ČESKÁ REPUBLIKA

(19)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 1495-93

(13) A3

5(51) C 07 J 71/00

(22) 29.01.92

(32) 29.01.92, 04.02.91

(31) 92SE/9200056, 91/9100342

(33) WO, SE

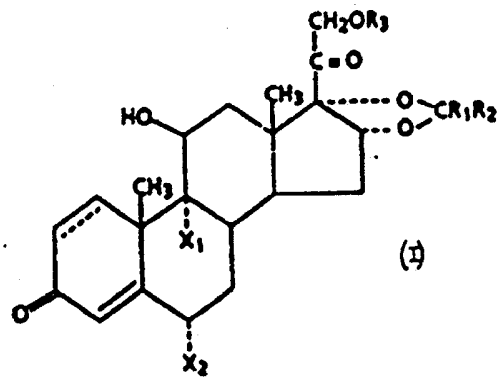
(40) 16.03.94

(71) Aktiebolag ASTRA, Sodertalje, SE;

(72) Axelsson Bengt, Genarp, SE;
Brattsaand Ralph, Lund, SE;
Kallstrom Leif, Sodra Sandby, SE;
Thalén Arne, Bjarred, SE;

(54) Nové steroid-estery

(57) Jsou popsány sloučeniny obecného vzorce I, jejíž vzorec v poloze 1,2 je nasycen nebo obsahuje dvojnou vazbu, kde R_1 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, R_2 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, R_3 znamená acylovou skupinu, X_1 znamená atom vodíku nebo atom halogenu, X_2 znamená atom vodíku nebo atom halogenu, s podmínkou, že 1) R_1 a R_2 neznamenají současně atomy vodíku, 2) X_1 a X_2 neznamenají současně atomy vodíku, 3) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu R_1 a R_2 neznamenají současně methylové skupiny, 4) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 znamená atom vodíku a R_2 znamená přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, R_3 znamená acylovou skupinu s 11 až 20 atomy uhlíku, způsoby jejich výroby a farmaceutické prostředky, které je obsahují. Tyto sloučeniny je možné používat k ošetřování zánětlivých a alergických stavů.



(I)

PV 1485-93

Nové steroid-estery

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových protizánětlivě a antialergicky účinných sloučenin a způsobů jejich výroby. Tento vynález se také týká farmaceutických prostředků, které obsahují tyto sloučeniny a způsobů farmakologického použití těchto sloučenin.

Předmětem tohoto vynálezu je získání protizánětlivě, k překonání imunity a antialergicky působících glukokortikosteroidů nebo farmaceutického prostředku obsahujícího tyto sloučeniny, s vysokým účinkem v místě použití, například v dýchacím traktu, na kůži, v intestinálním traktu, v kloubech nebo v oku, při zavedení léčivé látky do vymezené cílové oblasti použití, čímž se vyvolávají glukokortikoidem v nízké dávce systémové účinky.

Další znak tohoto vynálezu se týká farmaceutického prostředku, který obsahuje liposomy včetně farmakologicky účinných steroid-esterů mastných kyselin podle tohoto vynálezu, za účelem zlepšeného dodávání léčivé látky a snížení bočních účinků při terapii.

Dosavadní stav techniky

Glukokortikosteroidy (GCS) jsou velmi hodnotné léčivé látky, které přinášejí úlevu při astmatu a zánětu sliznice nosní. Všeobecně se uznává, že glukokortikosteroidy uplatňují svou terapeutickou účinnost protizánětlivými a antianafylaktickými účinky v dýchacích cestách a plicní tkáni. Dlouhodobému orálnímu používání glukokortikosteroidů velmi vadí vážné vedlejší účinky mimo oblast plic. Proto pouze malá část pacientů trpících astmatem nebo zánětem sliznice nosní se

v současné době podrobuje orální terapii glukokortikosteroidy. Lepší bezpečnosti se může dosáhnout při uvolňování glukokortikosteroidů inhalací. Avšak také účinné inhalované glukokortikosteroidy, nyní široce klinicky používané, kterými je 17α,21-dipropionát beklomethasonu a budesoind, mají spíše úzké hranice bezpečné únosnosti a v obou případech pro nežádoucí účinky glukokortikosteroidů v oběhovém systému se uvádějí s nejvyššímu doporučenými dávkami pro inhalace.

Liposomy jsou měchýřkům podobné membrány, sestávající z řady koncentrických lipidových dvojných vrstev střídajících se s hydrofilními úseky. Liposomy se používají jako nosné látky pro různé druhy farmaceuticky účinných sloučenin, ke zlepšení dodávání léčivé látky a snížení vedlejších účinků při terapii.

Glukokortikosteroidy se zavádějí do liposomů pouze v nízké koncentraci a slabě se zachycují v měchýřcích. Esterifikace glukokortikosteroidů v poloze 21 mastnými kyselinami zvyšuje stupeň zavedení a zachycení steroidu v měchýřcích. Bylo zjištěno, že řetězec mastné kyseliny působí jako hydrofilní "kotva", která udržuje jádro steroidu v hlavních hydratovaných polárních skupinách fosfolipidu a tím zvyšuje vzájemné působení mezi glukokortikosteroidem a liposomem.

Glukokortikosteroidy enkapsulované v liposomech pro terapeutické použití popsal M. De Silva a kol. v Lancet 8130, 1320 /1979/. V US patentu č. 4 693 999 se popisují liposomové prostředky s glukokortikosteroidy pro inhalace.

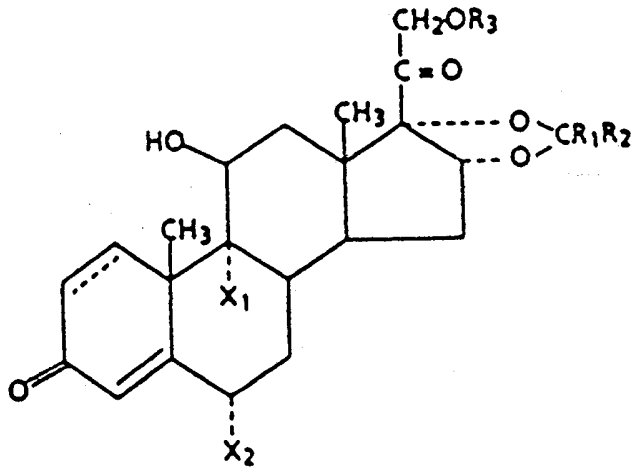
Podstata vynálezu

Záměrem tohoto vynálezu je poskytnout nové glukokortikosteroidové sloučeniny. Tyto sloučeniny jsou

charakterizovány vysokým protizánětlivým, imonusupresivním a antianafylaktickým účinkem v aplikovaném místě a zvláště mají zřetelně zlepšený vztah mezi schopností a aktivitou vyvolat glukokortikosteroidové účinky mimo ošetřovanou oblast. Výhodným způsobem podávání nových sloučenin je inhalace, pokud místo aplikace je v dýchacích cestách.

Jiný znak tohoto vynálezu se týká protizánětlivého a antialergického farmaceutického prostředku obsahujícího steroid-ester liposomy, který je určen pro lokální podávání především do respiračního traktu. Takový prostředek umožňuje zlepšení terapeutických vlastností steroid-esteru prodloužením lokální retence v dýchacích cestách a zaměření léčivé látky na zvláště cílené buňky.

Sloučeniny podle vynálezu se vyznačují obecným vzorce I



(I)

nebo jde o její stereoisomerní složku, jejíž vzorec v poloze 1,2 je nasycen nebo obsahuje dvojnou vazbu, kde

R_1 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku,

R_2 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, obsahující od 1 do 10 atomů uhlíku,

R_3 znamená acylovou skupinu, obsahující přímý nebo rozvětvený, nasycený nebo nenasycený uhlovodíkový řetězec s 1 až 20 atomy uhlíku,

X_1 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

X_2 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

s podmínkou, že
1) R_1 a R_2 neznamenají současně atomy vodíku,
2) X_1 a X_2 neznamenjí současně atomy vodíku,
3) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 a R_2 neznamenají současně methylové skupiny,
4) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 znamená atom vodíku a R_2 znamená přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, R_3 znamená acylovou skupinu s 11 až 20 atomy uhlíku.

Acylová skupina je odvozena od

CH_3COOH	kyseliny octové,
C_2H_5COOH	kyseliny propionové,
C_3H_7COOH	kyseliny máselné,
C_4H_9COOH	kyseliny valerové,
$C_5H_{11}COOH$	kyseliny hexanové,
$C_6H_{13}COOH$	kyseliny heptanové,
$C_7H_{15}COOH$	kyseliny oktanové,
$C_8H_{17}COOH$	kyseliny nonanové,
$C_9H_{19}COOH$	kyseliny dekanové,
$C_{10}H_{19}COOH$	kyseliny kaprinové,

$C_{11}H_{23}COOH$	kyseliny laurové,
$C_{12}H_{25}COOH$	kyseliny tridekanové,
$C_{13}H_{27}COOH$	kyseliny myristové,
$C_{14}H_{29}COOH$	kyseliny pentadekanové,
$C_{15}H_{31}COOH$	kyseliny palmitové,
$C_{16}H_{33}COOH$	kyseliny heptadekanové,
$C_{17}H_{35}COOH$	kyseliny stearové,
$C_{17}H_{33}COOH$	kyseliny olejové,
$C_{17}H_{31}COOH$	kyseliny linolové,
$C_{17}H_{29}COOH$	kyseliny linolenové,
$C_{18}H_{37}COOH$	kyseliny nonadekanové a
$C_{19}H_{39}COOH$	kyseliny ikosanové.

Výhodné acylové skupiny jsou odvozeny od

$C_{11}H_{23}COOH$	kyseliny laurové,
$C_{13}H_{27}COOH$	kyseliny myristové,
$C_{15}H_{31}COOH$	kyseliny palmitové,
$C_{17}H_{35}COOH$	kyseliny stearové,
$C_{17}H_{33}COOH$	kyseliny olejové,
$C_{17}H_{31}COOH$	kyseliny linolové,
$C_{17}H_{29}COOH$	kyseliny linolenové a

zvláště od kyseliny palmitové.

Přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 4 atomy uhlíku je výhodně alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, zvláště methylová skupina.

Přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 10 atomů uhlíku je výhodně alkylová skupina s 1 až 10 atomy uhlíku, zvláště s 1 až 4 atomy uhlíku, obzvláště methylová nebo propylová skupina.

Atomem halogenu je v popise tohoto vynálezu atom fluoru, chloru nebo bromu. Výhodným atomem halogenu je atom

fluoru.

Výhodné sloučeniny podle vynálezu jsou takové sloučeniny obecného vzorce I, kde

poloha 1,2 je nasycena,

R_1 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec s 1 až 4 atomy uhlíku,

R_2 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec s 1 až 10 atomy uhlíku,

R_3 znamená acylovou skupinu obsahující přímý nebo rozvětvený, nasycený nebo nenasycený uhlovodíkový řetězec s 1 až 20 atomy uhlíku,

X_1 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

X_2 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

za předpokladu, že

1) R_1 a R_2 neznamenají současně atom vodíku a

2) X_1 a X_2 neznamenají současně atom vodíku.

Zvláště výhodné sloučeniny podle vynálezu jsou sloučeniny, kde v obecném vzorci I

poloha 1,2 je nasycena,

R_1 znamená atom vodíku,

R_2 znamená propylovou skupinu,

R_3 představuje acylovou skupinu s 11 až 20 atomu uhlíku,

X_1 znamená atom fluoru a

X_2 znamená atom fluoru.

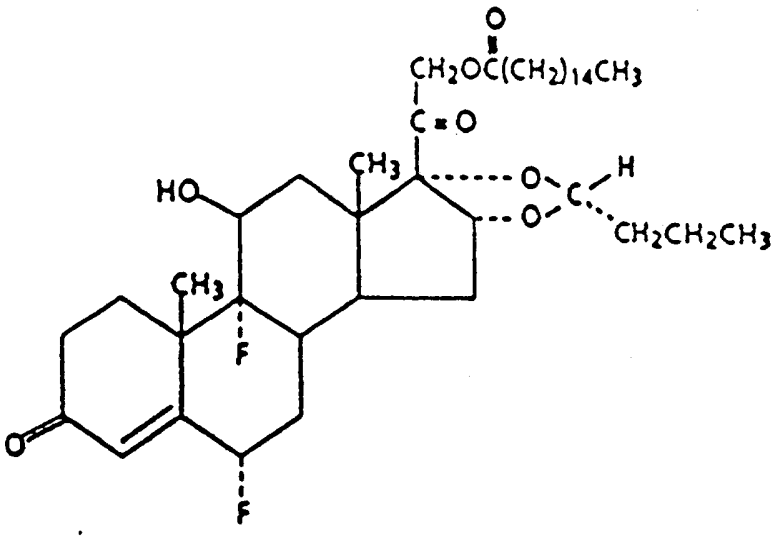
Další výhodnou sloučeninou podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce I, kde

poloha 1,2 je dvojná vazba,

R_1 znamená atom vodíku,

R_2 znamená propylovou skupinu,
R_3 znamená palmitoylovou skupinu,
X_1 představuje atom fluoru a
X_2 znamená atom fluoru.

Nejvýhodnější sloučeninou podle vynálezu je sloučenina vzorce

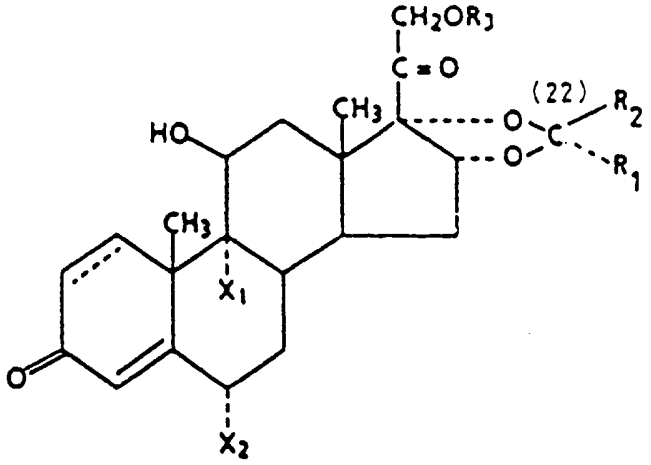


Výhodné provedení tohoto vynálezu zahrnuje prostředek, který obsahuje výhodnou sloučeninu podle vynálezu v kombinaci s liposomy.

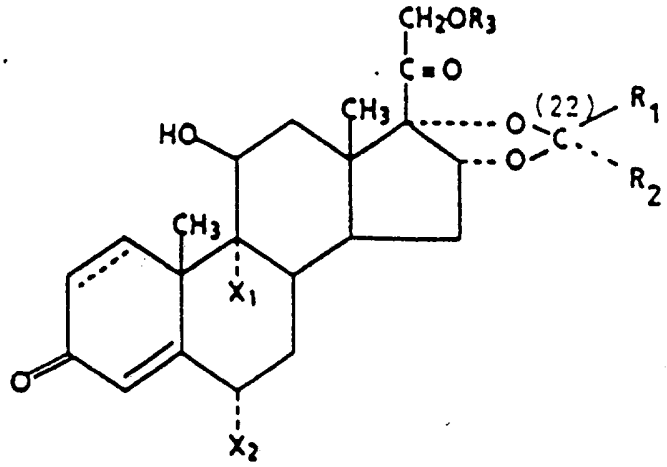
Například pokud se předmět tohoto vynálezu se týká farmaceutického prostředku obsahujícího liposomy, účinnou sloučeninou v prostředku by měla být sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R_3 znamená acylovou skupinu s 11 až 20 atomy uhliku.

Například jestliže se předmět vynálezu týká farmaceutického prostředku bez liposomů, účinnou sloučeninou v prostředku by měla být sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R_3 znamená acylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku, výhodně s 5 až 10 atomy uhlíku.

Jednotlivé stereoisomerní složky přítomné ve směsi stereoidu výše uvedeného vzorce I se mohou objasnit dále popsaným způsobem na základě chirality na atomu uhlíku v poloze 22 a s ohledem na substituent R_2.



(epimer 22 S)

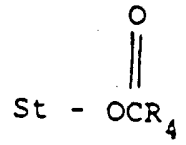


(epimer 22 R)

Výhodná stereoisomerní složka má konfiguraci 22R.

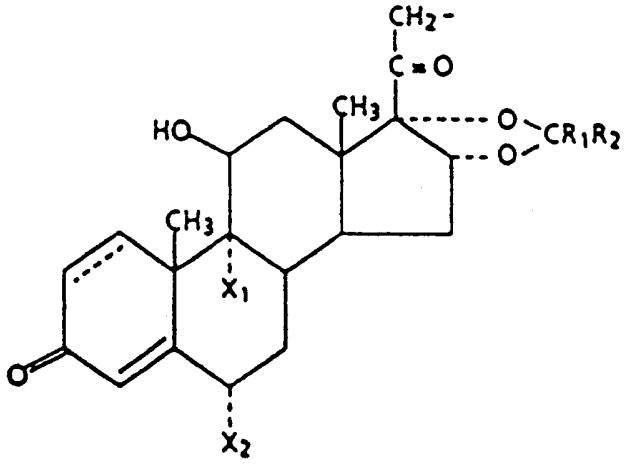
Způsoby výroby

Steroid-estery obecného vzorce



ve kterém

St znamená zbytek vzorce



a X_1, X_2, R_1 a R_2 mají významy uvedené výše a

R_4 znamená přímou nebo rozvětvenou, nasycenou nebo nenasycenou alkylovou skupinu s 1 až 19 atomy uhlíku a

poloha 1,2 je nasycena nebo představuje dvojnou vazbu,

se vyrobí některou z dále poopsaných alternativních metod.

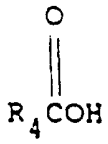
A) Sloučenina obecného vzorce

St-OH

ve kterém

St má význam uvedený výše,

se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce



ve kterém

R_4 má význam uvedený výše.

Esterifikace 21-hydroxysloučeniny se může provádět známým způsobem, například reakcí základního 21-hydroxysteroidu s příslušnou karboxylovou kyselinou, účelně v přítomnosti anhydridu kyseliny trifluoroctové, a výhodně za přítomnosti kyselého katalyzátoru, například kyseliny p-toluensulfonové.

Tato reakce se s výhodou provádí v organickém rozpouštědle, jako je benzen nebo methylenchlorid, přičemž reakce se obvykle provádí za teploty od 20 do 100 °C.

B) Sloučenina obecného vzorce

St-OH

ve kterém

St má význam uvedený výše,

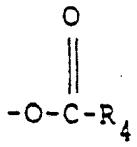
se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce



ve kterém

R_4 má význam uvedený výše a

X znamená atom halogenu, jako atom chloru, bromu, jodu nebo fluoru, nebo skupinu vzorce



kde R_4 má význam uvedený výše.

Základní 21-hydroxysloučenina se může zpracovat s příslušným halogenidem nebo anhydridem kyseliny karboxylové, výhodně v rozpouštědle, jako je halogenovaný uhlovodík, například methylenchlorid nebo v etherech, například dioxanu, v přítomnosti báze, jako triethylaminu nebo pyridinu, výhodně za nízké teploty, například od -5 do +30 °C.

C) Sloučenina obecného vzorce

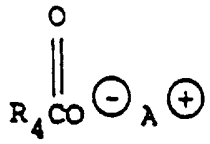
St - Y

ve kterém

St má význam uvedený výše a

Y je zvolen ze souboru zahrnujícího atom halogenu, například atom chloru, bromu nebo jodu, nebo mesylát nebo p-toluensulfonát,

se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce



ve kterém

R_4 má význam uvedený výše a

A^+ znamená kation.

Sůl příslušné karboxylové kyseliny s alkalickým kovem, například sůl lithná, sodná nebo draselná nebo sůl triethylamonná nebo tributylamonná se může nechat reagovat s příslušným alkylačním činidlem obecného vzorce St-Y. Reakce se výhodně provádí v polárním rozpouštědle, jako je aceton, methylethylketon, dimethylformamid nebo dimethylsulfoxid, obvykle za teploty v rozmezí od 25 do 100 °C.

Při libovolném ze způsobů A až C se může provést konečný stupeň, vedoucí k rozštěpení epimerní směsi na své složky, v případě, že je žádoucí čistý epimer.

Farmaceutické prostředky

Sloučeniny podle tohoto vynálezu se mohou používat k různým způsobům lokálního podávání v závislosti na místě zánětu, například perkutánně, parenterálně nebo pro místní podání v dýchacím traktu inhalačně. Důležitým cílem u prostředku navrženého k tomuto použití je dosažení optimální biologické dostupnosti aktivního steroidu jako účinné složky. Pro perkutánní prostředky se toto výhodně dosáhne, pokud se steroid rozpustí s vysoce termodynamickou aktivitou v pomocné látce sloužící k zředění a snadnější

přípravě a podávání léku (vehikulu). To se dosahuje použitím výhodného systému nebo rozpouštědel, zahrnujících vhodné glykoly, jako je propylenglykol nebo 1,3-butandiol, buď jako takové nebo v kombinaci s vodou.

Je také možné rozpustit steroid buď úplně nebo částečně v lipofilní fázi za pomoci povrchově aktivní látky jako solubizéru. Perkutánní prostředky mohou být ve formě masti, krému tvořeného olejem ve vodě, krému tvořeného vodou v oleji nebo lotionu. V emulzních systémech na bázi pomocné látky, obsahujících rozpuštěnou účinnou složku, se může vytvořit disperzní fáze stejně jako fáze kontinuální.

Steroid může také se vyskytovat ve výše uvedených prostředcích jako mikronizovaná, tuhá látka.

Přetlakové aerosoly, které obsahují steroid, jsou určeny pro orální nebo nasální inhalaci. Aerosolový systém je navrhován takovým způsobem, že každá uvolňovaná dávka obsahuje od 1 do 1000 µg, výhodně od 20 do 250 µg aktivního steroidu. Zvláště účinné steroidy se podávají v nižší části dávkového rozmezí. Mikronizovaný steroid sestává z částic, které jsou v podstatě menší než 5 µm, a které jsou suspendovány ve směsi vynášecích plynů pomocí dispergačního činidla, jako trioleátu sorbitanu, kyseliny olejové, lecithinu nebo sodné soli kyseliny dioktylsulfojantarové.

Steroid se může také podávat pomocí inhalátoru suchého prášku.

Jednou z možností je smísit mikronizovaný steroid s nosnou látkou, jako je laktóza nebo glukóza. Prášková směs se uloží v tvrdých želatinových kapslích, z nichž každá obsahuje požadovanou dávku steroidu. Kapsle se potom umístí do inhalátoru prášku a dávka se inhaluje do dýchacích cest

pacienta.

Jiná možnost spočívá ve způsobu mikronizace prášku na kuličky, které se rozptylují během způsobu dávkování. Tento sferonizovaný prášek se potom plní do zásobníku léčivé látky v inhalátoru pro větší počet dávek, jako je například Turbuhaler. Dávkovací jednotka odměřuje požadovanou dávku, kterou potom inhaluje pacient. S tímto systémem se steroid dostává k pacientovi s nosnou látkou nebo bez ní.

Steroid může být také obsažen v prostředcích určených k ošetřování zánětlivých chorob střev, které se podávají buď orální cestou nebo rektálně. Prostředky pro podání orální cestou by měly být upraveny tak, aby se steroid dostával do zanícených částí střeva. Toho se může dosáhnout rozdílnými kombinacemi pro enterální a/nebo pomalé nebo řízené uvolňování účinné látky. Pro rektální cestu jsou vhodné prostředky typu klyzmy.

Příprava liposomových prostředků

Lecitiny používané při tomto vynálezu mají řetězce mastných kyselin o různých délkách, a proto mají rozdílné teploty fázového přechodu. Příklady používaných lecitinů jsou lecitiny získávané z vajec a sojového bobu a dále syntetické lecitiny, jako dimyristoylfosfatidylcholin (DMPC), dipalmitoylfofatidylcholin (DPPC) a distearoylfosfatidylcholin (DSPC). Úpravou struktury by se mohly formulovat stabilní nosné látky pro lecitiny, s proměnnými biologicky degradovatelnými vlastnostmi. To by umožnilo prodloužit uvolňování zachyceného steroid-esteru.

Rozsah vzájemného působení steroid-esteru například s dipalmitoylfosfatidylcholinovými měchýřky je závislý na délce esterového řetězce, a zvyšující se vzájemné působení se

pozoruje jak řetězec roste.

Zahrnutí cholesterolu nebo cholesterolových derivátů do liposomových prostředků je zcela běžné v důsledku jejich vlastností, které zvyšují stabilitu liposomu.

Po počátečních stupních výroby liposomů podle tohoto vynálezu mohou obvykle následovat způsoby popsané v literatuře, to znamená, že se provede rozpuštění složek v rozpouštědle, například ethanolu nebo chloroformu, které se potom odpaří. Výsledná lipidová vrstva se poté disperguje ve zvoleném vodném prostředí a nato se roztok buď třepe nebo vystaví působení ultrazvuku. Liposomy podle tohoto vynálezu mají s výhodou průměru od 0,1 do 10 μm.

Kromě hlavního lipidu nebo hlavních lipidů tvořících liposom, kterým je obvykle fosfolipid, mohou být také zahrnuty jiné lipidy (například cholesterol nebo stearát cholesterolu) v množství od 0 do 40 % hmotnostních, vztaženo na veškeré lipidy, k úpravě struktury liposomové membrány. Pro optimalizaci absorpce liposomu se může vpravit třetí složka, která poskytuje negativní náboj (například dipalmitoylfosfatidylglycerol) nebo kladný náboj (například stearylaminacetát nebo cetylpyridiniumchlorid).

Během přípravy se může používat širokého rozmezí poměrů steroid-esteru k lipidu, v závislosti na použitém lipidu a použitých podmínkách. Sušené (lyofilizované nebo rozstřikováním sušené) liposomy se mohou používat v přítomnosti laktózy, přičemž obsah laktózy je v rozmezí od 0 do 95 %, vztaženo na konečný prostředek.

Prostředek podle tohoto vynálezu, který je zvláště výhodný, obsahuje (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion. Cesty

k podávání využívají aplikaci práškových aerosolů, kapek, mlhového rozprašování a přetlakových aerosolů.

Příklady provedení vynálezu

Tento vynález bude dále ilustrován příklady, které však vynález žádným způsobem neomezují. V příkladech se v průběhu preparativních chromatografických měření používá rychlosti průtoku 2,5 $ml/cm^2.h^{-1}$. Molekulové hmotnosti jsou ve všech případech stanoveny chemickou ionizační hmotnostní spektroskopií (methan slouží jako reagenční plyn) a teploty tání na mikroskopu s topným blokem Leitz Wetzlar. Vysoko účinné kapalinové analýzy (HPLC) se provádějí na sloupci naplněném µBondapak C_{18} (o délce 300 mm a vnitřním průměru 3,9 mm) s rychlostí průtoku 1,0 ml/min a se směsí ethanolu a vody v poměrech od 40 : 60 do 60 : 40 jako mobilní fázi, pokud není uvedeno jinak.

Příklad 1

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 1,2 g palmitoylchloridu v 10 ml dioxanu se přikape k roztoku 200 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α--difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 25 ml pyridinu. Reakční směs se míchá po dobu 16 hodin za teploty místnosti. K reakční směsi se přidá 150 ml methylenchloridu, roztok se promyje 1-molární kyselinou chlorovodíkovou, 5% vodným roztokem uhličitanu draselného a vodou a poté vysuší. Surová látka se po odpaření čistí chromatografií na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 210 až 255 ml se zachytí a odpařením poskytnou 203 mg (22R)-16α,17α-butyliden-dioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-

-3,20-dionu. Teplota tání činí 87 až 90 °C, molekulová hmotnost odpovídá 706 (vypočteno 707,0). Čistota: 96 % (HPLC analýza).

Příklad 2

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

K roztoku 50 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu a 35 mg palmitoylchloridu v 10 ml methylenchloridu se přikape roztok 13 mg triethylaminu ve 2 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 2 hodin. Poté se přidá 50 ml methylenchloridu a reakční směs se zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 85 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 210 až 250 ml se zachytí a odpaří, čímž se dostane 34 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost činí 706 (vypočteno 707,0). Čistota: 95 % (HPLC analýza).

Příklad 3

(22S)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 0,4 ml palmitoylchloridu v 10 ml dioxanu se přikape k roztoku 70 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α--difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu ve 25 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 16 hodin a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 225 až 265

ml se zachytí a odpaří. Tak se dostane 92 mg (22S)-16α,17α--butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu, který je tvořen olejem. Molekulová hmotnost činí 706 (vypočteno 707,0). Čistota: 97 % (HPLC analýza).

Příklad 4

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--myristoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Myristoylchlorid se syntetizuje tím způsobem, že se vaří pod zpětným chladičem směs 7,0 g kyseliny myristové a 9 ml thionylchloridu ve 100 ml trichlorethylenu po dobu 3 hodin. Rozpouštědlo se poté odpaří.

K roztoku 51 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 10 ml methylenchloridu se přidá 32 mg myristoylchloridu a poté 13 mg triethylaminu rozpuštěného v 5 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 4 hodin. Poté se přidá methylenchlorid a směs se postupně promyje 0,1-molární kyselinou chlorovodíkovou a třikrát vždy 50 ml vody. Po vysušení a odpaření se odparek čistí chromatograficky na oxidu křemičitém (Merck Kieselgel 60) za použití směsi heptanu a acetonu v poměru 6 : 4 jako mobilní fáze. Získá se 27 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy--21-myristoyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost činí 678 (vypočteno 678,9). Čistota: 96,8 % (HPLC analýza).

Příklad 5

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--lauroyloxypregn-4-en-3,20-dion

K roztoku 51 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 5 ml methylenchloridu se přidá 28 mg lauroylchloridu a poté 13 mg triethylaminu, který je rozpuštěn ve 2 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 3 hodin, poté se přidá další methylenchlorid a organická fáze se postupně promyje 0,1-molární kyselinou chlorovodíkovou a třikrát vždy 30 ml vody. Po vysušení a odpaření se odparek čistí chromatograficky na oxidu křemičitém (Merck Kieselgel 60) za použití směsi hexanu a acetonu v poměru 6 : 4 jako mobilní fáze. Získaná látka se dále čistí v druhém chromatografickém stupni při použití směsi petroletheru a ethylacetátu v poměru 3 : 2 jako mobilní fáze. Získá se 33 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-lauroyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost činí 650 (vypočteno 650,8). Čistota: 96,9 % (HPLC analýza).

Příklad 6

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

Roztok 2,3 ml palmitoylchloridu v 15 ml dioxanu se přikape k roztoku 700 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu ve 30 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 76 cm a průměru 6,3 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 1020 až 1350 ml se zachytí a odpaří, čímž se získá 752 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dionu. Teplota tání činí 141 až 146 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +71,6 ° (c = 0,204, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 704 (vypočteno 704,9). Čistota: 97,7 % (HPLC analýza).

Příklad 7

(22S)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

Roztok 0,5 ml palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 150 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α--difluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 215 až 315 ml se zachytí a odpaří. Získá se 132 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α--difluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dionu. Teplota tání činí 176 až 180 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +47,5 ° (c = 0,198, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 704 (vypočteno 704,9). Čistota: 99 % (HPLC analýza).

Příklad 8

(22R)-21-Acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β--hydroxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 38 mg acetylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 75 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor--11β,21-dihydroxypregr-4-en-3,20-dionu v 5 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 16 hodin. Po odpaření se přidá 75 ml methylenchloridu a roztok se promyje studeným 5% vodným roztokem uhličitanu draselného a nasyceným roztokem chloridu sodného. Po odpaření se surová látka čistí chromatograficky na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 85 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 365 až 420 ml se zachytí a odpaří, čímž

poskytnou 57 mg (22R)-21-acetoxy-16α,17α-butylidendioxy--6α,9α-difluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 182 až 189 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +112,0 ° (c = 0,225, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 510 (vypočteno 510,6). Čistota: 99,0 % (HPLC analýza).

Příklad 9

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--valeroyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 60 mg valeroylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 75 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α--difluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 5 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 16 hodin a poté odpaří. K odparku se přidá 75 ml methylenchloridu a vzniklý roztok se promyje studeným 5% vodným roztokem uhličitanu draselného a nasyceným roztokem chloridu sodného. Po odpaření se surová látka čistí chromatografií na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 85 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 265 až 325 ml se zachytí a odpařením poskytnou 50 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-valeroyloxypregn-4-en--3,20-dionu. Teplota tání činí 181 až 185 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +109,4 ° (c = 0,212, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 552 (vypočteno 552,7). Čistota: 99,8 % (HPLC analýza).

Příklad 10

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21--kapryloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

Roztok 0,2 ml dekanoylchloridu ve 3 ml dioxanu se přikape k roztoku 100 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-

-difluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu v 6 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 71 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 1470 až 1725 se zachytí a odpaří, čímž se dostane 113 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β-hydroxy-21-kapryloxypregna-1,4--dien-3,20-dionu. Teplota tání činí 182 až 184 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = 71,5 ° (c = 0,186, methylechlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 620 (vypočteno 620,9). Čistota: 97,7 % (HPLC analýza).

Příklad 11

6α,9α-Difluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)-bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dion

Suspenze 0,9 g tris(trifenylfosfin)rhodiumchloridu ve 250 ml toluenu zbaveného plynu se hydrogenuje za teploty místnosti a atmosférického tlaku po dobu 45 minut. K reakční směsi se přidá roztok 1,0 g 16α,17α-acetonidu fluocinolonu ve 100 ml absolutního ethanolu a v hydrogenaci se pokračuje během dalších 40 hodin. Reakční směs se odpaří a odparek čistí velmi rychlou chromatografií na oxidu křemičitém (silice) za použití směsi acetonu a petroletheru jako mobilní fáze, k odstranění hlavní části katalyzátoru. Eluát se odpaří a odparek se dále čistí chromatograficky na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 72,5 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 3555 až 4125 ml se zachytí a odpaří. Tak se získá 0,61 g 6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxy--16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 146 až 151 °C, $[\alpha]_D^{25}$ =+124,5 ° (c = 0,220, methylechlorid). Molekulová hmotnosti odpovídá 454 (vypočteno 454,6). Čistota: 98,5 % (HPLC analýza).

Příklad 12

6α,9α-Difluor-11β-hydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis-(oxy)/-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 2,1 ml palmitoylchloridu v 15 ml dioxanu se přikape k roztoku 310 mg 6α,9α-difluor-11β,21-dihydroxy--16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dionu ve 30 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 76 cm a průměru 6,3 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 1035 až 1260 ml se zachytí a odpaří, čímž se dostane 158 mg 6α,9α-difluor-11β-hydroxy--16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/-21-palmitoyloxypregn--4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 82 až 86 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +85,3 ° (c = 0,232, methylechlorid). Molekulová hmotnost obnáší 692 (vypočteno 692,9). Čistota: 98,6 % (HPLC analýza).

Příklad 13

(22R)- a (22S)-21-Acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor--11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dion

68 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21--dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu se rozpustí v 1 ml pyridinu. K roztoku se přidá 1 ml anhydridu kyseliny octové a reakční směs se míchá za teploty místonosti po dobu 1 hodiny, poté se vylije na ledovou vodu a třikrát extrahuje vždy 25 ml methylenchloridu. Extrakty se vysuší a odpaří. Výsledná 22RS-směs se štěpí chromatograficky na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 380 až 400 ml (A) a 420 až 440 ml (B) se zachytí a odpaří.

Po vysrážení ze směsi methylechloridu a petroletheru frakce A poskytne 14 mg (22S)-21-acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 179 až 186 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +86,2 ° (c = 0,188, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 492 (vypočteno 492,6). Čistota: 97,5 % (HPLC analýza).

Frakce B skýtá po vysrážení 20 mg (22R)-21-acetoxy--16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20--dionu. Teplota tání činí 169 až 172 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +139,0 ° (c = 0,200, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 492 (vypočteno 492,6). Čistota: 97,9 % (HPLC analýza).

Příklad 14

(22RS)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxy-pregn-4-en-3,20-dion

K suspenzi 1,4 g tris(trifenylfosfin)rhodiumchloridu ve 300 ml toluenu se přidá roztok 1170 mg 6α-fluor-11β,16α, 17α,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu ve 250 ml absolutního ethanolu. Směs se hydrogenuje za teploty místnosti a atmosférického tlaku po dobu 22 hodin a poté se odpaří. Odparek se vysráží ze směsi acetonu a chloroformu a poskytne 661 mg 6α-fluor-11β,16α,17α,21-tetrahydroxypregn--4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost činí 396 (vypočteno 396,5). Čistota: 96,6 % (HPLC analýza).

308 mg 6α-fluor-11β,16α,17α,21-tetrahydroxypregn-4-en--3,20-dionu se přidává po částech k roztoku 115 mg butanalu a 0,2 ml 70% kyseliny chloristé v 50 ml dioxanu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 6 hodin. Potom se přidá 200 ml methylenchloridu a roztok se promyje 10% vodným roztokem uhličitanu draselného a vodou a poté vysuší. Odparek

získaný po odpaření se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 420 až 500 ml se zachytí a odpaří, čímž poskytnou 248 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor--11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 85 až 96 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +119,8 ° (c = 0,192, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6). Čistota: 96,1 % (HPLC analýza). Rozložení mezi 22R- a 22S-epimery odpovídá 59 : 41 (HPLC analýza).

Roztok 0,21 ml palmitoylchloridu ve 3 ml dioxanu se přikape k roztoku 50 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 6 ml pyridinu. Reakční směs se míchá ze teploty místnosti přes noc a zpracuje se jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 185 až 230 ml se zachytí a odpaří, aby se dostalo 42 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy--6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu ve formě oleje. Molekulová hmotnost činí 688 (vypočteno 688,97). Čistota: 99,0 % (HPLC analýza). Rozložení mezi 22R- a 22S-epimery odpovídá 15 : 85 (HPLC analýza).

Příklad 15

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

225 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21--dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu se rozštěpí preparativní vysoko účinnou kapalinovou chromatografií po částech na sloupci μBondapak C18 (o délce 150 mm a průměru 19 mm) za použití směsi ethanolu a vody v poměru 40 : 60 jako mobilní fáze. Frakce soustředěné při 265 ml (A) a 310 ml (B) se

jimají a odpaří. Po vysrážení ze směsi methylechloridu a petroletheru frakce A poskytne 68 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 180 až 192 °C $[\alpha]_D^{25}$ = +138,9 ° (c = 0,144, methylechlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6). Čistota: 99,4 % (HPLC analýza).

Frakce B poskytne po vysrážení 62 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 168 až 175 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +103,7 ° (c = 0,216, methylechlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6). Čistota: 99,5 % (HPLC analýza).

Roztok 0,22 ml palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 32 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a poté zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 215 až 250 ml se zachytí a odpaří. Tak se ve formě oleje získá 38 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost odpovídá 688 (vypočteno 688,97). Čistota: 96,0 % (HPLC analýza).

Příklad 16

(22S)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

68 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu se rozpustí v 1 ml pyridinu. K roztoku se přidá 1 ml anhydridu kyseliny octové a reakční směs se míchá za teploty místonosti po dobu 1 hodiny, poté vylije na ledovou vodu a třikrát extrahuje vždy 25 ml

methylenchloridu. Extrakt se vysuší a odpaří. Výsledná 22RS epimerní směs se štěpí chromatograficky na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi hetpanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 380 až 400 ml (A) a 420 až 440 ml (B) se zachytí a odpaří.

Po vysrážení ze směsi methylenchloridu a petroletheru frakce A poskytne 14 mg (22S)-21-acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání je 179 až 186 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +86,2 ° (c = 0,188, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 492 (vypočteno 492,6). Čistota: 97,5 % (HPLC analýza).

Frakce B poskytne po vysrážení 20 mg (22R)-21-acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání je 169 až 172 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +139,0 ° (c = 0,200, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 492 (vypočteno 492,6). Čistota: 97,9 % (HPLC analýza).

K roztoku 14 mg (22S)-21-acetoxy-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxypregn-4-en-3,20-dionu ve 2 ml ethanolu se přidají 2 ml 2-molární kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs se míchá za teploty 60 °C po dobu 5 hodin, poté neutralizuje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a třikrát extrahuje vždy 25 ml methylenchloridu. Spojené extrakty se promyjí vodou, vysuší a odpaří. Odparek se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 455 až 510 ml se zachytí a odpaří, čímž se dostane 7 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6). Čistota: 96,6 %.

Roztok 195 mg palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se

přikape k roztoku 32 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 205 až 245 ml se jímají a odpaří, čímž poskytnou 37 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy--6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu, který je tvořen olejem. Molekulová hmotnost odpovídá 688 (vypočteno 688,97). Čistota: 96,4 % (HPLC analýza).

Příklad 17

(22RS)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-lauroyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 0,4 ml lauroylchloridu ve 3 ml dioxanu se přikape k roztoku 50 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 6 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 215 až 250 ml se zachytí a odpařením poskytnou 15 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β-hydroxy-21-lauroyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 125 až 143 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +92,8 ° (c = 0,208, methylenchlorid). Molekulová hmotnosti odpovídá 632 (vypočteno 632,9). Čistota: 96,2 % (HPLC analýza). Rozložení mezi 22R- a 22S-epimery odpovídá 58 : 42 (HPLC analýza).

Příklad 18

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmi-

toyloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

400 mg 6α-fluor-11β,16α,17α,21-tetrahydroxypregna-1,4--dien-3,20-dionu se přidá po částech k roztoku 0,18 ml butanalu a 0,2 ml 70 % kyseliny chloristé v 50 ml dioxanu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu 16 hodin. K reakční směsi se poté přidá 200 ml methylenchloridu a roztok se promyje 10% vodným roztokem uhličitanu draselného a vodou a nato vysuší. Po odpaření se odparek čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 75 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 2880 až 3300 ml se zachytí a odpaří. Tak se dostane 1209 mg (22RS)-16α,17α--butylidendioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien--3,20-dionu. Molekulová hmotnost odpovídá 448 (vypočteno 448,5). Čistota: 95,7 % (HPLC analýza). Rozložení mezi 22R- a 22S-epimery činí 55 : 45 (HPLC analýza).

36 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-6α-fluor-11β,21--dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu se chromatografuje na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 1720 až 1800 ml (A) a 1960 až 2025 ml (B) se jímají a odpaří. Obě dvě látky se vysráží ze směsi methylenchloridu a petroletheru. ^{1}H-MNR spektrální analýzou a hmotnostním spektrem se určí, že v případě látky z frakce A, o hmotnosti 12 mg, jde o (22S)-16α,17α-butyliden-dioxy-6α-fluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion a u látky z frakce B, o hmotnosti 10 mg, jde o 22R-epimer.

Epimery mají tyto vlastnoti:

Epimer 22S: teplota tání činí 172 až 180 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +62,3 ° (c = 0,132, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 448 (vypočteno 448,5).

Epimer 22R: teplota tání činí 95 až 106 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +105,9 ° (c = 0,152, methylenchlorid), molekulová hmotnost

odpovída 448 (vypočteno 448,5).

Čistota epimerů stanovena vysoko účinnou kapalinovou chromatografickou analýzou odpovídá 98,9 % pro 22 S-epimer a 97,7 % pro 22R-epimer.

Roztok 172 mg palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 56 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 225 až 285 ml se zachytí a odpaří, čímž se dostane 31 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy--6α-fluor-11β-hydroxy-21- palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20--dionu. Teplota tání činí 95 až 100 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +68,0 ° (c = 0,200, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 686 (vypočteno 686,95). Čistota: 97,7 % (HPLC analýza).

Příklad 19

(22S)-16α,17α-Butylidendioxy-6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

Roztok 110 mg palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 46 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-6α--fluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 185 až 225 ml se zachytí a odpaří. Tak se dostane 37 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy--6α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20--dionu. Teplota tání činí 65 až 68 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +53,0 °

(c = 0,200, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 686 (vypočteno 686,95). Čistota: 95,9 % (HPLC analýza).

Příklad 20

6α-Fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis-(oxy)/pregn-4-en-3,20-dion

Suspenze 2,1 g tris(trifenylfosfin)rhodiumchloridu v 500 ml toluenu se hydrogenuje za teploty místnosti a atmosférického tlaku po dobu 45 minut, když je katalyzátor v roztoku. Poté se přidá roztok 2,0 g 6α-fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregna-1,4-dien-3,20-dionu v 1000 ml absolutního ethanolu a v hydrogenaci se pokračuje po dobu dalších 65 hodin. Reakční směs se odpaří a odparek čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 71 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 2010 a 2445 ml se zachytí a odpaří, aby se dostalo 1,51 g 6α-fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dion. Teplota tání činí 209 až 219 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +133,5 ° (c = 0,230, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 436 (vypočteno 436,5). Čistota: 99,6 % (HPLC analýza).

Příklad 21

6α-Fluor-11β-hydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/--21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 0,21 ml palmitoylchloridu ve 3 ml dioxanu se přikape k roztoku 6α-fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dionu v 6 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 76 cm a průměru 6,3 cm), za

použití heptanu, chloroformu a ethanolu ve poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 1035 až 1230 ml se zachytí a odpaří, čímž poskytnou 63 mg 6α-fluor-11β-hydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 99 až 101 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +89,8 ° (c = 0,206, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 674 (vypočteno 674,94). Čistota: 97,9 % (HPLC analýza).

Příklad 22

9α-Fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis-(oxy)/pregn-4-en-3,20-dion

Roztok 675 mg tris(trifenylfosfin)rhodiumchloridu v 250 ml toluenu se hydrogenuje za teploty místnosti a atmosférického tlaku po dobu 45 minut. Poté se přidá roztok 1 g 16α,17α-acetonidu triamcinolonu ve 100 ml absolutního ethanolu a v hydrogenaci se pokračuje dalších 40 hodin. Reakční směs se odpaří a hlavní část katalyzátoru se odstraní velmi rychlou chromatografií, za použití směsi acetonu a petroletheru o teplotě varu 40 až 60 °C v poměru 40 : 60 jako mobilní fáze. Surová látka se dále čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 72,5 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 2746 až 3195 ml se zachytí a odpaří. Tak se dostane 404 mg 9α-fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dionu. Teplota tání činí 238 až 241 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +145,2 ° (c = 0,288, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 436 (vypočteno 436,5). Čistota: 99 % (HPLC analýza).

Příklad 23

9α-Fluor-11β-hydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/--21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 0,69 ml palmitoylchloridu v 10 ml dioxanu se přikape k roztoku 9α-fluor-11β,21-dihydroxy-16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/pregn-4-en-3,20-dionu ve 20 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 240 až 305 ml se jímají a odpaří, čímž se dostane 102 mg 6α-fluor-11β-hydroxy--16α,17α-/(1-methylethyliden)bis(oxy)/-21-palmitoyloxypregn--4-en-3,20-dionu, který je ve formě oleje. Molekulová hmotnost činí 674 (vypočteno 674,94). Čistota: 98 % (HPLC analýza).

Příklad 24

(22RS)-16,α,17α-Butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

K roztoku 100 mg čerstvě destilovaného butanalu a 0,2 ml 75% kyseliny chloristé v 50 ml přečištěného a vysušeného dioxanu se po malých dávkách za míchání během 20 minut přidá 340 mg 9α-fluor-11β,16α,17α,21-tetrahydroxypregn-4-en-3,20--dionu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti po dobu dalších 5 hodin. Poté se přidá 200 ml methylenchloridu, roztok se promyje vodným roztokem uhličitanu draselného a vodou a vysuší bezvodým síranem hořečnatým. Surová látka, získaná po odpaření, se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 72,5 cm a průměru 6,3 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 2760 až 3195 ml se zachytí a odpaří, aby se získalo 215 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor--11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu. Molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6). Čistota: 97,4 % (HPLC analýza).

Roztok 0,13 ml palmitoylchloridu ve 2,5 ml dioxanu se přikape k roztoku 40 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-9α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 5 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 87 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 220 až 300 ml se zachytí a odpaří, čímž se dostane 42 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en--3,20-dionu, který je tvořen olejem. Molekulová hmotnost odpovídá 688 (vypočteno 688,97). Rozložení mezi 22R- a 22S-epimery odpovídá 61 : 39 (HPLC analýza).

Příklad 25

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

200 mg (22RS)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor-11β,21--dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu se štěpí chromatograficky na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 76 cm a průměru 6,3 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 7560 až 8835 ml (A) a 8836 až 9360 ml (B) se zachytí a odpaří. ^{1}H-MNR spektrální analýzou a hmotnostní spektroskopií se prokáže, že látka z frakce A, o hmotnosti 128 mg, je (22S)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dion a látka z frakce B, o hmotnosti 50 mg, je 22R-epimer.

Epimery mají tyto vlastnosti:

Epimer 22S: teplota tání činí 180 až 190 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +105,6 ° (c = 0,214, methylenchlorid), molekulová hmotnost odpovídá 450 (vypočteno 450,6).

Epimer 22R: teplota tání činí 147 až 151 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +133,7 ° (c = 0,196, methylenchlorid), molekulová hmotnost

odpovídá 450 (vypočteno 450,6).

Čistota epimerů, stanovená vysoko účinnou kapalinovou chromatografickou analýzou, je 95,6 % pro 22S-epimer a 98,2 % pro 22R-epimer.

Roztok 0,34 ml palmitoylchloridu v 5 ml dioxanu se přikape k roztoku 50 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-9α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu v 10 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 180 až 205 ml se jímají a odpaří, čímž poskytnou 36 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy--9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu, který je tvořen olejem. Molekulová hmotnost odpovídá 688 (vypočteno 688,97). Čistota: 96,3 % (HPLC analýza).

Příklad 26

(22S)-16α,17α-Butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dion

Roztok 0,14 ml palmitoylchloridu v 15 ml dioxanu se přikape k roztoku 41 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-9α--fluor-11β,21-dihydroxypregn-4-en-3,20-dionu ve 3 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 89 cm a průměru 2,5 cm), za použití směsi heptanu, chloroformu a ethanolu v poměru 20 : 20 : 1 jako mobilní fáze. Frakce 215 až 260 ml se zachytí a odpaří, čímž se jako olej dostane 26 mg (22S)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en--3,20-dionu. Molekulová hmotnost odpovídá 688 (vypočteno 688,97). Čistota: 91,4 % (HPLC analýza).

Příklad 27

(22R)-16α,17α-Butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4-dien-3,20-dion

Roztok 75 mg palmitoylchloridu v 2,5 ml dioxanu se přikape k roztoku 25 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-9α--fluor-11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dionu v 5 ml pyridinu. Reakční směs se míchá za teploty místnosti přes noc a poté zpracuje jako v příkladě 1. Surová látka se čistí na sloupci Sephadexu LH-20 (o délce 85 cm a průměru 2,5 cm), za použití chloroformu jako mobilní fáze. Frakce 235 až 285 ml se jímají a odpaří, čímž se dostane 27 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-9α-fluor-11β-hydroxy-21-palmitoyloxypregna-1,4--dien-3,20-dionu. Teplota tání činí 116 až 121 °C, $[\alpha]_D^{25}$ = +67,4 ° (c = 0,172, methylenchlorid). Molekulová hmotnost odpovídá 686 (vypočteno 687,0). Čistota: 96,5 % (HPLC analýza).

Příklad 28

Farmaceutické prostředky

Dále uvedené příklady, které neomezují žádným způsobem vynález, ilustrují prostředky určené pro různé lokální formy podávání. Množství účinného steroidu v perkutánních prostředcích je obvykle od 0,001 do 0,2 % hmotnostního, výhodně od 0,01 do 0,1 % hmotnostního.

Prostředek 1, mast

Steroid, mikronizovaný	0,025 g
Kapalný parafin	10,0 g
Bílý, tuhý parafin	do 100,0 g

Prostředek 2, mast

Steroid	0,025 g
Propylenglykol	5,0 g
Seskvioleát sorbitanu	5,0 g
Kapalný parafin	10,0 g
Bílý, tuhý parafin	do 100,0 g

Prostředek 3, krém tvořený olejem ve vodě

Steroid	0,025 g
Cetanol	5,0 g
Glycerylmonostearát	5,0 g
Kapalný parafin	10,0 g
Cetomacrogol 1000	2,0 g
Kyselina citronová	0,1 g
Citrát sodný	0,2 g
Propylenglykol	35,0 g
Voda	do 100,0 g

Prostředek 4, krém tvořený olejem ve vodě

Steroid, mikronizovaný	0,025 g
Bílý, tuhý parafin	15,0 g
Kapalný parafin	5,0 g
Cetanol	5,0 g
Sorbimakrogolstearát	2,0 g
Monostearát sorbitanu	0,5 g
Kyselina sorbová	0,2 g
Kyselina citronová	0,1 g
Citrát sodný	0,2 g
Voda	do 100 g

Prostředek 5, krém tvořený vodou v oleji

Steroid		0,025 g
Bílý, tuhý parafin		35,0 g
Kapalný parafin		5,0 g
Seskvioleát sorbitanu		5,0 g
Kyselina sorbová		0,2 g
Kyselina citronová		0,1 g
Citrát sodný		0,2 g
Voda	do	100,0 g

Prostředek 6, lotion

Steroid		0,25 mg
Isopropanol		0,5 ml
Karboxyvinylový polymer		3 mg
Hydroxid sodný		podle potřeby
Voda	do	1,0 g

Prostředek 7, suspenze pro injekce

Steroid, mikronizovaný		0,05 až 10 mg
Natriumkarboxymethylcelulóza		7 mg
Chlorid sodný		7 mg
Monooleát polyoxyethylen (20) sorbitanu		0,5 g
Fenylkarbinol		8 mg
Voda, sterilní	do	1,0 ml

Prostředek 8, aerosol pro orální nebo nasální inhalaci

Steroid, mikronizovaný	0,1 % hmotnostního
Trioleát sorbitanu	0,7 % hmotnostního
Trichlorfluormethan	24,8 % hmotnostních
Dichlortetrafluorethan	24,8 % hmotnostních
Dichlordifluormethan	49,6 % hmotnostních

Prostředek 9, roztok pro atomizaci

Steroid		7,0 mg
Propylenglykol		5,0 g
Voda	do	10,0 g

Prostředek 10, prášek pro inhalaci

Želatinové kapsle se plní směsí, která sestává ze složek uvedených dále.

Steroid, mikronizovaný	0,1 mg
Laktóza	20 mg

Prášek se inhaluje pomocí inhalačního zařízení.

Prostředek 11, prášek pro inhalaci

Sferonizovaný prášek se plní do inhalátoru uzpůsobeného pro větší počet dávek prášku. Každá dávka obsahuje:

Steroid, mikronizovaný	0,1 mg

Prostředek 12, prášek pro inhalaci

Sferonizovaný prášek se plní do inhalátoru uzpůsobeného pro větší počet dávek prášku. Každá dávka obsahuje:

Steroid, mikronizovaný	0,1 mg
Laktóza, mikronizovaná	1 mg

Prostředek 13, kapsle pro ošetřování tenkého střeva

Steroid	1,0	mg
Cukr, kuličkovité částice	321	mg
Aquacoat ECD 30	6,6	mg
Acetyltributylcitrát	0,5	mg
Polysorbat 80	0,1	mg
Eudragit L100-55	17,5	mg
Triethylcitrát	1,8	mg
Mastek	8,8	mg
Protipěnicí prostředek MMS	0,01	mg

Prostředek 14, kapsle pro ošetřování tlustého střeva

Steroid	2,0	mg
Cukr, kuličkovité částice	305	mg
Aquacoat ECD 30	5,0	mg
Acetyltributylcitrat	0,4	mg
Polysorbat 80	0,14	mg
Eudragit NE30 D	12,6	mg
Eudragit S100	12,6	mg
Mastek	12,6	mg

Prostředek 15, rektální klyzma

Steroid	0,02	mg
Natriumkarboxymethylcelulóza	25	mg
Dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,5	mg
Methyl-p-hydroxybenzoát	0,8	mg
Propyl-p-hydroxybenzoát	0,2	mg
Chlorid sodný	7,0	mg
Kyselina citronová, bezvodá	1,8	mg
Polysorbat 80	0,01	mg
Voda, čistěná	do 1,0	ml

Prostředek 16, prostředek obsahující steroid vázaný na

liposom

A. Příprava prostředku ve formě kapek

45 mg syntetického dipalmitoylfosfatidylcholinu, 7 mg dimyristoylfosfatidylcholinu, 1 mg dipalmitoylfosfatidylglycerolu a 5 mg (22R)-16α,17α-butylidendioxy-6α,9α-difluor-11β--hydroxy-21-palmitoyloxypregn-4-en-3,20-dionu se smíchá ve skleněné zkumavce. Všechny složky jsou rozpuštěny v chloroformu. Většina rozpouštědla se odpaří za použití molekulárního dusíku a poté za sníženého tlaku, čímž se vytvoří tenký film lipidových složek na povrchu zkumavky. K lipidům se přidá vodný fyziologický roztok (s obsahem 0,9 % chloridu sodného). Přípravek z liposomů účinkuje za teploty nad teplotou fázového přechodu lipidů. Liposomy se tvoří třepáním nebo působením ultrazvuku za použití čidla sonikátoru. Výsledná suspenze obsahuje liposomy v rozmezí od velmi malých měchýřků do velikosti 2 μm.

B. Příprava prostředku pro inhalaci

Příprava liposomů se provádí podle příkladu A, za použití vodného roztoku obsahujícího 10 % laktózy. Poměr mezi laktózou a lipidem odpovídá 7 : 3. Suspenze liposomu se vymrazí působením suchého ledu (oxidu uhličitého v pevné formě) a lyofilizuje. Suchý produkt se mikronizuje za vzniku částic s hmotnostním středním aerodynamickým průměrem okolo 2 μm.

Farmakologické zkoušky

Selektivita pro lokální protizánětlivý účinek se může zkoušek podle dále uvedeného modelu dýchacích cest.

Značná část inhalovaného glukokortikosteroidu se

ukládá v hltanu a je následovně polykána, až skončí ve střevě. Tato část přispívá k nežádoucím vedlejším účinkům steroidu, protože působí mimo oblast zamýšleného ošetření (plíce). Proto je výhodné používat glukokortikosteroid s vysoce lokálně protizánětlivým účinkem v plíci, ale nízkými účinky vyvolanými glukokortikosteroidem po orální podání. Proto se provádějí studie ke stanovení účinků vyvolaných glukokortikosteroidem po lokální aplikaci do plíce, stejně jako po perorálním podání a podobným způsobem se testují rozdíly mezi glukokortikostereoidovými účinky v ošetřené oblasti plíce a mimo tuto oblast.

Testovací modely

A. Testovací model pro stanovení žádoucího lokálního protizánětlivého účinku na sliznici dýchacích cest (v levém plicním laloku)

Krysy kmene Sprague Dawley o hmotnosti 250 g se slabě anestetizují ephranem a nato se testovaný přípravek na bázi glukokortikosteroidu (v liposomech, suspendovaný ve fyziologickém roztoku) o objemu 0,5 ml/kg nakape jen do levého plicního laloku. O dvě hodiny později se nakape suspenze Sephadexu (5 mg/kg, v objemu 1 mg/kg) do průdušnicových jamek nad rozdvojením tak, že suspenze zasáhne jak levý, tak pravý plicní lalok. Za 24 hodin se krysy usmrtí, levý plicní lalok se vyjme a stanoví se jeho hmotnost. Kontrolní skupiny dostávají nosnou látku místo glukokortikosteroidového přípravku a fyziologický roztok namísto suspenze Sephadexu, ke stanovení hmotnosti edemu vyvolaného Sephadexem, který nebyl ošetřen léčivou látkou, a hmotnosti normální plíce.

B. Testovací model pro stanovení nežádoucího systémového účinku orálně absorbovaného glukokortikosteroidu

Krysy kmene Sprague Dawley o hmotnosti 250 g se slabě anestetizují ephranem a nato se jim perorálně podá přípravek na bázi testovaného glukokortikosteroidu v objemu 0,5 ml/kg. Po dvou hodinách se nakape suspenze Sephadexu (5 mg/kg, v objemu 1 mg/kg) do průdušnicových jamek nad rozdvojením tak, že suspenze zasáhne jak levý, tak pravý plicní lalok. O 24 hodiny později se krysy usmrtí, levý plicní lalok se výjme a stanoví se jeho hmotnost. Kontrolní skupiny dostávají nosnou látku místo glukokortikosteroidového přípravku a fyziologický roztok namísto suspenze Sephadexu, ke stanovení hmotnosti edemu vyvolaného Sephadexem, který nebyl ošetřen léčivou látkou, a normální hmotnosti.

Výsledky srovnávací studie jsou uvedeny v tabulce 1. Farmakologický profil sloučenin podle tohoto vynálezu se porovnává s farmakologickým profilem budesonid-21-palmitátu a flumethason-21-palmitátu v liposomech. Všechny steroidy podle tohoto vynálezu projevují vyšší lokální protizánětlivý účinek v plíci po lokálním podání než budesonid-21-palmitát v liposomech. Kromě toho výsledky také dokládají vyšší selektivitu testovaných sloučenin podle tohoto vynálezu v plíci při srovnání s vybranými sloučeninami podle dosavadního stavu techniky, protože dávka vyžadovaná k potlačení plicního edemu (ED_{50}) při orálním podání výše uvedených sloučenin je 158-krát (příklad 3), 247-krát (příklad 7) a 559-krát (příklad 1) vyšší a u budesonid-21-palmitátu 66-krát vyšší a u flumethason-21-palmitátu 8-krát vyšší než dávka potřebná k inhibici plicního edemu při lokálním podání účinných látek do plice.

Z toho se mohou vyvodit závěry, že sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou velmi dobré pro lokální ošetřování zánětlivých chorob na kůži a v různých tělesných dutinách (například v plicích, nose, střevech a kloubech).

Tabulka 1

Účinky testovaných glukokortikosteroidů liposomech při plicním edemu vyvolaném Sephadexem na modelech krys. Výsledky jsou uvedeny ve vztahu k příslušné kontrolní skupině, které byl podán Sephadex.

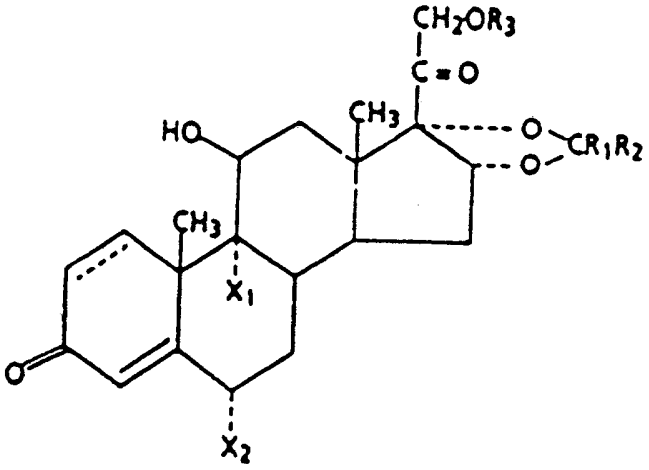
Sloučenina podle příkladu č.	ED_{50} (podávání do levé plice, nmol/kg) Hmotnost levé plice*)	ED_{50} (perorální podávání, nmol/kg) plice*)	Poměr při orálním a lokálním podání
Budesonid--21-palmitát (RS)	23	1520	66
Flumethason--21-palmitát	2,2	18	8
7	2,3	568	247
6	1,8	-	
3	3,5	554	158
1	1,5	839	559

*) ED_{50} = vyžadovaná dávka glukokortikosteroidu ke snížení edemu na 50 %

PV 1495-93

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce I



(I)

nebo její stereoisomerní složka, které vzorec v poloze 1,2 je nasycen nebo obsahuje dvojnou vazbu, kde

R_1 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku,

R_2 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, obsahující od 1 do 10 atomů uhlíku,

R_3 znamená acylovou skupinu, obsahující přímý nebo rozvětvený, nasycený nebo nenasycený uhlovodíkový řetězec s 1 až 20 atomy uhlíku,

X_1 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

X_2 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

s podmínkou, že

1) R_1 a R_2 neznamenají současně atomy vodíku,
2) X_1 a X_2 neznamenji současně atomy vodíku,
3) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 a R_2 neznamenají současně methylové skupiny,
4) pokud poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 znamená atom vodíku a R_2 znamená přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, R_3 znamená acylovou skupinu s 11 až 20 atomy uhlíku.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde v obecném vzorci I

poloha 1,2 je nasycena,
R_1 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec s 1 až 4 atomy uhlíku,
R_2 znamená atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec s 1 až 10 atomy uhlíku,
R_3 znamená acylovou skupinu obsahující přímý nebo rozvětvený, nasycený nebo nenasycený uhlovodíkový řetězec s 1 až 20 atomy uhlíku,
X_1 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,
X_2 znamená atom vodíku nebo atom halogenu,

za předpokladu, že
1) R_1 a R_2 neznamenají současně atom vodíku a
2) X_1 a X_2 neznamenají současně atom vodíku.

3. Sloučenina podle některého z nároků 1 a 2, kde R_3 znamená acylovou skupinu obsahující 11 až 20 atomů uhlíku.

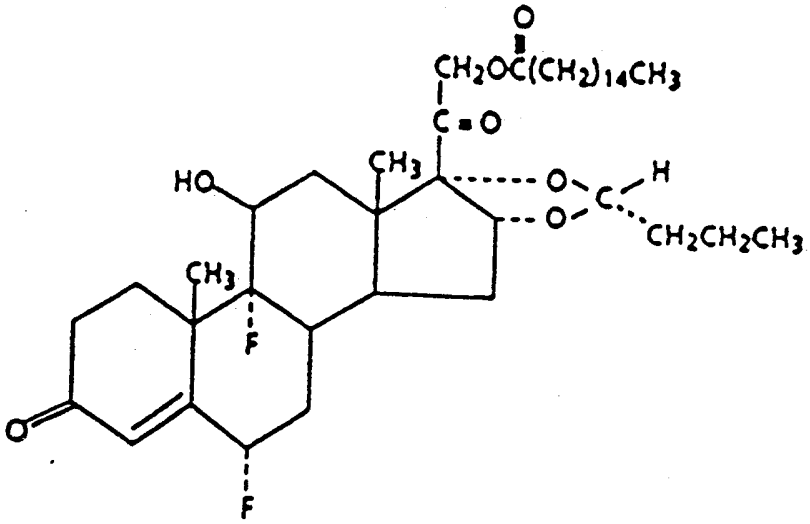
4. Sloučenina podle některého z nároků 1 a 2, kde R_3 znamená acylovou skupinu obsahující 1 až 10 atomů uhlíku.

5. Sloučenina podle nároku 3, kde poloha 1,2 je nasycena, R_1 znamená atom vodíku, R_2 znamená propylovou skupinu, X_1 znamená atom fluoru a X_2 představuje atom

fluoru.

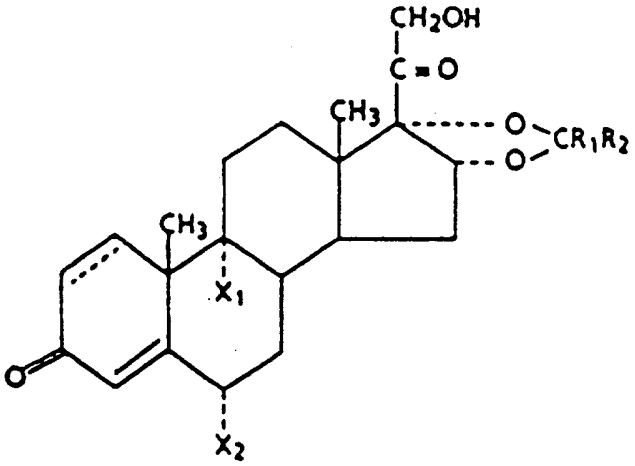
6. Sloučenina podle nároku 1, kde poloha 1,2 představuje dvojnou vazbu, R_1 znamená atom vodíku, R_2 znamená propylovou skupinu, R_3 představuje palmitoylovou skupinu, X_1 znamená atom fluoru a X_2 představuje atom fluoru.

7. Sloučenina podle nároku 1, která má vzorec



8. Způsob výroby sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

a) nechá reagovat sloučenina obecného vzorce



ve kterém

R_1, R_2, X_1 a X_2 mají významy vymezené v nároku 1,

se sloučeninou obecného vzorce

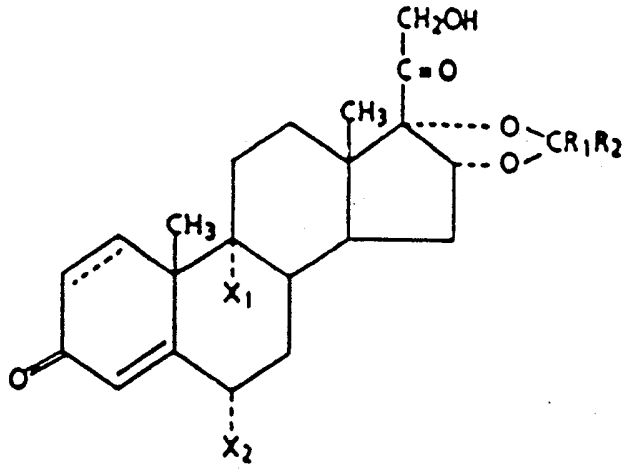
R_4COOH

ve kterém

R_4 znamená přímou nebo rozvětvenou, nasycenou nebo nenasycenou alkylovou skupinu s 1 až 19 atomy uhlíku,

nebo

b) nechá reagovat sloučenina obecného vzorce



ve kterém

R_1, R_2, X_1 a X_2 mají významy vymezené v nároku 1,

se sloučeninou obecného vzorce

$$R_4COX$$

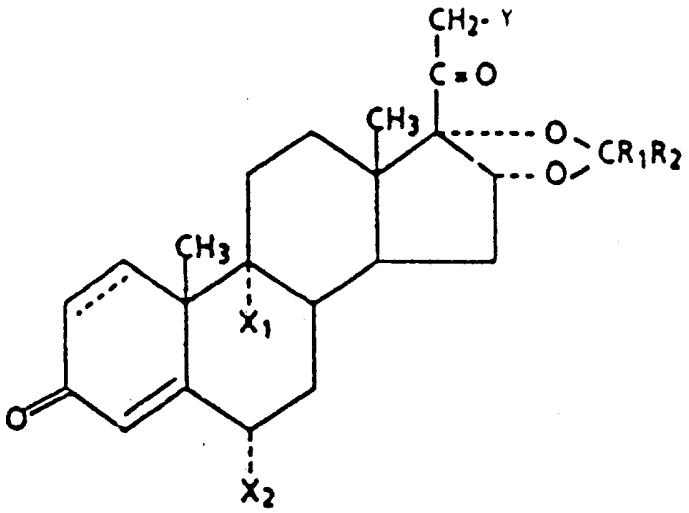
ve kterém

R_4 má význam uvedený výše a

X představuje atom halogenu nebo skupinu vzorce $-OOCR_4$,

nebo

c) nechá reagovat sloučenina obecného vzorce



ve kterém

R_1, R_2, X_1 a X_2 mají významy vymezené v nároku 1 a

Y je atom halogenu, mesylát nebo p-toluensulfonát,

se sloučeninou obecného vzorce

$$R_4COO^{\ominus}{}_A{}^{\oplus}$$

ve kterém

R_4 má význam uvedený výše a

A^+ znamená kation,

načež, pokud takto získaná sloučenina je směsí epimerů a je požadováno získání čistého epimeru, epimerní směs se štěpí na stereoisomerní složky.

9. Způsob podle nároku 8, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se vyrábí sloučenina podle některého z nároků 2 až

7.

10. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou látku obsahuje sloučeninu podle některého z nároků 1 až 7.

11. Farmaceutický prostředek podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje liposomy a farmakologicky účinnou sloučeninu podle nároku 3.

12. Farmaceutický prostředek podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je ve formě dávkové jednotky.

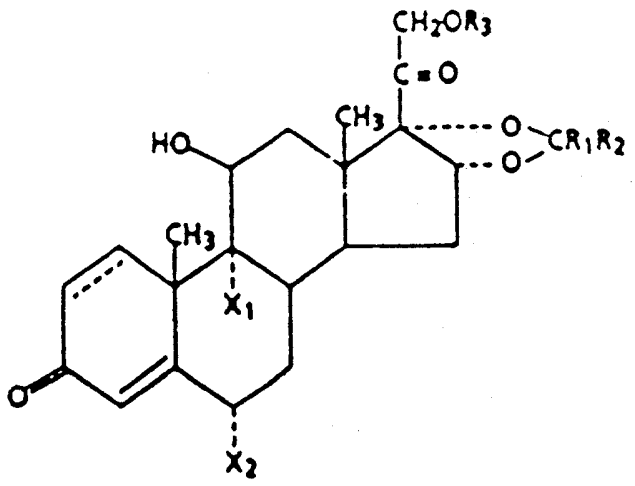
13. Farmaceutický prostředek podle nároků 10 až 12, v y z n a č u j í c í s e t í m, že účinná látka je dohromady s farmaceuticky přijatelnou nosnou látkou.

14. Sloučenina podle některého z nároku 1 až 7 k použití jako terapeuticky účinná látka.

15. Použití sloučeniny podle některého z nároků 1 až 7 pro výrobu léčiv s protizánětlivým a antialergickým účinkem.

PV 1495-93

Vzorec k anotaci (I)



(I)

14.9.93