



(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

83425

C (10) Patenti myöntetty
Patent mottelst 10 07 1991

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

C 07J 71/00 // C 07D 231/54

(21) Patentihakemus - Patentansökning	862637
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	19.06.86
(24) Alkupäivä - Löpdag	19.06.86
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	25.12.86
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	28.03.91
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
24.06.85 US 748378 P	08.04.86 US 849582 P

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(71) Hakija - Sökande

1. Sterling Drug Inc., 90 Park Avenue, New York, N.Y., USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Christiansen, Robert George, 1 Huckleberry Road, Castleton, N.Y., USA, (US)
2. Bell, Malcolm Rice, Luther Road, Box 156A, East Greenbush, N.Y., USA, (US)
3. Herrmann, Jr., John Lawrence, 46 William Street, Kinderhook, N.Y., USA, (US)
4. Opalka, Jr., Chester Joseph, 1331 Angelo Drive, Castleton, N.Y., USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä antiandrogenisina aineina käytettävien steroido/3,2-c/pyratsolien valmistamiseksi
Förfarande för framställning av som antiandrogeniska medel användbara steroido/3,2-c/pyrazoler

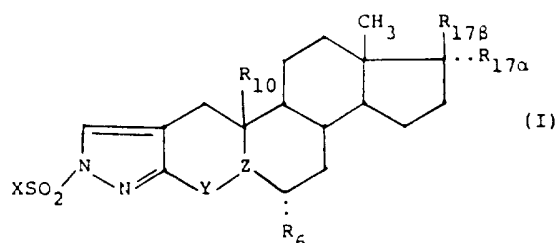
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI C 37499 (C 07C 173/10), US A 3704295 (C 07C 173/10), US A 4356175 (A 61K 31/78),
US A 4297350 (A 61K 31/56)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee 1'-sulfonyylisteroido[3,2-c]pyratsoleja, esimerkiksi (5 α , 17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olia, jotka yhdisteet ovat käyttökelpoisia antiandrogenisia aineita, joita valmistetaan sulfonyloimalla vastaava steroido[3,2-c]pyratsoli, kondensoimalla vastaava 2 α -dialkoksi-3-ketosteroidi sulfonyylihydratsidin kanssa tai kondensoimalla vastaava 2-asetoksi-, 2-propionoksi- tai 2-bentsoyloksimetyyleeni-3-ketosteroidi sulfonyylihydratsidin kanssa.

Uppfinningen avser 1'-sulfonylsteroid[3,2-c]pyrazoler, t.ex. (5 α , 17 α)-1'-(metylsulfonyl)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyrazol-17-ol, vilka är användbara som antiandrogena medel och de framställs genom sulfonering av motsvarande steroid[3,2-c]pyrazol, kondensering av motsvarande 2 α -dialkoxi-2-ketosteroider med en sulfonylhydrazid, eller kondensering av motsvarande 2-acetoxi-, propionoxi- eller bensoyloxi-metylen-3-keto-steroid med en sulfonylhydrazid.



Menetelmä antiandrogeenisina aineina käytettävien steroido[3,2-c]pyratsolien valmistamiseksi

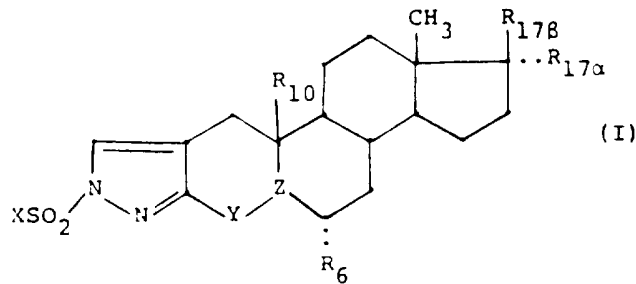
5 Keksinnön kohteena on menetelmä antiandrogeenisina aineina käyttökelpoisten steroido[3,2-c]pyratsolien valmistamiseksi.

US-patenttijulkaisussa 3 704 295 on kuvattu steroido[3,2-c]pyratsoleja, joiden jommassakummassa pyratsolin typpiatomissa substituentti R', joka voi olla alempi alkyyli -ryhmä, esim. metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, butyyli ym.; monokarbosyklinen aryyli-ryhmä, esim. fenyyli, p-tolyyli ym.; alempi alkanoyyli -ryhmä, esim. asetyyli, propionyyli, butyryyli ym.; monokarbosyklinen aroyyli-ryhmä, esim. bentsoyyli, p-nitrobentsoyyli, p-toluyyli ym.; monokarbosyklinen aryyli-(alempi alkanoyyli) -ryhmä, esim. fenyyliasetyyli, β -fenyylipropionyyli, p-kloorifenyyliasetyyli ym.; monokarbosyklinen aryylioksi-(alempi alkanoyyli) -ryhmä, esim. fenoksisetyyli, p-kloorifenoksisetyyli, p-metoksifenoksisetyyli ym.; tai 10 20 karbamyylitai guanyyliryhmä. Kun yhdisteissä R' on asetyyli, karbamyylitai guanyyli, niin lähtöaineena oleva monosubstituoitu hydratsiini on vastaavasti monoasyylihydratsiini, semikarbatsidi tai aminoguanidiini. Vaihtoehtoisesti sellaisia yhdisteitä, joissa R' on vety, voidaan käyttää välituotteina valmistettaessa yhdisteitä, joissa R' on asyyli-ryhmä tai karbamyyliryhmä, saattamalla 25 yhdiste, jossa R' on vety, reagoimaan vastaavasti sopivan happoanhydridin tai syaanihapon (alkalimetallisyaanatti mineraalihapon läsnäollessa) kanssa.

30 Edellä mainitussa patenttijulkaisussa kuvattujen steroido[3,2-c]pyratsolien ilmoitetaan olevan vaikutukseltaan käyttökelpoisia metabolisia, hormonaalisia tai antihormonaalisia aineita. Erityisesti niillä on yksi tai useampi seuraavista aktiivisuuksista: anabolinen, androgeeninen, aivolisäketä inhiboiva, estrogeeninen, progestationaalinen tai adrenaalis-kortikaalinen. 35

Esillä olevan keksinnön kohteena on menetelmä antiandrogeenisesti aktiivisten steroido[3,2-c]pyratsolien valmistamiseksi, joilla on rakennekaava

5



10

jossa

X on CH_3 , CH_3CH_2 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ tai ClCH_2 ;

Y-Z on $\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\text{C}}$, $\text{CH}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_2\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CN}}{\text{C}}=\text{C}$,

15

$\underset{\text{Cl}}{\text{C}}=\text{C}$, $\text{CH}-\underset{\text{O}}{\text{C}}$ tai $\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\underset{\text{O}}{\text{C}}$;

R_6 on H tai CH_3 , kun Y-Z on $\text{CH}=\text{C}$, tai H, kun Y-Z ei ole $\text{CH}=\text{C}$;

R_{10} on H tai CH_3 ;

20

$\text{R}_{17\alpha}$ on yksinään H, CH_3 , CH_2CH_3 , $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{C}\equiv\text{CH}$ tai $\text{C}\equiv\text{CBr}$;

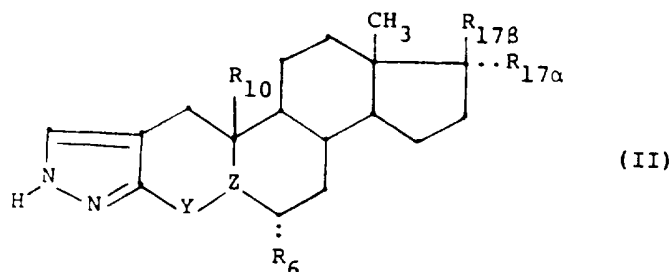
$\text{R}_{17\beta}$ on yksinään OH, OCOCHCl_2 , OCOCF_3 , OCH_3 , OCH_2SCH_3 , $\text{OCH}_2\text{SOCH}_3$, $\text{OCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$ tai $\text{OCH}(\text{CH}_2)_4\text{O}$; ja $\text{R}_{17\alpha}$ on yhdessä $\text{R}_{17\beta}$:n kanssa $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$,

25

jossa menetelmässä

a) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on

30

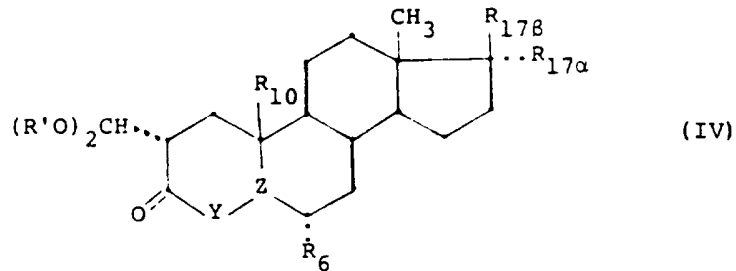


35

sulfonyloidaan vastaavalla yhdisteellä, jonka rakennekaava on XSO_2Q , jossa Q on Cl, Br tai OSO_2X ,

b) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on

5

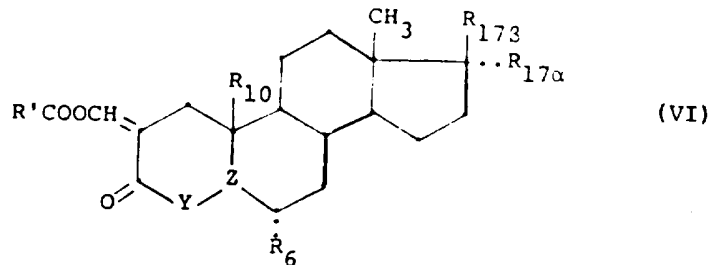


jossa R' on CH₃ tai CH₃CH₂, kondensoidaan vastaavan yhdisteen kanssa, jonka rakennekaava on XSO₂NHNH₂, tai

10

c) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on

15



jossa R' on CH₃, CH₃CH₂ tai C₆H₅ kondensoidaan vastaavan yhdisteen kanssa, jonka rakennekaava on XSO₂NHNH₂.

20

Kaavassa I X on edullisesti CH₃, Y-Z on edullisesti CH₂-C tai C=C, R₆ on edullisesti H, R₁₀ on edullisesti

CH₃, R_{17α} on edullisesti CH₃ tai C≡CH ja R_{17β} on edullisesti OH.

25

Esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetut sulfonyylisteroidopyratsolit ovat käyttökelpoisia antiandrogenisina aineina. Antiandrogeninen vaste nisäkkäällä saadaan antamalla tälle nisäkkäälle antiandrogenisesti vaikuttava annos kaavan I mukaista yhdistettä. Farmaseuttinen koostumus sisältää antiandrogenisesti vaikuttavana pitoisuutena kaavan I mukaista yhdistettä ja farmaseuttisesti hyväksyttävää väliainetta.

30

Keksinnön mukaisesti valmistettuja sulfonyylisteroidopyratsoleja voidaan käyttää myös ihmisillä: yhdis-

35

teitä käytetään miesten hyvänlaatuisen eturauhasen liika-
kasvun käsittelyyn tai naisten monirakkulaisen munasarja-
taudin käsittelyyn tai muiden ihmisillä esiintyvien sel-
laisten tautien tai metabolisten häiriöiden käsittelyyn,
5 joita antiandrogeniset aineet parantavat. Tämä antaa
keksinnön mukaisille yhdisteille edun, jota mainitussa
tunnetussa tekniikassa ei esitetä eikä ehdoteta.

Keksinnön mukaisessa menetelmässä ilmaisu "vastaa-
va" tarkoittaa, että kyseisen kaavan I mukaisen yhdisteen
10 valmistuksessa käytettyjen reaktanttien vaihtuvamerkityk-
siset ryhmät ovat samoja kuin kaavan I mukaisessa yhdis-
teessä.

Kaavojen II, III, IV, V ja VI mukaiset synteetti-
set välituotteet ovat tunnettuja yhdisteluokkia ja niitä
15 on kaupallisina tuotteina tai ne voidaan valmistaa ke-
miallisessa kirjallisuudessa erityisesti tai yleisesti
kuvatuin menetelmin.

Kaavan II mukaiset yhdisteet ovat steroido[3,2-c]-
pyratsoleja, ja ne on kuvattu US-patenttijulkaisussa
20 3 704 295 tai niitä voidaan valmistaa tässä patenttijul-
kaisussa kuvatuin menetelmin.

Kaavan III mukaisia yhdisteitä, joissa Q on Cl,
jotka yhdisteet ovat sulfonyyliklorideja, on kaupallises-
ti saatavina. Sellaiset kaavan III mukaiset yhdisteet,
25 joissa Q on OSO₂X, ovat kaupallisia tuotteita tai niitä
voidaan valmistaa vastaavista sulfonihapoista lämmittä-
mällä fosforipentoksidin kanssa. Kaavan III mukaiset yh-
disteet, joissa Q on Br, jotka yhdisteet ovat sulfonyyli-
bromideja, voidaan valmistaa vastaavista sulfonihappoan-
30 hydrideistä kuumentamalla bromivedyn kanssa 105°C:ssa.

Kaavan IV mukaiset yhdisteet ovat 2 α -dimetoksime-
tyyli- tai 2 α -dietoksimetyyli-3-ketosteroideja, joita
valmistetaan dimetoksimetyloimalla tai dietoksimetyloi-
malla vastaava 3-ketosteroidei reagenssilla, joka on val-
35 mistettu trimetyyliortoformiaatista tai trietyyliortoform-
iaatista (viimemainittu on edullisempi) ja booritrifluo-

ridieette-raatista (dimetoksikarbenium- tai dietoksikarbeniumfluoboraatti) alhaisessa lämpötilassa menetelmällä, jonka ovat kuvanneet Mock et al. (William L. Mock ja Huei-Ru Tsou, J. Org. Chem., 1981, vol. 46, sivut 2557-2561).

Kaavan V mukaiset yhdisteet ovat sulfonyylihydrat-sideja, joita on kaupallisesti saatavissa tai voidaan valmistaa vastaavista sulfonyyliklorideista ja hydratsiinihydraatista etanolissa.

Kaavan VI mukaiset yhdisteet ovat 2-asetoksimetyyleeni-, 2-propionoksimetyyleeni- tai 2-bentsoyylionsimetyyleeni-3-ketosteroidieja, joita voidaan valmistaa vastaavista 2-hydroksimetyyleeni-3-ketosteroidieista ja etikkahappoanhydridistä tai propionihappoanhydridistä tai niiden seka-anhydrideistä, esimerkiksi seka-anhydridistä, joka on valmistettu haposta ja metaanisulfonyylikloridista tai vastaavasti bentsoyylidikloridista.

Menetelmävaihtoehto a) suoritetaan lämpötila-alueella 0-100°C inertissä liuottimessa happoa sitovan aineen läsnäollessa reaktiossa sivutuotteena muodostuvan kloorivety-, bromivety- tai sulfonihapon sitomiseen. Happoa sitovana aineena on edullisesti tertiaarinen amiini. Inertti liuotin ja happoa sitova aine voivat olla sama aine, esimerkiksi pyridiini, joka on edullinen inertti liuotin ja happoa sitova aine. Sulfonylointi tapahtuu vallitsevasti pyratsolirenkaan 1'-asemassa, mutta voi tapahtua jopa noin 30 %:iin asti pyratsolirenkaan 2'-asemassa. Näin ollen saattaa olla tarpeen erottaa haluttu 1'-isomeeri 2'-isomeerista esimerkiksi fraktiokiteytyksellä, patsaskromatografialla tai suurpainenestekromatografialla (HPLC). 2'-aseman sulfonyloituminen on yleensä vähäisempää, kun steroidirungon 4-asema on substituoitu.

Menetelmävaihtoehto b), jossa saadaan selektiivisesti kaavan I mukaista 1'-isomeeria, suoritetaan lämpötila-alueella 0-100°C inertissä liuottimessa. Edullinen inertti liuotin on tetrahydrofuraani.

Menetelmävaihtoehto c), jossa saadaan selektiivisesti kaavan I mukaista 1'-isomeeria, suoritetaan lämpötila-alueella 0-100°C inertissä liuottimessa. Edullinen liuotin on etikkahappo tai etikkahapon ja dikloorimetanin seos.

Joitakin kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan myös valmistaa muista kaavan I mukaisista tai niitä lähellä olevista yhdisteistä. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on $\text{CH}=\text{CH}_2$ voidaan valmistaa vastaavasta yhdisteestä, jossa $R_{17\alpha}$ on $\text{C}\equiv\text{CH}$, katalyyttisesti hydraamalla käyttäen esimerkiksi Pd/SrCO_3 -katalyyttia ja liuottimena pyridiiniä. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on CH_2CH_3 , voidaan valmistaa vastaavasta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa $R_{17\alpha}$ on $\text{CH}=\text{CH}_2$ tai $\text{C}\equiv\text{CH}$, katalyyttisesti hydraamalla käyttäen esimerkiksi Pd/C -katalyyttia ja liuottimena etanolia. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on $\text{C}\equiv\text{CBr}$, voidaan valmistaa vastaavasta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa $R_{17\alpha}$ on $\text{C}\equiv\text{CH}$, bromaamalla esimerkiksi N-bromisukkinimidillä. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa Y-Z on $\text{CH}-\text{C}$ tai $\text{C}-\text{C}$,

vastaavasta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa Y-Z on $\text{CH}=\text{C}$ tai $\text{C}=\text{C}$, epoksidimalla perhapolla, esimerkiksi m-

klooriperbentsoehapolla. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on H ja $R_{17\beta}$ on OH, voidaan valmistaa vastaavasta 17-ketoyhdistestä (17 α ja 17 β ovat yhdessä okso; 17-ketoyhdiste valmistetaan hydrolysoimalla kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ ja $R_{17\beta}$ ovat yhdessä $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$) pelkistämällä metallihydridillä, esimerkiksi natriumboorihydridillä. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on H ja $R_{17\beta}$ on OCOCHCl_2 , voidaan valmistaa vastaavasta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa $R_{17\alpha}$ on H ja $R_{17\beta}$ on OH, diklooriasetyloimalla esimerkiksi dikloorietikkahapoon-

hydridillä. Kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\beta}$ on OCH_2SOCH_3 tai $OCH_2SO_2CH_3$, voidaan valmistaa vastaavasta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa $R_{17\beta}$ on OCH_2SCH_3 , S-hapettamalla perhapolla, esimerkiksi m-perkloorihapolla.

Seuraavissa esimerkeissä tuotteiden rakenteet on johdettu lähtöaineiden rakenteista ja valmistusreaktioiden odotetuista kulkuteista. Lähtöaineiden ja tuotteiden rakenteen vahvistus ja puhtauden arviointi on mitattu käyttäen sulamislämpötila-aluetta (s.a.), alkuaineanalyysiä, infrapunaspektrianalyysiä (IR), ydinmagneettinen-resonanssispektrianalyysiä (NMR), kaasukromatografiaa (GC), suurpainenestekromatografiaa (HPLC) ja ohutkerroskromatografiaa (TLC).

15 Esimerkki 1

A. Metaanisulfonyylikloridia (5,09 ml, 7,53 g, 0,0658 mol) lisättiin sekoittaen jäähaudelämpötilassa (5 α , 17 α)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin (14,60 g, 0,432 mol) liuokseen pyridiinissä (75 ml). Lisäyksen jälkeen seoksen lämpötila kohosi noin 20 $^{\circ}$ C:seen ja aleni sitten jälleen 0-5 $^{\circ}$ C:seen. TLC osoitti reaktion olevan täydellinen tunnin kuluttua. Seokseen lisättiin sitten vettä (125 ml) jatkaen sekoittamista ja jäähdyttämistä. Erottunut öljy kiteytyi. Kiteet koottiin, pestiin ja kuivattiin (15,50 g). Emäliuokseen jäänyt tuote eristettiin (11 g) uuttamalla dikloorimetaanilla.

Reaktio toistettiin käyttäen 18,36 g (0,0542 mol) (5 α , 17 α)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olia ja 9,31 g (0,0813 mol) metaanisulfonyylikloridia. Tuote eristettiin pelkästään dikloorimetaaniuutolla.

Molempien reaktioiden yhdistetyt tuotteet, joiden TLC:ssä oli suurempi nopeammin liikkuva täplä ja pienempi hitaammin liikkuva täplä, puhdistettiin kromatografoimalla silikageelikolonissa (Whatmans LPS2, 500 g). Eluointi aloitettiin dikloorimetaani-eetteriseoksella (99:1). Koottiin 400 ml:n fraktioita. Fraktioiden 6-14 kiinteiden

jäännösten (23,25 g) TLC:ssä oli vain nopeammin liikkuva täplä, ja nämä fraktiot yhdistettiin ja kiteytettiin uudelleen asetonitriilistä, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli

- 5 (18,59 g, 46 %:n saanto, s.a. 200-202^oC), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂- $\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}$, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} OH.

- B. (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-17-[metyyli-
tio)metoksi]-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsolin (esimerkin
10 26 C kohdan tuote, 19,00 g, 0,0400 mol), metyylijodidin (10 ml, 0,16 mol), natriumbikarbonaatin (8,4 g, 0,10 mol), veden (0,72 ml, 0,040 mol) ja asetonin (500 ml) seosta sekoitettiin ja kuumennettiin palautusjäähdyttären 20 h. Lisättiin vielä metyylijodidia (10 ml) ja sekoittamista
15 palautusjäähdytyslämpötilassa jatkettiin 24 h. Seos suodatettiin, ja suodoksesta haihdutettiin haihtuvat aineet. Jäännös jaettiin dikloorimetaanin (300 ml) ja laimeaan natriumtiosulfaatin vesiliuokseen (300 ml) liukeneviin osiin. Dikloorimetaanikerros erotettiin ja vesikerros
20 uutettiin uudelleen dikloorimetaanilla (50 ml). Yhdistetyt dikloorimetaaniuutteet kuivattiin ja liuotin haihdutettiin. Jäännös liuotettiin dikloorimetaanin (90 ml) ja eetterin (10 ml) seokseen ja laskettiin silikageelin (50 g) lävitse käyttäen lisää dikloorimetaani-eetteriseosta (9:1).
25 Ensimmäisen fraktion (300 ml) jäännös (15,5 g) kiteytettiin 2 kertaa asetonitriilistä, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (12,31 g, 74 %:n saanto, s.a. 196-197^oC).

- C. (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-
30 yno[3,2-c]pyratsol-17-olitrifluoriasetaatin (esteri) (esimerkin 28 kohdan C tuote kondensaatiosta (2 α ,5 α ,17 α)-2-(dietoksimetyyli)-17-[trifluoriasetyyli)oksi]pregn-20-yn-3-onin (10,25 g, 0,0200 mol) ja metaanisulfonyylihydrat-
sidin (2,42 g, 0,0220 mol) kesken esimerkin 20 kohdan B
35 menetelmällä saatu koko tuote) liuos 100 ml:ssa kloroformista (210 ml), etanolista (100 ml) ja väkevistä NH₄OH-

vesiliuoksesta (10 ml) valmistettua seosta sai seistä huoneen lämpötilassa 2 h, laimennettiin kloroformilla (250 ml) ja pestiin laimealla kloorivetyhapolla (2-m, 250 ml). Kloroformikerros kuivattiin, ja kloroformi haihdutettiin vakuuissa. Jäännöksen liuos dikloorimetaanin (95 ml) ja eetterin (5 ml) seoksessa laskettiin silikageelin (50 g) lävitse käyttäen lisää dikloorimetaani-eetteriseosta (19:1, 600 ml). Haihduttamalla liuotin ja kiteyttämällä jäännös asetonitriilistä saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (7,07 g, 85 %:n saanto, s.a. 202-203°C).

D. a) Metaanisulfonyylikloridia (194 ml, 290 g, 2,50 mol) lisättiin sekoittaen huoneen lämpötilassa tunnin aikana (5 α ,17 α)-17-hydroksi-2-(hydroksimetyyleeni)-pregn-20-yn-3-onin (295,2 g, 0,86 mol), natriumasetatin (244 g, 2,9 mol) ja jääetikan (1,6 l) seokseen ja sekoittamista jatkettiin yön yli. Seos suodatettiin ja jääetikka (1 l) tislattiin vakuuissa pois suodoksesta. Jäännöksenä saatu seos kaadettiin hitaasti jääveteen (8 l) samalla voimakkaasti sekoittaen. Saatu kiinteä aine suodatettiin, pestiin 2 kertaa vedellä (600 ml kummallakin kerralla), kuivattiin (292,4 g), lietettiin metyyli-tert-butyyli-eetteriin (500 ml), suodatettiin jälleen, pestiin heksaani-tert-butyyli-eetteriseoksella (1:1, 100 ml) ja kuivattiin, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-2-(asetoksimetyyleeni)-17-hydroksipregn-20-yn-3-oni (197,8 g, 60 %:n saanto, s.a. 122-129°C).

b) Metaanisulfonyylihydratsidin (82,5 g, 0,75 mol) liuos etikkahapossa (100 ml) lisättiin sekoittaen 5 min kuluessa (5 α ,17 α)-2-(asetoksimetyyleeni)-17-hydroksipregn-20-yn-3-onin (197 g, 0,51 mol) ja etikkahapon (1 l) seokseen. Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 1 h, muodostui syväkeltainen liuos, joka kaadettiin voimakkaasti sekoittaen jääveteen (6 l). Saatu kiinteä aine suodatettiin, pestiin vedellä (2 x 500 ml), puristettiin kuivaksi, pestiin jälleen vedellä (2 x 500 ml), kuivattiin (245 g) ja

kiteytettiin ensin asetonitriilistä (2,5 tilavuusosaa) ja sitten metanolista (6,6 tilavuusosaa), kuivattiin, jauhettiin ja kuivattiin uudelleen, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (137,8 g, 65 %:n saanto, s.a. 194-196°C).

Esimerkki 2

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 β)-1'H-17-metyleenandrost-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (32,6 g, 0,100 mol) metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (17,18 g, 11,6 ml, 0,149 mol) pyridiinissä (150 ml). Tuote puhdistettiin HPLC:llä silikageelillä käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta (9:1) ja sitten kiteyttämällä eetteristä ja uudelleen asetonitriilistä, jolloin saatiin (17 β)-17-metyyli-1'-(metaanisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (22,51 g, 56 %:n saanto, s.a. 203-205°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X, R₁₀ ja R_{17 α} ovat CH₃, Y-Z on CH=C, R₆ on H ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 3

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 α)-1'H-pregn-4-en-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (33,7 g, 0,100 mol) metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (17,18 g, 11,6 ml, 0,149 mol) pyridiinissä (150 ml). Tuote puhdistettiin kromatografoimalla silikageelikolonissa (E. Merck Kieselgel 60, 400 g). Dikloorimetaani-eetterieluaatti (99:1) fraktioiden 6-16 (400 ml jokainen) kiinteät haihdutusjäännökset yhdistettiin (14,11 g) ja kiteytettiin uudelleen metanolin (50 ml) ja veden (5 ml) seoksesta, jolloin saatiin (17 α)-1'-(metaanisulfonyyli)-1'H-pregn-4-en-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (12,82 g, 32 %:n saanto, s.a. 205-207°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH=C, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 4

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 β)-1'H-17-metyyliandrostano[3,2-c]pyratsol-17-oli (37,00 g, 0,113 mol)

metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (11,95 ml, 17,55 g, 0,15 mol) pyridiinissä (150 ml).

Kiteinen tuote (44,07 g) puhdistettiin HPLC:llä silikageelillä käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta

5 (9:1) ja sen jälkeen kiteyttämällä metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 β)-17-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (25,47 g, 55 %:n saanto, s.a. 189-190°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X, R₁₀ ja R_{17 α} ovat metyyli, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H ja R_{17 β} on OH.

10 Esimerkki 5

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 α)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (16,30 g, 0,0482 mol) etaanisulfonyloitiin käyttäen etaanisulfonyylikloridia (9,17 g, 0,071 mol) pyridiinissä (150 ml). Kiteinen tuote (16,75 g)

15 puhdistettiin HPLC:llä silikageelillä käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta (9:1) ja sen jälkeen kiteyttämällä metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(etyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (12,11 g, 58 %:n saanto, s.a. 191-193°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X on CH₃CH₂, Y-Z on CH₂-CH, R₆ on H, R₁₀ on CH₃, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 6

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 α)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (16,10 g, 0,0476 mol) propaanisulfonyloitiin käyttäen propaanisulfonyylikloridia

25 (10,12 g, 0,071 mol) pyridiinissä (150 ml). Kiteinen tuote (23,54 g) puhdistettiin HPLC:llä silikageelillä käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta (19:1) ja sitten kiteyttämällä metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(propyyllisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (10,97 g, 52 %:n saanto, s.a. 182-183°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X on CH₃CH₂CH₂, Y-Z on CH₂-CH,

R₆ on H, R₁₀ on CH₃, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 7

Seos, jossa oli (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin (esimerkin 1 tuote, 19,4 g, 0,0466 mol) liuos pyridiinissä (300 ml) ja

5 Pd/SrCO₂-katalysaattoria (2-%:inen, 1,9 g), hydrattiin mekaanisesti ravistellen huoneen lämpötilassa 6,5 h paineesta 276 kPa alkaen, seos sai sitten seistä yön yli ilman vetyä ja suodatettiin diatomiittia käyttäen. Suodatinkakku pestiin etyyliasetaatilla, ja suodoksesta haihdutettiin haihtuvat aineet vakuuissa. Koska TLC osoitti

10 jäännöksen sisältävän muuttumatonta lähtöainetta, se hydrattiin uudelleen samalla menetelmällä. Tuotteen liuos dikloorimetaanissa käsiteltiin värinpoistohiilellä ja liuotin haihdutettiin. Jäännös kiteytettiin kahtena eränä etanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (11,2 g, s.a. 171,5-173°C, 3 g, 73 %:n saanto), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Z-Y on CH₂-C, R₆ on H, R_{17 α} on CH=CH₂ ja R_{17 β} on OH.

20 Esimerkki 8

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 α)-1'H-19-norpregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (20 g, 0,062 mol), metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (10 ml) pyridiinissä (400 ml). Tuote puhdistettiin HPLC:llä

25 silikageelillä käyttäen eluenttina heksaani-eetteriseosta (1:1). Menettely toistettiin käyttäen samoja materiaalmääriä ja samaa puhdistusmenetelmää. Tuotteet yhdistettiin ja kiteytettiin etyyliasetaatii-heksaaniseoksesta, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-19-norpregn-

30 20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (8,2 g, 17 %:n saanto, s.a. 176-178°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X on CH₃, Z-Y on CH₂-C, R₆ ja R₁₀ ovat H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 9

35 Seos, jossa oli (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin (esimerkin 1 tuote,

13 g, 0,0312 mol) ja (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-eno[3,2-c]pyratsol-17-olin (esimerkin 7 tuote, 3 g, 0,0072 mol) liuos etanolissa (300 ml) ja Pd/C-katalyysaattoria (10-%:inen, 1,6 g) hydrattiin mekaanisesti

5 ravistelemalla huoneen lämpötilassa paineesta 276 kPa alkaen. 3,3 h kuluttua TLC osoitti hydrauksen olevan epätäydellinen ja hydrausta jatkettiin sen vuoksi 4 h alkaen paineella 276 kPa. Seos suodatettiin diatomiitilla. Suodatinkakku pestiin etyyliasetaatilla ja suodoksesta haihdutettiin vakuumissa haihtuvat aineet. Kiteyttämällä jäännös etanolista saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregnano[3,2-c]pyratsol-17-oli (10,1 g, 63 %:n saanto, s.a. 194,5-195,5 $^{\circ}$ C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H, R_{17 α} on CH₂CH₃ ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 10

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 β)-4,17-dimetyyli-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (34,0 g, 0,10 mol) metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonylikloridia (17,19 g, 11,6 ml, 0,15 mol) pyridiinissä (150 ml). Reaktioaika oli 1,5 h. Reaktioseokseen lisättiin 3-(dimetyyli)propyyliamiinia (10 ml), ja seos kaadettiin sitten laimeaan, jäitä sisältävään kloorivetyhappoon (2-m, 1200 ml). Saatu kiinteä aine koottiin, pestiin vedellä,

25 kuivattiin (41,30 g) ja kiteytettiin uudelleen etanolista, jolloin saatiin (17 β)-4,17-dimetyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (30,13 g, 72 %:n saanto, s.a. 219-220 $^{\circ}$ C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X, R₁₀ ja R_{17 α} ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ on H ja R_{17 β} on OH.

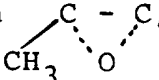
Esimerkki 11

(17 β)-4,17-dimetyyli-1'-(metyylisulfonyyli)1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-olin (esimerkin 10 tuote, 12,56 g, 0,0300 mol) liuokseen dikloorimetaanissa (200 ml)

35 lisättiin m-klooriperbentsoehappoa (80-%:isen puhdasta, 7,11 g, 0,033 mol). Seos sai seistä huoneen lämpötilassa

4 vrk, sitten se suodatettiin. Suodos pestiin natriumsulfiitin vesiliuoksella ja kyllästetyllä NaHCO₃-vesiliuoksella, kuivattiin ja liuotin haihdutettiin. Saatu kiinteä aine (13,07 g, s.a. 186-187°C) kiteytettiin dikloori-

5 metaani-metanoliseoksesta, jolloin saatiin (4 α ,5 α ,17 β)-4,5-epoksi-4,17-dimetyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (11,33 g, 87 %:n saanto, s.a. 199-200°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X, R₁₀ ja R_{17 α} ovat CH₃, Y-Z on

10  R₆ on H ja R_{17 β} on OH.

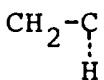
Esimerkki 12

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 β)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (3,60 g, 0,0100 mol; 32,73 g, 0,0907 mol) metaanisulfonyloitiin kahdessa erässä

15 käyttäen metaanisulfonylikloridia (1,26 g, 0,85 ml, 0,011 mol; 7,51 ml, 10,90 g, 0,0932 mol) pyridiinissä (25 ml; 125 ml). Yhdistetyt tuotteet puhdistettiin kromatografoimalla silikageelikolonissa (Whatmans LPS2, 1 kg) käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta (99:1).

20 Koottiin 800 ml:n fraktioita. Fraktioiden 16-23 yhdistetyt haihdutusjäännökset (17,30 g) kiteytettiin uudelleen dikloorimetaanin (50 ml) ja metanolin (300 ml) seoksesta (lopullinen tilavuus 150 ml), jolloin saatiin (5 α ,17 β)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli-

25 hydraatti (4:1) (13,42 g, 33 %:n saanto, s.a. 176-178°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on

 R₆ ja R_{17 α} ovat H ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 13

30 A. Kahtena eränä 4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-onin syklisen 17-(1,2-etaanidiyyliasetaalin) (esimerkin 14 tuote; 2,0 g, 0,0045 mol; 62,2 g, 0,14 mol) ja etikkahapon (80-%:inen, 12,5 ml; 40 ml) seosta kuumennettiin höyryhauteella. Raakatuote

35 koottiin suodattamalla kahtena eränä, erät yhdistettiin ja kiteytettiin uudelleen etyyliasetaatista, jolloin saatiin

4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]-pyratsol-17-oni (43,45 g, 75 %:n saanto, s.a. 240,5-242,5°C).

B. Natriumboorihydridin (1,19 g, 0,050 mol) liuos
 5 vedessä (9 ml) lisättiin 4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-
 1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-onin (20,1 g, 0,0500
 mol) liuokseen tetrahydrofuraanissa (650 ml) ja seosta
 sekoitettiin huoneen lämpötilassa 1,5 h. Lisättiin aseto-
 nia (200 ml) ja seosta sekoitettiin 0,5 h, sitten haihtuvat
 10 aineet haihdutettiin. Lisättiin dikloorimetaania ja seos
 suodatettiin. Suodos haihdutettiin, jäännös (20,7 g) kitey-
 tettiin asetonitriilistä (18,4 g, s.a. 154-165°C), yhdis-
 tettiin aikaisemmin pienessä mittakaavassa (0,003 mol ste-
 roidia) valmistetun tuote-erän (0,68 g, s.a. 154-165°C)
 15 kanssa ja kiteytettiin uudelleen asetonitriilistä, jolloin
 saatiin (17 β)-4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-
 androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (16,4 g, 77 %:n saan-
 to, s.a. 158-166°C uudelleenjäähmettyneenä ja jälleen-
 sulatettuna 199-210°C:ssa), kaavan I mukainen yhdiste,
 20 jossa X ja R₁₀ ovat metyyli, Y-Z on C=C, R₆ ja R_{17 α} ovat
 H ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 14

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä 4-metyyli-1'H-
 androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-onin syklinen 17-(1,2-
 25 etaanidiyyliasetaaali) (12,0 g, 0,0326 mol) metaanisulfo-
 nyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (4 ml, 0,052
 mol) pyridiinissä (100 ml). Tuote kiteytettiin uudelleen
 2 kertaa asetonitriilistä, jolloin saatiin 4-metyyli-1'-
 (metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-
 30 onin syklinen 17-(1,2-etaanidiyyliasetaaali) (10,7 g,
 73 %:n saanto, s.a. 234-237°C), kaavan I mukainen yhdiste,
 jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ on H ja R_{17 α} ja
 R_{17 β} ovat yhdessä OCH₂CH₂O.

Esimerkki 15

35 Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17 β)-1'H-
 androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (36,02 g, 0,115 mol)

metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (13,83 g, 9,35 ml, 0,120 mol) pyridiinissä (250 ml). Tuote puhdistettiin HPLC:llä silikageelillä (17,02 g) ja sen jälkeen kiteyttämällä uudelleen kloroformin (200 ml) ja etanolin (200 ml) seoksesta (lopputilavuus 300 ml), jolloin saatiin (17 β)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno-[3,2-c]pyratsol-17-oli (13,83 g, 31 %:n saanto, s.a. 227-229°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH=C, R₆ ja R_{17 α} ovat H ja R_{17 β} on OH.

10 Esimerkki 16

Etyylimagnesiumbromidin eetteriliuosta (3,1-m, 55 ml, 0,17 mol) lisättiin 1,7 h kuluessa tetrahydrofuraaniin (250 ml), johon samalla johdettiin asetyleenikaasua. Saatu seos jäädytettiin jäähauteessa ja siihen lisättiin 15 4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno-[3,2-c]-pyratsol-17-onin (esimerkin 13 kohdan A tuote, 32,4 g, 0,0804 mol) liuos tetrahydrofuraanissa (380 ml). Jäähaude poistettiin, ja seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3,3 h, sitten seos kaadettiin kyllästettyyn NH₄Cl-vesiliuokseen (1,2 l). Kerrokset erotettiin. Vesikerros uutettiin dikloorimetaanilla. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin kyllästetyllä NaCl-vesiliuoksella ja haihtuvat aineet haihdutettiin. Jäännöksenä saadun kumin (36 g) liuos kromatografoitiin silikageelikolonissa (500 g sili- 25 kageeliä). Koottiin 400 ml:n fraktioita. Fraktioiden 1-2 eluentti oli dikloorimetaani-heksaaniseos (3:1), fraktioiden 3-7 dikloorimetaani-heksaaniseos (7:1), fraktioiden 8-18 dikloorimetaani, fraktioiden 19-22 dikloorimetaani-eetteri (19:1). Fraktiot 11-21 yhdistettiin ja haihdutettiin, jäännös (14,9 g) yhdistettiin vastaavasti saadun jäännöksen kanssa ajosta, jossa lähtöainetta käytettiin 0,0497 mol (6,35 g), tuote kiteytettiin 3 kertaa tolueenista, jolloin saatiin (17 α)-4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-4-en-20-yno-[3,2-c]pyratsol-17-oli 35 (12,45 g, 22 %:n saanto, s.a. 221-224°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 17

Esimerkin 7 menetelmällä hydrattiin kahtena eränä (17 α)-4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-4-en-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (esimerkin 16 tuote; noin 3,7 g, 5 noin 0,0086 mol; 2,25 g, 0,00525 mol) käyttäen Pd/SrCO₃-katalysaattoria pyridiinissä. Tuotteet yhdistettiin ja kiteytettiin uudelleen asetonitriilistä, jolloin saatiin (17 α)-4-metyyli-1'H-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregna-4,20-dieno[3,2-c]pyratsol-17-oli (2,5 g, 42 %:n saanto, s.a. 10 195-196°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ on H, R_{17 α} on CH=CH₂ ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 18

Kloorimetyylisulfonyylikloridia lisättiin kahtena 15 eränä (1,7 ml, 0,019 mol; 4 ml, 0,044 mol) (5 α ,17 α)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin (3,38 g, 0,0100 mol; 8,5 g, 0,025 mol) liuokseen pyridiinissä (20 ml; 35 ml). Saatu liuos sai seistä huoneen lämpötilassa 1-3 h, sitten se kaadettiin veteen (300 ml; 350 ml). Kumimaiset tuot- 20 teet puhdistettiin kiteyttämällä sykloheksaanista tai tetrakloorimetaanista ja kromatografoimalla silikageelikolonissa käyttäen eluenttina dikloorimetaania, tuotteet yhdistettiin, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-[(kloorimetyyli)sulfonyyli]-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (5,4 g, 25 35 %:n saanto, s.a. 168-170°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X on ClCH₂, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H, R₁₀ on CH₃, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH. H

Esimerkki 19

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä 2 erää (6 α ,17 β)- 30 6-metyyli-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-olia (noin 0,01 mol ja noin 0,05 mol) metaanisulfonyloitiin käyttäen metaanisulfonyylikloridia (0,5 ml; 6 ml) pyridiinissä (35 ml; 150 ml). Tuotteet (3,5 g; 18 g) yhdistettiin ja puhdistettiin kromatografoimalla silikageelikolonissa 35 (400 g silikageeliä) käyttäen eluointiin dikloorimetaanietyyliasetaatiseosta 19:1. Uudelleenkiteyttämällä aseto-

nitriilistä saatiin (6 α ,17 β)-6-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-oli (2,4 g, 10 %:n saanto, s.a. 183-188°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X, R₆ ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH=C, R_{17 α} on H ja R_{17 β} on OH.

Esimerkki 20

A. Argonkehässä alle -30°C booritrifluoridieetteraattia (100 ml, 115,4 g, 0,704 mol) lisättiin trietyyliortoformiaatin (109,5 ml, 97,56 g, 0,658 mol) liuokseen dikloorimetaanissa (300 ml). Lämpötila kohotettiin 0°C:seen, pidettiin siinä 15 min ja alennettiin sitten -70°C:seen. Sitten lisättiin (5 α ,17 β)-17-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yyli)oksi]androstan-3-onin (0,3 mol) liuos dikloorimetaanissa (250 ml + 50 ml huuhteluun), ja sen jälkeen di-isopropyyliamiinia (166,5 ml, 123,5 g, 0,955 mol), jolloin viimeksi mainittu lisäys suoritettiin lämpötilassa alle -55°C. Lämpötila alennettiin -70°C:seen 1 tunniksi. Seos kaadettiin sitten NaHCO₃-vesiliuokseen (3 l, valmistettu liuottamalla 300 g NaHCO₃ 3,5 litraan vettä). Kerrokset erotettiin. Vesikerros uutettiin dikloorimetaanilla (250 ml). Yhdistetyt dikloorimetaaniuutteet pestiin 2 kertaa kylmällä kloorivetyhapolla (2-m, 1200 ml, 600 ml) sitten puolikylälästetyllä NaHCO₃-vesiliuoksella (800 ml), kuivattiin ja dikloorimetaani haihdutettiin. Jäännöstä hierrettiin heksaanissa, jolloin saatiin (2 α ,5 α ,17 β)-2-(dietoksimetyyli)-17-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yyli)oksi]androstan-3-oni (70,57 g, 49 %:n saanto, s.a. 165-168°C).

B. Metaanisulfonyylihydratsidin (3,33 g, 0,303 mol) liuos tetrahydrofuraanissa (70 ml + 30 ml huuhteluun) lisättiin sekoittaen (2 α ,5 α ,17 β)-2-(dietoksimetyyli)-17-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yyli)oksi]androstan-3-onin (11,92 g, 0,025 mol) liuokseen tetrahydrofuraanissa (190 ml). Seos sai seistä 3 vrk huoneen lämpötilassa, sitä kuumennettiin palautusjäähdyttäen 4 h ja sitten haihtuvat aineet haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin kiteyttämällä 2 kertaa metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 β)-1'-(metyylisulfonyyli)-

17-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yyli)oksi]-1'H-androstano[3,2-c]-pyratsoli (7,70 g, 65 %:n saanto, s.a. 168-169°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ ja R_{17α} ovat H ja R_{17β} on OCH(CH₂)₄O.

5

Esimerkki 21

Dikloorietikkahappoanhydridiä (4,60 g, 0,02 mol) lisättiin jäähdyttäen (17β)-4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-olin (esimerkin 13 tuote, 4,05 g, 0,0100 mol) liuokseen pyridiinissä (25 ml). Seos laimennettiin kloorivetyhapolla (2-m, 200 ml) ja uutettiin dikloorimetaanilla (100 ml). Dikloorimetaanuuete pestiin kyllästetyllä NaOH-vesiliuoksella (100 ml), kuivattiin ja haihtuvat aineet haihdutettiin. Kiteyttämällä jäännös dikloorimetaani-metanoliseoksesta saatiin (17β)-4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androst-4-eno[3,2-c]pyratsol-17-olidiklooriasetaatti (esteri) (3,60 g, 70 %:n saanto, s.a. 207-208°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ ja R_{17α} ovat H ja R_{17β} on OCOCHCl₂.

20

Esimerkki 22

Esimerkin 21 menetelmällä (5α,17β)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (esimerkin 12 tuote, 11,78 g, 0,0300 mol) diklooriasetyloitiin käyttäen dikloorietikkahappoanhydridiä (14,39 g, 0,0600 mol + 1 ml) pyridiinissä. Reaktioseos kaadettiin kloorivetyhappoon (2-m, 1 l). Raakatuote (15,52 g, s.a. 167-172°C) kiteytettiin uudelleen asetonitriilistä, jolloin saatiin (5α,17β)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-olidiklooriasetaatti (esteri) (10,85 g, 72 %:n saanto, s.a. 207-208°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ ja R_{17α} ovat H ja R_{17β} on OCOCHCl₂.

30

Esimerkki 23

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä (17α)-17-hydroksi-1'H-pregn-4-en-20-yno[3,2-c]pyratsoli-4-karbonitriili (10,71 g, 0,0300 mol) metaanisulfonyloitiin käyttäen

35

metaanisulfonyylikloridia (4 ml, 5,92 g, 0,0516 mol) pyridiinissä (150 ml). Tuote puhdistettiin kromatografoimalla silikageelikolonissa käyttäen eluenttina dikloorimetaani-eetteriseosta (99:1) ja sitten kiteyttämällä metanolista, jolloin saatiin (17 α)-17-hydroksi-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-4-en-20-yno[3,2-c]pyratsoli-4-karbonitriili (4,60 g, 35 %:n saanto, s.a. 238-240°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on C=C, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on OH.

10 Esimerkki 24

A. Esimerkin 20 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 β)-17-hydroksiandrostan-3-onitrifluoriasetaatti (esteri) (0,344 mol) dietoksimetyloitiin käyttäen trietyyliortoformiaattia (126 ml) ja booritrifluoridieetteraattia (140 ml). Tuote kiteytettiin metanolista, jolloin saatiin (2 α ,5 α ,17 β)-2-(dietoksimetyyli)-17-hydroksiandrostan-3-onitrifluoriasetaatti (esteri) (118,7 g, 71 %:n saanto, s.a. 122-123°C).

B. Esimerkin 20 kohdan B menetelmällä (2 α ,5 α ,17 β)-2-(dietoksimetyyli)-17-hydroksiandrostan-3-onitrifluoriasetaatti (esteri) (48,86 g, 0,100 mol) kondensoitiin metaanisulfonyylihydratsidin kanssa (13,32 g, 0,121 mol). Tuote kiteytettiin metanolista (41,64 g, 87 %:n saanto, s.a. 195-198°C). Osa (12,0 g) kiteytetystä tuotteesta kiteytettiin uudelleen dikloorimetaani-metanoliseoksesta, jolloin saatiin (5 α ,17 β)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-olitrifluoriasetaatti (esteri) (11,44 g, s.a. 192-195°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ ja R_{17 α} ovat H ja R_{17 β} on OCOF₃.

25 Esimerkki 25 H

30 A. Esimerkin 20 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 β)-17-metoksiandrostan-3-oni (45,67 g, 0,15 mol) dietoksimetyloitiin käyttäen trietyyliortoformiaattia (55,0 ml, 49,0 g, 0,33 mol) ja booritrifluoridieetteraattia (50,0 ml, 57,7 g, 0,407 mol), jolloin saatiin (2 α ,5 α ,17 β)-2-(dietoksimetyyli)-17-metoksiandrostan-3-oni (71,81 g).

35

B. Esimerkin 20 kohdan B menetelmällä (2 α ,5 α ,17 β)-2-dietoksimetyyli)-17-metoksiandrostan-3-oni (61,81 g, oletetaan olevan 0,129 mol) kondensoitiin metaanisulfonyylihydratsidin (16,5 g, 0,15 mol) kanssa. Tuote kiteytettiin metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 β)-17-metoksi-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androstano[3,2-c]pyratsoli (42,62 g, 70 %:n saanto), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ ja R_{17 α} ovat H ja R_{17 β} on OCH₃.

Esimerkki 26 $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ \text{C} \end{matrix}$

10 A. (5 α ,17 α)-17-hydroksipregn-20-yn-3-onin (62,9 g, 0,200 mol) suspensiota etikkahappoanhydridin (480 ml), dimetyylisulfoksidin (480 ml) ja etikkahapon (100 ml) seoksessa sekoitettiin huoneen lämpötilassa 5 vrk. Haihtuvat aineet poistettiin vakuumissa käyttäen ensin vesipumppua ja sitten mekaanista pumppua. Tuote kiteytettiin uudelleen asetonitriilistä, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-17-[(metyylitio)metoksi]pregn-20-yn-3-oni (60,40 g, 81 %:n saanto, s.a. 142-144^oC).

20 B. Esimerkin 20 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 α)-17-[(metyylitio)metoksi]pregn-20-yn-3-oni (56,19 g, 0,15 mol) dietoksimetyloitiin käyttäen trietyyliortoformiaattia (55,0 ml, 49,0 g, 0,33 mol) ja booritrifluoridieetteraattia (50,0 ml, 57,7 g, 0,407 mol), jolloin saatiin öljymäistä (2 α ,5 α ,17 α)-2-(dietoksimetyyli)-17-[(metyylitio)metoksi]pregn-20-yn-3-oni.

25 C. Esimerkin 20 kohdan B menetelmällä (2 α ,5 α ,17 α)-2-(dietoksimetyyli)-17-[(metyylitio)metoksi]pregn-20-yn-3-oni (tämän esimerkin B kohdan koko tuote) kondensoitiin metaanisulfonyylihydratsidin (18,15 g, 0,165 mol) kanssa. 30 Tuote kiteytettiin metanolista, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-17-[(metyylitio)metoksi]-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsoli (50,75 g, kahden vaiheen saanto 71 %, s.a. 149-151^oC), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H, R_{17 α} on C \equiv CH ja 35 R_{17 β} on OCH₂SCH₃.

Esimerkki 27

m-klooriperbentsoehappoa (oletetaan olevan 80-%:isen
 puhdasta, 11,86 g, 0,055 mol) lisättiin sekoittaen 0°C:ssa
 pidettyyn (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-17-[(metyylitio)-
 5 metoksi]pregn-20-yno[3,2-c]pyratsolin (11,92 g, 0,0250
 mol) liuokseen dikloorimetaanissa (200 ml). Sekoittamista
 0°C:ssa jatkettiin 4 h, seos suodatettiin ja jäännös kitey-
 tettiin dikloorimetaanista, jolloin saatiin (5 α ,17 α)-1'-
 (metyylisulfonyyli)-17-[(metyylisulfonyyli)metoksi]-1'H-
 10 pregn-20-yno[3,2-c]pyratsoli (11,57 g, 91 %:n saanto,
 s.a. 223-225°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja
 R₁₀ ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β}
 on OCH₂SO₂CH₃.

$$\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{C} \end{array}$$

Esimerkki 28

15 A. (5 α ,17 α)-17-hydroksipregn-20-yn-3-onin (62,89 g,
 0,200 mol), trifluorietikkahappoanhydridin (100 ml) ja
 dikloorimetaanin (800 ml) seosta sekoitettiin huoneen
 lämpötilassa 16 h, sitten haihtuvat aineet poistettiin
 vakuuissa. Jäännös liuotettiin dikloorimetaanin (300 ml),
 20 liuos pestiin puolikyllästetyllä NaHCO₃-vesiliuoksella,
 kuivattiin ja dikloorimetaani haihdutettiin. Kiteyttämällä
 jäännös sykloheksaanista saatiin (5 α ,17 α)-17-[(trifluori-
 asetyyli)oksi]pregn-20-yn-3-oni (66,01 g, 80 %:n saanto,
 s.a. 173-175°C).

25 B. Esimerkin 20 kohdan A menetelmällä (5 α ,17 α)-17-
 [(trifluoriasetyyli)oksi]pregn-20-yn-3-oni (61,55 g,
 0,150 mol) dietoksimetyloitiin käyttäen trietyyliorto-
 formiaattia (55,0 ml, 49,0 g, 0,33 mol) ja booritrifluori-
 dieetteraattia (50 ml, 57,7 g, 0,407 mol). Raakatuote
 30 dietoksimetyloitiin uudelleen samoilla reagenssimäärillä,
 koska siinä osoittautui TLC:n mukaan olevan muuttumatonta
 lähtöainetta. Osa tuotteesta (16,59 g) puhdistettiin ki-
 teyttämällä heksaanista, jolloin saatiin (2 α ,5 α ,17 α)-2-
 (dietoksimetyyli)-17-[(trifluoriasetyyli)oksi]pregn-20-
 35 yn-3-oni (s.a. 134,5-135,5°C).

C. Esimerkin 20 kohdan B menetelmällä ($2\alpha, 5\alpha, 17\alpha$)-2-(dietoksimetyyli)-17-[(trifluoriasetyyli)oksi]pregn-20-yn-3-oni (tämän esimerkin kohdan B uudelleen dietoksimetyloitu koko tuote) kondensoitiin metaanisulfonyylihydratsidin (18,15 g, 0,165 mol) kanssa. Tuote kiteytettiin metanolin (200 ml) ja veden (25 ml) seoksesta, jolloin saatiin ($5\alpha, 17\alpha$)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olitrifluoriasetaatti (esteri) (53,08 g, molempien vaiheiden saanto 69 %, s.a. 166-168°C),

10 kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R_{10} ovat CH_3 , Y-Z on $\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}$, R_6 on H, $R_{17\alpha}$ on $\text{C}\equiv\text{CH}$ ja $R_{17\beta}$ on OCOFCF_3 .

H Esimerkki 29

Esimerkin 1 kohdan A menetelmällä ($5\alpha, 17\beta$)-17-metyyli-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (32,8 g, 0,100 mol) etaanisulfonyloitiin käyttäen etaanisulfonyylikloridia (13 g, 0,10 mol) pyridiinissä (250 ml). Tuote puhdistettiin fraktiokiteyttämällä asetonitriilistä, jolloin saatiin ($5\alpha, 17\beta$)-1'-(etyylisulfonyyli)-17-metyyli-1'H-androstano[3,2-c]pyratsol-17-oli (9,8 g, 23 %:n saanto, s.a. 197-199°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X on CH_3CH_2 , Y-Z on $\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}$, R_6 on H, R_{10} ja $R_{17\alpha}$ ovat CH_3 ja $R_{17\beta}$ on OH.

Esimerkki 30

Hopeanitraattia (0,50 g) ja N-bromisukkinimidiä (5,40 g, 0,30 mol) lisättiin sekoittaen huoneen lämpötilassa ($5\alpha, 17\alpha$)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin (10,91 g, 0,0262 mol) liuokseen asetonissa (200 ml). Sekoittamista jatkettiin 75 min. Seos laimennettiin jäävedellä (500 ml) ja uutettiin 2 kertaa dikloorimetaanilla (200 ml, 100 ml). Yhdistetyt dikloorimetaaniuutteet pestiin vedellä (300 ml), kuivatettiin ja liuotin haihdutettiin. Kiteyttämällä jäännös metanolista (50 ml) saatiin ($5\alpha, 17\alpha$)-21-bromi-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli (9,15 g, 71 %:n saanto, s.a. 205-208°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R_{10} ovat CH_3 , Y-Z on $\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}$, R_6 on H, $R_{17\alpha}$ on $\text{C}\equiv\text{CBr}$ ja $R_{17\beta}$ on OH.

Esimerkki 31

m-klooriperbentsoehappoa (oletetaan olevan 80 %:isen
 puhdasta, 5,39 g, 0,025 mol) lisättiin sekoittaen jää-
 hauteessa jäädytettyyn (5 α ;17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-
 5 17-[(metyylitio)metoksi]pregn-20-yno[3,2-c]pyratsolin
 (11,9 g, 0,025 mol) liuokseen dikloorimetaanissa (200 ml).
 Sekoittamista jatkettiin, jolloin vuorokauden kuluttua
 TLC osoitti reagoimatonta lähtöainetta edelleen olevan
 läsnä. Lisättiin uusi erä m-klooriperbentsoehappoa (0,50 g)
 10 ja sekoittamista jatkettiin 1 h. Reagoimatonta lähtö-
 ainetta oli TLC:n mukaan edelleen läsnä, joten lisättiin
 jälleen sekoittaen m-klooriperbentsoehappoa (0,50 g).
 Seuraava koe lähtöaineen toteamiseksi oli negatiivinen.
 Reaktioseos pestiin kyllästetyllä NaHCO₃-vesiliuoksella,
 15 kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja dikloorimetaani haih-
 dutettiin. Kiteyttämällä jäännös 2 kertaa etyyliasetaatista
 saatiin tuote (7,00 g), jonka s.a. oli 198-203°C. Se puh-
 distettiin edelleen kromatografoimalla silikageelikolon-
 nissa (Kieselgel 60, 200 g) käyttäen eluenttina dikloori-
 20 metaani-eetteriseosta (9:1). Koottiin 400 ml:n fraktioita.
 Fraktiot 5-9 yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin ki-
 teyttämällä jäännös etyyliasetaatista saatiin (5 α ,17 α)-1'-
 (metyylisulfonyyli)-17-[(metyylisulfonyyli)metoksi]-1'H-
 pregn-20-yno[3,2-c]pyratsoli (4,18 g, 34 %:n saanto, s.a.
 25 200-203°C), kaavan I mukainen yhdiste, jossa X ja R₁₀
 ovat CH₃, Y-Z on CH₂-C, R₆ on H, R_{17 α} on C=CH ja R_{17 β} on
 OCH₂SOCH₃.

Esimerkki 32

Tämä esimerkki kuvaa edelleen keksinnön mukaista
 30 kolmatta valmistusmenetelmää, josta esimerkkinä on myös
 esimerkin 1 kohta D sekä (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-
 1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olin valmistusta, joka
 on myös esitetty esimerkin 1 kohdissa A-D.

A. (5 α ,17 α)-17-hydroksi-2-(hydroksimetyyleeni)pregn-
 35 20-yn-3-onin (100 g, 0,29 mol) ja kaliumkarbonaatin
 (40,4 g, 0,29 mol) lietteeseen asetonissa (700 ml) lisät-

tiin tipoittain huoneen lämpötilassa sekoittaen 30 min kuluessa bentsoyylikloridia (33,9 ml, 0,29 mol). Sekoitamista jatkettiin huoneen lämpötilassa 18 h. Seos suodatettiin, suoduskakku pestiin asetonilla (100 ml) ja suodoksesta poistettiin haihtuvat aineet vakuuimissa. Kiteytämällä jäännös tolueenista (750 ml) ja käsittelemällä aktiivihiehellä saatiin (5 α ,17 α)-2-[bentsoyylioksi)-metyleeni]-17-hydroksipregn-20-yn-3-oni kahtena eränä (81,7 g, puhtaus HPLC:n mukaan 98,4 %; 11,9 g, puhtaus HPLC:n mukaan 98,6 %, 72 %:n saanto). Osa yhdistetystä tuote-erästä (15 g) kiteytettiin asetonista (150 ml), jolloin saatiin tuote (11,4 g), jonka s.a. oli 214-215°C.

B. Metaanisulfonyylihydratsidin (1,9 g, 0,0168 mol) ja metaanisulfonihapon (98-%:inen, 0,074 ml, 0,00112 mol) liuos etikkahapossa (6,5 ml) lisättiin sekoittaen 0°C:ssa 30 sek kuluessa (5 α ,17 α)-2-[bentsoyylioksi)-metyleeni]-17-hydroksipregn-20-yn-3-onin (5 g, 0,0112 mol) liuokseen dikloorimetaanissa (25 ml) ja etikkahapossa (6,5 ml). Seoksen annettiin seistä 4°C:ssa 18 h. Lisättiin dikloorimetaania (100 ml) ja vettä (100 ml). Dikloorimetaanikerros erotettiin, pestiin kyllästetyllä NaHCO₃-vesiliuoksella (100 ml), kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja haihtuvat aineet erotettiin. Jäännös (5,3 g) koostui HPLC:n mukaan (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-olista (95,2 %) ja epäpuhtaudesta, joka identifioitiin saadun tuotteen ja metaanisulfonyylihydratsidin 4',5'-additiotuotteeksi (2,3 %).

Yhdisteiden antiandrogeniset ominaisuudet

Kaavan I mukaisten yhdisteiden käyttö antiandrogenisina aineina arvioitiin kahdessa kokeessa: in vitro suoritettussa rotan eturauhasen androgeenireseptorin kilpailukokeessa ja in vivo -kokeessa kastroidun kypsymättömän urosrotan antiandrogenisen aktiivisuuden määrittämiseksi.

Rotan eturauhasen androgeenireseptorin kilpailukokeessa 24 h aikaisemmin kastroidujen aikuisten urosrottien

(paino noin 250 kg) eturauhaset homogenoitiin vesipitoisessa puskurissa, pH 7,4, joka sisälsi triatsikonia (10 mM), natriummolybdaattia 20 (mM), 1,4-ditiotreitolia (2,0 mM) ja glyserolia (10 %). Homogenaatti lingottiin 105 000

5 g:ssa 1 h. Supernatantin näytteitä (cytosol) inkuboitiin metyyli trienolonin kanssa, jonka 17α -metyylissä oli merkkiaineena tritium (5 nM loppukonsentraatio); koe suoritettiin 4°C :ssa 1 h aikana tai yön yli (noin 18 h) sekä ilman merkitsemätöntä metyyli trienolonia että käyttäen mukana

10 kasvavina konsentraatioina (10^{-9} - 10^{-5} M) merkitsemätöntä metyyli trienolonia vertailu- tai koe yhdisteenä. Ennen inkubaatiota sytosoliin lisättiin triamkinoloniasetonidia ($1\ \mu\text{M}$) merkityn metyyli trienolonin alhaisen sitoutumisaffiniteetin estämiseksi progesteroni- ja glukokortikoidi-

15 respektoreihin. 1 h tai 18 h inkuboinnin jälkeen inkubointiseokseen lisättiin dekstraania (T-70, 0,05 %) ja päällystettyä hiiltä (1 %) sisältävä vesisuspensio, ja inkubaatiota jatkettiin 5 min. Inkubaatioseos lingottiin hiileen sitoutuneen (ei-proteiinisitoutunut) merkityn metyyli trienolonin poistamiseksi. Supernatantti erotettiin ja sen radioaktiivisuus mitattiin proteiini-sitoutuneen merkityn metyyli trienolonin konsentraation määrittämiseksi. Suhteelliseksi sitoutumisaffiniteetiksi määriteltiin koe-

20 yhdisteen konsentraatio, jolla proteiini-sitoutuneen, merkityn metyyli trienolonin konsentraatio aleni %:eina suhteessa merkitsemättömän metyyli trienolonin konsentraatioon 50 %. Androgeeneilla, joita ovat luonnossa esiintyvät testosteroni ja 5α -dihydrotestosteroni (stanoloni) ja synteettiset metyyli trienoloni ja stanotsololi (edellä

30 mainitun US-patenttijulkaisun 3 704 295 steroido[3,2-c]-pyratsoli), on korkeat suhteelliset sitoutumisaffiniteetit, ja 1 h/18 h suhteelliset sitoutumisaffiniteettisuhteet ovat lähellä arvoa 1. Yleisesti antiandrogeeneilla, joita ovat esimerkiksi flutamidi ja kyproteroniasetaatti, on

35 alemmat suhteelliset sitoutumisaffiniteetit ja 1 h/18 h suhteelliset sitoutumisaffiniteettisuhteet yli 10.

Kastroitujen kypsymättömien urosrottien antiandrogenisen aktiivisuuden kokeessa vastavierotetut urosrotat kastroidiin ja viikkoa myöhemmin ne jaettiin painon mukaan ryhmiin, joille annettiin oraalisesti koeyhdistettä ja testosteronipropionaattia (0,8 mg/kg) etanoli(10 %)-puuvillasiemenöljysuspensiossa 10 seuraavan vrk aikana. Viimeistä lääkintää seuraavana päivänä rotat punnittiin ja tapettiin. Jokaisen rotan vatsanpuoleinen eturauhanen, siemenrakkula ja peräaukon kohottajalihas poistettiin, pyyhittiin kuivaksi ja punnittiin. Antiandrogeninen vaikutus määritellään AED₅₀-arvona, joka on koeyhdisteen likimääräinen annos, joka tarvitaan estämään 50-%:isesti testosteronipropionaatin stimuloima eturauhasen painon lisääntyminen. Koeyhdisteitä, jotka eivät 50-%:isesti estäneet eturauhasen painon lisääntymistä, mutta joilla kuitenkin saatiin merkittävää (p<0,01) inhibitiota annoksella 100 mg/kg, pidetään myös aktiivisina ja niiden AED₅₀-arvoksi on merkitty >100.

Saatiin seuraavat tulokset.

Yhdiste esimerkistä nro	Suhteellinen sitoutumisaffiniteetti		Antiandrogeninen aktiivisuus
	1 h	18 h	AED ₅₀ (mg/kg oraalisesti)
1	2,1	0,09	14
2	12,1	0,9	16
3	0,4	<0,01	>100
4	16,1	0,9	10
5	1,5	0,03	100
6	2,6	0,12	<<100
7	2,8	0,1	41
8	0,6	0,01	<100
9	3,6	0,08	33
10	17,8	1,4	3

Yhdiste esimerkistä nro	Suhteellinen sitoutumisaffiniteetti		Antiandrogeeninen aktiivisuus
	1 h	18 h	<u>AED₅₀</u> (mg/kg oraalisesti)
5	11	0,83	<0,01
	12	25,8	2,34
	13	18,9	2,1
10	14	0,07	<0,01
	15	9,8	0,7
	16	7,0	0,05
	17	9,3	0,9
	18	1,0	0,05
15	19	5,1	0,33
	20	<0,01	<0,01
20	21	6,4	0,56
	22	9,0	0,45
	23	0,2	<0,01
	24	8,27	0,90
	25	<0,01	<0,01
	26	<0,01	<0,01
25	27	0,059	<0,01
	28	0,37	<0,01
	29	2,5	0,24
	30	0,09	<0,01
30	31	0,22	<0,01

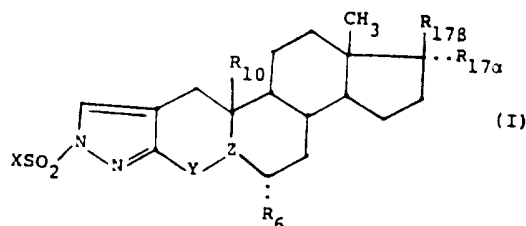
Aktiivinen annoksella 1'
(matala annosvaste)

Käytettäessä keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä kaavan I mukaisen yhdisteen antiandrogeeninen vaikuttava määrä voidaan arvioida edellä olevista koetuloksista-

ta. Edullisimmin käytetään esimerkin 1 tai esimerkin 16 yhdistettä. Kaavan I mukaista yhdistettä voidaan käyttää yksinään, mutta edullisemmin se sisällytetään farmaseuttiseen koostumukseen. Farmaseuttinen koostumus voidaan valmistaa sopivaksi oraaliseen, parenteraaliseen, rektaaliseen tai vaginaaliseen lääkeantoon ja se voi olla kiinteänä tai nestemäisenä annosmuotona, kuten kapselina, tablettina, suppositorina, liuoksena, suspensiona tai emulsiona. Näiden annosmuotojen valmistuksessa käytetään tavanomaisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä väliaineita ja valmistusmenetelmiä.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä antiandrogenisesti aktiivisten steroido[3,2-c]pyratsolien valmistamiseksi, joilla on rakennekaava



jossa

X on CH_3 , CH_3CH_2 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ tai ClCH_2 ;

Y-Z on $\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}$, $\text{CH}=\text{C}$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{C}$ $\text{C}=\text{C}$
 CH_3 CH_2CH_3 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ CN

$\text{C}=\text{C}$, $\text{CH}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}$ tai $\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}$;
 Cl CH_3

R_6 on H tai CH_3 , kun Y-Z on $\text{CH}=\text{C}$, tai H, kun Y-Z ei ole $\text{CH}=\text{C}$;

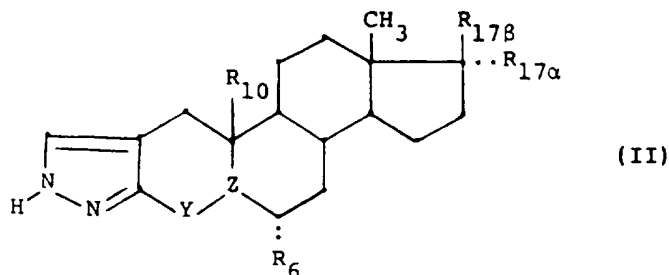
R_{10} on H tai CH_3 ;

$\text{R}_{17\alpha}$ on yksinään H, CH_3 , CH_2CH_3 , $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{C}\equiv\text{CH}$ tai $\text{C}\equiv\text{CBr}$;

$\text{R}_{17\beta}$ on yksinään OH, OCOCHCl_2 , OCOCF_3 , OCH_3 , OCH_2SCH_3 , $\text{OCH}_2\text{SOCH}_3$, $\text{OCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$ tai $\text{OCH}(\text{CH}_2)_4\text{O}$; ja

$\text{R}_{17\alpha}$ on yhdessä $\text{R}_{17\beta}$:n kanssa $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$,
 tunnettu siitä, että

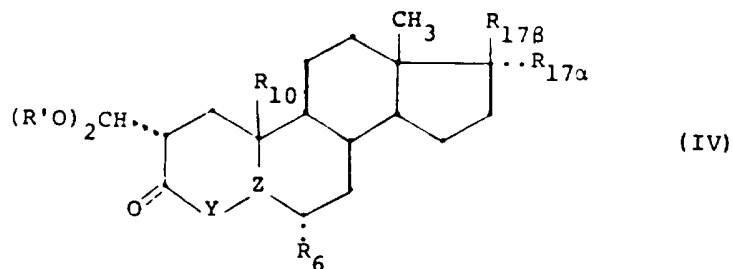
a) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on



sulfonyloidaan vastaavalla yhdisteellä, jonka rakennekaava on XSO_2Q , jossa Q on Cl, Br tai OSO_2X ,

b) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on

5



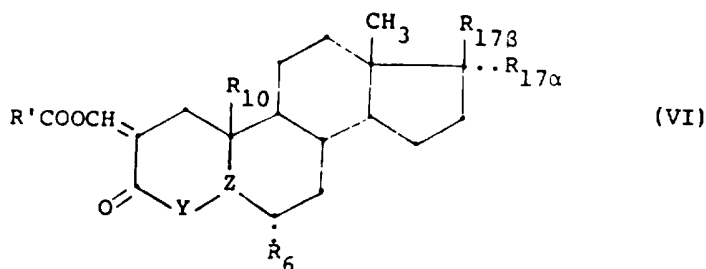
10

jossa R' on CH_3 tai CH_3CH_2 , kondensoidaan vastaavan yhdisteen kanssa, jonka rakennekaava on XSO_2NHNH_2 , tai

15

c) vastaava yhdiste, jonka rakennekaava on

20



25

jossa R' on CH_3 , CH_3CH_2 tai C_6H_5 kondensoidaan vastaavan yhdisteen kanssa, jonka rakennekaava on XSO_2NHNH_2 ; ja

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_{17a} on $CH=CH_2$ tai $C\equiv CH$, hydrataan katalyyttisesti vastaavaksi yhdisteeksi, jossa R_{17a} on CH_2CH_3 ,

30

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_{17a} on $C\equiv CH$, bromataan vastaavaksi yhdisteeksi, jossa R_{17a} on $C\equiv CBr$,

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa Y-Z on $CH=C$ tai $C=C$, epoksidoidaan perhapolla vastaavaksi

35



yhdisteeksi, jossa Y-Z on $\text{CH} - \text{C}$ tai vastaavasti $\begin{array}{c} \text{C} - \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ ja $R_{17\beta}$ yhdessä ovat $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, muutetaan kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jossa $R_{17\alpha} + R_{17\beta}$ on ketoryhmä ja viimeksi mainittu yhdiste pelkistetään metallihydridillä yhdisteeksi, jossa $R_{17\alpha}$ on H ja $R_{17\beta}$ on OH,

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\alpha}$ on H ja $R_{17\beta}$ on OH, diklooriasetyloidaan vastaavaksi yhdisteeksi, jossa $R_{17\alpha}$ on H tai $R_{17\beta}$ on OCOCHCl_2 , ja

haluttaessa saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa $R_{17\beta}$ on OCH_2SCH_3 , hapetetaan perhapolla vastaavaksi yhdisteeksi, jossa $R_{17\beta}$ on $\text{OCH}_2\text{SOCH}_3$ tai $\text{OCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että X on CH_3 , Y-Z on $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{C} \\ | \\ \text{H} \end{array}$ tai

$\begin{array}{c} \text{C} = \text{C} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$ R_6 on H, R_{10} on CH_3 , $R_{17\alpha}$ on CH_3 tai $\text{C} = \text{CH}$ ja $R_{17\beta}$ on OH.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan (5 α ,17 α)-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyratsol-17-oli.

4. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että menetelmävaihtoehdossa b) R' on CH_3CH_2 .

5. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että menetelmävaihtoehdossa c) Y-Z on $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{C} \\ | \\ \text{H} \end{array}$, $R_{17\alpha}$ on $\text{C} \equiv \text{CH}$ ja R' on C_6C_5 .

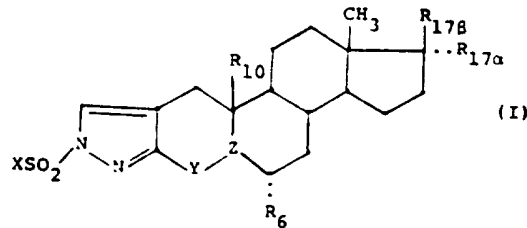
6. Kemiallinen välituote 4-metyyli-1'-(metyylisulfonyyli)-1'H-androsteno[3,2-c]pyratsol-17-oni.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av antiandrogeniskt aktiva steroido[3,2-c]pyrazoler med strukturformeln

5

10



i vilken

15

X är CH_3 , CH_3CH_2 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ eller ClCH_2 ;

Y-Z är $\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\text{C}}$, $\text{CH}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_2\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}$, $\underset{\text{CN}}{\text{C}}=\text{C}$,

$\underset{\text{Cl}}{\text{C}}=\text{C}$, $\text{CH}-\underset{\text{O}}{\text{C}}$ eller $\text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{C}$;

20

R_6 är H eller CH_3 , när Y-Z är $\text{CH}=\text{C}$, eller H, när Y-Z inte är $\text{CH}=\text{C}$;

R_{10} är H eller CH_3 ;

R_{17a} ensamt är H, CH_3 , CH_2CH_3 , $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{C}\equiv\text{CH}$ eller $\text{C}\equiv\text{CBr}$;

25

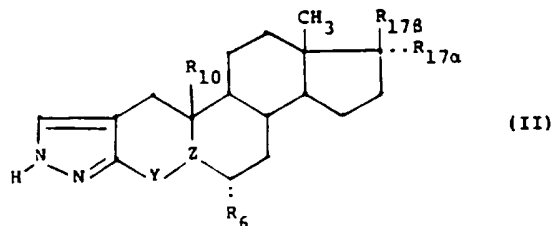
R_{17B} ensamt är OH, OCOCHCl_2 , OCOCF_3 , OCH_3 , OCH_2SCH_3 , $\text{OCH}_2\text{SOCH}_3$, $\text{OCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$ eller $\text{OCH}(\text{CH}_2)_4\text{O}$; och

R_{17a} tillsammans med R_{17B} är $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$,

k ä n n e t e c k n a t därav, att

a) en motsvarande förening med strukturformeln

30

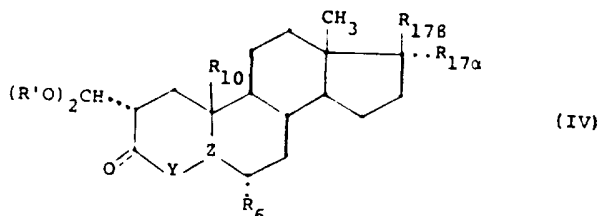


35

sulfonyleras med en motsvarande förening med strukturformeln XSO_2Q , i vilken Q är Cl , Br eller OSO_2X ,

b) en motsvarande förening med strukturformeln

5



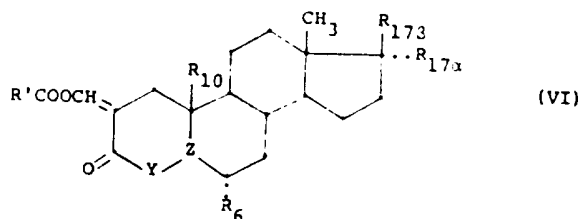
10

i vilken R' är CH_3 eller CH_3CH_2 , kondenseras med en motsvarande förening med strukturformeln XSO_2NHNH_2 , eller

15

c) en motsvarande förening med strukturformeln

20



25

i vilken R' är CH_3 , CH_3CH_2 eller C_6H_5 kondenseras med en motsvarande förening med strukturformeln XSO_2NHNH_2 : och

om så önskas hydreras den erhållna föreningen med formeln I, i vilken R_{17a} är $CH=CH_2$ eller $C\equiv CH$, katalytiskt till en motsvarande förening, i vilken R_{17a} är CH_2CH_3 ,

30

om så önskas bromeras den erhållna föreningen med formeln I, i vilken R_{17a} är $C\equiv CH$, till en motsvarande förening, i vilken R_{17a} är $C\equiv CBr$,

om så önskas epoxideras den erhållna föreningen med formeln I, i vilken $Y-Z$ är $CH=C$ eller $C=C$, med en persyra

35



till en motsvarande förening, i vilken Y-Z är $\text{CH} - \text{C}$

respektive $\begin{array}{c} \text{C} - \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}_3 \quad \text{O} \end{array}$

5 om så önskas omvandlas den erhållna föreningen med formeln I, i vilken $R_{17\alpha}$ och $R_{17\beta}$ tillsammans är $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, till en förening med formeln I, i vilken $R_{17\alpha} + R_{17\beta}$ är en ketogrupp och den sistnämnda föreningen reduceras med en metalhydrid till en förening, i vilken $R_{17\alpha}$ är H och $R_{17\beta}$ är OH,

10 om så önskas dikloracetyleras den erhållna föreningen med formeln I, i vilken $R_{17\alpha}$ är H och $R_{17\beta}$ är OH, till en motsvarande förening, i vilken $R_{17\alpha}$ är H och $R_{17\beta}$ är OCOCHCl_2 , och

15 om så önskas oxideras den erhållna föreningen med formeln I, i vilken $R_{17\beta}$ är OCH_2SCH_3 , med en persyra till en motsvarande förening, i vilken $R_{17\beta}$ är $\text{OCH}_2\text{SOCH}_3$ eller $\text{OCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$.

20 2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att X är CH_3 , Y-Z är $\text{CH}_2 - \underset{\text{H}}{\text{C}}$ eller $\text{C} = \underset{\text{CH}_3}{\text{C}}$, R_6 är H, R_{10} är CH_3 , $R_{17\alpha}$ är CH_3 eller $\text{C} = \text{CH}$ och $R_{17\beta}$ är OH.

25 3. Förfarande enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att (5 α ,17 α)-1'-(metylsulfonyl)-1'H-pregn-20-yno[3,2-c]pyrazol-17-ol framställs.

30 4. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att R' är CH_3CH_2 i förfarandevalternativet b).

5. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att Y-Z är $\text{CH}_2 - \underset{\text{H}}{\text{C}}$, $R_{17\alpha}$ är $\text{C} \equiv \text{CH}$ och R' är C_6C_5 i förfarandevalternativet c).

35 6. Kemisk mellanprodukt 4-metyl-1'-(metylsulfonyl)-1'H-androsteno[3,2-c]pyrazol-17-on.