

Meiózist moduláló 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-**-származékok** és ezeket tartalmazó

gyógyászati készítmények

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY**K i v o n a t**

A találmány (I) általános képletű 17 β -alliloxi(tio)-alkil-androsztán származékokra vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sóira vonatkozik, ahol a képletben

R_1 jelentése (H, OR), (H, OSO₃H) vagy NOR, ahol R hidrogénatomot, alkilcsoportot vagy acilcsoportot jelent;

R_2 és R_3 egymástól függetlenül hidrogénatom vagy alkilcsoport;

n értéke 0, 1 vagy 2;

X jelentése oxigén- vagy kénatom, S(O)- vagy S(O)₂-csoport;

R_4 és R_5 egymástól függetlenül hidrogénatom vagy alkilcsoport;

R_6 , R_7 és R_8 egymástól függetlenül hidrogénatom, fenilcsoport, halogénatom vagy adott esetben hidroxilcsoporttal, szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal helyettesített alkilcsoport; vagy

R_7 és R_8 azzal a szénatommal együtt, melyhez kapcsolódnak, 3-6 szénatomos cikloalkán gyűrűt alkotnak; vagy

R_6 és R_7 azokkal a szénatomokkal együtt, amelyekhez kapcsolódnak, 5-6 szénatomos cikloalkén gyűrűt alkotnak; és

a szaggatott vonalak Δ^7 vagy Δ^8 helyzetű kettős kötést vagy $\Delta^{7,14}$, $\Delta^{8,14}$ vagy $\Delta^{6,8(14)}$ helyzetű konjugált kettős kötéspárt jelölnek.

A találmány tárgyát képező 17 β -alliloxi(tio)-alkil-androsztán származékok és ezeket tartalmazó készítmények a következőképpen definiáltak:

Jellemző képlet (I).

Erőssé Katalin

Meiózist moduláló 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztánok és ezeket tartalmazó

gyógyszeres készítmények KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztánokra, ezeket tartalmazó gyógyászati készítményekre, valamint e 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékoknak fogamzás-szabályzó gyógyszerek előállítására történő alkalmazására vonatkozik.

Az ivaros szaporodás diploid és haploid állapotok ciklikus változásával jár: a meiózis során a diploid sejtek osztódásakor haploid sejtek képződnek, melyek megtermékenyítéskor párokká egyesülve új diploid sejteket hoznak létre. A meiózis folyamata a hím és női ivarsejtek esetében is két meiotikus szakaszból áll. A folyamat két szakasza során egy DNS replikációs menetet követően, egyetlen diploid sejtből 4 haploid sejt képződik. A kromoszómális crossover, melynek során az apai és anyai genetikai anyag kölcsönösen kicserélődik, az első meiotikus szakasz profázisában zajlik le. Az első meiotikus szakasz végén a kromoszómapár 1-1 tagja (melyeket két testvérkromatid alkot) 1-1 utódsejtbe kerül. A második meiotikus szakaszban a testvérkromatidok különválnak és külön-külön haploid sejtekben helyezkednek el. A hím és a női ivarsejtek hasonló meiotikus osztódásokon mennek át, de a folyamat szabályozása a két nemnél különböző.

Hímek esetében egy éretlen ivarsejt-populációból, a törzs-sejt spermatogoniumokból származó ivarsejtek meiózisa folyamatos. A hímeknél a nemi érést követően a törzs-sejt populáció spermatogoniumjainál beindul a meiózis. Az első és a második meiotikus szakasz megszakítás nélkül zajlik le és négy érett spermiumot eredményez.

Nőknél az elsődleges oociták első meiotikus szakasza már embrionális állapotban megindul, de ezután a nő nemi érettségéig a profázis stádiumában (diktiotén stádium) vesztegel. A meiózis az



ovuláció (peteérés) időpontjában folytatódik, nevezetesen: befejeződik a meiózis első szakasza, és indul a második szakasz. A gerincesek többségénél a második szakasz a metafázisnál megáll és csak megtermékenyülés esetén fejeződik be. Az első és második meiotikus szakasz végén a citoplazma aszimmetrikusan osztódik, létrehozva 2 másodlagos oocitát, ezek mindegyike haploid számban tartalmaz egyfonalas kromoszómát, méretük azonban nagyon különböző: az egyik egy kis poláris test, amely a későbbiekben elsorvad, a másik egy nagy sejt, az összes fejlődési potenciál hordozója. Végül is egy érett petesejt jön létre.

Az a stádium, amikor a fejlődő oocita kiszabadul a petefészekből és kész a megtermékenyülésre, fajtánként változó. Mind a gerinctelenek, mind a gerincesek petefészkében lévő sejtek a szervezetben másutt képződő polipeptidek (gonadotropinok) hatására fejlődnek tovább, melyek az oociták érését, és végső soron a legtöbb fajtában a peteérést szabályozzák. Az ember esetében az újszülött lánycsecsemő elsődleges oocitáinak fejlődése megreked az első meiotikus szakasz profázisában, és ezek többségét egy rétegben tüszősejtek veszik körül; az ilyen oocita az azt körülvevő sejtekkel alkotja az ősz-tüszőt. Az ősz-tüszők egy kis része ezután fejlődő tüszökké alakul: a tüszősejtek megnőnek és proliferálódnak s többretegű burkot alkotnak az elsődleges oocita körül; maga az oocita is megnő és átlátszó peteburkot növeszt (zona pellucida), mely lényegében egy olyan extracelluláris mátrix, amely nagyrészt glikoproteinekből és kortikális szemcsékből áll. Az utóbbiak kiválasztásra specializálódott vezikulumok, melyek közvetlenül a plazma membrán külső része (a pete citoplazmát körülvevő kortex) alatt helyezkednek el. Amikor a petét a sperma aktiválja, akkor ezek a kortikális szemcsék exocitózis útján kibocsátják tartalmukat, s az így kiválasztott anyag hatására a peteburok

átalakul, megakadályozva ezzel, hogy más spermiumok egyesüljenek a petével.

A fejlődő tüszők folyamatosan növekednek, ezek közül néhánynak a belsejében egy üreg képződik, melyben folyadék halmozódik fel; ezek az antrális vagy hólyagszerű tüszők. Az ilyen tüszők működése az agyalapi mirigy által termelt gonadotropinoktól (főleg a folliculus stimuláló hormontól vagy FSH-tól) és a maguk a tüszősejtek által termelt ösztrogénektől függ. A pubertással kezdődően egy másik, szintén az agyalapi mirigy által termelt gonadotropin, a luteinizáló hormon (LH; sárgatest-hormon) termelődése is felerősödik, s ennek hatására egy hólyagszerű tüsző fejlődése befejeződik: ha az általa bezárt elsődleges oocita megérett arra, hogy az első meiotikus szakaszt befejezze, akkor a stimulált tüsző gyorsan megnő, a petefészek felületére jutva megreped és a petesejtet, mint másodlagos oocitát kibocsátja. Az emlősök többségéhez hasonlóan, a másodlagos oocita csak akkor kezdi el a második meiotikus szakaszt, ha a spermium megtermékenyítette.

A meiózis beindulását és szabályozását megszabó mechanizmusok vizsgálati eredményei hím és női ivarsejtek esetében is arra utalnak, hogy a meiózis megkezdésében ciklikus nukleotidok játszhatnak mediátor szerepet. Az oociták spontán érése olyan vegyületekkel akadályozható, melyek a cAMP-szintet magasan tartják [Eppig, J. és Downs, S. Biol. Reprod. 30:1-11 (1984)]. A purin-vegyületeknek, pl. az adenzinnak vagy a hipoxantinnak vélhetőleg szintén szerepe van a meiózis cAMP által mediált szüneteltetésében [Eppig, J., Ward-Bailey, P. és Coleman, D. Biol. Reprod. 33:1041-1049 (1985)]. Egér magzat ivarszerv tenyésztésben elsőként Byskov, A. és munkatársai észlelték meiózis-szabályozó anyag jelenlétét [Dev. Biol. 52:193-200 (1976)]. Sze-

rintük a meiotikus folyamatot egy meiózist aktiváló anyag (MAS) és egy meiózist akadályozó anyag (MPS) koncentrációja együtt befolyásolja [Byskov, A. és munkatársai: The physiology of reproduction, Eds. Knobil, E. és Neill, J. Raven Press, New York (1994)]. Nem régiben Byskov, A. és munkatársai humán tüsző-folyadékából (3 β ,5 α ,20R)-4,4-dimetil-koleszta-8,24-dien-3-olt izoláltak, mint endogén meiózis-aktiváló anyagokat [Nature 374:559-562 (1995)]. Ezekről a szterolokról bizonyítani tudták, hogy csupasz és kumuluszokba zárt egér-oociták tenyésztésében képesek a meiozós újrakezdésének beindítására.

Telített vagy telítetlen kolesztán-oldalláncot tartalmazó endogén szterol származékokat a WO 96/00235, WO 97/00883 és WO97/00884 (Novo Nordisk A/S) számon publikált nemzetközi szabadalmi bejelentések ismertetnek meiózist szabályzó hatással.

Ezeknek a kolesztánoknak az a hátránya, hogy a szervezetben hajlamosak a gyors dezaktiválódásra [Hall, P. F. Vitamines and Hormones 42:315 (1985)] s ezáltal megtermékenyítést szabályzó szerként a terápiás értékük kérdésessé vált.

Továbbra is fennáll tehát az igény a meiotikus folyamatot in vivo megfelelően szabályzó szerek iránt.

A találmány (I) általános képletű 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékokra vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sóira vonatkozik

- ebben a képletben

R₁ jelentése (H, OR), (H, OSO₃H) vagy NOR, ahol R hidrogénatomot, 1-6 szénatomos alkilcsoportot vagy 1-6 szénatomos acilcsoportot jelent;

R₂ és R₃ egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

n értéke 0, 1 vagy 2;

X jelentése oxigén- vagy kénatom, S(O)- vagy S(O)₂-csoport;
 R₄ és R₅ egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;
 R₆, R₇ és R₈ egymástól függetlenül hidrogénatom, fenilcsoport, halogénatom vagy adott esetben hidroxilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos alkilcsoport; vagy
 R₇ és R₈ azzal a szénatommal együtt, melyhez kapcsolódnak, 3-6 szénatomos cikloalkán gyűrűt alkotnak; vagy
 R₆ és R₇ azokkal a szénatomokkal együtt, amelyekhez kapcsolódnak, 5-6 szénatomos cikloalkén gyűrűt alkotnak; és
 a szaggatott vonalak Δ^7 vagy Δ^8 helyzetű kettős kötést vagy $\Delta^{7,14}$, $\Delta^{8,14}$ vagy $\Delta^{6,8(14)}$ helyzetű konjugált kettős kötéspárt jelölnek.

Azt találtuk, hogy az (I) általános képletű 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékok meiózist aktiváló hatása jobb az eddig ismert vegyületekénél.

A találmány vonatkozik továbbá az (I) általános képletű 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékokat tartalmazó gyógyászati készítményekre is.

A találmány tárgyához tartozik az (I) általános képletű 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékoknak fogamzás-szabályzó gyógyszerek gyártásához történő felhasználása is.

Az (I) általános képletnél megadott 1-6 szénatomos alkilcsoport 1-6 szénatomos egyenes vagy elágazó láncú alkilcsoport lehet, mint amilyen a hexil-, pentil-, butil-, izobutil-, t-butil-, propil-, izopropil-, etil- és metilcsoport. Az 1-4 szénatomos alkilcsoport is hasonlóan értendő.

Az 1-6 szénatomos acilcsoport 1-6 szénatomos karboxilsavból származó acilcsoportot jelent, mint amilyen a hexanoil-, pentanoil-, pivaloil-, butiril-, propanoil-, acetil- és formilcsoport.

Az 1-6 szénatomos acilcsoport definícióba a dikarboxilsavakból származó acilcsoportokat is beleértjük, mint amilyen a hemi-glutaril-, hemi-szukcinil- és hemi-maloilcsoport, melyek közül a hemi-szukcinilcsoport az előnyös.

Az 1-4 szénatomos alkoxics csoportok példái a butiloxi-, propiloxi-, izopropil-oxi-, etiloxi- és előnyösen a metiloxics csoport.

A halogénatom fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom lehet. Ha a halogénatom valamely alkilcsoport helyettesítője, mint ahogy az R_6 , R_7 és R_8 definíciójában van, akkor a klór- és a fluoratom az előnyös és a fluoratom a legelőnyösebbek.

A 3-6 szénatomos cikloalkán gyűrű ciklopropánt, ciklobutánt, ciklopentánt és ciklohexánt jelent.

A találmány szerinti 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztánok természetes konfigurációja az 5α , 9α , 10β , 13β és 14α konfiguráció. Az (I) általános képletű vegyületek közül a 17β -alliloxi-alkil-androsztán-származékok az előnyösek, amelyekben n értéke zéró és X jelentése oxigénatom. Még előnyösebbek azok a vegyületek, amelyekben ezenkívül R_1 jelentése (H, OR), ahol R a már megadott jelentésű, és a szaggatott vonalak konjugált kettős kötések jelentenek $\Delta^{7,14}$, $\Delta^{8,14}$ vagy $\Delta^{6,8(14)}$ helyzetekben. Az előnyös vegyületek között is különösen előnyösek azok, melyekben a 3-OR szubsztituens β -konfigurációjú. A 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztánokban a 20. helyzet akár R-, akár S-konfigurációjú lehet, előnyös az R-konfiguráció. A találmány szerinti vegyületek különösen előnyös képviselői a következő 17β -alliloxi-alkil-androsztán-származékok: $(3\beta, 5\alpha, 20R)$ -4,4-dimetil-22-oxakolesztan-8,14,24-trien-3-ol és a $(3\beta, 5\alpha, 20S)$ -4,4-dimetil-23-oxakolesztan-8,14,25-trien-3-ol.

A találmány szerinti 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékok meiózist aktiváló hatását in vitro oocita tesztekben

mértük, mint azt a képességet, mely csupasz oocitákban (denuded oocytes; DO) a hipoxantin által szüneteltetett meiózist újra beindítja. A vegyületek mind a hím mind a női egyedek esetében stimulálják a meiózist, tehát fogamzást szabályzó szerként használhatók. A fogamzás-szabályzásba a mind fogamzásgátlást, mind a meddőség kezelését beleértjük

A találmány szerinti 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékokat a nő fogamzásgátlására úgy alkalmazhatjuk, hogy a még a petefészekben lévő oocita idő előtti érését idézzük elő, vagyis a gonadotropin hatására természetesen bekövetkező érést megelőző érést indukálunk [Mattheij, J. és munkatársai patkányokon mutattak ki csökkent mértékű termékenységet, melyet az oociták idő előtti érésének előidézésével értek el; Gynecol. Obstet, Invest, 36:129-135 (1998)]. A találmány szerinti vegyületek in vivo beadáskor specifikusan hatnak az ivarsejtekre, tehát az az előnyük, hogy az endogén hormon-szintet, s következésképp a ciklus normális hosszúságát nem befolyásolják. A fogamzásgátlásnak ez a módja nem okoz a szteroidos fogamzásgátlás esetén időnként előforduló nem kívánt mellékhatásokat (pl. trombózis, rosszkedv, soronkívüli vérzés, malignus emlődaganat). Ezzel kapcsolatban meg kívánjuk jegyezni, hogy a találmány szerinti vegyületek nem kötődnek a szteroid receptorokhoz: nem tapasztaltunk progeszteron-receptorhoz, androgén-receptorhoz, ösztrogén-receptorhoz vagy glükokortikoid-receptorhoz való kötődést. Ezek a vegyületek a humán mellékvese sejtekben végbemenő szteroid-szintézist, vagy –metabolizmust sem befolyásolják abban a dózisban, mely az in vitro oocita érést előidézi.

A találmány szerinti 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékok egy további előnye, hogy inkompetens oociták (azaz pre-antrális stádiumú tüszőkből izolált oociták) érését nem tudják

előidézni, vagyis nem befolyásolják a petefészekben lévő teljes oocita-készletet, hanem csak az üreges (centrális) tüszőből származó oociták (kompetens oociták) érését indukálják.

Az érett oociták hiányára visszavezethető női meddőség kezelésére a találmány szerinti vegyületeket *in vivo* beadhatjuk, hogy idejében stimulálják a kompetens oociták érését.

Ha a férfi terméketlenségét az okozza, hogy kevés az érett spermiumok száma, akkor a találmány szerinti vegyületek *in vivo* beadásával stimulálhatjuk a spermatogoniumok érését.

A találmány szerinti vegyületeket táptalaj-adalékként is használhatjuk *in vitro* megtermékenyítési eljárásokban, s így javíthatjuk az oocita minőségét.

A találmány szerinti 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékok természetes konfigurációja 5 α , 9 α , 10 β , 13 β , 17 β és lehet bennük egy vagy több további királis szénatom. Ebből következik, hogy a vegyületek előállításakor tiszta diasztereomert vagy diasztereomer-keveréket kapunk. A tiszta diasztereomereket ismert módszerekkel, pl. kristályosítással vagy kromatografálással állíthatjuk elő.

Az X helyén S(O)-csoportot tartalmazó vegyületek az optikailag aktív kénatom jelen léte miatt diasztereoizomer-(szulfoxid)-párként keletkeznek. Mind a diasztereoizomer-keverék, mind az egyes izomerek a találmány tárgyához tartoznak.

Az (I) általános képletű vegyületek sói közül azok használhatók terápiás célra, melyekben az ellenion gyógyászatilag elfogadható. A savas jellegű (I) általános képletű vegyületek [vagyis azok, amelyekben R₁ jelentése (H, OSO₃H)] sói pl. a gyógyászatilag elfogadható vegyületek előállításánál vagy tisztításánál hasznosulhatnak. Az összes sókat – akár gyógyászatilag elfogadhatók, akár nem – az oltalmi körbe tartozónak tekintjük. A találmány

szerinti savas vegyületek sóinak példái az ásványi sók, így pl. a nátrium-só, kálium-só, valamint a szerves bázisokból származó sók, így pl. az ammónia, imidazol, etilén-diamin, trietil-amin és hasonlóak.

Az (I) általános képletű vegyületeket vagy ezek gyógyászati-lag elfogadható sóit, melyeket hatóanyagként is nevezünk, enterálisan vagy parenterálisan adhatjuk be a betegnek. A hatóanyag pontos dózisa és adagolási rendje értelemszerűen az elérni kívánt hatásból (meddőség kezelése, illetve fogamzásgátlás), az adott vegyülettől, a beadás módjától, kezelni kívánt egyén állapotától és életkorától függően változhat.

A parenterális beadásmód általában kisebb dózist igényel, mint az egyéb, az adszorpciótól jobban függő beadásmódok. A humán dózis előnyösen 0,0001-25 mg/testsúlykg. A kívánt dózis beadható egyszerre, vagy napi több részadagra bontva, megfelelő időközönbséggel, illetve női recipiensek esetében a menstruációs ciklus során megfelelő napi szünetekkel. A dózis és az adagolási rend férfi és női recipiensek esetében különböző lehet.

In vitro vagy ex vivo alkalmazásoknál (pl. IVF alkalmazás) a találmány szerinti vegyületeket az inkubációs közegben, kb. 0,01-5 µg/ml mennyiségben alkalmazzuk.

A találmány tárgya kiterjed a gyógyászati készítményekre is, melyek az (I) általános képletű 17β-alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékokat valamely gyógyászati-lag elfogadható segédanyaggal (vagy anyagokkal) és adott esetben más gyógyhatású anyaggal összekeverten tartalmazzák. A segédanyagok akkor elfogadhatóak, ha a készítményben lévő egyéb komponensekkel kompatibilisek és a recipiensre nézve nem károsak.

A gyógyászati készítmények lehetnek orális, rektális, nazális, topikális (beleértve a transzdermális, bukkális és szublingvális

megoldást) és vaginális vagy parenterális (beleértve a szubkután, intramuszkuláris, intravénás és intradermális megoldást) beadásra alkalmasak. A készítményeket bármely, a gyógyszerkészítésben jól ismert eljárással, így pl. a Gennaro és munkatársai által a Remington's Pharmaceutical Sciences-ben leírt módszerekkel (18. kiadás, Mack Publishing Company, 1990; és különösen ennek 8. része: Pharmaceutical Preparations and their Manufacture) állíthatjuk elő. Ilyen eljárásokban a hatóanyagot valamely segédanyaggal (más néven: járulékos anyaggal) hozzuk össze, mint amilyenek a töltőanyagok, kötőanyagok, hígítóanyagok, szétesést elősegítő anyagok, kenőanyagok, színező- vagy aromaanyagok és nedvesítőszer.

Az orális beadásra szánt gyógyászati készítmények lehetnek diszkrét dózis egység formára hozva (pl. pirula, tabletta vagy kapszula), vagy lehetnek por, granulátum, oldat vagy szuszpenzió alakban. A hatóanyagot bólusz vagy paszta alakra is hozhatjuk. Rektális beadásra kúpot vagy beöntést készíthetünk.

Parenterális beadásra pl. vizes vagy nemvizes steril injekciót készíthetünk. A készítmény lehet dózis-egység formában, vagy több dózist tartalmazó konténerben, lehet zárt fiolában vagy ampullában, és tárolható liofilizált formában, melyhez használat előtt kell a steril folyékony vivőanyagot (pl. vizet) hozzáadni.

A nazális inhalálással beadható készítmények általában finom porok vagy ködök, melyeket mérhető dózist leadó, nyomással működő aerosol adagolókkal, porlasztókkal vagy inszufflátorokkal generálhatunk.

A találmány szerinti 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékokat olyan implantált gyógyászati eszközökkel is bejuttathatjuk, melyek a hatóanyagot egy, a kibocsátási sebességet szabályzó membránba zárva tartalmazzák. Az ilyen implantátumok

szubkután vagy helyileg alkalmazhatók, s ezek a hatóanyagot közelítőleg állandó sebességgel bocsátják ki viszonylag hosszú időn át, pl. hetektől évekig tartó időn keresztül. Ilyen implantálható gyógyászati eszközök már ismertek, pl. a 0 303 306 (Akzo N.V.) számú európai szabadalmi leírásból.

A találmány szerinti vegyületek a szerves kémiai szakirodalomban általánosan ismertetett és különösen a szteroid-kémiai irodalomban leírt módszerekkel állíthatók elő [pl. Fried J. és Edwards, J. A., Organic Reactions in Steroid Chemistry, I. és II. kötet, Van Nostrand Reinhold Company, New York (1972)].

Az (I) általános képletű vegyületek előállítására alkalmas egyik módszer szerint egy (II) általános képletű vegyületet – ebben a képletben

R_2 és R_3 egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

R_9 jelentése hidroxilcsoport megvédésére alkalmas védőcsoport, mint amilyen az alkoxi-alkilcsoport, így pl. etoxi-etilcsoport vagy tetrahidropiranyl-(THP)-csoport;

n értéke 0, 1 vagy 2; és

a szaggatott vonalak Δ^7 vagy Δ^8 helyzetű kettős kötést, vagy

$\Delta^{6,8(14)}$, $\Delta^{7,14}$ vagy $\Delta^{8,14}$ helyzetű konjugált kettős kötés-párt jelölnek, és

Y hidroxil- vagy merkaptocsoportot jelent –

egy (III) általános képletű 2-propenil-származékkal kondenzálunk – ebben a képletben R_4 , R_5 , R_6 , R_7 és R_8 a már megadott jelentésű, és Z jelentése halogénatom, előnyösen brómatom vagy egy kilépőcsoport, mint amilyen a toziloxi- vagy meziloxics csoport – vagy egy olyan (II) általános képletű vegyületet, melyben Y halogénatomot, előnyösen brómatomot vagy egy kilépőcsoportot jelent, mint amilyen a toziloxi- vagy meziloxics csoport, egy Z helyén

hidroxil- vagy merkaptocsoportot tartalmazó (III) általános képletű vegyülettel kondenzálunk,

és a kapott 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékot adott esetben a megfelelő szulfoxid-(X=SO) vagy szulfon-(X=SO₂) származékká oxidáljuk, majd a megmaradt védőcsoportokat eltávolítjuk és a kapott termék 3-OH-csoportját adott esetben 3-OR-csoporttá alakítjuk – ahol R a már megadott jelentésű -, vagy a 3-OH-csoportot oxidáljuk és a képződött 3-ketocsoportot NOR-csoporttá alakítjuk, ahol R a már megadott jelentésű.

A (II) és (III) általános képletű vegyületek között végbemenő kondenzációs reakciót a szakirodalomból ismert módon végezzük.

Így pl. az X helyén oxigénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket Y helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületnek egy helyettesítetlen vagy egy megfelelő helyettesített 2-propenil-halogeniddel vagy egy helyettesítetlen vagy egy megfelelően helyettesített 2-propen-1-ol-származékkal [vagyis egy (III) általános képletű vegyülettel] – ahol a hidroxilcsoport kilépőcsoporttá, pl. meziloxi- vagy toziloxicssoporttá alakított – végzett éterezésével állíthatjuk elő. A módszer lehet a Williamson éter-szintézis vagy lehet kálium-t-butanolát/18-korona-6/toluol kombinációjának alkalmazása [Kubodera, N. és munkatársai: Chem. Pharm. Bull. 41, 1659 (1993)] vagy más a szakirodalomból ismert módszer. Megfelelő 2-propenil-halogenidek pl. a 2-propenil-kloridok, a 2-propenil-bromidok és a 2-propenil-jodidok.

Az éterezési reakciót fordított megközelítésből is elvégezhetjük, nevezetesen úgy, hogy az Y helyén kilépőcsoportot, pl. bróm- vagy jódatomot, toziloxi- vagy meziloxicssoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületet egy megfelelően szubsztituált, és

előzetesen nátrium- vagy kálium-sóvá alakított 2-propen-1-ol-származékkal reagáltatjuk.

Az X helyén kénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket Y helyén fémmel (Na, K) helyettesített merkaptocsoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületnek megfelelően helyettesített 2-propenil-halogeniddel vagy egy megfelelően helyettesített 2-propen-1-ol-származékkal – melynek hidroxilcsoportja kilépőcsoporttá alakított – reagáltatása útján állíthatjuk elő [Schöberl, A. és munkatársai a Methoden der Organischen Chemie IX. kötet, 93. oldalán (Houben-Weyl, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1955)].

Az X helyén kénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket úgy is előállíthatjuk, hogy az Y helyén kilépőcsoportot, pl. bróm- vagy jódatomot, meziloxi- vagy toziloxics csoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületeket megfelelően szubsztituált és előzetesen nátrium- vagy kálium-sóvá alakított 2-propenil-merkaptánnal (Z helyén merkaptocsoportot tartalmazó (III) általános képletű vegyülettel) reagáltatjuk.

Az X helyén S(O)- vagy S(O)₂ csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket úgy állíthatjuk elő, hogy az X helyén kénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet valamely, a tio-éter szulfoxiddá vagy szulfonná oxidálására képes oxidálószerrel, pl. hidrogén-peroxiddal kezeljük [Varma, R. S. és munkatársai: Tetrahedron Lett. 38, 6525 (1997), és a cikkben idézett irodalom].

Az olyan (I) általános képletű vegyületeket, amelyekben X jelentése S(O)₂ és n értéke 1 vagy 2, úgy is közvetlenül előállíthatjuk, hogy az Y helyén kilépőcsoportot, pl. bróm- vagy jódatomot, toziloxi- vagy meziloxics csoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületet egy helyettesítetlen vagy megfelelően helyettesített és előzetesen nátrium- vagy kálium-sóvá alakított allil-

-szulfonsav-származékkal reagáltatjuk [lásd pl. Hiscock, S. D. és munkatársai, *J. Org. Chem.* **60**, 7166 (1996)].

A (II) általános képletű vegyületek azon képviselőit, melyekben n értéke zéró és Y jelentése hidroxilcsoport, célszerűen a kereskedelmi forgalomban lévő (3 β)-3-hidroxi-pregn-5-én-20-on kiindulási anyagból állítjuk elő [I. reakcióvázlat, (1) képletű vegyület]. Egy lehetséges szintézis út (melyet az 1. példa és az I. reakcióvázlat mutat be) a C-3 helyzetű hidroxilcsoportnak éter típusú védőcsoport, pl. etoxi-etil-éter, THP-éter vagy szilil-éter formájában való megvédésével indul. Ezek, és további alkalmas védőcsoportok az irodalomból jól ismertek [pl. Greene, T. W. és Wuts, P. G. M: *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York (1991)].

A második lépésben a 6-20 helyzetű karbonilcsoportot hidroxilcsoporttá redukáljuk. A redukciót hidrid-típusú redukálószerekkel végezhetjük, mint amilyen a lítium-alumínium-hidrid, a nátrium-borohidrid és hasonló; ebben az esetben főleg 20R-izomer keletkezik [Antia, N. J. és munkatársai; *J. Chem. Soc.* 1218 (1954)]. A redukciót végezhetjük továbbá alkálifémekkel alkanolokban [Meystre, C. *Helv. Chim. Acta* **29**, 33 (1946)] vagy boránokkal [Midland, M. M. és munkatársai, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 3725 (1983)], amikor dominánsan 20S-izomer képződik.

Alternatív megoldásként a 3-védett-pregn-5-én-3,20-diolokat megfelelően védett pregna-5,17-dién-3-ol-származékok bórhidrides reakciójával is előállíthatjuk [Marayama, E. és munkatársai, *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 4410 (1986); Yoshizawa, J. és munkatársai: *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 3819 (1983)].

A C-20 helyzetű hidroxilcsoportot ezután észterré, pl. acetáttá vagy benzoáttá, vagy hasonlóvá alakítjuk és a 3-helyzetű hidroxilcsoportról a védőcsoportot eltávolítjuk. Az utóbbit ezután

karbonilcsoporttá oxidáljuk; ezt a műveletet Oppenauer-oxidációval vagy Swern-oxidációval, vagy króm(VI)-reagens alkalmazásával (pl. Jones-reagens, piridinium-dikromát, piridinium-klór-kromát) vagy más, az irodalomból ismert oxidálószerrel végezhetjük. Ezt követően a C-20 helyzetű hidroxilcsoportról a védőcsoportot elszappanosítással eltávolítjuk, majd szilil-éter (pl. diizopropil-szilil-éter, t-butil-dimetil-szilil-éter vagy t-butil-difenil-szilil-éter) formájában újra megvédjük.

A kapott terméket adott esetben C-4 helyzetben mono- vagy dialkilezzük, pl. dialkilcsoportként dimetilcsoport bevitelével. Az alkilezést standard módszerekkel [pl. kálium-t-butoxid/metil-jodid alkalmazásával t-butanol/tetrahidrofurán elegyben; Dolle, R. E. és munkatársai: J. Org. Chem. 51, 4047 (1986)] vagy pl. lítium-diizopropilamid/metil-jodid alkalmazásával tetrahidrofuránban vagy az irodalomból ismert más módszerrel végezhetjük. Alternatív megoldásként a Δ^4 -vegyületet valamely bázissal, majd ezt követően víz hozzáadásával Δ^5 vegyületté alakíthatjuk [Jones, J. B. és munkatársai: Can. J. Chem. 46, 1459 (1968)]. Mindkét esetben a C-3 helyzetű karbonilcsoportot ezután hidroxilcsoporttá redukáljuk. Redukálószerként pl. lítium-alumínium –hidridet, nátrium-borohidridet vagy más, az irodalomból ismert hidrid-típusú redukálószerrel használunk. A kapott 3-hidroxi-vegyületet ezután észter formájában (pl. acetát, benzoát, pivalát vagy hasonló) megvédjük.

Ezután a Δ^5 -rendszer C-7 helyzetben történő brómozással, majd hidrogén-bromid elvonással $\Delta^{5,7}$ -dién rendszerré alakítjuk. A brómozási reakciót hőközléssel [Schroepfer, G. J. és munkatársai, Chem. Phys. Lipids 47, 187 (1988)] vagy fotokémiai úton segítjük elő [Prelle, A. és munkatársai: Heterocycles 28, 333 (1989)]. Az esetek bármelyikében brómozószerként N-bróm-szukcinimidet, 1,3-dibróm-5,5-dimetil-hidantoint vagy hasonlót használunk. A hidro-

gén-bromid elvonást N,N-diizopropil-etil-aminnal, 2,4,6-trimetil-piridinnel, trimetil-foszfittal, tetrabutyl-ammónium-fluoriddal vagy más hasonló vegyülettel végezzük.

Az $\Delta^{5,7}$ dién-vegyületet $\Delta^{6,8(14)}$ dién-, $\Delta^{7,14}$ dién- vagy $\Delta^{8,14}$ dién-vegyületté alakíthatjuk. Az átalakítási módszerek az irodalomból ismertek. A $\Delta^{6,8(14)}$ -származékká történő alakítást Kaneko, L. és munkatársai [Chem. Pharm. Bull. 26, 3582 (1978)], a $\Delta^{7,14}$ -származékká való átalakítást pl. Wilson, W. K. és munkatársai [J. Org. Chem. 53, 1713 (1988)], és a $\Delta^{8,14}$ -származékká való konvertálást pl. Schropfer, G. J., Jr. és munkatársai [Chem. Phys. Lipids 47, 187 (1988)] vagy Dalle, R. E. és munkatársai [J. Org. Chem. 53, 1563 (1988)] ismertetik. A $\Delta^{5,7}$ dién-vegyület $\Delta^{6,8(14)}$ -vegyületté $\Delta^{7,14}$ dién- vagy $\Delta^{8,14}$ dién-vegyületté alakításakor ezen izomerek keveréke képződhet. A tiszta vegyületek az irodalomból ismert módon, pl. kristályosítás, vagy szilikagél oszlopra felvitt ezüst-só alkalmazásával végzett kromatografálás útján nyerhetők. A Δ^7 -vegyületek a $\Delta^{5,7}$ dién vegyületeknek lítiummal folyékony ammóniában végzett redukciója [Lederer, F. és munkatársai, Bull. Soc. Chim. Fr. 1295 (1965)] vagy hidrogénezése útján állíthatók elő. A hidrogénezésnél katalizátorként használhatunk Raney-nikkelt [Gautschi, F. és munkatársai: J. Biol. chem. 233, 1343 (1958)], Wilkinson-katalizátort [Canonica, L. és munkatársai: Steroids 11, 287 (1968)] vagy mást. A Δ^8 -származékokat a $\Delta^{8,14}$ diénekből két lépésben állítjuk elő: először a Δ^{14} kettős kötést bór-hidriddel szelektíven redukáljuk, majd a kapott 15-hidroxil-vegyületből az oxigént elvonjuk [Dolle, R. E. és munkatársai: J. Am. Chem. Soc. 111, 278 (1989)].

A kettős kötésekkel való manipulálás során a C-20 helyzetű hidroxilcsoportról a védőcsoport lehasadhat. Ilyen esetben a 20-hidroxicsoporthat szilil-éter formájában a már ismertetett módon

újra megvédjük. A C-3 észtercsoportot ezután lítium-alumínium-hidriddel vagy más, az irodalomból ismert hidrid-típusú redukálószerrel eltávolítjuk, majd éter formájában, pl. etoxi-etil-éter vagy tetrahidropirán-éter formájában újra megvédjük. Végül ezt a vegyületet valamely fluoriddal, pl. kálium-fluoriddal, tetrabutil-ammónium-fluoriddal vagy más, a telítetlen 3-védett prena-3,20-diol-származék [Y helyén OH-csoportot tartalmazó, $n=0$ definíciónak megfelelő (II) általános képletű vegyület] előállítására alkalmas reagenssel kezeljük.

A (II) általános képletű vegyületek azon képviselőit, amelyekben n értéke 1 és Y jelentése hidroxilcsoport, pl. (20S)-21-hidroxi-20-metil-pregn-4-én-3-on-ból [Trost, B. M. és munkatársai: J. Am. Chem. Soc. 105, 5075 (1983)] kiindulva, a fentiekben ismertetett reakcióssal analóg módon állíthatjuk elő.

A (II) általános képletű vegyületek azon képviselőit, amelyekben n értéke 2 és Y jelentése hidroxilcsoport, olyan (II) általános képletű vegyületből állíthatjuk elő, amelyekben n értéke 1 és Y jelentése hidroxilcsoport. A lánc-hosszabbítást pl. a következő reakcióssal végezhetjük: a 21-hidroxilcsoportot kilépőcsoporttá alakítjuk, a kapott vegyületet kálium-cianiddal reagáltatjuk, majd a karbonitrilcsoportot először a megfelelő karboxaldehiddé, majd ezt alkohollá redukáljuk. Alternatív megoldás az egy szénatommal hosszabb homológ előállítására a következő: a megfelelő karboxaldehidből indulunk ki, ezt $(\text{Ph})_3\text{P}=\text{CHOMe}$ alkalmazásával Wittig kondenzációba visszük, majd az intermedier enol-étert elhidrolizáljuk. A homológok előállítására szolgáló módszerek az irodalomból ismertek [pl. Mathien, J. és munkatársai: Formation of C-C Bonds, I-III. kötet, Georg Thieme Publishers, Stuttgart (1973)].

A (II) általános képletű vegyületek azon képviselőit, amelyekben Y jelentése merkaptocsoport és n értéke 0, 1 vagy 2, az Y helyén hidroxilcsoportot tartalmazó, n = 0, 1 vagy 2 definíciónak megfelelő vegyületekből tioecetsavval végzett Mitsunobu reakcióval, majd a kapott tiol-vegyület redukciójával vagy elszappanosításával állíthatjuk elő [Hughes, D. L. Organic –Reactions 42, 335 (1992)]. Alternatív megoldásként ezeket a vegyületeket úgy is előállíthatjuk, hogy egy olyan (II) általános képletű vegyületet, melyben n értéke 1 vagy 2 és Y jelentése kilépőcsoport, mint amilyen a bróm- vagy jódatom, toziloxi- vagy meziloxics csoport, tiokarbamiddal, majd valamely bázissal, pl. nátrium-hidroxiddal vagy kálium-hidroxiddal reagáltatunk [lásd pl. Allewaert, K. és munkatársai: Bioorganic & Med. Chem. Lett. 3, 1859 (1993)].

A (III) általános képletű 2-propenil-származékok kereskedelmi forgalomból beszerezhetők vagy ismert módszerekkel előállíthatók.

Az R₁ helyén (H, OH) szubsztituenseket tartalmazó (I) általános képletű vegyületekből kiindulva a szakirodalomból ismert módszerekkel R₁ helyén (H, OR), (H, OSO₃H) vagy NOR szubsztituenst tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket állíthatunk elő; R₁ jelentésében R hidrogénatomot, 1-6 szénatomos alkil- vagy 1-6 szénatomos acilcsoportot jelent.

A találmányt közelebbről a következő példákkal szemléltetjük.

1. példa

(3β,5α,20S)-4,4-Dimetil-22-oxakoleszta-8,14-24-trién-3-ol (19 vegyület; I. reakcióvázlat)

i) 100 g (3β)-3-hidroxi-pregn-5-én-20-on (1) 600 ml diklór-metánnal és 200 ml etil-vinil-éterrel készült oldatához 6,32 g piridinium-(p-toluol-szulfonát)-ot adunk. A reakcióelegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd az elegyhez 20 ml trietil-amint

adunk és az elegyet 18 telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldathoz öntjük. A terméket diklór-metánnal extraháljuk, az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasó-oldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk.

125,6 g (3 β)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-on-t (2) kapunk, melyet további tisztítás nélkül viszünk a következő reakciólépésbe.

ii) 20 g (3 β)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-ont 587 ml vízmentes n-butanolban visszafolyató hűtő alkalmazásával forralunk és közben kis részletekben, 2 óra alatt 8,98 g nátriumot adunk az oldathoz, majd a forralást további két órán át folytatjuk. A reakcióelegyet lehűtjük és 1,5 l telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldathoz öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasó-oldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A nyers terméket oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítva 5,08 g (3 β ,20R)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-olt és 7,21 g (3 β ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-olt (3) kapunk.

iii) 56,9 g (3 β ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-ol 144 ml vízmentes piridinnel és 72,3 ml ecetsav-anhidriddel készült oldatát szobahőmérsékleten 18 órán át keverjük. A reakcióelegyhez 482 ml vizet adunk és a keverést további 1 órán át folytatjuk. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd telített vizes konyhasó-oldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk 66,1 g (3 β ,20S)-3-[(1-etloxi-metil)-oxi]-pregn-5-én-20-ol acetátot kapunk (4), melyet további tisztítás nélkül viszünk a következő lépésbe.

iv) 66,1 g (3 β ,20S)-3-[(3-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-ol-acetátot 1330 ml acetonban oldunk, az oldatot 13,2 ml 4M vizes

sósav-oldattal kezeljük. A reakcióelegyet 45 percig keverjük, majd 3 l víz és 500 ml telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat elegyéhez öntjük. A kapott csapadékot szűrővel elkülönítjük és diklór-metánban feloldjuk. A szűrletet etil-acetáttal extraháljuk, a diklór-metános és etil-acetátos oldatot először telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd telített vizes konyhasó-oldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. 53,5 g (3 β ,20S)-pregn-5-én-3,20-diol-20-acetátot kapunk (5), mely további tisztítás nélkül vihető a következő lépésbe.

v) 21,9 g (3 β ,20S)-pregn-5-én-3,20-diol-20-acetát 252 ml vízmentes toluol és 156 ml vízmentes 2-butanon elegyével készült oldatához 18,1 g alumínium-izopropoxidot adunk. A reakcióelegyet 2 órán át visszafolyató hűtő alkalmazásával forraljuk, majd lehűtjük és 91,4 g nátrium-tartarát-tetrahidrát 90 ml vízzel készült oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 30 percig keverjük, majd lehűtjük. A szűrletet telített vizes konyhasóoldathoz öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálással 17,9 g (20S)-20-(acetyl-oxi)-pregn-4-én-3-ont (6) kapunk.

vi) 17,9 g (20S)-20-(acetyl-oxi)-pregn-4-én-3-on 418 ml tetrahidrofurán, 380 ml metanol és 125 ml víz elegyével készült oldatához 22,5 g kálium-hidroxidot adunk. A reakcióelegyet 3 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd 2 l vízhez öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. 35,4 g (20S)-20-hidroxi-pregn-4-én-3-ont (7) kapunk oszlopkromatografálással.

vii) 36,3 g (20S)-j20-hidroxi-pregn-4-én-3-on és 53,5 g imidazol 345 ml N,N-dimetil-formamiddal készült oldatához 39,6 g t-butil-dimetil-szilil-kloridot adunk. A reakcióelegyet 2,5 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd vízhez öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist vízzel és telített vizes konyhasóoldattal mossuk, majd nátrium-szulfáttal vízmentesítjük. Oszlopkromatografálással 41,6 g (20S)-20-[[[(3,3-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-pregn-4-én-3-ont (8) kapunk.

viii) 40,6 g (20S)-20-[[[(3,3-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-pregn-4-én-3-ont 1000 ml vízmentes t-butanol és 146 ml vízmentes tetrahidrofurán elegyében oldunk és az oldathoz 46,3 g kálium-t-butoxidot adunk. A reakcióelegyet 10 percig 45 °C-on tartjuk, majd 52,4 ml metil-jodidot adunk hozzá. A reakcióelegyet egy éjszakán át ugyanezen a hőmérsékleten tartjuk, majd 2 l vízhez öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasóoldattal mossuk, és nátrium-szulfáttal vízmentesítjük. Oszlopkromatografálással 40,7 g (20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregn-5-én-3-ont (9) kapunk.

ix) 9,81 g lítium-alumínium-hidrid 490 ml tetrahidrofuránnal készült jéggel hűtött szuszpenziójához cseppenként hozzáadjuk 39,4 g 9-vegyület 400 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát. A reakciókeveréket 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd 0 °C-ra hűtjük, és telített vizes nátrium-szulfát-oldattal összekeverjük. A reakciókeveréket celiten átszűrjük és a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk. 38,9 g (3 β ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregn-5-én-3-olt (10) kapunk, melyet tisztítás nélkül viszünk a következő reakciólépésbe.

x) 38,9 g (3 β ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregn-5-én-3-olt 395 ml vízmentes piridinben oldunk

és az oldatot jéggel lehűtjük, majd 5 perc alatt 19,9 ml benzoil-kloridot adunk hozzá. A reakcióelegyet 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd 2 l jeges vízhez öntjük. A kapott szuszpenziót egy éjszakán át keverjük és leszűrjük. A szűrőn maradt anyagot 1,5 l 40-50 °C-os vízzel mossuk, majd diklór-metánban oldjuk. A diklór-metános oldatot telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálással 45,9 g (3 β ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregn-5-én-3-ol-benzoátot (11) kapunk.

xi) 44,6 g (3 β ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregn-5-én-3-ol-benzoátot, 394 ml vízmentes toluol, 394 ml vízmentes ciklohexán és 17,8 g N-bróm-szukcinimid elegyét 10 percig visszafolyató hűtő alkalmazásával forraljuk. A reakcióelegyet ezután lehűtjük, újabb 17,8 g N-bróm-szukcinimidet adunk hozzá és az eleget további 10 percig visszafolyató hűtő alkalmazásával forraljuk. A reakcióelegyet lehűtjük, 802 ml telített vizes nátrium-tioszulfát oldatot adunk hozzá és az eleget 30 percig keverjük, a fázisokat elválasztjuk és a vizes fázist toluollal kétszer extraháljuk. Az egyesített szerves fázist nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradék nyers terméket 1380 ml vízmentes toluollal oldjuk és 138 ml N,N-diizopropil-etil-aminnal 1,5 órán át visszafolyató hűtő alkalmazásával forraljuk. A reakcióelegyet lehűtjük, először nátrium-hidrogén-karbonát telített vizes oldatával, majd telített vizes ammónium-klorid-oldattal és telített vizes konyhasóoldattal mossuk. A vizes fázist minden alkalommal etil-acetáttal extraháljuk. A toluolos és etil-acetátos fázisokat egyesítjük, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálással 40,0 g (3 β ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-

-(dimetil-szilil)]-oxi}-4,4-dimetil-pregna-5,7-dién-3-ol-benzoátot (12) kapunk.

xii) 36,6 12 vegyületet 91 ml toluol, 622 ml 96 %-os etanol és 91 ml tömény sósav elegyében 4 órán át visszafolyató hűtő alkalmazásával forralunk. Az elegyet lehűtjük és 1 l telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldathoz öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist először telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd telített vizes konyhasó-oldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálást és kristályosítást követően 7,89 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-3,20-diol-3-benzoátot (13) és (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-pregna-6,8(14)-dién-3,20-diol-3-benzoátot (3,69 g) kapunk.

xiii) A vii lépésben leírtakkal analóg módon eljárva és (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-3,20-diol-3-benzoátból (7,05 g) kiindulva 9,47 g (3 β ,5 α ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-3-ol-benzoátot (14) kapunk.

xiv) Az ix) lépésben leírtakkal analóg módon eljárva és 9,47 g (3 β ,5 α ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-3-ol-benzoátból kiindulva 7,08 g (3 β ,5 α ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-3-olt (15) kapunk.

xv) Az i) lépésben leírtakkal analóg módon eljárva és 6,63 g 15 vegyületből kiindulva 8,00 g (3 β ,5 α ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-diént (16) kapunk.

xvi) 740 g (3 β ,5 α ,20S)-20-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién (16) 42 ml 1 M tetrahidrofurános tetrabutil-ammónium-fluorid-oldattal készült

oldatát 24 órán át szobahőmérsékleten keverjük. A reakcióelegyet vízhez öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasóoldattal mossuk és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálást követően 5,21 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[[1-etoxi-etil]-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-8,14-dién-20-olt 17) kapunk.

xvii) 1,65 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[[1-etoxi-etil]-oxi]-4,4-dimetil-pregna-8,14-dién-8,14-dién-20-ol, 115 ml vízmentes toluol, 5,68 g kálium-t-butoxid, 0,99 g 18-korona-6 és 4,44 ml 4-bróm-2-metil-2-butén elegyét 1 órán át 70 °C hőmérsékleten tartjuk. Ezután a reakcióelegyet lehűtjük, vízhez öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel, majd telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. 2,30 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[[1-etoxi-etil]-oxi]-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-triént (18) kapunk, melyet további tisztítás nélkül vihetünk a következő reakciólépésbe.

xviii) A iv) lépés szerint eljárva és 2,30 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[[1-etoxi-etil]-oxi]-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-triéntől kiindulva 1,13 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszt-8,14,24-trién-3-ol-t (19) kapunk. Op.: 110,5-113,5 °C.

2. példa

(3 β ,5 α ,20S)-4,4-Dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol-(hidrogén-bután-dioát)

0,50 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol (1. példa), 8 ml vízmentes piridin, 3,0 g borostyánkősavanhidrid és 20 mg 4-dimetil-amino-piridin elegyét egy éjszakán át 60 °C hőmérsékleten tartjuk. A reakcióelegyet ezután lehűtjük, 0,1 M vizes sósavoldathoz öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel, és telített vizes konyhasóol-

dattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálást követően 0,35 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol-(hidrogén-bután-dioát)-ot kapunk. Op.: 60-67 °C.

3. példa

(3 β ,5 α ,20R)-4,4-Dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol

A vegyületet az 1. példában leírtakkal analóg módon eljárva (3 β ,20R)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-pregn-5-én-20-olból (1. példa, ii) lépés) kiindulva állítjuk elő. Op.: 117-120 °C.

4. példa

(3 β ,5 α ,20S)-4,4-Dimetil-22-oxakoleszta-6,8(14),24-trién-3-ol

A vegyületet az 1. példában leírtakkal analóg módon eljárva (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-pregna-6,8(14)-dién-3,20-diol-3-benzoátból (1. példa, xii) lépés) kiindulva állítjuk elő. Op.: 171-174 °C.

5. példa

(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-6,8(14),24-trién-3-ol-

-(hidrogén-butándioát)

A vegyületet a 2. példában leírtakkal analóg módon eljárva, (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-6,8(14),24-trién-3-ol-ból (4. példa) kiindulva állítjuk elő. OP.: 96-99 °C.

6. példa

(3 β ,5 α ,20S)-4,4-Dimetil-22-oxakoleszta-8,14,25-trién-3-ol

i) 125 g (20S)-3-oxo-pregn-4-én-20-karboxaldehid 1250 ml vízmentes etanollal készült és -10 °C-ra lehűtött oldatához 30 perc alatt hozzáadjuk 4,4 g nátrium –borohidrid 80 ml vízmentes etanollal készült oldatát. A reakcióelegyet 2 órán át -10 °C-on keverjük, majd a reakciót ecetsav 50 %-os vizes oldatának hozzáadásával leállítjuk. A reakcióelegyet csökkentett nyomáson eredeti térfogatának 25 %-ára sűrítjük be, majd 5 l jeges vízhez öntjük. A

kapott szuszpenziót 1 éjszakán át keverjük és leszűrjük. A szűrőn maradt anyagot vízzel mossuk és megszáritjuk. 124 g (20S)-21-hidroxi-20-metil-pregn-4-én-3-ont kapunk, melyet további tisztítás nélkül használunk fel a következő reakciólépésben.

ii) Az 1. példa vii, viii, ix, x és xi lépéseinél leírtakkal analóg módon eljárva az előző lépésben kapott alkoholt (3 β ,20S)-21-{{[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi}-4,4,20-trimetil-pregna-5,7-dién-3-ol-benzoáttá alakítjuk.

iii) 30,9 g az előző lépésben előállított diént 300 ml kloroform és ecetsavas sósav-oldat (1M, 300 ml) elegyében először 45 per-
cig szobahőmérsékleten, majd további 45 percig visszafolyató hűtő alkalmazásával történő forralás közben keverünk. Ezután a reakcióelegyet lehűtjük, majd vízbe öntjük és a terméket diklór-
-metánnal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel, majd telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és végül telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálást követően 10,2 g keveréket kapunk, mely 5:1 arányban (3 β ,5 α ,20S)-4,4-20-trimetil-pregna-8,14-dién-3,21-diol-21-acetát-
-3-benzoátot és (3 β ,5 α ,20S)-4,4-20-trimetil-pregna-6,8(14)-dién-
-3,21-diol-21-acetát-3-benzoátot tartalmaz. A keveréket ebben a formában használjuk fel a következő reakciólépésben.

iv) Az 1. példa vi) lépésében leírtakkal analóg módon eljárva, az előző lépésben kapott termékeket (10,2 g) 21-hidroxi-
-vegyületekké alakítjuk. Oszlopkromatografálást követően 8,23 g keveréket kapunk, mely 5:1 arányban (3 β ,5 α ,20S)-4,4-20-trimetil-
-pregna-8,14-dién-3,21-diol-21-acetát-3-benzoátot és (3 β ,5 α ,20S)-
-4,4-20-trimetil-pregna-6,8(14)-dién-3,21-diol-21-acetát-3-
-benzoátot tartalmaz, melyet ebben a formában használunk fel a következő reakciólépésben.

v) Az 1. példa vii, ix és i lépéseiben leírtakkal analóg módon eljárva a (3 β ,5 α ,20S)-4,4-20-trimetil-pregna-8,14-dién-3,21-diol-3-benzoátot (3 β ,5 α ,20S)-21-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-pregna-8,14-diénné alakítjuk.

vi) 11,6 g (3 β ,5 α ,20S)-21-[[[(1,1-dimetil-etil)-(dimetil-szilil)]-oxi]-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-pregna-8,14-dién-t tetrabutil-ammónium-fluorid 1 M-os tetrahidrofurános oldata (43 m) jelenlétében 1 órán át 50 °C hőmérsékleten keverünk. Ezután a reakcióelegyet vízbe öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. Oszlopkromatografálást követően 9,11 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-pregna-8,14-dién-21-olt kapunk.

vii) 1,0 (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-pregna-8,14-dién-21-ol, 67 ml vízmentes toluol, 3,34 g kálium-t-butoxid, 0,581 g 18-korona-6 és 1,14 ml 3-klór-3-metil-1-propén keverékét 1,5 órán át 70 °C hőmérsékleten tartjuk. Ezután a reakcióelegyet lehűtjük, vízbe öntjük és a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. 1,21 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4-dimetil-23-oxakoleszta-8,14,25-triént kapunk, melyet további tisztítás nélkül használunk a következő reakciólépésben.

viii) Az 1. példa iv) lépésében leírtakkal analóg módon eljárva 1,21 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4-dimetil-23-oxakoleszta-8,14,25-triént a megfelelő 3-hidroxi-vegyületté alakítunk. Oszlopkromatografálást és kristályosítást követően 0,189 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-oxakoleszta-8,14,25-trién-3-olt kapunk. Op.: 113-115 °C.

7. példa

(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-tiakoleszta,8,14,25-trién-3-ol

i) 5,98 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-pregna-8,14-dién-21-ol (6. példa, vi) lépés) 56 ml vízmentes piridinnel készült oldatához 9,09 g p-toluol-szulfonsav-anhidridet adunk. A reakcióelegyet 1,5 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd vízbe öntjük. A terméket etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázist telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. 8,0 g (3 β ,5 α ,20S)-3-[(1-etoxi-etil)-oxi]-4,4,20-trimetil-21-[(4-metil-fenil)-szulfonil]-oxi-pregna-8,14-diént kapunk. A terméket további tisztítás nélkül használjuk fel a következő reakciólépésben.

ii) 7,42 g, az előző lépésben kapott tozilát 63,5 ml dimetil-szulfoxiddal készült oldatához 3,86 g tiokarbamidot adunk és az elegyet 2 órán át 50-60 °C-on tartjuk. A reakcióelegyhez ezután 5,08 ml 3-klór-2-metil-1-propént és 4,67 g porított kálium-hidroxidot adunk és a keverést 3,5 órán át 40-50 °C hőmérsékleten folytatjuk. Ezután az elegyet vízhez öntjük, a terméket etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel, majd telített vizes konyhasóoldattal mossuk, nátrium-szulfáttal vízmentesítjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk.

Oszlopkromatografálást és kristályosítást követően 0,199 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-tiakoleszta,8,14,25-trién-3-olt kapunk. Op.: 128-132 °C.

8. példa

[3 β ,5 α -20S,(21R)]-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-dién-3-ol és [3 β ,5 α ,20S,(21S)-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-dién-3-ol

164 g (3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-tiakoleszta-8,14,25-tri ϵ n-3-ol (7. p $\acute{e}$ lda, ii) l $\acute{e}$ p $\acute{e}$ s) 19 ml dikl $\acute{o}$ r-met $\acute{a}$ nnal k $\acute{e}$ sz $\acute{u}$ lt oldat $\acute{a}$ hoz 0,766 ml hidrog $\acute{e}$ n-peroxidot $\acute{e}$ s 0,069 ml trifluor-acetont adunk. A reakci $\acute{o}$ elegyet 5 $\acute{o}$ r $\acute{a}$ n $\acute{a}$ t szobah $\acute{o}$ m $\acute{e}$ r $\acute{s}$ ekle $\acute{t}$ en keverj $\acute{u}$ k, majd n $\acute{a}$ tri-um-tioszulf $\acute{a}$ t tel $\acute{i}$ tett vizes oldat $\acute{a}$ hoz $\acute{o}$ ntj $\acute{u}$ k. A term $\acute{e}$ ket dikl $\acute{o}$ r-met $\acute{a}$ nnal extrah $\acute{a}$ ljuk, az egyes $\acute{i}$ tett szerves f $\acute{a}$ zist el $\acute{o}$ sz $\acute{o}$ r n $\acute{a}$ tri-um-tioszulf $\acute{a}$ t tel $\acute{i}$ tett vizes oldat $\acute{a}$ val, majd tel $\acute{i}$ tett vizes konyhas $\acute{o}$ -oldattal mossuk, n $\acute{a}$ trium-szulf $\acute{a}$ t $\acute{a}$ l v $\acute{i}$ zmentes $\acute{i}$ tj $\acute{u}$ k $\acute{e}$ s cs $\acute{o}$ kken $\acute{t}$ ett nyom $\acute{a}$ son bep $\acute{a}$ roljuk. Oszlop $\acute{e}$ kromatograf $\acute{a}$ l $\acute{a}$ st $\acute{e}$ s krist $\acute{a}$ lyos $\acute{i}$ t $\acute{a}$ st k $\acute{o}$ v $\acute{e}$ t $\acute{o}$ en 0,242 g [3 β ,5 α ,20S,(21R)]-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-di ϵ n-3-olt (op.: 195-206 $^{\circ}$ C) $\acute{e}$ s 0,231 g [3 β ,5 α ,20S(21S)]-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-di ϵ n-3-olt (op.: 205-213 $^{\circ}$ C) kapunk. Az ut $\acute{o}$ b $\acute{b}$ bi 40 % [3 β ,20S,(21S)]-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregn-5- $\acute{e}$ n-3-olt tartalmaz.

9. p $\acute{e}$ lda

Oocita-teszt

$\acute{A}$ ltal $\acute{a}$ nos ismert $\acute{e}$ t $\acute{e}$ s:

A mei $\acute{o}$ zis sz $\acute{u}$ netelt $\acute{e}$ t $\acute{e}$ se idej $\acute{e}$ n az oocit $\acute{a}$ k diff $\acute{u}$ z kromosz $\acute{o}$ m $\acute{a}$ k $\acute{a}$ t tartalmaznak, melyeket cs $\acute{i}$ rah $\acute{o}$ lyag, vagyis intakt magburok (germinal vesicle; GV) vesz k $\acute{o}$ r $\acute{u}$ l. A ciklus k $\acute{o}$ zep $\acute{e}$ n a gonadotropin hatás $\acute{a}$ ra $\acute{u}$ jra beindul $\acute{o}$ mei $\acute{o}$ ziskor a kromosz $\acute{o}$ m $\acute{a}$ k $\acute{u}$ jra kondenz $\acute{a}$ l $\acute{o}$ d $\acute{n}$ ak $\acute{e}$ s a GV lebomlik (GV breaks down; GVBD). Az oocit $\acute{a}$ k in vivo hipoxantin (HX) hatás $\acute{a}$ nak vannak k $\acute{i}$ t $\acute{e}$ ve, s ez tartja az oocit $\acute{a}$ k $\acute{a}$ t a meiotikus prof $\acute{a}$ zisban. A mei $\acute{o}$ zis sz $\acute{u}$ netelt $\acute{e}$ t $\acute{e}$ st in vitro $\acute{u}$ gy id $\acute{e}$ zhetj $\acute{u}$ k el $\acute{o}$, hogy hipoxantint adunk a t $\acute{a}$ ptalajhoz. A tal $\acute{a}$ lm $\acute{a}$ ny szerinti vegy $\acute{u}$ letek aktivit $\acute{a}$ s $\acute{a}$ t $\acute{u}$ gy m $\acute{e}$ rj $\acute{u}$ k, mint azt a k $\acute{e}$ pess $\acute{e}$ get, mely csupasz oocit $\acute{a}$ kban (DO) a hipoxantin $\acute{a}$ ltal sz $\acute{u}$ netelt $\acute{e}$ tett mei $\acute{o}$ zison fel $\acute{u}$ lkerekedik, vagyis in vitro $\acute{u}$ jra beind $\acute{i}$ tja a mei $\acute{o}$ zist.

Kumuluszba zárt oociták izolálása:

A petefészkeket szexuálisan éretlen nőstény egerekből (BGD2-F₁, C57BLXDBA törzs) izoláltuk. Az egereknek 19,20 vagy 21 napos korban szubkután egyetlen dózisban 20 IE Humegon-t (Organon, Hollandia) adtunk be sóoldatban. A Humegon injekció beadása után 48 órával az egereket nyaktöréssel megöltük, petefészkeket kivettük, külső szövetektől megszabadítottuk és 1 ml, a preparátum tenyésztésére alkalmas 37 °C-os táptalajt tartalmazó többtálkás edénybe tettük. A preparátum tenyésztését L-15 Leibovitz táptalajon (Gibco, pH 7,2 ± 0,1) végeztük, mely 3 mg · ml⁻¹ marha szérum albumin, 0,23 mM L-glutamin, 2 mM nátrium-piruvát és 4 mM hipoxantin adalékot tartalmazott. A petefészkek antrális tüszőit boncoló mikroszkóp alatt két 27-es kaliberrű és 1 ml-es fecskendőkhöz csatlakozó tűvel megcsapoltuk. Az azonos méretű, kumuluszba zárt oocitákat (cumulus enclosed oocytes; CEO) szájjal megszívható pipettával szelektáltuk és 5 ml friss, a preparátum tenyésztésére alkalmas táptalajra vittük föl. Egy petefészekből általában 20 CEO-t izoláltunk.

Csupasz oociták izolálása:

A kumulusz sejtektől megszabadított, vagyis csupasz oocitákat (DO) úgy nyertük, hogy a CEO-t szájjal megszívható kislyukú pipettán lassan átfolyattuk. A csupasz oocitákat kétszeri öblítéssel friss táptalajra vittük fel, és 37 °C-on, 100 %-ban nedvesített és 5 % széndioxidot tartalmazó levegő atmoszférában tároltuk a táptalajon.

A kísérleti elrendezés:

Az oocita tesztet 3 blokkban hajtottuk végre, minden blokk egy egér petefészket képviselte (random blokk elrendezés). T=0 időpontban az első egér egyik petefészke tartalmát a 4 tálkás 0,5 ml táptalajt tartalmazó multidisk 1. és 3. tálkájában, a másik petefé-

szekből származó oocitákat pedig ennek 2. és 4. táblájában szétterítettük; a táptalajhoz a találmány szerinti 17 β -alliloxi(tio)-alkil-androsztán-származékot hozzáadtuk (első blokk). Kontrollként táptalajt használtunk. Ugyanezt a műveletet végeztük el a második és harmadik egérrel is (2. és 3. blokk). Táptalajként MEM alfa táptalajt (Gibco, pH 7,3 $\pm$ 0,1) használtunk széndioxiddal telítve, 3 mg.ml⁻¹ marha szérum albumin, 0,23 mM L-glutamin, 2 mM nátrium-piruvát és 4 mM hipoxantin adalékkal. Összesen minden kontroll és teszt-vegyületet 30 oocitán teszteltünk (10 oocita per blokk). T=0 időpontban az intakt csírahólyaggal rendelkező (GV) vagy GVBD-sérülést mutató csupasz oocitákat (DO) mikroszkóp alatt differenciál interferencia kontraszt berendezéssel megszámoltuk. Csak intakt GV-vel rendelkező oocitákat használtunk a kísérlet során. Az oocitákat 22 órán át 37 °C-on, 5 % széndioxidot tartalmazó, 100 %-ban nedvesített atmoszférában tenyésztettük, majd az egyes csoportokban az intakt GV-vel rendelkező GVBD-sérülést mutató oocitákat megszámoltuk. Statisztikai analízis céljából a %-os csírahólyag sérülést egy blokkon belül minden csoportra kiszámoltuk. A %-os értékek arcsin transzformációját elvégeztük, és a kontroll és teszt-vegyületek közti különbséget a random blokk elrendezésre kifejlesztett ANOVA-teszttel analizáltuk. Az eredményeket az I. táblázat mutatja.

1. táblázat

Az oocita csírahólyag %-os sérülése (GVBD %) a teszt-
-vegyületek jelenlétében végzett tenyésztést követően (DO teszt)*

Vegyület (példa)	GVBD (%) kezelt (kontroll)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol (1)	38(2)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol-(hidrogén-bután-dioát) (2)	1(0)
(3 β ,5 α ,20R)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol (3)	100(0)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-6,8(14),24-trién-3-ol (4)	0(0)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-6,8(14),24-trién-3-ol-(hidrogén-bután-dioát) (5)	67(0)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-oxakoleszta-8,14,25-trién-3-ol (6)	100(0)
(3 β ,5 α ,20S)-4,4-dimetil-23-tiakoleszta-8,14,25-trién-3-ol (7)	
[3 β ,5 α ,20S,(21R)-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-dién-3-ol (8A)	
[3 β ,5 α ,20S,(21S)-4,4,20-trimetil-21-[(2-metil-2-propenil)-szulfinil]-pregna-8,14-dién-3-ol (8B)	
(3 β ,5 α ,20R)-4,4-dimetil-koleszta-8,14,24-trién-3-ol (FF-MAS; referencia anyag)	84(7)

*Minden vegyületet 10 μ M koncentrációban teszteltünk.

Szabadalmi igénypontok

1. Az (I) általános képletű 17 β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-származékok vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sói, ahol a képletben

R₁ jelentése (H, OR), (H, OSO₃H) vagy NOR, ahol R hidrogénatomot, 1-6 szénatomos alkilcsoportot vagy 1-6 szénatomos acilcsoportot jelent;

R₂ és R₃ egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport;

n értéke 0, 1 vagy 2;

X jelentése oxigén- vagy kénatom, S(O)- vagy S(O)₂-csoport;

R₄ és R₅ egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R₆, R₇ és R₈ egymástól függetlenül hidrogénatom, fenilcsoport, halogénatom vagy adott esetben hidroxilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxycsoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos alkilcsoport; vagy

R₇ és R₈ azzal a szénatommal együtt, melyhez kapcsolódnak, 3-6 szénatomos cikloalkán gyűrűt alkotnak; vagy

R₆ és R₇ azokkal a szénatomokkal együtt, amelyekhez kapcsolódnak, 5-6 szénatomos cikloalkén gyűrűt alkotnak; és

a szaggatott vonalak Δ^7 vagy Δ^8 helyzetű kettős kötést vagy $\Delta^{7,14}$, $\Delta^{8,14}$ vagy $\Delta^{6,8(14)}$ helyzetű konjugált kettős kötéspárt jelölnek.

2. Az 1. igénypont szerinti 17 β -alliloxi-alkil-származékok, melyekben n értéke zero és X jelentése oxigénatom.

3. A 2. igénypont szerinti 17 β -alliloxi-alkil-származékok, melyekben R₁ jelentése (H, OR), ahol R hidrogénatomot vagy 1-6 szénatomos acilcsoportot jelent, és a szaggatott vonalak $\Delta^{7,14}$,

$\Delta^{8,14}$ vagy $\Delta^{6,8(14)}$ helyzetű konjugált kettős kötés-párt jelölnek, és a 3-OR szubsztituens β -konfigurációjú.

4. Egy 17β -alliloxi-androsztán származék, mely $(3\beta,5\alpha,20R)$ -
-4,4-dimetil-22-oxakoleszta-8,14,24-trién-3-ol vagy $(3\beta,5\alpha,20S)$ -
-4,4-dimetil-23-oxakoleszta-8,14,25-trién-3-ol.

5. Az (I) általános képletű 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán-
-származékok gyógyászati alkalmazása.

6. Gyógyászati készítmény, mely hatóanyagként valamely (I)
általános képletű 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztánt vagy gyógyá-
szatilag elfogadható sóját tartalmazza gyógyászatilag elfogadható
segédanyagokkal összekeverten.

7. Az (I) általános képletű 17β -alliloxi-(tio)-alkil-androsztán
származékok vagy gyógyászatilag elfogadható sóik alkalmazása
fogamzásszabályzó gyógyszerek gyártására.

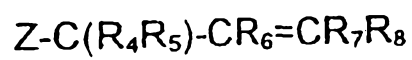
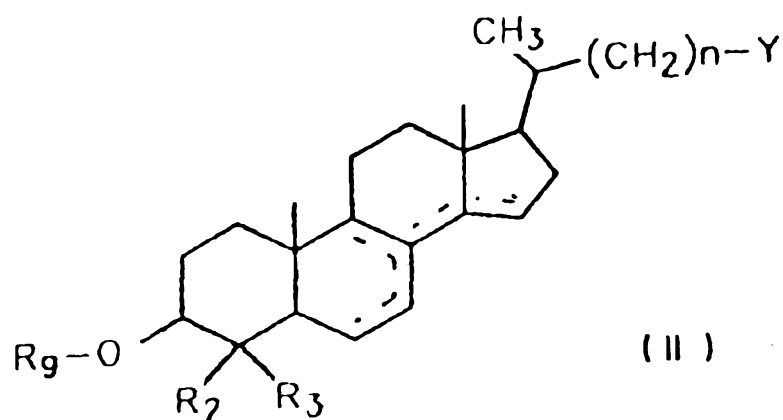
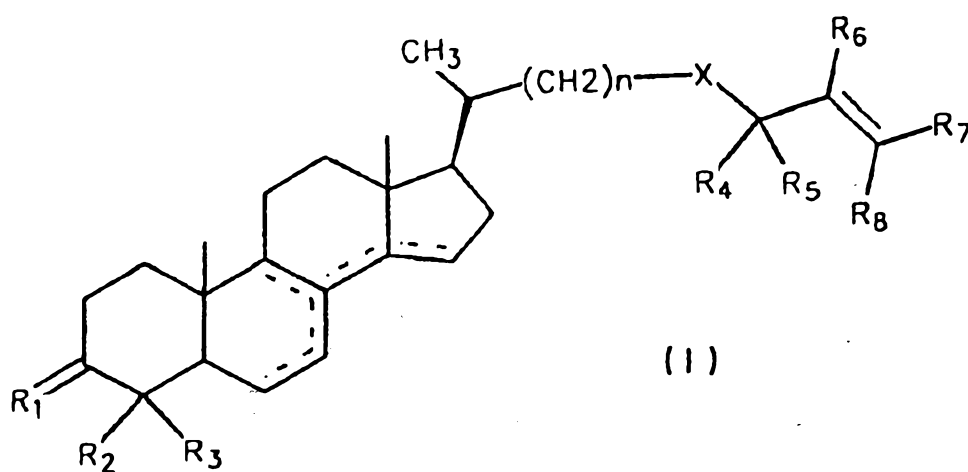
A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
Török Ferenc
szabadalmi ügyvivő



2 lap rajz.
Dr. Miklós Kálmán

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(III)

I. reakcióvázlat

