

(19) **KG** (11) **173** (13) **C2**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(51)<sup>6</sup> **C07J 1/00, 41/00**

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

(21) 940140.1

(22) 26.07.1994

(31) 8802402-1

(32) 28.06.1988

(33) SE

(46) 01.01.1997, Бюл. №3, 1997

(71)(73) Фармация АБ, SE

(72) Бертиль Вальдемар Хансен, Пер-Олов Гуннар Гуннарсон, Хенри Рене Молльберг, Свен-Аке Йоханссон, SE

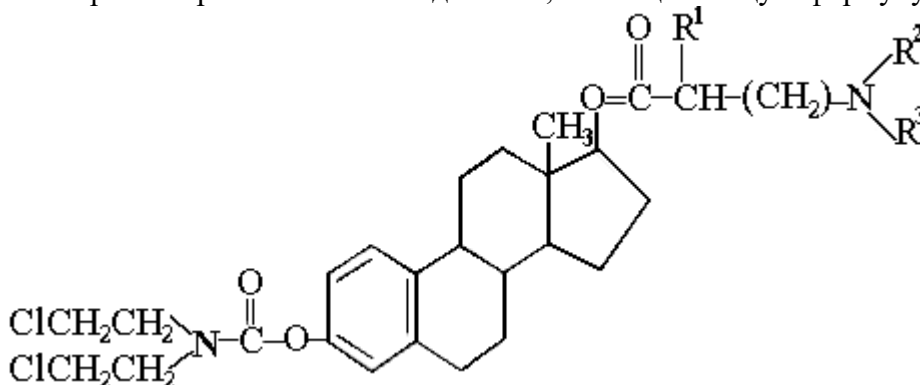
(56) 1. Патент США №3299104, кл. 260-397.4, 1976

2. Патент Великобритании №962797, кл. C2 U, 1974

3. Заявка Европейского патента №0104796, кл. C07J 41/00, 1982

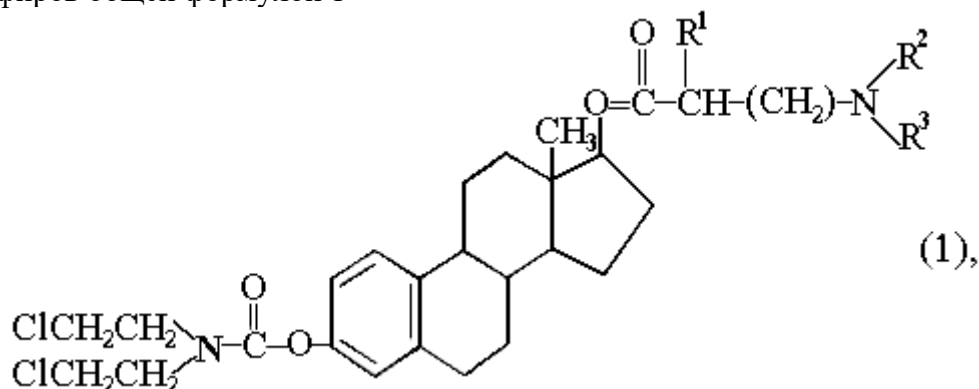
(54) **Эфиры эстрамастина или их фармацевтически приемлемые соли и способ их получения**

(57) Изобретение рассматривает новые соединения, имеющие общую формулу I



где R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> выбраны из группы, состоящей из водорода, низшего алкила, имеющего 1-4 атома углерода, где R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> могут также образовывать с атомом N кольцо с 2-5 атомами углерода, и где n - это 0, 1 или 2, а также его фармакологически приемлемые соли. Соединения согласно данному изобретению полезны как противораковые агенты. 3 з.п. ф-лы, 4 табл., 12 пр.

Изобретение относится к новым эфирам эстрамастина и способу их получения, а именно эфиров общей формулой 1



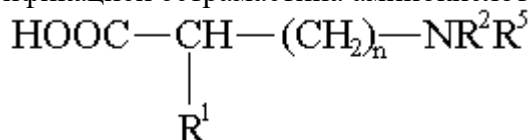
где  $R^1$  - атом водорода, низший алкил  $C_1-C_4$ ;

$R^2$  - атом водорода, низший алкил  $C_1-C_4$ ;

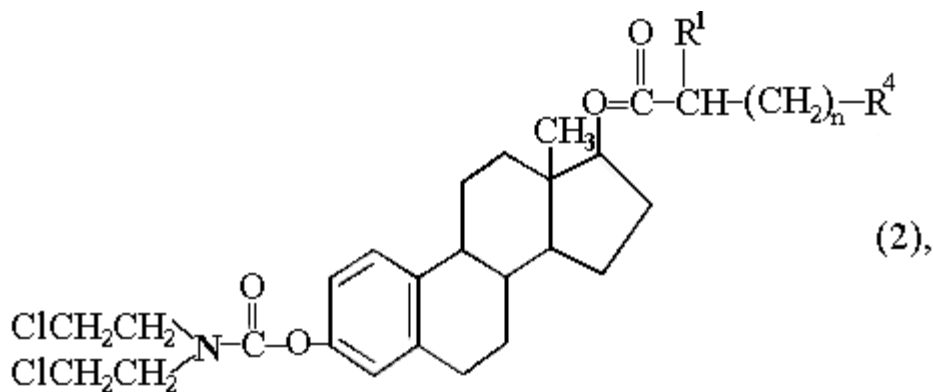
$R^3$  - атом водорода, низший алкил  $C_1-C_4$  или  $R^2$  и  $R^3$  вместе образуют  $-(CH_2)_n-$ ,  $n = 0.1$  или  $2$ , или их фармацевтически приемлемых солей, обладающих противоопухолевыми свойствами.

Задача изобретения - получение новых производных эстрамастина, образующих водорастворимые кальцевые соли и пригодных для орального применения при лечении рака предстательной железы.

Синтез ведут этерификацией эстрамастина аминокислотой общей формулы



где  $R^5 = R^3$  или защитная группа с получением продукта общей формулы 2



где  $R^4$  - группа  $-\text{NR}^2\text{R}^5$  с последующим удалением защитной группы с получением целевых продуктов 1.

Эстрамастин, эстра - 1,3,5 (10)-триен-3,17 в-диол-3N, N-бис/2-хлорэтил/карбамат/ и его различные эфиры хорошо известны в качестве противораковых агентов. Один из них, 17-эстрамастиндигидрофосфат (ЭМФ), был изучен более широко, и его водный раствор "эстрацит" теперь широко применяется при лечении рака предстательной железы. Проблема орального применения ЭМФ состоит во взаимодействии с ионами кальция, содержащимися в пище и питье. В присутствии ионов кальция ЭМФ дает осадок и образует нерастворимый комплекс, который не адсорбируется пищеварительным трактом и таким образом имеет очень маленькую активность в организме. Было сделано несколько попыток решить эту проблему как относительно фармацевтического получения ЭМФ-солей, так и самого эстрамастина. Однако оказалось невозможным найти такую модификацию ЭМФ для орального применения, которая обеспечивала бы в плазме такой же уровень важнейшего метаболита ЭМФ эстрамастина, и соответствующего 17-

кетопроизводного-эстрамастина, какой дает водорастворимая натриевая соль ЭМФ в отсутствии ионов кальция.

Эфиры аминокислот для фармацевтических целей описаны (2,3). Однако эти эфиры спиртов, хотя и содержащие стероидный скелет, имеют структуру, весьма отличающуюся от структуры эстрамастина.

Следующие примеры приведены для иллюстрации.

Пример 1. 17-эстрамастин хлорацетат.

Эстрамастин (4.4 г, 0.01 моль) растворяют в толуоле (100 мл). Хлорацетилхлорид (1.7 г, 0.015 моль) прибавляют в раствор и нагревают при 70°C 1.5 ч. Растворитель затем удаляют в вакуумном испарителе при 30°C. Остаток обрабатывают этанолом и продукт кристаллизуется. Продукт фильтруют и промывают несколькими миллилитрами этанола. Хлорацетат после сушки при комнатной температуре плавится при 95°C. Выход 4.9 г.

Пример 2. 17-эстрамастин бромацетат.

Данное соединение получено методом аналогичным, описанному в примере 1 из эстрамастина и бромацетилбромида, т.пл. 109°C.

Пример 3. 17-эстрамастин N-метиламиноацетат гидрохлорид.

17-эстрамастин хлорацетат (5.2 г, 0.01 моль) растворяют в ацетонитриле (40 мл) при комнатной температуре. Метиламин (3.1 г, 0.1 моль) растворяют в холодном ацетонитриле и прибавляют при 0°C. После 3 ч избыток амина и растворитель удаляют в ротаторном испарителе. Остаток растворяют в хлористом метиле (50 мл) и трижды промывают 50 мл воды, устанавливая каждый раз pH раствором бикарбоната натрия 7-9. Органическую фазу сушат безводным сульфатом натрия и удаляют растворитель. Остаток растворяют в ацетонитриле (40 мл) и осаждают N-метиламиноацетат путем добавления раствора хлороводорода в эфире (0.012 моль). Образуется объемный осадок, который после перемешивания в течение нескольких минут распадается на тонкие кристаллы. Продукт отфильтровывают и промывают смесью этилацетат-ацетонитрил (1:1). Затем гидрохлорид сушат под вакуумом при комнатной температуре 24 ч. Выход 3.7 г. т.пл. 226° с разл. ЯМР-спектроскопия показывает, что продукт имеет структуру эстрамастин 17 -N-метилацетат.

Пример 4. 17-эстрамастин N-метилацетат метансульфонат и этаносульфат.

Используя метод, описанный в примере 3, за исключением применения растворов метансульфоновой и этансульфоновой кислоты в эфире вместо хлористого водорода в эфире были получены метансульфонат и этансульфонат, т.пл. 212°C и 170°C соответственно.

Пример 5. 17-эстрамастин N-R<sup>2</sup>-N-R<sup>3</sup> аминокетат гидрохлорид.

Эфиры, имеющие заместители R<sup>2</sup> R<sup>3</sup>, описаны в таблице 1. Получены из 17 эстрамастина бромацетата с использованием метода примера 3 с небольшими изменениями.

Пример 6. 17-эстрамастин аминокетат гидрохлорид и метансульфонат.

Эстрамастин (4.4 г, 0.01 моль) и N-трет-бутокси карбонилглицин (1.75 г, 0.01 моль) растворяют в хлористом метиле (35 мл). Прибавляют дициклогексилкарбодиимид (2.1 г, 0.01 моль) и 4-диметиламинопиридин (0.1 г, 0.001 моль) и перемешивают реакционную смесь 3 ч. Образующуюся дициклогексилмочевину удаляют фильтрованием и упаривают растворитель. Маслообразный осадок растворяют в ацетонитриле (10 мл) и прибавляют ацетонитрил (40 мл), содержащий хлористый водород (0.03 моль) и перемешивают смесь 16 ч. Образующийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси эфир-метанол. Выход 3.2 г 17-эстрамастин аминокетата гидрохлорида, т.пл. 220°C, (№ соединения 6:1), как подтверждено ЯМР-спектроскопией.

Таким же методом, за исключением использования метансульфоновой кислоты вместо хлористого водорода и отсутствием кристаллизации получен 17-эстрамастин аминокетат метансульфат (№ соединения 6:2), т.пл. 206°C.

Пример 7. 17-эстрамастин аминопропионата гидрохлориды.

Следующие соли были получены, используя метод, описанный в примере 6. 17-эстрамастин 2-1-аминопропионат гидрохлорид, т.пл. 248°C из N-трет-бутоксикарбонил-L-аланина

17-эстрамастин 3-аминопропионат гидрохлорид, т.пл. 223°C из N-трет-бутоксикарбонил-β-аланина).

Пример 8. 17-эстрамастин аминокетат метансульфонат.

К эстрамастину (4.4 г, 0.01 моль), растворенному в хлористом метиле (30 мл) прибавляют N-бензилоксикарбонилглицин (2.2 г, 0.01 моль) дициклогексилкарбодимид (0.12 г, 0.001 моль). Смесь перемешивают при комнатной температуре 2 ч. Образующуюся дициклогексилмочевину отфильтровывают. Фильтрат промывают соляной кислотой (2М:10 мл), водой (10 мл), раствором карбоната натрия (1М, 25 мл) и опять водой (25 мл) и сушат сульфатом натрия. Растворитель упаривают в ротонном испарителе.

Оставшееся масло растворяют в этаноле (125 мл). Прибавляют палладий на угле (1 г, содержание палладия 5 %) и обрабатывают смесь водородом при комнатной температуре и атмосферном давлении. Когда реакция прекращается, смесь фильтруют и растворитель упаривают. Остаток растворяют в ацетонитриле (75 мл). Добавляют метансульфовую кислоту (1 г, 0.01 моль). После 18 ч перемешивания остаток отфильтровывают, промывают ацетонитрилом и сушат при комнатной температуре. Выход 17-эстрамастин аминокетат метансульфоната 3.7 г, т.пл. 204°C.

Пример 9. Эстрамастин 4-/N,N-диметиламино/бутирата гидрохлорид.

К эстрамастину (4.4 г, 0.01 моль) в хлористом метиле (50 мл) прибавляют 4-диметиламинобутирилхлорида гидрохлорид (1.3 г, 0.01 моль). Раствор кипятят 2 ч. Упаривают растворитель и полученное масло кристаллизуют. Продукт обрабатывают активированным углем в этанольном растворе и перекристаллизовывают из смеси этанол-эфир. Выход 6.5 г, т.пл. 205°C. Как подтверждено ЯМР-спектроскопией продукт является 17-эстрамастин 4-/N, N-диметиламино/бутиратом гидрохлоридом.

Пример 10. Взаимодействие с ионами кальция.

Раствор А: 0.3 м диэтансульфоната кальция. Карбонат кальция (1.38 г, 15 моль) растворяют при добавлении 1Н раствора этансульфокислоты до получения постоянного рН-5.3. Раствор разбавляют водой до 50 мл.

Раствор В: 0.03 М диэтансульфонат кальция. Одну часть раствора А разбавляют 9 частями воды. Раствор 0:0.05 М ацетатный буфер с рН-4.5. Ледяную уксусную кислоту (3.0 г 0.05 моль) растворяют в 800 мл воды, титруют 1М раствором гидроксида натрия до рН-4.5 и разбавляют до 1 л. Испытуемое соединение растворяют 650 мл раствора С. Чистый раствор образуется через несколько мин. Спустя 5 мин вводят эквимолярное количество ионов кальция прибавлением раствора А и Б.

За смесью наблюдают 3 ч (см. табл. 3)

Результаты показывают, что новые соединения в присутствии ионов кальция не дают какого бы то ни было осадка в концентрации эстрамастинфосфата динатриевой соли, необходимой для немедленного образования нерастворимой кальциевой соли эстрамастин фосфата.

Пример 11. Сравнение эстрамастинфосфата и эфиров эстрамастина в аспекте оральной биодоступности эстрамастина на собаках.

Различные рецептуры орально вводились группе из четырех гончих собак. Доза была эквивалента 140 мг эстрамастинфосфата. Животных не кормили до принятия дозы и давали им 50 мл 0.01 М соляной кислоты после принятия. Образцы крови анализировали на эстрамастин при помощи газовой хроматографии.

Были использованы следующие рецептуры:

1. Водный раствор динатриевой соли фосфата эстрамастина.
2. Водный раствор соединения №6 : 2.
3. Водный раствор соединения №4 : 2.
4. Водный раствор соединения №7 : 2.

Таблица 4 под кривыми показывает области изменения концентрации эстрамастина в плазме крови собак во времени. Средние значения составляли  $54 \pm 62$ ,  $118 \pm 60$ ,  $83 \pm 62$  и  $174 \pm 83$  нг/мл ч. для эстрамастинфосфата, соединений №№ 6 : 2, 4 : 2 и 7 : 3 соответственно.

а) Использовали несколько доз. Полученные значения экстраполировали до дозы эквивалентной дозе других соединений.

Пример 12. Рецептуры, простые таблетки.

1. Соединение № 6:2 мг

2. 16

0

Крахмал, мг

15

3. Поливидон, мг

4. 8

Этанол

-

5. Крахмал мг

6. 15

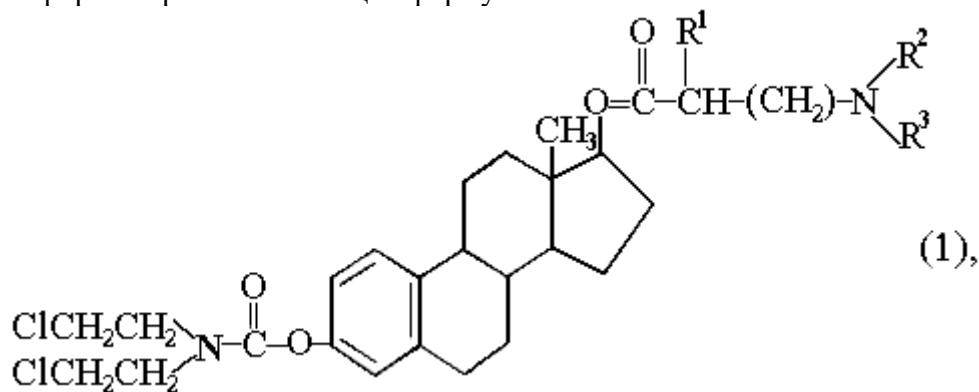
Стеарат магния, мг

2

1 смешивают и гранулируют с раствором 2. После сушки и просеивания через сито 1 мм прибавляют 3. Смесь прессуют в таблетки весом 200 мг.

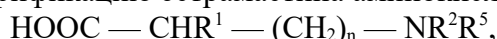
### Формула изобретения

1. Эфиры эстрамастина общей формулы 1

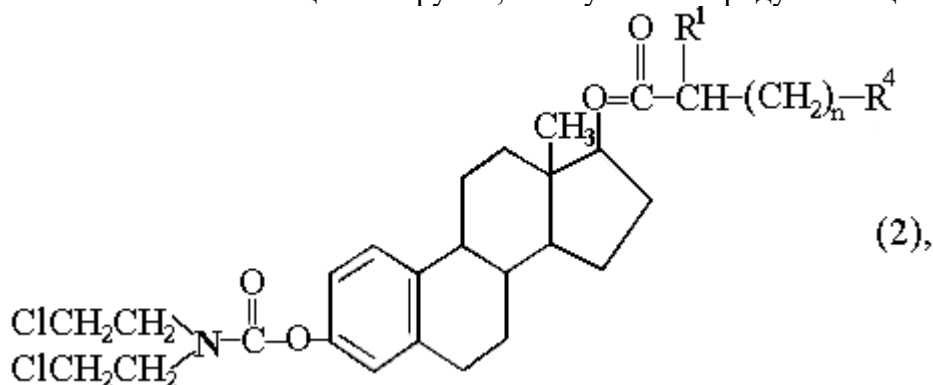


где  $R^1$  - водород, низший алкил  $C_1-C_4$ ;  $R^2$  - водород, низший алкил  $C_1-C_4$ ;  $R^3$  - водород, низший алкил  $C_1-C_4$  или  $R^2$  и  $R^3$  вместе  $-(CH_2)_n-$ ,  $n = 0, 1$  или 2, или их фармацевтически приемлемые соли.

2. Способ получения эфиров эстрамастина общей формулы 1, отличающийся тем, что осуществляют этерификацию эстрамастина аминокислотой общей формулы



где  $R^5 = R^3$  или необязательно защитная группа, с получением продукта общей формулы 2



где:  $R^4$  - группа  $-NR^2R^5$ , из которого затем удаляют защитную группу с получением соединений общей формулы 1.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что получают соединения, в которых  $n =$

0.

4. Способ по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что получают соединения, в которых  $R^1$  представляет собой атом водорода.

5. Способ по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что получают соединения, где  $R^2$  и  $R^3$ , одинаковые или различные, принадлежат к группе, состоящей из атомов водорода, метального или этильного радикала.

Таблица 1


$R^2$	$R^3$	Гидрхлорид, т.пл. в °C	Использованный амин
-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	210	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH
H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	220	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH
H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	170	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>
H	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	200	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>
H	-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	172	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>
-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	158	(CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	210	

Таблица 2

Соединения формулы 1, описанные в примерах 3-9

Пример	$R^1$	$R^2$	$R^3$	n	солевая форма
3	H	CH <sub>3</sub>	H	0	Cl <sup>-</sup>
4:1	H	CH <sub>3</sub>	H	0	MeSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
4:2	H	CH <sub>3</sub>	H	0	
5	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH/CH <sub>3</sub> /3	H	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0	Cl <sup>-</sup>
5	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>4</sub>	0	Cl <sup>-</sup>
6:1	H	H	H	0	Cl <sup>-</sup>
6:2	H	H	H	0	MeSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
7	CH <sub>3</sub>	H	H	0	Cl <sup>-</sup>
7	H	H	H	1	Cl <sup>-</sup>
8	H	H	H	0	MeSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
9	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	2	Cl <sup>-</sup>

Таблица 3

Испытуемое соединение	Кол-во	раствор Са ммоль	Наблюдения
эстрамастинфосфат	16 мг	В 0.03	становится
динатриевая соль	0.03 ммоль		немедленно мутный
соединение 6:2	178мг	А 0.3	остается чистым
	0.3 ммоль		
соединение 4:2	186мг	А 0.3	остается чистым
	0.3 ммоль		

Таблица 4

Оральная биодоступность эстрамастина для собак АПС-защиты  
после введения растворов эфиров эстрамастина

Собака №	Эстрамастинфосфат	соединение № 6:2	соединение № 4:2	соединение № 7:3
8727	147	100	-	
8729	16.4	140	94.0	
8731	34.0	45.8	79.8	
8733	19.5	184.8	-	
8735	-	-	2.6	
8742	-	-	153.4	
Среднее±	54.3±62.4	118±59	82.6±62.0	174±83 <sup>a</sup>

Ответственный за выпуск

Ногай С.А.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03