

Entwicklung potentieller Antiandrogene: N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-cyclohexanoylamide und -benzamide, N-(3,4-Dichlorphenyl)- und N-(3,4,5-Trichlorphenyl)-benzamide

Alfred W. Humm und Martin R. Schneider*

Sonderforschungsbereich 234, Institut für Pharmazie, Lehrstuhl Pharmazeutische Chemie II, Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, D-8400 Regensburg

Eingegangen am 1. Dezember 1987

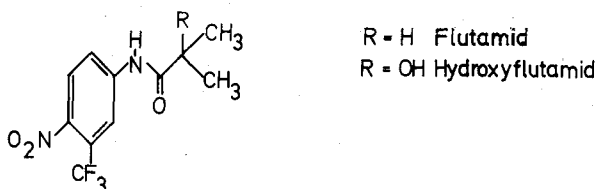
Zur Entwicklung potentieller nichtsteroidaler Antiandrogene wurden N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-cyclohexanoylamide und -benzamide, sowie N-(3,4-Dichlorphenyl)- und N-(3,4,5-Trichlorphenyl)-benzamide synthetisiert. Die Hydroxycyclohexylverbindung **3** zeigte eine deutlich höhere Affinität zum Androgenrezeptor (AR) als Hydroxyflutamid. Der Ersatz des Hydroxycyclohexylringes durch einen Hydroxyphenylring führte zu einem starken Abfall der AR-Affinität. Verbindungen mit AR-Affinität wurden auf antiandrogene und androgene Wirkung geprüft.

Development of potential nonsteroidal antiandrogens: N-(4-nitro-3-trifluormethylphenyl)-cyclohexanoylamides and -benzamides and N-(3,4-dichlorophenyl)- and N-(3,4,5-trichlorophenyl)-benzamides

For the development of potential nonsteroidal antiandrogens, N-(4-nitro-3-trifluormethylphenyl)-cyclohexanoylamides and -benzamides, and N-(3,4-dichlorophenyl)- and N-(3,4,5-trichlorophenyl)-benzamides were synthesized. The hydroxycyclohexane analog **3** exerted a higher binding affinity to the androgen receptor (AR) than hydroxyflutamide. Changing the α -hydroxycyclohexane ring of **3** to a hydroxyphenyl moiety led to a strong decrease in AR affinity. Compounds showing AR affinity were further tested for antiandrogenic and androgenic activity.

Zur Therapie des Prostatacarcinoms werden neben der Kastration, LHRH-Analoga und Östrogenen auch Antiandrogene, wie Cyproteronacetat und Flutamid, eingesetzt¹⁾. Flutamid (N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2-methylpropionsäureamid) ist das bislang einzige therapeutisch verwendete nichtsteroidale Antiandrogen. Die Wirkform ist jedoch der Hauptmetabolit, Hydroxyflutamid (N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2-hydroxy-2-methylpropionsäureamid)²⁾.

Formelschema 1

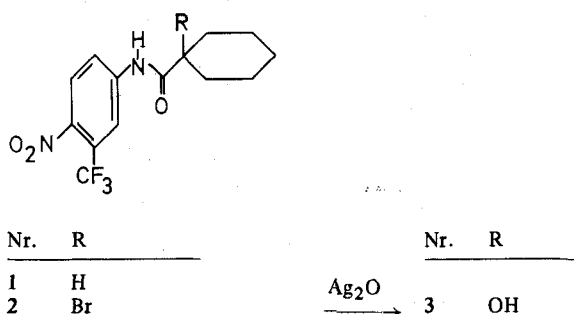


Man nimmt an, daß bei der Bindung an den Androgenrezeptor (AR) die aromatische Nitrogruppe die Funktion der 3-Ketogruppe des natürlichen Liganden Testosteron übernimmt. Von Hughes wurde gezeigt, daß die Substitution 4-Nitro-3-trifluormethyl- optimal ist, jedoch auch andere Substitutionsmuster, wie 3,4-Dichlor- eine Wirkung aufweisen³⁾. Ebenso ist ein antiandrogen wirksames Anilid mit 3,4,5-Trichlorsubstitution bekannt⁴⁾. Von uns wurden Cyclohexanoylanilide und Benzanilide mit den erwähnten Substituenten im Anilinteil synthetisiert. Die Endverbindungen wurden auf Affinität zu Steroidhormon-Rezeptoren getestet. Bei Verbindungen mit Affinität zum AR wurde auf antiandrogene und androgene Wirkung geprüft.

Chemie

4-Nitro-3-trifluormethylanilin wurde durch Nitrierung von 3-Trifluormethylacetanilid und anschließende Hydrolyse gewonnen⁵⁾. Die Anilide **1**, **2**, **4**, **4b-h**, **6a-b** wurden durch Umsetzung der entspr. Aniline mit den jeweiligen Carbonsäurechloriden hergestellt. Die methoxysubstituierten Verbindungen **4b-h**, **6a-b** wurden durch Etherspaltung mit BBr₃ in die hydroxysubstituierten Endverbindungen **5b-h**, **7a-b** überführt. Die α -Hydroxycyclohexylverbindung **3** war durch Reaktion von 4-Nitro-3-trifluormethylanilin mit α -Bromcyclohexanoylbromid und Austausch von Brom in **2b** gegen die Hydroxygruppe mittels Ag₂O zugänglich⁶⁾. α -Bromcyclohexanoylbromid wurde durch Bromierung von Cyclohexancarbonsäure nach Hell-Volhard-Zelinsky gewonnen.

Formelschema 2

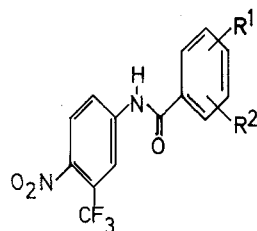


Die Reinheit der Verbindungen **1**, **3**, **4**, **5b-h**, **7a-b** wurde mittels HPLC und anschließende on-line Detektion im UV-Bereich 220–330 nm überprüft, die Identität durch IR- und ¹H-NMR-Spektroskopie, Elementaranalyse und Massenspektroskopie bestätigt.

* jetzige Adresse:

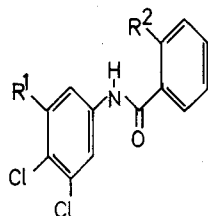
Schering AG, Institut für Pharmakologie, Exp. Androl. u. Onkol., Postfach 650 311, D-1000 Berlin 65

Formelschema 3



Nr.	R ¹	R ²		Nr.	R ¹	R ²
4	H	H	BBr ₃	5b	2-OH	H
4b	2-OCH ₃	H		5c	3-OH	H
4c	3-OCH ₃	H		5d	4-OH	H
4d	4-OCH ₃	H		5e	2-OH	3-OH
4e	2-OCH ₃	3-OCH ₃		5f	2-OH	4-OH
4f	2-OCH ₃	4-OCH ₃		5g	2-OH	5-OH
4g	2-OCH ₃	5-OCH ₃		5h	2-OH	6-OH
4h	2-OCH ₃	6-OCH ₃				

Formelschema 4



Nr.	R ¹	R ²		Nr.	R ¹	R ²
6a	H	OCH ₃	BBr ₃	7a	H	OH
6b	Cl	OCH ₃		7b	Cl	OH

Biologische Prüfung

Prinzipielle Voraussetzung für eine antiandrogene Wirkung ist eine Affinität zum AR. Dazu wurden die RBA-Werte zum AR bestimmt. Als Rezeptorquelle diente Kalbsutercytosol, das mit [³H]-Mibolerone (ein synthetisches Androgen) inkubiert wurde. Die Konzentrationen, die 50 % der Radioaktivität vom Rezeptor verdrängen, wurden für Testosteron [T] und die Testsubstanzen [S] **1, 3, 4, 5b-h, 7a-b** bestimmt. Testosteron wird der RBA-Wert 100 zugewiesen. Die RBA-Werte der Testsubstanzen werden folgendermaßen berechnet:

$$\text{RBA} = [\text{S}] / [\text{T}] \times 100$$

Erste Hinweise auf östrogene oder gestagene Wirkungen können über die Affinitäten zum Östrogenrezeptor (ER) und zum Progesteronrezeptor (PR) erhalten werden. Diese wurden in einem analog aufgebauten Test ermittelt.

Der Anstieg der RBA-Werte vom Flutamid zum Hydroxyflutamid macht deutlich, daß das Vorhandensein einer Hydroxygruppe essentiell ist (Tab. 1). Ein noch größerer Sprung im RBA-Wert zeigt sich von Verbindung **1** (RBA < 0.05) zu **3**. Die α -Hydroxycyclohexylverbindung **3** zeigt mit einem RBA-Wert von 6.8 einen deutlich höheren Wert als Hydroxyflutamid. Das Einfügen eines phenolischen Restes anstatt des α -Hydroxycyclohexylringes bedingt einen starken Abfall der RBA-Werte. Die 2-Hydroxy-Substitution zeigt aber

auch hier die höchste AR-Affinität in dieser Reihe. Um mögliche weitere Bindungsstellen zum AR zu schaffen, wurden Verbindungen mit einer zweiten Hydroxygruppe im Phenylrest hergestellt (**5e-h**). Die AR-Affinität wurde dadurch stark gesenkt. Verbindung **5h** mit 2,6-Dihydroxy-Substitution zeigt nur noch eine Affinität zum AR von 0.07. Möglicherweise ist der Abfall der AR-Affinitäten der Phenol-Derivate gegenüber aliphatischen Hydroxy-Verbindungen durch einen Abfall in der Lipophilie bedingt. Hydroxyflutamid besitzt einen Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten, der dem von Testosteron sehr nahe kommt³⁾.

Tab. 1: RBA-Werte von Flutamid (Flu), Hydroxyflutamid (OHFlu), **1, 3, 4, 5b, 5h** zum Androgen- (AR), Östrogen- (ER) und Progesteronrezeptor (PR)

Nr.	AR	PR	ER
Flu	0.1	—	—
OHFlu	4.5	—	—
3	6.8	0.16	< 0.01
4	< 0.01	< 0.05	< 0.01
5b	0.2	0.05	< 0.01
5h	0.07	< 0.05	< 0.01

Die AR-Affinitäten der übrigen Verbindungen sind < 0.05. Affinität zum ER war für keine der Verbindungen nachweisbar (RBA < 0.01). Ebenso sind Affinitäten zum PR nicht nachweisbar oder gering (RBA ≤ 0.05). Daher sind östrogene bzw. gestagene Effekte weitgehend auszuschließen.

Durch die hohe AR-Affinität insbesondere bei **3** ist vor allem im Vergleich mit Flutamid eine hervorragende Voraussetzung für einen antiandrogenen Effekt gegeben. Die Bestimmung der antiandrogenen Wirkung der Verbindungen **1, 3, 4, 5b, 5h** wurde an juvenilen, Testosteronpropionat (TP)-substituierten Ratten vorgenommen. Ermittelt wurde dabei die antagonistische Wirkung der Testsubstanzen auf die TP-Stimulation hinsichtlich der Gewichte von Samenblasen und Prostatae.

Tab. 2: Antiandrogene Wirkung von Flutamid (Flu), **1, 3, 4, 5b, 5h** auf die Gewichte von Samenblasen (SB) und Prostatae (Pr) an der juvenilen, TP-substituierten Ratte

Gruppe	Dosis*) (mg)	Organgewicht (mg/100 g Körpergew.)		% Hemmung	
		SB	Pr	SB	Pr
Standard	—	12.2 ± 1.7	58.5 ± 2.9	—	—
Flu	2	6.5 ± 1.1 ^{a)}	45.7 ± 7.2 ^{a)}	46	22
Flu	5	5.4 ± 0.7 ^{a)}	28.2 ± 6.0 ^{a)}	56	52
1	5	11.7 ± 1.1	52.5 ± 9.1 ^{b)}	4	10
3	5	8.2 ± 1.2 ^{a)}	54.5 ± 9.2	32	7
4	5	12.5 ± 1.6	70.8 ± 8.7 ^{b)}	0	0
5b	5	13.7 ± 2.2	85.1 ± 5.5 ^{a)}	0	0
5h	5	12.3 ± 2.0	69.1 ± 5.2 ^{a)}	0	0

*) Alle Tiere erhielten zusätzlich 50 µg TP/Tag. Signifikanzen: a) p < 0.01, b) p < 0.025.

Verbindung **1** zeigte einen gewissen antagonistischen Effekt. Die Einführung einer Hydroxygruppe [**3**] führte wie schon beim AR-Test zu einer Verstärkung des Effekts, der sich besonders bei den Samenblasen zeigte. Trotz seiner ho-

hen AR-Affinität hat aber **3** im Vergleich zu Flutamid eine wesentlich schwächere antiandrogene Wirkung. Für die Verbindungen **4**, **5b**, **5h** konnten trotz der nachweisbaren AR-Affinitäten keine antiandrogenen Wirkungen festgestellt werden.

Durch die Bestimmung der AR-Affinitäten kann nicht zwischen Agonisten und Antagonisten unterschieden werden. Nach Tabelle 2 erhöhten einige Verbindungen die Organgewichte im Vergleich zum Standard. Eine Untersuchung der möglichen androgenen Effekte lag daher nahe. Keine der getesteten Verbindungen (**4**, **5b**, **5h**) hatte jedoch eine stark stimulierende Wirkung auf die akzessorischen Sexualorgane der kastrierten juvenilen Ratte.

Tab. 3: Androgene Wirkung der Verbindungen **4**, **5b**, **5h** an der kastrierten juvenilen Ratte

Gruppe	Dosis (mg)	Organgewicht (mg/100 g Körpergew.)		% Androgene Wirkung	
		SB	Pr	SB	Pr
Kastration	—	2.2 ± 0.4	11.6 ± 1.3	0	0
Standard*)	—	12.2 ± 1.7	58.5 ± 2.9	100	100
4	5	2.9 ± 0.8	11.9 ± 1.6	7	1
5b	5	2.3 ± 1.0	12.4 ± 1.4	1	2
5h	5	2.0 ± 0.4	11.6 ± 0.7	0	0

*) Die Standardgruppe erhält täglich 50 µg TP.

Experimenteller Teil

Chemikalien: Fa. Janssen, Fa. Aldrich, Fa. Merck. – Schmp.: Büchi 510 Apparat (unkorrigiert). – IR-Spektren: Beckman Acculab 7. – ¹H-NMR Spektren: Varian EM 360 A-HPLC: LKB 2150 Pumpe; LKB 2140 Spektraldetektor, Wavescan 2140–202: 220–330 nm; Säule: Lichrosorb RP 18, 10 µm. – Elementaranalysen: Mikroanalyt. Labor, Univ. Regensburg. – Massenspektren: Varian MAT CH 5.

Synthese der Anilide **1**, **2**, **4**, **4b–h**, **6a–b**

Zur Synthese der Anilide werden 0.01 mol des entspr. Anilins und 0.01 mol Säurehalogenid unter Zusatz von 1.8 g N,N-Dimethylanilin (0.015 mol) und 20 ml Dioxan 1 h bei 60 °C gehalten. Durch Zugabe kalter 10 proz. HCl wird hydrolysiert. Das Produkt wird mit Essigester extrahiert, mit 10 proz. HCl, dann mit 10 proz. NaOH gewaschen, mit Wasser neutral gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Essigesters wird aus 70 proz. Ethanol umkristallisiert.

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-cyclohexanoylamid (**1**)

Ausb. 87 %, Schmp. 128–130 °C, C₁₄H₁₅F₃N₂O₃ (316.3). – MS: (m/z) = 316 (M⁺). – Ber. C 53.1 H 4.79 N 8.8 Gef. C 53.1 H 4.75 N 8.8. – IR (KBr): 3340 (NH), 1685 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 0.98–2.67 (m; 11 H), 7.93–8.23 (m; 4 H arom., NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-α-bromocyclohexanoylamid (**2**)

Ausb. 95 %, Schmp. 112–115 °C, C₁₄H₁₄BrF₃N₂O₃ (395.2). – IR (KBr): 3280 (NH), 1670 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 0.97–2.33 (m; 10 H), 7.88–8.10 (m; 3 H arom., NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-benzamid (**4**)

Ausb. 86 %, Schmp. 129 °C, C₁₄H₉F₃N₂O₃ (310.2). – MS: (m/z) = 310 (M⁺). – Ber. C 54.20 H 2.93 N 9.03 Gef. C 54.07 H 3.04 N 8.98. – IR (KBr): 3410 (NH), 1690 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.38–8.23 (m; 8 H arom., NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2-methoxybenzamid (**4b**)

Ausb. 92 %, Schmp. 156–157 °C, C₁₅H₁₁F₃N₂O₄ (340.3). – IR (KBr): 3330 (NH), 1685 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 4.12 (s; OCH₃), 7.07–8.42 (m; 7 H arom.), 10.42 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-3-methoxybenzamid (**4c**)

Ausb. 84 %, Schmp. 131 °C, C₁₅H₁₁F₃N₂O₄ (340.3). – IR (KBr): 3430 (NH), 1690 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.92 (s; OCH₃), 7.10–7.50 (m; 4 H arom.), 8.10–8.28 (m; 3 H arom.), 8.60 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-4-methoxybenzamid (**4d**)

Ausb. 89 %, Schmp. 112–114 °C, C₁₅H₁₁F₃N₂O₄ (340.3). – IR (KBr): 3320 (NH), 1670 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.92 (s; OCH₃), 7.00 (d; J = 9 Hz, 2 H arom.), 7.83–8.17 (m; 5 H arom.), 7.00, 7.92 (AB, J = 9 Hz), 8.60 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,3-dimethoxybenzamid (**4e**)

Ausb. 92 %, Schmp. 128–131 °C, C₁₆H₁₃F₃N₂O₅ (370.3). – IR (KBr): 3290 (NH), 1690 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 4.10 (s; OCH₃), 4.13 (s; OCH₃), 7.15–7.38 (m; 2 H arom.), 7.62–8.32 (m; 4 H arom.), 10.57 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,4-dimethoxybenzamid (**4f**)

Ausb. 79 %, Schmp. 174–175 °C, C₁₆H₁₃F₃N₂O₅ (370.3). – IR (KBr): 3350 (NH), 1680 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.85 (s; OCH₃), 4.05 (s; OCH₃), 6.53–6.77 (m; 2 H arom.), 8.00–8.32 (m; 4 H arom.), 10.18 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,5-dimethoxybenzamid (**4g**)

Ausb. 70 %, Schmp. 178–179 °C, C₁₆H₁₃F₃N₂O₅ (370.3). – IR (KBr): 3315 (NH), 1685 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.90 (s; OCH₃), 4.13 (s; OCH₃), 7.15–7.20 (m; 2 H arom.), 7.92 (d; J = 2 Hz, 1 H arom.), 8.17–8.25 (m; 3 H arom.), 10.58 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,6-dimethoxybenzamid (**4h**)

Ausb. 63 %, Schmp. 180–181 °C, C₁₆H₁₃F₃N₂O₅ (370.3). – IR (KBr): 3260 (NH), 1670, 1685 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.90 (s; OCH₃, 6 H), 6.60 (d; J = 9 Hz, 2 H arom.), 7.33 (dd; J = 9/2 Hz, 1 H arom.), 7.92–8.12 (m; 3 H arom.).

N-(3,4-Dichlorphenyl)-2-methoxybenzamid (**6a**)

Ausb. 93 %, Schmp. 169–172 °C, C₁₄H₁₁Cl₂N₂O₂ (296.2). – IR (KBr): 3360 (NH), 1675 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 4.02 (s; OCH₃), 6.88–7.65 (m; 5 H arom.), 7.93 (d; J = 2 Hz, 1 H arom.), 8.23 (dd; J = 9/2 Hz, 1 H arom.), 9.68 (s; NH).

N-(3,4,5-Trichlorphenyl)-2-methoxybenzamid (**6b**)

Ausb. 82 %, Schmp. 177–180 °C, C₁₄H₁₀Cl₃N₂O₂ (316.6). – IR (KBr): 3320 (NH), 1675 (CO). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 4.12 (s; OCH₃), 6.98–7.73 (m; 3 H arom.), 7.87 (s; 2 H arom.), 8.32 (dd; J = 9/2 Hz, 1 H arom.), 9.97 (s; NH).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-α-hydroxycyclohexanoylamid (**3**)

0.01 mol der Bromverbindung **2** in 50 ml Dioxan werden zu einer Suspension von 0.05 mol frisch gefälltem Silberoxid⁷⁾ in 50 ml Wasser gegeben. Die Suspension wird 20 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird filtriert. Der Rückstand wird mit Essigester gewaschen und das Filtrat mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigesterextrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingedunstet. Der Rückstand wird mit CH₂Cl₂ über Kieselgel 60 (Merck) chromatographiert. Ausb. 31 %, Schmp.

144–146 °C, $C_{14}H_{15}F_3N_2O_4$ (332.3). Ber. C 50.6 H 4.56 N 8.4 Gef. C 50.8 H 4.67 N 8.3. – MS: (m/z) = 332 (M^{+}). – IR (KBr): 3415 (OH), 3340 (NH), 1685 (CO). – 1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 0.93–2.27 (m; 10 H), 2.52 (s; OH), 7.85–8.00 (m; 3 H arom.), 9.15 (s; NH).

Synthese der Endverbindungen 5b–h, 7a–b

Eine Lösung von 0.05 mol Methoxyverbindung in 75 ml absol. CH_2Cl_2 wird mit Aceton-Trockeneis auf –60 °C gekühlt. Unter N_2 gibt man 0.1 mol BBr_3 bei Monomethoxy- und 0.2 mol BBr_3 bei Dimethoxyverbindungen zu. Nach 30 min wird das Kältebad entfernt und 4 h bei Raumtemp. gerührt. Danach wird im N_2 -Strom mit wenig Methanol hydrolysiert. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Essigester gelöst und mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel abgezogen und mit CH_2Cl_2 /Ethanol 19:1 über Kieselgel 60 chromatographiert.

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2-hydroxybenzamid (5b)

Ausb. 57 %, Schmp. 144–146 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_4$ (326.2). Ber. C 51.5 H 2.79 N 8.6 Gef. C 51.4 H 2.84 N 8.6. – MS: (m/z) = 326 (M^{+}). – IR (KBr): 3400–2600 (NH, OH), 1650 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.92–8.58 (m; 7 H arom.).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-3-hydroxybenzamid (5c)

Ausb. 57 %, Schmp. 239–241 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_4$ (326.2). Ber. C 51.5 H 2.79 N 8.6 Gef. C 51.3 H 3.04, N 8.3. – MS: (m/z) = 326 (M^{+}). – IR (KBr): 3500–2800 (NH, OH), 1660 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 7.08–7.72 (m; 4 H arom.), 8.18–8.67 (m; 3 H arom.).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-4-hydroxybenzamid (5d)

Ausb. 63 %, Schmp. 231 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_4$ (326.2). Ber. C 51.5 H 2.79 N 8.6 Gef. C 51.6 H 3.36 N 8.3. – MS: (m/z) = 326 (M^{+}). – IR (KBr): 3415 (NH), 3500–3100 (OH), 1660 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): 7.10 (d; J = 9 Hz, 2 H arom.), 7.98–8.65 (m; 5 H arom.), darunter 7.10, 8.10 (AB, J = 9 Hz).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,3-dihydroxybenzamid (5e)

Ausb. 87 %, Schmp. 194–196 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_5$ (342.2). Ber. C 49.1 H 2.66 N 8.2 Gef. C 49.1 H 2.75 N 8.1. – MS: (m/z) = 342 (M^{+}). – IR (KBr): 3600–2900 (NH, OH), 1665 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.73–8.50 (m; 6 H arom.).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,4-dihydroxybenzamid (5f)

Ausb. 75 %, Schmp. 247–251 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_5$ (342.2). Ber. C 49.1 H 2.66 N 8.2 Gef. C 49.3 H 3.00 N 8.2. – MS: (m/z) = 342 (M^{+}). – IR (KBr): 3550–3000 (NH, OH), 1660 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.47–6.64 (m; 2 H arom.), 7.90–8.50 (m; 4 H arom.).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,5-dihydroxybenzamid (5g)

Ausb. 85 %, Schmp. 250–254 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_5$ (342.2). Ber. C 49.1 H 2.66 N 8.2 Gef. C 49.3 H 2.82 N 8.0. – MS: (m/z) = 342 (M^{+}). – IR (KBr): 3520 (NH), 3600–2900 (NH, OH), 1660 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.82–7.15 (m; 2 H arom.), 7.53 (d; J = 2 Hz, 1 H arom.), 8.08–8.55 (m; 3 H arom.).

N-(4-Nitro-3-trifluormethylphenyl)-2,6-dihydroxybenzamid (5h)

Ausb. 45 %, Schmp. 224–227 °C, $C_{14}H_9F_3N_2O_5$ (342.2). Ber. C 49.1 H 2.66 N 8.2 Gef. C 49.3 H 2.75 N 8.1. – MS: (m/z) = 342 (M^{+}). – IR (KBr): 3600–2900 (NH, OH), 1645 (CO). 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.60 (d; J = 9 Hz, 2 H arom.), 7.22–7.48 (m; 1 H arom.), 8.28–8.47 (m; 3 H arom.).

N-(3,4-Dichlorphenyl)-2-hydroxybenzamid (7a)

Ausb. 89 %, Schmp. 212–213 °C, $C_{13}H_9Cl_2NO_2$ (282.1). Ber. C 55.3 H 3.24 N 5.0 Gef. C 55.1 H 3.17 N 4.9. – MS: (m/z) = 281; 283; 285 (M^{+}). – IR (KBr): 3400–2400 (NH, OH), 1640 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.92–8.30 (m; 7 H arom.).

N-(3,4,5-Trichlorphenyl)-2-hydroxybenzamid (7b)

Ausb. 70 %, Schmp. 246–248 °C, $C_{13}H_5Cl_3NO_2$ (316.6). Ber. C 49.3, H 2.55, N 4.4 Gef. C 49.2, H 2.66, N 4.2. – MS: (m/z) = 315, 317, 319, 321 (M^{+}). – IR (KBr): 3400–2400 (NH, OH), 1640 (CO). – 1H -NMR (d_6 -Aceton): δ (ppm) = 6.95–8.13 (m; 4 H arom.), 8.25 (s; 2 H arom.).

Affinität zu Steroidhormonrezeptoren

Die relativen Bindungsaffinitäten (RBA-Werte) werden nach beschriebenen Methoden bestimmt⁸⁾. Als Rezeptorquelle dient Kalbsuteruscytosol. Folgende Radioliganden werden verwendet: [3H]-Mibolerone (AR), [3H]-Estradiol (ER) und [3H]-R5020 (PR). Die Menge an gebundenem Radioligand wird durch die DCC (dextran-coated charcoal)-Methode bestimmt. Als Standards (RBA = 100) dienen Testosteron (AR), Estradiol (ER) und Progesteron (PR).

Antiandrogene Wirkung an der juvenilen Ratte

Juvenile Ratten, Fa. Ivanovas, 24 d alt, 6–7 Tiere/Gruppe werden verwendet. Die Standardgruppe erhält täglich 50 μ g Testosteronpropionat (TP). Alle übrigen Gruppen erhalten täglich zusätzlich zu den 50 μ g TP die angegebene Menge Testsubstanz in 0.1 ml Olivenöl p. A., Therapie-dauer 7 d, subcutane Injektion. Zu Ende des Versuches (8. Tag) werden die Tiere getötet und die Samenblasen (SB) und Prostatae (Pr) entnommen. Die Prostatae werden nach Entfernung anhängenden Gewebes naß gewogen. Die Samenblasen werden in Bouin'scher Lösung fixiert und nach Entfernung der Koagulationsdrüse und anhängenden Gewebes 12 h bei 100 °C getrocknet und dann gewogen.

Androgene Wirkung an der kastrierten juvenilen Ratte

Juvenile Ratten werden 1 d vor Versuchsbeginn kastriert. Die Kastrationsgruppe erhält täglich 0.1 ml Olivenöl, die Standardgruppe 50 μ g TP, die Testgruppen 5 mg der Testsubstanzen in 0.1 ml Olivenöl. Versuchsdurchführung wie beim Test auf antiandrogene Wirkung.

Literatur

- 1 V. Petrow, Prostate 9, 343 (1986).
- 2 P. Thorpe, Drugs Future, 1, 108 (1976).
- 3 A. T. Glen, L. R. Hughes, J. J. Morris und P. J. Taylor, Third SCI-RSC Medical Chemistry Symposium, S. 345, The Royal Society of Chemistry, Burlington House, London 1985.
- 4 K. Shida, H. Yamanaka, A. Koya, K. Wakabayashi, H. Mori, K. Shibata und E. Shimazawa, Endocrinol. Japon. 27, 69 (1980); C. A. 93, 1061c (1980).
- 5 R. G. Jones, J. Am. Chem. Soc. 69, 2364 (1947).
- 6 H. Hofmann, in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, 6/1a, Alkohole I, S. 186, G. Thieme Verlag, Stuttgart 1979.
- 7 G. Brauer, Handbuch der präp. anorg. Chemie 2, S. 998, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1978.
- 8 M. R. Schneider, E. von Angerer, W. Höhn und F. Sinowatz, Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 23, 1005 (1987).

[Ph 427]