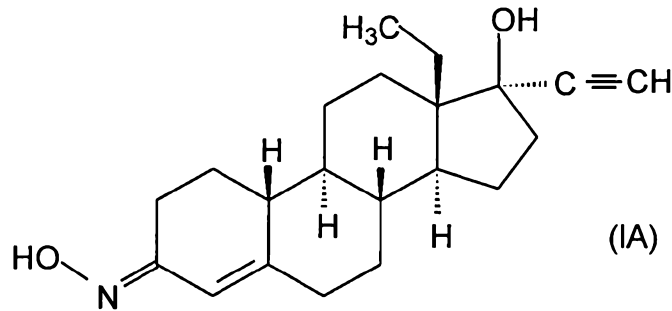


KIVONAT

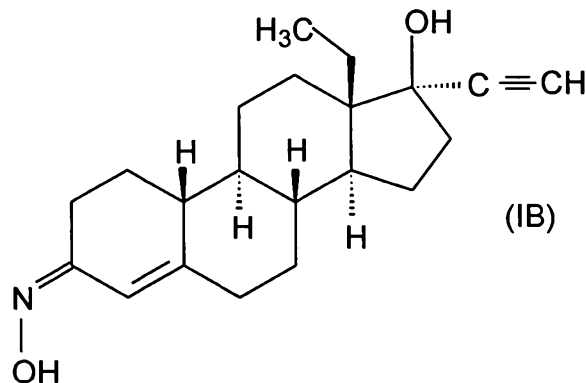
Tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3E- és -3Z-oxim izomerek, valamint eljárás az izomer keverékek és a tiszta izomerek előállítására

5 A találmány tárgyát az (IA) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3E-oxim izomer,



az (IB) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3Z-oxim izomer,

10



15 valamint az ezen izomerek keverékének és a tiszta izomereknek előállítására szolgáló eljárás képezi. A találmányhoz tartoznak azok a gyógyászati készítmények - és ezek előállítási eljárása - is, amelyek hatóanyagként az (IA) vagy az (IB) képletű tiszta izomert tartalmazzák egymagukban, vagy egyéb hatóanyagokkal (például valamely ösztrogénnel) kombinálva a gyógyászati készítmények szokásos segédanyagai mellett.

A találmányunk szerint úgy járunk el, hogy

20 a.) d-norgesztrelt 1 mól d-norgesztrelre számolva 1,2-5,0 mól hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-50 °C közötti

hőmérsékleten, 15-45 percig oximálunk és a kapott norelgestromin izomer keveréket tartalmazó reakcióelegyet

- 5 α.) a mintegy 56:44-64:36 E/Z arányú izomerkeverék előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk és a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, vagy kívánt esetben
- β.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására 10-30 °C hőmérsékleten, kívánt esetben mintegy 10-25 térfogat% víz hozzáadása mellett 24-72 óráig tovább keverjük és a keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy kívánt esetben
- 10 γ.) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk, a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, és diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az oldatot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláros-poláros oldószerkeletet alkalmazva kromatografáljuk, vagy
- 15 b.) egy tetszőleges E/Z izomerarányú norelgestromin izomer keveréket
- α.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-30 °C közötti hőmérsékleten, hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében 24-72 óráig keverünk és a
- 20 keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy
- β.) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az oldatot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláros-poláros oldószerkeletet alkalmazva kromatografáljuk, vagy
- 25 c.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer, vagy az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására a norgestimate-3E- vagy -3Z-izomer 17-acetát-csoportját alkoholos közegben ekvivalens mennyiségű alkálifém-hidroxiddal 5-30 °C hőmérsékleten hidrolizáljuk, majd a kapott, és a kiindulási anyagéval megegyező konfigurációjú (IA) képletű (3E)-oxim-, vagy (IB)
- 30 képletű (3Z)-oxim-izomert elkülönítjük
- és kívánt esetben az a.)-c.) eljárásokkal kapott (IA) és (IB) képletű izomereket kristályosítással tovább tisztítjuk.

Jelenlét képlet (IA); (IB) a kiváltban

Mc

AA

5

Szolgálati találmány

10

15

Tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3E- és -3Z-oxim izomerek, valamint eljárás az izomer keverékek és a tiszta izomerek előállítására

RICHTER Gedeon Vegyészeti Gyár Rt., Budapest.

A feltalálók:

20

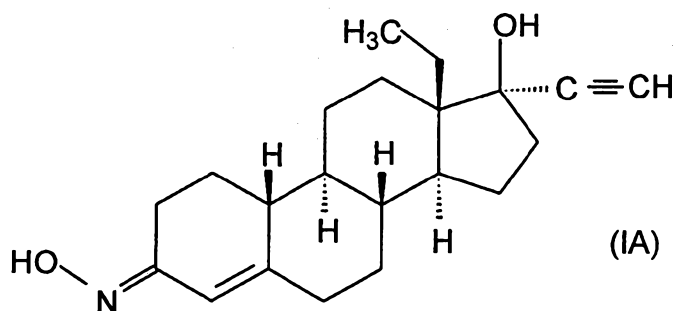
dr. TUBA Zoltán	40 %,
MAHÓ Sándor	31 %, Budapest,
dr. KESERŰ György Miklós	15 %, Telki,
KOZMA József	5 %, Budapest,
HORVÁTH János	5 %, Bölcské,
BALOGH Gábor	4 %, Budapest.

25

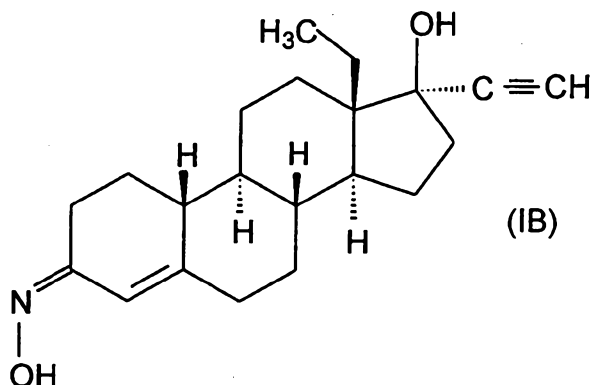
A bejelentés napja: 2003.06.30.

30

A találmány tárgyát az (IA) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3E-oxim izomer,



5 az (IB) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3Z-oxim izomer,



10 valamint az ezen izomerek keverékének és a tiszta izomereknek előállítására szolgáló eljárás képezi. A találmányhoz tartoznak azok a gyógyászati készítmények - és ezek előállítási eljárása - is, amelyek hatóanyagként az (IA) vagy az (IB) képletű tiszta izomer valamelyikét tartalmazzák egymagában, vagy egyéb hatóanyagokkal (például valamely ösztrogénnel) kombinálva a gyógyászati készítmények szokásos segédanyagai mellett.

15 A találmány szerinti gyógyászati készítmények előnyösen tabletták, drazsék vagy transzdermális tapaszok lehetnek. A tabletták a hatóanyag(ok) mellett az ilyen gyógyászati készítményekben szokásos töltő, hígító, stabilizáló, íz és illat adó és színező, valamint a formulázást elősegítő anyagokat tartalmazhatják. Előállításuk a szokásos tabletták készítési eljárásokkal történhet. A drazsék a tabletták előállításához hasonló módon készített drazsémagok szokásos módon végzett drazsírozásával állíthatók elő.

20 A tapaszok előnyösen 3 rétegből álló mátrix típusú transzdermális tapaszok lehetnek. Ezek külső rétege egy, a hatóanyagokra és a mátrix összetevőire átjárhatatlan (impermeábilis)



membrán, melynek anyaga PVC, polietilén, polipropilén vagy poliuretán film. Erre a külső lemeze rétegezzük a hormon tartalmú mátrixot. A mátrix nyomásérzékeny tapadó anyagot (adhezívet) tartalmaz, amely lehet poliakrilát, polidimetilsziloxán vagy poliizobutilén. Ezek valamelyikéhez hozzákeverjük a hatóanyagokat és a kristályosodást gátló polivinilpirrolidon segédanyagot. A mátrixhoz előnyösen olyan segédanyagokat (enhancereket) is diszpergálunk, melyek a szteroidok bőrön keresztül jutását segítik. Ilyenek például az alifás alkohol észterek, a lauril-laktát, az olajsav, stb. lehetnek. Az így keletkezett diszperziót felrétegezzük a tapasz külső lemezére és megszáritjuk.

A mátrixot - felhasználásig - a tapasz harmadik rétege, a védőlemez fedi, melynek anyaga például egy polietilén-tereftalát film lehet. A védőlemezt a tapasz alkalmazása (a bőrre történő felragasztása) előtt el kell távolítani.

A szteránvázas 3-oximino-androsztén-, valamint -gonén-származékok előállítása, azok biológiai vizsgálata az 1960-as évekre nyúlik vissza. A 3,780,073 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban a dl-(17 α)-13-etil-17-aciloxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-oxim-származékok post-coitális fogamzásgátlóként való alkalmazását javasolták.

Tekintettel arra, hogy minden, a gyógyászatban alkalmazott hatóanyagnál, de különösen az erős biológiai hatással rendelkező szteroidoknál nagyon fontos a beadásra kerülő hatóanyag dózis csökkentése, az erre irányuló kutatómunka vezetett oda, hogy az először leírt racém szteroid származék egyes optikai antipódjainak előállítását és annak biológiai hatását megvizsgálják. A d-(17 α)-13-etil-17-acetiloxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-oxim (norgestimate) előállítását a 4,027,019 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás tartalmazza.

A norgestimate biológiai, majd klinikai vizsgálatai igazolták az előnyösebb fertilitás gátlást. A vegyület etinil-ösztradiollal kombinálva ORTHO-CYCLEN és CILEST neveken nyert terápiás felhasználást. Az optikailag aktív izomer felhasználása lehetővé tette a hatóanyagnak a racém vegyületnél kisebb dózisban való alkalmazását.

A kutatásban további előrelépést a 17-dezacetil-norgestimate (norelgestromin) előállítása és farmakológiai, majd klinikai vizsgálata jelentette. Az Am. J. Obstet. Gynecol., **166**, 1969-77. (1992) és az Am. J. Obstet. Gynecol., **163**, 2127-31. (1990) alatti cikkek szerzői felismerték, hogy az orálisan alkalmazott norgestimate metabolitjai, a 17-dezacetil-norgestimate, a 3-ketonorgestimate (levonorgesztrel-acetát), valamint a d-norgesztrel (levonorgesztrel) azok, amelyek elsősorban a biológiai hatás hordozói.

A 4,906,169 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban a norgestimate, valamint a d-norgesztrel ösztrogénnel kombinált keverékének transzdermális tapaszban való alkalmazását mutatják be.



A PCT WO 96/40355 számú szabadalmi dokumentum a dezacetil-norgestimate - tehát a norgestimate egyik metabolitja - önmagában való, vagy ösztrogénnel kombinált hatóanyag keverékének transzdermális alkalmazására ad kitanítást.

5 A dl- valamint a d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-oxim előállítását receptszerűen is a 165,356 számú magyarországi szabadalmi leírás ismerteti. A vegyületeket mint a racém valamint az optikailag tiszta norgesztrel szintézis közti termékeit mutatták be de biológiai hatásukat nem vizsgálták.

10 A fenti szabadalmi dokumentumokban az oxim-származékok előállítására megadott szintézis módszer lényegében véve azonos. Reaktánsként hidroxil-ammónium-hidrokloridot, oldószerként és savmegkötőként piridint alkalmaznak. A szteroidot vízfürdőn melegítve feloldják, majd a reakció teljessé válásáig tovább melegítik. A terméket vízzel történő elegyítés után izolálják, majd kristályosítják. Az így kapott oxim-származékok E/Z izomer összetétele megközelítőleg 60:40-64:36.

15 A J. Chromatogr., **392**, 464-9. (1987) közleménye több ismert szteroid - köztük a norelgestromin - túlnyomásos rétegekromatográfiás elválasztásával foglalkozik, de a kromatográfiás paramétereken túlmenően nem adja meg az elválasztott oxim-izomerek szerkezetbizonyító fiziko-kémiai jellemzését.

20 A J. Chromatogr., **191(1)**, 145-54. (1980) cikk néhány norgesztrel intermedier nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás és gáz-folyadék kromatográfiás vizsgálatával foglalkozik. Ezek között szerepelteti a 165,356 sz. magyar szabadalmi leírásban leírt racém és optikailag tiszta oxim-származékokat is. A leírásból nem derül ki egyértelműen, hogy optikailag tiszta, vagy racém szteroid oximok vizsgálatával foglalkoztak-e. A cikkben leírják, hogy az oxim-izomereket normál fázisú analitikai HPLC módszerrel elválasztották és szerkezetüket meghatározták. A szerkezet azonosításnál hivatkoznak Hara és munkatársai publikációjára [Chem. Ind. (London), 832. (1967)] ahol tesztoszteron syn és anti oxim izomert elválasztották, szerkezetüket NMR és UV spektroszkópiás módszerekkel tanulmányozták; kihangsúlyozzák a két oxim izomer 242 nm hullámhosszon mért moláris abszorpciójában tapasztalható jelentős különbségét.

30 A gyógyszeripar általános törekvése a szerkezetileg egységes, sztereokémiaailag tiszta hatóanyagok előállítása és terápiás alkalmazása, ami kisebb dóziszú, tisztább biológiai spektrumú hatóanyag-bevitelt tesz lehetővé, ezáltal csökkentve például a mellékhatásokat.

Ez a törekvés vezetett arra, hogy a már klinikailag is bevált, de sztereokémiaailag nem egységes, E/Z oxim izomerkeverék formájában alkalmazásra kerülő d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-oxim helyett előállítsuk az (IA) képletű E- és az (IB) képletű Z-izomer oximot. Ezen tiszta izomerek alkalmazásával ugyanis lehetőséget kívántunk teremteni



a biológiai hatás spektrum homogenitása további növelésének, és kihasználva az egyes izomerek eltérő fizikai (például oldékonysági, felszívódási, transzport) tulajdonságait célszerűbb terápiás alkalmazhatóság - applikálási mód - is megvalósíthatóvá válhat.

5 Mint már említettük a 3-as helyzetben oxim-csoportot tartalmazó szteránvázás vegyületek - így a norgestimate és a 17-dezacetil-norgestimate - előállítására eddig ismert eljárással megközelítőleg 60:40 - 64:36 E/Z arányú oxim izomerkeverék állítható elő.

Meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy az oximálás és a kapott oximkeverék feldolgozásának - tovább kezelésének - találmányunk szerinti módján az igénynek megfelelően előállíthatjuk akár a d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-, akár a -(3Z)-oximot, illetve a -(3E és Z)-oximok keverékét. A találmányunk szerint úgy járunk el, hogy

10 a.) d-norgesztrelt 1 mól d-norgesztrelre számolva 1,2-5,0 mól hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-50 °C közötti hőmérsékleten, 15-45 percig oximálunk és a kapott, norelgestromin izomer keveréket tartalmazó

15 reakcióelegyet

α.) a mintegy 56:44-64:36 E/Z arányú izomerkeverék előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk és a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, vagy kívánt esetben

β.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására 10-30 °C hőmérsékleten mintegy 10-25 térfogat% víz hozzáadása mellett 24-72 óráig tovább keverjük és a keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy kívánt esetben

20 γ.) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk, a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, és diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az oldatot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláris-poláris oldószerkelet alkalmazva kromatografáljuk, vagy

25 b.) egy tetszőleges E/Z izomerarányú norelgestromin izomer keveréket

α.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-30 °C közötti hőmérsékleten, hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében 24-72 óráig keverünk és a keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy

30 β.) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az ol-

datot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláropoláros oldószerkeletet alkalmazva kromatografáljuk, vagy

c.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer, vagy az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására a norgestimate-3E- vagy -3Z-izomer 17-acetát-csoportját alkoholos közegben ekvivalens mennyiségű alkálifém-hidroxiddal 5-30 °C hőmérsékleten hidrolizáljuk, majd a kapott, és a kiindulási anyagéval megegyező konfigurációjú (IA) képletű (3E)-oxim-, vagy (IB) képletű (3Z)-oxim-izomert elkülönítjük

és kívánt esetben az a.)-c.) eljárásokkal kapott (IA) és (IB) képletű izomereket kristályosítással tovább tisztítjuk.

10 A c.) eljárás során előnyösen lítium-hidroxid-monohidrátot alkalmazunk alkálifém-hidroxidként és a reakciót metanolos oldatban hajtjuk végre.

Ha az oxim képzést a találmányunk szerint jégcetben vagy vizes ecetsavban végezzük reaktánsként hidroxil-ammónium-hidrokloridot és nátrium-acetátot vagy a már előre elkészített hidroxil-ammónium-acetátot alkalmazva, akkor az oximálás során kapott nyers E/Z izomerkeverék izomeraránya 56:44 és 94:6 között módosítható az izomerkeverék tovább kezelése útján. Ez lehetővé teszi például az E-oxim izomer direkt kinyerését a reakcióelegyből, de megkönnyíti a Z-oxim izomer kromatográfiás úton történő kinyerését is, például az 56:44 arányú keverékből, ugyanis ez az izomerarány diklór-metánból való átkeverés után például 65,5:34,5-ra változtatható. Egy ilyen keverékből pedig a Z izomer például kromatográfiásan könnyen kinyerhető.

A találmány szerinti b.) eljárást alkalmazva a tiszta E-izomer bármely E/Z izomer keverékből, vagy tiszta Z-izomerből is előállítható átizomerizálás útján. Ennek részleteit a példákban adjuk meg.

A tiszta E- vagy Z-oxim izomerekhez juthatunk a találmányunk szerinti c.) eljárással úgy is, hogy a szakirodalomból [Journal of Chromatography, **635**, 342-345. (1993)] ismert d-(17 α)-13-etil-17-acetoxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)- vagy -(3Z)-oxim 17-es helyzetű acetoxi-csoportját elhidrolizáljuk. A találmányunk szerinti kéméletes körülmények között a sztereokémiai tisztaság a hidrolízis során nem romlik el.

A találmányunk szerinti eljárást előnyös módon az alábbiak szerint valósítjuk meg.

30 Az oximálni kívánt d-norgesztelre számítva 1,2-5 mólnyi feleslegben hidroxil-ammónium-hidrokloridot és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű nátrium-acetátot jégcetben szuszpendálunk, majd a csapadékot (a nátrium-klorid a reakció előrehaladásával kiválik) is tartalmazó oldatot mintegy 30 percig keverjük, ezt követően a nátrium-kloridot kiszűrjük. A tiszta oldatban d-norgesztelt szuszpendálunk és a keverést a reakció teljessé válásáig - amit vékony-



réteg-kromatográfiával követünk - folytatjuk, majd a terméket vízzel történő elegyítést követően kiszűrjük, semlegesre mosás után szárítjuk és kristályosítjuk.

Eljárhatunk úgy is, hogy a nátrium-klorid csapadékot nem szűrjük ki az oldatból, az a vízzel történő elegyítéskor úgyszólván feloldódik és nem befolyásolja a termelést és a termék minőségét.

Az így előállított oxim izomerkeverék E/Z aránya megközelítőleg 60:40.

Reaktánsként előre elkészített hidroxil-ammónium-acetátot is alkalmazhatunk.

Amennyiben oldószerként például jégacetet vagy 85 %-os ecetsavat alkalmazunk a fenti reakciókörülményeket között, és a kiindulási anyag teljes átalakulását követően - a keletkezett oxim elkülönítése nélkül - a csapadékos oldatot még 24-72, célszerűen 48 órán át tovább keverjük, majd a kivált terméket szűréssel, vagy vizet is hozzáadva izoláljuk, akkor olyan izomerkeveréket kapunk, melyben az E/Z izomer arány mintegy 94:6 értékig eltolódott.

Eljárhatunk úgy is, hogy például egy 60:40 E/Z izomerarányú izomerkeveréket, vagy akár tiszta Z-izomert szuszpendálunk hidroxil-ammónium-hidrokloridot és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű nátrium-acetátot tartalmazó ecetsavban és a fenti reakciókörülményeket alkalmazzuk. Ekkor is egy olyan izomerkeveréket kapunk, amelyben az E/Z izomerarány 90:10-96:4 értékig eltolódott.

Ha az a.) eljárás első részében az oximálási reakciót úgy vezetjük, hogy a reakció folyamán a reakcióelegy homogén maradjon, majd célszerűen közvetlenül a kiindulási anyag teljes átalakulásakor a reakcióelegyet vízzel elegyítjük és ezt követően izoláljuk a kivált szilárd terméket, akkor 56:44 E/Z izomerarányú oxim izomerkeverékhez jutunk. Ezt az a.) eljárás γ) lépésében diklór-metánnal elkeverjük. Ekkor a diklór-metánban nem oldódó E-izomert szűréssel elkülönítve a diklór-metános oldattól, abban a Z-izomer javára tolhatjuk el az izomerarányt (mintegy E/Z=33:77 értékig), ami megkönnyíti a Z-izomer kinyerését kromatográfiás úton.

Az E-és Z-izomerek elválasztását célszerűen szilikagél töltésű kromatográfiás oszlopon végezzük, apoláros túlsúlyú oldószerkeverékkel indítva az elválasztást, majd fokozatosan emelve a polárosabb oldószer komponens koncentrációját. A hasonló összetételű frakciókat egyesítés után bepároljuk, a termékeket kristályosítjuk.

A tiszta E- vagy Z-izomer előállítására a c.) eljárás ad egy további lehetőséget. Eszerint úgy járunk el, hogy a norgestimate E/Z izomerkeveréket az irodalomból [J. Chromatogr., **635**, 342-345. (1993)] megismert módon kromatográfiás úton elválasztjuk, majd a tiszta E- és Z-izomer oxim 17-acetát csoportját ekvivalens alkálifém-hidroxiddal, célszerűen lítium-, vagy nátrium-hidroxiddal alkoholos oldatban kíméletesen, előnyösen 5-20 °C hőmérsékleten



hidrolizáljuk. Az ily módon végzett hidrolízis nem okoz sztereokémiai változást a 3-helyzetű oxim-csoport hidroxil-csoportján.

A találmány szerinti új eljárással az egységes E-oxim izomer ipari méretekben is előállítható. A Z-oxim izomer kinyerése azért tehető gazdaságossá, mert sikerült az E/Z izomer arányt úgy változtatnunk, amiből a Z-izomer-oxim kromatográfiásan biztonságosabban kinyerhető.

Azon túl, hogy szintézismódszerünk új, újaknak tekintendők az (IA) és (IB) képletű tiszta izomerek is, mert szerkezetbizonyítási jellemzőit mi adjuk meg először egyértelműen.

A norelgestromin oxim csoportján található hidroxil-csoport relatív térállása alapján a vegyületnek két geometriai izomerje van. Ezek az izomerek hagyományos kromatográfiás módszerekkel szétválaszthatók és a Z-izomer az E-izomernél polárosabbnak mutatkozott. A norelgestromin geometriai izomerkeverékek transzdermális tapaszokban történő alkalmazása felveti, hogy az eltérő polaritású izomerek bőrön át történő felszívódása eltérő lehet. A következőkben ezt a feltételezést vizsgálatuk meg. Vizsgálataink kiterjedtek a tisztán rendelkezésre álló izomerek fizikokémiai és in vitro farmakokinetikai vizsgálatára.

Fizikokémia vizsgálataink során meghatároztuk az izomerek vízben való oldhatóságát, valamint mértük lipofilicitásukat hagyományos és izokratikus HPLC vizsgálatokban. Az in vitro farmakokinetikai vizsgálatok kiterjedtek a vegyületek metabolikus stabilitásának, metabolikus kiürülésének és Caco-2 permeabilitásának meghatározására is.

Oldhatóság mérési protokoll

A norelgestromin E és Z izomer egyensúlyi oldhatóságának meghatározása desztillált vízben történt. 20 mg norelgestromint szobahőmérsékleten 20 ml desztillált vízhez adtunk. A szuszpenziót folyamatosan kevertük és az elegyből időről időre mintát vettünk. A szuszpenzióból származó mintákat szűrtük és az oldatban található norelgestromin koncentrációját spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg. A spektrofotometriai mérések szobahőmérsékleten VARIAN Cary 3E spektrofotométerrel történtek.

Lipofilicitás mérési protokoll

A lipofilicitás mérésére HPLC módszert dolgoztunk ki. HPLC vizsgálatainkat Thermo Separation Product (SpectraSystem P4000 and SpectraFOCUS Forward Optical Scanning Detector) HPLC készüléken végeztük. Adatelemzésre a ChromQuest (ver. 2.51) szoftvert használtunk.

A fordított fázisú HPLC vizsgálatokhoz Nova-Pak C18 oszlopot használtunk (dimension of 4 μ m x 4.6 mm x 250 mm : Waters., Ireland) a detektálást $\lambda=280$ nm-en és 25 °C-on végeztük. A mobil fázis áramlási sebessége 1.0 ml/min volt. Szervez komponensként HPLC gradient grade acetonitrit használtunk (Merck KGaA., Darmstadt, Germany). A két izomerre vonatkozó

retenciós adatokat a különböző acetonitril tartalmú mobil fázisok izokratikus analízisével kaptuk. A holt időt metanol injektálásával határoztuk meg (t_0).

A mintákat 1 mg/4 ml koncentrációban acetonitril:víz (1:1) keverékben oldottuk. A $\log k'$ értékeket két egymást követő, 10 μ l térfogatú injektálás után mért átlagos retenciós időből számítottuk ($\log k' = \log((t_R - t_0)/t_0)$). A $\log k'$ értékeket az alkalmazott acetonitril koncentráció függvényében ábrázoltuk. t_0 holtidőt jelen kísérleti elrendezés során 1,49 percnél találtuk.

A kromatográfiás hidrofobicitási index (ϕ_0) a vegyületek fordított fázisú HPLC vizsgálatokban jelentkező lipofil karakterének mértéke. A ϕ_0 paraméter definíció szerint a mobil fázis azon acetonitril koncentrációja, ahol $\log k' = 0$.

10 Protokol a metabolikus stabilitás és kiürülés meghatározására

A norelgestromin E- és Z-izomerjeinek metabolikus stabilitását humán máj mikroszómán határoztuk meg. A 2,5 ml inkubációs oldat a következő komponenseket tartalmazta: 6 mM Napirofoszfát, 5 mM $MgCl_2$, 5 mM glukóz-6-foszfát, 1 U/ml glukóz-6-foszfát-dehidrogenáz, humán máj mikroszóma (1mg/ml) és 5 μ M norelgestromin E- illetve Z-izomer. Az oldat pH-ját 100 mM Tris-HCl pufferrel pH 7,4-re állítottuk be. A reakciót 5 mM NADPH adagolásával indítottuk el. A 0., az 5. és a 20. percben 0,5 ml-es mintákat vettünk, majd a mintavételt követően 0,5 ml jéggel hűtött metanolt adtunk a mintákhoz. A csapadékos minták 1-1 ml-ét 30 percen át centrifugáltunk 1200 g alkalmazásával és végül 10 μ l felülúszót injektáltunk a HPLC készülékbe.

Az analitikai vizsgálatokat egy Merck-Hitachi HPLC rendszeren, UV monitorozás mellett végeztük 244 nm-en. Mértük a változatlan norelgestromin mennyiséget és ebből a metabolikus stabilitást (F%) és a metabolikus kiürülést (Cl_{int}) az alábbi összefüggésekkel számítottuk:

$$dc/dt/c_0 = Cl_{int1} \text{ (ml/min x g protein),}$$

ahol dc/dt az adott idő alatt bekövetkező koncentrációváltozás és c_0 a vizsgált norelgestromin izomer kezdeti koncentrációja. Továbbá

$$Cl_{int1} \times 45 = Cl_{int2} \text{ (ml/min x g máj) és}$$

$$EH = Cl_{int2} / Cl_{int2} + HBF,$$

ahol EH a hepatikus extrakció és HBF a hepatikus véráram. Végül a metabolikus stabilitás:

$$F\% = (100 - EH) \times 100$$

30 Az eredmények statisztikai elemzéséhez Student t-tesztet használtunk (Microsoft Excel). Az 1. táblázatban közölt eredmények 3 párhuzamos mérésből származnak.



Protocol Caco-2 permeabilitás méréséhez

Az izomerek felszívódásának vizsgálatára a Caco-2 humán adenocarcinoma (epithelial) sejtvonal monorétegeit használtuk in vitro modellként. A vegyületek Caco-2 monorétegen történő passzív átáramlása korrelál a humán orális biohasznosulással.

5 Caco-2 sejteket az American Type Culture collection, Rockville, MD, (ATCC)-ből szereztük be és 37 °C-on 5 % CO₂ tartalmú légkörben növesztettük "Dulbecco's modified eagle" médiumban, amelyet 10 % hőinaktivált marhaszérummal (GIBCOBRL 11360-039) és 100 U/mL penicillin, és 100 µg/mL (GIBCOBRL 15140-031) streptomycin antibiotikummal egészítettünk ki.

10 A sejt monorétegeket inkubátorban növesztettük (37 °C, 5 % CO₂/95 % O₂, 95 % nedvességtartalom) és minden hetedik napon átkultúráztuk 0,25 % trypsin kezeléssel, amely 1 mM EDTA-t tartalmazott.

A transzportfolyamamtok vizsgálatára 19-23-napos monorétegeket használtunk 6-10 passzálást követően.

15 Vizsgálatainkhoz EHS Cell Attachment Matrix-ot (Promega G5971), "Minimum Essential medium Eagle (MEM) with Earle salts"-ot, L-Glutamint (GIBCOBRL 41500-091) és Transwell Polycarbonate Membrant (Costar 3401) használtunk.

20 EHS sejt kitapadást elősegítő matrixal bevont Transwell edénykébe 200000-500000 Caco-2 sejtet tettünk vájulatonként. A Caco-2 sejteket a vájulat luminális oldalára növesztettük az apikális oldalukkal kifelé.

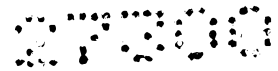
A norelgestromin E-izomert és norelgestromin Z-izomert 50 µM koncentrációban vizsgáltuk. Paracelluláris markerként [¹⁴C] mannitolt alkalmaztunk (3,7x10⁴ Bq/teszt kamra).

25 A sejt kultúra médium eltávolítását követően 3 párhuzamos kísérletben Caco-2 sejt monorétegeket előinkubáltunk a vizsgálandó vegyületekkel (37 °C) HBBS-TRIS (400 µL a luminális oldalon és 1,5 mL a basolaterális oldalon/kompartmentenként) 20 percig 37 °C-on.

A médium váltását követően 0,4 mL 50-100 µM koncentrációjú vizsgálati és referenciamintát helyeztünk a luminális/apikális kompartmentekbe.

Az abszorpció mérését a luminális ("donor") kompartmentből nulla időpillanatban, valamint a basolateral ("receiver") oldalról 15 percenként vett mintákból oldottuk meg (3x).

30 Az izomerek koncentrációját HPLC/UV vizsgálattal határoztuk meg 35 °C-on végzett gradiens elucióval. (A eluens: metanol – 0,05 M, ammónium-acetát = 300-200+500 µL 10% ecetsav. B eluens: MeOH Flow: 0,50 mL/min. Detektálás: 240 nm. Oszlop típus: Merck



Purospher C-18 Dim.:125 – 3 mm. + guard. Chrom Type: HPLC Channel:2. Peak quantitation: height; calculation method: EXT-STD).

A penetrált izomerek abluminális koncentrációit az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat

Paraméter	E-izomer	Z-izomer
oldhatóság (UV abszorpcióval követve)	3,8 µg/ml	12,1 µg/ml
Polaritás (k', HPLC)	1,02	1,46
Polaritás (CHI index, HPLC)	74	70
Metabolikus stabilitás (%)	86,7 ± 1,67	91,9 ± 1,52
Metabolikus kiürülés (ml/min g máj)	0,1815 ± 0,026	0,1042 ± 0,021
Koncentráció az abluminális oldalon (µM a 30. percben)	1,27 ± 0,56	1,98 ± 0,78

5

A fenti adatok alapján látható, hogy a norelgestromin Z izomerje az E izomernél jobban oldódik vízben. A Z izomer az epitéliális sejtrétegen gyorsabban penetrál a Z izomernél, valamint metabolikus stabilitása nagyobb és metabolikus kiürülése kisebb mint az E izomeré. E sajátságok alapján megállapítható, hogy a Z izomer orális adagolást követően az E izomernél jobban szívódik fel és ezért alkalmazása orálisan beadandó formulációkban (például tablettákban) kedvezőbb.

Emberi bőrpreparátumokon végzett izolált vizsgálatok alapján Siddiqui és munkatársai megállapították [J. Pharm. Biopharm., **17**, 405. (1989)], hogy a lipofil szteroidok gyorsabban hatolnak át az emberi epidermiszen mint a poláris szteroidok, azonban a kiürülés sebessége mindkét esetben közel azonos. Az általunk végzett oldhatósági, valamint polaritási vizsgálatok egyértelműen megmutatták, hogy a norelgestromin izomerek közül az E izomer lényegesen lipofilebb mint a Z izomer. Siddiqui és munkatársainak vizsgálatai alapján tehát a kevésbé poláris E izomer gyorsabban penetrál az epidermiszen mint a Z izomer, ezáltal az E izomer alkalmazása transzdermális tapaszokban kedvezőbb

A növekvő lipofilicitás transzdermális felszívódásra gyakorolt jótékony hatását hat különböző szteroiddal végzett szerkezet-felszívódás vizsgálattal is kimutatták. Az Int. J. Pharm. **2001**, 217, 1., valamint a J. Chromatography, **49**, 631. (1993) alatti szakcikkekben kimutatták, hogy az izokratikus körülmények között mért kromatográfiás hidrofobicitási index (CHI) egy igen jól használható lipofilicitási deskriptor. Az ismertetett kísérletek szerint meghatároztuk a

20

vizsgált szteroidok CHI értékét és összehasonlítottuk a mért stratum corneum/víz megoszlási koefficienssel. Az eredményeket a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Szteroid vegyület	CHI	logkp
Hidrocortison	33,8	-9,08
Estriol	40,45	-7,95
Cortexolone	54,87	-7,68
Ösztradiol	65,19	-7,08
Tesztoszteron	75,87	-6,95
Pregnenolon	95,36	-6,38

5
A kapott jó korreláció ($r^2=0,88$) alapján megállapítottuk, hogy a nagyobb CHI indexszel rendelkező szteroid jobban penetrál a stratum corneumon. Az 1. ábra a mért és az előre becsült logkp közti egybeesést mutatja. (A 95 %-os konfidencia intervallumot szaggatott vonal jelzi.) stratum corneum/víz permeabilitási koefficiensek (logkp) és a CHI indexek közötti összefüggést a mutatja. Méréseink alapján az E izomer CHI indexe nagyobb mint a Z izomeré ezért ez az elemzés is alátámasztja az E izomer preferált transzdermális alkalmazhatóságát.

10 Találmányunk további részleteit a korlátozás szándéka nélkül a következő kiviteli példakon mutatjuk be.

1. példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(E/Z)-oxim

34,7 g (0,5 mól) Hidroxil-ammónium-hidrokloridot, és 34 g (0,41 mól) nátrium-acetátot 500 ml jégcetben szuszpendálunk, majd egy órás keverés után, nitrogén bevezetés közben 31,2 g (0,1 mól) d-norgesztrelt adunk hozzá. Ezt követően a reakció teljessé válásáig tovább keverjük a heterogén reakcióelegyet, majd 3000 ml vízhez adjuk. A kivált csapadékot tömörítés után kiszűrjük, vízzel, 5 %-os, vizes ammónium-hidroxid-oldattal, majd ismét vízzel semlegesre mossuk, 60 °C alatti hőmérsékleten, vákuumban tömegállandóságig szárítjuk.

A cím szerinti nyersterméket 320 ml etanolban feloldjuk, aktív szénnel derítjük, majd a derítőszen kiszűrése után az oldatot térfogatának tizedére bepároljuk. A maradékot 0 °C-ra hűtjük és 5 óra után szűrjük. A szilárd anyagot lúgmentesre mossuk, szárítjuk. Kitermelés: 29,4 g (90 %).

Op.: 110-130 °C geometriai izomerek keveréke.

Az oxim-izomerek aránya: E-oxim = 58 %; Z-oxim = 42 %.

15

2. példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim

2,5 g (0,035 mól) Hidroxil-ammónium-hidroklorid és 2 (0,024 mól) g nátrium-acetát 55 ml 70 %-os, vizes ecetsavval készített, erőteljesen kevert szuszpenziójához majd nitrogén bevezetés közben 5 g (0,016 mól) d-norgesztrelt adunk és a keverést további 50 órán át folytatjuk. Ezt követően a csapadékos oldatot 500 ml vízhez adjuk, a csapadékot tömörítés után kiszűrjük, vízzel, 5 %-os, vizes ammónium-hidroxid-oldattal, majd ismét vízzel semlegesre mossuk, 60 °C alatti hőmérsékleten tömegállandóságig szárítjuk. A cím szerinti nyersterméket, melynek oxim-izomer összetétele 94,5 % E-izomer és 5,5 % Z-izomer, diklór-metánból kristályosítjuk. Kitermelés: 4,65 g (88,7 %) E-izomer. Op.: 198-200 °C.

25

3. példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim

5 g (0,07 mól) Hidroxil-ammónium-hidrokloridot, és 5,8 g (0,07 mól) nátrium-acetátot 100 ml jégcetben szuszpendálunk, majd egy órás keverés után a kivált nátrium-kloridot kiszűrjük. A tiszta oldathoz nitrogén bevezetés közben 10 g (0,032 mól) d-norgesztrelt adunk és a keverést a reakció teljessé válásáig folytatjuk. Ezután 30 ml vizet adunk a reakcióelegyhez és a keverést további 50 órán át folytatjuk. Ezt követően a csapadékos oldatot 1000 ml vízhez adjuk, a csapadékot tömörítés után kiszűrjük és a 2. példában megadott módon mossuk és szárítjuk. Acetonitrilből történő kristályosítás után 9,1 g (86,8 %) E-izomert kapunk. Op.: 198-200 °C.



4. példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim

10 g (0,027 mól) d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-3(E/Z)-oxim keverék [izomer összetétel: E-oxim 58 %, Z-oxim 42 %] 100 ml jégecettel készített, erőteljesen kevert szuszpenziójához nitrogén atmoszféra alatt 2,5 g (0,035 mól) hidroxil-ammónium-hidroklorid és 2,9 (0,035 mól) g nátrium-acetát 20 ml vízzel készített oldatát adjuk. A reakcióelegyet 50 órán át tovább keverjük, majd 1000 ml vízhez adjuk. A továbbiakban a 2. példában megadottak szerint járunk el. 9,6 g (96 %) nyers terméket kapunk. A terméket, melynek izomer összetétele E-oxim 94 %, Z-oxim 6 %, a 2. példában megadottak szerint etil-acetátból átkristályosítjuk. Kitermelés: 9,1 g (91 %) E-izomer. Op.: 197-199 °C.

5. példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim

43,8 g (0,53 mól) Nátrium-acetát és 50 g (0,72 mól) hidroxil-ammónium-hidroklorid 100 ml 90 %-os vizes ecetsav-oldattal készített szuszpenzióját szobahőmérsékleten egy órán át intenzíven keverjük. Ezt követően a kivált nátrium-kloridot kiszűrjük, a tiszta oldathoz nitrogén bevezetés közben, 100 g (0,32 mól) d-norgesztrelt adunk és a keverést 1,5 órán át tovább folytatjuk. Ezalatt az idő alatt a reakcióelegy hőmérsékletét hagyjuk 45 °C-ig felemelkedni. A heterogén oldat homogénné válik ami a reakció a reakció teljessé válását jelzi. Ezután a reakcióelegyet 4000 ml vízhez adjuk, majd a kivált csapadékot tömörödés után kiszűrjük, vízzel, 5 %-os, vizes ammónium-hidroxid-oldattal, majd ismételten vízzel semlegesre mossuk, tömegállandóságig szárítjuk. A kapott 104 g izomer-oxim keveréket, melynek izomer összetétele Z-oxim = 42,6 %, E-oxim = 57,4 % 20-szoros térfogatú diklór-metánnal 30 percen át intenzíven keverjük, majd a nem oldódott részt kiszűrjük, 60 °C alatti hőmérsékleten szárítjuk. Így 45,6 g terméket kapunk, melynek oxim-izomer összetétele E-oxim = 94,4 %, Z-oxim = 4,6 %.

A fenti termék kinyerése során elkülönített anyalúgot szárazra pároljuk. Így 58 g olyan terméket kapunk, melynek izomer-oxim összetétele: Z-oxim = 65,5 %, E-oxim = 33,2 %. Ezt 40-szeres 2300 ml diklór-metánban föloldjuk és 0-5 °C hőmérsékleten tartjuk 5 órán át. A kivált kristályos terméket kiszűrjük, anyalúgmentesre mossuk, szárítjuk. A kapott 17,6 g termék izomer-oxim összetétele: E-oxim = 9 %, Z-oxim = 91 %.

A kapott anyalúgot ismételten bepároljuk, majd a 39 g bepárlási maradékot 700 g szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként toluolt, majd polárosabb toluol-aceton oldószerkeveréket alkalmazva kromatografáljuk. Az azonos izomert tartalmazó frakciókat egyesítjük, majd oldószermentesre bepároljuk. Így 3,7 g, 94 %-os izomer tisztaságú E-oximot és 25,2 g 95 %-os tisztaságú Z-oximot kapunk.



Ezt követően, az előzőekben kristályosítással kapott, azonos összetételű, valamint a kromatográfiás tisztítással kapott megfelelő frakciókat egyesítjük és először 20-szoros térfogatú acetonnitrilből, majd 23-szoros térfogatú etil-acetátból átkristályosítjuk. Így 29 g 99,3 %-os tisztaságú Z-oximot és 38,4 g 99,7 %-os tisztaságú E-oximot kapunk. Op.: Z-oxim: 206-207 °C, op.:

5 E-oxim: 199-200 °C.

Fajlagos forgatóképességek:

Z-oxim: $[\alpha]_D^{20} = +106,4^\circ$ (c=0,5, CHCl₃)

E-oxim: $[\alpha]_D^{20} = -1,6^\circ$ (c=0,5, CHCl₃)

NMR adatok:

10 **Z-oxim:**

¹H NMR {500MHz, DMSO-d₆(TMS), δ(ppm)}: 0,92 (3H,t,-CH₂-CH₃), 1,40 (2H,m,-CH₂-CH₃), 2,05 & 2,24 (2H,m & m,H-2), 3,28 (1H,s,≡CH), 5,23 (1H,s,17-OH), 6,40 (1H,m,H-4), 10,12 (1H,s,=N-OH).

15 **¹³C NMR {125MHz, DMSO-d₆(TMS), δ (ppm)}**: 9,4 (-CH₂-CH₃), 18,3 (-CH₂-CH₃), 26,9 (C-2), 79,6 (C-17), 89,1 (-C≡), 74,9 (≡CH), 111,6 (C-4), 151,2 (C-3), 152,0 (C-5).

E-oxim:

¹H NMR {500MHz, DMSO-d₆(TMS), δ (ppm)}: 0,92 (3H,t,-CH₂-CH₃), 1,40 (2H,m,-CH₂-CH₃), 1,87 & 2,87 (2H,m & m,H-2), 3,28 (1H,s,≡CH), 5,23 (1H,s,17-OH), 5,78 (1H,m,H-4), 10,38 (1H,s,=N-OH).

20 **¹³C NMR {125MHz, DMSO-d₆(TMS), δ (ppm)}**: 9,4 (-CH₂-CH₃), 18,3 (-CH₂-CH₃), 20,6 (C-2), 79,6 (C-17), 89,1 (-C≡), 74,9 (≡CH), 118,6 (C-4), 154,3 (C-3), 148,1 (C-5).

6. példa

d-(17α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim

25 10 g (0,027 mól) d-(17α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim 100 ml 80 %-os ecetsavval készített, erőteljesen kevert oldatához nitrogén atmoszféra alatt 2,5 g (0,035 mól) hidroxil-ammónium-hidrokloridot, és 2,9 g (0,035 mól) nátrium-acetátot adunk. A reakcióelegyet mintegy 50 órán át intenzíven tovább keverjük, majd a 4. példában megadottak szerint dolgozzuk fel. Kitermelés: 8,5 g (85 %) E-oxim. Op.: 196-198 °C.

7. példa

30 **d-(17α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim**

5 g (0,01 mól) d-(17α)-13-Etil-17-acetiloxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim 50 ml metanollal készített, erősen kevert oldatához nitrogén atmoszférában 0-5 °C közötti hőmérsékletet tartva 1,7 g (0,04 mól) lítium-hidroxid-monohidrátot adunk, majd és a keverést két órán át tovább folytatjuk. A reakció teljessé válása után - melyet vékonyréteg-kromatográfiás



módszerrel ellenőrizzük - a reakcióelegyet 500 ml vízhez adjuk, a szuszpenzió pH értékét ecetsavval 7,5-9 érték közé állítjuk. A kivált terméket tömörödés után kiszűrjük, vízzel semlegesre mossuk. A kiszűrt nyersterméket 60 °C alatti hőmérsékleten vákuumban tömegállandóságig szárítjuk. A terméket (4,5 g) acetonitrilből átkristályosítjuk.

5 Kitermelés: 4 g d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim (90,2 %-os elméleti kitermelés).

Op.: 203-204 °C

5 g d-(17 α)-13-Etil-17-acetiloxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oximból kiindulva a fenti eljárást követve 4,1 g (92,45 %) d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-
10 20-in-3-on-(3E)-oximot kapunk.

Op.: 198-200 °C.

8.példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim

1,25 g (0,017 mól) Hidroxil-ammónium-hidroklorid és 1,45 g (0,017 mól) nátrium-acetát
15 60 ml 50 %-os ecetsav-oldattal készített, intenzíven kevert szuszpenziójához keverés és nitrogén bevezetés közben 2,5 g (0,008 mól) d-norgesztrelt adunk. A keverést a reakció teljessé válásáig, amit vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük, folytatjuk. Ezt követően a csapadékos oldatot 500 ml vízhez adjuk. A kivált célterméket vízzel, majd 5 %-os ammónium-hidroxid-oldattal, majd ismét vízzel semlegesre mossuk, végül 60 °C alatti hőmérsékleten tömegállandóságig szá-
20 ritjuk. A száraz nyers terméket diklór-metánból átkristályosítjuk. Így 2,27 g (86,7 %), 198-200 °C-os olvadáspontú, cím szerinti vegyületet kapunk.

9.példa

d-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-oxim izomerkeverék

5,8 g (0,07 mól) Nátrium-acetát 80 ml jégcettel készített, intenzíven kevert szuszpenzi-
25 ójához 5 g (0,07 mól) hidroxil-ammónium-hidroklorid 22 ml vízzel készült oldatát adjuk. Ezt követően nitrogén bevezetés közben 10 g (0,032 mól) d-norgesztrelt adunk az oldathoz, melyet a reakció teljessé válásáig tovább keverünk. A reakció teljessé válása után, amit vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük, 800 ml vízhez adjuk a reakcióelegyet. A csapadékot kiszűrjük, vízzel, majd 5 %-os ammónium-hidroxid-oldattal, majd ismét vízzel semlegesre mossuk, végül
30 60 °C alatti hőmérsékleten tömegállandóságig szárítjuk. Így 8,9 g (84,92 %), 110-130 °C-os olvadáspontú, 55,8:44,2 E/Z-arányú, cím szerinti izomerkeveréket kapunk.

10. példa

Hatóanyagként d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oximot és etinil-ösztradiolt tartalmazó tablettá formájú gyógyászati készítmény



250 mg norelgesztromin Z-izomert és 35 mg etinil-ösztradiolt homogénen összekeverünk 75,715 g tejcukorral, 22,5 g mikrokristályos cellulózzal, 1 g kolloid szilícium-dioxiddal (Aerosil) és 500 mg magnézium-sztearátal. Az így kapott porkeveréket előzetes granulálás nélkül 100 mg tömegű tablettává préseljük. A fentiek alapján mintegy 1000 darab tablettát kapunk.

5

11. példa

Hatóanyagként d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oximot és etinil-ösztradiolt tartalmazó tablettá formájú gyógyászati készítmény

250 mg norelgesztromin Z-izomert és 35 mg etinil-ösztradiolt 10 ml etanolban oldunk, és 75,715 g tejcukor és 20,5 g kukoricakeményítő homogén elegyére porlasztjuk. Az etanolt a hatóanyagokat tartalmazó porkeverékből fluidizációs szárítással elűzzük. A hatóanyagot tartalmazó porkeveréket 2 g polivinil-pirrolidon (PVP) vizes oldatával granuláljuk fluidizációs berendezésben, majd szárítjuk. A granulált anyaghoz 1 g kolloid szilícium-dioxidot és 0,5 g magnézium-sztearátot homogenizálunk, majd 100 mg tömegű tablettává préseljük. A fentiek alapján mintegy 1000 darab tablettát kapunk.

15

12. példa

Hatóanyagként d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oximot és etinil-ösztradiolt tartalmazó tablettá formájú gyógyászati készítmény

250 mg norelgesztromin Z-izomert, 35 mg etinil-ösztradiolt és 2 g polivinil-pirrolidont (PVP) 10 ml etanolban oldunk, és örvényáramú granulálóban (high shear mixer) 75,715 mg tejcukor és 20,5 mg kukoricakeményítő homogén elegyére porlasztjuk. A keveréket granuláljuk, majd az etanolt mikrohullámú vákuum-szárítóban elűzzük. A granulált anyaghoz 1 g kolloid szilícium-dioxidot és 500 mg magnézium-sztearátot homogenizálunk, majd 100 mg tömegű tablettává préseljük. A fentiek alapján mintegy 1000 darab tablettát kapunk.

25

13. példa

Hatóanyagként d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oximot és etinil-ösztradiolt tartalmazó transzdermális tapasz formájú gyógyászati készítmény

Egy darab 3 rétegű, mátrix típusú transzdermális tapasz 6,0 mg norelgesztromin E-izomert és 0,75 mg etinilösztradiolt tartalmaz.

Tapasz egységenként 6,0 mg norelgesztromin E-izomert és 0,75 mg etinilösztradiolt, 25 mg polivinilpirrolidont, 20 mg lauril-laktátot (felszívódást segítő segédanyag) és 248 mg poliizobutilént hexan/etil-acetát/etanol 8:1:1 arányú elegyében szobahőmérsékleten 45 percig diszpergálunk. Az így kapott diszperziót a tapasz külső membránjára öntjük és 70 °C-on mintegy 45 percig szárítjuk. A megszáritott mátrix felületére védő membránt rétegezzük.



14. példa

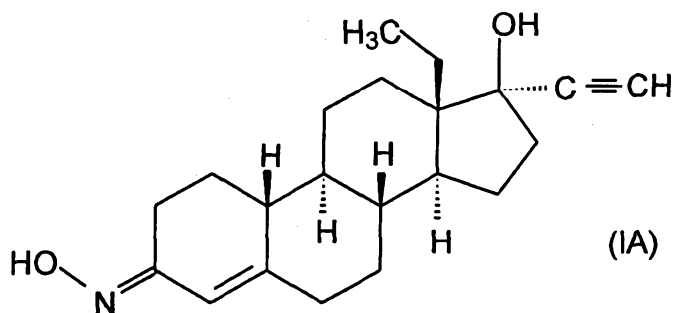
Hatóanyagként d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oximot és etinil-ösztradiolt tartalmazó transzdermális tapasz formájú gyógyászati készítmény

5 Egy darab 3 rétegű, mátrix típusú transzdermális tapasz 6,0 mg norelgesztromin E-izomert és 0,75 mg etinilösztradiolt tartalmaz.

10 Tapasz egységenként 261 mg polidimetilsziloxant és 17 mg polivinilpirrolidont szobahőmérsékleten homogenizálunk. Hozzáadunk 15 mg metil-laurátot, 6,0 mg norelgesztromin E izomert és 0,75 mg etinilösztradiolt, majd 350 ml etanollal szobahőmérsékleten 45 percig diszpergáljuk. Az így kapott diszperziót a tapasz külső membránjára öntjük és 70 °C-on mintegy 45 percig szárítjuk. A megszártott mátrix felületére védő membránt rétegezzük.

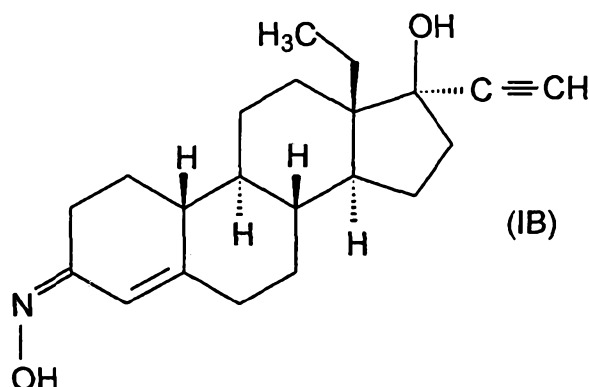
Szabadalmi igénypontok

1. Az (IA) képletű d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim



5

2. Az (IB) képletű d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim



10 3. Gyógyászati készítmények, melyek hatóanyagként az (IA) képletű tiszta d-(17 α)-13-
 15 etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim vagy az (IB) képletű tiszta d-
 (17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim és kívánt esetben vala-
 mely ösztrogén hatású szteroid gyógyászatiilag hatásos dózist tartalmaznak az ilyen készítmé-
 nyek előállításánál szokásosan alkalmazott hordozó, töltő, a formulázást megkönnyítő, stabilitás
 fokozó, íz és illat javító segédanyagok mellett.

4. A 3. igénypont szerinti tapasz formájú gyógyászati készítmények, **a z z a l j e l-
 l e m e z v e**, hogy gesztagén hatóanyagként az (IA) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-
 18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oximot tartalmazzák.



5. A 3. igénypont szerinti orális alkalmazású gyógyászati készítmények, **a z z a l j e l l e m e z v e**, hogy gesztagén hatóanyagként az (IB) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oximot tartalmazzák.

6. Eljárás norelgestromin E/Z-izomerkeverék, valamint az (IA) képletű tiszta d-(17 α)-13-
5 etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3E)-oxim és az (IB) képletű tiszta d-(17 α)-13-etil-17-hidroxi-18,19-dinor-pregn-4-én-20-in-3-on-(3Z)-oxim előállítására, **a z z a l j e l l e m e z v e**, hogy

10 a.) d-norgesztrelt 1 mól d-norgesztrelre számolva 1,2-5,0 mól hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-50 °C közötti hőmérsékleten, 15-45 percig oximálunk és a kapott norelgestromin izomer keveréket tartalmazó reakcióelegyet

15 α .) a mintegy 56:44-64:36 E/Z arányú izomerkeverék előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk és a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, vagy kívánt esetben

15 β .) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására 10-30 °C hőmérsékleten, kívánt esetben mintegy 10-25 térfogat% víz hozzáadása mellett 24-72 óráig tovább keverjük és a keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy kívánt esetben

20 γ .) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására mintegy tízszeres térfogatú vízzel hígítjuk, a kivált izomerkeveréket elkülönítjük, és diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az oldatot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláros-poláros oldószerkeletet alkalmazva kromatografáljuk, vagy

25 b.) egy tetszőleges E/Z izomerarányú norelgestromin izomer keveréket

25 α .) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer előállítására legfeljebb 50 tömeg% vizet tartalmazó ecetsavas közegben, 15-30 °C közötti hőmérsékleten, hidroxil-ammónium-acetát vagy valamilyen hidroxil-ammónium-só és azzal legfeljebb ekvivalens mennyiségű alkálifém-acetát jelenlétében 24-72 óráig keverünk és a keletkezett (IA) képletű (3E)-oxim-izomert kívánt esetben további víz hozzáadása után elkülönítjük, vagy

30 β .) az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására diklór-metánban átkeverjük, a szilárd fázist képező oldhatatlan, (IA) képletű (3E)-oxim-izomert elkülönítjük, majd az oldatot szilikagél töltetű kromatográfiás oszlopon, eluensként valamely apoláros-poláros oldószerkeletet alkalmazva kromatografáljuk, vagy



c.) az (IA) képletű (3E)-oxim-izomer, vagy az (IB) képletű (3Z)-oxim-izomer előállítására a norgestimate-3E- vagy -3Z-izomer 17-acetát-csoportját alkoholos közegben ekvivalens mennyiségű alkálifém-hidroxiddal 5-30 °C hőmérsékleten hidrolizáljuk, majd a kapott, és a kiindulási anyagéval megegyező konfigurációjú (IA) képletű (3E)-oxim-, vagy (IB) képletű (3Z)-oxim-izomert elkülönítjük

és kívánt esetben az a.)-c.) eljárásokkal kapott (IA) és (IB) képletű izomereket kristályosítással tovább tisztítjuk.

7. A 6. igénypont szerinti c.) eljárás, **a z z a l j e l l e m e z v e**, hogy a hidrolízist metanolos közegben lítium-hidroxiddal hajtjuk végre.


RICHTER GEDEON VEGYÉSZETI GYÁR R.T.

USD

+ 1 lap rajz

NE

