

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) FI 933451 A7

**(12) JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **933451**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07J 71/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **29.01.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **03.08.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **03.08.1993**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - **29.01.1992 PCT/SE1992/000056**
Internationell ansökan - International
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

04.02.1991 SE 9100342

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Astra Aktiebolag, 151 85 Södertälje, SVERIGE, (SE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Axelsson, Bengt Ingemar, Genarp, SVERIGE, (SE)

2 • Brattsand, Ralph, Sverige, SVERIGE, (SE)

3 • Källström, Leif, Sverige, SVERIGE, (SE)

4 • Thalen, Bror Arne, Bjärred, SVERIGE, (SE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Uudet steroidiesterit

Nya steroidstrar

Uudet steroidiesterit - Nya steroidestrar

Esillä oleva keksintö kohdistuu uusiin tulehdusta estä-
 5 viin ja allergianvastaisesti aktiivisiin yhdisteisiin, niiden valmistusmenetelmiin, näitä yhdisteitä sisältäviin farmaseuttisiin koostumuksiin sekä menetelmiin yhdisteiden ja koostumusten farmakologiseksi käyttämiseksi.

10 Keksinnön kohteena on saada aikaan tulehdusta estävä, immunosuppressiivinen ja allergianvastainen glukokortikosteroidi tai sen farmaseuttinen koostumus, jonka aktiivisuus on suuri antokohdassa, esim. hengitystiessä, iholla, suolikanavassa, nivelissä tai silmässä, kun lääke suunnataan rajoitetulle alueelle indusoiden siten matalia glu-
 15 kokortikoidisia systeemisiä vaikutuksia.

Keksinnön muuna kohteena on saada aikaan farmaseuttinen koostumus, joka sisältää liposomeja, jotka sisältävät
 20 keksinnön mukaisen farmakologisesti aktiivisen steroidi-rasvahappoesterin, lääkkeen välittämisen parantamiseksi ja hoidon sivuvaikutusten minimoimiseksi.

Glukokortikosteroidit (GCS) ovat arvokkaita lääkkeitä
 25 lievitettäessä astmaa ja nuhaa. Laajalti hyväksyttyä on, että GCS:ien terapeuttinen tehokkuus on niiden tulehdusta estävissä ja herkistymistä estävissä vaikutuksissa hengitystie- ja keuhkokudoksissa. Keuhkon ulkopuoliset vakavat sivuvaikutukset estävät GCS:ien pitkäaikaisen käytön suun
 30 kautta. Näin ollen vain pieni osa potilaista, joilla on astma tai nuha, joutuu yleisesti oraaliseen GCS-hoitoon. Parempi turvallisuus voidaan saavuttaa välittämällä GCS sisäanhengityksen kautta. Kuitenkin tehokkaissa sisäanhengitettävissä GCS:eissa, jotka ovat yleisessä laajassa
 35 kliinisessä käytössä, beklometasoni-17 α ,21-dipropionaatissa ja budesonidissa, on aika kapea turvallisuusmarginaali ja näiden molempien lääkeaineiden ei-toivotuista GCS-vaikutuksista yleisessä verenkierrossa on raportoitu

korkeimpien sisäänhengitykseen tarkoitettujen suositeltavien annosten sisällä.

Liposomit ovat kalvomaisia rakkuloita, jotka koostuvat
5 joukosta samankeskisiä lipidikaksoiskerroksia, jotka vuorottelevat hydrofiilisten osastojen kanssa. Liposomeja on käytetty erilaisten farmaseuttisesti aktiivisten yhdisteiden kantoaineina lääkkeen välittämisen parantamiseksi ja hoidon sivuvaikutusten minimoimiseksi.

10

Glukokortikosteroideja voidaan yleensä vain sisällyttää liposomeihin pienissä konsentraatioissa ja ne pysyvät huonosti rakkuloissa. GCS:ien esteröinti 21-asemassa rasvahapoilla nostaa sisällyttämisen tasoa ja steroidin
15 pysymistä rakkuloissa. On osoitettu, että rasvahappoketju toimii hydrofobisena "ankkurina", joka pitää steroidin ytimen fosfolipidin hydratuissa polaarisisäisissä ryhmissä ja parantaa siten glukokortikosteroidin ja liposomin välistä vuorovaikutusta.

20

Terapeuttiseen käyttöön tarkoitettuja liposomeihin kapseloituja glukokortikosteroideja on kuvattu (M. De Silva et al., Lancet 8130 (1979), 1320) ja US-patentissa 4 693 999 kuvataan sisäänhengitettäväksi tarkoitettujen glukokortikosteroidien liposomaalisia formulointeja.
25

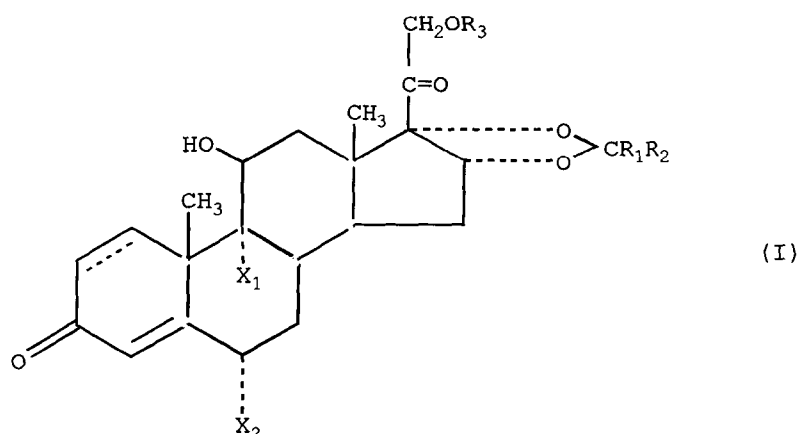
Esillä olevan keksinnön eräänä kohteena on saada aikaan uusia glukokortikosteroideiyhdisteitä. Uusille yhdisteille on tunnusomaista tulehdusta estävä, immunosuppressiivinen ja herkistymistä estävä teho antokohdassa ja niillä on merkittävästi parantunut suhde tämän tehon ja kyvyn synnyttää käsitellyn alueen ulkopuolisia GCS-vaikutuksia välillä. Uusien yhdisteiden edullinen antotapa on sisäänhengityksellä, kun haluttu antokohta on hengitysteissä.
30

35

Keksinnön toisena kohteena on saada aikaan tulehdusta estävä ja allergiaa estävä esim. hengitystiehen paikallisesti antamiseen tarkoitettu farmaseuttinen koostumus,

joka sisältää steroidiesteriliposomeja. Tällainen koostumus saa aikaan steroidiesterin terapeuttisten ominaisuuksien parannuksen pidentämällä paikallista pysymistä hengitysteissä ja suuntaamalla lääke spesifisiin kohdesoluihin.

Keksinnön mukaisille yhdisteille on tunnusomaista kaava



10

tai sen stereoisomeerinen komponentti, jossa kaavassa 1,2-asema on tyydytetty tai kaksoissidos,

R_1 on vety tai suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-4 hiiliatomia,

15 R_2 on vety tai suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-10 hiiliatomia,

R_3 on asyyli, jossa on suora tai haaroittunut, tyydytetty tai tyydyttämätön hiilivetyketju, jossa on 4-20 hiiliatomia,

20

ainakin toinen ryhmistä X_1 ja X_2 on fluori ja toinen on vety tai fluori, edellytyksellä, että

1) R_1 ja R_2 eivät ole samanaikaisesti vety,

2) kun 1,2-asema on kaksoissidos, R_1 ja R_2 eivät ole samanaikaisesti metyyliryhmiä,

25

3) kun 1,2-asema on kaksoissidos, R_1 on vetyatomi ja R_2 on suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-10 hiiliatomia, R_3 on asyyli, jossa on 11-20 hiiliatomia.

Asyyli voi olla johdettu seuraavista:

- C_3H_7COOH voi happo
 C_4H_9COOH valeriaanahappo
 $C_5H_{11}COOH$ heksaanihappo
 5 $C_6H_{13}COOH$ heptaanihappo
 $C_7H_{15}COOH$ oktaanihappo
 $C_8H_{17}COOH$ nonaanihappo
 $C_9H_{19}COOH$ dekaanihappo
 $C_{10}H_{21}COOH$ undekaanihappo
 10 $C_{11}H_{23}COOH$ lauriinihappo
 $C_{12}H_{25}COOH$ tridekaanihappo
 $C_{13}H_{27}COOH$ myristiinihappo
 $C_{14}H_{29}COOH$ pentadekaanihappo
 $C_{15}H_{31}COOH$ palmitiinihappo
 15 $C_{16}H_{33}COOH$ heptadekaanihappo
 $C_{17}H_{35}COOH$ steariinihappo
 $C_{17}H_{33}COOH$ oleiinihappo
 $C_{17}H_{31}COOH$ linolihappo
 $C_{17}H_{29}COOH$ linoleeni happo
 20 $C_{18}H_{37}COOH$ nonadekaanihappo
 $C_{19}H_{39}COOH$ eikosaanihappo

Edulliset asyyliiryhmät ovat johdetut seuraavista:

- $C_{11}H_{23}COOH$ lauriinihappo
 25 $C_{13}H_{27}COOH$ myristiinihappo
 $C_{15}H_{31}COOH$ palmitiinihappo
 $C_{17}H_{35}COOH$ steariinihappo
 $C_{17}H_{33}COOH$ oleiinihappo
 $C_{17}H_{31}COOH$ linolihappo
 30 $C_{17}H_{29}COOH$ linoleeni happo
 ja erityisesti palmitiinihappo.

- Suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-4 hii-
 liatomia, on edullisesti alkyyliiryhmä, jossa on 1-4 hii-
 35 liatomia, erityisesti metyyliiryhmä.

Suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-10 hii-
 liatomia on edullisesti alkyyliiryhmä, jossa on 1-10 hii-

liatomia ja edullisemmin 1-4 hiiliatomia, erityisesti metyyli- tai propyyyliryhmä.

Keksinnön mukaiset edulliset yhdisteet ovat ne, joissa
5 kaavassa I 1,2-asema on tyydytetty.

Erityisen edullisia keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat ne, joissa kaavassa I

1,2-asema on tyydytetty,

10 R_1 on vetyatomi,

R_2 on propyyyliryhmä

R_3 on asyyli, jossa on 11-20 hiiliatomia,

X_1 on fluori,

X_2 on fluori.

15

Eräs keksinnön mukainen edullinen yhdiste on se, jolla on kaava I, jossa

1,2-asema on kaksoissidos,

R_1 on vetyatomi,

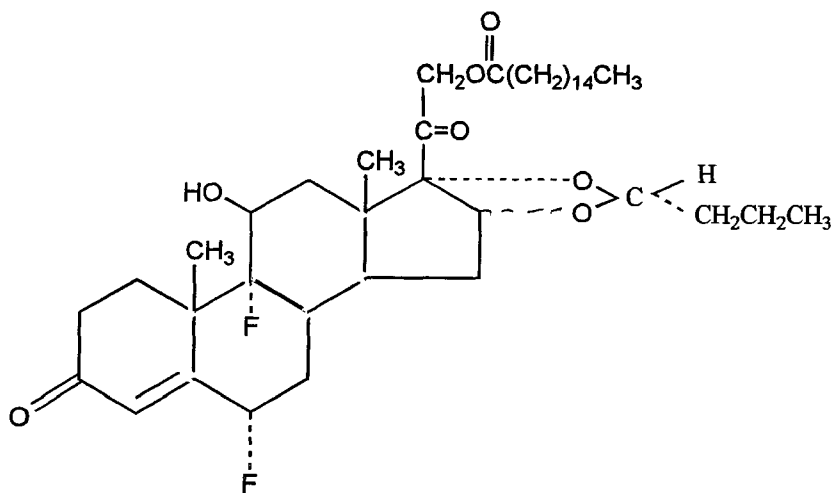
20 R_2 on propyyyliryhmä

R_3 on palmitoyyliryhmä,

X_1 on fluori,

X_2 on fluori.

25 Edullisimmalla keksinnön mukaisella yhdisteellä on kaava



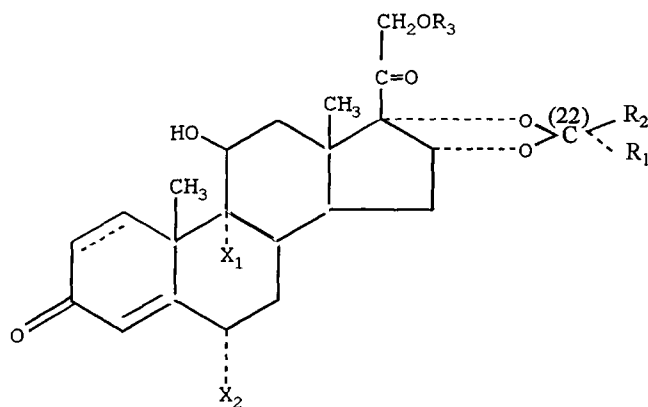
Keksinnön edullinen suoritusmuoto on koostumus, joka sisältää keksinnön mukaista edullista yhdistettä yhdessä liposomien kanssa.

- 5 Kun keksinnön kohteena on saada aikaan liposomeja sisältävä farmaseuttinen koostumus, koostumuksen aktiivisen yhdisteen tulee olla kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_3 on asyyli, jossa on 11-20 hiiliatomia.
- 10 Kun keksinnön kohteena on saada aikaan farmaseuttinen koostumus, jossa ei ole liposomeja, koostumuksen aktiivisen yhdisteen tulee olla kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_3 on asyyli, jossa on 1-10 hiiliatomia, edullisesti 5-10 hiiliatomia.

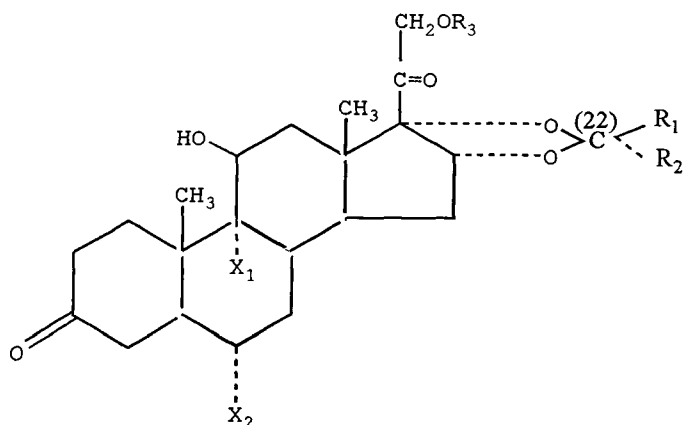
15

Yksittäiset stereoisomeeriset komponentit, joita on läsnä steroidin seoksessa, jolla on kaava I, voidaan selventää seuraavalla tavalla 22-asemassa olevan hiiliatomin kiraalisuuden suhteen ja R_2 -substituentin suhteen:

20



(epimeeri 22 S)



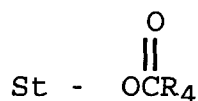
(epimeeri 22 R)

5 Edullisella stereoisomeerisellä komponentilla on 22R-kon-
figuraatio.

Valmistusmenetelmät

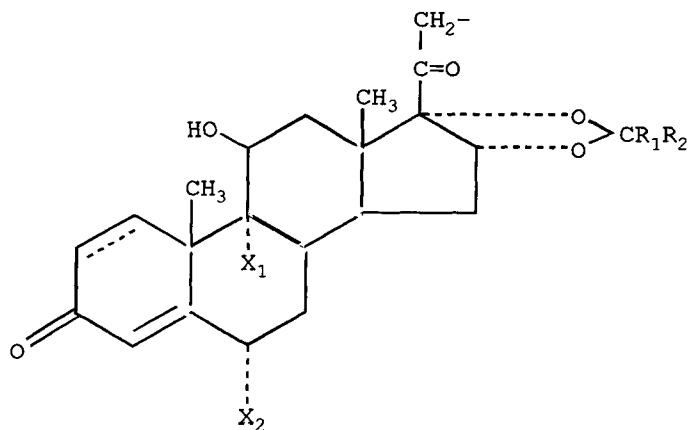
Steroidiesterit,

10



joissa St on

15



20 ja X_1 :n, X_2 :n, R_1 :n, R_2 :n merkitykset ovat edellä
annetut, R_4 on suora tai haaroittunut, tyydyttynyt tai
tyydyttämätön alkyyli-ryhmä, jossa on 3-19 hiiliatomia ja
1,2-asema on tyydyttynyt tai se on kaksoissidos, valmis-
tetaan millä tahansa seuraavalla vaihtoehtoisella mene-
telmällä.

A. Reagoittamalla kaavan



- 5 mukainen yhdiste, jossa St:n määrittäminen on edellä annettu, kaavan



mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R₄:n määrittäminen on edellä annettu.

- 15 21-hydroksiyhdisteen esteröinti voidaan suorittaa millä tahansa tunnetulla tavalla, esim. reagoittamalla lähtö-21-hydroksisteroidi sopivan karboksyylihapon kanssa, edullisesti trifluorietikka-anhydridin läsnäollessa ja edullisesti happokatalyytin, esim. p-tolueenisulfoniha-
- 20 pon, läsnäollessa.

Reaktio suoritetaan edullisesti orgaanisessa liuottimeks-
sa, kuten bentseenissä tai metyleenikloridissa, reaktion
ollessa suoritettu lämpötilassa 20-100 °C.

25

B. Reagoittamalla kaavan

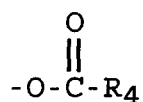


- 30 mukainen yhdiste, jossa St:n määrittäminen on edellä annettu, kaavan



mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R₄:n määrittäminen on edellä annettu ja X on halogeeniatomi, kuten kloori, bromi, jodi tai fluori, tai ryhmä

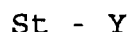
40



5 jossa R_4 :n määrittäminen on edellä annettu.

Lähtö-21-hydroksiyhdiste voidaan käsitellä sopivalla karboksyylihapppohalogenidilla tai -anhydridillä, edullisesti liuottimessa, kuten halogenoidussa hiilivedyissä, esim. metyleenikloridissa, tai eetterissä, esim. dioksaanissa, emäksen, kuten trietyyliamiinin tai pyridiinin, läsnäollessa edullisesti alhaisessa lämpötilassa esim. $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$:

15 C. Reagoittamalla kaavan



mukainen yhdiste, jossa St:n määrittäminen on edellä annettu, ja Y on valittu halogeenistä, esim. Cl, Br ja I, tai mesylaatista tai p-tolueenisulfonaatista, kaavan



mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R_4 :n määrittäminen on edellä annettu ja A^+ on kationi.

30 Sopiva karboksyylihappo, jossa on alkalimetalli-, esim. litium-, natrium- tai kalium-, tai trietyyliammonium- tai tributyyliammoniumsuolaa, voidaan reagoittaa sopivan kaavan St-Y mukaisen alkylointiaineen kanssa. Reaktio suoritetaan edullisesti polaarissa liuottimessa, kuten asetonissa, metyylietyyliketonissa, dimetyyliformamidissa tai dimetyylisulfoksidissa, edullisesti lämpötilassa alueella $25\text{--}100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

40 Missä tahansa menetelmistä A-C voi lopullinen reaktio- vaihe epimeerisen seoksen hajottamiseksi komponentteihin-

sa olla tarpeellinen tapauksessa, jossa halutaan puhdas epimeeri.

Farmaseuttiset valmisteet

- 5 Keksinnön mukaisia koostumuksia voidaan käyttää erilais-
ten paikallisten antotapojen muotoihin riippuen tulehduk-
sen paikasta, esim. perkutaanisti, parenteraalisesti, tai
sisäänhengittämällä paikallisesti hengitysteihin annet-
taessa. Tärkeä kohde formuloinnin suunnittelussa on ak-
10 tiivisen steroidiaineosan optimaalisen hyötyosuuden saa-
vuttaminen. Perkutaanisten formulointien osalta tämä saa-
vutetaan edullisesti, jos steroidi liuotetaan suurella
termodynaamisella aktiivisuudella välitysaineeseen. Tämä
voidaan saavuttaa käyttämällä sopivaa liuotinjärjestel-
15 mää, joka käsittää sopivia glykoleita kuten propyleeni-
glykolia tai 1,3-butaanidiolia joko sellaisenaan tai ve-
teen yhdistettynä.

- Steroidin liuottaminen joko kokonaan tai osittain lipo-
20 fiiliseen faasiin pinta-aktiivisen aineen, kuten liukene-
vaksi tekevän aineen, avulla on myöskin mahdollista. Per-
kutaanit koostumukset voivat olla voiteita, öljyä vedessä
-voiteita, vettä öljyssä -voiteita tai lotionia. Emul-
siovälitysaineissa järjestelmä, joka käsittää liuotetun
25 aktiivisen aineen, voi korvata dispergoituvan faasin tai
jatkuvan faasin. Steroidi voi olla edellä mainituissa
koostumuksissa myös mikronisoituna, kiinteänä substanssi-
na.

- 30 Paineistettut aerosolit steroideja varten on tarkoitettu
suun ja nenän kautta sisäänhengitettäviksi. Aerosolijärjes-
telmä on suunniteltu sillä tavalla, että jokainen välitetty
annos sisältää 10-1000 μg , edullisesti 20-250 μg

aktiivista steroidia. Aktiivisimmat steroidit annetaan annosalueen alemmalta osalta. Mikronisoitu steroidi koostuu partikkeleista, jotka ovat oleellisesti pienempiä kuin 5 μm ja jotka on suspendoitu ponneaineeseen dispergointiaineen avulla, kuten sorbitaanitrioleaatti, oleiinihappo, lesitiini tai dioktyylisulfonihapon natriumsuola.

Steroidi voidaan antaa myös kuivajauhehengityslaitteen avulla.

10

Eräs mahdollisuus on sekoittaa mikronisoituun steroidiin kantoainesubstanssia, kuten laktoosia tai glukoosia. Jauhe-seos laitetaan koviin gelatiinikapseleihin, joista jokainen sisältää halutun annoksen steroidia. Kapseli sijoitetaan sitten jauhehengityslaitteeseen ja annos hengitetään potilaan hengitysteihin.

Toinen mahdollisuus on työstää mikronisoitu jauhe pallosiin, jotka murtuvat annosmenettelyn aikana. Tämä pallosiksi työstetty jauhe sijoitetaan moniannossisäänhengityslaitteen, esim. Turbuhaler, lääkesäiliöön. Annostusyksikkö mittaa halutun annoksen, jonka potilas sitten hengittää. Tällä järjestelmällä potilaaseen välitetään steroidi, jossa on kantoainetta tai ei ole sitä.

25

Steroidi voidaan sisällyttää myös formulointeihin, jotka on tarkoitettu tulehduksellisten suolistosairauksien hoitamiseen oraalisesti tai rektaalisesti. Oraaliseen reittiin tarkoitettut formuloinnit tulee konstruoida siten, että steroidi välitetään suoliston tulehtuneisiin osiin. Tämä voidaan suorittaa erilaisilla enteeristen ja/tai hitaasti tai

30

säädetyksi vapauttavien periaatteiden erilaisilla yhdistelmillä. Rektaaliseen reittiin on sopiva peräruisketyyppinen formulointi.

5 Liposomiyhdistelmien valmistaminen

- Tässä keksinnössä käytetyissä lesitiineissä on eripituisia rasvahappoketjuja ja niiden faasinsiirtymälämpötilat ovat erilaisia. Esimerkkejä käytetyistä lesitiineistä ovat ne, jotka on johdettu kananmunasta ja soijapavusta ja synteettisistä lesitiineistä, kuten dimyristoyylifosfatidyylikoliini (DMPC), dipalmitoyylifosfatidyylikoliini (DPPC) ja distearoyylifosfatidyylikoliini (DSPC). Lesitiinin rakennetta käsittelemällä voidaan formuloida vakaita kantoaineita, joilla on erilaiset elimistössä hajoamisominaisuudet.
- 15 Tämä mahdollistaa suljetun steroidiesterin vapautumisen pidentämisen.

- Steroidiesterin ja esim. dipalmitoyylifosfatidyylikoliini-(DPPC)rakkuloiden välisen vuorovaikutuksen laajuus riippuu esterin ketjun pituudesta lisääntyneen vuorovaikutuksen ollessa havaittavissa ketjun pidentyessä.
- 20

- Kolesterolin tai kolesterolijohdannaisten sisällyttäminen liposomiformulointeihin on tullut hyvin yleiseksi johtuen niiden liposomin stabiiliuden lisäämisominaisuuksista.
- 25

- Esillä olevan keksinnön mukaisten liposomien valmistuksen alkuvaiheissa voidaan seurata kirjallisuudessa kuvattuja menetelmiä, so. komponentit liuotetaan liuottimeen, esim. etanoliin tai kloroformiin, joka haihdutetaan sitten. Saatu lipidikerros dispergoidaan sitten valittuun vesipitoiseen väliaineeseen, minkä jälkeen liuosta joko ravistellaan tai sonikoidaan. Tämän keksinnön mukaisten liposomien halkaisija on edullisesti 0,1-10 μm .
- 30

- Pääasiallis(t)en liposomeja muodostavan (muodostavien) lipidi(e)n, joka on tavallisesti fosfolipidi, lisäksi voidaan sisällyttää muita lipidejä (esim. kolesteroli tai kolesterolistearaatti) määränä 0-40 % paino/paino kokonaislipi-
- 35

deistä liposomikalvon rakenteen modifioimiseksi. Liposomin ottoa optimoidessa voidaan sisällyttää kolmatta komponenttia, joka saa aikaan negatiivisen varauksen (esim. dipalmitoyylifosfatidyylylglyseroli) tai positiivisen varauksen (stearyyliamiiniasetaatti tai setyyliipyridiniumkloridi).

Voidaan käyttää laajoja steroidiesterisuhteita lipidiin riippuen lipidistä ja käytetyistä olosuhteista. Liposomien kuivaamista (pakastekuivaus tai spraykuivaus) laktoosin läsnäollessa voidaan käyttää laktoosipitoisuuden ollessa alueella 0-95 % lopullisesta koostumuksesta.

Keksinnön mukainen koostumus, joka on erityisen edullinen, sisältää liposomeja ja (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipreg-4-eeni-3,20-dionia. Antoreitit sisältävät jauheaerosolit, tiputuksen, sumutuksen ja paineistetut aerosolit.

Työesimerkit

Keksintöä valaistaan edelleen seuraavilla ei-rajoittavilla esimerkeillä. Esimerkeissä valmistuskromatografia-ajossa käytetään virtausnopeutta 2,5 ml/cm²·h⁻¹. Molekyylipainot on määritetty kaikissa esimerkeissä kemiallisella ionisaatiomassaspektrometrialla (CH₄ reagenssikaasuna) ja sulamispisteet Leitz Wetzlar-kuumavaihemikroskoopilla. HPLC-analyysit (High Performace Liquid Chromatography) on suoritettu μ Bondapak C₁₈ -pylväässä (300 x 3,9 mm i.d.) virtausnopeudessa 1,0 ml/min. ja etanoli/vedellä suhteissa 40:60-60:40 liikkuva faasina, jos muuta ei ole mainittu.

Esimerkki 1

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (1,2 g) liuosta 10 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoitain (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (200 mg) liuokseen 25 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin 16 h huoneenlämpötilassa. Metyleenikloridia (150 ml) lisät-

tiin ja liuos pestiin 1M kloorivetyhapolla, 5 % vesipitoi-
sella kaliumkarbonaatilla ja vedellä ja kuivattiin. Haih-
duttamisen jälkeen raakatuote puhdistettiin kromatografoi-
malla Sephadex LH-20 -pylväässä (87 x 2,5 cm) käyttäen klo-
5 roformia liikkuvana faasina. 210-255 ml:n fraktio kerättiin
ja haihdutettiin, jolloin jäi 203 mg (22R)-16 α ,17 α -butyli-
deenidioksi-6 α ,9 α -difluoro-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-
eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 87-90 °C; molekyy-
lipaino 706 (laskettu 707,0). Puhtaus 96 % (HPLC-analyysi).

10

Esimerkki 2

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydrok-
si-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Liukseen, jossa on (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -
15 difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (50 mg)
ja palmitoyylikloridia (35 mg) 10 ml:ssa metyleenikloridia,
lisättiin tipoittain trietyyliamiinin (13 mg) liuosta 2
ml:ssa metyleenikloridia. Reaktioseosta sekoitettiin 2 h
huoneenlämpötilassa. Toiset 50 ml metyleenikloridia lisät-
20 tiin ja seosta käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote
puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (87 x 2,5 cm) käyt-
tään kloroformia liikkuvana faasina. 210-255 ml:n fraktio
kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 34 mg (22R)-
16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-
25 palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Molekyylipaino 706
(laskettu 707,0). Puhtaus 95 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 3

(22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydrok-
si-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

30 Palmitoyylikloridin (0,4 ml) liuosta 10 ml:ssa dioksaania
lisättiin tipoittain (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -
difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (70 mg)
liuokseen 25 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin
35 16 h huoneenlämpötilassa ja se käsiteltiin kuten esimerkis-
sä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä
(87 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 225-
265 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin jäi
92 mg (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -

hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Molekyyllipaino 706 (laskettu 707,0). Puhtaus 97 % (HPLC-analyysi).

5 Esimerkki 4

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-myristoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Myristoyylikloridi valmistettiin refluksoimalla myristiinihappoa (7,0 g) ja tionyylikloridia (9 ml) trikloorietyleenissä (100 ml) 3 h. Sitten liuotin haihdutettiin.

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (51 mg) liuokseen 10 ml:ssa metyleenikloridia lisättiin myristoyylikloridia (32 mg),
 15 mitä seurasi trietyyliamiinia (13 mg) liuotettuna metyleenikloridiin (5 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 4 h huoneenlämpötilassa. Metyleenikloridia lisättiin edelleen ja seos pestiin välittömästi 0,1M kloorivetyhapolla ja vedellä (3 x 50 ml). Kuivaamisen ja haihduttamisen jälkeen jäännös
 20 puhdistettiin kromatografoimalla Merck Kieselgel 60:11ä käyttäen heptaani:asetonia, 6:4, liikkuvana faasina, jolloin saatiin 27 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-myristoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Molekyyllipaino 678 (laskettu 678,9). Puhtaus 96,8
 25 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 5

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-lauroyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (51 mg) liuokseen 5 ml:ssa metyleenikloridia lisättiin lauroyylikloridia (28 mg),
 30 mitä seurasi trietyyliamiinia (13 mg) liuotettuna 2 ml:aan metyleenikloridia. Reaktioseosta sekoitettiin 3 h huoneenlämpötilassa, metyleenikloridia lisättiin edelleen ja orgaaninen faasi pestiin välittömästi 0,1M kloorivetyhapolla ja vedellä (3 x 30 ml). Kuivaamisen ja haihduttamisen jälkeen jäännös puhdistettiin kromatografoimalla Merck Kieselgel 60:11ä käyttäen heptaani:asetonia, 6:4, liikkuvana

faasina. Saatu tuote puhdistettiin edelleen toisessa kromatografiavaiheessa käyttäen petrolieetteri:etyyliasetaatia 3:2, liikkuvana faasina, jolloin saatiin 33 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-lauroyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Molekyylipaino 650 (laskettu 650,8). Puhtaus 96,9 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 6

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (2,3 ml) liuosta 15 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin (700 mg) liuokseen 30 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (76 x 6,3 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 1020-1350 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 752 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sulamispiste 141-145 °C; [α _D²⁵]=+71,6° (c=0,204; CH₂Cl₂); molekyylipaino 704 (laskettu 704,9). Puhtaus 97,7 % (HPLC-analyysi).

25

Esimerkki 7

(22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (0,5 ml) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin (150 mg) liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 215-315 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 132 mg (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sula-

35

mispiste 176-180 °C; $\alpha_D^{25} = +47,5^\circ$ ($c=0,198$; CH_2Cl_2); molekyylipaino 704 (laskettu 704,9). Puhtaus 99 % (HPLC-analyysi).

5 Esimerkki 8

(22R)-21-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-pregn-4-eeni-3,20-dioni

Asetyylikloridin (38 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (75 mg) liuokseen 5 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin 16 h huoneenlämpötilassa. Haihduttamisen jälkeen lisättiin metyleenikloridia (75 ml) ja liuos pestiin kylmällä 5-%:isella kaliumkarbonaatin vesiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella. Raakatuote puhdistettiin haihduttamisen jälkeen kromatografoimalla Sephadex LH-20 -pylväässä (85 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 365-420 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin jäi 57 mg (22R)-21-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 182-189 °C; $[\alpha_D^{25}] = +112,0^\circ$ ($c=0,225$; CH_2Cl_2); molekyylipaino 510 (laskettu 510,6). Puhtaus 99,0 % (HPLC-analyysi).

25 Esimerkki 9

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-valeroyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Valeroyylikloridin (60 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (75 mg) liuokseen 5 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin 16 h huoneenlämpötilassa. Haihduttamisen jälkeen lisättiin metyleenikloridia (75 ml) ja liuos pestiin kylmällä 5-%:isella kaliumkarbonaatin vesiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella. Raakatuote puhdistettiin kromatografoimalla Sephadex LH-20 -pylväässä (85 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 265-325 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin jäi 50 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-

valeroyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 181-185 °C; $[\alpha]_D^{25} = +109,4^\circ$ (c=0,212; CH₂Cl₂); molekyylipaino 552 (laskettu 552,7). Puhtaus 99,8 % (HPLC-analyysi).

5 Esimerkki 10

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-kapryylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni

- Dekanoyylikloridin (0,2 ml) liuosta 3 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin (100 mg) liuokseen 6 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (71 x 6,3 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 1470-1725 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 113 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-kapryylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sulamispiste 182-184 °C; $[\alpha]_D^{25} = +71,5^\circ$ (c=0,186; CH₂Cl₂). Molekyylipaino 620 (laskettu 620,9). Puhtaus 97,7 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 11

6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyyliideeni)bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dioni

- Tris(triphenyylifosfiini)rodiumkloridin 0,9 g:n suspensiota 250 ml:ssa tolueenia, josta kaasu on poistettu, hydrattiin 45 min huoneenlämpötilassa ja ilmakehän paineessa. Fluosinoloni-16 α ,17 α -asetonidin 1,0 g liuosta 100 ml:ssa absoluuttista etanolia lisättiin ja hydrausta jatkettiin edelleen 40 min. Reaktiotuote haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin leimahduskromatografialla piidioksidilla käyttäen asetoni-petrolieetteriä liikkuvana faasina katalyytin pääosan poistamiseen. Eluaatti haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin edelleen kromatografoimalla Sephadex LH-20 -pylväässä (72,5 x 6,3 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 3555-4125 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 0,61 g 6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyyliideeni)bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 146-151 °C. $[\alpha]_D^{25} = +124,5^\circ$ (c=0,220;

CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 454 (laskettu 454,6). Puhtaus 98,5 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 12

- 5 6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietylideeni)-bis(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni
 Palmitoyylikloridin (2,1 ml) liuosta 15 ml:ssa dioksaania lisättiin tiipoittain 6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietylideeni)bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-
 10 dionin (310 mg) liuokseen 30 ml:ssa pyridiiniä. Reaktio-
 seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (76 x 6,3 cm) käyttäen heptaa-
 ni:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 1035-
 15 1260 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 158 mg 6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietylideeni)bis(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 82-86 °C. [α _D²⁵=+85,3° (c=0,232; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 692 (laskettu 692,9). Puhtaus 98,6
 20 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 13

- (22R)- ja (22S)-21-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -
 fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dioni
 25 (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydrok-
 sipregn-4-eeni-3,20-dionia (68 mg) liuotettiin 1 ml:aan
 pyridiiniä. Etikka-anhydridiä (1 ml) lisättiin ja reaktio-
 seosta sekoitettiin 1 h huoneenlämpötilassa, se kaadettiin
 jääveteen ja uutettiin 3 x 25 ml:lla metyleenikloridia.
 30 Uute kuivatettiin ja haihdutettiin. Jäännös-22RS-seos liuo-
 tettiin uudelleen kromatografoimalla Sephadex LH-20 -pyl-
 väässä (895 x 2,5 cm) käyttäen heptaaani:kloroformi:etano-
 lia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 380-400 ml:n (A) ja 420-
 440 ml:n (B) fraktiot kerättiin ja haihdutettiin.
 35 Metyleeniklorodi-petrolieetteristä saostamisen jälkeen
 fraktiosta A saatiin 14 mg (22S)-21-asetoksi-16 α ,17 α -bu-
 tylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-
 dionia. Sulamispiste 179-186 °C. [α _D²⁵=+86,2° (c=0,188;

CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 492 (laskettu 492,6). Puhtaus 97,5 % (HPLC-analyysi).

Fraktio B tuotti saostamisen jälkeen 20 mg (22R)-21-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 169-172 °C. [α _D²⁵=+139,0° (c=0,200; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 492 (laskettu 492,6). Puhtaus 97,9 % (HPLC-analyysi).

10 Esimerkki 14

(22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Tris(triphenyylifosfiini)rodiumkloridin 1,4 g:n suspensioon 300 ml:ssa tolueenia lisättiin 6 α -fluori-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin 1170 mg:n liuosta 250 ml:ssa absoluuttista etanolia. Seosta hydrattiin 22 h huoneenlämpötilassa ja ilmankehän paineessa ja haihdutettiin. Jäännös saostettiin asetoni-kloroformista, jolloin saatiin 661 mg 6 α -fluori-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Molekyyllipaino 396 (laskettu 396,5). Puhtaus 96,6 % (HPLC-analyysi).

6 α -fluori-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia (308 mg) lisättiin osina butanaalin (115 mg) ja 70 % perkloorihapon (0,2 ml) liuokseen 50 ml:ssa dioksaania. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 6 h. Metyleenikloridia (200 ml) lisättiin ja liuos pestiin 10-%:isella kaliumkarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä ja se kuivattiin. Jäännös puhdistettiin haihduttamisen jälkeen Sephadex LH-20 -pylväässä (87 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 420-500 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 248 mg (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 85-96 °C. [α _D²⁵=+119,8° (c=0,192; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 450 (laskettu 450,6). Puhtaus 96,1 % (HPLC-analyysi). 22R- ja 22S-epimeerien välinen jakautuma oli 59/41 (HPLC-analyysi).

Palmitoyylikloridin (0,21 ml) liuosta 3 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (50 mg) liuokseen 6 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylvässä (89 x 6,3 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 185-230 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 42 mg (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksi-pregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Molekyyllipaino 688 (laskettu 688,97). Puhtaus 99,0 % ja 22R- ja 22S-epimeerien välinen jakautuma oli 15/85 (HPLC-analyysi).

15 Esimerkki 15

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

(22RS)-16 α ,17 α ,butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia (225 mg) liuotettiin valmistavalla HPLC:llä osina μ Bondapak C₁₈ -pylvässä (150 x 19 mm) käyttäen etanoli:vettä, 40:60, liikkuvana faasina. Fraktiot, jotka keskittyivät 265 ml:aan (A) ja 310 ml:aan (B), kerättiin ja haihdutettiin. Metyleenikloridi-petrolieetteristä saostamisen jälkeen fraktio A tuotti 68 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 180-192 °C. [α]_D²⁵ = +138,9 ° (c=0,144;CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 450 (laskettu 450,6). Puhtaus 99,4 % (HPLC-analyysi).

Fraktio B tuotti saostamisen jälkeen 62 mg (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 168-175 °C. [α]_D²⁵ = +103,7 ° (c=0,216;CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 450 (laskettu 450,6). Puhtaus 99,5 % (HPLC-analyysi).

35

Palmitoyylikloridin (0,22 ml) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (32 mg) liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin

huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (87 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 215-250 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 38 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Molekyyllipaino 688 (laskettu 688,97). Puhtaus 96,0 % (HPLC-analyysi).

10 Esimerkki 16

(22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

(22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia (68 mg) liuotettiin 1 ml:aan pyridiiniä. Etikka-anhydridiä lisättiin ja reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 h, se kaadettiin jäävee-teen ja uutettiin 3 x 25 ml:lla metyleenikloridia. Uute kuivattiin ja haihdutettiin. Jäljelle jäänyt 22RS-epimeerinen seos uudelleen liuotettiin kromatografialla Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 mm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 380-400 ml:n (A) ja 420-440 ml:n (B) fraktiot kerättiin ja haihdutettiin.

25 Metyleenikloridi-petrolieetteristä saostamisen jälkeen fraktio A tuotti 14 mg (22S)-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 176-186 °C. Molekyyllipaino 492 (laskettu 492,6). Puhtaus 97,5 % (HPLC-analyysi).

30 Fraktio B tuotti saostamisen jälkeen 20 mg (22R)-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 169-172 °C. $[\alpha]_D^{25} = +139,0^\circ$ (c=0,200; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 492 (laskettu 492,6). Puhtaus 97,9 % (HPLC-analyysi).

35 14 mg:n (22S)-21-asetoksi-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin liuosta 2 ml:ssa etanolia lisättiin 2 ml:aan 2 M kloorivetyhappoa. 60 °C:ssa 5 h sekoittamisen jälkeen reaktioseos neutraloitiin

kyllästetyllä natriumkarbonaatin vesiliuoksella ja uutettiin 3 x 25 ml:lla metyleenikloridia. Yhdistetyt uutteen pestiin vedellä, kuivattiin ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (87 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 455-510 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, mikä tuotti 7 mg (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Molekyylipaino 450 (laskettu 450,6). Puhtaus: 96,6 %.

10

Palmitoyylikloridin (195 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (32 mg) liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, a liikkuvana faasina. 205-245 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 37 mg (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Molekyylipaino 688 (laskettu 688,97). Puhtaus 96,4 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 17
25 (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-lauroyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Lauroyylikloridin (0,4 ml) liuokseen 3 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain (22RS)-(16 α ,17 α)-butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia (50 mg) 30 6 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 215-250 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 15 mg (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-lauroyylioksipregn-4-35 eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 125-143 °C. [α _D²⁵ = 92,8 (c=0,208; CH₂Cl₂). Molekyylipaino 632 (laskettu 632,9).

Puhtaus 96,2 % (HPLC-analyysi). 22R- ja 22S-epimeerien välinen jakautuminen oli 58/42 (HPLC-analyysi).

Esimerkki 18

- 5 (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-
palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni
 6 α -fluori-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroksipregna-1,4-dieeni-
 3,20-dionia (400 mg) lisättiin osina butanaalin (0,18 ml)
 ja 70 % perkloorihapon (0,2 ml) liuokseen 50 ml:ssa diok-
 10 saania. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 16
 h. Metyleenikloridia (200 ml) lisättiin ja liuos pestiin
 10-%:isella kaliumkarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä ja
 se kuivattiin. Jäännös puhdistettiin haihduttamisen jälkeen
 Sephadex LH-20 -pylväässä (7587 x 6,3 cm) käyttäen kloro-
 15 formia liikkuvana faasina. 2880-3300 ml:n fraktio kerättiin
 ja haihdutettiin, jolloin saatiin 1209 mg (22RS)-16 α ,17 α -
 butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-
 dieeni-3,20-dionia. Molekyylipaino 448 (laskettu 448,5).
 Puhtaus oli 95,7 % ja 22R- ja 22S-epimeerien välinen jakau-
 20 tuma oli 55/45 (HPLC-analyysi).

- (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydrok-
 sipregna-1,44-dieeni-3,20-dionia (36 mg) kromatografoitiin
 Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaa-
 25 ni:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 1720-
 1800 ml:n (A) ja 1960-2025 ml:n (B) fraktiot kerättiin ja
 haihdutettiin. Kaksi tuotetta saostettiin metyleenikloridi-
 petrolieetteristä. Fraktiosta A peräisin oleva tuote (12
 mg) identifioitiin $^1\text{H-NMR}$ - ja massaspektrometrillä (22S)-
 30 16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipreg-
 na-1,4-dieeni-3,20-dioniksi ja B-fraktiosta peräisin oleva
 tuote (10 mg) 22R-epimeeriksi

- Epimeereillä oli seuraavat ominaisuudet. Epimeeri 22S:
 35 Sulamispiste 172-180 °C. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +62,3^\circ$ (c=0,132; CH_2Cl_2);
 molekyylipaino 448 (laskettu 448,5).

Epimeeri 22R: Sulamispiste 95-106 °C. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +105,9^\circ$
 (c=0,152; CH_2Cl_2); molekyylipaino 448 (laskettu 448,5).

Epimeerien puhtaus määritettiin HPLC-analyysillä 98,9 %:ksi 22S-epimeerin osalta ja 97,7 %:ksi 22R-epimeerin osalta.

Palmitoyylikloridin (172 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania
 5 lisättiin tipoittain (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -
 fluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin (56
 mg) liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitet-
 tiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten
 esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20
 10 -pylvässä (89 x 6,3 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:eta-
 nolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 225-285 ml:n fraktio
 kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 31 mg (22R)-
 16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmi-
 toyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sulamispiste 95-
 15 100 °C. $[\alpha]_D^{25} = +68,0^\circ$ (c=0,200; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 686
 (laskettu 686,95). Puhtaus: 97,7 (HPLC-analyysi).

Esimerkki 19

(22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-
 20 palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (110 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania
 lisättiin tipoittain (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α -
 fluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-eeni-3,20-dionin (46 mg)
 liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin
 25 huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esi-
 merkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pyl-
 vässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia,
 20:20:1, liikkuvana faasina. 185-225 ml:n fraktio kerättiin
 ja haihdutettiin, jolloin saatiin 37 mg (22S)-16 α ,17 α -bu-
 30 tylideenidioksi-6 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksi-
 pregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sulamispiste 65-68 °C.
 $[\alpha]_D^{25} = +53,0^\circ$ (c=0,200; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 686 (las-
 kettu 686,95). Puhtaus: 95,9 (HPLC-analyysi).

35 Esimerkki 20

6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietylideeni)-
bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dioni

Tris(trifenyylifosfiini)rodiumkloridin 2,1 g:n suspensiota
 500 ml:ssa tolueenia hydrattiin huoneenlämpötilassa ja il-

makehän paineessa 45 min, kun katalyytti oli liuoksessa. 6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)-bis(oksi)]pregna-1,4-dieeni-3,20-dionin 2,0 g:n liuosta 1000 ml:ssa absoluuttista etanolia lisättiin ja hydrausta
 5 jatkettiin edelleen 65 h. Reaktioseos haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (71 x 6,3 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 2010-2445 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 1,51 g 6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)-
 10 bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 209-219 °C. [α_D^{25} =+133,5 °. (c=0,230; CH₂Cl₂). Molekyylipaino 436 (laskettu 436,5). Puhtaus 99,6 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 21

15 6 α -fluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis-(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (0,21 ml) liuosta 3 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein 6 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dionin
 20 (310 mg) liuokseen 6 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (76 x 6,3 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 1035-1230 ml:n
 25 fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 63 mg 6 α -fluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis-(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 99-101 °C. [α_D^{25} =+89,8° (c=0,206; CH₂Cl₂). Molekyylipaino 674 (laskettu 674,94). Puhtaus 97,9 % (HPLC-analyysi).
 30 lyysi).

Esimerkki 22

9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)-bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dioni

35 Tris(trifenyylifosfiini)rodiumkloridin 675 mg:n liuosta 250 ml:ssa tolueenia hydrattiin huoneenlämpötilassa ja ilmakehän paineessa 45 min. Triamkinoloni-16 α ,17 α -asetonidin liuosta 100 ml:ssa absoluuttista etanolia lisättiin ja hydrausta jatkettiin edelleen 40 h. Reaktioseos haihdutettiin

ja pääosa katalyytistä poistettiin leimahduskromatografialla asetoni:petrolieetteri (kiehumispiste 40-60 °C), 40:60, liikkuvana faasina. Raakatuote puhdistettiin edelleen Sephadex LH-20 -pylväässä (72,5 x 6,3 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 2746-3195 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 404 mg 9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis(oksi)]pregn-4-
 5 eeni-3,20-dionia. Sulamispiste 238-241°C. [α_D^{25}]=+145,2° (c=0,288; CH₂Cl₂). Molekyyllipaino 436 (laskettu 436,5).
 10 Puhtaus 99 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 23

9 α -fluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

15 Palmitoyylikloridin (0,69 ml) liuosta 10 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittain 9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis(oksi)]pregn-4-eeni-3,20-dionin (310 mg) liuokseen 20 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin
 20 kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 240-305 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 102 mg 6 α -fluori-11 β -hydroksi-16 α ,17 α -[(1-metyylietyylideeni)bis(oksi)]-21-
 25 palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Molekyyllipaino 674 (laskettu 674,94). Puhtaus 98 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 24

(22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

30 Juuri tislatus butanaalin (100 ml) ja 0,2 ml:n perkloorihappoa (70 %) liuokseen 50 ml:ssa puhdistettua ja kuivattua dioksaania lisättiin 9 α -fluori-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroksipregn-4-eeni-3,20-dionia (340 mg) pieninä osina sekoittaen
 35 20 min aikana. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa edelleen 5 h. Metyleenikloridia (200 ml) lisättiin ja liuos pestiin kaliumkarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä ja se kuivattiin vedettömän magnesiumsulfaatin

päällä. Saatu raakatuote puhdistettiin haihduttamisen jäl-
keen Sephadex LH-20 -pylväässä (72,5 x 6,3 cm) käyttäen
kloroformia liikkuvana faasina. 2760-3195 ml:n fraktio ke-
rättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 215 mg (22RS)-
5 16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-
4-eeni-3,20-dionia. Molekyylipaino 450 (laskettu 450,6).
Puhtaus oli 95,7 % (HPLC-analyysi).

Palmitoyylikloridin (0,13 ml) liuosta 2,5 ml:ssa dioksaania
10 lisättiin tipoittein (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -
fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (40 mg)
liuokseen 5 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin
huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esi-
merkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pyl-
15 väässä (87 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana
faasina. 220-300 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin,
jolloin saatiin 42 mg (22RS)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -
fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-
dionia öljynä. Molekyylipaino 688 (laskettu 688,97). 22R-
20 ja 22S-epimeerien välinen jakautuma oli 61/39 (HPLC-analyy-
si).

Esimerkki 25

25 (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-
palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni
(22RS)-16 α ,17 α -butyleenidioksi-9-fluori-11 β ,21-dihydroksi-
pregn-4-eeni-3,20-dionia (200 mg) liuotettiin kromatogra-
foimalla Sephadex LH-20 -pylväässä (76 x 6,3 cm) käyttäen
heptaani:kloroformi:etanoli(20:20:1)seosta liikkuvana faa-
30 sina. 7560-8835 ml:n (A) ja 8836-9360 ml:n (B) fraktiot
kerättiin ja haihdutettiin. Fraktiosta A peräisin oleva
tuote (120 mg) identifioitiin ¹H-NMR- ja massaspektrometri-
alla (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β ,21-di-
hydroksipregn-4-eeni-3,20-dioniksi ja B-fraktiosta peräisin
35 oleva tuote (50 mg) 22R-epimeeriksi.

Epimeereillä oli seuraavat ominaisuudet. Epimeeri 22S:
Sulamispiste 172-180 °C. [α _D²⁵]=+62,3° (c=0,132; CH₂Cl₂);
molekyylipaino 448 (laskettu 448,5).

Epimeeri 22R: Sulamispiste 180-190 °C. $[\alpha_D^{25}] = +105,6^\circ$ ($c=0,214$; CH_2Cl_2); molekyylipaino 450 (laskettu 450,6). Epimeerien puhtaus määritettiin HPLC-analyysillä 95,6 %:ksi 22S-epimeerin osalta ja 98,2 %:ksi 22R-epimeerin osalta.

5

Palmitoyylikloridin (0,34 mg) liuosta 5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (50 mg) liuokseen 10 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkiksi 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 6,3 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 180-205 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 36 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksi-
 15 pregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Puhtaus 96,3 % (HPLC-analyysi). Molekyylipaino 688 (laskettu 688,97).

Esimerkki 26

20 (22S)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (0,14 ml) liuosta 15 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-3,20-dionin (41 mg) liuokseen 3 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkiksi 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (89 x 2,5 cm) käyttäen heptaani:kloroformi:etanolia, 20:20:1, liikkuvana faasina. 215-260 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 26 mg (22R)-16 α ,17 α -9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dionia öljynä. Puhtaus 98 % (HPLC-analyysi). Molekyylipaino 688 (laskettu 688,97).

35 Esimerkki 27

(22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni

Palmitoyylikloridin (75 mg) liuosta 2,5 ml:ssa dioksaania lisättiin tipoittein (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -

fluori-11 β ,21-dihydroksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionin (25 mg) liuokseen 5 ml:ssa pyridiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön ajan ja se käsiteltiin kuten esimerkissä 1. Raakatuote puhdistettiin Sephadex LH-20 -pylväässä (85 x 2,5 cm) käyttäen kloroformia liikkuvana faasina. 235-285 ml:n fraktio kerättiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 27 mg (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-9 α -fluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dionia. Sulamispiste 116-121°C; $[\alpha]_D^{25}=+67,4^\circ$ (c=0,172; CH₂Cl₂). Molekyylipaino 686 (laskettu 687,0). Puhtaus 96,5 % (HPLC-analyysi).

Esimerkki 28

Farmaseuttiset valmisteet

Seuraavat ei-rajoittavat esimerkit valaiset formulointeja, jotka on tarkoitettu erilaisiin antamisen tooppisiin muotoihin. Aktiivisen steroidin määrät perkutaanisissa formuloinneissa ovat tavallisesti 0,001-0,2 % (paino/paino), edullisesti 0,01-0,1 % (paino/paino).

Formulointi 1, voide

steroidi, mikronisoitu	0,025 g
nestemäinen parafiini	10,0 g
valkoinen pehmeä parafiini	100,0 g saakka

Formulointi 2, voide

steroidi	0,025 g
propyleeniglykoli	5,0 g
sorbitaaniseskvioleaat	5,0 g
nestemäinen parafiini	10,0 g
valkoinen pehmeä parafiini	100,0 g saakka

Formulointi 3, öljy vedessä -voide

steroidi	0,025 g
setanoli	5,0 g
glyseryylimonostearaat	5,0 g
nestemäinen parafiini	10,0 g
Cetomacrogol 1000	2,0 g
sitruunahappo	0,1 g

natriumsitraatti	0,2 g
propyleeniglykoli	35,0 g
vesi	100,0 g saakka

5 Formulointi 4, öljy vedessä voide

steroidi, mikronisoitu	0,025 g
valkoinen pehmeä parafiini	15,0 g
nestemäinen parafiini	5,0 g
setanoli	5,0 g
10 Sorbimacrogol-stearaatti	2,0 g
sorbitaanimonosteraraatti	0,5 g
sorbiinihappo	0,2 g
sitruunahappo	0,1 g
natriumsitraatti	0,2 g
15 vesi	100,0 g saakka

Formulointi 5, vesi öljyssä voide

steroidi	0,025 g
valkoinen pehmeä parafiini	35,0 g
20 nestemäinen parafiini	5,0 g
sorbitaaniseskvioleaatti	5,0 g
sorbiinihappo	0,2 g
sitruunahappo	0,1 g
natriumsitraatti	0,2 g
25 vesi	100,0 g saakka

Formulointi 6, liuos

steroidi	0,25 g
isopropanoli	0,5 g
30 karboksivinyylipolymeeri	3 mg
NaOH	q.s
vesi	1,0 g saakka

Formulointi 7, injektointisuspensio

35 steroidi, mikronisoitu	0,05-10 mg
natriumkarboksimeetyyliselluloosa	7 mg
NaCl	7 mg
polyoksietylenei(20)sorbitaani-	
mono-oleaatti	0,5 mg

fenyylikarbinoli	8 mg
vesi, steriili	1,0 ml saakka

Formulointi 8, aerosoli suun ja nenän kautta sisäänhengi-
5 tettäväksi

steroidi, mikronisoitu	0,1 % paino/paino
sorbitaanitrioleaatti	0,7 % paino/paino
trikloorifluorimetaani	24,8 % paino/paino
diklooritetrafluorietaani	24,8 % paino/paino
10 diklooridifluorimetaani	49,6 % paino/paino

Formulointi 9, sumutukseen tarkoitettu liuos

steroidi	7,0 mg
propyleeniglykoli	5,0 mg
15 vesi	10,0 g saakka

Formulointi 10, sisäänhengitettäväksi tarkoitettu jauhe

Gelatiinikapseli, joka on täytetty seoksella, jossa on

steroidia, mikronisoitu	0,1 mg
20 laktoosia	20 mg

Jauhe sisäänhengitetään sisäänhengityslaitteen avulla.

Formulointi 11, sisäänhengitettäväksi tarkoitettu jauhe

25 Pallosiksi tehty jauhe täytetään moniannosjauhesisäänhen-	
gityslaitteeseen. Jokainen annos sisältää	
steroidia, mikronisoitu	0,1 mg

Formulointi 12, sisäänhengitettäväksi tarkoitettu jauhe

30 Pallosiksi tehty jauhe täytetään moniannosjauhesisäänhen-	
gityslaitteeseen. Jokainen annos sisältää	
steroidia, mikronisoitu	0,1 mg
laktoosia, mikronisoitu	1 mg

Formulointi 13, ohutsuolen hoitoon tarkoitettu kapseli

steroidi	1,0 mg
sokeripallosia	321 mg
Aquacoat ECD 30	6,6 mg
asetyylitributyylisitraatti	0,5 mg

	Polysorbate 80	0,1 mg
	Eudragit L100-55	17,5 mg
	trietyylisitraatti	1,8 mg
	talkki	8,8 mg
5	Vaahtoamisen esto-MMS	0,01 mg

Formulointi 14, paksunsuolen hoitoon tarkoitettu kapseli

	steroidi	2,0 mg
	sokeripallosia	305 mg
10	Aquacoat ECD 30	5,0 mg
	asetyyli-tributyyli-sitraatti	0,4 mg
	Polysorbate 80	0,14 mg
	Eudragit NE30 D	12,6 mg
	Eudragit S100	12,6 mg
15	talkki	12,6 mg

Formulointi 15, rektaaliperäruiske

	steroidi	0,02 mg
	natriumkarboksimeetyyliselluloosa	25 mg
20	dinatriumedetaatti	0,5 mg
	metyyli-para-hydroksibentsoaatti	0,8 mg
	propyyli-para-hydroksibentsoaatti	0,2 mg
	natriumkloridi	7,0 mg
	sitruunahappo, vedetön	1,8 mg
25	Polysorbate 80	0,01 mg
	vesi, puhdistettu	1,0 ml saakka

Formulointi 16, formulointi, joka sisältää liposomiin sidottua steroidia

- 30 A. Tiputukseen tarkoitettun formuloinnin valmistaminen
- Synteettistä dipalmitoyylifosfatidyylikoliinia (45 mg), dimyristoyylifosfatidyylikoliinia (7 mg), dipalmitoyylifosfatidyyli-glyserolia (1 mg) ja (22R)-16 α ,17 α -butylideenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-
 35 eeni-3,20-dionia (5 mg) sekoitetaan lasiputkessa. Kaikki komponentit liuotetaan kloroformiin. Enin osa liuottimesta haihdutetaan käyttämällä N₂:a ja sitten lasketussa paineessa, mikä muodostaa lipidikomponenttien ohuen kalvon lasiputken pinnalle. Vesiliuosta (0,9 % NaCl) lisätään lipidei-

hin. Liposomien muodostaminen suoritetaan lämpötilassa, joka on lipidien faasinsiirtymälämpötilan yläpuolella. Liposomit muodostetaan ravistamalla tai sonikoimalla liuos sonikaattorin koettimella. Saatu suspensio sisältää liposomeja ja kokoalueella, joka on hyvin pienistä rakkuloista 2 μm :iin.

B. Sisäänhengitettäväksi tarkoitetun formuloinnin valmistaminen

10 Liposomien valmistaminen suoritetaan esimerkin A mukaisesti, jolloin vesiliuos sisältää 10 % laktoosia. Laktoosin ja lipidin välinen suhde on 7:3. Liposomisuspensio jäädytetään kuivalla jäällä ja lyofilisoidaan. Kuivatuote mikronisoidaan saaden aikaan partikkeleita, joiden massakeskiarvon
15 dynaaminen halkaisija (MMAD) on noin 2 μm .

Farmakologia

Lokaalisen tulehduksenvastaisen aktiivisuuden selektiivisyydestä voidaan antaa esimerkki seuraavalla hengitystie-
20 mallilla.

Huomattava fraktio sisäänhengitettyä GCS kerrostuu nieluun ja sen jälkeen se niellään se päättyy suoleen. Tämä fraktio aiheuttaa ei-haluttuja steroidin sivuvaikutuksia, koska se
25 toimii hoidettavaksi aiotun alueen (keuhko) ulkopuolella. Siten on edullista käyttää GCS, jonka tulehduksenvastainen aktiivisuus on paikallisesti suuri keuhkossa, mutta GCS:n induoimat sivuvaikutukset ovat pienet oraalisen antamisen jälkeen. Siksi tutkimuksia tehtiin GCS:n indusoimien sivu-
30 vaikutuksien määrittämiseksi paikallisen keuhkossa käyttämisen jälkeen sekä oraalisen antamisen jälkeen ja glukokortikosteroidivaikutusten välinen erilaistuminen hoidetulla keuhkoalueella sekä tämän alueen ulkopuolella testattiin seuraavalla tavalla.

35

Testimallit

A) Toivotun paikallisen tulehdusta estävän aktiivisuuden testimalli hengitysteiden limakalvossa (vasen keuhkolohko)

Sprague Dawley -rotat (250 g) nukutettiin kevyesti Ephra-
 nella ja glukokortikosteroiditestivalmiste (liposomeissa,
 jotka on suspendoitu suolaliuokseen) annettiin tiputuksena
 tilavuudessa 0,5 ml/kg juuri vasempaan keuhkolohkoon. Kaksi
 5 tuntia myöhemmin Sephadex (5 mg/kg tilavuudessa 1 ml/kg)
 annettiin tiputuksena henkitorveen hyvin haarauman yläpuo-
 lelle siten, että suspensio saavutti sekä vasemman että
 oikean keuhkolohkon. Kaksikymmentä tuntia myöhemmin vasem-
 mat keuhkolohkot leikattiin pois ja punnittiin. Verrokki-
 10 ryhmät saivat välityksainetta glukokortikosteroidivalmisteen
 asemasta ja suolaliuosta Sephadex-suspension asemasta lääk-
 keellä käsittelemättömän Sephadex-pöhön painon ja normaalin
 keuhkonpainon määrittämiseksi.

15 B) Oraalisesti absorboituneen glukokortikosteroidin ei-toi-
 votun systeemisen vaikutuksen testimalli

Sprague Dawley -rotat (250 g) nukutettiin kevyesti Ephra-
 nella ja glukokortikosteroiditestivalmistetta annettiin
 oraalisesti. Kaksi tuntia myöhemmin Sephadex-suspensiota (5
 20 mg/kg tilavuudessa 1 ml/kg) annettiin tiputuksena henkitor-
 veen hyvin haarauman yläpuolelle siten, että suspensio saa-
 vutti sekä vasemman että oikean keuhkolohkon. Kaksikymmentä
 tuntia myöhemmin rotat tapettiin ja keuhkolohkot punnit-
 tiin. Verrokkiryhmät saivat välityksainetta glukokortikoste-
 roidivalmisteen asemasta ja suolaliuosta Sephadex-suspen-
 sion asemasta lääkkeellä käsittelemättömän Sephadex-pöhön
 25 painon ja normaalin painon määrittämiseksi.

Vertailututkimusten tulokset on esitetty taulukossa 1. Kek-
 30 sinnön mukaisten yhdisteiden farmakologista profiilia ver-
 rattiin budesonidi-21-palmitaatin ja flumetasoni-21-palmi-
 taatin liposomeissa testimalli. Kaikissa keksinnön mukai-
 sissa steroideissa on suurempaa paikallista tulehdusta es-
 tävää tehoa paikallisen keuhkoon antamisen jälkeen kuin
 35 budesonidi-21-palmitaatissa liposomeissa. Lisäksi tulokset
 osoittavat myös keksinnön mukaisten testattujen yhdisteiden
 suurempaa keuhkoselektiivisyyttä verrattuna valittuihin
 tekniikan tason mukaisiin yhdisteisiin, koska keuhkopöhön
 inhiboimiseen tarvittava annos (ED₅₀) annettaessa oraali-

sesti edellä mainittuja yhdisteitä on 158 (esimerkki 3),
247 (esimerkki 7) ja 559 (esimerkki 1) kertaa suurempi ja
budesonidi-21-palmitaatin 66 kertaa suurempi ja flumetaso-
ni-21-palmitaatin 8 kertaa suurempi kuin annos, joka tarvi-
5 taan keuhkopööhön inhiboimiseen antamalla paikallisesti
keuhkoon lääkkeitä.

Täten voidaan tehdä johtopäätös, että keksinnön mukaiset
yhdisteet sopivat hyvin ihon ja kehon erilaisten onteloiden
10 (esim. keuhkon, nenän, suoliston ja nivelten) tulehdussai-
rauksien paikalliseen hoitamiseen.





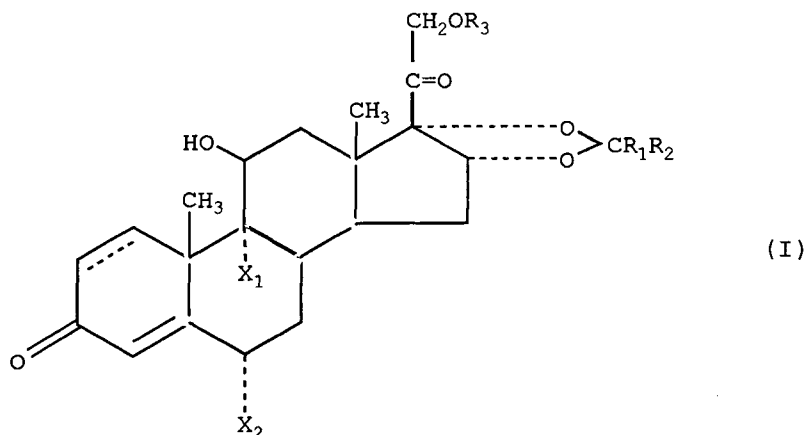
Taulukko 1. Testattujen liposymeissa olevien glukokortikosteroidien vaikutus Sephadexilla indusoidussa rotan keuhkopöhtömallissa. Tulokset on annettu suhteessa vastaaviin verrokkiryhmiin, joille on annettu Sephadexia.

5	Esimerkin mukainen yhdiste	ED ₅₀ (annettu vasempaan keuhkoon; nmol/kg) Vasen keuhkolohko ^x	ED ₅₀ (annettu p.o.; nmol/kg) keuhko	Suhde oraalinen/paikallinen antaminen
10	Budesonidi-21-palmitaatti (RS)	23	1520	66
15	Flumetasoni-21-palmitaatti	2,2	18	8
20	7	2,3	568	247
	6	1,8	-	
	3	3,5	554	158
	1	1,5	839	559

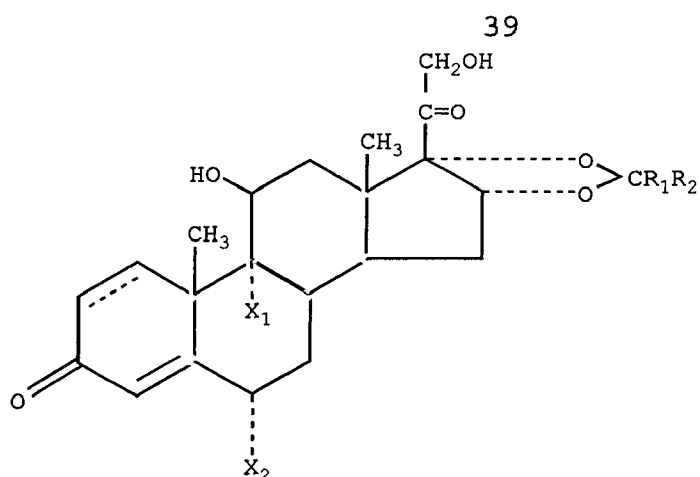
x) ED₅₀ = pöhtön vähentämiseksi 50 % tarvittava glukokortikosteroidiannos.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti aktiivisen 16 α ,17 α -butyli-
 deenidioksi-6 α ,9 α -difluori-11 β ,21-dihydroksipregn-4-eeni-
 5 3,20-dioniesterin valmistamiseksi, jolla on yleinen kaava



- tai sen stereoisomeerisen komponentin valmistamiseksi,
 10 jossa kaavassa 1,2-asema on tyydytetty tai kaksoissidos,
 R₁ on vety tai suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jos-
 sa on 1-4 hiiliatomia,
 R₂ on suora tai haaroittunut hiilivetyketju, jossa on 1-10
 hiiliatomia,
 15 R₃ on asyyli, jossa on suora tai haaroittunut, tyydytetty
 tai tyydyttämätön hiilivetyketju, jossa on 11-20 hiiliato-
 mia,
 X₁ ja X₂ ovat molemmat fluori,
 edellytyksellä, että kun 1,2-asema on kaksoissidos, R₁ ja
 20 R₂ eivät ole samanaikaisesti metyyliiryhmiä,
tunnettu siitä, että
 a) kaavan



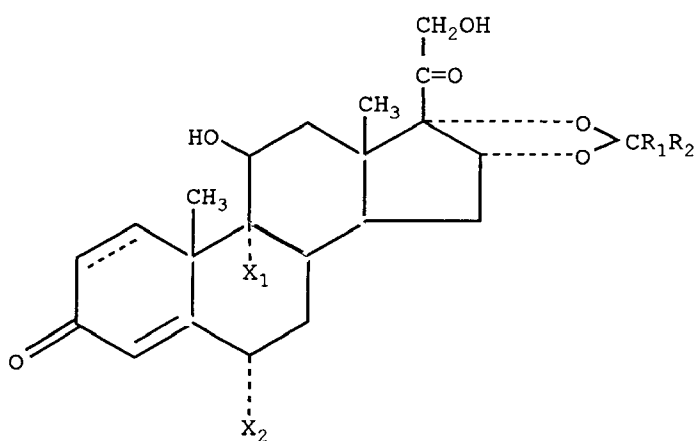
mukainen yhdiste, jossa R_1 , R_2 , X_1 ja X_2 tarkoittavat samaa kuin edellä, reagoitetaan kaavan

5



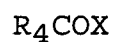
mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R_4 on suora tai haaroit-
tunut, tyydytetty tai tyydyttämätön alkyyli, jossa on 10-
10 19 hiiliatomia, tai

b) kaavan



15

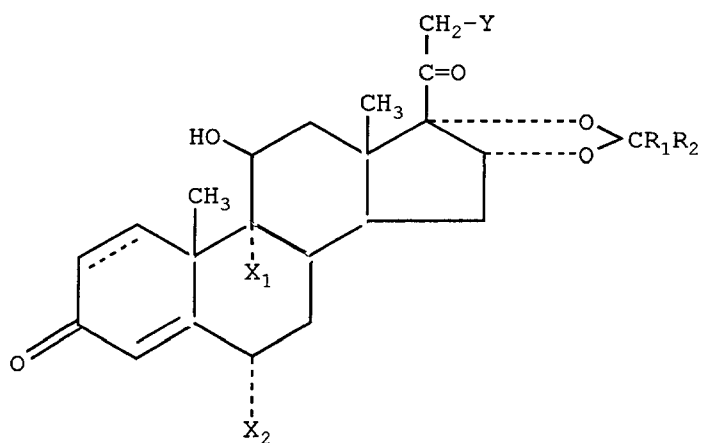
mukainen yhdiste, jossa R_1 , R_2 , X_1 ja X_2 tarkoittavat samaa kuin edellä, reagoitetaan kaavan



20

mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R_4 tarkoittaa samaa kuin edellä ja X_1 on halogeeniatomi tai osuus $-\text{OOCR}_4$, tai

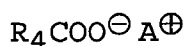
c) kaavan



5

mukainen yhdiste, jossa R_1 , R_2 , X_1 ja X_2 tarkoittavat samaa kuin edellä ja Y on halogeeni, mesylaatti tai p-tolueenisulfonaatti, reagoitetaan kaavan

10



mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R_4 tarkoittaa samaa kuin edellä ja $\text{A}^\oplus$ on kationi,

15

minkä jälkeen, jos täten saatu yhdiste on epimeerinen seos ja halutaan puhdasta epimeeriä, epimeerinen seos jaetaan stereoisomeerisiksi komponenteikseen.

20

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa 1,2-asema on tyydytetty.

25

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_3 on palmitoyyli.

30

4. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa 1,2-asema on tyydytetty, R_1 on vetyatomi ja R_2 on propyyliiryhmä.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa 1,2-asema on kaksoissidos, R_1 on vetyatomi, R_2 on propyyli-ryhmä ja R_3 on palmitoyyli-ryhmä.

5

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni.

10

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan (22S)- $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni,

15 (22R)- $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-myristoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni,

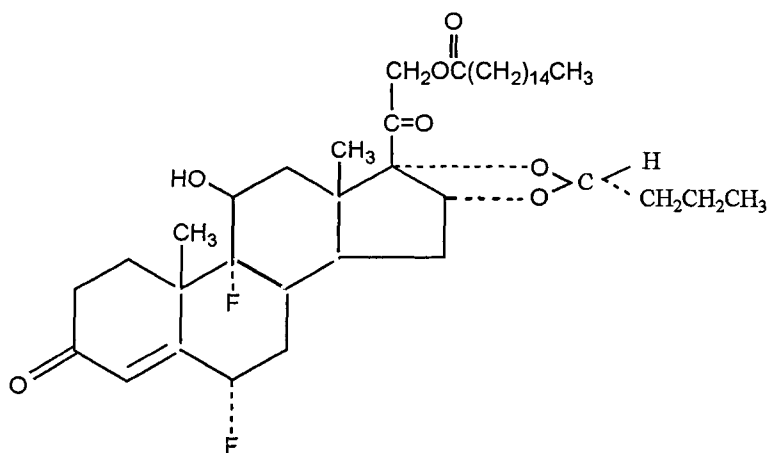
(22R)- $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-layroyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni,

20 (22R)- $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni,

(22S)- $16\alpha,17\alpha$ -butylideenidioksi- $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi-21-palmitoyylioksipregna-1,4-dieeni-3,20-dioni, tai $6\alpha,9\alpha$ -difluori- 11β -hydroksi- $16\alpha,17\alpha$ -[(1-metyylietylideni)bis(oksi)]-21-palmitoyylioksipregn-4-eeni-3,20-dioni.

25

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava



30