



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 3694/82

(51) Int.Cl.⁵ C 07 J 5/00

(22) Indleveringsdag: 18 aug 1982

(41) Alm. tilgængelig: 19 feb 1983

(44) Fremlagt: 18 mar 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 18 aug 1981 DE 3133081

(71) Ansøger: *SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; Muellerstrasse 170-178; Berlin und Bergkamen; 1 Berlin 65, DE

(72) Opfinder: Klaus *Annen; DE, Karl *Petzoldt; DE, Henry *Laurent; DE, Rudolf *Wiechert; DE, Helmut *Hofmeister; DE, Hans *Wendt; DE

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

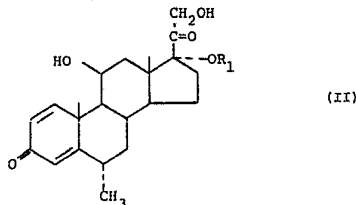
(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af 6 α -methylprednisolonderivater

(56) Fremdragne publikationer

DE off. g. skrift nr. 2144405
Andre publikationer. JP ans. nr. 54/164373

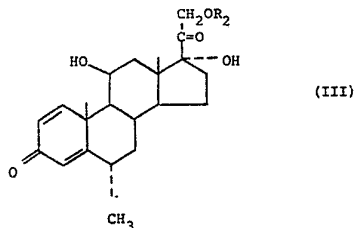
(57) Sammendrag:

a) i 21-stillingen forestrer et 6 α -methylprednisolon-17-acylat med den almene formel II



hvor R_1 har den ovenfor nævnte betydning med en alkan-carboxylsyre med 2 til 6 carbonatomer eller et reaktionsdygtigt derivat deraf, eller

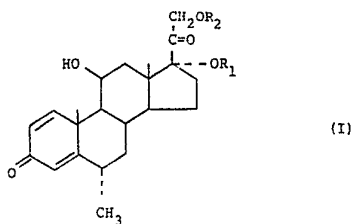
b) i 11-stillingen forethrer en 6 α -methylprednisolon-21-acylat med den almene formel III



hvor R_2 har den ovenfor nævnte betydning med en trialkyl-silylforbindelse eller forestrer med et derivat af en stærkt sur monocarboxylsyre, dernæst acylerer 17-stillingen med et carboxylsyrechlorid eller carboxylsyreanhydrid under tilstedeværelse af 4-dimethylaminopyridin og fraspalter beskyttelsesgruppen i 11-stillingen.

3694-82

6 α -methylprednisolonderivater med den almene formel I



hvor R_1 betegner en 1-oxoalkylgruppe med 2 til 6 carbonatomer eller en benzoylgruppe, og R_2 betegner en 1-oxoalkylgruppe med 2 til 6 carbonatomer, fremstilles ved, at man på i og for sig kendt måde

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte 6α -methylprednisolonderivater med den i kravet viste almene formel I, hvor R_1 betegner en 1-oxoalkylgruppe med 3-6 carbonatomer eller en benzoylgruppe.

5

Som eksempler på 1-oxoalkylgrupper R_1 kan nævnes propionyl, butyryl, isobutyryl, valeryl, 3-methylbutyryl, trimethylacetyl eller hexanoyl.

10

Det har vist sig, at de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser ved fokal applikation udviser en signifikant kraftigere antiinflammatorisk virkning i forhold til den fra DE offentliggørelsesskrift nr. 2.144.405 kendte $17\alpha,21$ -diacetoxy- 11β -hydroxy- 6α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion og den fra JP patentansøgning nr. 54/164373 (fra 1979) kendte 11β -hydroxy- 6α -methyl- $17\alpha,21$ -dipropionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion.

15

Desuden har derivaterne af 6α -methylprednisolon med den almene formel I på overraskende måde en gunstigere dissociation mellem den ønskede fokale virkning og uønskede systemiske bivirkninger sammenlignet med $17\alpha,21$ -diacetoxy- 11β -hydroxy- 6α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion og 11β -hydroxy- 6α -methyl- $17\alpha,21$ -dipropionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion.

20

25

De omhandlede 6α -methylprednisolonderivater med den almene formel I egner sig således i kombination med de i den galenske farmaci sædvanlige bærestoffer til lokal behandling af kontaktdermatitis, eksemmer af forskellig art, neurodermatoser, erythrodermi, forbrændinger, Pruritis vulvae et ani, rosacea, Erythematodes cutaneus, psoriasis, Lichen ruber planus et verrucosus og lignende hudsygdomme.

30

Fremstillingen af lægemiddelspecialiteterne sker på sædvanlig måde, idet man overfører de aktive stoffer med egnede tilsætninger til den ønskede administrationsform, som f.eks.: Opløsninger, lotioner, salver, cremer eller plastery. I de således

35

sammensatte lægemidler er koncentrationen af aktivt stof afhængig af administrationsformen. Ved lotioner og salver anvendes fortrinsvis en koncentration af aktivt stof på 0,001% til 1%.

5

Derudover er de omhandlede forbindelse, eventuelt i kombination med de sædvanlige bærestoffer og hjælpestoffer, også velegnede til fremstilling af inhalationsmidler, der kan anvendes til terapi af allergiske luftvejssygdomme, som f.eks. bronchialastma eller rhinitis.

10

Den topiske eller fokale virkning af de omhandlede forbindelser blev bestemt ved hjælp af følgende vasokonstriktionsprøve:

15

Prøven blev gennemført på 8 raske forsøgspersoner af begge køn, som i de sidste to uger ikke havde modtaget nogen lokal cortikosteroid-behandling. Efter fjernelse af Stratum corneum og Stratum lucidum på ryggen af forsøgspersonerne (20-40 tesafilmafrivninger) blev 0,1 g af præparatet påført på et 4 cm² stort område uden okklusionsforbindelse. For at sikre at det samme præparat blev administreret på identiske hudarealer blev disse påført i roterende rækkefølge.

20

Vasokonstriktionen blev bedømt visuelt efter 4 og 8 timer efter følgende virkningsgrader:

25

1 = absolut blegning,

2 = lidt resterythemer,

3 = erythemer af middelsvær grad, rødfarvningsintensitet i middelområdet for afrevet, ubehandlet og ikke-beskadiget hud,

30

4 = erythemer med lidt blegning,

5 = ingen blegning eller forstærkning af erythemerne.

35

De enkelte vurderinger blev noteret.

I hver forsøgsrække blev der som referencestof anvendt diflucortolon-21-valerianat (6 α ,9 α -difluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-

21-valeryloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion = DFV).

Differencen Δ for de enkelte undersøgelsesrækker blev bestemt, gennemsnitlige virkningsgrader for DFV og prøveforbindelse blev bestemt. En positiv afvigelse af Δ viser en gunstig, og en negativ afvigelse viser en ugunstig virkning af prøveforbindelserne sammenlignet med DFV.

I den efterfølgende tabel er de iagttagne prøveresultater angivet, som blev opnået ved behandling af prøvepersonerne med præparater indeholdende virksomt stof med forskellig koncentration.

De systemiske bivirkninger blev bestemt ved hjælp af adjuvans-ødem-prøven, som udførtes på følgende måde:

SPF-rotter med en vægt på 130 til 150 g blev til fremkaldelse af en inflammationstilstand injiceret i højre bagpote med 0,1 ml 0,5% Mycobacterium butyrium-suspension. Før injektionen blev poterumfanget hos rotterne målt. 24 timer efter injektionen blev poterumfanget målt for at bestemme graden af ødem. Derefter blev der til rotterne intravenøst indgivet forskellige mængder af prøveforbindelse. Efter yderligere 24 timer blev poterumfanget bestemt påny.

Ud fra de fundne poterumfang bestemtes på sædvanlig måde den mængde af prøveforbindelse, der var nødvendig til at bevirke en 50% lægning af poteødemet.

De opnåede resultater er angivet i efterfølgende tabel:

Vasokonstriktionsprøve

Nr.	Forhindelse	Koncentration 8	Resultater efter 8 timer	Adjuvans-ødem-prøve	
				ED ₅₀	ca.
1	17 α , 21-diacetoxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	-0,3 +0,2	ca.	7,0
2	11 β -hydroxy-6 α -methyl-17 α , 21-dipropionyloxy-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	-0,2 +1,0	ca.	8,5
3	21-acetoxy-11 β -hydroxy-17 α -propionyloxy-6 α -methyl-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	+0,3 +2,2	ca.	14,0
4	21-acetoxy-17 α -butyryloxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	+0,2 +2,0	ca.	6,0
5	21-acetoxy-17 α -benzoyloxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	-0,3 +1,8	over	100
6	21-acetoxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-17 α -trimethylacetoxy-1, 4-pregnadien-3, 20-dion	0,001 0,00001	+0,2 +1,8	ca.	18

Resultaterne viser at de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser nr. 3 til 6 ved fokal administration specielt ved lav koncentration er betydeligt mere virksomme end de tidligere kendte forbindelser 1 og 2. Med undtagelse af
5 forbindelse 4 er alle de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser systemisk svagere virkende end de tidligere kendte forbindelser 1 og 2. Dermed er forskellen mellem den ønskede fokale aktivitet og uønsket systemisk virkning hos de hidtil ukendte forbindelser større end for de tid-
10 ligere kendte forbindelser.

Endvidere egner de omhandlede cortikoider sig også i form af kapsler, tabletter eller drageer, der fortrinsvis indeholder
15 10 til 200 mg aktivt stof og administreres oralt, eller i form af suspensioner, der fortrinsvis indeholder 100 til 500 mg aktivt stof pr. dosisenhed og anvendes rektalt. De egner sig også til behandling af allergiske sygdomme i tarmkanalen, såsom Kolitis ulcerosa og Kolitis granulomatosa.

20 Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del anførte. Den omhandlede fremgangsmåde kan gennemføres under de betingelser, som er beskrevet i de tyske patentansøgninger nr. 2.645.104, 2.645.105 og 2.340.591 samt i US patentskrift nr. 3.383.394.

25 De efterfølgende udførelseseksempler tjener til illustration af fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Eksempel 1

30 a) 10,0 g $11\beta,17,21$ -trihydroxy- 6α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion og 1,0 g pyridiniumtosylat opløses i 80 ml dimethylformamid og 700 ml benzen. Ved en badtemperatur på 140°C afdestilleres 300 ml benzen via en vanduskiller, opløsningen afkøles
35 kort til 80°C og tilsættes 24 ml orthopropionsyretriethylster. I løbet af 20 minutter afdestilleres den resterende benzen med de let flygtige opløsningsmiddelkomponenter. Efter

tilsætning af 12 ml pyridin inddampes under vakuum, og 17,21-(1-ethoxy-propyliden-dioxy)-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion opnås som olie.

5 b) En suspension af ovenstående råprodukt i 300 ml methanol opvarmes under tilbagesvaling med en blanding bestående af 12 ml 0,1 M vandig natriumacetatopløsning og 108 ml 0,1 N vandig eddikesyre i 2½ time ved 100°C. Der inddampes til uklarhed, tilsættes vand og ekstraheres med rigelig eddikeester. Den or-
10 ganiske fase vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes til tørhed under vakuum. Råproduktet renses på 600 g kiselgel med en methylenchlorid-acetone-gradient (0-12% acetone). Udbytte 8,9 g 11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 214°C.

15

c) 1,0 g 11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion omrørtes i 10 ml pyridin sammen med 5 ml eddikesyreanhydrid i 1 time ved stuetemperatur og oparbejdedes derefter. Der isoleres 790 mg 21-acetoxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt
20 138°C.

Eksempel 2

25 a) 10,0 g 6 α -methylprednisolon omsættes analogt med eksempel 1a) med 24 ml orthobenzosyretriethylester til 17,21-(1-ethoxy-benzylidendioxy)-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion.

30 b) Den rå 17,21-(1-ethoxy-benzylidendioxy)-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion hydrolyseres, oparbejdes og renses under betingelserne ifølge eksempel 1b). Udbytte 7,5 g 17-benzoyloxy-11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 230°C.

35

c) 1,9 g 17-benzoyloxy-11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion omsættes og oparbejdes analogt med eksempel 1c)

med eddikesyreanhydrid. Råproduktet renses på 200 g kiselgel med en methylenchlorid-acetonegradient (0-12% acetone). Der isoleres 1,8 g 21-acetoxy-17-benzoyloxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 258°C.

5

Eksempel 3

0,9 g 17-butyryloxy-11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion omsættes og oparbejdes analogt med eksempel 1c) med eddikesyreanhydrid. Råproduktet renses på 40 g kiselgel med en methylenchlorid-acetonegradient (0-12% acetone). Udbytte 680 mg 21-acetoxy-17-butyryloxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 158°C.

15

Eksempel 4

a) Til en suspension af 36,5 g kobber (I)-jodid i 730 ml vandfrit tetrahydrofuran tildryppes ved 0°C under argon 200 ml af en 5% opløsning af methyllithium i ether. Den gule opløsning afkøles til -30°C og tilsættes en opløsning af 29,0 g 11 β ,17-dihydroxy-21-isovaleryloxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion i 730 ml vandfrit tetrahydrofuran. Der omrøres yderligere i 10 minutter ved -25°C og tilsættes en vandig ammoniumchloridopløsning. Efter ekstraktion med methylenchlorid vaskes den organiske opløsning, tørres over natriumsulfat og inddampes under vakuum. Råproduktet renses på 750 g kiselgel med en methylenchlorid-acetone-gradient (0-20% acetone). Udbytte 18,2 g 11 β ,21-dihydroxy-17-isovaleryloxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 164°C.

30

b) Analogt med eksempel 1c) omsættes, oparbejdes og renses 1,5 g 11 β ,21-dihydroxy-17-isovaleryloxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion i 15 ml pyridin med 7,5 ml eddikesyreanhydrid. Der isoleres 980 mg 21-acetoxy-11 β -hydroxy-17-isovaleryloxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 172°C.

35

Eksempel 5

5 a) Under betingelserne fra eksempel 4 omløjres, oparbejdes og renses 3,6 g 11 β ,17-dihydroxy-6 α -methyl-21-trimethylacetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion til 780 mg 11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-17-trimethylacetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion.

10 b) Som beskrevet i eksempel 1c) omsættes og oparbejdes 700 mg 11 β ,21-dihydroxy-6 α -methyl-17-trimethylacetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion med eddikesyreanhydrid. Udbytte 610 mg 21-acetoxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-17-trimethylacetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 201°C.

Eksempel 6

15

a) En opløsning af 5,0 g 21-acetoxy-11 β ,17-dihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion i 25 ml pyridin tilsættes ved -15°C dråbevis 3 ml trifluoreddikesyreanhydrid og omrøres i 10 minutter ved -10°C. Der tilsættes en isvand-natriumchloridopløsning og bundfaldet frafiltreres. Bundfaldet optages i methylenchlorid, vaskes neutralt og inddampes til tørhed over natriumsulfat i vakuum. Udbytte 5,4 g 21-acetoxy-17-hydroxy-6 α -methyl-11 β -trifluoracetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion.

20

25 b) 4,0 g af det under a) dannede råprodukt omrøres i 50 ml diethylenglycoldimethylether og 6,0 ml propionsyreanhydrid med 6,5 g 4-dimethylaminopyridin i 18 timer ved stuetemperatur. Efter sædvanlig oparbejdning isoleres 4,5 g 21-acetoxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-11 β -trifluoracetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion.

30

c) 3,5 g 21-acetoxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-11 β -trifluoracetoxy-1,4-pregnadien-3,20-dion omrøres i 80 ml methanol og 4,2 ml triethylamin i 4 timer ved stuetemperatur. Råproduktet renses på 600 g kiselgel med en methylenchlorid-acetone-gradient (0-15% acetone), og der isoleres 2,3 g 21-acetoxy-11 β -hydroxy-6 α -methyl-17-propionyloxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Smeltepunkt 138°C.

35

Eksempel 7

Et 7-14 dage gammelt ølurt-skrårør med *Curvularia lunata* NRRL 2380 skylles med 3 ml fysiologisk kogsaltopløsning, og dermed
5 podes en 2 liter Erlenmeyerkolbe, som indeholder 500 ml af en
i 30 minutter ved 120°C i autoklav steriliseret næringsopløsning af 2% glucose og 2% majsstøbevæske, som er indstillet på pH 6,5. Efter 60 timers rystning i en rotationsryster (165 omdrejninger pr. minut) ved 30°C tjener 250 ml af denne dyrkede
10 kultur til podning af af forfermenteringsbeholderen.

En 20 liter forfermenteringsbeholder, der er påfyldt 15 liter af et ved 121°C og 1,1 ato steriliseret næringsmedium med samme sammensætning som dyrkningsmediet, podes med 250 ml dyrkningskultur. Under tilsætning af antiskummiddel (Silicon SH, et i Danmark ikke-registreret varemærke) lader man kimdannelse finde sted ved 29°C og 0,7 ato tryk under luftning (15 l/min.) og omrøring (220 omdrejninger/minut). 1,5 liter af denne forfermenteringskultur tjener til podning af hovedfermenteringsbeholderen.
20

En 20 liter hovedfermenteringsbeholder, der er påfyldt 13,5 liter af et steriliseret næringsmedium af 3% majsstøbevæske og 0,7% glucose, indstillet på pH 5,5, podes med 1,5 liter forfermenteringskultur. Efter en vækstfase på 12 timer under forfermenteringsbetingelser tilføres en steriliseret opløsning af 12,18 g 17,21-(1-methoxy-ethylidendioxy)-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion i 130 ml dimethylformamid, og der bliver yderligere omrørt og luftet. 4 timer efter substrattilsætningen indstilles kulturmediets pH-værdi på pH 4,5, og ved automatisk styring med 16% NaOH/20% H₂SO₄ holdes på denne værdi \pm 0,2 pH indtil afslutningen af hydroxyleringen (51 timers kontakttid).
25
30

Efter afsluttet hydroxylering overføres halvdelen af kulturvolumenet (6,5 liter) til en anden steriliseret fermenteringsbeholder, og begge kulturer forenes med samme volumenmængde (6,5 liter) af en i mellemtiden dyrket *Arthrobacter simplex*-kultur
35

ATCC 6946, hvor kimdannelse har fundet sted i 24 timer. Der-
 næst indstilles pH-værdien på 5,5 og holdes ved hjælp af auto-
 matisk styring, lige som i det første fermenteringstrin, på
 denne værdi, indtil omdannelsen er tilendebragt. Efter 22 ti-
 5 mer i kontakt med *Arthrobacter*-kulturen er dehydratiseringen
 fuldstændig.

Til oparbejdningen filtreres fermenteringsbeholderindholdet,
 og såvel kulturfiltratet som det frafiltrerede mycelium eks-
 10 traheres separat med methylisobutylketon. Ekstrakterne forenes
 og koncentrerer først i en rotationsfordamper ved ca. 40°C
 under vakuum til 1 liter, og dernæst inddampes i en 2-liter
 rundkolbe på en rotationsfordamper under vakuum ved 40°C bad-
 temperatur indtil fuldstændig tørhed. Den tilbageblivende
 15 olieagtige rest tilsættes 400 ml hexan, rystes kortvarigt, og
 vaskehexanen, hvor siliconeolie og lipid er indeholdt, dekan-
 teres. Dernæst tilsættes resten endnu en gang 400 ml hexan og
 omrøres i 2 timer på en laboratorie-magnet-omrører. Den nu
 fuldstændigt krystalliserede rest suges fra, vaskes med 100 ml
 20 hexan og tørres i 4 timer ved 60°C i et vakuumbeskyttet
 opsnåkrystallinsk 17-acetoxy-11β,21-dihydroxy-6α-methyl-1,4-
 pregnadien-3,20-dion med et smeltepunkt på 198-201°C i et ud-
 bytte på 78% af det teoretiske udbytte.

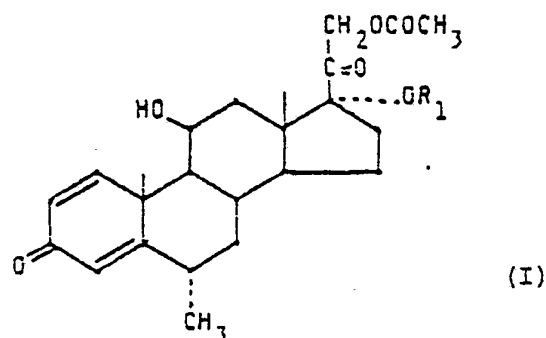
25

P a t e n t k r a v .

30

Analogifremgangsmåde til fremstilling af 6α-methylprednisolon-
 derivater med den almene formel I

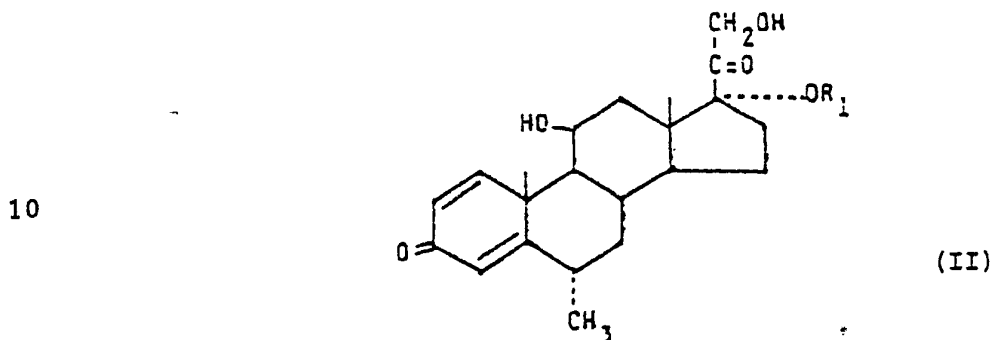
35



(I)

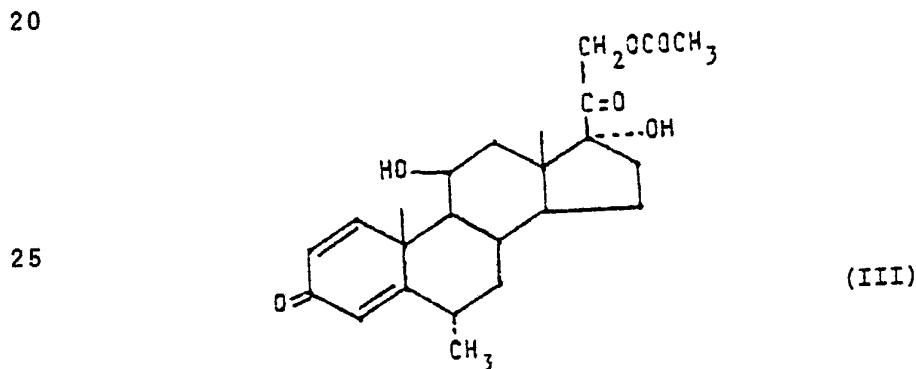
hvor R_1 betegner en 1-oxoalkylgruppe med 3 til 6 carbonatomer eller en benzoylgruppe, k e n d e t e g n e t ved, at man

a) i 21-stillingen forestrer et 6 α -methylprednisolon-17-acetylat med den almene formel II



15 hvor R_1 har den ovenfor nævnte betydning med eddikesyre eller et reaktionsdygtigt derivat deraf, eller

b) i 11-stillingen forethrer et 6 α -methylprednisolon-21-acetylat med den almene formel III



med en trialkylsilylforbindelse eller forestrer med et derivat
 30 af en stærkt sur monocarboxylsyre, dernæst acylerer 17-stil-
 lingen med et carboxylsyrechlorid af en alkancarboxylsyre med
 3-6 carbonatomer eller af benzoesyre eller carboxylsyreanhy-
 drid af en alkancarboxylsyre med 3-6 carbonatomer eller af
 benzoesyre under tilstedeværelse af 4-dimethylaminopyridin og
 35 fraspalter beskyttelsesgruppen i 11-stillingen.