m/z 355 (M+H, 100 %).

Esimerkki 4

Liuokseen, jossa oli 3,5 g 19-hydroksiprogesteronia ja 0,25 g 4-dimetyyliaminopyridiiniä 8 ml:ssa pyridiiniä, lisättiin 4 ml asetanhydridiä, ja seosta sekoitettiin 18 tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Liuos jäädytettiin 0 °C:seen, minkä jälkeen lisättiin 4 ml metanolia asetanhydridiylimäärän tuhoamiseksi. Liuosta sekoitettiin 15 minuutin ajan, minkä jälkeen se haihdutettiin pieneksi tilavuudeksi alipaineessa, ja saatu jäännös lietettiin eetteriin. Saatu eetteriliuos pestiin kolmeen kertaan laimealla kloorivetyhapolla, kerran natriumbikarbonaattiliuoksella sekä lopuksi suolaliuoksella. Kuivaamalla sekä kuiviin haihduttamalla saatiin 19-asetoksipregn-4-eeni-3,20-dionia, joka saatiin värittömänä kiinteänä aineena etanolin vesiliuoksesta kiteyttämällä.

19-asetoksiprogesteronia (3,73 g) liuotettiin 50 ml:aan kuivaa bentseeniä, ja liuokseen lisättiin 8,3 ml trietyyliortoformaattia, 3,7 ml etyleeniglykolia ja 0,19 g p-tolueenisulfonihappomonohydraattia. Liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 24 tunnin ajan, jonka ajan kuluttua lisättiin 0,1 ml pyridiiniä. Liuosta laimennettiin eetterillä, ja saatu seos pestiin kolmeen kertaan vedellä sekä lopuksi suolaliuoksella. Liuos kuivattiin (magnesiumsulfaatti) sekä haihdutettiin kuiviin, minkä jälkeen jäännös etanolista uudelleenkiteyttämällä saatiin 19-asetoksi-3,3,20,20-bis(etyleenidioksi)pregn-5-eenia valkeina kiteinä.

Edellä saatu bis(etyleenidioksi)-yhdiste (4,61 g) liuotettiin 50 ml:aan tetrahydrofuraania, ja liuokseen li-

sättiin 11 ml litiumhydroksidin 1,0 M liuosta metanolissa. Kahden tunnin kuluttua liuosta laimennettiin eetterillä, ja se pestiin sitten kolmeen kertaan vedellä ja sitten suolaliuoksella. Liuos kuivattiin magnesiumsulfaatilla
5 sekä haihdutettiin kuiviin. Jäännös etyyliasetaatti/hek-
saanista uudelleenkiteyttämällä saatiin 19-hydroksi-3,3,-
20,20-bis(etyleenidioksi)pregn-5-eenia valkeina kiteinä.

Liuos, jossa oli kuivaa dimetyylisulfoksidia (1,6
ml) 10 ml:ssa kuivaa dikloorimetaania, lisättiin tipoit-
10 tain 5 minuutin aikana -50 - -60 °C:ssa pidettyyn liuok-
seen, jossa oli 0,96 ml oksalyylikloridia 15 ml:ssa di-
kloorimetaania. Kahden minuutin kuluttua lisättiin 5 mi-
nuutin aikana liuos, jossa oli 4,19 g edellä saatua alko-
holia [19-hydroksi-3,3,20,20-bis(etyleenidioksi)pregn-5-
15 eeni] 25 ml:ssa dikloorimetaania. Sekoittamista jatkettiin
15 minuutin ajan, minkä jälkeen lisättiin 7,0 ml trietyy-
liamiinia. Sitten liuoksen annettiin lämmetä huoneen läm-
pötilaan, jossa sitä laimennettiin lisäämällä 250 ml eet-
teriä. Liuos pestiin kolmeen kertaan laimealla kloorivety-
20 happoliuoksella sekä kerran natriumbikarbonaattiliuoksella
sekä suolaliuoksella. Liuos kuivattiin ja haihdutettiin
kuiviin, minkä jälkeen suoritettiin jäännöksen kromatogra-
fia-ajo silikageelissä etyyliasetaatti/heksaanilla eluoi-
den. Samasta liuotinjärjestelmästä uudelleenkiteyttämällä
25 saatiin 3,3,20,20-bis(etyleenidioksi)pregn-5-en-19-aalia
valkeina kiteinä.

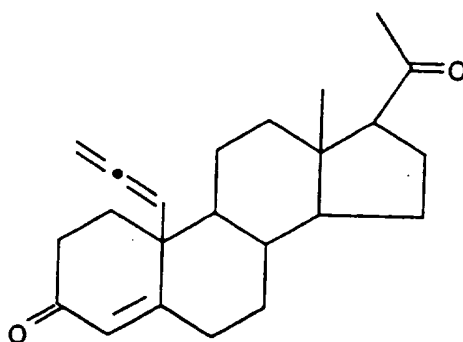
Liuos, jossa oli edellä saatua 19-aalia (4,17 g) 25
ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin -78 °C:ssa tipoittain
litiumtrimetyylisilyyliasetyylidiliuokseen, joka oli val-
30 mistettu käsittelemällä 1,87 g bis(trimetyylisilyyli)ase-
tyleeniä kaupallisesti saatavana olevalla metyyllilitiumil-
la (7,9 ml, 1,4 M liuos eetterissä) 0 °C:ssa 3 tunnin ajan.
Liuoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan, jossa sitä
sekoitettiin tunnin ajan. Liuos jäähdytettiin 0 °C:seen,
35 minkä jälkeen siihen lisättiin 0,8 ml asetyylikloridia.

Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuutin ajan, minkä jälkeen siihen lisättiin 50 ml tetrabutyyliammoniumfluoridin 1,0 M liuosta tetrahydrofuraanissa ja jäähaude poistettiin. Liuosta sekoitettiin edelleen 30 minuutin ajan ja laimennettiin sitten lisäämällä eetteriä, minkä jälkeen se kaadettiin ammoniumkloridin vesiliuokseen. Orgaaninen faasi erotettiin, pestiin kolmeen kertaan vedellä ja kerran suolaliuoksella sekä kuivattiin. Liuos haihdutettiin kuiviin ja jäännöksellä suoritettiin kromatografia-ajo silikageelissä etyyliasetaatti/heksaanilla eluoiden. Etanolista uudelleenkiteyttämällä saatiin 3,3,20,20-bis(etyleenidiodoksi)-19-asetoksi-19-etynyylipregn-5-eenia.

Pentyylikuparia (11,14 g) lietettiin 125 ml:aan kuivaa eetteriä, liuos jäähdytettiin -40 °C:seen ja lisättiin 53 ml n-butyylilitiumin 1,6 M liuosta heksaanissa. Seosta sekoitettiin -40 °C:ssa tunnin ajan, minkä jälkeen se jäähdytettiin -78 °C:seen. Liuos, jossa oli edellä kuvattun mukaisesti valmistettua 19-asetoksi-19-etynyyl-yhdistettä (4,85 g) 250 ml:ssa eetteriä, jäähdytettiin -78 °C:seen vaipalla varustetussa lisäyssuppilossa ja lisättiin nopeasti edeltävään kupraattiin. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuutin ajan, minkä jälkeen reaktio pysäytettiin lisäämällä 25 ml edeltäpäin -78 °C:seen jäähdytettyä metanolia. Saatu liete kaadettiin jääkylmään ammoniumkloridiliuokseen, ja saatu seos suodatettiin suodatusapuaainetta käyttäen. Muodostuneet faasit erotettiin ja orgaaninen faasi pestiin suolaliuoksella. Se kuivattiin sekä haihdutettiin kuiviin, minkä jälkeen jäännöksellä suoritettiin kromatografia-ajo silikageelissä etyyliasetaatti/heksaanilla eluoiden. Etanolista uudelleenkiteyttämällä saatiin 3,3,20,20-bis(etyleenidiodoksi)-10-(1,2-propadienyyli)-19-norpregn-5-eenia valkeina kiteinä.

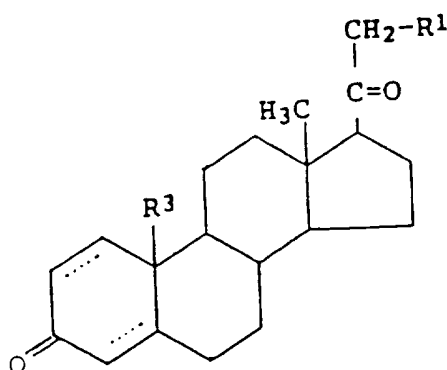
Liuokseen, jossa oli 4,27 g edellä kuvattun mukaisesti saatua 1,2-propadienyyli-yhdistettä 50 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin 10 ml 1 N kloorivetyhappoa ja se-

- koitettiin 18 tunnin ajan. Liuosta laimennettiin eetteril-
lä ja erotettiin vesifaasi. Orgaaninen faasi pestiin nat-
riumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella sekä kui-
vattiin. Kuiviin haihduttamalla saatu jäännös uudelleenki-
teytettiin etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saatiin
5 10-(1,2-propadienyyl)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dionia
valkeina kiteinä. Tämän yhdisteen rakennekaava on seuraa-
va:



Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten
19-substituoitujen progesteronijohdannaisten valmistami-
seksi, joilla on kaava



jossa R^1 on vety, hydroksyyli tai $R^6-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-O-$; R^3 on
 $CH\equiv C-(CH_2)_n-$ tai $CH_2=CH-(CH_2)_n-$; R^6 on C_{1-6} -alkyyli ja n on
kokonaisluku 1 - 4, t u n n e t t u siitä, että

(a) 10-(2-propynylyli)-20-metoksi-19-norpregna-
5,17(20)-dien-21-ooatti pelkistetään hydridipelkistimellä
vastaavan 21-hydroksiyhdisteen saamiseksi, minkä jälkeen
mahdolliset suojaryhmät poistetaan tavanomaisia menetelmiä
käyttäen;

(b) sopiva 5 α ,10 α -epoksi-19-norpregnaani saatetaan
reagoimaan propargyylimagnesiumbromidin kanssa vastaavan
5- α -hydroksi-10 β -propargylyli-19-norpregnaanin saamiseksi,
minkä jälkeen mahdolliset suojaryhmät poistetaan tavan-
omaisia menetelmiä käyttäen, mahdollinen 3-hydroksiryhmän
hapetetaan lopputuotteeseen halutuksi oksoryhmäksi ta-
vanomaisia reagensseja käyttäen sekä mahdollinen 5-hydrok-
siryhmä poistetaan hapolla Δ^4 -yhdisteen saamiseksi; tai

(c) sopiva 10-(1-asetoksi-2-propynylyli)-19-norpreg-
naani saatetaan reagoimaan pentynylylikuparin ja butyyllili-
tiumin kanssa 10-allenylyliryhmän käsittävän yhdisteen saa-

miseksi, minkä jälkeen mahdolliset suojaryhmät poistetaan tavanomaisia menetelmiä käyttäen.

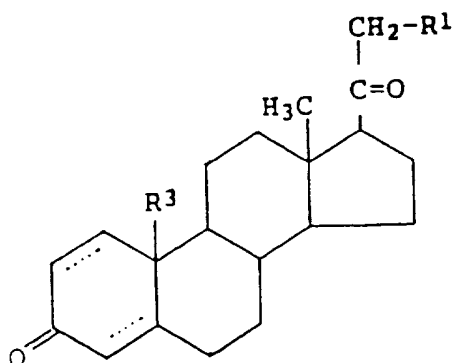
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 21-hydroksi-10-
5 (2-propynyyl)-19-norpregn-4-eeni-3,20-dioni.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 19-substituerade progesteronderivat med formeln

5

10



15

i vilken R^1 är väte, hydroxyl eller $R^6-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{O}-$; R^3 är $\text{CH}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_n-$ eller $\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_2)_n-$; R^6 är C_{1-6} -alkyl och n är ett heltal 1 - 4, k ä n n e t e c k n a t d ä r a v, a t t

20

(a) 10-(2-propynyl)-20-metoxi-19-norpregna-5,17(20)-dien-21-oat reduceras med ett hydridreduktionsmedel för erhållande av en motsvarande 21-hydroxiförening, varefter de eventuella skyddsgrupperna avlägsnas genom användning av konventionella förfaranden;

25

(b) ett lämpligt $5\alpha,10\alpha$ -epoxi-19-norpregnan bringas att reagera med propargylmagnesiumbromid för erhållande av motsvarande 5α -hydroxi- 10β -propargyl-19-norpregnan, varefter de eventuella skyddsgrupperna avlägsnas genom konventionella förfaranden, den eventuella 3-hydroxigruppen oxideras till en oxogrupp, som önskas i slutprodukten, genom användning av konventionella reagenser samt den eventuella 5-hydroxigruppen avlägsnas med en syra för erhållande av en Δ^4 -förening; eller

30

35

(c) ett lämpligt 10-(1-acetoxi-2-propynyl)-19-norpregnan bringas att reagera med pentynylkoppar och butyl-

litium för erhållande av en förening som omfattar en 10-allenylgrupp, varefter de eventuella skyddsgrupperna avlägsnas genom konventionella förfaranden.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
5 t e c k n a t därav, att 21-hydroxi-10-(2-propynyl)-19-norpregn-4-en-3,20-dion framställs.