



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 244 137 A5

4(51) C 07 J 3/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) AP C 07 J / 288 743 8

(22) 03.04.86

(44) 25.03.87

(31) 8501692-1

(32) 04.04.85

(33) SE

8502932-0

13.06.85

(71) siehe (73)

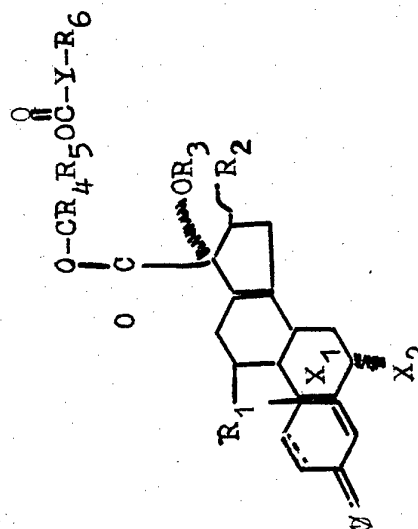
(72) Andersson, Paul H.; Andersson, Per T., Dr.-Phil.; Axelsson, Bengt I., Dr.-Phil.; Thalén, Bror A., Dr.-Phil.; Trofast Jan W., SE

(73) Aktiebolaget Draco, 22100 Lund, SE

(54) Verfahren zur Herstellung von Androstan-17 β -carbonsäureestern

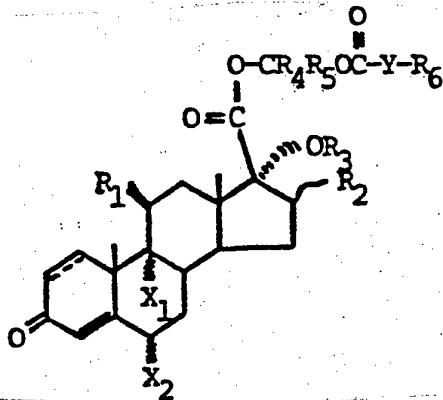
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Androstan-17 β -carbonsäureestern der allgemeinen Formel oder stereoisomere Komponenten hierzu. Die durch das erfindungsgemäße Verfahren hergestellten Androstan-17 β -carbonsäureester können für die Verwendung in der Humanmedizin und Veterinärmedizin zu Präparaten zur Behandlung von Entzündungen, allergischen Symptomen, Skelettmuskelsymptomen oder dermatologischen Symptomen verarbeitet werden.

Formel

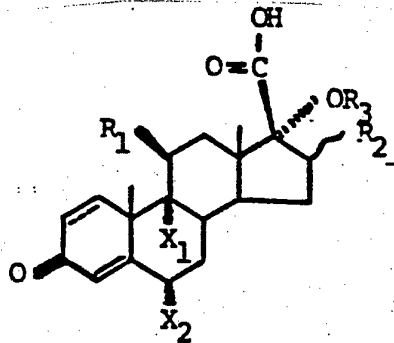


Erfindungsanspruch:

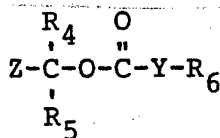
1. Verfahren zur Herstellung von Androstan-17 β -carbonsäureestern der allgemeinen Formel



oder einer stereoisomeren Verbindung hiervon, worin X₁ ein Wasserstoff-, Chlor-, Brom- oder Fluoratom bedeutet, X₂ ein Wasserstoff-, Chlor-, Brom- oder Fluoratom bedeutet, R₁ eine β -Hydroxylgruppe, ein β -Chloratom oder eine Oxogruppe bedeutet, R₂ ein Wasserstoffatom, eine Methylengruppe oder eine α - oder β -Methylgruppe bedeutet, R₃ ein Wasserstoffatom oder eine Alkanoylgruppe mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen bedeutet, R₄ ein Wasserstoffatom, eine (C₁-C₅)-Alkylgruppe oder einen Phenylrest bedeutet, R₅ ein Wasserstoffatom, eine (C₁-C₅)-Alkylgruppe oder einen Phenylrest bedeutet, Y, CR₇R₈, O, S oder NR₉ bedeutet, worin R₇, R₈ und R₉ Wasserstoffatome oder geradkettige oder verzweigt-kettige Kohlenwasserstoffketten mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen oder Phenylreste sind, R₆ Wasserstoff, Methyl, eine gegebenenfalls durch ein oder mehrere Alkyl-, Nitro-, Carboxy-, Alkoxy-, Halogen-, Cyano-, Carbalkoxy- oder Trifluormethylgruppen substituierte Phenyl-, Alkenyl- oder Cycloalkenylgruppe, eine durch wenigstens ein Halogenatom substituierte (C₁-C₅)-Alkylgruppe, ein gesättigtes carbozyklisches oder heterozyklisches (O, S, N) Ringsystem mit 3 bis 10 Atomen im Ringsystem, eine durch ein oder zwei alicyclische oder aromatische 3-, 4-, 5- oder 6gliedrige Ringsysteme oder ein, zwei oder drei geradkettige oder verzweigt-kettige, gesättigte oder ungesättigte Kohlenwasserstoffketten mit 1 bis 18 Kohlenstoffatomen substituierte C₁-Alkylgruppe bedeutet und — eine Einfachbindung oder Doppelbindung bedeutet, **gekennzeichnet dadurch**, daß eine Verbindung der allgemeinen Formel



oder ein Salz derselben mit einer Verbindung der allgemeinen Formel



worin X₁, X₂, R₁, R₂, R₄, R₅, R₆, Y und — die obige Bedeutung haben und Z ein Halogenatom oder eine hierzu funktionell äquivalente Gruppe bedeutet, umgesetzt wird.

2. Verfahren nach Punkt 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man Ausgangsverbindungen verwendet, in denen X₁ ein Fluor- oder Chloratom bedeutet, X₂ ein Fluor- oder Chloratom bedeutet, R₁ eine β -Hydroxylgruppe bedeutet, R₃ eine Acetyl-, Propionyl-, Butyryl- oder Valeroylgruppe bedeutet, R₄/R₅ Wasserstoff/Methyl oder Methyl/Wasserstoff bedeutet, Y O ist R₆ eine Alkylgruppe mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen bedeutet und — eine Doppelbindung bedeutet.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die durch das erfindungsgemäße Verfahren hergestellten Androstan-17 β -carbonsäureester können für die Verwendung in der Humanmedizin und Veterinärmedizin zu Präparaten zur Behandlung von Entzündungen, allergischen Symptomen, Skelettmuskelsymptomen oder dermatologischen Symptomen verarbeitet werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

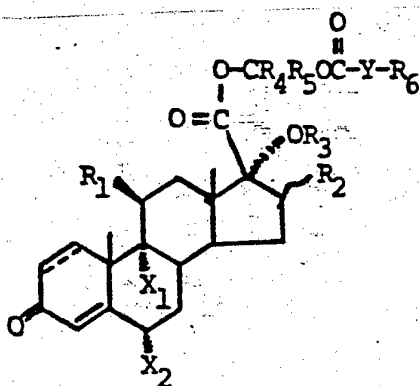
Die Glucocorticosteroide sind eine der wirksamsten und weitverbreiteten Klassen bekannter entzündungshemmender Substanzen. Sie sind extrem wirksam bei der Verhinderung der Verminderung der Ernsthaftigkeit eines großen Spektrums entzündlicher, immunologischer und allergischer Erkrankungen in den Atemwegen (z. B. Asthma, Rhinitis), in der Haut (z. B. Ekzem, Psoriasis) oder in den Eingeweiden (z. B. von Geschwüren begleitete Kolitis, Morbus Crohn). Es besteht jedoch ein allgemeiner Wunsch, die systemischen Nebenwirkungen auf ein Minimum herabzusetzen. Ein Weg, dies zu tun, besteht darin, das Steroid örtlich auf dem zu behandelnden Organ, wie den Atemwegen, aufzubringen, um so kleinere systemische Konzentrationen des Steroids zu gestatten. Eine rasche Inaktivierung beispielsweise durch Hydrolyse in dem Zielorgan oder im allgemeinen Kreislauf vermindert die systemischen Nebenwirkungen weiter.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Herstellung neuer besserer Verbindungen mit entzündungshemmender und antiallergischer Wirkung.

Darlegung des Wesens der Erfindung

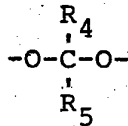
Die Aufgabe der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung entzündungshemmender und/oder antiallergischer Glucocorticosteroide, die rasch umgewandelt werden, so daß die systemischen Wirkungen herabgesetzt werden. Diese Verbindungen sind neue Androstan-17 β -carbonsäureester der allgemeinen Formel



worin X_1 ein Wasserstoff-, Chlor-, Brom- oder Fluoratom bedeutet, X_2 ein Wasserstoff-, Chlor-, Brom- oder Fluoratom bedeutet, R_1 ein β -Hydroxylgruppe, ein β -Chloratom oder eine Oxogruppe bedeutet, R_2 ein Wasserstoffatom, eine Methylengruppe oder eine α - oder β -Methylgruppe bedeutet, R_3 ein Wasserstoffatom oder eine Acylgruppe mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen bedeutet, R_4 ein Wasserstoffatom, eine (C_1 - C_5)-Alkylgruppe oder einen Phenylrest bedeutet, R_5 ein Wasserstoffatom, eine (C_1 - C_5)-Alkylgruppe oder einen Phenylrest bedeutet, Y entweder CR_7R_8 , O, S oder NR_9 bedeutet, worin R_7 , R_8 und R_9 Wasserstoffatome oder geradkettige oder verzweigt-kettige Kohlenwasserstoffketten mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen oder Phenylreste sind, R_6 Wasserstoff, Methyl, einen Phenylrest oder eine gegebenenfalls durch wenigstens eine Alkyl-, Nitro-, Carboxy-, Alkoxy-, Halogen-, Cyano-, Carbalkoxy- oder Trifluormethylgruppe substituierte Alkenyl- oder Cycloalkenylgruppe, eine durch wenigstens ein Halogenatom substituierte (C_1 - C_5)-Alkylgruppe, ein gesättigtes oder ungesättigtes carbozyklisches oder heterozyklisches (O, S, N) Ringsystem mit 3 bis 10 Atomen im Ringsystem, eine durch entweder ein oder zwei alizyklische oder aromatische 3-, 4-, 5- oder 6gliedrige Ringsysteme oder ein, zwei oder drei gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte Kohlenwasserstoffketten mit 1 bis 18 Kohlenstoffatomen substituierte C_1 -Alkylgruppe bedeutet und \equiv eine Einfachbindung der Doppelbindung bedeutet.

Im allgemeinen ist die Gruppe R_6 in der Formel vorzugsweise eine Alkylgruppe mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, vorteilhafterweise eine Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Allyl-, Isopropyl-, Methallyl-, Isobutyl-, Cyclopropylmethyl-, Cyclobutyl- oder Cyclopentylgruppe. Das Halogenatom für die Stellung X_1 und X_2 ist vorzugsweise ein Fluor- oder Chloratom. Die Acylgruppe (R_3) ist vorzugsweise eine Acetyl-, Propionyl-, Butyryl- oder Valeroylgruppe. R_1 bedeutet allgemein eine β -Hydroxylgruppe, und \equiv bedeutet allgemein eine Doppelbindung.

Von der Untergruppe



sind die Verbindungen, worin $R_4 = H$ und $R_5 = Methyl$ oder $R_4 = Methyl$ und $R_5 = H$ bevorzugt.

Eine bevorzugte Verbindungsklasse der obigen Formel mit besonders guter pharmakologischer Aktivität sind beispielsweise die folgenden Ester von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure und 9 α -Chlor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure:

1'-Ethoxycarbonyloxyethyl, 1'-Isopropoxycarbonyloxyethyl, 1'-Propoxycarbonyloxyethyl, 1'-Cyclopropylmethoxycarbonyloxyethyl, 1'-Cyclobutoxycarbonyloxyethyl, 1'-Isobutoxycarbonyloxyethyl, 1'-Cyclopentoxycarbonyloxyethyl, 1'-(2-Chlorethoxy)-carbonyloxyethyl und 1'-Acetoxyethyl.

Epimere, die ein Ergebnis des asymmetrischen Zentrums in der Estergruppe der obigen Formel sind, stellen einen weiteren Aspekt der Erfindung dar, und die Erfindung schließt auch die Herstellung solcher Epimeren sowie von Gemischen derselben ein. Die Epimeren besitzen praktisch identische Löslichkeitseigenschaften. Demnach waren sie unmöglich aus dem Epimerengemisch nach herkömmlichen Methoden zur Trennung von Stereoisomeren, wie fraktionierte Kristallisation, zu trennen und zu isolieren. Die Epimeren können jedoch im Hinblick auf ihre unterschiedliche Beweglichkeit auf der stationären Phase in einem chromatographischen System getrennt werden. Die Trennung kann beispielsweise auf Kieselsäure oder besonders auf vernetzten Dextrangelen vom Typ Sephadex[®] LH, wie Sephadex[®] LH-20, mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel als Eluiermittel durchgeführt werden. Als Eluiermittel auf einer Sephadex[®] LH-20-Säule wurde erfolgreich ein halogener Kohlenwasserstoff, wie Chloroform oder ein Gemisch von Heptan, Chloroform und Ethanol in den Mengenverhältnissen 0-50:50-100:10-1, vorzugsweise als 20:20:1-Gemisch verwendet. In diesen Chromatographiesystemen mit geradliniger Phase wurden die Epimeren willkürlich mit A bzw. B in der Reihenfolge ihres Eluierens aus der Säule bezeichnet.

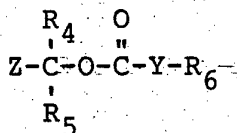
Die 17 β -Carbonsäure-Ausgangsmaterialien werden durch Entfernung des 21-Kohlenstoffatoms von einem geeigneten 21-Hydroxy-3,20-dioxopregn-4-en- oder -pregna-1,4-dien hergestellt. Dies erfolgt leicht mit irgendeinem bekannten Mittel, wie unter Verwendung von Natriumhypobromat, Natriumwismutat, Natriumperiodat oder Sauerstoff (Luft) in alkalischer Lösung. Vorzugsweise wird die Oxidation mit Periodsäure in einem Lösungsmittelmedium, wie Tetrahydrofuran/H₂O und vorzugsweise bei Raumtemperatur durchgeführt. Geeignete 21-Hydroxy-3,20-dioxopregn-4-ene oder -pregna-1,4-diene sind bekannte Verbindungen, wie Betamethason, Dexamethason, Paramethason, Beclomethason, Flumethason usw. Nach den folgenden in der Technik allgemein bekannten Verfahren können Steroide einer relativ einfachen Struktur gegebenenfalls in andere Strukturen umgewandelt werden.

Die Veresterung der 17 α -Hydroxylgruppe bei der Herstellung der neuen Androstanverbindungen kann in bekannter Weise erfolgen, wie beispielsweise durch Umsetzung der ursprünglichen 17 α -Hydroxylverbindung mit einer geeigneten Carbonsäure oder einem reaktiven Derivat derselben, wie einem Säureanhydrid, Säurehalogenid oder Orthoester, in Gegenwart eines geeigneten Säurekatalysators und eines Lösungsmittels bei Temperaturen von 20 bis 100°C. Geeignete Carbonsäuren und reaktive Derivate sind beispielsweise Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure usw. und die entsprechenden Säureanhydride und Säurehalogenide und Orthoester. Lösungsmittel sind beispielsweise nichthydroxylhaltige Lösungsmittel, wie Methylenchlorid, Chloroform, Benzol usw., während geeignete Säurekatalysatoren beispielsweise p-Toluolsulfonsäure, Sulfosalicylsäure, Perchlorsäure, stark saure Kationenaustauschharze und dergleichen sind.

Für die Herstellung der 17 α -Ester der 17 β -Carbonsäuren, die bei der Herstellung der Verbindungen nach der Erfindung benutzt werden können, ist es oftmals bevorzugt, die ursprüngliche 17 α -Hydroxy-17 β -carbonsäure mit einem geeigneten Säureanhydrid oder Säurehalogenid zu behandeln, um das gemischte Anhydrid der Androstan-17 β -carbonsäure und den Carbonsäureester des Ausgangssäureanhydrids oder Säurehalogenids zu bekommen, wobei diese Umsetzung bequemerweise bei einer erhöhten Temperatur durchgeführt wird und das resultierende Anhydrid dann unter sauren Bedingungen (z. B. unter Verwendung von wäßriger Essigsäure) oder unter basischen Bedingungen (z. B. mit wäßrigem Pyridin oder einem sekundären Amin, wie Diethylamin in Aceton) solvolysiert wird.

Die Verbindungen nach der Erfindung können nach einer der folgenden Methoden erhalten werden:

Die Ester können durch Umsetzung der 17 β -Carbonsäure in der Form eines Salzes, wie beispielsweise eines Alkalisalzes oder eines Tetraethylammonium- oder Tetrabutylammoniumsalzes, mit einem Halogenester der Formel



hergestellt werden, worin Y, R₆, R₄ und R₅ die obige Bedeutung haben und Z ein Halogenatom, vorzugsweise ein Chlor- oder Bromatom, oder eine funktionell äquivalente Gruppe, wie eine Sulfonyloxygruppe, bedeutet. Die Umsetzung wird in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie beispielsweise Aceton, Methyleneylethylketon, Dimethylformamid, Dimethylsulfonoxid, Methylenechlorid oder Chloroform, und bei Temperaturen zwischen 0 und 100°C durchgeführt. Die Umsetzung kann auch in Gegenwart eines Kronen-Ethers durchgeführt werden. Die Verbindungen nach der Erfindung können auf unterschiedliche Weise für örtliche Aufbringung verwendet werden, je nach der Entzündungsstelle, wie beispielsweise percutan, parenteral oder für örtliche Aufbringung in den Atemwegen durch Inhalation. Ein wichtiges Ziel der Formulierung ist es, optimale biologische Verträglichkeit des aktiven Steroidbestandteils zu erreichen. Für percutane Formulierungen oder Präparate erreicht man dies günstig, wenn das Steroid mit einer hohen thermodynamischen Aktivität in dem Vehikel gelöst wird. Dies erreicht man durch Verwendung eines geeigneten Lösungsmittelsystems, das geeignete Glycole, wie Propylenglycol oder 1,3-Butandiol, entweder als solche oder in Kombination mit Wasser umfaßt.

Es ist auch möglich, daß Steroid entweder vollständig oder teilweise in einer lipophilen Phase mit Hilfe eines oberflächenaktiven Mittels als Löslichmacher zu lösen. Die percutanen Zusammensetzungen können eine Salbe, eine Öl-in-Wasser-Creme, eine

Wasser-in-Öl-Creme oder eine Lotion sein. In den Emulsionsvehikeln kann das den gelösten Wirkstoff enthaltende System die disperse Phase oder auch die zusammenhängende Phase bilden. Das Steroid kann in den obigen Zusammensetzungen auch als eine mikronisierte feste Substanz vorliegen.

Unter Druck stehende Aerosole für Steroide sind für orale oder nasale Inhalation bestimmt. Das Aerosolsystem wird so zugeschnitten, daß jede entnommene Dosis 10 bis 1000 µg, vorzugsweise 20 bis 250 µg des aktiven Steroids enthält. Die aktivsten Steroide werden in dem unteren Teil des Dosisbereichs verabreicht. Das mikronisierte Steroid besteht aus Teilchen, die wesentlich kleiner als 5 µm sind und die in einem Treibmittelgemisch mit Hilfe eines Dispergiermittels, wie von Sorbitantrioleat, Ölsäure, Lecithin oder Natriumsalz von Dioctylsulfo-bernsteinsäure, suspendiert werden.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele, auf die sie nicht beschränkt ist, weiter erläutert. Alle Massespektren wurden durch chemische Ionisierungs-Massenspektrometrie erhalten, und sie sind in Übereinstimmung mit den Molekulargewichten der Verbindungen. Die Reinheit eines jeden Epimeren wurde auf einem HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)-System unter Verwendung einer µBondapak C₁₈-Säule (300 × 3,9 mm Innendurchmesser) mit einer Fließgeschwindigkeit von 1,0 ml/min und mit Ethanol/Wasser in einem Verhältnis zwischen 35:65 und 65:35 als die bewegliche Phase bestimmt. Die in der Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen wurden in analoger Weise zu dem in den Beispielen 1 bis 5 beschriebenen Verfahren hergestellt, isoliert und gereinigt.

Beispiel 1

Herstellung von 1'-Ethoxycarbonyloxyethyl-9α-fluor-11β-hydroxy-16β-methyl-3-oxo-17α-propionyloxyandrosta-1,4-dien-17β-carboxylat

Ein Gemisch aus Betamethason (4,0 g) in Tetrahydrofuran (45 ml) und Periodsäure (7,0 g), gelöst in Wasser (25 ml), wird bei Raumtemperatur 2 h gerührt. Wasser (40 ml) wird zugegeben, und das organische Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der resultierende kristalline Niederschlag wird durch Filtration gesammelt, mit Wasser gewaschen und getrocknet, um 9α-Fluor-11β,17α-dihydroxy-16β-methyl-3-oxoandrosta-1,4-dien-17β-carbonsäure (4,0 g) zu ergeben.

Die Säure wird in Methylenchlorid (80 ml) suspendiert, und Triethylamin (4,1 ml) und Propionylchlorid (3,5 ml) werden bei 0°C zugegeben. Nach 80minütigem Rühren bei 0°C wird das Reaktionsgemisch mit Methylenchlorid verdünnt und nacheinander mit 3%iger Natriumcarbonatlösung, 2 N Salzsäure und Wasser gewaschen und dann getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Feststoff wird mit Diethylamin (3,0 ml) in Aceton (130 ml) 90 min bei Raumtemperatur behandelt. Nach dem Verdampfen des organischen Lösungsmittels wird Wasser zugesetzt, und das Gemisch wird mit Ethylacetat extrahiert. Ansäuern mit 2 N Salzsäure und Extraktion mit Ethylacetat ergeben nach dem üblichen Aufarbeiten 9α-Fluor-11β-hydroxy-16β-methyl-3-oxo-17α-propionyloxyandrosta-1,4-dien-17β-carbonsäure als weißen kristallinen Feststoff (3,8 g).

Modifikation 1

Ein Gemisch von 9α-Fluor-11β,17α-dihydroxy-16β-methyl-3-oxo-androsta-1,4-dien-17β-carbonsäure (2,5 g), Kaliumbicarbonat (800 mg), [18]Krone-6 (10,5 mg) und α-Chlorethylethylcarbonat (1,2 g) in Dimethylformamid (50 ml) wird 3 h bei 80°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 10%iger Natriumchloridlösung (200 ml) verdünnt und mit Methylenchlorid (3 × 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wird nacheinander mit 5%iger Natriumbicarbonatlösung (100 ml) und Wasser (3 × 75 ml) gewaschen, getrocknet und im Vacuum eingedampft.

Chromatographie auf Sephadex® LH-20 mit Chloroform ergibt das Epimerengemisch der in der Überschrift angegebenen Verbindung.

Eine weitere chromatographische Stufe auf Sephadex® LH-20 mit Heptan-Chloroform-Ethanol (20:20:1) ergibt die reinen Epimeren mit guter Reinheit gemäß Prüfung durch HPLC-Analyse.

Epimeres A: 1,4 g (72%), F. = 187–190°C, $[\alpha]_D^{25} = +86,7^\circ$

(c = 0,2, CH₂Cl₂)

HPLC-Analyse des Epimeren A: 99,3%

MS-Cl (CH₄): MH⁺ = 551; M⁺ + 29 = 579

NMR (¹H): 6,71 ppm, Quartett (-O-CH-O)
 $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{O}-\text{CH}-\text{O} \end{array}$

Epimeres B: 1,27 g (80%), F. = 218–221°C, $[\alpha]_D^{25} = +0,9^\circ$

(c = 0,2, CH₂Cl₂)

HPLC-Analyse des Epimeren B: 99,2%

MS-Cl (CH₄): MH⁺ = 551; M⁺ + 29 = 579

NMR (¹H): 6,81 ppm, Quartett (-O-CH-O)
 $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{O}-\text{CH}-\text{O} \end{array}$

Modifikation 2

Bei Durchführung der Veresterungsstufe bei 80°C während 3 h, aber ohne Anwesenheit von [18]Krone-6 erhält man eine Ausbeute von 84% des Epimerengemisches der in der Überschrift angegebenen Verbindung. Im übrigen waren die Bedingungen die gleichen wie in der Methode 1.

Modifikation 3

Ein Gemisch von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (435 mg), Kaliumbicarbonat (111 mg) und α -Bromethylethylcarbonat (209 mg) in Acetonitril (50 ml) wird 5 h bei 40°C gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum verdampft und der Rückstand in Methylenchlorid gelöst. Die organische Phase wird nacheinander mit 5%iger Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Chromatographisches Aufarbeiten wie bei der Methode A ergibt die reinen Epimeren A (155 mg) und B (170 mg) von 1'-Ethoxycarbonyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxy-androsta-1,4-dien-17 β -carboxylat. Die Umsetzung kann auch in irgendeinem aprotischen Lösungsmittel, wie Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid, durchgeführt werden.

Modifikation 4

Ein Gemisch von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (250 mg), Kaliumbicarbonat (69 mg), α -Chlorethylethylcarbonat (102 mg) und Lithiumbromid (240 mg) in Aceton (25 ml) wurde 17 h unter Rückfluß erhitzt. Anwendung der Aufarbeitungsmethode im Verfahren A ergab das Epimerengemisch von 1'-Ethoxycarbonyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat (20 mg).

Wenn ein Gemisch von α -Chlorethylethylcarbonat (1,5 g) und Lithiumbromid (3,4 g) in Aceton (20 ml) 2 h unter Rückfluß erhitzt wurde, wurde ein Öl (0,8 g) von α -Chlorethylethylcarbonat (58%) und α -Bromethylethylcarbonat (42%) erhalten.

Modifikation 5

Zu dem Kaliumsalz von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (475 mg) in Methylenchlorid (20 ml) und Wasser (10 ml) wurde Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (340 mg) unter Rühren zugesetzt. Der pH-Wert wurde mit 2 M Natriumhydroxid auf 7 eingestellt. Die organische Phase wurde eingedampft. Der Rückstand wurde in Aceton (50 ml) gelöst, und α -Chlorethylethylcarbonat (150 mg) wurde zugegeben. Die Lösung wurde 4 h bei 50°C gerührt. Das Aceton wurde durch Vakuum entfernt und der Rückstand mit n-Butylacetat extrahiert, die organische Phase wurde mit 3%iger Natriumcarbonatlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Anwendung des gleichen chromatographischen Verfahrens wie in der Methode 1 ergab die reinen Epimeren (A: 81 mg, B: 83 mg) der in der Überschrift angegebenen Verbindung.

Modifikation 6

Zu einer Lösung von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (451 mg) und 1,5-Diazabicyclo [5.4.0]undecen-5 (152 mg) in Benzol (10 ml) wurde α -Chlorethylethylcarbonat (152 mg) in Benzol (5 ml) zugegeben. Die Lösung wurde unter Rückfluß während 6 h gerührt und danach über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde durch Vakuum entfernt und der Rückstand in Methylenchlorid aufgelöst, mit Natriumcarbonatlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Anwendung des gleichen chromatographischen Verfahrens wie in der Methode 1 ergab die reinen Epimeren (A: 48 mg, B: 55 mg) der in der Überschrift angegebenen Verbindung.

Beispiel 2

Herstellung von 1'-Isopropylcarbamoyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat

Behandlung von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (1,4 g) mit Kaliumbicarbonat (450 mg) und 1'-Chlorethylisopropylcarbammat (695 mg, hergestellt aus α -Chlorethylchlorformiat und Isopropylamin in Diethylether) in Dimethylformamid (30 ml) bei 80°C während 3 h nach der gleichen Methode wie in Beispiel 1 ergab Epimeres A (110 mg; F. = 210–214°C, HPLC: 99,7%; NMR (¹H): 6,69 ppm (Quartett, O–CH(CH₃)–O–); MS–Cl (CH₄): MH⁺: 564, M⁺ + 29 = 592) und Epimeres B (28 mg; F. = 183–186°C; HPLC: 99,1%, NMR (¹H): 6,81 ppm (Quartett, –O–CH(CH₃)–O–); MS–Cl (CH₄): MH⁺: 564, M⁺ + 29 = 592) von 1'-Isopropylcarbamoyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat.

Beispiel 3

Herstellung von 1'-Diethylcarbamoyloxymethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat

Umsetzung von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (1,1 g) mit Kaliumbicarbonat (10 g) und 1'-Chlorethyl-diethylcarbammat (825 mg, hergestellt aus α -Chlorethylchlorformiat und Diethylamin in Diethylether) in Dimethylformamid (20 ml) bei Raumtemperatur während 48 h nach der gleichen Methode wie im Beispiel 1 ergab Epimeres A (120 mg; F. = 184–187°C; HPLC: 99,8%; NMR (¹H): 6,71 ppm (Quartett, –O–CH(CH₃)–O–); MS–Cl (CH₄): MH⁺: 606, M⁺ + 29 = 634) und Epimeres B (104 mg; F. = 156–160°C; HPLC: 99,8%, NMR (¹H): 6,81 ppm (Quartett, –O–CH(CH₃)–O–); MS–Cl (CH₄): MH⁺: 606, M⁺ + 29 = 634) von 1'-Diethylcarbamoyloxymethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat.

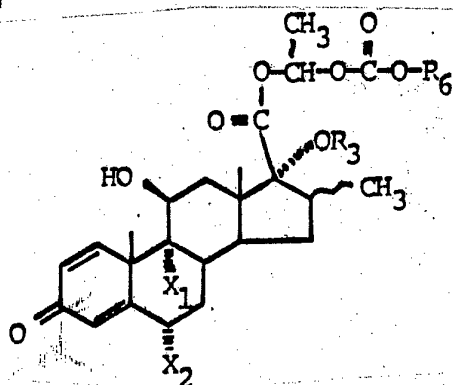
Beispiel 4**Herstellung von 1'-Acetyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat**

Behandlung von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (1,2g) mit Kaliumcarbonat (1,2g) und α -Chlorethylacetat (1,2g, hergestellt aus Acetylchlorid, Paraldehyd und Zinkchlorid unter Stickstoff mit -10°C während 2h) in Dimethylformamid (40ml) bei 50°C während 20h nach der gleichen Aufarbeitungsmethode wie im Beispiel 1 ergab Epimeres A (391mg; HPLC: 99,7% NMR (^1H): 6,79ppm (Quartett, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-$); MS-Cl (CH_4): MH^+ : 521, $\text{M}^+ + 29 = 549$) und Epimeres B (393mg; F. = $211-212^{\circ}\text{C}$; HPLC: 99,8%, NMR (^1H): 6,93ppm (Quartett, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-$); MS-Cl (CH_4): MH^+ : 521, $\text{M}^+ + 29 = 549$) von 1'-Acetyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat.

Beispiel 5**Herstellung von 1'-Isopropylthiocarbonyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat**

Behandlung von 9 α -Fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carbonsäure (1,0g) mit Kaliumbicarbonat (350mg) und α -Chlorethyl-5-isopropylthiocarbonat (600mg, hergestellt aus α -Chlorethylchloroformiat und 2-Propanthiol in Pyridin und Diethylether) in Dimethylformamid (20ml) bei Raumtemperatur während 48h nach der gleichen Aufarbeitungsmethode wie in Beispiel 1 ergab Epimeres A (14mg; NMR (^1H): 6,92ppm (Quartett, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-$); MS-Cl (CH_4): $\text{MH}^+ = 581$; $\text{M}^+ + 29 = 609$) und Epimeres B (18mg; NMR (^1H): 6,98ppm (Quartett, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-$); MS-Cl (CH_4): $\text{MH}^+ = 581$) von 1'-Isopropylthiocarbonyloxyethyl-9 α -fluor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -carboxylat.

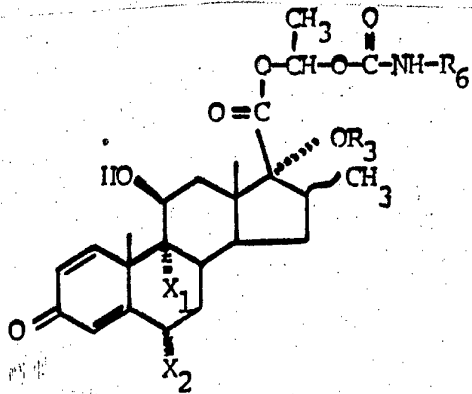
Tabelle 1



Beispiel Nr.	X ₁	X ₂	16-Me	R ₃	R ₆	Epi-meres	F. °C	$[\alpha]_D^{25}$ (c = 0,2 in CH ₂ Cl ₂)	Empirische Formel	Molgewicht	HPLC Reinheit
6a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₃	A	197-8	+90°	C ₂₈ H ₃₇ FO ₉	536,6	99,8
6b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₃	B	218-21	$\pm 0^{\circ}$	C ₂₈ H ₃₇ FO ₉	536,6	99,8
7a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃	A	135-9	+79,6°	C ₃₀ H ₄₁ FO ₉	564,7	93,7
7b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃	B	208-9	$\pm 0^{\circ}$	C ₃₀ H ₄₁ FO ₉	564,7	99,3
8a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	A	176-8	+83,3°	C ₃₀ H ₄₁ FO ₉	564,7	99,6
8b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	B	242-5	$\pm 0^{\circ}$	C ₃₀ H ₄₁ FO ₉	564,7	99,4
9a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH=CH ₂	A	158-60	+84,2°	C ₃₀ H ₃₉ FO ₉	562,6	99,4
9b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH=CH ₂	B	191-207	+5,1°	C ₃₀ H ₃₉ FO ₉	562,6	99,1
10a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	A	156-8	+81°	C ₃₁ H ₄₃ FO ₉	578,7	99,7
10b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	B	205-8	+0,5°	C ₃₁ H ₄₃ FO ₉	578,7	99,7
11a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ (CH ₂) ₆ CH ₃	A	97-100	+77,7°	C ₃₅ H ₅₁ FO ₉	634,8	99,7
11b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ (CH ₂) ₆ CH ₃	B	139-42	+3,3°	C ₃₅ H ₅₁ FO ₉	634,8	99,8
12a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₂) ₂	A	175-7	+89,8°	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	99,6
12b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₂) ₂	B	205-7	$\pm 0^{\circ}$	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	99,7
13a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₃	A	157-61	+78,5°	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	99,4
13b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₃	B	203-16	-1,9°	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	99,3
14a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₄	A	202-7	+75,5°	C ₃₂ H ₄₃ FO ₉	590,7	99,1
14b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₄	B	222-5	+3,8°	C ₃₂ H ₄₃ FO ₉	590,7	99,6
15a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₅	A	194-200	+83,5°	C ₃₃ H ₄₅ FO ₉	604,7	99,6
15b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₅	B	209-18	$\pm 0^{\circ}$	C ₃₃ H ₄₅ FO ₉	604,7	99,7
16a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ C(CH ₃)=CH ₂	A	144-6	+75,2°	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	99,4
16b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ C(CH ₃)=CH ₂	B	188-92	+3,4°	C ₃₁ H ₄₁ FO ₉	576,7	98,8

Beispiel Nr.	X ₁	X ₂	16-Me	R ₃	R ₆	Epi-meres	F. °C	[α] _D ²⁵ (c = 0,2 in CH ₂ Cl ₂)	Empirische Formel	Molgewicht	HPLC Reinheit
17 a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CCl ₃	A	222-5	—	C ₂₉ H ₃₆ Cl ₃ FO ₉	653,7	97,1
17 b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CCl ₃	B	203-5	—	C ₂₉ H ₃₆ Cl ₃ FO ₉	653,7	97,8
18 a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	A	168-80	+74,3°	C ₂₉ H ₃₈ ClFO ₉	585,1	97,0
18 b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	B	194-96	+7,5°	C ₂₉ H ₃₈ ClFO ₉	585,1	99,5
19 a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₄ NO ₂	A	—	+56,1°	C ₃₄ H ₄₀ FNO ₁₁	657,7	99,5
19 b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₄ NO ₂	B	210-2	+3,5°	C ₃₄ H ₄₀ FNO ₁₁	657,7	99,5
20 a	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	C ₆ H ₅	A	190-5	+109,7°	C ₃₃ H ₃₉ FO ₉	598,7	99,6
20 b	F	H	β	COCH ₂ CH ₃	C ₆ H ₅	B	199-207	-19,0°	C ₃₃ H ₃₉ FO ₉	598,7	99,7
21 a	F	H	β	CO(CH ₂) ₃ CH ₃	CH ₂ CH ₃	A	117-9	+81,7°	C ₃₁ H ₄₃ FO ₉	578,7	99,8
21 b	F	H	β	CO(CH ₂) ₃ CH ₃	CH ₂ CH ₃	B	172-5	-0,5°	C ₃₁ H ₄₃ FO ₉	578,7	99,2
22 a	F	H	β	CO(CH ₂) ₃ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	A	155-6	+81,1°	C ₃₂ H ₄₅ FO ₉	592,7	99,7
22 b	F	H	β	CO(CH ₂) ₃ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	B	168-70	-0,5°	C ₃₂ H ₄₅ FO ₉	592,7	99,7
23	F	H	β	H	CH(CH ₃) ₂	A + B	—	—	C ₂₇ H ₃₇ FO ₈	508,6	99,4
24 a	F	H	α	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	A	191-2	+65,2°	C ₂₉ H ₃₉ FO ₉	550,6	99,9
24 b	F	H	α	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	B	218-9	-23,3°	C ₂₉ H ₃₉ FO ₉	550,6	99,7
25 a	F	H	α	COCH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₃	A	106-17	+64,4°	C ₃₁ H ₄₈ FO ₉	578,7	99,6
25 b	F	H	α	COCH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₃	B	117,9	-22,1°	C ₃₁ H ₄₈ FO ₉	578,7	99,0
26 a	F	F	α	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	A	231-4	—	C ₂₉ H ₃₈ F ₂ O ₉	568,6	99,5
26 b	F	F	α	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	B	229-31	—	C ₂₉ H ₃₈ F ₂ O ₉	568,6	99,7
27 a	F	F	α	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	A	200-10	+61,3°	C ₃₀ H ₄₀ F ₂ O ₉	582,6	99,7
27 b	F	F	α	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	B	240-44	-22,1°	C ₃₀ H ₄₀ F ₂ O ₉	582,6	99,8
28 a	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	A	186-97	+96,0°	C ₂₉ H ₃₉ ClO ₉	567,1	99,6
28 b	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	B	189-96	+23,0°	C ₂₉ H ₃₉ ClO ₉	567,1	99,6
29 a	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃	A	184-6	+98,5°	C ₃₀ H ₄₁ ClO ₉	581,1	99,3
29 b	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃	B	—	+17,3°	C ₃₀ H ₄₁ ClO ₉	581,1	99,3
30 a	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₃	A	151-5	+101,5°	C ₃₁ H ₄₁ ClO ₉	593,1	99,7
30 b	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₃	B	119-23	+19,8°	C ₃₁ H ₄₁ ClO ₉	593,1	99,5
31 a	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	A	217-8	103,5°	C ₃₀ H ₄₁ ClO ₉	581,1	99,7
31 b	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	B	172-3	—	C ₃₀ H ₄₁ ClO ₉	581,1	99,6
32 a	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₂) ₂	A	181-6	+108,9°	C ₃₁ H ₄₁ ClO ₉	593,1	99,7
32 b	Cl	H	β	COCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₂) ₂	B	130-3	+22,8°	C ₃₁ H ₄₁ ClO ₉	593,1	99,8

Tabelle 2



Beispiel Nr.	X ₁	X ₂	16-Me	R ₃	R ₆	Epimeres	F. °C	Empirische Formel	Molgewicht	HPLC Reinheit
33 a	F	H	β	CH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₂	A	126-130	C ₃₀ H ₄₀ FNO ₈	561,7	96,2
33 b	F	H	β	CH ₂ CH ₃	CH(CH ₂) ₂	B	136-9	C ₃₀ H ₄₀ FNO ₈	561,7	98,8

Beispiel 34 Pharmazeutische Präparate

Die folgenden nicht beschränkenden Beispiele erläutern Formulierungen bzw. Präparate, die für verschiedene örtliche Verabreichungsformen bestimmt sind. Die Menge an aktivem Steroid in den percutanen Formulierungen liegen gewöhnlich bei 0,001 bis 0,2% (Gewicht/Gewicht), vorzugsweise bei 0,01 bis 0,1% (Gewicht/Gewicht).

Präparat 1, Salbe

Steroid, mikronisiert		0,025 g
Flüssiges Paraffin		10,0 g
Weißes weiches Paraffin	ad	100,0 g

Präparat 2, Salbe

Steroid		0,025 g
Propylenglycol		5,0 g
Sorbitanesquioleat		5,0 g
Flüssiges Paraffin		10,0 g
Weißes weiches Paraffin	ad	100,0 g

Präparat 3, Öl-in-Wasser-Creme

Steroid		0,025 g
Cetanol		5,0 g
Glycerylmonostearat		5,0 g
Flüssiges Paraffin		10,0 g
Cetomacrogol 1000		2,0 g
Zitronensäure		0,1 g
Natriumcitrat		0,2 g
Propylenglycol		35,0 g
Wasser ad		100,0 g

Präparat 4, Öl-in-Wasser-Creme

Steroid, mikronisiert		0,025 g
Weißes weiches Paraffin		15,0 g
Flüssiges Paraffin		5,0 g
Cetanol		5,0 g
Sorbimacrogolstearat		2,0 g
Sorbitanmonostearat		0,5 g
Sorbinsäure		0,2 g
Zitronensäure		0,1 g
Natriumcitrat		0,2 g
Wasser	ad	100,0 g

Präparat 5, Wasser-in-Öl-Creme

Steroid		0,025 g
Weißes weiches Paraffin		35,0 g
Flüssiges Paraffin		5,0 g
Sorbitanesquioleat		5,0 g
Sorbinsäure		0,2 g
Zitronensäure		0,1 g
Natriumcitrat		0,2 g
Wasser	ad	100,0 g

Präparat 6, Lotion

Steroid		0,25 mg
Isopropanol		0,5 ml
Carboxyvinylpolymer		3 mg
NaOH		q. s.
Wasser	ad	1,0 g

Präparat 7, Suspension für Injektion

Steroid, mikronisiert		0,5–10 mg
Natriumcarboxymethylcellulose		7 mg
NaCl		7 mg
Polyoxyethylen (20)-sorbitanmonooleat		0,5 mg
Monooleat		0,5 mg
Phenylcarbinol		8 mg
Wasser, steril	ad	1,0 ml

Präparat 8, Aerosol für orale und nasale Inhalation

Steroid, mikronisiert		0,1% Gew./Gew.
Sorbitantriöleat		0,7% Gew./Gew.
Trichlorfluormethan		24,8% Gew./Gew.
Dichlortetrafluormethan		24,8% Gew./Gew.
Dichlordifluormethan		49,6% Gew./Gew.

Präparat 9, Lösung für Atomisierung

Steroid		7,0 mg
Propylenglycol		5,0 g
Wasser	ad	10,0 g

Präparat 10, Pulver für Inhalation

Eine Gelatinekapsel wird gefüllt mit einem Gemisch von Steroid, mikronisiert

Lactose 0,1 mg

Lactose 20 mg

Das Pulver wird mit Hilfe einer Inhalationsvorrichtung inhaliert.

Pharmakologie**Die Affinität der neuen Androstan-17 β -carbonsäureester gegenüber dem Glucocorticoidrezeptor**

Alle Steroide gemäß der vorliegenden Erfindung sind physiologisch aktive Verbindungen. Die Affinität der neuen Androstan-17 β -carbonsäureester zu dem Glucocorticoidrezeptor wurde als ein Modell für die Bestimmung der entzündungshemmenden Aktivität verwendet. Ihre Rezeptoraffinitäten wurden mit Budesonid ([22R,S]-16 α -17 α -Butylidendioxy-11 β ,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion), einem äußerst aktiven Glucocorticoid mit einem günstigen Verhältnis zwischen örtlichen und systemischen Wirkungen (Thalén und Brattsand, *Arzneim.-Forsch.* 29, Seiten 1687-1690, 1979), verglichen.

Männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Alter von 1 bis 2 Monaten wurden in der gesamten Untersuchung verwendet. Die Thymusdrüse wurde entfernt und in eiskalte Kochsalzlösung gegeben. Das Gewebe wurde in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator in 10 ml eines Puffers homogenisiert, der 20 mM Tris, pH 7,4, 10% (Gewicht/Volumen) Glycerin, 1 mM EDTA, 20 mM NaMoO₄ und 10 mM Mercaptoethanol enthält. Das Homogenisat wurde 15 min bei 20000 \times g zentrifugiert. Anteile der bei 20000 \times g oben schwimmenden Schicht (230 μ l) wurden etwa 24 h bei 0°C mit 100 μ l Phenylmethylsulfonylfluorid (einem Esteraseinhibitor, Endkonzentration 0,5 mM), 20 μ l unmarkiertem Konkurrenten und 50 μ l ³H-markiertem Dexamethason (Endkonzentration 3 nM) inkubiert. Gebundenes und freies Steroid wurden durch Inkubieren des Gemisches mit 60 μ l 2,5%iger (Gewicht/Volumen) Aktivkohle und 25%iger (Gewicht/Volumen) Dextran T70-Suspension in 20 mM Tris, pH 7,4, 1 mM EDTA und 20 mM NaMoO₄ während 10 min bei 0°C abgetrennt. Nach einem Zentrifugieren mit 500 \times g während 10 min wurden 230 μ l der oben schwimmenden Schicht in 10 ml Insta-Gel in einem Packard-Scintillationsspektrophotometer ausgezählt. Die oben schwimmenden Bestandteile wurden a) mit [³H]-Dexamethason allein, b) [³H]-Dexamethason plus 1000fachem Überschuß an unmarkiertem Dexamethason und c) [³H]-Dexamethason plus 0,03- bis 300fachem Überschuß des Konkurrenten inkubiert. Die nichtspezifische Bindung wurde bestimmt, wenn der 1000fache Überschuß an unmarkiertem Dexamethason zu [³H]-markiertem Dexamethason zugesetzt wurde.

Die an den Rezeptor in Gegenwart des Konkurrenten gebundene Radioaktivität, geteilt durch die an den Rezeptor in Abwesenheit des Konkurrenten gebundene Aktivität, multipliziert mit 100 ergibt den Prozentsatz der spezifischen Bindung von markiertem Dexamethason. Für jede Konzentration eines Konkurrenten wird der Prozentsatz an spezifisch gebundener Radioaktivität gegen den Logarithmus der Konkurrentenkonzentration aufgetragen. Die Kurven wurden bei dem 50%igen spezifischen Bindungswert mit Budesonid verglichen, dem eine relative Bindungsaffinität (RBA) von 1 gegeben wird.

Verbindung gemäß Beispiel Nr.	RBA
Budesonid	1
1 (Epimeres B)	0,80
2 (Epimeres B)	0,14
3 (Epimeres B)	0,47
4 (Epimeres B)	0,69
6b	0,42
7b	0,95
8b	1,50
9b	0,39
10b	0,82
13b	1,3
14b	1,2
15b	0,54
16b	0,51
19b	0,53
22b	0,77
24b	0,55
26b	0,45
28b	1,0
32b	0,86