



MINISTERIE VAN ECONOMISCHE ZAKEN

PUBLICATIENUMMER : 1005876A5

INDIENINGSNUMMER : 09100816

Internat. klassif. : C07J A61K

Datum van verlening : 22 Februari 1994

De Minister van Economische Zaken,

Gelet op het verdrag van Parijs van 20 Maart 1883 tot bescherming van de industriële eigendom;

Gelet op de wet van 28 Maart 1984 op de uitvindingsoctrooien
inzonderheid artikel 22;

Gelet op het Koninklijk Besluit van 2 December 1986, betreffende het aanvragen, verlenen en in stand houden van uitvindingsoctrooien, inzonderheid artikel 28;

Gelet op het proces-verbaal opgesteld door de Dienst voor Industriële Eigendom op 02 September 1991 te 10u00

BESLUIT :

ARTIKEL 1.- Er wordt toegekend aan : ESPECIALIDADES LATINAS MEDICAMENTOS
UNIVERSALES S.A. (ELMU S.A.)
Carretera Nacional III, Km.23, ES-28500 ARGANDA DEL REY, MADRID(SPANJE)

vertegenwoordigd door : BRUIN Cornelis, OCTROOIBUREAU ARNOLD & SIEDSMA B.V.B.A.,
Hamoiriaan, 21a - B 1180 BRUSSEL.

een uitvindingsoctrooi voor de duur van 20 jaar, onder voorbehoud van de betaling van de jaartaksen voor : NIEUWE PREGNA-1,4-DIEEN-3,20-DION-16-17-ACETAAL-21 ESTERS, WERKWIJZE VOOR EEN BEREIDING, PREPARAAT EN WERKWIJZE VOOR DE BEHANDELING VAN ONTSTEKINGSCONDITIES.

UITVINDER(S) : Calatayud José, Conde José Ramon, Luna Manuel, tous Emilio Vargas 2,
ES-28043 Madrid (ES)

VOORRANG(EN) 07.09.90 US USA 578942

ARTIKEL 2.- Dit octrooi is toegekend zonder voorafgaand onderzoek van zijn octrooieerbaarheid, zonder waarborg voor zijn waarde of van de juistheid van de beschrijving der uitvinding en op eigen risico van de aanvrager(s).

Brussel, 22 Februari 1994
BIJ SPECIALE MACHTIGING :

WUYTS L
Directeur

NIEUWE PREGNA-1,4-DIEEN-3,20-DION-16-17-ACETAAL-21 ESTERS,
WERKWIJZE VOOR EEN BEREIDING, PREPARAAT EN WERKWIJZE VOOR DE
BEHANDELING VAN ONTSTEKINGSCONDITIES

5 De onderhavige uitvinding heeft betrekking op
farmacologisch actieve verbindingen en een werkwijze voor
het verkrijgen van deze verbindingen en hun intermediaren.
De uitvinding beschrijft eveneens farmaceutische preparaten
welke de verbindingen bevatten en hun gebruik in de behande-
10 ling van ontstekingscondities.

Het doel van de uitvinding is daarnaast bepaalde
glucocorticoïden te verschaffen welke een combinatie van een
hoge anti-ontstekingsactiviteit op de plaats van toediening
en een lage systemische glucocorticoïdenactiviteit hebben.

15 Sinds Kendall en Reichstein de werkzaamheid van
cortison in de behandeling van reumatoïde artritis (hetgeen
hun de Nobelprijs opleverde) ontdekte, zijn de inspanningen
verveelvoudigd voor het bepalen van de basisstructuur die
verantwoordelijk is voor het glucocorticoïde effect en,
20 dienovereenkomstig, zijn metabolisme en werkingsmechanisme.
Sinds die tijd zijn er een groot aantal verschillende syn-
thetische verbindingen geweest, welke het activiteitspoten-
tieel van het eerst geïdentificeerde produkt verbeteren.

De klinische werkzaamheid van de corticosteroïden
25 heeft geresulteerd in hun isolatie, identificatie, en syn-
these. De manipulatie van hun basisstructuren heeft een
ruime verscheidenheid van synthetische analoga toegestaan,
waarin een verdergaande zoektocht heeft plaats gehad naar
grotere werkzaamheid en een toename in de verhouding tussen
30 therapeutisch effect en negatieve systemische reactie.

De toxiciteitseffecten zijn nog niet geminimali-
seerd, en het is belangrijk in dit opzicht te benadrukken
dat de corticosteroïden produkten zijn met een duidelijk
farmacologisch effect, maar met een sterk accumulatie vermo-
35 gen in verschillende weefsels, hetgeen onopgemerkt voorbij
kan gaan tot het abrupte optreden van een catastrofe.

In alle bestudeerde produkten zijn de therapeutische
effecten en effecten op het eiwit- en koolwaterstof- metabo-

lisme gelijktijdig verschenen, hetgeen de indruk geeft dat de bedoelde effecten en de negatieve reacties gemedieerd worden door hetzelfde type receptoren en dat deze receptoren identiek zijn voor alle corticosteroïden.

5 Veranderingen in moleculaire structuur kunnen variaties in de biologische activiteit van corticosteroïden veroorzaken, door veranderingen in absorptie, eiwitbinding, metabolisme, uitscheiding, biobeschikbaarheid en intrinsieke activiteit in de biofase.

10 De introductie in de vijftiger jaren van systemische corticosteroïden voor de behandeling van astma vormde een mijlpaal welke overschaduwde door het verschijnen van bijwerkingen. Dit feit leidde tot het gebruik van corticosteroïden door inhalatie, aangezien er gedacht werd dat door
15 het verminderen van de hoeveelheid geneesmiddel, die noodzakelijk is voor het controleren van de symptomen, het op zijn beurt mogelijk zou zijn de bijwerkingen te verminderen. De eerste corticosteroïden-preparaten die ontwikkeld waren in aerosolvorm gingen gepaard met een variërende werkzaamheid
20 en systemische bijwerkingen.

Het verschijnen van een hoge-aktiviteitsafgeleide stond de bereiding van lokale formuleringen toe, met een hoge relatieve activiteit, gecombineerd met een lage systemische werking. Er zijn twee redenen voor dit gedrag: 1)
25 hoewel de producten lokaal geabsorbeerd kunnen worden worden zij snel gemetaboliseerd naar minder actieve vormen; 2) de voorgeschreven doses zijn die, welke geen systemisch effect produceren, en de hypothalamo-hypofyse-bijnieras binnen de therapeutische begrenzingsgrenzen die gebruikt werden niet onder-
30 drukten.

De corticosteroïden, die gebruikt werden in aerosolvormen die een zeer positief effect hebben getoond zijn: beclomethason dipropionaat, betamethason valerianaanester, budesonide, flunisolide, en triamcinolon acetonide.

35 Deze filosofie van het proberen de lokale van de systemische effecten te scheiden heeft het onderzoek van een serie van corticosteroïde-afgeleiden met een duidelijke

plaatselijke werking en weinig of geen systemisch effect geleid.

De doelen van deze serie zijn beslissend negatief beïnvloed door de volgende factoren:

- 5 a) hoge concentratie in de biofase (long- of huidopper-
vlake-receptoren)
- b) lage plaatselijk absorptie
- c) lage gastro-intestinale absorptie
- d) hoge gevoeligheid voor leveroxidase en andere remmen
- 10 de enzymen
- e) korte halfwaarde tijd
- f) lage intrinsieke of systemisch aktiviteit

Het is het doel van deze uitvinding zo dicht als mogelijk het geneesmiddel te benaderen waarin alle voorgaan-
15 de factoren samenkomen teneinde het ideale lokale cortico-
steroïde te produceren in de wetenschap dat ondanks zijn nadelen dit therapeutisch agens een grote toekomst voor zich blijft houden.

Er is een plan ontwikkeld voor het vinden van
20 bepaalde corticosteroïde-afgeleiden welke intensieve lokale
farmocologische aktiviteit combineren met geen of minimale
systemisch effecten.

In de synthese van 16,17-acetalen van corticostero-
ïden wordt een mengsel van epimeren verkregen in samenhang
25 met de vorming van een nieuw asymmetrisch centrum op C-22.
De scheiding van de twee epimeren vindt plaats door kolom-
chromatografie (LC) of preparatieve HPLC technieken, welke
de industriële toepassing moeilijk maken door de beperkte
hoeveelheden produkt die in elk proces eenheid behandeld
30 kunnen worden. In het proces dat hier wordt weergegeven
wordt één van de epimeren (22S)- (de meest aktieve epimeer)
verkregen door de hydrolyse-ketalisatiewerkwijze van esters
gevormd aan de C-16, C-17 en C-21 hydroxylgroepen, waarin de
ester op C-21 geen hydrolyse ondergaat. Al naar gelang de
35 katalysator die geselecteerd wordt is het mogelijk te kiezen
tussen het verkrijgen van het mengsel van epimeren (22R,S)-
of de selectieve verkrijging van de (22S)- epimeer. Er is
geen werkwijze van dit type beschreven. De Europese octrooi-

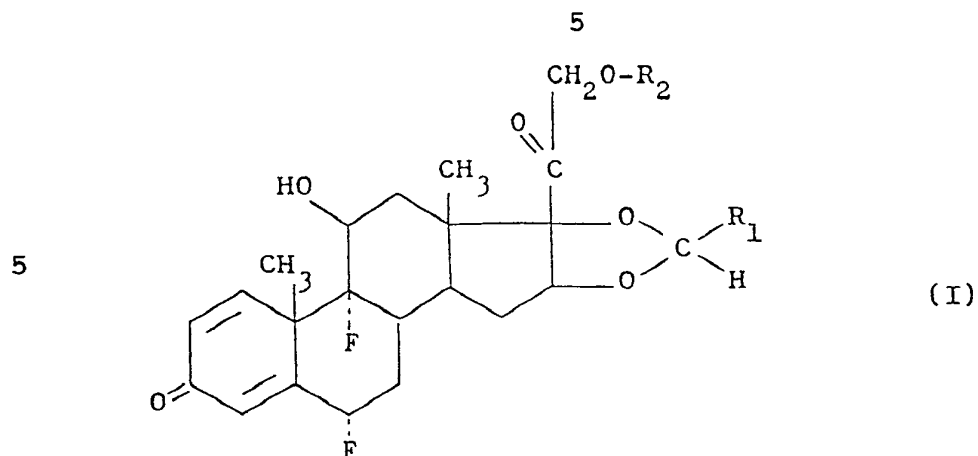
aanvraag 0 164 636 biedt een proces voor transketalisatie van acetoniden door conversie van deze acetoniden in acetalen in aanwezigheid van aldehyden en fluorwaterstofzuur of zoutzuur in waterig milieu. Fluorwaterstofzuur wordt voornamelijk gebruikt bij temperaturen die in het algemeen liggen tussen 0 en -30°C , waardoor epimeren van de gevormde acetalen verkregen worden. Er zijn geen verdere referenties gevonden welke een selectiviteit voor één epimeer of de andere beschrijven.

10 De werkwijze welke het onderwerp is van de uitvinding biedt (de mogelijk van) het verkrijgen van de (22S)-epimeer of (22R,S)-mengsels van acetalen uit triesters, die voorafgaand geselecteerd zijn, terwijl het gewenste radicaal op C-21 in stand gehouden wordt, waarbij deze esters eenvoudig verkregen kunnen worden. De werkwijze wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur, met gebruikmaking van oplossingen van droog HCl in watervrije organische oplosmiddelen. Verkrig-
15 ging van de R-epimeer wordt uitgevoerd door preparatieve HPLC-chromatografie welke begint met het (22R,S)-mengsel.

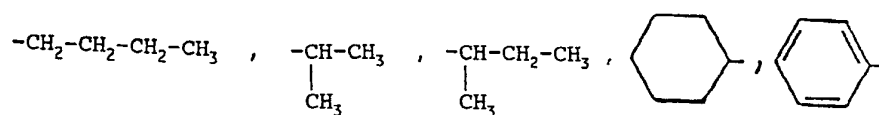
20 De sterische hindering van het geïntroduceerde acylradicaal en de specifieke katalysator maakt de vorming van de (22R)-epimeer moeilijk. Wanneer de geselecteerde katalysator extreem actief is worden mengsels van deze isomeren verkregen. Dit hinderingskenmerk wordt begeleid
25 door een toename in reaktietijd maar veroorzaakt geen achteruitgang in de vorming van het eindprodukt door hydrolyse, secundaire reakties, etc., onder de condities volgens welke de werkwijze plaatsvindt.

De werkwijze gebruikt geen hoog corrosieve of
30 gevaarlijke reagentia, zoals het geval is met waterstof fluoride, noch extreme temperaturen (onder nul), kenmerken welke meer bruikbaar zijn voor produktie op industrieel niveau.

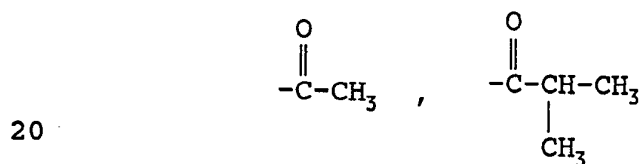
De verbindingen volgens de uitvinding worden weerge-
35 geven door de formules:



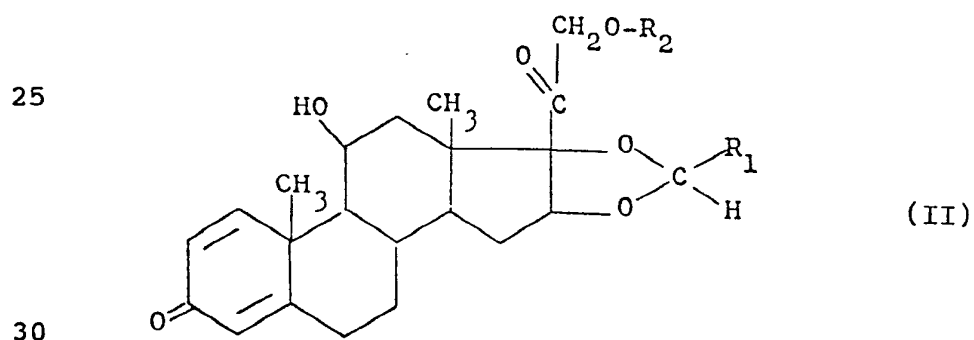
10 R_1 geeft de volgende radicalen weer:



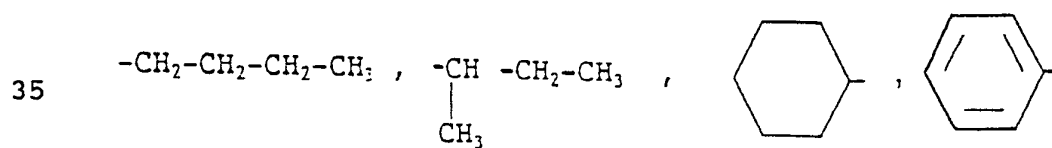
en R_2 geeft de radicalen weer:



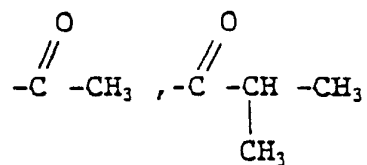
en voor de formule:



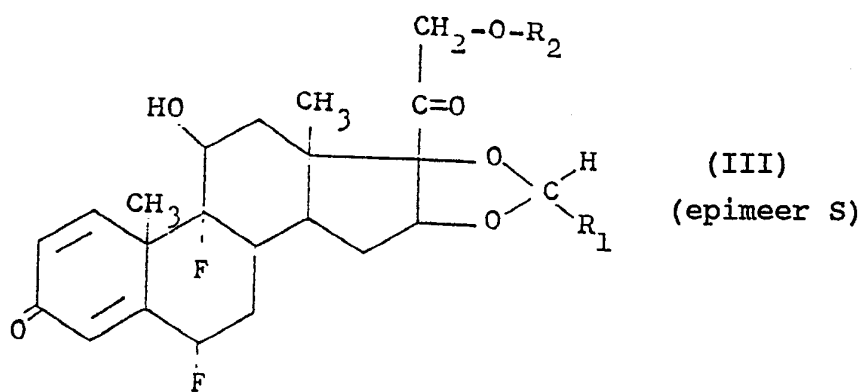
geeft R_1 de radicalen weer:

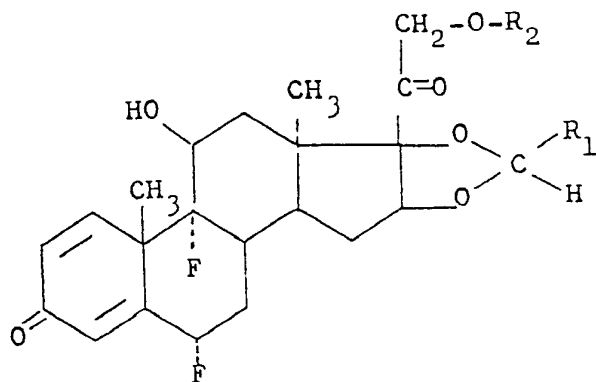


geeft R_2 de radicalen weer:

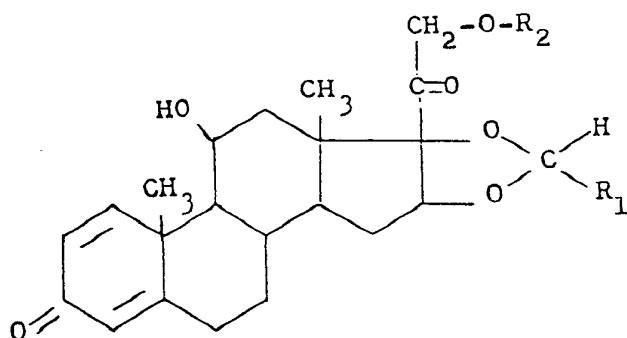


Elk van deze verbindingen kan voorkomen in twee diastereo-
isomere vormen welke volgens de algemene formules (I) en
(II) als volgt weergegeven zullen worden:

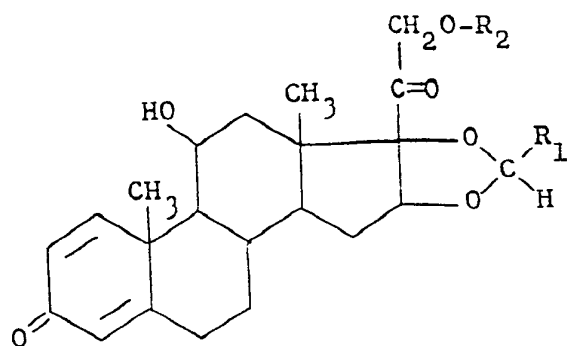




(IV)
(Epimeer R)



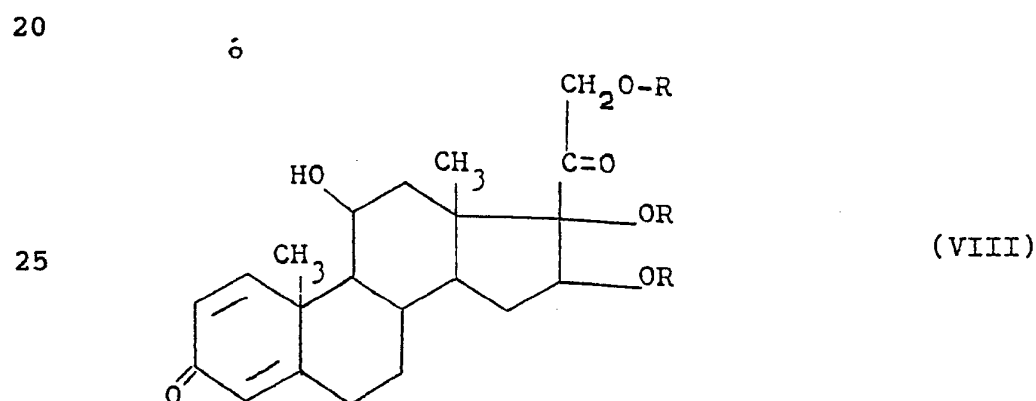
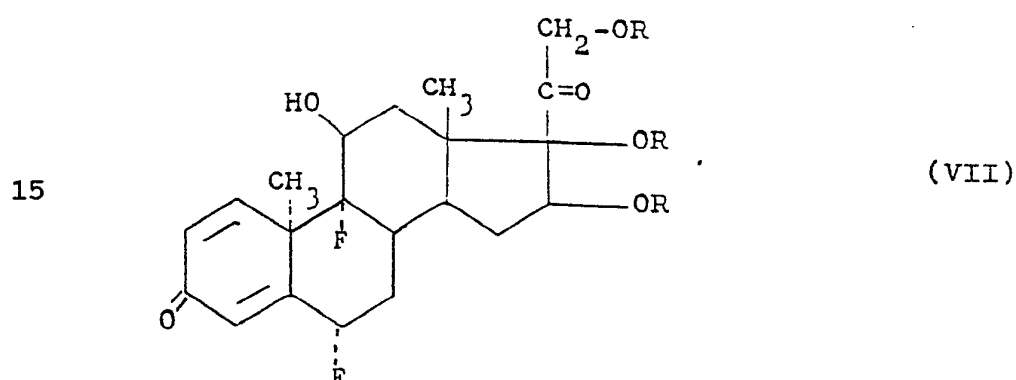
(V)
(Epimeer S)



(VI)
(Epimeer R)

In de diastereo-isomeren (III), (IV), (V) en (VI), komt de afwijkende configuratie overeen met C-22 (asymmetrisch koolstof). Deze diastereo-isomeren worden S en R epimeren genoemd.

5 De verbindingen van deze uitvinding worden bereid door hydrolyse-ketalisatie (met een geschikte adequate katalysator welke in de overeenkomende gevallen aangegeven zal worden) van de verbindingen die drievoudig veresterd zijn op C-16, C-17 en C-21, en waarvan de structuur onder is aange-
10 geven:



30 waarin R overeenkomt met een acetyl- of isobutylradicaal.

De intermediaire verbindingen van formule (VII) en (VIII) worden bereid uit hun overeenkomstige gehydroxyleerde afgeleiden door acylering van het geschikte anhydride in basisch milieu. Deze afgeleiden komen overeen met die welke
35 veresterde hydroxylgroepen op de koolstofatomen C-16, C-17 en C-21 hebben. De hydroxyl op koolstofatoom 11 is niet veresterd onder de omstandigheden waarbij acylering plaatsvindt; slechts met bepaalde anhydriden worden kleine hoe-

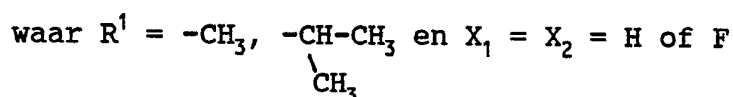
veelheden in de orde van 1% geproduceerd, welke behandeld worden als onzuiverheden en als zodanig geëlimineerd worden tijdens de zuivering. Wanneer de hoeveelheid anhydride die aanwezig is in de reactie gecontroleerd wordt wordt de ester
5 die gevormd is op de hydroxyl van C-11 in spoorhoeveelheden geproduceerd. Derhalve moet het aantal molen van het overeenkomende anhydride niet meer zijn dan 25 maal het aantal molen van het corticosteroïde, zodat acylering, zoals eerder is aangegeven, niet plaatsvindt op de C-11 hydroxyl of zo
10 beperkt mogelijk is. De temperatuur van de reactie is een andere belangrijke factor, en de ideale condities voor acylering van de C-21, C-16, en C-17 hydroxylgroepen zijn temperaturen in het gebied van 25 tot 45°C. Boven deze temperatuur kan een groter deel van het getetra-acyleerde
15 produkt verkregen worden.

De reaktietijd moet niet meer zijn dan 4 uur, en de geschikte tijd voor het grootste deel van de corticosteroïden en anhydriden die gebruikt wordt bedraagt 1,5-2 uur.

Pyridine, dioxaan of DMSO hebben de voorkeur als
20 oplosmiddelen boven andere mogelijke produkten teneinde een grotere oplosbaarheid te verkrijgen en in het bijzonder is pyridine de meest geschikte vanwege zijn intrinsiek basisch karakter.

Na éénmaal aanzuren en extraheren met organische
25 oplosmiddelen, die niet mengbaar zijn met water, wordt het reaktiemengsel geconcentreerd, gewassen en opnieuw gekristalliseerd voor het verkrijgen van de overeenkomende verbinding, die geacyleerd is aan de C-16, C-17 en C-21 hydroxylgroepen.

30 Zuivering door het wassen en de rekristallisatiemethode die gebruikt wordt geeft een zuiverheid die groter is dan 95%, welke bruikbaar is voor toepassing als een intermediair produkt in het vormingsproces van de acetaal volgens de werkwijze, die het doel is van de onderhavige uitvinding.

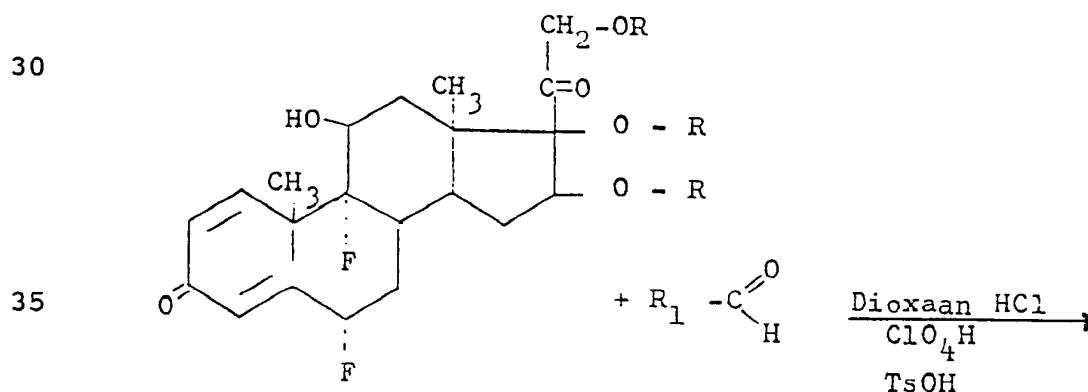


De oplosmiddelen die over het algemeen gebruikt
35 worden zijn: dioxaan, methyleenchloride, en chloroform,
allemaal watervrij. Dioxaan is echter het meest gebruikt
voor dit type reactie. De keuze van het oplosmiddel heeft
een invloed op het aandeel van de epimeren in het mengsel.

aangezien mildere katalysatoren de reactie in de richting van de produktie van een enkel epimeer richten, terwijl meer aktieve katalysatoren een mengsel van isomeren verschaffen welke de verhouding van 1/1 benadert. De keuze van het oplosmiddel kan deze verhouding licht veranderen. Al naar gelang de epimeerverhoudingskarakteristieken welke gewenst zijn, zijn de katalysatoren die gebruikt worden *p*-tolueen-sulfonzuur, hetgeen de S-epimeer als het hoofdprodukt in een opbrengst van 98-99% oplevert, en perchloorzuur in 70% oplossing in ijsazijn, hetgeen een mengsel van zowel R en S-epimeren zonder onderscheid in een verhouding van 40/60 oplevert.

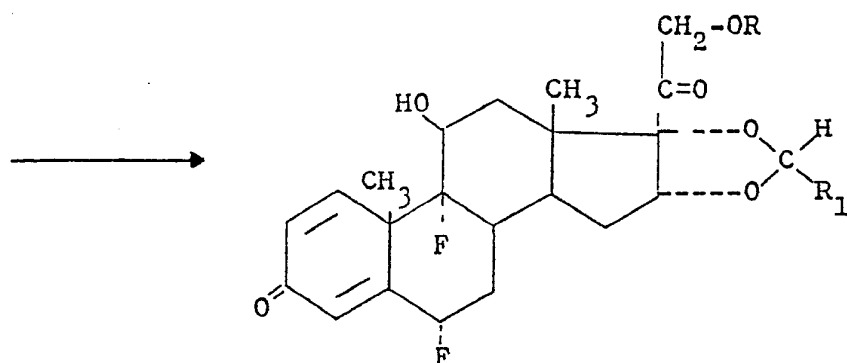
Bij het uitvoeren van de reactie zonder katalyse worden de reaktietijden zeer verlengd en derhalve is het niet praktisch de reactie onder deze omstandigheden uit te voeren; daarnaast wordt een grotere hoeveelheid onzuiverheden verkregen. In dit geval zou één van de isomeren, de S-isomeer, verkregen worden, en, in vergelijking met de R-epimeer, voor het grootste deel aanwezig zijn.

De reactie wordt uitgevoerd op C-16 en C-17 esters door hydrolyse in de aanwezigheid van zoutzuur met daaropvolgend een reactie van het aldehyde op deze posities, teneinde het overeenkomende acetaal te vormen. Derhalve vindt selectieve hydrolyse plaats aangezien de ester die gevormd wordt op de C-21 niet gehydrolyseerd wordt onder de genoemde omstandigheden, zodat de triester gekozen moet worden om de radicaal welke van belang is op C-21 te houden.



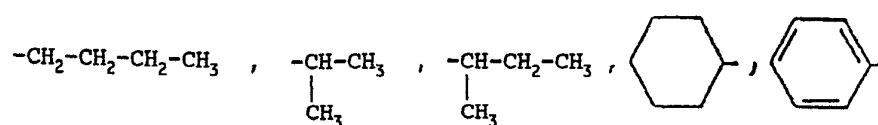
12

5



waarin R overeenkomt met een acetyl- of isobutylradicaal.

10 R_1 geeft de volgende radicalen weer:

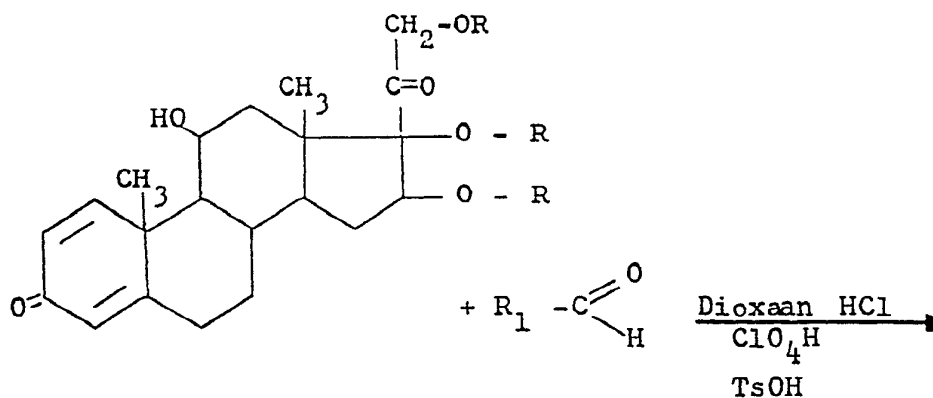


15

Overeenkomstig voor de formule (VIII)

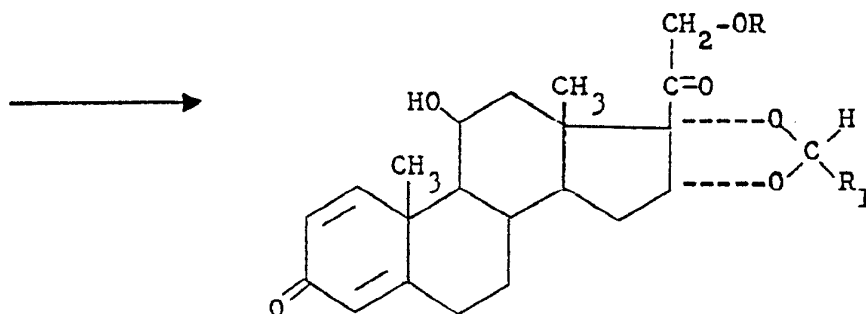
20

25



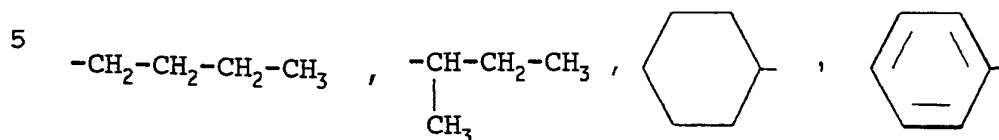
30

35



waarin R overeenkomt met een acetyl- of isobutylradicaal.

R₁ geeft de volgende radicalen weer:



10 De reactie wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur (10-20°C), vooropgesteld dat de oplosbaarheid van de tries-
ter die gebruikt wordt dat toestaat. Temperaturen boven 25°C
aktiveren secundaire reacties en de gedeeltelijke deacyle-
ring van C-21.

15 De reaktietijd fluctueert tussen 100 en 200 uur
afhankelijk van de aanvangscorticosteroiden, de acylerende
agentia en de gebruikte aldehyden, en het is noodzakelijk
een evenwicht te bereiken tussen de maximale vorming van de
epimeer of het mengsel van epimeren en de secundaire reak-
20 ties die optreden.

Wanneer het overtollige zuur eenmaal geneutraliseerd
is wordt het ruwe produkt geëxtraheerd met methyl chloride,
en de organische fase afgescheiden, en vervolgens onder
vacuüm geconcentreerd. Het produkt wordt gekristalliseerd
25 uit ethylether/petroleumether en wordt uiteindelijk gezui-
verd door behandeling in een chromatografische kolom met LH-
20 of LH-60 Sephadex als stationaire fase en als mobiele
fase een mengsel van organische oplosmiddelen, bijvoorbeeld
heptaan/ethanol, of een mengsel van organische oplosmiddelen
30 en water, in verhoudingen die kunnen variëren tussen 90/10
en 98/2 voor heptaan/ethanol en 70/30 voor ethanol/water. Er
kunnen eveneens verdere zuiveringsprocedures voorkomen welke
gebruik maken van wassen of opnieuw neerslaan met oplosmid-
delen zoals methanol, ethanol, aceton, dioxaan, ethyl ace-
35 taat, water etc. Door deze alleen of in binaire of ternaire
mengsels te gebruiken zoals dioxaan/water of ethanol/ace-
ton/water in geschikte verhoudingen wordt een zuivering in
de orde van 99,5-99,9% verkregen. In ons geval bereikten wij

derhalve een zuiveringsproces met ternaire mengsels van ethyl alcohol/aceton/water welke door oplossing van het product in organische oplosmiddelen en daaropvolgende neerslag door toevoeging van het overeenkomstige deel water
5 onder zeer specifieke, zeer krachtige schudcondities en zeer langzame toevoegtijd, naast andere factoren, resulteert in zuivering van een 85-90% startpunt tot 99,99% zuiverheid.

Zuivering door kolom chromatografie is niet geschikt voor industriële produktie. Bij dit type activiteit zijn
10 fijne industriële zuiveringsmethoden bruikbaar welke het verkrijgingsproces voor dit type verbinding zeer compleet maken.

Afhankelijk van de plaats van aanbrenging en met het doel een optimale beschikbaarheid van de actieve ingrediënt
15 te verkrijgen zijn verschillende galenische formuleringen bereid voor lokale toediening van de verbindingen volgens deze uitvinding.

Optimale beschikbaarheid voor percutane formuleringen wordt bereikt met een systeem van op glycol gebaseerde
20 oplosmiddelen (propyleen glycol en 1,3-butaandiol) alleen of in combinatie met water. Het is eveneens mogelijk de steroïden volledig of gedeeltelijk op te lossen in een lipofiele fase, met de hulp van de oppervlakte-actief middel als oplossend agens. Percutane preparaten komen voor in de vorm
25 van zalven, olie-water crème, water-olie crème of lotion. De actieve ingrediënt kan aanwezig zijn in de voorgaande farmaceutisch preparaten in oplossing, in continue gedispergeerde fase of als gemicroniseerde vaste deeltjes.

Het aerosol systeem is op zodanige wijze ontworpen
30 dat elke afgeleverde dosis 10-1000 μg (bij voorkeur 20-250 μg) van het actieve steroïde bevat. De meest actieve steroïden worden toegediend in het laagste deel van het doseergebied. Het gemicroniseerde steroïde moet zich in de vorm van deeltje van in hoofdzaak kleiner dan 5 μm bevinden. In de
35 onder druk gebrachte aerosol moet de substantie gesuspenderd zijn in een drijfgasmengsel met behulp van een dispergeermiddel, zoals sorbitaan trioleaat, oliezuur, lecithine of het natriumzout van dioctylsulfobarnsteenzuur.

De uitvinding zal verder geïllustreerd worden aan de hand van de volgende niet-limitatieve voorbeelden. De molecuulgewichten van de overeenkomende produkten zijn bevestigd door massa spectrometrie en de smeltpunten (niet gecorrigeerd) bepaald met een Buchi eenheid. De HPLC analyses werden uitgevoerd onder de volgende omstandigheden:

Apparaat:	Hewlett-Packard 1084 A
Detector:	UVD (243 nm vx. 430 nm)
Kolom:	200 x 4,6 mm
10 Stationaire fase:	Lichrosorb C18 (5 μ m)
Mobiele fase:	Ethanol: water (0,5 ml/min)
Temperatuur:	35°C
Injectie:	5 μ l ethanol sol. bij 2 mg/ml

15 SYNTHESE VAN GETRIACYLEERDE AFGELEIDEN OP C-16, C-17, EN C-21

VOORBEELD I

20 Bereiding van pregna 1,4-dieen-3,20-dion, 16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-11-hydroxy (11 β ,16 α)

30 ml pyridine en 21,6 g isoboterzuur anhydride (equivalent aan 0,13 mol) werden geplaatst in een 500 ml
25 reactievat, dat uitgerust was met een mechanische schudder; onder krachtig schudden werden 10 g (0,026 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 11,16,17,21-tetrahydroxy (11 β ,16 α) bij kamertemperatuur geleidelijk in delen toegevoegd. De toevoegtijd van het corticosteroïde komt overeen met bij benadering 25-30 minuten. Wanneer het corticosteroïde eenmaal
30 opgelost is bij kamertemperatuur wordt het schudden voortgezet gedurende een tijdsperiode die ligt tussen 1,5 en 2 uur totdat de verestering van de hydroxylgroepen op C-21, C-16 en C-17 volledig is. Na voltooiing wordt 150 ml van een 10%
35 waterige oplossing van HCl toegevoegd en het roeren van het reactiemengsel wordt gedurende 30 minuten voortgezet; vervolgens wordt het mengsel driemaal behandeld met 88 ml methyleen chloride teneinde de triester te extraheren en

wordt de organische fase driemaal gewassen met telkens 100 ml water, gedroogd over watervrij magnesiumsulfaat gedurende 12 uur en onder vacuüm geconcentreerd in een roterende verdamper, en produceert een ruw produkt dat behandeld wordt met 50 ml ethylether en 200 ml petroleumether (verhouding 40/60). Het roeren van het verkregen precipitaat wordt gedurende 1 uur voortgezet en uiteindelijk wordt het produkt gefiltreerd en opnieuw gekristalliseerd met petroleum ether (40/60)/ethyl ether 4/1, waardoor een opbrengst van 13,3 g en een zuiverheid van 97,5-98% verkregen werden. TLC: Tolueen/ethyl acetaat 30/40, $R_f = 0,61$.

VOORBEELD II

15 Bereiding van pregna 1,4-dieen-3,20-dion-16,17,21-tris-(2-methyl-1, oxo-propoxy)-6,9-difluor-11-hydroxy (6 α ,11 β ,16 α)

80 ml pyridine en 19,2 g (0,12 mol) isoboterzuur anhydride worden in een 500 ml reactievat geplaatst en terwijl het reactiemengsel op 40°C gehouden wordt, worden geleidelijk, 10 g (0,024 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 6,9-difluor-11,16,17,21-tetrahydroxy (6 α ,11 β ,16 α) op zodanige wijze geïntroduceerd dat geen volgende hoeveelheid toegevoegd wordt totdat het voorgaande gedeelte opgelost is. De fluocinolon oplostijd is equivalent aan ongeveer 2 uur. Wanneer het eenmaal is opgelost wordt het schudden van de oplossing gedurende 3 uur bij 40°C voortgezet. De TLC van het reactiemengsel geeft aan wanneer het corticosteroïde volledig gereageerd heeft. Wanneer de aangegeven tijd eenmaal verstreken is wordt het produkt gekoeld en worden 80 ml van een waterige oplossing van 10% zoutzuur toegevoegd nadat de koeling bereikt is. Het reactiemengsel wordt 4 maal geëxtraheerd met telkens 40 ml chloroform, het chloroform extract wordt 4 maal gewassen met 40 ml water, en het extract wordt gedroogd over $MgSO_4$. Het wordt vervolgens droog gemaakt in een roteerbare verdamper en neergeslagen en opnieuw gekristalliseerd met ethylether/ petroleumether

(40/60 fractie), waardoor een opbrengst van 12,1 g en een zuiverheid van 95% verkregen werden.

TLC oplosmiddel: toluen/ethyl acetaat 30/40, $R_f = 0,48$.

5

VOORBEELD III

Synthese van pregna 1,4-dieen-3,20-dion,16,17,21-tris-(acetyloxy)-11-hydroxy-(11 β ,16 α)

10

In een 500 ml reactievat dat is uitgerust met een mechanische schudder en extra trechter wordt 10 g (0,026 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion,11,16,17,21-tetrahydroxy-(11 β ,16 α) opgelost in 30 ml pyridine onder stevig schudden.

15 13,5 g (0,13 mol) azijnzuur anhydride worden op zodanige wijze geïntroduceerd dat de toevoeging plaatsvindt binnen 10 minuten en de temperatuur van het reactiemengsel niet boven 20°C uitstijgt. Wanneer het azijnzuur anhydride eenmaal toegevoegd is wordt het schudden gedurende 1 uur voortgezet.

20 (TLC of HPLC op een monster zullen het einde van de reactie aangeven door het verdwijnen van het aanvangscorticosteroïde). De reactietijd mag niet boven de aangegeven periode uitgaan teneinde acylering aan de C-11 hydroxyl te voorkomen. Na voltooiing van de reactie worden 130 ml van een 10%

25 waterige HCl-oplossing toegevoegd, waarbij het reactiemengsel gedurende 30 minuten geschud wordt. Vervolgens worden drie maal 75 ml methyleen chloride (iedere keer) toegevoegd teneinde de gevormde triester te extraheren. De oplossing van het organisch extract wordt driemaal gewassen met 100 ml

30 water (iedere keer) en gedurende 12-14 uur in de nabijheid van watervrije $MgSO_4$ gehouden teneinde de oplossing te drogen.

Concentratie tot droogte van het organisch extract geeft een olie welke behandeld wordt met ethyl ether/

35 petroleum ether (40/60 fractie) 1/3. Het verkregen precipitaat wordt opnieuw gekristalliseerd uit methyleen chloride/

petroleum ether 1/4, waardoor 12,5 g pregna-1,4-dieen-3,20-dion,16,17,21-tris-(acetyloxy)-11-hydroxy (11 β ,16 α) met een zuiverheid van 98-98,5% verkregen wordt.

5

VOORBEELD IV

- 10 Vorming van pregna 1,4-dieen-3,20-dion-16,17,21-tris
(acetyloxy)-6,9-difluor-11-hydroxy-(6 α ,11 β ,16 α)

- 10 g pregna-1,4-dieen-3,20-dion-6,9-difluor-11,16,-
17,21-tetrahydroxy-(6 α ,11 β ,16 α) (0,024 mol) worden opgelost
15 in 110 ml pyridine, dat verwarmd is tot 50°C voor het verge-
makkelijken van het oplossen in een 500 ml reactievat dat is
uitgerust met een mechanische schudder, een thermometer en
een toevoegtrechter; het mengsel wordt gekoeld en wanneer
het corticosteroïde eenmaal volledig is opgelost worden 19,4
20 g (0,19 mol) azijnzuur anhydride langzaam toegevoegd onder
hevig schudden (45°C), wordt het schudden gedurende 3 uur
voortgezet en vervolgens nogmaals één uur bij 45°C. Deze
tijdsperiode kan enigszins verlengd worden. Een monster in
TLC of door HPLC zal het einde van de reactie aangeven.
25 Vervolgens worden 300 ml waterige oplossing van 10% HCl
geïntroduceerd, en wordt verder gegaan met het schudden van
het mengsel gedurende 45 minuten; uiteindelijk wordt de
gevormde triester driemaal geëxtraheerd met 80 ml methyleen
chloride (per keer) en het organisch extract wordt boven
30 MgSO₄ gehouden. De oplossing wordt drooggedampt en de ver-
kregen olie wordt gedurende 1 uur onder schudden behandeld
met 50 ml ethyl acetaat en 150 ml petroleum ether (40/60
fractie).

- Het verkregen precipitaat wordt opnieuw gekristalli-
35 seerd in ethyl ether/petroleum ether 1/4, waardoor 11,8 g
pregna 1,4-dieen-3,20-dion-16,17,21-tris-(acetyloxy)-6,9-
difluor-11-hydroxy-(6 α ,11 β ,16 α) met een zuiverheid van 96,5%
verkregen wordt.

De structuur en relevante spectroscopische eigenschappen van de verbindingen waarvan de synthese is beschreven in de bovenstaande voorbeelden worden uiteengezet in tabel I .

5

VORMING VAN (22R,S)- EN (22S)- AFGELEIDEN

10

VOORBEELD V

Synthese van (22R,S)- pregna 1,4-dieen-3,20-dion,16,17-
[[cyclohexylmethylidyn]bis (oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-
oxo-propoxy)-(11 β ,16 α)

15

55 ml watervrij dioxaan worden geplaatst in een 500 ml reactievat, dat is uitgerust met een mechanische schudder en een toevoegtrechter, en daarin worden 8 g (0,014 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion,16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxo-
20 propoxy)-11-hydroxy-(11 β ,16 α) opgelost; vervolgens wordt het mengsel gedurende 30 minuten geschud en wordt langzaam 45 ml dioxaan HCl, dat 30% HCl gas bevat, toegevoegd en uiteindelijk wordt druppelsgewijs 1 ml 70% perchloorzuur in ijsazijn (hetgeen een rode kleur aanneemt) gedurende 190 uur onder
25 schudden gehouden en vervolgens gedurende 12 uur verwarmd tot 40°C . Het is mogelijk te schatten wanneer de reactie volledig is met een gedeelte van het reactieprodukt waarbij een monster door middel van HPLC geanalyseerd wordt onder de condities die hieronder vastgesteld zijn.

30

Wanneer de triester eenmaal verdwenen is uit het reaktiemengsel wordt de reactie beschouwd beëindigd te zijn; door het toevoegen van 200 ml methyleen chloride wordt het mengsel behandeld met 500 ml 5% K₂CO₃ in waterige oplossing, onder hevig schudden in een scheitrechter, en het organisch
35 mengsel wordt driemaal gewassen met 80 ml water (elke keer). Wanneer de organische fase eenmaal is afgegoten wordt hij boven watervrij MgSO₄ gehouden om te drogen; en wordt geconcentreerd op een roteerbare damper; er blijft een olie over

welke na behandeling met 25 ml methyleen chloride en 150 ml petroleum ether (40/60 fractie) 8,52 g ruw produkt oplevert, dat ofwel gezuiverd wordt door rekristallisatie in ethyl ether/petroleum ether of door het leiden daarvan over een
5 Sephadex LH-20 kolom als de stationaire fase en ethanol-vrije chloroform als de mobiele fase, waardoor 8 g (22R,S)-pregna-1,4-dieen-3,20-dion,16,17[-(cyclohexyl-methylidyn)-bis (oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α) met een zuiverheid van 98,5-99% en met een epimeer verhou-
10 ding van 45/55% tot 50/50% verkregen wordt.

Het mengsel van epimeren wordt gescheiden door preparatieve HPLC, met gebruikmaking van een 7 μ m Lichrosorb RP-18 kolom (250 x 10mm i.d.) en ethanol/water als de mobiele fase, waardoor de (22R)-epimeer praktisch zuiver en de
15 (22S)-epimeer met een zuiverheid van meer dan 99% verkregen wordt.

Het product dat het (22R,S)-mengsel bevat kan eveneens gezuiverd worden zonder gebruik te maken van kolom chromatografie door middel van een methode welke beschreven
20 wordt in het volgende voorbeeld.

VOORBEELD VI

Verkrijging van (22,S)-pregna 1,4-dieen-3,20-dion 16,17-
25 [[cyclohexyl-methylidyn] bis (oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α)

55 ml watervrij dioxaan worden in een 500 ml reactievat geplaatst en 8 g (0,014 mol) pregna- 1,4-dieen-3,20-
30 dion 16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-11 hydroxy-(11 β ,16 α) en 4,3 g (0,038 mol) cyclohexaan carbaldehyde worden opgelost, waaraan vervolgens 1 g p-tolueensulfonzuur en 50 ml dioxaan-HCl (dat 13% HCl gas bevat) worden toegevoegd, welke langzaam geïntroduceerd worden gedurende een
35 periode van 30 minuten. Het schudden wordt voortgezet gedurende 200 uur en het einde van de reactie kan geschat worden door het analyseren van het mengsel met HPLC onder de condities die onder zijn aangegeven. Wanneer het acetaal eenmaal

gevormd is wordt 200 ml Cl_2CH_2 toegevoegd aan het reactiemengsel en behandeld met 500 ml 5% K_2CO_3 in waterige oplossing teneinde zuur te elimineren. Volgend op deze eliminatie wordt het produkt driemaal gewassen met 80 ml water; de
 5 oplossing wordt gedroogd over MgSO_4 en droog gemaakt in een roteerbare verdamper. De verkregen olie wordt behandeld met 25 ml Cl_2CH_2 en 50 ml petroleumether (40/60 fraktie). De vaste stof wordt verzameld, 5,3 g wordt gezuiverd door de onderbeschreven methode.

10 5,2 g van het ruwe materiaal worden opgelost in 300 ml 96° ethanol en 50 ml aceton in een 500 ml fles welke is uitgerust met krachtige mechanische schudder en een toevoegtrechter. 80 ml water worden langzaam druppelsgewijs toegevoegd onder stevig schudden zodat het toevoegproces voltooid
 15 is binnen 6 uur. Wanneer het water eenmaal allemaal is toegevoegd wordt het gevormde precipitaat gedurende 2 uur geschud, gefiltreerd en gewassen met water en het produkt gedroogd in een 40°C oven, waardoor 4,5 g (22S)-pregna-1,4-dieen-3,20-dione-16,17-[(cyclohexylmethylidyn)-bis(oxy)]-11-
 20 hydroxy-21-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α) met een zuiverheid groter dan 99% verkregen wordt.

Deze methode is uitgebreid, met kleine variaties, naar zuivering van de overblijvende verbindingen en is niet beperkt tot de aangegeven voorbeelden. Het is eveneens
 25 mogelijk kolomzuivering te gebruiken met gebruikmaking van Sephadex LH-20 als de stationaire fase en ethanolvrije chloroform als de mobiele fase. Binnen deze zuivering is er een eerste zeer zuivere fraktie van de S-epimeer en een tweede fraktie waarin de verhouding R en S-isomeren binnen
 30 het gebied van respectievelijk 2/98% kan vallen.

VOORBEELD VII

Vorming van (22R,S)-van pregna 1,4-dieen-3,20-dion-21-(acetyloxy)-11-hydroxy-16,17-(pentylideen)bis(oxy)-(11 β ,16 α)

35

8 g (0,016 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion-16,17,21-tris-(acetyloxy)-11-hydroxy-(11 β ,16 α) worden opgelost in 60 ml watervrij dioxaan in een 500 ml fles, voorzien van een

thermometer, mechanische schudder, een toevoertrechter en waterbad; vervolgens worden 4 g (0,046 mol) valeraldehyde toegevoegd en langzaam druppelsgewijs onder hevig schudden 60 ml dioxaan HCl, (dat 13% HCl gas bevat). Nadat de toevoe-
5 ging van het dioxaan voltooid is, wordt 1 ml 70% perchloor-
zuur in ijsazijn geïntroduceerd, waarbij het produkt tot 50°C verhit wordt gedurende 200 uur. Het testen van een monster door middel van TLC of HPLC zal aangeven of de
10 reaktie compleet is door het verschijnen van twee pieken van
de epimeren en het verdwijnen van de triester uit de reaktie. Na voltooiing van de ketalisatie worden 175 ml chloroform toegevoegd, waarbij het mengsel hevig geschud wordt in een scheitrechter met 510 ml waterige oplossing van 5% K_2CO_3 . Wanneer een pH beneden 6 blijft bestaan in de organi-
15 sche fase wordt een extra behandeling met een waterige oplossing van K_2CO_3 uitgevoerd totdat de overmaat zuur geëlimineerd is. De organische fase wordt driemaal gewassen met 100 ml water (elke keer) en wordt gedurende 14 uur boven $MgSO_4$ gehouden; de gefiltreerde organische fase wordt droog-
20 gemaakt in een roteerbare verdamper, waardoor een olie verkregen wordt welke wanneer hij behandeld wordt met 50 ml ethylether en 170 ml petroleumether (40/60 fraktie) een ruwe vaste stof geeft van 6,5 g.

De volgende procedure wordt uitgevoerd voor de
25 zuivering van dit produkt:

Een mengsel van 39 ml aceton, 65 ml 96° ethanol, en 104 ml water worden in een 250 ml fles geplaatst en 6,5 g van het ruwe produkt dat eerder verkregen is worden gesuspendeerd onder hevig schudden en dit schudden wordt geduren-
30 de 3 uur voortgezet; het produkt wordt vervolgens gefiltreerd, gewassen met water en gedroogd in een oven bij 45°C waardoor 5,7 g (22R,S)-pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 21-(acetyloxy)-11-hydroxy-16,17-(pentylideen)-bis-(oxy)-(11 β ,16 α) met een zuiverheid van 99,5% verkregen wordt. De verhouding
35 van R/S-epimeren is 45/55.

De scheiding van de epimeren wordt verkregen overeenkomstig de karakteristieken aangegeven in voorbeeld V.

VOORBEELD VIII

Vorming van (22S)-pregna 1,4-dieen-3,20-dion-21-(acetyloxy)-11-hydroxy-16,17-(pentylideen)-bis-(oxy)-(11 β ,16 α)

5

8 g (0,016 mol) pregna-1,4-dieen-3,20-dion,16,17,21-tris-(acetyloxy)-11-hydroxy-(11 β ,16 α) worden opgelost in 65 ml watervrij dioxaan in een 500 ml reactievat dat voorzien is van een mechanische schudder en een toevoertrechter en
10 vervolgens worden 4 g (0,046 mol) valeraldehyde en 1,2 g p-tolueensulfonzuur geïntroduceerd, gevolgd door het druppels-gewijs onder hevig schudden toevoegen van 60 ml dioxaan-HCl (13 gew.% HCl). Wanneer dit eenmaal is toegevoegd wordt het schudden van het produkt bij 50°C voortgezet gedurende een
15 tijdsperiode die nodig is voor het verdwijnen van de triester uit het reaktiemengsel. De reactie wordt gevolgd door HPLC, waardoor de vorming van de S-epimeer op perfecte wijze gevisualiseerd wordt. TLC onthult slechts de eliminatie van de triester, zodat de eerste methode meer aan te raden is.
20 De reaktietijd fluctueert tussen 100 en 150 uur. Het reaktiemengsel wordt vervolgens behandeld met 120 ml chloroform en 60 ml methyleenchloride. De organische oplossing wordt behandeld met 5% K₂CO₃ oplossing teneinde de overmaat zuur te elimineren en wordt driemaal gewassen met water; het
25 overtollige water wordt geëlimineerd door het bij watervrij MgSO₄ te zetten. De organische fase wordt droog gemaakt en het ruwe produkt in de vorm van een olie wordt behandeld met een mengsel van 25 ml ethylether, 25 ml methyleenchloride en 175 ml petroleumether (40/60 fraktie). Er wordt 4,5 g vaste
30 stof verkregen, welke gezuiverd wordt volgens de methode, die in het voorgaande voorbeeld gevolgd is.

VOORBEELD IX

35 Vorming van (22R,S)-pregna 1,4-dieen-3,20-dion-16,17-(cyclohexyl methylidine)-bis-(oxy)-6,9-difluor-11-hydroxy-21-(methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α)

100 ml watervrij dioxaan, dat in een waterbad verwarmd is tot 35°C, wordt in een 500 ml reactievat geplaatst, dat is uitgerust met een waterbad, toevoertrechter en mechanische schudder; onder schudden worden 8,8 g (0,014 mol) 5 *pregna-1,4-dieen-3,20-dion*, 16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxo-propoxy)-6,9-difluor-11-hydroxy-(6 α ,11 β ,16 α) toegevoegd in kleine hoeveelheden (een deel van de triester mag pas toegevoegd worden wanneer het voorgaande deel volledig opgelost is). Wanneer eenmaal de triester volledig toege- 10 voegd en opgelost is wordt het produkt gedurende enkele minuten onder schudden tussen 15-18°C gehouden en worden 4,5 g (0,04 mol) cyclohexaan carbaldehyde en 1,1 ml 70% perchloorzuur in ijsazijn toegevoegd. Uiteindelijk worden 50 ml watervrij dioxaan dat 13-14 gew.% HCl gas bevat toegevoegd 15 en voortdurend geroerd bij kamertemperatuur gedurende de tijd die nodig is voor het verdwijnen van de triester uit het reactiemengsel. Wanneer de reactie eenmaal volledig is worden 250 ml chloroform toegevoegd; het mengsel wordt driemaal behandeld in een scheitrechter met 250 ml van een 20 5% waterige oplossing van K₂CO₃ elk, en opnieuw driemaal gewassen met telkens 100 ml water. De organische fase wordt in de buurt van watervrij MgSO₄ of een ander geschikt droogmiddel gehouden, de organische oplossing wordt geconcentreerd tot ongeveer 1/5 van zijn volume en behandeld met 300 25 ml ethylacetaat waarbij het mengsel gedurende 2 uur bij 30°C voortdurend geroerd wordt. Vervolgens wordt de oplossing gekoeld en overnacht bij -10°C gehouden. Uiteindelijk wordt het geconcentreerd totdat het droog is en de verkregen olie wordt behandeld met 50 ml ethyl ether en 180 ml petroleum 30 ether. De oplossing wordt gedurende 24 uur koud gehouden, waardoor een neerslag van 7,5 g (22R,S)- *pregna-1,4-dieen-3,20-dion*, 16,17-(cyclohexylmethylidene)-bis-(oxy)-6,9-difluor-11-hydroxy-21 (methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α) verkregen wordt. Dit produkt kan gezuiverd worden door een 35 methode aangegeven in voorbeeld VII en op deze wijze wordt een opbrengst van 7 g verkregen met een zuiverheid van 99-99,5% en een verhouding van R/S epimeren van ongeveer 40/60%.

De scheiding van de epimeren wordt verkregen overeenkomstig de kenmerken aangegeven in voorbeeld V.

VOORBEELD X

5

Vorming van (22S)-pregna-1,4-dieen-3,20-dion-16,17-
[(cyclohexylmethylidene)-bis-(oxy)]-6,9-difluor-11-hydroxy-
21-(s-methyl-1-oxo-propoxy)-(11 β ,16 α)

- 10 120 ml watervrij chloroform, 4,5 g (0,04 mol)
cyclohexaan carbaldehyde en 1 g p-tolueensulfonzuur worden
geplaatst in een 1 l reactievat dat voorzien is van een
waterbad, een reflux condensor, een Dean-Stark vanger, een
magnetische roerder, een thermometer en toevoertrechter.
- 15 Onder stevig roeren en in gedeelten worden 8,8 g (0,014 mol)
pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxo-
propoxy)-6,9-difluor-11-hydroxy (6 α ,11 β ,16 α) in kleine
hoeveelheden op zodanige wijze toegevoegd dat geen nieuw
gedeelte wordt toegevoegd totdat het voorgaande is opgelost.
- 20 Uiteindelijk worden 100 ml chloroform dat HCl gas in een
verhouding van ongeveer 10 gew.% bevat, toegevoegd en het
produkt wordt gedurende 5 uur onder heftige beweging gedu-
rende 5 uur bij kamertemperatuur gehouden. Vervolgens wordt
het produkt onder zeer milde reflux gehouden (water wordt
- 25 verzameld in de Dean-Stark vanger gedurende het proces)
gedurende de tijd die nodig is voor het voltooien van de
reactie, dat wil zeggen totdat geen triester meer aanwezig
is in de reactiemassa. Dit kan gecontroleerd worden door het
nemen van een klein monster uit het reactievat, het eerst
- 30 neutraliseren daarvan en het vervolgens schatten van het
eind van de reaktie door middel van HPLC. Het is aan te
raden een extra 10-15 ml chloroform-zoutzuur toe te voegen
tijdens het proces.

- 200 ml methyleen chloride worden toegevoegd aan het
- 35 reactiemengsel; het mengsel wordt driemaal behandeld met 200
ml 5% K₂CO₃ in waterige oplossing en vervolgens driemaal
gewassen met telkens 80 ml water. De organische oplossing
wordt overnacht met rust gelaten, gedroogd met watervrij

MgSO₄ of een ander conventioneel droogmiddel, droog gemaakt en de verkregen olie wordt met 200 ml tolueen gedurende 2 uur onder roeren behandeld. De olie wordt verzameld door afschenken en verdund in 50 ml methyleen chloride en 200 ml 5 tert-methyl-butyl ether en de oplossing die verkregen wordt wordt neergeslagen met 75 ml petroleum ether (40/60 fractie), waarbij de hoeveelheid ether (indien nodig) tot het punt van volledige neerslag wordt verhoogd. Het is aan te raden dat de petroleum ether langzaam toegevoegd wordt onder 10 hevig schudden. De verzamelde vaste stof, 7,2 g, wordt gezuiverd door de volgende procedure. 7,2 g van het voorgaand verkregen product worden opgelost in een fles welke 150 ml 96° ethanol en 200 ml aceton bevat; onder hevig roeren wordt 200 ml water langzaam druppelsgewijs toegevoegd 15 zodat de complete toevoeging van het water binnen 6-7 uur bereikt wordt. De gevormde neerslag wordt gedurende 2 uur geroerd, waarna de verkregen neerslag gefiltreerd en gewassen wordt met water en gedroogd in een 40-50°C oven, waardoor 6,5 g pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 16,17-(cyclohexylme- 20 thylidine)-bis(oxy)-6,9-difluor-11-hydroxy-21(2-methyl-1-oxo-propoxy)-(11β,16α) in een zuiverheid boven 99% verkregen wordt. De verhouding van R/S isomeren komt overeen met respectievelijk 1/99%.

Een overeenkomstig proces is dat, welke gevolgd is 25 voor de vorming van de verschillende acetalen van pregna-1,4-dieen-3,20-dion, 11,16,17,21-tetrahydroxy-(11β,16α), pregna-1,4-dieen-3,20-dion,6,9 difluor- 11, 16, 17, 21 - Tetrahydroxy - (6α, 11β, 16α) met valeraldehyde, cyclohexaan carbaldehyde, benzaldehyde, en isovaleraldehyde voor de 30 vorming van de 21-esters (22R,S)- (22S)- van de overeenkomstige verbindingen en het is mogelijk door preperatieve HPLC de afscheiding van (22R)- en (22S)- uit het mengsel te bereiken.

De structuur van de verbindingen en hun belangrijk- 35 ste spectroscopische eigenschappen zijn samengebracht in tabel II.

VOORBEELDEN VAN FARMACEUTISCHE PREPARATEN

De volgende en niet-limitatieve voorbeelden illustreren de formuleringen die bedoeld zijn voor verschillende lokale vormen van toediening. De hoeveelheid actief steroïde in de percutane formuleringen zijn gewoonlijk 0,001-0,2% (w/w) bij voorkeur 0,01-0,1% (w/w).

Formulering 1, zalf

10	Gemicroniseerd steroïde	0,025 g
	Vloeibaar paraffine	15 g
	Witte paraffine tot	100,0 g

Formulering 2, zalf

15		
	Steroïde	0,025 g
	Propyleen glycol	6,0 g
	Arlucel 83 (sorbitan sesquioleaat)	6,0 g
	Vloeibare paraffine	15,0 g
20	Witte paraffine tot	100,0 g

Formulering 3, O/W crème

	Steroïde	0,025 g
25	Cetyl alcohol	7,0 g
	Glyceryl monostearaat	4,0 g
	Zachte paraffine	15,0 g
	Polyglycol 1500	3,0 g
	Citroenzuur	0,1 g
30	Natrium citraat	0,2 g
	Propyleen glycol	20,0 g
	Water tot	100,0 g

Formulering 4, O/W crème

35		
	Gemicroniseerd steroïde	0,025 g
	Zachte paraffine	20,0 g
	Vloeibare paraffine	5,0 g

Cetyl alcohol	5,0	g
Tween 65	3,0	g
Span 60	1,0	g
Citroenzuur	0,1	g
5 Sorbinezuur	0,2	g
Natrium citraat	0,2	g
Water tot	100,0	g

Formulering 5, W/O crème

10

Steroïde	0,025	g
Zachte paraffine	35,0	g
Vloeibare paraffine	8,0	g
Arlacel 83	5,0	g
15 Sorbinezuur	0,2	g
Citroenzuur	0,1	g
Natrium citraat	0,2	g
Water tot	100,0	g

20 Formulering 6, lotion

Steroïde	0,025	g
Isopropanol	50,0	g
Carbopol 940	0,5	g
25 NaOH	q.s.	
Water tot	100,0	g

Formulering 7, Injecteerbare suspensie

30 Gemicroniseerd steroïde	0,05-10	mg
Natrium carboxymethylcellulose	7	mg
Natrium chloride	10	mg
Tween 80	0,5	mg
Benzyl alcohol	8	mg
35 Water voor injectie	1,0	ml

Formulering 8, Aerosol onder druk voor orale en nasale inhalatie

Gemicroniseerd steroïde	0,1%	w/w
Sorbiton trioleaat	0,7%	w/w
Trichloor-fluormethaan	24,8%	w/w
5 Dichloortetrafluormethaan	24,8%	w/w
Dichloordifluormethaan	49,6%	w/w

Formulering 9, oplossing voor atomizatie

10 Steroïde	7,0	mg
Propyleen glycol	5,0	g
Water tot	10,0	g

Formulering 10, poeder voor inhalatie

15 Een capsule gevuld met een mengsel van

Gemicroniseerd steroïde	0,1	g
Lactose	20	mg

20 Het poeder wordt geïnhaleerd door middel van een geschikte inrichting.

FARMACOLOGISCHE TESTS

25 Alle steroïden beschreven in deze uitvinding zijn farmacologische actieve verbindingen. De glucocorticoïde-activiteit van deze produkten werd bestudeerd in vergelijking met die van budesonide: pregna-1,4-dien-3,20-dion, 16,17-butylideenbis(oxy)-11-21-dihydroxy-(11 β ,16 α). De
30 farmacologische werking van de acetone triamcinolon acetone en flunisolide werd eveneens bestudeerd.

Anti-ontstekings-effecten van de verbindingen werden getest in de katoenpellet granuloma biotest voor identificatie van loodverbindingen. (Mei et al., Experimentia 6, 469,
35 1950). Mannelijke Wistar ratten, met een gewicht tussen 90-120 g werden gebruikt in een hoeveelheid van 10 dieren per groep, voorafgaand geïdentificeerd en ondergebracht in

individuele kooien. De dieren hadden vrije toegang tot voedsel en drank tijdens de tests.

Katoenpellets van precies 20 mg werden bereid, gesteriliseerd gedurende 2 uur bij 160°C gedrenkt in 50 μ l
5 oplossing van het produkt of met het oplosmiddel voor im-
plantatie en vervolgens werd vóór toediening het oplosmiddel
verdampt. De implantatie werd subcutaan uitgevoerd in de
okselzone van de dieren, welke vooraf verdoofd waren met
ether (rechter oksel pellet met produkt, linker oksel pellet
10 met oplosmiddel). Dieren waarin pellets zonder product
geïmplanteerd waren werden gebruikt als controle.

Het geneesmiddel werd aangebracht in alcoholoplos-
sing in vier doseringsniveau's. Wanneer de pellets eenmaal
geïmplanteerd waren werden de dieren onder normale groeicon-
15 dities gehouden, geïsoleerd gedurende 7 dagen en vervolgens
gewogen, waarna zij opgeofferd werden door ontbloeding.

De thymus en bijnieren werden uitgenomen en gewogen
in alle dieren en een fluormetrische bepaling van de corti-
sol plasma niveau's werd uitgevoerd. We beschouwen de varia-
20 tie in deze parameter als een indicatie van de systemische
glucocorticoïde activiteit van de produkten.

De lokale aktiviteit werd bepaald door het remmend
effect op het gewicht van de door een katoenpellet geïndu-
ceerde granuloma; de granuloma werden er uitgenomen en
25 gewogen (dat wil zeggen: het pellet en het bindweefsel dat
daarom heen zat; gedurende 24 uur in een 60°C oven gedroogd
en gewogen).

De resultaten zijn te zien in de tabellen IIIa en
IIIb.

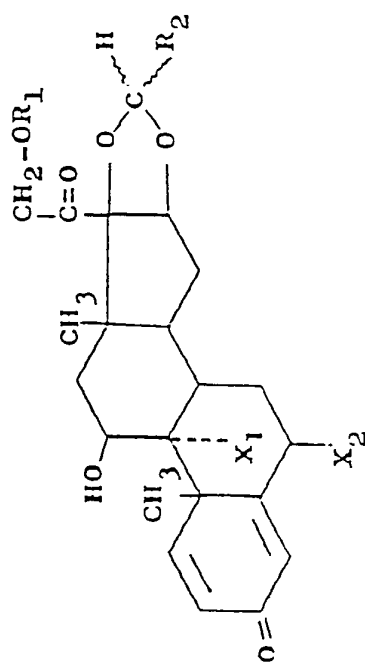
30 Anti-ontstekings ED_{50} (lokaal effect), thymus rem-
ming ED_{50} (systemisch effect), therapeutische index (syste-
mische ED_{50} /lokale ED_{50}) en de therapeutische index in ver-
houding tot budesonide (=1).

Alle ED_{50} waarden werden berekend uit de lineaire
35 regressie lijnen met de betrouwbaarheidslimieten.

De producten welke het onderwerp zijn van de onder-
havige uitvinding hebben in de uitgevoerde farmacologische
studies een laag systemisch effect getoond in verhouding tot

de gevonden lokale farmacologische aktiviteit. Het verschil wordt zelfs meer duidelijk wanneer de referentie produkten budesonide, flunisolide, en triamcinolon acetonide vergeleken worden; effectieve lokale farmacologische aktiviteit en 5 lage systemische glucocorticoïde respons worden gedemonstreerd.

TABEL II



VERBINDING	X ₁	X ₂	R ₁	R ₂	EPIMEREN	DELEN R-S	S	NMR * 18-CH ₃ ** δ (ppm)
5	H	H	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-R+S	40-60Z	60-40Z	
6	H	H	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-S	1- 0Z	98-99Z	0,96
7	H	H	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-R	99,9Z	0 Z	0,94
8	H	H	-COCH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	22-R+S	40-60Z	60-40Z	
9	H	H	-COCH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	22-S	1 Z	99 Z	0,97
10	H	H	-COCH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	22-R	99,9Z	0 Z	0,93
11	F	F	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-R+S	40-60Z	60-40Z	
12	F	F	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-S	0 Z	99-99,5Z	0,95
13	F	F	-COCH(CH ₃)CH ₃	-	22-R	99,9Z	0Z	0,93

* Oplossing bij 5% in Cl₃ CD ; ** = Ref. TMS

TABEL III

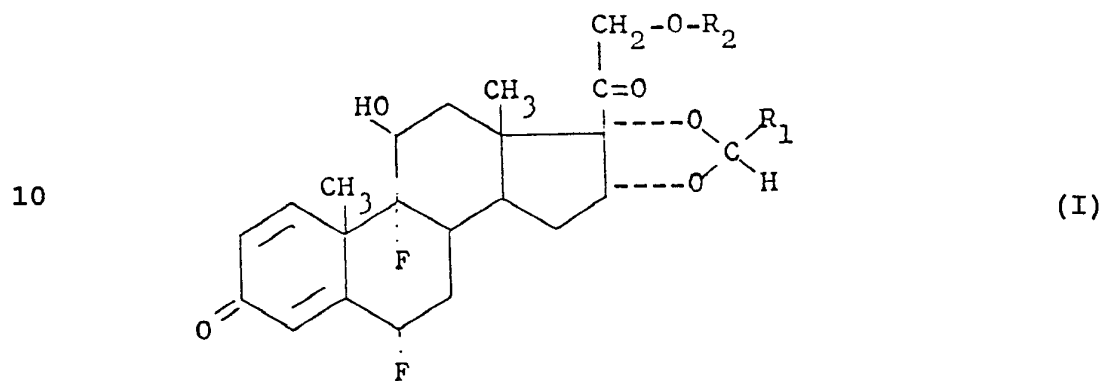
LOKALE FARMOCOLOGISCHE ACTIVITEIT EN SYSTEMISCHE GLUCOCORTICOIDE
EFFECTEN UITGEDRUKT ALS ED₅₀ µg/pellet

VERBINDING	EPIMEER	PLAATSELIJK ANTI- ONTSTEEKINGS ACTI- VITEIT (Katoen Pellet)	SYSTEMISCHE GLUCO- CORTICOIDE ACTIVI- TEIT (Thymus remming)	THERAP. INDEX SYST. ED ₅₀ / PLAATSEL. ED ₅₀	INDEX THERAP. INDEX M.B.T BUDESONIDE
7	22 R, S	21.7 (17-27.7)	614.7 (279.6-1351)	28.3	26
8	22 S	20.5 (16.9-25.6)	608 (359.3-1228.3)	29.6	27.2
9	22 R	25.4 (18.2-31.1)	667.1 (321.4-1489.2)	26.2	24.5
10	22 R, S	59.9 (59.3-60.3)	583.2 (236.2-1440)	9.7	8.9
11	22 S	43 (38.4-58)	555.3 (276.3-1387.3)	12.9	11.8
12	22 R	74.7 (85.3-65.1)	592.2 (265.1-1342.9)	7.9	7.2
13	22 R, S	4.5 (3.7-5.5)	54 (35-83.3)	12	11
14	22 S	3.6 (3-4.5)	49 (30.7-76.2)	13.6	15
15	22 R	5.2 (3.6-6)	56.3 (29.8-88.3)	10.8	9.9
BUDESONIDE	22 R, S	163.6 (125.1-213.9)	178.6 (81.3-392.6)	1.09	1
TRIANCINOLONE ACETONIDE	22 R, S	220.7 (198.1-245.7)	156.4 (144.7-169)	0.7	0.6
FLUNISOLIDE	22 R, S	351.6 (268.8-459.9)	156 (188.3-224.8)	0.44	0.4

CONCLUSIES

1. Verbindingen volgens de formule :

5

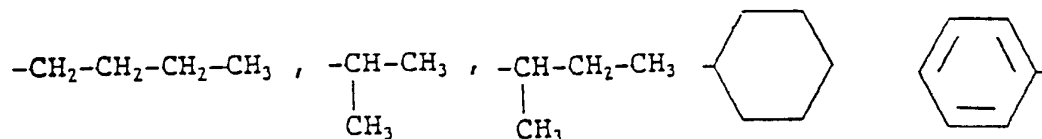


15

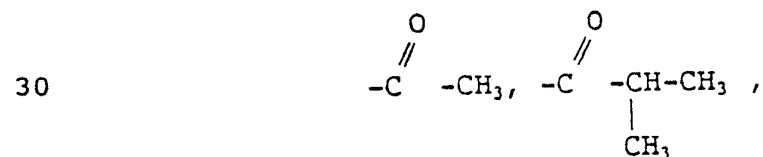
waarin :

 R_1 is gekozen uit de groep die bestaat uit :

20



25

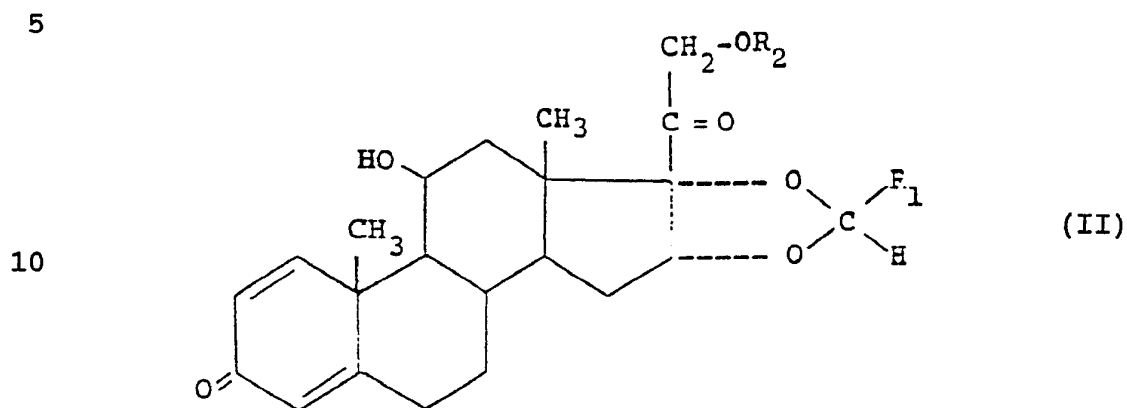
en R_2 is gekozen uit de groep die bestaat uit :

waarbij de verbindingen een stereoisomeer mengsel van R en S
 epimeren vormen met betrekking tot de oriëntatie van de
 35 substituenten aan het koolstofatoom op positie 22.

2. Verbindingen volgens conclusie 1, met het ken-
 merk, dat de verbindingen in de (22S)-configuratie verkeren.

3. Verbindingen volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat de verbindingen in de (22R)-configuratie verkeren.

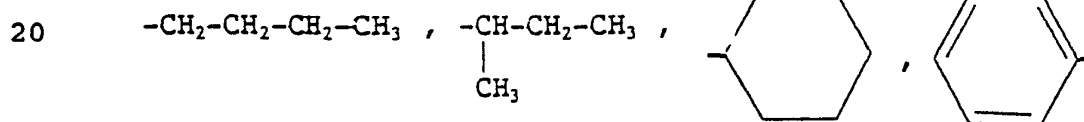
4. Verbindingen volgens de formule :



15

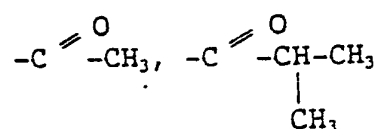
waarin :

R_1 is gekozen uit de groep die bestaat uit :



en R_2 is gekozen uit de groep die bestaat uit :

25



30

waarbij de verbindingen een stereoisomeer mengsel van R en S epimeren vormen met betrekking tot de oriëntatie van de substituenten aan het koolstofatoom op positie 22.

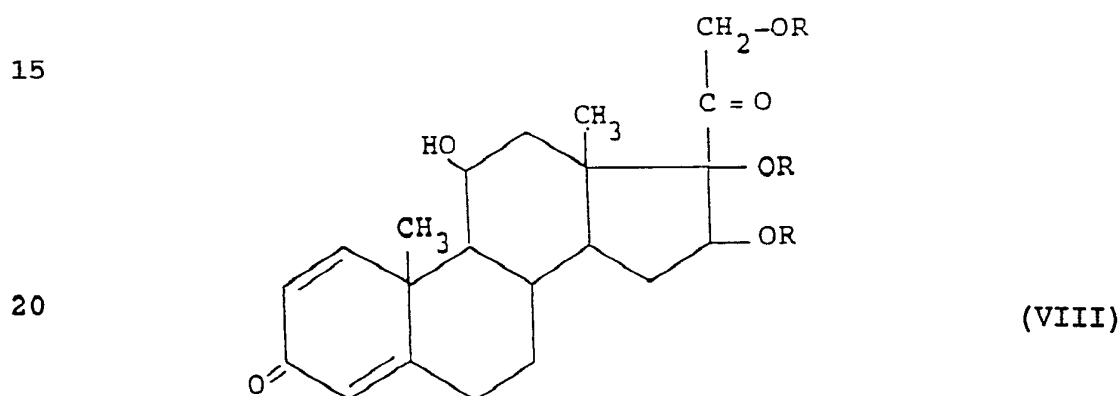
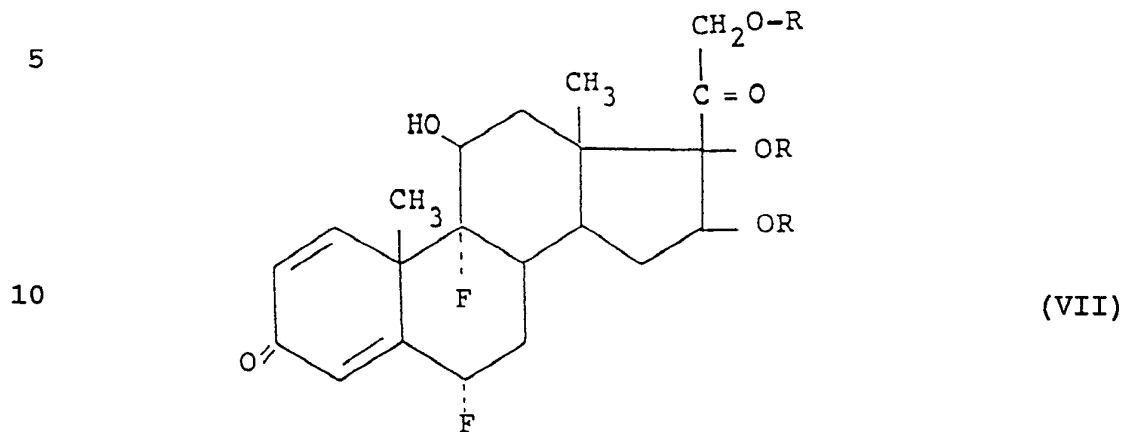
35

5. Verbindingen volgens conclusie 4, met het kenmerk, dat de verbindingen in de (22S)-configuratie verkeren.

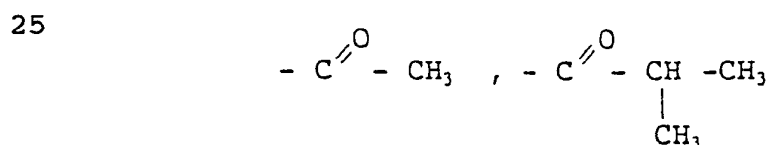
6. Verbindingen volgens conclusie 4, met het kenmerk, dat de verbindingen in de (22R)-configuratie verkeren.

7. Werkwijze voor de bereiding van verbindingen van formules I en II door :

a) hydrolyse van verbindingen van formules :



waarin R gekozen is uit de groep die bestaat uit :



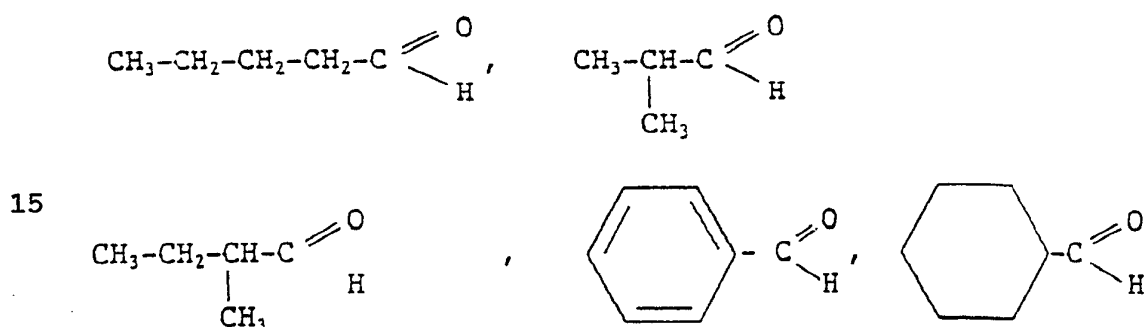
30 met zoutzuurgas, dat in een vooraf bepaalde hoeveelheid in een watervrij oplosmiddel is opgelost, voor het selectief hydrolyseren van de estergroepen op de posities C-16 en C-17; en

35 b) het laten reageren van de gehydrolyseerde verbindingen van de formules VII en VIII met een aldehyde voor het vormen van de overeenkomende C-16,C-17 acetalen.

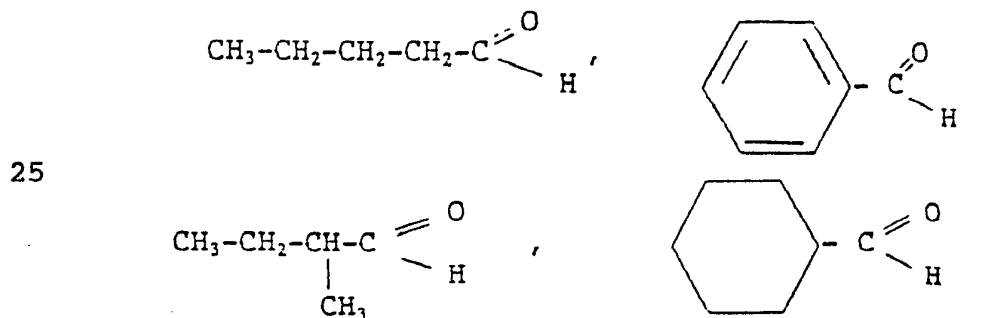
8. Werkwijze volgens conclusie 7, met het kenmerk, dat het watervrij oplosmiddel is gekozen uit de groep die bestaat uit dioxaan, methyleen chloride en chloroform.

9. Werkwijze volgens conclusie 7 of 8, met het kenmerk, dat het zoutzuurgas in het oplosmiddel is opgelost in een hoeveelheid van ongeveer 10 tot 15 gew.%.

10. Werkwijze volgens één der conclusies 7-9, met het kenmerk, dat voor de reactie van stap b) van verbindingen van formule VII een aldehyde wordt gekozen uit de groep 10 die bestaat uit :



en dat voor de reactie van stap b) van verbindingen van formule VIII een aldehyde wordt gekozen uit de groep die bestaat uit :

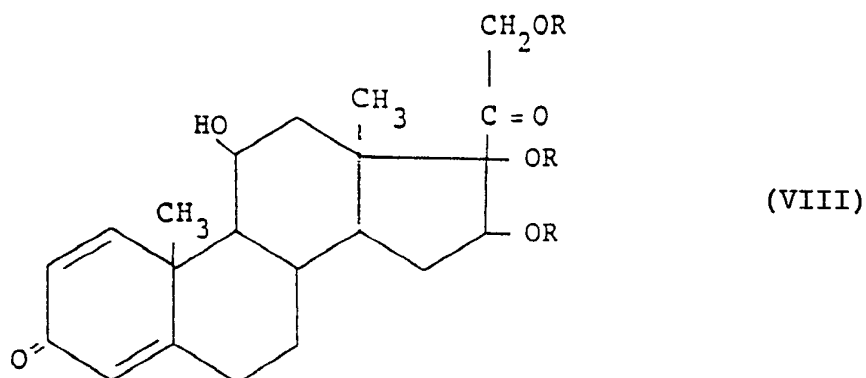
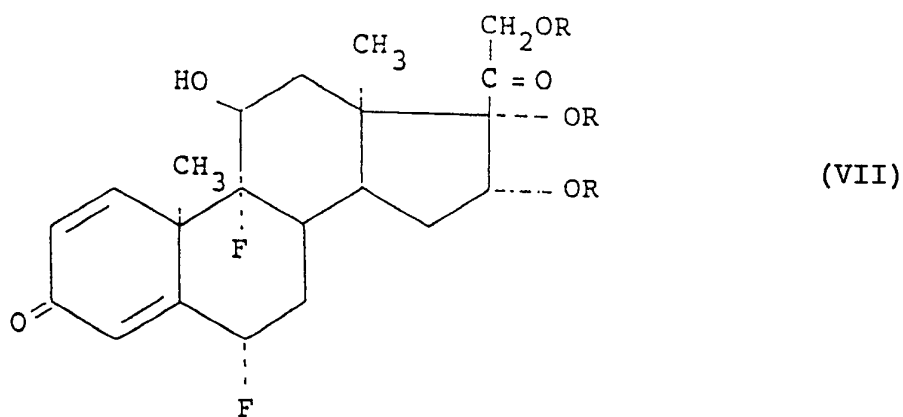


11. Werkwijze volgens één der conclusies 7-10, met het kenmerk, dat de werkwijze wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur in de aanwezigheid van perchloorzuur als katalysator, één en ander zodanig dat de (22R)- en (22S)-epimeren gevormd worden in een verhouding van ongeveer 40% tot 60%.

12. Werkwijze volgens één der conclusies 7-10, met het kenmerk, dat de werkwijze wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur met *p*-tolueensulfonzuur als katalysator, één en ander zodanig dat in hoofdzaak de (22S)-epimeer gevormd wordt.

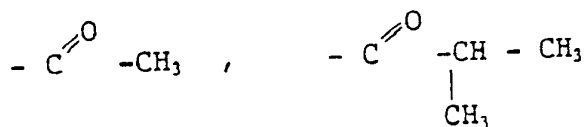
13. Werkwijze volgens één der conclusies 7-12, **met het kenmerk**, dat de verkregen verbindingen gezuiverd worden door het oplossen van het ruwe produkt in een 5/3 (v/v) ethanol/aceton mengsel in een verhouding van 5 g produkt op 5 80 ml ethanol/aceton mengsel, en het rekristalliseren van de verbindingen met 80 ml water, dat gedurende ongeveer 6 uur onder hevig roeren worden toegevoegd.

14. Intermediaire verbindingen voor de bereiding van verbindingen van formules I en II, **gekenmerkt** door de formule 10 les :



25

30 waarin R gekozen is uit een groep die bestaat uit :



15. Farmaceutisch preparaat met lokale glucocorticoïde activiteit, **met het kenmerk**, dat het als actief be-

standdeel tenminste één verbinding van formule I of formule II of een farmaceutisch acceptabel zout daarvan bevat.

16. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 15, met het kenmerk, dat het als actief bestanddeel het stereo-isomeer mengsel van tenminste één verbinding van formule I of formule II bevat.

17. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 15, met het kenmerk, dat het als actief bestanddeel de (22S)-epimeer van formule I of formule II bevat.

10 18. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 15, met het kenmerk, dat het als actief bestanddeel de (22R)-epimeer van formule I of formule II bevat.

15 19. Toepassing van verbindingen van formules I en II voor de bereiding van een farmaceutisch preparaat met lokale glucocorticoïde activiteit.

SAMENWERKINGSVERDRAG INZAKE OCTROOIEN

Verslag betreffende het onderzoek van het internationale type
opgesteld krachtens artikel 21 § 9 van de Belgische wet op de
uitvindingsoctrooien van 28 maart 1984

IDENTIFIKATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE		KENMERK VAN DE AANVRAGER OF GEMACHTIGDE L PS/GT/1	
Belgische nationale aanvraag nr. 09100816		Datum van indiening 2 september 1991	
		Ingeroepen voorrangsdatum	
Aanvrager (Naam) ELMU, S.A.			
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type 19 februari 1992		Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. SN 19476 BE	
I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)			
Volgens de internationale octrooi classificatie (CIB) of terzelfdertijd volgens de nationale classificatie en de CIB Int.Cl. ⁵ : C 07 J 71/00, C 07 J 5/00, A 61 K 31/58			
II. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK			
Onderzochte minimum documentatie			
Classificatiesysteem	Classificatiesymbolen		
Int.Cl. ⁵ :	C 07 J, A 61 K		
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen			
III. ☐ MEN IS VAN OORDEEL DAT BEPAALDE CONCLUSIES NIET HET ONDERWERP KONDEN UITMAKEN VAN EEN ONDERZOEK (Opmerkingen op aanvullingsblad)			
IV. ☐ GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING EN/OF VASTSTELLING BETREFFENDE DE OMVANG VAN HET ONDERZOEK (Opmerkingen op aanvullingsblad)			

V. VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR		
° Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of tekeningen.	Van belang voor conclusie(s) Nr.
X	ACTA PHARMACEUTICA SUECICA deel 21, nr. 2, 1984, STOCKHOLM bladzijden 109 - 124 A. THALEN ET AL 'Synthesis and Pharmacological Properties of Some 16.alpha.,17.alpha.-Acetals of 16.alpha.-Hydroxyhydrocortisone, 16.alpha.-Hydroxyprednisolone and Fluorinated 16.alpha.-Hydroxyprednisolones' zie bladzijde 113; voorbeelden 28-38,45-46 zie bladzijde 115 - bladzijde 116; tabellen 3,4 ---	1,4, 15-20
X	DE,A,2 448 548 (LARK S.P.A.) 27 November 1975 zie voorbeeld 7 ---	1,4, 15-20
A	DE,A,2 649 097 (S.I.R.S. INC., RHO.) 12 Mei 1977 zie bladzijde 44 ---	1,4, 15-20
A	CH,A,608 244 (PIERREL S.P.A.) 29 December 1978 zie voorbeeld 16 ---	1,4, 15-20
A	DE,A,3 012 888 (SCHERING A.G.) 8 Oktober 1981 zie het gehele document ---	1,4, 15-20
A	GB,A,1 504 294 (GAETANO PALLADINO) 15 Maart 1978 zie bladzijde 4; voorbeeld 17 --- -/--	1,4, 15-20

° Categorie van de vermelde literatuur

A : achtergrond van de stand van de techniek

E : eerdere octrooiaanvragen

L : om andere redenen vermelde literatuur

O : verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek

P : literatuur gepubliceerd tussen voorrrangs en indieningsdatum

T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding

X : op zichzelf van bijzonder belang

Y : van bijzonder belang in samenhang met andere literatuur

Δ : lid van dezelfde octroofamilie

VL. VERKLARING

Datum waarop het onderzoek van internationaal type werd voltooid

21 JULI 1993

Verzenddatum van het rapport van het onderzoek van internationaal type

EUROPEES OCTROOIBUREAU

Ondertekening door de bevoegde ambtenaar

WATCHORN P.W.

V. VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR		
o Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of tekeningen.	Van belang voor conclusie(s) Nr.
A	ACTA PHARMACEUTICA SUECICA deel 19, nr. 5, 1982, STOCKHOLM bladzijden 327 - 354 A. THALEN 'Epimers of Budesonide and Related Corticosteroids. Structure Elucidation by Mass-Spectrometry' zie bladzijde 329; voorbeelden X,XIV -----	1

ONVOLLEDIG ONDERZOEK

De onderzoeksafdeling meent dat artikel 6(4) van de Werkovereenkomst tussen het OEB en de Belgische Staat van toepassing is op onderhavige Belgische octrooiaanvraag, zodat een betekenisvol onderzoek betreffende de stand van de techniek niet kan uitgevoerd worden met betrekking tot een deel van de conclusies.

Conclusies die het onderwerp hebben uitgemaakt van een volledig onderzoek : 1-19

Conclusie die het onderwerp heeft uitgemaakt van een onvolledig onderzoek : 20

Reden voor beperking van het onderzoek :

Hoewel de conclusie 20 een werkwijze voor het behandelen van het menselijke/dierlijke lichaam betreft, is de recherche uitgevoerd, gebaseerd op de vermeende werking van de verbindingen.

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAL TYPE,
UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR.**

BE 9100816
SN 19476

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad
gegarandeerd, de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

21/07/93

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
DE-A-2448548	27-11-75	GB-A- 1469575 JP-C- 1011666 JP-A- 50149661 JP-B- 54008675 NL-A- 7412537	06-04-77 29-08-80 29-11-75 17-04-79 19-11-75
DE-A-2649097	12-05-77	US-A- 4036831 AU-A- 1903676 BE-A- 847705 JP-A- 53005149 NL-A- 7611970	19-07-77 04-05-78 27-04-77 18-01-78 02-05-77
CH-A-608244	29-12-78	GB-A- 1499822 AT-B- 359212 AU-B- 499811 AU-A- 7842975 BE-A- 826030 CA-A- 1064476 CH-A- 608243 DE-A, B, C 2508136 DE-A, B, C 2533323 DE-A, B, C 2533377 FR-A, B 2261776 JP-C- 1073137 JP-A- 50126652 JP-B- 56014677 JP-A- 56073098 JP-B- 58042198 JP-A- 58077898 JP-A- 58077900 LU-A- 71908 NL-A- 7502252 SE-B- 410736 SE-A- 7502146 US-A- 4272446 FR-A, B 2291760 FR-A, B 2291761	01-02-78 27-10-80 03-05-79 26-08-76 16-06-75 16-10-79 29-12-78 30-10-75 12-02-76 05-02-76 19-09-75 30-11-81 04-10-75 06-04-81 17-06-81 17-09-83 11-05-83 11-05-83 24-06-75 29-08-75 29-10-79 28-08-75 09-06-81 18-06-76 18-06-76
DE-A-3012888	08-10-81	Geen	

BE 9100816
SN 19476

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per de juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd, de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

Blad	2
------	---

EPO FORM PC-480