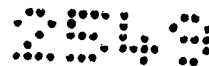


68263

25490



1456/94

58.874/PA

K I V O N A T

20-Metil-szubsztituált D vitamin származékok, *származék*  
*származék*  
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, BERLIN,

NÉMET SZÖVETSÉGI KÖZTÁRSASÁG

A bejelentés napja: 1992. 12. 14.

Elsőbbsége: 1991. 12. 13. (P 41 41 746.1),

NÉMET SZÖVETSÉGI KÖZTÁRSASÁG

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP92/02887

A nemzetközi közzététel száma: WO 93/12081

A találmány *leírja* ismerteti az (I) általános képletű új 20-  
-metil-szubsztituált D-vitamin származékokat, ahol

R<sup>1</sup> jelentése hidrogén, hidroxil-csoport, vagy 1-2 szén-  
atomos alkanoiloxi-csoport illetve benzoiloxi-csoport,

R<sup>2</sup> hidrogén, 1-12 szénatomos alkanoil-csoport, illetve  
benzoil-csoport,

R<sup>3</sup> telített vagy telítetlen, egyenes vagy elágazó láncú,  
legfeljebb 18 szénatomos szénhidrogén-csoport, mely  
egy vagy több karbociklusos gyűrűvel (C<sub>3-10</sub>-cikloal-  
kil- vagy cikloalkenil-csoport, az utóbbiban legfel-  
jebb 2 kettőskötés) lehet szubsztituálva vagy megsza-  
kítva, és adott esetben szubsztituálva lehet még egy  
vagy több hidroxil-, oxo-, amino-csoporttal és/vagy  
halogénatommal, és adott esetben meg lehet szakítva egy

vagy több oxigén-, kén- és/vagy nitrogén (>NH-ként) atommal.

A találmány tárgyát képezi még az eljárás a fenti vegyületek előállítására, *amelynek során a vegyületek előállítását a fenti találmány alapján végezték.*

Az új vegyületek a kalcitriolhoz képest fokozott mértékben indukálják a sejtdifferenciálódást (HL-60) és alkalmasak gyógyszerkészítmények előállítására.

1456/84

25.90<sup>A</sup>

58.874/PA

S.B.G. & K.  
Budapesti Nemzetközi  
Pályázati Iroda  
H-1081 Budapest, Gábor Áron út 19.  
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

68263

NS 206 = 1070401/00  
A 611231/59

20-Metil-szubsztituált D vitamin származékok, eljuttatás, előállítás, készítés  
származékok, eljuttatás, előállítás, készítés

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, BERLIN,

NÉMET SZÖVETSÉGI KÖZTÁRSASÁG

Feltalálók: NEEF, Günter,

STEINMEYER, Andreas,

KIRSCH, Gerald,

SCHWARZ, Katica,

THIEROFF-Ekerdt, Ruth,

WIESINGER, Herbert,

HABEREY, Martin,

BERLIN, NÉMET SZÖVETSÉGI KÖZTÁRSASÁG

A bejelentés napja: 1992. 12. 14.

Elsőbbsége: 1991. 12. 13. (P 41 41 746.1),

NÉMET SZÖVETSÉGI KÖZTÁRSASÁG

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP92/02887

A nemzetközi közzététel száma: WO 93/12081

A találmány az (I) általános képletű 20-metil-szubsztituált D vitamin származékokra vonatkozik, ahol

R<sup>1</sup> jelentése hidrogén, hidroxil-csoport vagy 1-12 szénatomos alkanoiloxi-csoport, illetve benzoiloxi-csoport,

R<sup>2</sup> jelentése hidrogén vagy 1-12 szénatomos alkanoil-csoport, illetve benzoil-csoport és

R<sup>3</sup> telített vagy telítetlen, egyenes vagy elágazó láncú, legfeljebb 18 szénatomos szénhidrogén-csoport, mely adott esetben egy vagy több karbociklusos szerkezettel (C<sub>3</sub>-10-cikloalkil- vagy cikloalkenil-csoport, az utóbbiban legfeljebb 2 kettőskötéssel) van megszakítva vagy szubsztituálva, és adott esetben egy vagy több hidroxil-, oxo-, amino- és/vagy egy vagy több halogén szubsztituense lehet, és adott esetben a szénlánc egy vagy több oxigén-, kén- vagy nitrogén-atommal (>NH-ként) lehet megszakítva.

A találmány tárgyát képezi még egy eljárás a fenti vegyületek előállítására, a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények, és a vegyületek alkalmazása a gyógyszerkészítmények előállítására.

Az R<sup>1</sup> és R<sup>2</sup> szubsztituensek jelentésében 1-12 szénatomos alkanoiloxi- illetve alkanoil-csoportokat különösen telített karbonsavakból lehet levezetni. Ezek a csoportok lehetnek gyűrűsek, aciklikusak, és tartalmazhatnak a gyűrűben heteroatomot, és mindegyikük lehet adott esetben telítetlen is. Az előnyös csoportokat C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>, különösen C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> alkánkarbonsavakból, például acetil(oxi)-, propionil(oxi)- vagy

butiril(oxi)-csoportokból vezethetjük le.

R<sup>3</sup> csoportként minden olyan oldallánc számításba jöhet, melyeknek D vitamin-hatást tulajdonítanak, például azok, amelyeket a következő szabadalmi bejelentésekben írtak le:

US-Patent 4 927 815 (22.05.1990, De Luca et al.)

US-Patent 4 906 785 (06.03.1990, Baggiolini et al.)

US-Patent 4 897 387 (30.01.1990, Ikekawa et al.)

US-Patent 4 866 048 (12.09.1989, Calverley et al.)

US-Patent 4 857 518 (15.08.1989, De Luca et al.)

US-Patent 4 851 401 (25.07.1989, De Luca et al.)

EP-A-0 421 561 (Kirsch et al.)

EP-A-0 441 467 (Neef et al.)

EP-A-0 450 743 (Neef et al.).

Előnyös R<sup>3</sup> csoportok az (a), (b), (c), (d), (e), (f) szerkezetű csoportok, ahol R = C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkil-, -hidroxialkil-, -O-alkil(alkoxi-) csoportot jelent.

Elsősorban a következő csoportokat kell megnevezni:

1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20,26,27-trimetil-23-oxa-D<sub>3</sub>-vitamin;

1(S),3(R)-dihidroxi-20-(5-hidroxi-5-metil-hexa-1E,3E-dien-1-il)-20-metil-9,10-secopregna-5Z,7E,10(19)-trien;

1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin;

1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-24-homo-D<sub>3</sub>-vitamin;

1 $\alpha$ ,24(S)-dihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin;

1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-23-oxa-D<sub>3</sub>-vitamin;

1 $\alpha$ ,24(R),25-trihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin;

1 $\alpha$ ,24(S),25-trihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin;

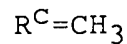
(5Z,7E)-(1S,3R)-20-metil-20-vinil-9,10-szeko-pregna-5,7,10(19)-trien-1,3-diol;

(5Z,7E)-(1S,3R)-20-etil-metil-9,10-szeko-pregna-  
-5,7,10(19)-trien-1,3-diol;  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-23,24-dehidro-D<sub>3</sub>-vitamin;  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20,26,27-trimetil-23,24-dehidro-D<sub>3</sub>-  
-vitamin.

A [(VI) általános képletnek megfelelő] természetes D<sub>2</sub> és D<sub>3</sub> vitamin ebben az állapotban biológiailag inaktív, és csak a májban lejátszódó 25-helyzetű illetve a vesében lejátszódó 1-helyzetű hidrolízis után alakul át biológiailag aktív metabolittá. A D<sub>2</sub> és D<sub>3</sub> vitamin hatása a plazma-C<sup>++</sup>- és a plazma-foszfát-tűkőr stabilizálásában rejlik; mindkettő a plazma-Ca<sup>++</sup>-tűkőr csökkenése (süllyedése) ellen hat.

A (VI) általános képletben a helyettesítők jelentése:

Ergokalciferol: R<sup>a</sup>=R<sup>b</sup>=H,



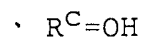
C<sub>22/23</sub> kettőskötés

D<sub>2</sub> vitamin

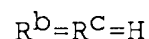
Cholekalciferol: R<sup>a</sup>=R<sup>b</sup>=R<sup>c</sup>=H

F<sub>3</sub> vitamin

25-Hidroxikolekalciferol: R<sup>a</sup>=R<sup>c</sup>=H,



1 $\alpha$ -Hidroxikolekalciferol: R<sup>a</sup>=OH,



1 $\alpha$ ,25-Dihidroxikolekalciferol: R<sup>a</sup>=R<sup>b</sup>=OH,



Calcitriol

A D<sub>2</sub> és D<sub>3</sub> vitaminnak és szintetikus származékaiknak a kalcium- és foszfát-anyagcserére gyakorolt erős hatásuk mellett még proliferációt élénkítő és sejtdifferenciáló hatásuk is van (H.F. De Luca, "The Metabolism and Function of Vitamin D" in Biochemistry of Steroid Hormones, Hrsg. H.L.J. Makin, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications 1984, S. 71-116).

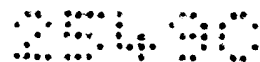
A D-vitamin-kezelés túladagolási jelenségekhez vezethet (hiperkalcémia).

A 24-helyzetben hidrolizált 1 $\alpha$ -kolekalciferolok, melyek már a DE-AS-25 26 981-ből származnak, kisebb toxicitással rendelkeznek, mint a megfelelő nem-hidrolizált 1 $\alpha$ -kolekalciferol. A hidrolizált vegyületek szelektíven aktiválják az intesztinális kalciumabszorpciót és csontabszorpciós hatásuk gyengébb, mint az 1 $\alpha$ -kolekalciferolé.

A WO 87/00834 sz. nemzetközi bejelentésben leírt 24-hidroxi-D-vitamin analógok alkalmasak az abnormális sejtproliferáció és/vagy sejtdifferenciálódás által kiváltott zavarok kezelésére emberben és állatokban egyaránt.

Már De Luca tapasztalta, hogy a különböző 1,25-dihidroxi-homo-D-vitamin származékok szétválnak csontabszorpciós és HL-60 sejtdifferenciálódásra gyakorolt hatásuk szerint. Az in vitro csontabszorpciós hatáshoz kifejezett in vivo kalcium-mobilizáló hatás tartozik.

Az (I) általános képletű új D-vitamin-származékok a 20-as szénatomra bevitt metil-csoporttal térnek el az ismert, oldalláncban módosított D-vitamin-aktivitással ren-



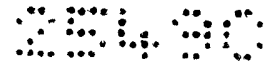
delkező vegyületektől. Így a 20-as szénatom elveszti aszimmetriacentrum mivoltát.

A közbelső- és végtermékek szintézisében és tisztításában ezáltal elért egyszerűsítések mellett olyan új vegyületek keletkeznek, melyek biológiailag meglepően hatásosak. A standard kalcitriolhoz (1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin) képest a találmány szerinti vegyületek, amellet, hogy a kalcitriol-receptorokhoz való affinitásuk összemérhető, több nagyságrenddel erősebben indukálják a (HL-60) sejtdifferenciálódást, és ezért különösen alkalmasak hiperproliferációval és sejtdifferenciálódás károsodásával járó megbetegedések kezelésére. Ilyen, hiperproliferációval járó bőrbetegségek például a pszoriasis, a rosszindulatú tumorok (leukémia, kolonkarcinóma, emlőrák) és az akne (J. Invest. Dermatol. Vol. 92. No. 3, 1989). A találmány egy nagyon előnyös kiviteli módjának bizonyult a célszerv kalcitriol-receptorainak a kezelése.

Emellett az új vegyületeket az ismert D-vitamin-származékokhoz hasonlóan alkalmazni lehet a kalcium anyagcsere zavarainak kezelésére, a bőrképzés (bőrváltás) lassítására és immunmodulációra.

A találmány szerinti vegyületek D-vitamin aktivitását a kalcitriol receptor-teszt segítségével határozzuk meg. A vizsgálatot egy specifikus receptorprotein segítségével végezzük, mely fiatal sertések beleiből származik. A receptort tartalmazó kötőfehérjét <sup>3</sup>H-kalcitriollal (5x10<sup>-10</sup> mol/l) 0,270 ml térfogatban a vizsgálandó anyaggal illetve anélkül





inkubáljuk kémcsövekben 4°C hőmérsékleten, 2 órán keresztül. A szabad és a receptorhoz kötött kalcitriol elválasztására aktív szenes-dextrános abszorpciót végzünk. Ehhez minden kémcsőbe 250 µl aktív szén-dextrán szuszpenziót adagolunk és 4°C-on 20 percig inkubáljuk. Végül a mintákat 10 000 x g-n 5 percig 4°C-on centrifugáljuk. A felülúszót dekantáljuk, és Picofluor 15 TM készülékben 1 órán keresztül tárolva hagyjuk beállni az egyensúlyt, majd β-számlálóban mérjük.

A vizsgálandó anyag és a referencia-anyag (jelzetlen kalcitriol) különböző koncentrációinak a vonatkoztatási anyag (<sup>3</sup>H-kalcitriol) állandó koncentrációja mellett kapott kompetíciós görbéknek egymáshoz rendelésével egy kompetíciós faktort (KF) kapunk.

Ez úgy definiálható mint a mindenkori vizsgálandó anyag és a referencia-anyag 50 %-os kompetíciójához szükséges koncentrációk hányadosa.

$$KF = \frac{\text{a vizsgálandó anyag 50 \% -os kompetíciójához szükséges koncentráció}}{\text{a referencia anyag 50 \% -os kompetíciójához szükséges koncentráció}}$$

Így az

1(S), (3R)-dihidroxi-20-(5-hidroxi-5-metil-hexa-1E,3E-dién-1-il)-20-metil-9,10-szekopregna-5Z,7E,10(19)-trién, az 1α,25-dihidroxi-20,26,27-trimetil-23-oxa-D<sub>3</sub>-vitamin és

az  $1\alpha,25$ -dihidroxi-20-metil-23,24-dehidro- $D_3$ -vitamin  
KF értéke 3,4; 1,6 illetve 0,8.

A következőkben leírt vizsgálat mutatja, hogy a találmány szerinti új vegyületek milyen mértékben javítják a sejt-differenciálódás indukcióját.

Az irodalomból ismert [Mangelsdorf, D.J. és társai, J. Cell. Biol. 98: 391-398 (1984)], hogy ha humán leukémiasejteket (HL 60 promielocita sejt vonal) in vitro kalcitriollal kezelnek, ez indukálja a sejtek differenciálódását makrofágokká.

A HL 60-sejteket szövet-tápközegben (RPMI-10 % főtális borju szérum)  $37^\circ\text{C}$ -on 5 %  $\text{CO}_2$  tartalmú levegőben tenyésztjük.

Az anyagvizsgálathoz a sejteket centrifugáljuk, és  $2,8 \times 10$  sejt/ml mennyiségben fenolvörös nélküli szövetkultúra közegben felvesszük. A tesztanyagot etanolban oldjuk, és fenolvörös nélküli szövet-tápközeggel a kívánt koncentrációra hígítjuk. Az egyes hígításokat 1:10 arányban keverjük a sejtsuszpenzióval, és ezekből a mérendő anyagot tartalmazó sejtsuszpenziókból 100-100 mikrolitert pipettázunk egy 96 nyílásos vizsgálati lemez mélyedéseibe. Kontrollnak egy olyan analóg sejtsuszpenziót használunk, melyhez csak oldószert adtunk.

A mintákat 96 órán keresztül  $37^\circ\text{C}$ -on 5 %  $\text{CO}_2$  tartalmú levegőben inkubáljuk. Ezután a lemez minden mélyedésébe 100 mikroliter NBT-TPA oldatot adunk. A nitroblautetrazolium (NBT), végkoncentrációja 1 mg/ml, a tetradekanoilphorbol-miristat-13-acetáté (TPA)  $2 \times 10^{-7}$  mól/l mintánként.

A mintákat 2 órán keresztül inkubáljuk 37°C-on 5 % CO<sub>2</sub> tartalmú levegőben. Ezalatt a TPA által élénkített (O<sub>2</sub><sup>2-</sup>) gyökképződés következtében a makrofággá differenciált sejtekben az NBT oldhatatlan formazánná redukálódik.

A reakció befejezésére a minták folyadék részét a lemez mélyedéseiből kiszivatjuk, a letapadt sejteket metanol hozzáadásával fixáljuk, majd a fixált részt megszárítjuk.

Az intracelluláris formazánkristályok feloldására a lemez minden mélyedésébe 100 mikroliter káliumhidroxidot (2 mól/l) és 100 mikroliter dimetil-szulfoxidot adunk, és egy percig ultracentrifugáljuk. A formazán koncentrációját spektrofotometerrel határozzuk meg 650 nm-en.

A képződött formazán koncentrációja lesz a mértéke annak, hogy a HL 60-sejtek makrofágokká differenciálódásának indukciója milyen mértékű volt. A tesztanyag relatív hatékonysága a tesztanyag és a kalcitriol ED<sub>50</sub> értékének hányadosából adódik.

$$\text{hányados} = \frac{\text{ED}_{50} \text{ (tesztanyag)}}{\text{ED}_{50} \text{ (kalcitriol)}}$$

A találmány szerinti anyagok több nagyságrenddel hatásosabbak, mint a kalcitriol.

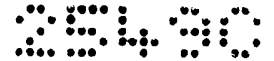
A találmány szerinti anyagok immunmodulációs hatása a stimulált humán limfociták proliferációjának és az interleukin 2 (IL 2) termelődésének gátlásából adódik.

A találmány szerinti anyagok hatékony gátlószernek bizonyultak a humán limfociták proliferációjára és interleukin 2 (IL 2) szintetizálására.

A limfocita proliferáció vizsgálatához egymagvú sejteket különítünk el citrátvérből sűrűség-grádiens-centrifugálással, és 200 mikroliterenként  $5 \times 10^4$  sejtet mikrotiterlemezen 200 mikroliter szövet-tápközegben (RPMI 1640 10 % főtális borjuszérum hozzáadásával) tenyésztünk. A kiértékelésnél fitohemagglutinint (PHA;  $5 \mu\text{g}$ ) és különböző koncentrációkban vizsgálandó anyagot vagy kalcitriolt (1,25-dihidroxikolekalciferol) adunk hozzá standardként, és a sejteket 96 órán keresztül  $37^\circ\text{C}$ -on 5 % széndioxid-tartalmú levegőben inkubáljuk. Az utolsó 6 órában mélyedésenként  $0,2 \mu\text{g}$  [ $^3\text{H}$ ]-timidint adunk a sejtekhez.

Ezután a sejteket üvegszűrőn leszivatjuk, és a szűrő radioaktivitását mérjük  $\beta$ -számlálóval. A radioaktivitás erőssége adja meg a [ $^3\text{H}$ ]-timidin beépülésének mértékét és ezáltal a sejtproliferációt.

Az IL 2-szekréció meghatározásához emberi vérből különítünk el egymagvú sejteket a proliferáció meghatározásához hasonló módon, és  $2 \times 10^6$  sejtet 1 ml szövet-tápközegben (RPMI 1640 2 % főtális borjuszérum hozzáadása mellett) 24-nyílású lemezen tenyésztünk. A kiértékeléshez PHA-t ( $20 \mu\text{g}$ ) és különböző koncentrációkban vizsgálandó anyagot vagy kalcitriolt adunk a mintákhoz standardként. A mintákat 24 órán át tenyésztjük  $37^\circ\text{C}$ -on 5 %  $\text{CO}_2$ -tartalmú levegőben szövet-tápközegben, majd centrifugáljuk, a szövet-tápközeg felül-



úszóját elkülönítjük és benne az IL 2-koncentrációt "ELISA"-val meghatározzuk.

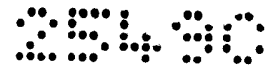
A limfocita-proliferációt az  $1\alpha,25$ -dihidroxi-20-metil-23,24-dehidro- $D_3$ -vitamin  $1 \times 10^{-11}$  koncentrációban gátolja meg 50 %-ban.

Az IL 2-szekrécit az  $1\alpha,25$ -dihidroxi-20-metil-23,24-dehidro- $D_3$ -vitamin ugyanilyen koncentráció-tartományban gátolja.

A limfocita-proliferációt és az IL 2-szintézist gátló tulajdonsága következtében kis koncentrációban az (I) általános képletű, találmány szerinti vegyületek felhasználhatóak az immunrendszer betegségeinek kezelésére, mint az atopikus tünetkör (atopikus dermatitisz, asztma), autoimmun megbetegedések beleértve a Diabétes mellitust; transzplantátum kilökődési reakciók és az AIDS.

A kalcitriolról az derült ki, hogy egy receptorközvetített mechanizmus alapján nemcsak az IL-2-szekrécit gátolja, hanem más gyulladáskeltő citokinok képződését is. Így az (I) általános képletű vegyületek éppen olyan jól kötődnek a receptoron, mint a kalcitriol, alkalmasak olyan gyulladással járó betegségek kezelésére, mint az Arthritis, Colitis ulcerosa és a Crohn-féle betegség.

Autoimmun betegségek, transzplantációs kilökődések és az AIDS kezelésére előnyösen lehet alkalmazni a találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeket egyéb immun-suppresszív hatású anyagokkal - mint a ciklosporin A, és az FK 506 - kombinálva.



A találmány tárgyát képezik az (I) általános képletű vegyületek közül legalább egyet és valamilyen gyógyászatilag elfogadható hordozót tartalmazó gyógyszerkészítmények is. A vegyületek kikészíthetők oldatok formájában gyógyászatilag elfogadható oldószerekkel, képezhető belőlük emulzió, szuszpenzió vagy diszperzió alkalmas gyógyszerészeti oldószerekkel vagy vivőanyagokkal. Lehet belőlük pilulát, tablettát képezni, vagy kapszulákba lehet tölteni, mely utóbbiak ismert módon szilárd vivőanyagot tartalmaznak. Topikális használatra a vegyületekből előnyösen krémeket, kenőcsöket vagy más hasonló topikális alkalmazásra szánt gyógyszerkészítményt lehet képezni. Minden ilyen készítmény tartalmazhat még más gyógyászatilag elfogadható, nem toxikus segédanyagokat, mint stabilizátorokat, antioxidánsokat, kötőanyagokat, színezőanyagokat, emulgenseket vagy ízjavítókat. A vegyületek előnyösen alkalmazhatók injekciókhoz vagy intravénás infúziókhoz alkalmas steril oldatok formájában, a tápcsatornába juttathatók orális adagolással, vagy topikális készítmények, krémek, kenőcsök, testápoló oldatok vagy transzdermális tapaszok készíthetők belőlük, mint az az EP-A-0 387 077 sz. szabadalmi bejelentésben le van írva.

A napi adag  $0,1 \mu\text{g}/\text{beteg}/\text{nap}$  -  $1000 \mu\text{g}$  (1 mg)/beteg/nap lehet, előnyösen  $1,0 \mu\text{g}/\text{beteg}/\text{nap}$  -  $500 \mu\text{g}/\text{beteg}/\text{nap}$ .

A találmány szerint az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy egy (II) általános képletű vegyületet - ahol

$R^1$  hidrogén vagy védett hidroxil-csoport,



$R^2$ ' alkália-stabil hidroxil-védőcsoport,

$R^3$ ' jelentése azonos az (I) általános képletű kívánt végtermék csoportjának jelentésével, és ahol a hidroxil-csoportok védettek lehetnek –

a hidroxil-védőcsoportok lehasításával és a hidroxil-csoportok részleges vagy teljes észteresítésével (I) általános képletű vegyületté alakítunk.

Az alkália-stabil hidroxil-védőcsoportok – melyekkel az 1-helyzetű hidroxil-csoport és/vagy az oldalláncon lévő  $R^3$ ' hidroxil-csoport is védve van – előnyösen terc-butil-dimetil-szilil-, terc-butil-difenil-szilil- vagy más terciér szilil-csoportok lehetnek. A terciér szilil-csoportok lehasítása előnyösen tetra-n-butil-ammóniumfluorid alkalmazásával történhet.

A védőcsoportok lehasítása után a szabad hidroxil-csoportokat kívánság szerint észteresíthetjük. A különböző szabad hidroxil-csoportokat alkalmas eljárással részlegesen vagy teljesen észteresíthetjük a megfelelő karbonsav-halogenidekkel (halogenid = klorid vagy bromid) vagy karbonsav-anhidridekkel.

A találmány szerinti (II) általános képletű kiindulási anyagot az ismert, (III)' általános képletű aldehidekből állítjuk elő, ahol  $R^1$ ' és  $R^2$ ' jelentése a (II) általános képletnél megadottal azonos (M.J. Galverley, Tetrahedron 43, 4609, 1987; G. Neef et al., Tetrahedron Lett. 1991, 5073).

Ennek alfa-alkilezésekor a szokásos módon a (IV) általános képletű dimetilezett aldehidek keletkeznek. Ezt kö-



vetően szintén ismert módon triplett-szenzibilizált fotoizomerizáció következik be a centrális közbenső kötésen, és így alakul ki az (V) általános képletű vegyület.

A metilezést például jódmétán vagy dimetil-szulfát segítségével végezzük, bázis jelenlétében, (pl. alkáli-hidroxid, -hidrid, -amid) aprotikus oldószerben, mint a tetrahidrofuran, dietiléter, hexán, etilén-glikol-dimetiléter vagy toluol, adott esetben tetraalkil-ammóniumsó, mint fázis-transzfer katalizátor hozzáadása mellett.

Ultraibolya besugárzásra egy úgynevezett "triplett-szenzibilizátor" jelenlétében (a találmány szerint antracént alkalmazunk) a (IV) általános képletű vegyületek (V) általános képletű vegyületekké alakulnak át. Az 5,6-kettőskötés pi-kötését felhasználva bekövetkezik az A-gyűrű 180°-os rotációja az 5,6-egyeskötés körül, majd az 5,6-kettőskötés újbóli kialakulásával a sztereoizoméria fordított lesz erre a kötésre nézve.

Ezt követően még ki kell alakítani az  $R^{3'}$  csoportot úgy, hogy az (V) általános képletű aldehidet egy  $R^{3'}$  csoport kialakítására alkalmas vegyülettel reagáltatjuk. Ezt ismert eljárások analógiájára végezzük. Ennek az eljárásnak a kivitelezése le van írva: M.J. Calverley, Tetrahedron 43, 4609, 1987; G. Neef. and A. Steinmeyer, Tetrahedron Lett. 1991, 5073; WO 91/00855 sz. nemzetközi bejelentés, DE-A-39 33 034 és DE-A 40 11 682. Példaként megemlítjük az (V) általános képletű aldehid reakcióját Wittig-reagenssel, vagy az aldehid alkohollá redukálását, majd ez utóbbi lánchosszabbítá-





sát egy megfelelő omega-halogénvegyülettel.

A következő példák a találmány jobb megvilágítására szolgálnak.

1.példa

1 $\alpha$ ,25-Dihidroxil-20,26,27-trimetil-23-oxa-D<sub>3</sub>-vitamin

a) 213 mg nátriumhidrid (80 %; olajban) 42 ml tetrahidrofuránban képezett szuszpenziójához jeges-vizes hűtés mellett cseppenként hozzáadjuk 4,5 g 1(S)-(terc-butil-dimetil-szililoxi)-3(R)-(terc-butil-difenil-szililoxi)-20(S)-formil-9,10-szekopregna-5E,7E,10(19)-trien 40 ml abszolút THF-ban képezett oldatát. 1,18 ml jódotán hozzáadása után 2 órán keresztül keverjük szobahőmérsékleten, vízre öntjük és etil-acetáttal extraháljuk.

A beszűkítés után kapott nyersterméket 400 ml toluolban felvesszük, és 432 g antracén és 0,2 ml trietilamin hozzáadása után 20 percig szobahőmérsékleten pirex-üveg elgőzölögtető berendezésben nagynyomású higanygőz lámpával (Philips HPK 125) besugározzuk. A reakcióelegy beszűkítése után a maradékot szilikagélen hexán/etilacetát eleggyel kromatografáljuk, és így 2,38 g 1(S)-(terc-butil-dimetil-szililoxi)-3(R)-(terc-butil-difenil-szililoxi)-20-formil-20-metil-9,10-szekopregna-5Z,7E,10(19)trient kapunk szintelen olajként.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  = 0,52 ppm (s, 3H, H-18); 4,23 (m, 1H, H-3); 4,46 (m, 1H, H-1); 4,85 u. 5,21 (m, je, 1H, H-6 u. H-7); 9,66 (s, 1H, CHO).

b) A fent kapott aldehid 2,35 g-ját feloldjuk, 25 ml THF és 25 ml metanol keverékében, és ehhez cseppenként hozzáadjuk 1,41 g  $\text{CeCl}_3$  (heptahidrát) 25 ml metanolban készült oldatát. Ezután hozzáadunk 91 mg nátrium-bór-hidridet, 90 percig 25°C-on kevertetjük, vízre öntjük és etilacetáttal extraháljuk. Szilikagélen kromatografáljuk hexán/etilacetát eleggyel, és így 1,86 g 1(S)-(terc-butil-dimetil-szililoxi)-3(R)-(terc-butil-difenil-szililoxi)-20-hidroximetil-20-metil-9,10-szekopregna-5Z,7E,10(19)triént kapunk színtelen olaj formájában.

c) 10,1 ml 25 %-os NaOH-ból, 2,74 ml brómecetsav-terc-butilészterből, 1,67 g fent kapott alkoholból, 25 ml toluolban oldva és 48 mg tetrabutil-ammónium-hidrogénszulfátból kétfázisú rendszert képezünk, ezt 6 órán keresztül 50-60°C-on kevertetjük. Lehülés után toluollal meghigítjuk, a toluolos fázist elválasztjuk, vízzel mossuk  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -on szárítjuk, és beszűkítjük. Hexán/etilacetát eleggyel kromatografáljuk szilikagélen, és így 830 mg 1(S)-(terc-butil-dimetil-szililoxi)-3(R)-(terc-butil-difenil-szililoxi)-20-(terc-butoxikarbonil-metoximetil)-20-metil-9,10-szekopregna-5Z,7E,10(19)-triént kapunk színtelen olaj formájában.

d) 490 g magnéziumból (Spöne) és 1,5 ml brómetánból, 13 ml abszolút THF-ben szokásos módon előállítjuk a magnézium-organikus vegyületet. Cseppenként hozzáadunk 810 mg-ot a



fent kapott terc-butilészterből, 3 órán át kevertetjük szobahőmérsékleten. A reakcióelegyet  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -oldatba öntjük és etilacetáttal extraháljuk.

e) A beszűkítés után kapott olajos nyersterméket 15 ml THF-ben oldjuk, 1,3 g tetrabutil-ammónium-fluoridot adunk hozzá, és 2 órán keresztül  $50^\circ\text{C}$ -on kevertetjük. A szokásos feldolgozás után semleges alumíniumoxidon kromatografáljuk hexán/etilacetát eleggyel. A főfrakciót diizopropiléter/etilacetát elegyből kristályosítjuk, és így 145 mg címvegyületet kapunk, olvadáspontja  $146\text{-}148^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz):  $\delta = 0,63$  ppm (s, 3H); 0,92 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 3,16 (s, 2H); 3,23 (AB-q,  $J = 9$  u. 7 Hz, 2H); 4,23 (m, 1H); 4,43 (m, 1H); 4,98 (m, 1H); 5,32 (m, 1H); 5,90 (d,  $J = 11$  Hz, 1H); 6,38 (d,  $J = 11\text{H}_2$ , 1H).

## 2. példa

1(S), 3(R)-Dihidroxi-20-(5-hidroxi-5-metil-hexa-1E, 3E-dien-1-il)-20-metil-9,10-szekopregna-5Z, 7E, 10(19)-trién

A WO 91/00855 számú PCT bejelentésben leírt reakciósort 2,12 g 1a) példa szerinti aldehiddel elvégezzük. Wittig-reakciót végzünk metoxi-karbonil-trifenil-foszforánnal, diizopropil-alumíniumhidriddel redukálunk, piridíniumdikromáttal oxidálunk, metoxi-karbonil-trifenil-foszforánnal ismételten Wittig-olefinezünk, a kapott észterhez metillitiumot adunk, a védőcsoportokat lehasítjuk tetrabutil-ammóniumfluoriddal, és így 600 mg címve-

gyületet kapunk szintelen olaj formájában.

$[\alpha]_D^{-65,5^\circ}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $c = 0,525$ )

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  0,57 ppm (s, 3H); 1,04 (s, 3H); 1,09 (s, 3H); 1,34 (s, 6H); 4,23 (m, 1H); 4,43 (m, 1H); 4,98 (m, 1H); 5,32 (m, 1H); 5,72 (d,  $J = 15$  Hz, 1H); 5,87 (d,  $J = 10$  Hz, 1H); 5,88 (dd,  $J = 15$  u. 10 Hz, 1H); 6,00 (d,  $J = 11$  Hz, 1H); 6,19 (dd,  $J = 15$  u. 10 Hz, 1H); 6,37 (d,  $J = 11$  Hz, 1H).

### 3. példa

(5Z,7E)-(1S,3R)-20-Hidroximetil-20-metil-9,10-szekopregna-5,7,10(19)-trién-1,3-diol

Az 1b) példában kapott alkoholt az 1e) példa körülményei között szililéter-hasításnak vetjük alá, és így a címvegyületet kapjuk, melynek olvadáspontja  $183-185^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$ , 300 MHz):  $\delta$  0,22, 0,46 és 0,58 ppm (3 x s, je 3H, H-18, u. 20-metil); 3,73 (m, 1H), H-3); 3,95 (m, 1H, H-1); 4,49 és 4,90 (2 x s, je 1H, H-19); 5,62 és 5,87 (2 x d,  $J = 11$  Hz, je 1H, H-6 és H-7).

### 4. példa

(5Z,7E)-(1S,3R)-20-metil-20-vinil-9,10-szekopregna-5,7,10(19)-trién-1,3-diol

Az 1a) példa szerinti aldehidhez metilén-trifenil-foszforánt adunk, majd az 1e) példa körülményei között szililéter-hasítást végzünk. Így a címvegyületet kapjuk. Op.:  $139-142^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{-23,9^\circ}$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0,255$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) =  $\delta$  = 0,57 ppm (s, 3H, H-18); 1,03 u. 1,08 (2 x s, je 3H, 20-metil); 4,22 (m, 1H, H-3); 4,43 (m, 1H, H-1); 4,82 - 4,93 (m, 2H, vinyl- $\text{CH}_2$ ); 4,99 u. 5,32 (2 x, je 1H, H-19); 5,93-6,05 (m, 2H, H-6 és vinyl-CH); 6,37 (d, J = 11 Hz, 1H, H-7).

#### 5. példa

(5Z,7E)-(1S,3R)-20-Etil-20-metil-9,10-szekopregna-5,7,-10(19)-trién-1,3-diol

Az 1a) példa szerinti aldehidet homologizáljuk (pl. M.J. Calverley szerint Synlett 1990, 155), az 1b) példa szerint redukáljuk, az alkoholt a megfelelő jodiddá alakítjuk (pl. G.L. Lange és C. Gottardo, Synth. Commun. 1990, 20, 1473 nyomán), a jodidot  $\text{LiAlH}_4$  segítségével THF-ben redukáljuk, majd elvégezzük a szililéter-hasítást. Így a címvegyületet kapjuk meg.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  = 0,64 ppm (s, 3H, H-18); 0,87 u. 0,93 (2 x s, je 3H, 20 metil); 4,23 (m, 1H, H-3); 4,42 (m, 1H, H-1); 5,01 u. 5,34 (2 x s, je 1H, H-19); 6,01 u. 6,39 (2 x d, J = 11 Hz, je 1H, H-6 u. H-7).

#### 6. példa

1 $\alpha$ ,25-Dihidroxi-20-metil-23-dehidro- $\text{D}_3$ -vitamin

Az 1a) példa szerinti aldehidet homologizáljuk (pl. a Synlett 1990, 155 szerint), a kapott homológ aldehidet dimetil-foszfono-ecetsav-metilészterrel Wittig-Horner-olefinezéssel ( $\text{NaH}$ , THF) alakítjuk tovább, majd az így

kapott telítetlen észtert metil-magnézium-bromiddal reagáltatjuk THF-ban, majd szililéter-hasítással kapjuk meg a címvegyületet szintelen olaj formájában.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta = 0,64$  ppm (s, 3H, H-18); 0,89 u. 0,95 (2 x s, je 3H, 20-metil); 1,33 (s, 6H, 25-metil), 4,23 (m, 1H, H-3); 4,43 (m, 1H, H-1); 5,00 u. 5,33 (2 x s, je 1H, H-19); 5,55 - 5,72 (m, 2H, H-23 u. H-24); 6,00 u. 6,38 (2 x d,  $J = 11$  Hz, je 1H, H-6 u. H-7).

### 7. példa

1 $\alpha$ ,25-Dihidroxi-20-metil-24-oxo-D<sub>3</sub>-vitamin

Az 1a) példa szerinti aldehidet homologizáljuk (pl. Synlett 1990, 155) Wittig-Horner-olefinezést végzünk dietil-foszfono-etoxiecetsav-etilészterrel (W. Grell és H. Machleidt szerint, Liebigs Ann. Chem. 699, 53, 1966), metil-magnézium-bromid addíciót és enoléter-hasítást végzünk (70 %-os ecetsavban) és a szililéter-védőcsoport eltávolítása után megkapjuk a címvegyületet. Op.: 141-144°C,

$[\alpha]_D + 14,7^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0,505$ ).

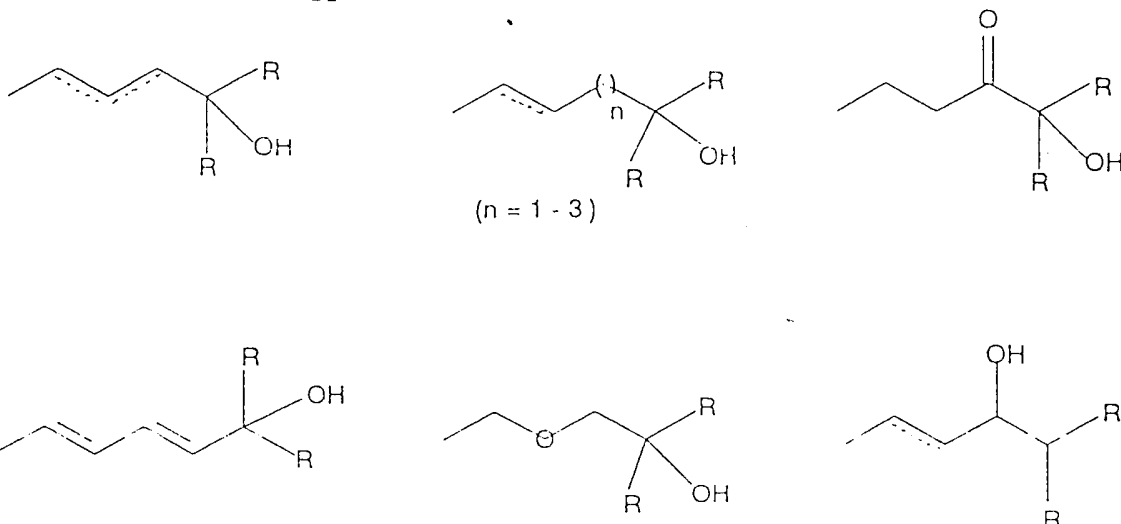
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta = 0,65$  ppm (s, 3H, H-18); 0,90 u. 0,98 (2 x s, je 3H, 20-metil); 1,40 (s, 6H, 25-metil); 4,23 (m, 1H, H-3); 4,44 (m, 1H, H-1); 5,00 u. 5,33 (2 x szélesség s, je 1H, H); 6,01 u. 6,38 (2 x d,  $J = 11$  Hz, je 1H, H-6 u. H-7).

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az (I) általános képletű 20-metil-szubsztituált D-vitamin származék, ahol

- $R^1$  jelentése hidrogén, hidroxil- vagy 1-12 szénatomos alkanoiloxi-csoport, illetve benzoiloxi-csoport,  
 $R^2$  jelentése hidrogén vagy 1-12 szénatomos alkanoil-csoport, illetve benzoil-csoport,  
 $R^3$  legfeljebb 18 szénatomos telített vagy telítetlen, egyenes- vagy elágazóláncú szénhidrogéncsoport, amely egy vagy több karbociklusos gyűrűvel ( $C_{3-10}$ -cikloalkil- vagy cikloalkenil-csoport, mely utóbbi legfeljebb 2 kettőskötést tartalmazhat) meg lehet szakítva, vagy ilyen szubsztituenst tartalmazhat, és adott esetben szubsztituálva lehet még egy vagy több hidroxil-, oxo-, amino-csoporttal és/vagy halogénatommal, és adott esetben a szénhidrogénlánc meg lehet szakítva egy vagy több oxigén-, kén- és/vagy nitrogén ( $>NH$ -formájában) atommal.

2. Az 1. igénypont szerinti D-vitamin származék, azzal jellemezve, hogy  $R^3$  a



csoportok egyike, ahol R = C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkil; -hidroxialkil-,  
-O-alkil (alkoxi) csoport.

3. 1 $\alpha$ ,25-Dihidroxi-20,26,27-trimetil-23-ox-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1(S),3(R)-dihidroxi-20-(5-hidroxi-5-metil-hexa-1E,3E-dien-  
-1-il)-20-metil-9,10-szekopregna-5Z,7E,10(19)-trién,  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,24(s)-dihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-23-oxa-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,24(R),25-trihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,24(S),25-trihidroxi-20-metil-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-24-oxo-D<sub>3</sub>-vitamin,  
(5Z,7E)-(1S,3R)-20-metil-20-vinil-9,10-szekopregna-5,7,10-  
(19)-trien-1,3-diol,  
(5Z,7E)-(1S,3R)-20-etil-20-metil-9,10-szekopregna-5,7,10-  
(19)-trien-1,3-diol,  
(5Z,7E)-(1S,3R)-20-hidroximetil-20-metil-9,10-szekopregna-  
-5,7,10(19)-trien-1,3-diol,  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20-metil-23,24-dehidro-D<sub>3</sub>-vitamin,  
1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-20,26,27-trimetil-23,24-dehidro-D<sub>3</sub>-vitamin.

4. Eljárás az (I) általános képletű 20-metil-szubsztit-  
tuált D-vitamin származék előállítására

ahol R<sup>1</sup> hidrogén, hidroxil- vagy 1-12 szénatomos alkanoil-  
oxi-csoport illetve benzoiloxi-csoport,

R<sup>2</sup> hidrogén vagy 1-12 szénatomos alkanoil-csoport,  
vagy benzoil-csoport és

R<sup>3</sup> telített vagy telítetlen, egyenes vagy elágazó  
láncú, legfeljebb 18 szénatomos szénhidrogén-cso-  
port, mely adott esetben egy vagy több karbocik-



lusos gyűrűvel (C<sub>3-10</sub>-cikloalkil- vagy cikloalkenil-csoport az utóbbiban legfeljebb 2-kettős-kötéssel) lehet megszakítva vagy szubsztituálva, adott esetben szubsztituálva lehet még egy vagy több hidroxil-, oxo-, amino-csoporttal és/vagy halogénatomokkal, és adott esetben meg lehet szakítva egy vagy több oxigén, kén és/vagy nitrogén-atommal (ez utóbbi >NH formában), azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű vegyületben - ahol

R<sup>1</sup>' hidrogén vagy védett hidroxil-csoport,

R<sup>2</sup>' alkálistabil hidroxil-védőcsoport és

R<sup>3</sup>' megegyezik a kívánt (I) általános képletű vegyület R<sup>3</sup> csoportjával

és ahol a hidroxil-csoportok védve lehetnek, - a hidroxil védőcsoportokat lehasítjuk, és a hidroxil-csoportokat adott esetben részlegesen vagy teljesen észtere-sítjük, az (I) általános képletű vegyület kialakítására.

5. Az (V) általános képletű intermedier, ahol

R<sup>1</sup>' hidrogén vagy védett hidroxil-csoport, és

R<sup>2</sup>' alkálistabil hidroxil-védőcsoport.

6. Gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy az 1-3. igénypontok szerinti vegyületekből legalább egyet és gyógyászatilag elfogadható vívőanyagot tartalmaz.

7. Az 1-3. igénypontok szerinti vegyületek alkalmazása gyógyszerkészítményekben.

A meghatalmatott:

**Párragh Gáborné dr.**  
szabadalmi ügyvivő  
az S.B.C. & K. Budapesti Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda ujtá  
H-1051 Budapest, Balazs u. 10.  
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

2 veji

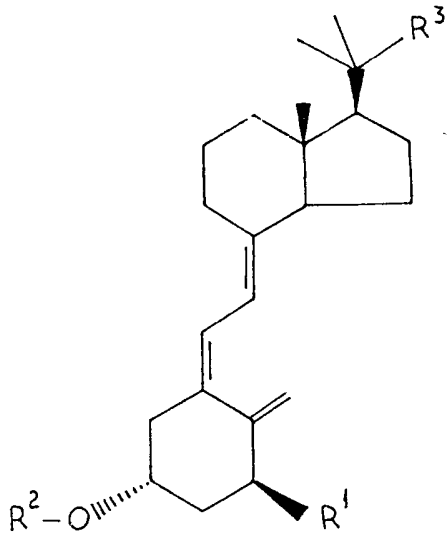
1456 194

68263

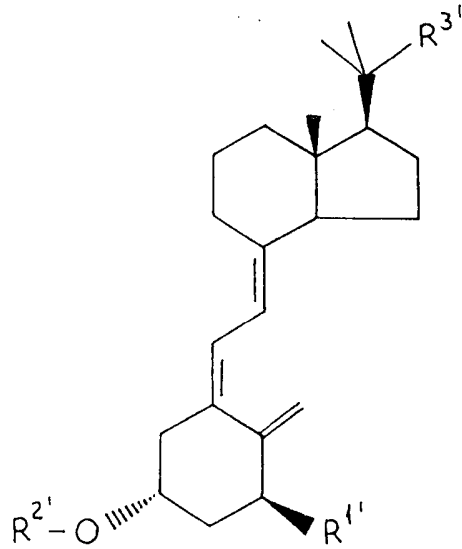
2009.04.27. 10:27:41  
2509

KÖZLEMÉNYEK

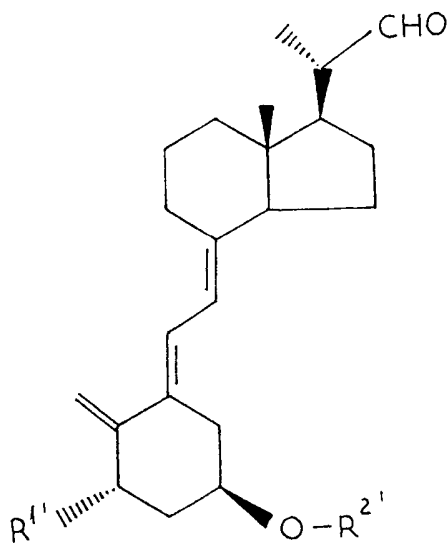
2/1



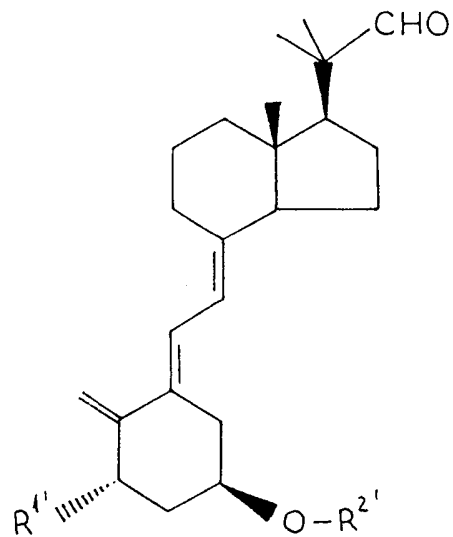
(I)



(II)



(III)

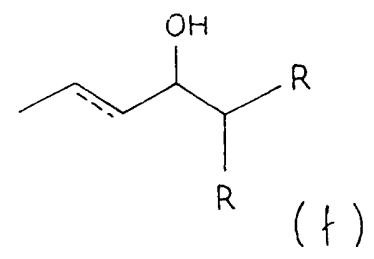
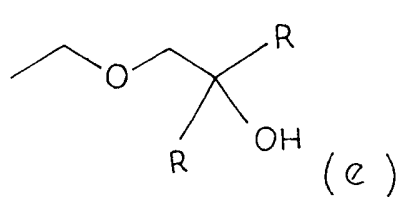
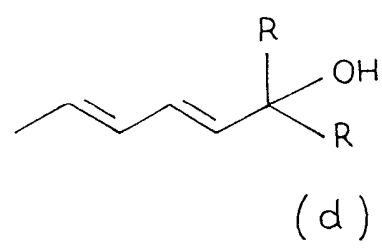
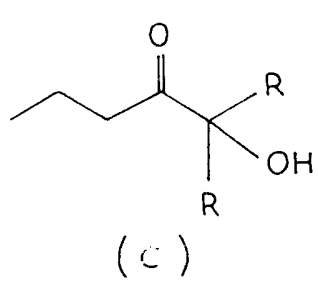
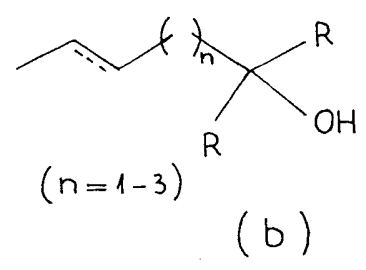
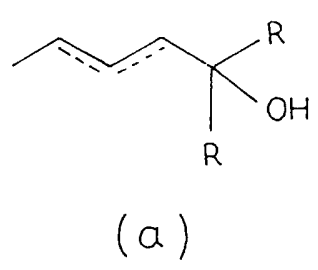
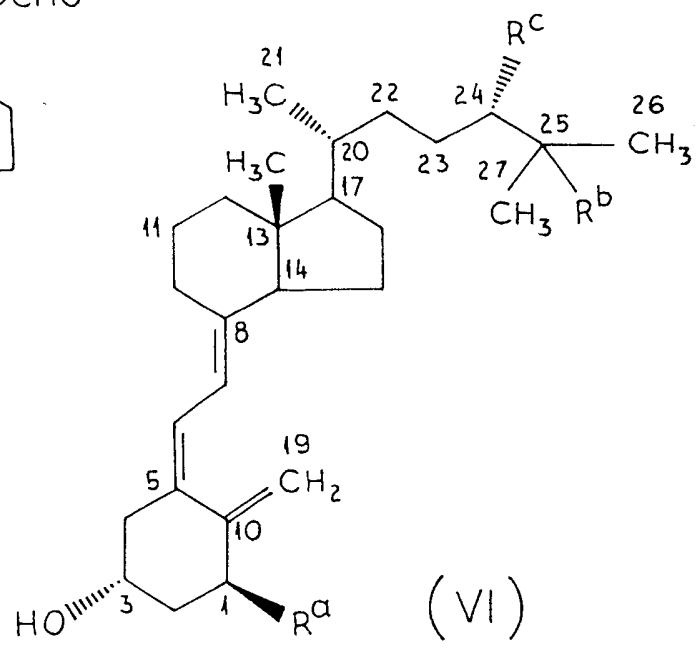
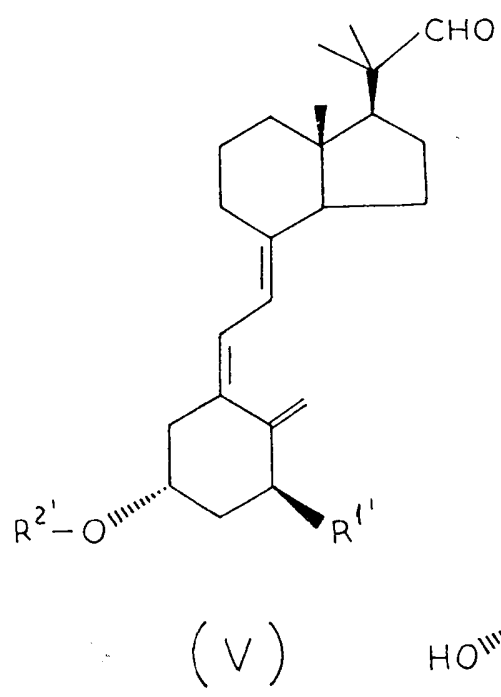


(IV)

Parragh Gáborné dr.  
szabadalmi ügyvivő  
az S.B.C. & K. Budapesti Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda cégje  
H-1061 Budapest, Balzsrház u. 10.  
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

1456/a4

2/2



Parragh Gáborné dr.  
 Szabadalmi ügyvivő  
 az S.B.C. & K. Budapesti Nemzetközi  
 Szabadalmi Iroda tagja  
 H-1061 Budapest, Dabryinsz u. 10.  
 Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664