

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159323 B



(51) Int.Cl.⁵ C 07 J 1/00

(21) Patentansøgning nr.: 2133/85

(22) Indleveringsdag: 14 maj 1985

(41) Alm. tilgængelig: 17 nov 1985

(44) Fremlagt: 01 okt 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 16 maj 1984 DE 3418562

(71) Ansøger: *SCHERING AKTIENGESellschaft; Muellerstrasse 170-178; Berlin und Bergkamen; 1 Berlin 65, DE

(72) Opfinder: Henry *Laurent; DE, Dieter *Bittler; DE, Sybille *Beier; DE, Walter *Elger; DE

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

(54) Østrioldiestere samt farmaceutiske præparater indeholdende disse

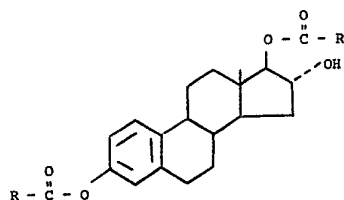
(56) Fremdragne publikationer

GB pat. nr. 1006802

(57) Sammendrag:

2133-85

Østriolestere med den almene formel I



hvor R betegner en monocarboxylsyrerest med 2 - 10 carbonatomer.

De hidtil ukendte østriolestere overgår østriol i styrke og varighed af østrogenvirkningen.

DK 159323 B

Opfindelsen angår hidtil ukendte østrioldiestere, der er ejendommelige ved den i krav 1 angivne formel I samt farmaceutiske præparater, der indeholder de hidtil ukendte østrioldiestere.

- 5 Østriol med den kemiske betegnelse 1,3,5(10)-østraitrien-3, 16 α ,17 β -triol er et vigtigt, naturligt østrogen.

- 10 Østriol anvendes også som virksom bestanddel i præparater til erstatning af østrogen ved østrogenmangel-symptomer, f.eks. hos kvinder i postmenopausen.

Da østriol udskilles meget hurtigt fra legemet, må det tilføres med korte intervaller (1 - 3 gange dagligt).

- 15 I litteraturen er også beskrevet nogle estere af østriol, f.eks. østrioltriestere, 16,17-diestere og 16-monoestere i Chem Phar. Bull. 11 (1963), 510 - 514, og desuden 3-acetat, 3,16-diacetat og 16,17-diacetat i Acta Chem. Scand. 22 (1968), 254. Der har ikke tidligere i litteraturen været omtalt 3,17 β -
20 diestere af østriol.

- Fra GB patentskrift nr. 1.006.802 kendes 3,16(α),17(β)-tri-propionatet af østriol. I sammenligning med østriol har denne ester en højere østrogen virkning og en væsentligt højere
25 virkningsvarighed. Den maksimale virkning af den ud fra esteren dannede østriol optræder dog forholdsvis tidligt efter anvendelsen, derefter falder virkningen igen betydeligt, ca. med 1/3 af stigningshastigheden.

- 30 Med undtagelse af østriolsuccinat, der må tilføres tre gange dagligt, er ingen østriolestere blevet anvendt medicinsk.

- De her omhandlede 3,17 β -diestere af østriol med monocarboxylsyrer med 2 - 10 carbonatomer overgår østriol i styrke og va-
35 righed af østrogenvirkningen.

Esterresterne RCO- i den almene formel I er overvejende ens og hidrører fra en alifatisk, cykloalifatisk-alifatisk eller

aromatisk monocarboxylsyre. Foretrukne esterrester RCO- er esterresterne fra eddikesyre, propionsyre, smørsyre, isosmørsyre, pivalinsyre, valerianesyre, capronsyre, ønanthsyre, octan- og decansyre og endvidere β -cyklopentylpropionsyre og benzoesyre.

De hidtil ukendte østrioldiesteres østrogene aktivitet og depotegenskaber i sammenligning med østriols (E_3) blev bestemt ved den modificerede uterusvæksttest efter Rubin hos ovariektomererede rotter (Endocrinology 49 (1951) 429-439).

Voksne, ovariektomererede rotter med en vægt på ca. 150 g, 6 dyr pr. dosisgruppe, behandles én gang med enten test- eller referencestoffet (østriol). Den dag, hvor stoffet indgives, gælder som forsøgets dag 1 (d_1). Stofferne opløses i en blanding af benzylbenzoat + ricinusolie i forholdet 4:6, og dagsdosen indgives subkutan (s.c.) i et volumen på 0,2 ml. En kontrolgruppe indgives kun 0,2 ml vehikel.

Virksomme østrogener fører hos ovariektomererede rotter til karakteristiske forandringer i vaginalepitelet. Der sker en stærk profileration af vaginalepitelet og en forhorning af overfladecellelagene. Der foretages én gang om dagen vaginalafskrabninger. Afskrabsbillederne bedømmes cytologisk.

Der skelnes mellem følgende cyklusstadier:

- 1 = diøstrus (leukocytter og kerneholdige epitelceller),
- 2 = proøstrus (kerneholdige epitelceller),
- 3 = østrus (kerneløse hornklumper),
- 4 = metøstrus (kerneløse hornklumper, leukocytter, epitelceller).

Til fastlæggelse af varigheden af østrogenvirkningen i vagina bestemmes den tid i dage, i hvilken østrus opretholdes.

Af tabel 1 fremgår, at dyrene efter indgift af østriol (E_3) bliver i østrus én dag. Efter indgift af ækvimolære mængder

E₃-3,17 β -dipropionat, E₃-3,17 β -dibutyrat, E₃-3,17 β -diisobuty-
rat, E₃-3,17 β -divalerianat og E₃-3,17 β -dihexanoat opretholdes
østrus i henholdsvis 8, 16, 23, 28 og 27 dage.

5

Tabel 1

Østrogenvirkningens varighed i vagina efter en enkelt injek-
tion (s.c.) af østriol (E₃) eller en enkelt injektion af for-
skellige 3,17 β -diestere hos ovariektomerede rotter i ækvimo-
10 lære doser:

Forbindelse	Østrus
Østriol (E ₃), 100 μ g s.c.	1 dag
E ₃ -3,17 β -dipropionat, 139 μ g s.c.	8 dage
15 E ₃ -3,17 β -dibutyrat, 149 μ g s.c.	16 dage
E ₃ -3,17 β -diisobutyrat, 149 μ g s.c.	23 dage
E ₃ -3,17 β -divalerianat, 158 μ g s.c.	28 dage
E ₃ -3,17 β -dihexanoat, 168 μ g s.c.	27 dage

20 I tabel 2 angives det tidsmæssige forløb af østriol(E₃)-se-
rumkoncentrationen i pmol/liter efter en enkelt injektion
(s.c.) af østriol (E₃) og en enkelt injektion (s.c.) af for-
skellige E₃-3,17 β -diestere hos overiektomerede rotter.

25 På dag 1, 2 timer før injektionen, og på dag 5, 10, 15, 20, 25
og 30 efter injektionen udtages blod fra dyrene for at bestem-
me serum-E₃-koncentrationen ved hjælp af RIA (Radio Immuno
Assay).

30 Af tabel 2 fremgår, at den radioimmunologisk målte E₃-koncen-
tration efter indgift af østriol-3,17 β -diestere ligger 5 - 15
gange højere end efter ækvimolær indgift af østriol (E₃).

For diestrene iagttages forhøjede E₃-koncentrationer indtil 30
35 dage efter indgiften, men for østriol kun i 8 dage.

Tabel 2

Tidsmæssigt forløb af E₃-serumkoncentrationen (pmol/liter) efter en enkelt injektion (s.c.) af østriol (E₃) eller en enkelt injektion (s.c.) af forskellige 3,17 β -diestere hos overiekto-

5

merede rotter i ækvimolære doser:

Forbindelse	Dag 1 ^{x)}	Dag 5	Dag 10	Dag 15	Dag 20	Dag 25	Dag 30
Østriol (E ₃)	37,2	36,6	Dag 8: 57,0				
100 μ g s.c.							
E ₃ -3,17 β -di- propionat, 139 μ g s.c.	49,2	1047,9	159,2	106,8			
E ₃ -3,17 β -di- butyrat, 149 μ g s.c.	41,0	990,5	251,5	124,0	62,5	Dag 24: 46,7	
15 E ₃ -3,17 β -di- isobutytrat, 149 μ g s.c.	34,0	691,7	280,7	213,2	96,5	77,8	50,7
E ₃ -3,17 β -di- valerianat, 158 μ g s.c.	39,7	600,8	264,2	209,3	150,2	85,7	75,8
E ₃ -3,17 β -di- hexanoat, 168 μ g s.c.	46,5	335,9	367,8	259,8	206,5	199,1	89,2
20 E ₃ -3,17 β -di- decanoat, 207 μ g s.c.	55,7	179,0	188,8	170,6	155,0	109,0	92,9
Opløsningsmid- delkontrol, s.c.	39,9	39,8	39,3	37,1	36,7	36,0	50,3

25

x) 2 timer før injektion.

Af de dyre-eksperimentelle resultater fremgår, at såvel virk-

30

ningsstyrken som virkningsvarigheden forøges ved 3,17 β -difor-

estering af østriol.

Ved forestring af østriol i 3,17 β -stillingen opnås en stof-

35

skifte-stabiliseret form af et naturligt østrogen, som er an-

vendelig medicin på mangfoldige måder. Selv om de hidtil

ukendte estere også kan indgives oralt, foretrækkes den pa-

renterale indgiftsmetode, fordi fordelene ved de hidtil

ukendte estere først da træder fuldstændig frem. Ved paren-

teral indgift undgås den første leverpassage og dermed den hurtige metabolisering. Desuden undgås ved parenteral indgift de skadelige hepatiske østrogenvirkninger som f.eks. forøgelse af koagulationsfaktorer, forøgelse af hormontransportproteiner, stigning i angiotensinogener lipoproteinernes ligevægtsforskydning.

De hidtil ukendte østrioldiesteres hoved-anvendelsesområder er erstatning af østrogen hos kvinder i postmenopausen, som lider af klimakterielle mangelsymptomer, f.eks. hedeture, osteoporosis, hud- og genital-atrofi, og endvidere fertilitetsregulering hos kvinder og de gynækologiske indikationer, f.eks. vaginalatrofi, Kraurosis vulvae etc.

Mængden af den hidtil ukendte østrioldiester, der skal indgives, svinger inden for et bredt interval og kan dække enhver virksom mængde. I afhængighed af den tilstand, der skal behandles, og arten og hyppigheden af indgiften kan mængden være fra ca. 10 til 300 mg.

De hidtil ukendte estere er særligt egnede som promedikamenter af østriol til fremstilling af injicerbare eller implanterbare depotpræparater. De har i forhold til de oralt applicerbare præparater den fordel, at en enkelt injektion er tilstrækkelig til en eller flere måneder, mens f.eks. tabletter må indtages dagligt. Varigheden af depotvirkningen afhænger af kædelængden og af ester-mængden samt af arten af bærerstoffet, der frigiver det virksomme stof.

Som bærerstoffer egner sig fysiologisk forligelige fortyndingsmidler, hvori de virksomme stoffer kan være opløst eller suspenderet. Som fortyndingsmiddel egner sig f.eks. vand, med eller uden tilsætning af elektrolytsalte eller fortykkelsesmidler. Således kan depotformuleringen f.eks. være en vandig mikrokrystalsuspension.

Meget ofte anvendes som fortyndingsmiddel også olier, med eller uden tilsætning af en opløsningsformidler, et overfla-

deaktivt stof, et suspenderings- eller emulgeringsmiddel. Eksempler på anvendte olier er især olivenolie, jordnøddeolie, bomulsfrøolie, sojabønneolie, ricinusolie og sesamolie. Eksempler på opløsningsformidlere er især benzylalkohol og benzylbenzoat. En foretrukket blanding består af 6 vægtdele ricinusolie og 4 vægtdele benzylbenzoat.

Ved anvendelsen af de hidtil ukendte østrioldiestere som depotkontraception kan de hidtil ukendte estere kombineres med et depotgestagen eller gestagen, der skal indgives oralt. Den kombinerede anvendelse kan foregå samtidig eller tidsmæssigt forskudt. Således kan man f.eks. kombinere et depotøstrogen med den almene formel I og et depotgestagen til en 1-månedssprøjte. Som depotgestagen til en olieagtig opløsning egner sig f.eks. norethisteronønanthat og til en mikrokristalsuspension medroxyprogesteronacetat.

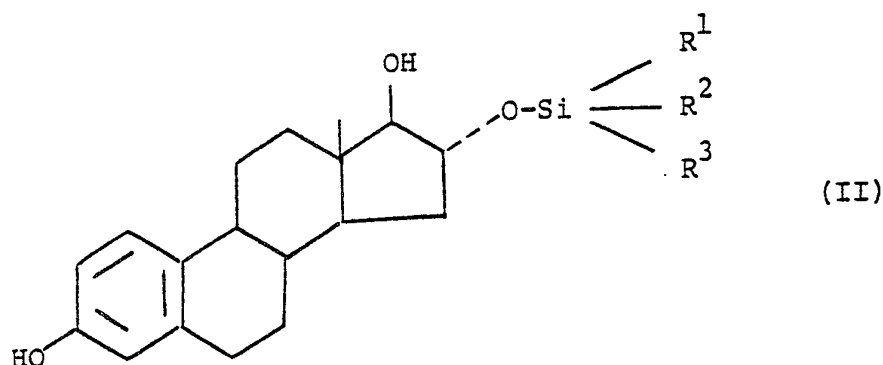
Alt efter den ønskede varighed af virkningen kan man kombinere ca. 10 - 300 mg af det hidtil ukendte depotøstrogen med 30 - 300 mg af et depotgestagen.

Man kan også injicere depotøstrogenet ifølge opfindelsen og indgive et sædvanligt gestagen såsom norethisteron, norgestrel, levonorgestrel eller cyproteonacetat hver dag oralt.

Implanteringspræparater kan indeholde det virksomme stof sammen med inerte materialer som f.eks. biologisk nedbrydelige polymerer. De virksomme stoffer kan også forarbejdes med silikonekautsjuk til implantater.

De hidtil ukendte forbindelser med den almene formel I kan fremstilles ved, at man foresterer en østriol-16-silylether med den almene formel II

7



5
10 hvor R^1 , R^2 og R^3 er ens eller forskellige og betegner alkyl med 1 - 5 carbonatomer, phenyl eller benzyl, på i og for sig kendt måde i 3- og 17β -stillingen og derefter spalter silyl-etheren.

15 Forestringen af hydroxygrupperne i 3- og 17β -stillingen af østriol-16-silyletheren foregår på i og for sig kendt måde med den tilsvarende monocarboxylsyre $RCOOH$ eller et derivat, især anhydridet eller chloridet af monocarboxylsyren, i nærværelse af en base. Som baser kommer især tertiære aminer, f.eks. pyridin, 4-dimethylaminopyridin, collidin, triethylamin eller blandinger af disse aminer, på tale.

20 Den derpå følgende spaltning af silyletheren gennemføres ligeledes efter kendte metoder. En foretrukken metode er spaltning med tetrabutylammoniumfluorid i vandfrit tetrahydrofuran ved stuetemperatur.

25 De som udgangsforbindelser benyttede østriol-16-silylethere kan fremstilles ved omsætning af østriol med det tilsvarende silylchlorid i nærværelse af imidazol i dimethylformamid. Som silylchlorider kommer f.eks. tert-butyldimethylsilylchlorid, 30 dimethyl-2-(3-methylbutyl)-silylchlorid, trimethyl-, triphenyl- og tribenzylsilylchlorid på tale.

Opfindelsen belyses nærmere i de efterfølgende eksempler.

Eksempel 1

En til -20°C afkølet opløsning af 11,52 g 1,3,5(10)-østratrien-3,16 α ,17 β -triol i 200 ml dimethylformamid blandes efter
5 tilsætning af 6,52 g imidazol dråbevis med en opløsning af 13,24 g tert-butyldimethylsilylchlorid i 100 ml dimethylformamid. Denne reaktionsblanding omrøres i 1 time under yderligere køling og hældes derefter i isvand. Det dannede bundfald
10 frafiltreres, vaskes med vand og opløses i dichlormethan. Opløsningen tørres over natriumsulfat og inddampes i vakuum. Resten kromatograferes på kiselgel.

Udbytte 11,30 g 16 α -(tert-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-
15 østratrien-3,17 β -diol. Smeltepunkt 194°C.

a) En opløsning af 750 mg 16 α -(tert-butyldimethylsilyloxy)-
1,3,5(10)-østratrien-3,17 β -diol i 3 ml pyridin blandes med 1,5
ml acetanhydrid. Efter en reaktionstid på 20 timer ved 20°C
20 hældes opløsningen i isvand. Det udfældede bundfald frafiltreres, vaskes med vand og tørres. Der opnås 950 mg 3,17 β -diacetoxy-16 α -(tert-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-østratrien.

b) 950 mg 3,17 β -diacetoxy-16 α -(tert-butyldimethylsilyloxy)-
1,3,5(10)-østratrien opløses i 9,5 ml vandfrit tetrahydrofuran. Opløsningen blandes med 950 mg tetrabutylammoniumfluorid
25 og omrøres i 2½ time ved 20°C. Reaktionsblandingen blandes med diethylether, vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes i vakuum. Resten kromatograferes på kiselgel med en
30 pentan/diethylether-gradient (0 - 20% diethylether).

Udbytte 310 mg 3,17 β -diacetoxy-1,3,5(10)-østratrien-16 α -ol

med et smeltepunkt på 132°C (fra diisopropylether).

$[\alpha]_D = +96^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 2.

- 5 a) En opløsning af 500 mg 16α-(tert.-butyldimethylsilyloxy)-
1,3,5(10)-østratrien-3,17β-diol i 2 ml pyridin blandes med
1,0 ml propionsyreanhydrid og henstår i 48 timer ved stue-
temperatur. Reaktionsopløsningen fortyndes med diethylether,
vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes i va-
kuum. Resten kromatograferes med en pentan/diethylether-
10 gradient (0 - 20% diethylether).

Udbytte 660 mg 16α-(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17β-di-
propionyloxy-1,3,5(10)-østratrien.

- 15 b) 660 mg 16α-(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17β-dipropionyl-
oxy-1,3,5(10)-østratrien omsættes (som beskrevet i eksempel
1 b)) med tetrabutylammoniumfluorid. Efter tilsvarende op-
arbejdning fås 220 mg 3,17β-dipropionyloxy-1,3,5(10)-østratrien-
16α-ol med et smeltepunkt på 105°C (fra diisopropylether).

$[\alpha]_D^{22} = +90^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 3.

- 20 a) Opløsningen af 1,0 g 16α-(tert.-butyldimethylsilyloxy)-
1,3,5(10)-østratrien-3,17β-diol i 4 ml pyridin og 2 ml
smørsyreanhydrid henstår under tilsætning af 100 mg 4-dimethyl-
aminopyridin i 20 timer ved stuetemperatur. Oparbejdningen
foregår som beskrevet i eksempel 2 a). Der opnås 1,4 g 16α-
25 (tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17β-dibutyryloxy-1,3,5(10)-
østratrien.

b) 1,4 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -dibutyryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien omsættes som beskrevet i eksempel 1 b). Efter tilsvarende oparbejdning opnås 900 mg 3,17 β -dibutyryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien-16 α -ol som olie.

5 $[\alpha]_D^{22} = +84^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 4.

a) 1,0 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)- ϕ stratrien-3,17 β -diol omsættes under de i eksempel 3 a) beskrevne reaktionsbetingelser med isosmørsyreanhydrid. Der opnås 1,3 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -diisobutyryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien.

b) Ud fra 1,3 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -diisobutyryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien opnås under de i eksempel 1 b) beskrevne betingelser 830 mg 3,17 β -diisobutyryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien-16 α -ol med et smeltepunkt på 114 $^\circ$ C.

15 $[\alpha]_D^{22} = +86^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 5.

a) Ud fra 1,0 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)- ϕ stratrien-3,17 β -diol opnås med valerianesyreanhydrid under de i eksempel 3 a) beskrevne betingelser 1,37 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -divaleryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien.

b) Under de i eksempel 1 b) beskrevne betingelser opnås ud fra 1,37 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -divaleryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien 760 mg 3,17 β -divaleryloxy-1,3,5(10)- ϕ stratrien-16 α -ol som olie.

25 $[\alpha]_D^{22} = +79^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 6.

- 5 a) Ud fra 750 mg 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-
østratrien-3,17 β -diol opnås med capronsyreanhydrid under de
i eksempel 3 a) beskrevne reaktionsbetingelser 1,08 g 16 α -
(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -dihexanoyloxy-1,3,5(10)-
østratrien.
- b) Under de i eksempel 1 b) beskrevne betingelser fås af
1,08 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -dihexanoyloxy-
1,3,5(10)-østratrien 580 mg 3,17 β -dihexanoyloxy-1,3,5(10)-
østratrien-16 α -ol som olie.
- 10 $[\alpha]_D^{22} = +75^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 7.

- 15 a) Ud fra 1,0 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-
østratrien-3,17 β -diol får man med pivaloylchlorid under de i
eksempel 3 a) beskrevne betingelser 1,38 g 16 α -(tert.-butyl-
dimethylsilyloxy)-3,17 β -dipivaloyloxy-1,3,5(10)-østratrien.
- b) 1,38 g 16 α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -dipivaloyl-
oxy-1,3,5(10)-østratrien omdannes under de i eksempel 1 b)
anførte reaktionsbetingelser til 1,10 g 3,17 β -dipivaloyloxy-
1,3,5(10)-østratrien-16 α -ol.
- 20 Smeltepunkt 164 $^\circ$ C.
- $[\alpha]_D^{22} = +83^\circ$ (i chloroform).

EKSEMPEL 8.

5 a) Ud fra 750 mg 16α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-
østratrien-3,17 β -diol fås med decanoylchlorid under de i
eksempel 3 a) beskrevne betingelser 1,10 g 16α -(tert.-butyl-
dimethylsilyloxy)-3,17 β -didecanoyloxy-1,3,5(10)-østratrien.

b) 1,10 g 16α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-3,17 β -didecanoyl-
oxy-1,3,5(10)-østratrien omdannes under de i eksempel 1 b)
anførte betingelser til 580 mg 3,17 β -didecanoyloxy-1,3,5(10)-
østratrien- 16α -ol.

10 Smeltepunkt 64°C .
[α] $_{\text{D}}^{22} = +63^{\circ}$ (i chloroform).

EKSEMPEL 9.

15 a) Ud fra 1,0 g 16α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-
østratrien-3,17 β -diol fås med benzoylchlorid under de i ek-
sempel 3 a) beskrevne betingelser 1,34 g 3,17 β -dibenzoyl-
oxy- 16α -(tert.-butyldimethylsilyloxy)-1,3,5(10)-østratrien.

20 b) 1,34 g 3,17 β -dibenzoyloxy- 16α -(tert.-butyldimethylsilyl-
oxy)-1,3,5(10)-østratrien omdannes under de i eksempel 1 b)
angivne betingelser til 765 mg 3,17 β -dibenzoyloxy-1,3,5(10)-
østratrien- 16α -ol.

Undersøgelser på rotter vedrørende østrogenvirkningsstyrke og virkningsvarighed for udvalgte østriol-3,17 β -diestre ved samtidig bestemmelse af østriolkoncentrationen i serum ved hjælp af RIA samt sammenligning med østrioltripropionat.

5

Ved den gennemførte undersøgelse skulle det opklares, om østriol fra forskellige syntetiserede diestre af østriol er til rådighed biologisk. Samtidigt bestemtes styrken og varigheden for østrogenvirkningen efter indgivelse af ækvimolære doser af østriol i form af estere med varieret kædelængde.

10

Inden for undersøgelsens rammer undersøges følgende stoffer:

		Molvægt	Smp. (°C)
15	østriol-3,17 β -diacetat	372,5	131,8
	østriol-3,17 β -dipropionat	400,5	104,8
	østriol-3,16,17 β -tripropionat	456,6	olie
	østriol-3,17 β -dihexanoat	484,7	olie
	østriol-3,17 β -didecanoat	596,9	63,6

20

som sammenligningsstof:

østriol (E ₃)	288,4	282
---------------------------	-------	-----

25 Bedømmelsen af østriol-estere med hensyn til deres østrogene aktivitet og potentielle depotegenskaber skete på voksne rotter der var underkastet ovariectomi, og som havde en gennemsnitlig legemsvægt på 200-250 g.

30 Stikprøveomfang/forsøgsgruppe

a) stofgrupper	6 dyr
b) vehikelkontrol	4 eller 6 dyr

35

Behandling og forsøgsvarighed

Prøve- eller referencestoffet blev indsprøjtet subkutant en gang på dag 1 (d1) af forsøget (=forsøgets start) i 0,2 ml
5 blanding af benzylbenzoat og ricinusolie i forholdet 2:3.

Ved de orienterende forsøg (prøve for akut virkning) blev dyrene aflivet på forsøgets dag 5. Undersøgelsens forsøgsafslutning til bedømmelse af protraherende virkninger rettede sig
10 derimod efter den pågældende prøveforbindelses virkningsvarighed. Per definition foregik autopsien, når der hos mindst 50% af de behandlede dyr i gruppen ikke optrådte østrogentypiske forandringer i vaginalepitelet, men senest på forsøgets dag 30.

15 Til eftervisning af østrogene effekter bedømtes de fra dag 1 til forsøgsafslutningen dagligt gennemførte vaginaludstrygninger cytologisk. Optræden af proøstrus, østrus eller metoøstrus blev bedømt som østrogen reaktion.

20 Til kontrol gennemførtes RIA-bestemmelser i serum af højden og i givet fald forløbet af E₃-spejlet.

På grund af de forskellige sidekædelængder i de afprøvede E₃-estere skete tilpasningen af doseringerne på molvægtbasis. De
25 valgte ækvimolære doser udgjorde 1-3 eller 10-30 gange den østrogene tærskeldosis af E₃ ved Allen-Doisy-test (AD-T).

De enkelte prøveforbindelser, de doserede mængder og de målte
30 østriolspejl i serum er opstillet i tabel 3.

Tabel 3: Tidsmæssigt forløb af E₃-spejl i serum (p mol/l) efter en gangs subkutan indsprøjtning på dag 1 (d1) af E₃ og forskellige E₃-estere.

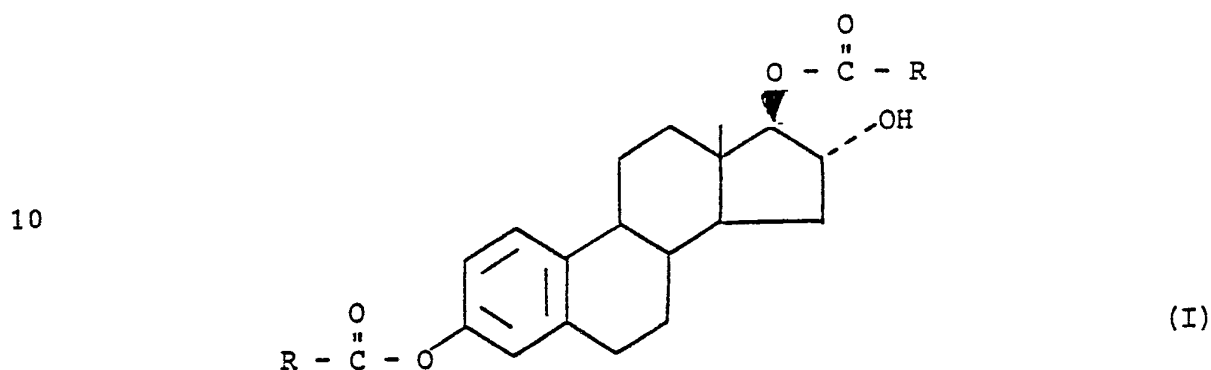
Gruppe	d1*	d5	d10	d15	d20	d25	d30
østriol 100 µg s.c. (E ₃)	82,4 ± 18,7	189,1 ± 39,5	± 58,3 ± 14,9				
østriol- diacetat 129 µg s.c.	56,2 ± 15,2	342,3 ± 280,7	± 77,5 ± 31,5				
østriol- dipropionat 139 µg s.c.	49,2 ± 21,2	1047,9 ± 178,0	159,2 ± 102,8	106,8 ± 33,7 (±)			
østriol- tripropionat 158 µg s.c.	55,4 ± 21,4	714,5 ± 175,4	790,8 ± 310,0	381,0 ± 137,8	195,9 ± 72,8	141,8 ± 33,4	98,5 ± 56,8
østriol- dihexanoat 168 µg s.c.	46,6 ± 7,2	335,9 ± 174,2	367,8 ± 114,5	259,8 ± 83,4	206,5 ± 45,7	199,1 ± 79,5	89,2 ± 50,0
østriol- didecanoat 207 µg s.c.	55,7 ± 12,9	179,0 ± 65,9	188,8 ± 94,4	170,6 ± 61,3	155,0 ± 61,3	109,0 ± 62,4	92,9 ± 60,5
vehikeikon- trol til østrioldide- canoat	48,7 ± 7,9	53,7 ± 2,3	65,2 ± 10,6	-	58,0 ± 2,1	54,1 ± 17,7	<33,8

*) ca. 2 timer før injektion

+
M - SD

P a t e n t k r a v .

1. Østrioldiester, k e n d e t e g n e t ved, at den har den
5 almene formel I



15 hvor RCO-, der kan være ens eller forskellige, hver betegner acylresten af en alifatisk, cykloalifatisk-alifatisk eller aromatisk monocarboxylsyre med 2 - 10 carbonatomer.

2. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
20 at den er 3,17β-diacetoxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

3. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den er 3,17β-dipropionyloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

25 4. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den er 3,17β-diisobutyryloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

5. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den er 3,17β-divaleryloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

30 6. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den er 3,17β-dihexanoyloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

7. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
35 at den er 3,17β-dipivaloyloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

8. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den er 3,17β-didecanoyloxy-1,3,5(10)-østratrien-16α-ol.

9. Østrioldiester ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved,
at den 3,17 β -dibutyryloxy-1,3,5(10)-østratrien-16 α -ol.

10. Farmaceutisk præparat, k e n d e t e g n e t ved, at det
5 indeholder en forbindelse ifølge krav 1 - 9.

10

15

20

25

30

35