PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/12989
C07J 9/00, 51/00, A61K 31/56	A1	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 6. August 1992 (06.08.92)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH91/00221

(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Oktober 1991 (25.10.91)

(30) Prioritätsdaten:
257/91-7 28. Januar 1991 (28.01.91) CH

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US):* MARIGEN S.A. [CH/CH]; Hackbergstrasse 40, CH-4125 Riehen (CH).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US) :* EUGSTER, Carl [CH/CH]; Hackbergstrasse 40, CH-4125 Riehen (CH). EUGSTER, Conrad, Hans [CH/CH]; Herrengütlistrasse 18, CH-8304 Wallisellen (CH). HALDEMANN, Walter [CH/CH]; Zeigerweg 23, CH-4102 Binningen (CH). RIVARA, Giorgio [IT/IT]; Ospedale Maggiore San Giovanni Battista, Le Molinette, Corso Bramante, 88, I-10126 Torino (IT).

(74) Gemeinsamer Vertreter: HALDEMANN, Walter; Zeigerweg 23, CH-4102 Binningen (CH).

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), SU, US.

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Mit geänderten Ansprüchen.

(54) Title: NEW STEROL ESTERS AND STEROL PHOSPHORUS COMPOUNDS

(54) Bezeichnung: NEUE STEROLESTER UND STEROLPHOSPHORVERBINDUNGEN

(57) Abstract

Described are new sterol esters and sterol phosphorus compounds with an anti-tumour action, methods of preparing them and of preparing spontaneously dispersible agents, as well as methods of developing therapeutic preparations containing these agents.

(57) Zusammenfassung

Es werden neue Sterolester und Sterolphosphorverbindungen mit antitumoraler Wirkung, Verfahren zu ihrer Herstellung und zur Bildung von spontan dispergierbaren Mitteln, sowie Methoden zur Entwicklung von therapeutischen Systempräparaten mit diesen Mitteln beschrieben.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	**FI**	Finnland	**MN**	Mongolei
AU	Australien	**FR**	Frankreich	**MR**	Mauritanien
BB	Barbados	**GA**	Gabon	**MW**	Malawi
BE	Belgien	**GB**	Vereinigtes Königreich	**NL**	Niederlande
BF	Burkina Faso	**GN**	Guinea	**NO**	Norwegen
BG	Bulgarien	**GR**	Griechenland	**PL**	Polen
BJ	Benin	**HU**	Ungarn	**RO**	Rumänien
BR	Brasilien	**IE**	Irland	**RU**	Russische Föderation
CA	Kanada	**IT**	Italien	**SD**	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	**JP**	Japan	**SE**	Schweden
CG	Kongo	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**SN**	Senegal
CH	Schweiz	**KR**	Republik Korea	**SU**	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	**LI**	Liechtenstein	**TD**	Tschad
CM	Kamerun	**LK**	Sri Lanka	**TG**	Togo
CS	Tschechoslowakei	**LU**	Luxemburg	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	**MC**	Monaco		
DK	Dänemark	**MG**	Madagaskar		
ES	Spanien	**ML**	Mali		

Neue Sterolester und Sterolphosphorverbindungen

E I N L E I T U N G

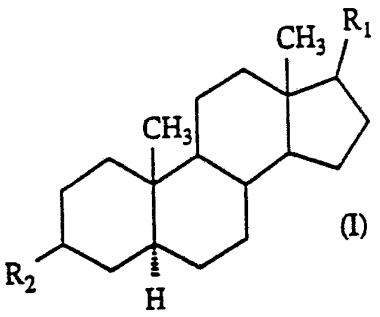
Die vorliegende Erfindung betrifft neue Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphonate, Verfahren zu ihrer Herstellung, spontan dispergierbare Mittel mit diesen Estern, Phosphatiden und Phosphonaten, sowie ihre Verwendung zur Behandlung von Tumoren.

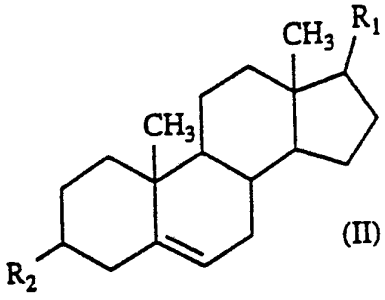
In der CH-Patentschrift No. 678276-0 werden die aus den Extrakten der Samen der Sonnenblume (Helianthus annuus L.) und gewisser Kürbisarten (Cucurbita pepo L. und Cucurbita maxima Duch.) gewonnenen Sterole, deren Glucoside und deren Fettsäureester, wie auch die mit diesen Verbindungen hergestellten, spontan dispergierbaren Mittel und überdies ihre Verwendung zur Bekämpfung von Tumoren beschrieben.

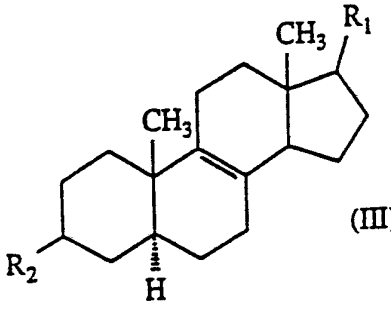
Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass die neu synthetisierten Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphorsäure-diester ebenfalls eine überragende antitumorale Wirkung aufweisen, insbesondere dann, wenn diese Verbindungen in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

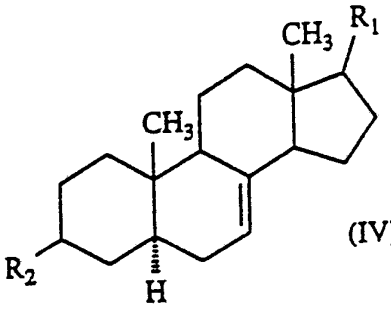
BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

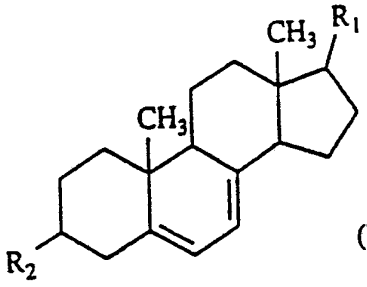
Die neuen Sterolester und Sterolphosphorverbindungen entsprechen den allgemeinen Formeln (I) bis (XV)

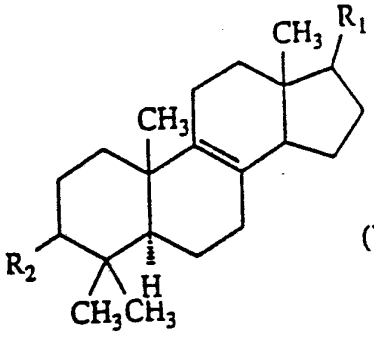

(I)

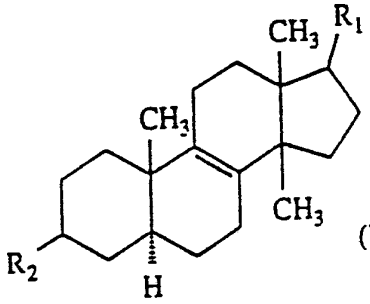

(II)

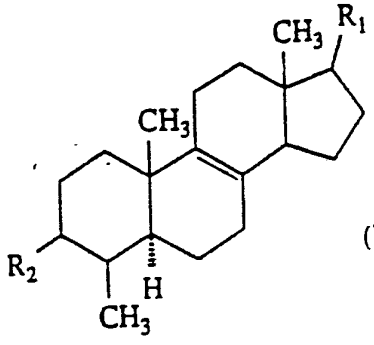

(III)

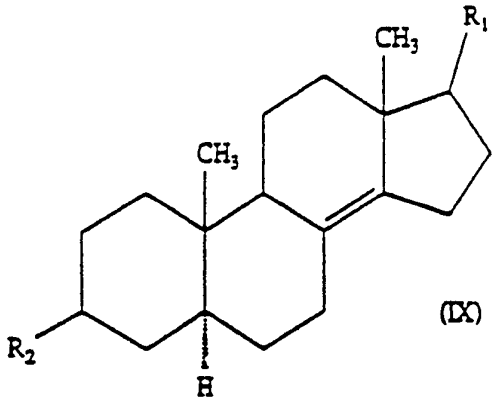

(IV)


(V)

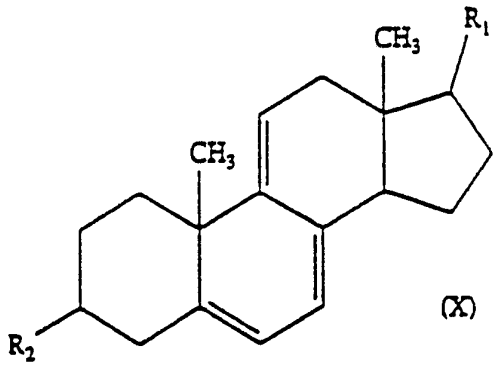

(VI)


(VII)

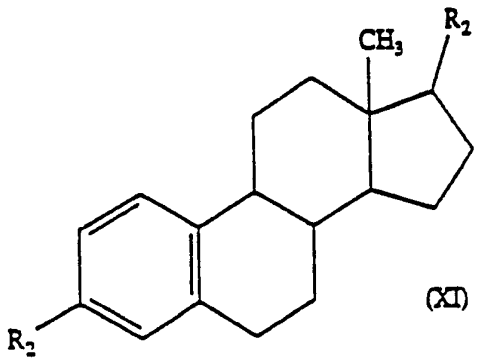

(VIII)



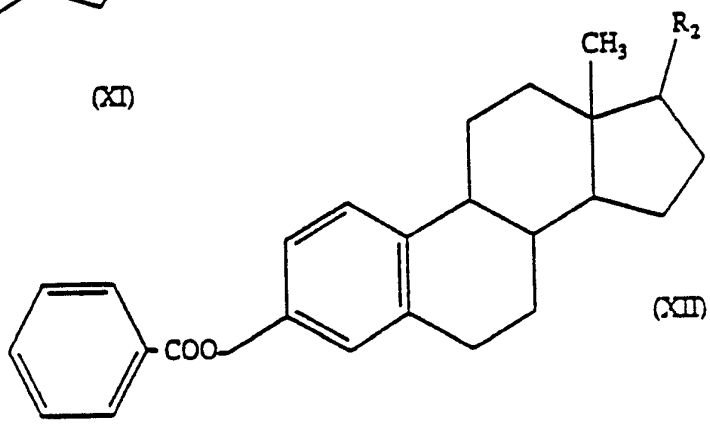
(IX)



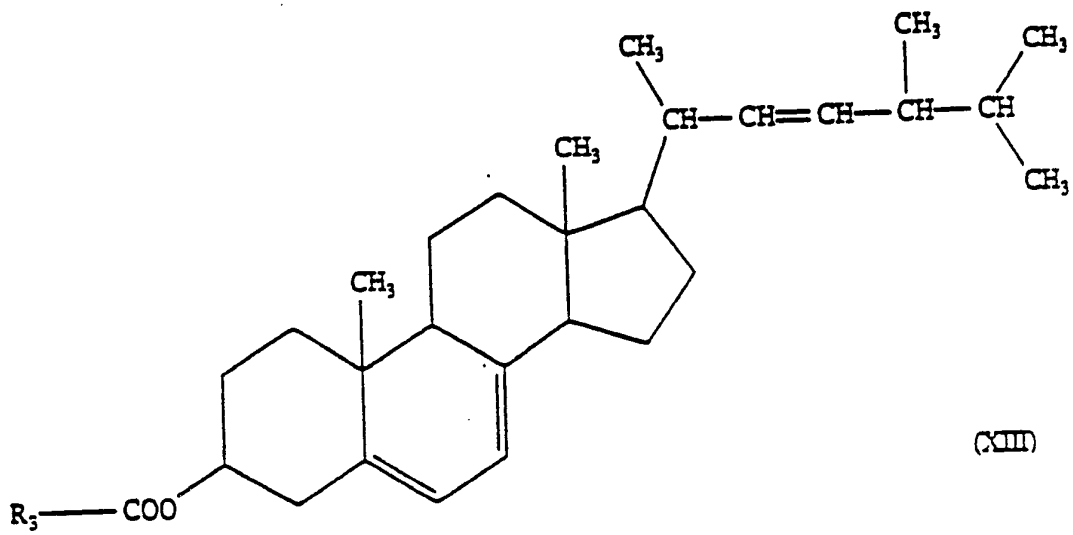
(X)



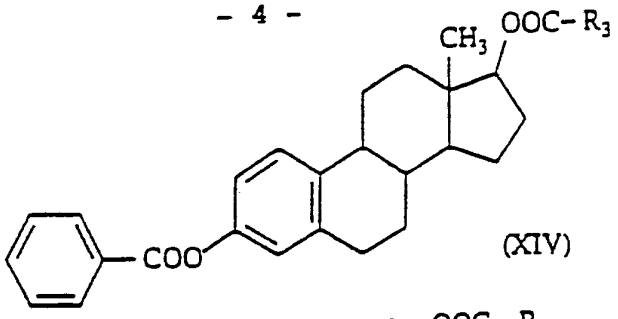
(XI)



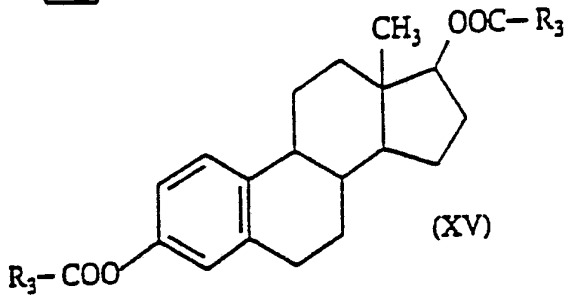
(XII)



(XIII)

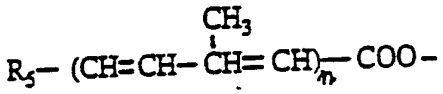


(XIV)

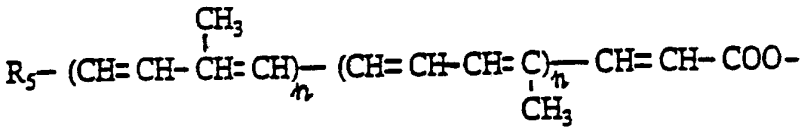


(XV)

wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal R_1 eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe und das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) und (XVII) ist:

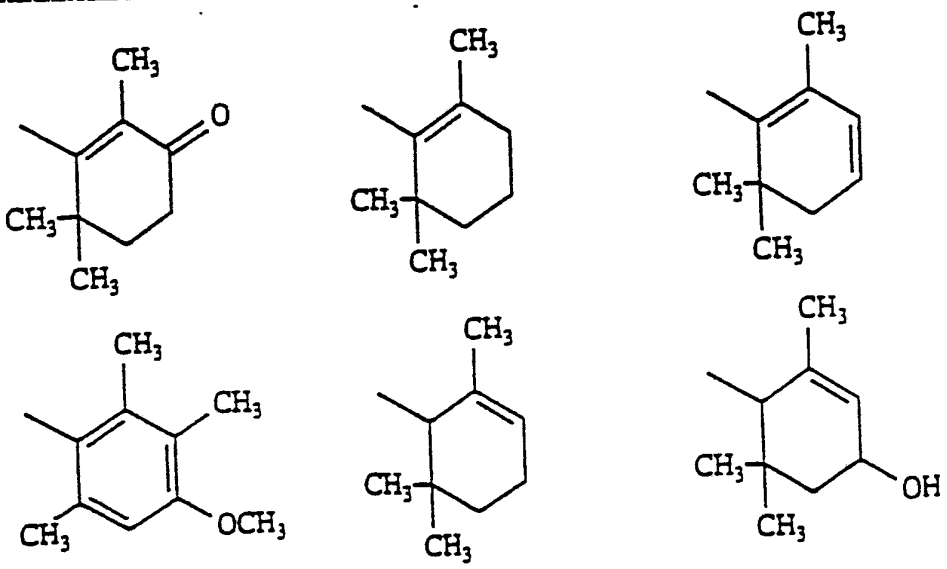


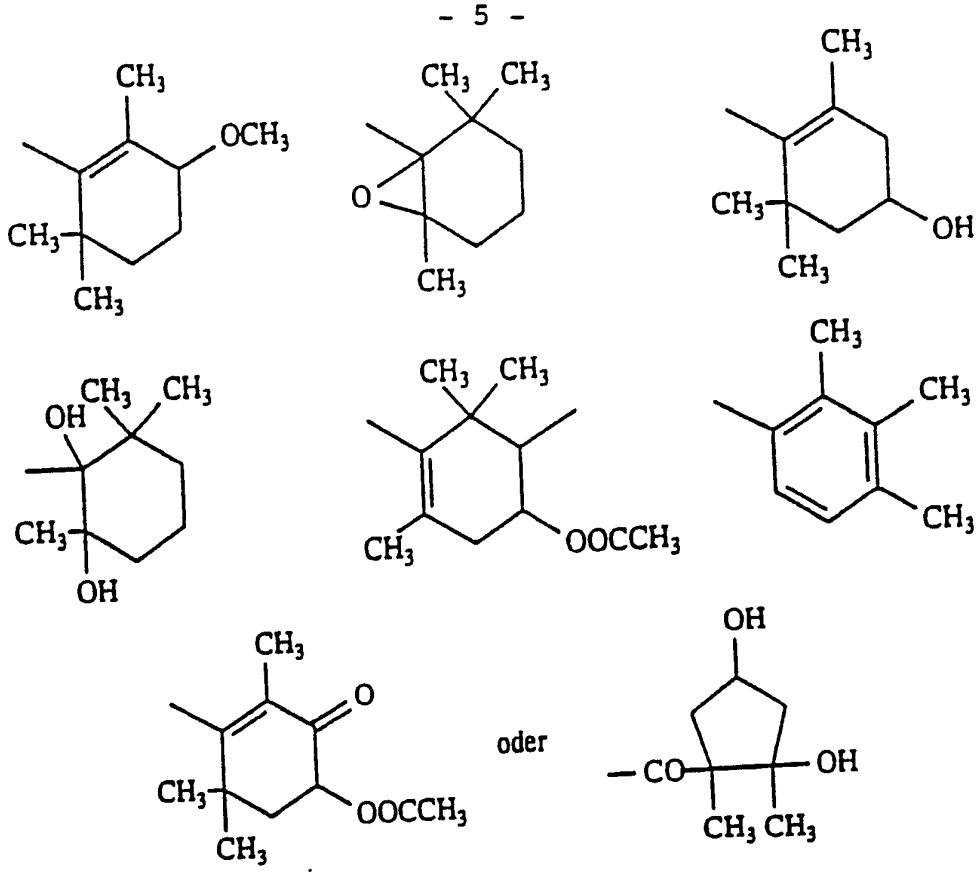
(XVI)



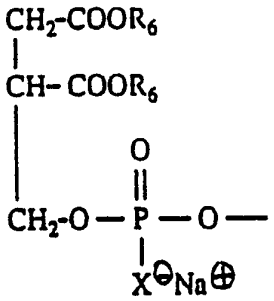
(XVII)

worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bezeichnet und R_5 für die Radikale der Formeln

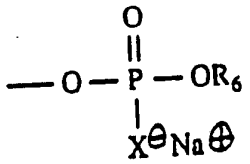




steht oder aber die Gruppe gemäss Formeln (XVIII) oder (XIX) darstellt:



(XVIII)



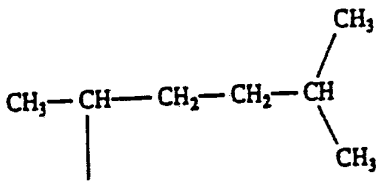
(XIX)

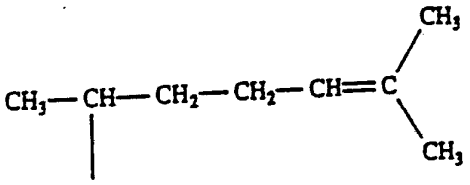
in welchen R_6 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4 bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4 bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkahexaene oder Alkaheptaene) steht.

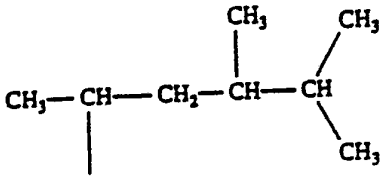
Die Seitenketten bei R_1, R_3 und R_4 können geradkettig

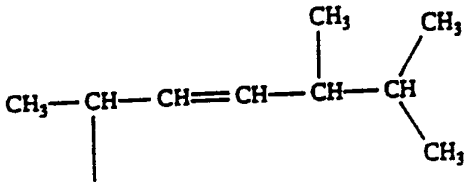
oder verzweigt sein. Bei R_1 haben die Alkyl- und die Alkenylgruppen vorzugsweise 8 bis 10 Kohlenstoffatome.

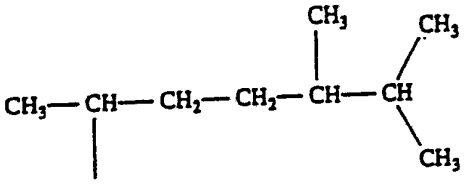
Beispiele solcher Alkyl- oder Alkenyl-Gruppen sind u.a.:

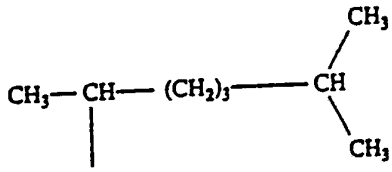


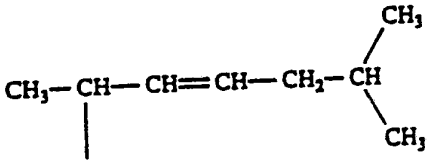


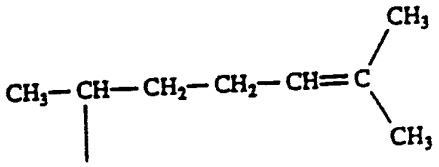


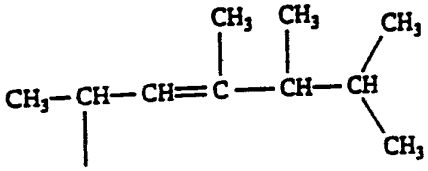


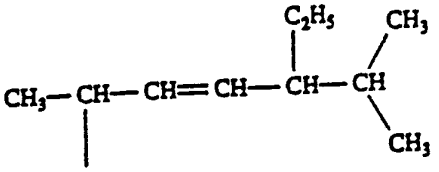


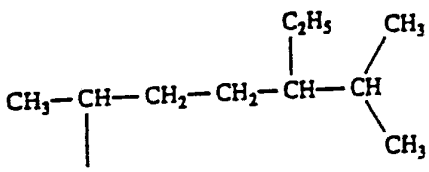


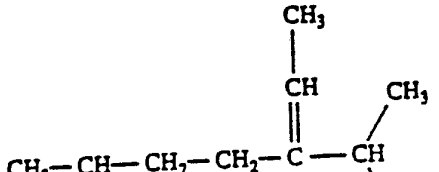


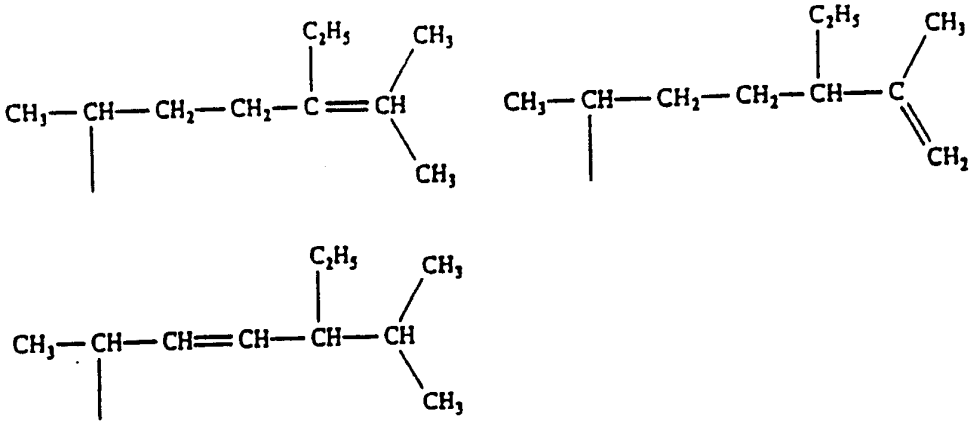






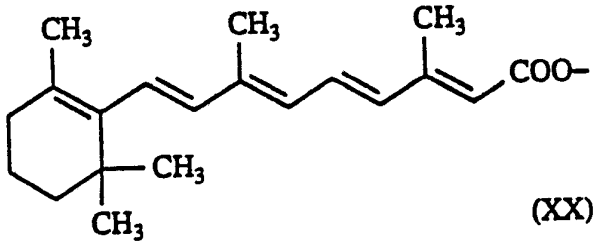




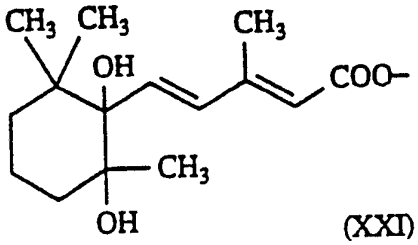


Bei R_3 und R_4 haben die Alkyl- und Alkenyl-/Alkapolyengruppen (mit 1 - 7 Doppelbindungen) vorzugsweise 4 bis 22 Kohlenstoffatome. Besonders bevorzugt sind bei R_3 und R_4 Alkyl- und Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppen mit 10 bis 20 Kohlenstoffatomen.

Wichtige Gruppen der Formeln (XVI) und (XVII) sind gekennzeichnet durch die Formeln (XX) oder (XXI):

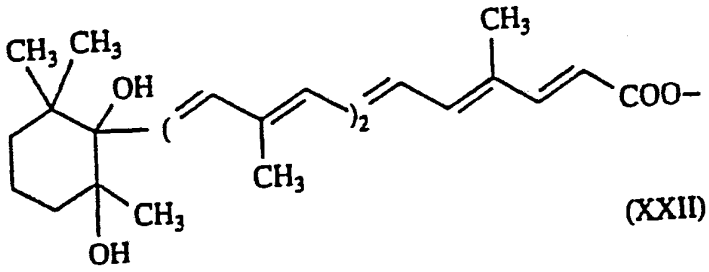


(XX)



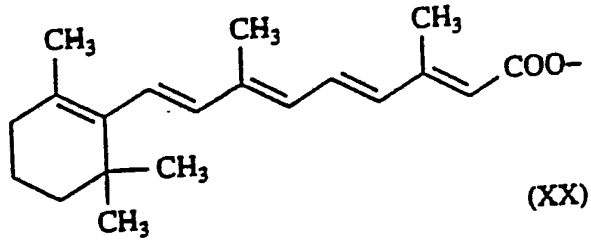
(XXI)

Die Gruppe der Formel (XX) liegt in verschiedenen stereoisomeren Formen, so z.B. als all-trans, als 9-cis oder als 13-cis-Form vor. Die wichtigste Gruppe der Formel (XVII) ist gekennzeichnet durch die Formel (XXII)



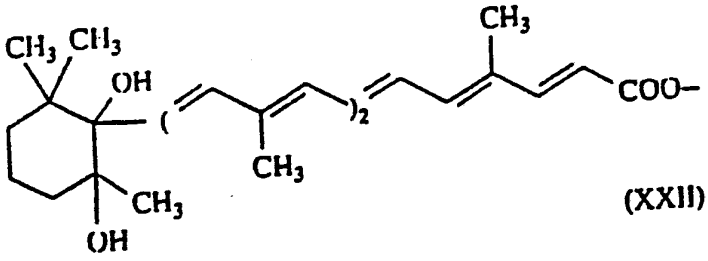
(XXII)

Von besonderer Bedeutung sind Verbindungen der Formeln (I) bis (XV), wobei ergänzend festgestellt sei, dass in den Formeln (I) bis (XII) das Radikal R_1 eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe und das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) eine Verbindung der Formel (XX) ist:



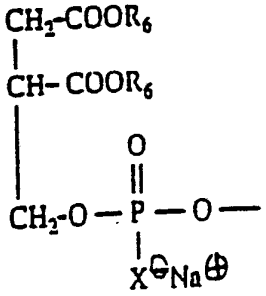
(XX)

oder die Verbindung (XXII) bezeichnet:



(XXII)

oder aber die Gruppe gemäss Formel (XVIII) darstellt:



(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe oder eine Phosphorgruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4- bis C_{32}-Alkyl- oder für eine C_4- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

Beispiele von erfindungsgemässen neuen Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) und von neuen Sterolphosphorverbindungen sind u.a.:

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-all-trans-retinat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-13-cis-retinat
Cholest-5-en-3-ol-all-trans-retinat
Cholest-5-en-13-cis-retinat

Stigmast-5-en-3-ol-all-trans-retinat
(β-Sitosterol-all-trans-retinat)
Stigmast-5-en-3-ol-13-cis-retinat
(β-Sitosterol-13-cis-retinat)
Stigmast-5-en-3-ol-azafrinat
Stigmasta-5,22-dien-3-ol-all-trans-retinat
(Stigmasterol-all-trans-retinat)
Stigmasta-5,22-dien-3-ol-13-cis-retinat
(Stigmasterol-13-cis-retinat)
Stigmasta-5,22-dien-3-ol-arachidonat
Stigmasta-5,22-dien-3-ol-azafrinat

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid
Stigmasta-5,22-dien-3-ol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thio-phosphatid
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-1,2-diundecenoyl-glycero-phosphatid
Cholest-5-en-3-ol-1,2-diundecenoyl-glycero-phosphatid

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-crotonat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-caproylat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-undecenoat

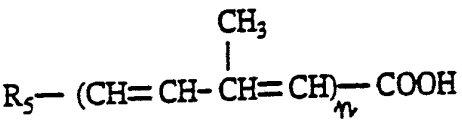
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-dodecenoat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-oleat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-linoleat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-linolenat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-arachidonat
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-azafrinat

β-Oestradiol-3,17-diundecenoat
β-Oestradiol-3,17-dioleat
β-Oestradiol-3,17-diretinat
β-Oestradiol-3-benzoat-17-undecenoat
β-Oestradiol-3-benzoat-17-retinat

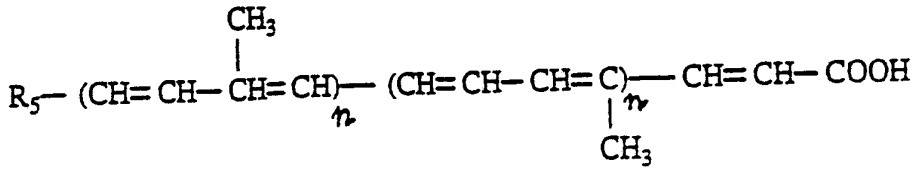
Ergosterol-3-retinyl-phosphonat
Ergosterol-3-geranyl-phosphonat
Ergosterol-3-farnesyl-phosphonat
Ergosterol-3-geranyl-phosphothioat
Ergosterol-3-farnesyl-phosphothioat

Die Sterolester, wie auch die Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XV) lassen sich allgemein nach folgenden, an sich bekannnten Verfahren herstellen:

a) Umsetzung einer Verbindung der Formel (XXIII) und (XXIV):

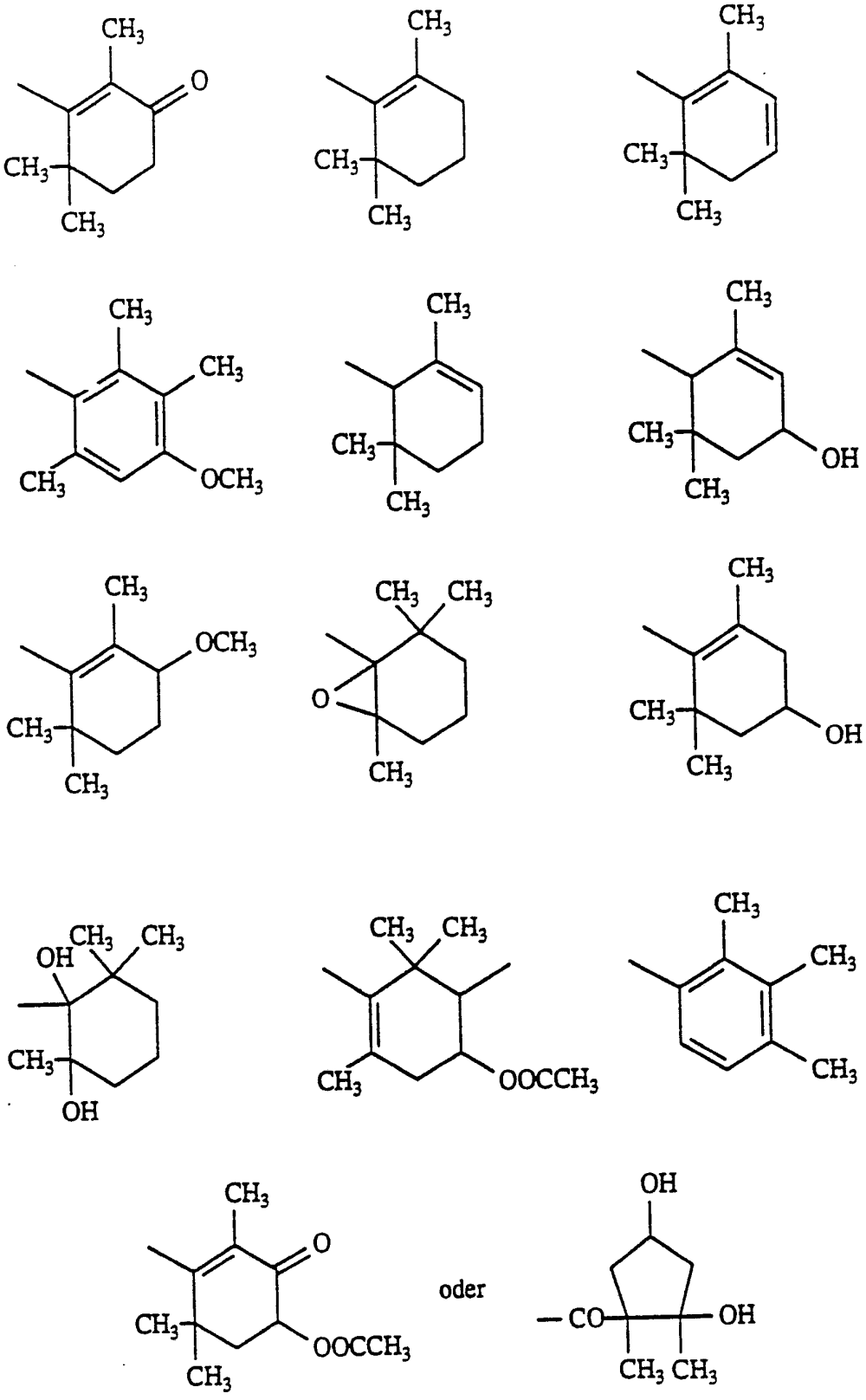


(XXIII)



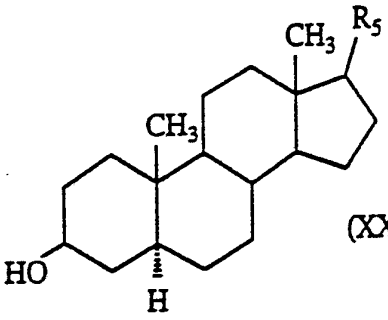
(XXIV)

worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und R_5 für die Radikale der folgenden Formeln:

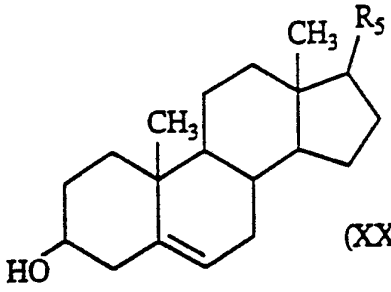


steht, mit N,N'-Carbonyl-diimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem

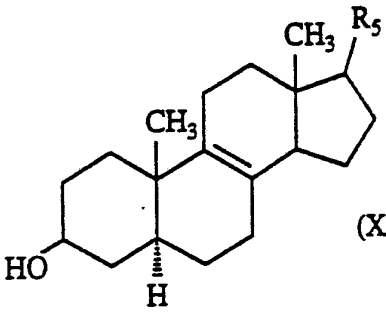
indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Benzol, Chloroform oder Dimethylformamid und anschliessender Alkoholyse der gebildeten Imidazolide mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) :



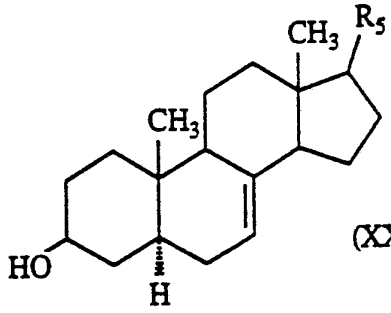
(XXV)



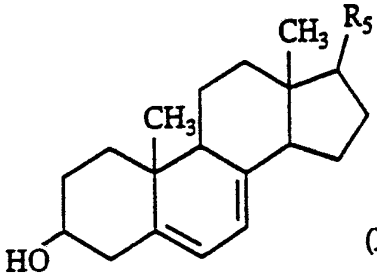
(XXVI)



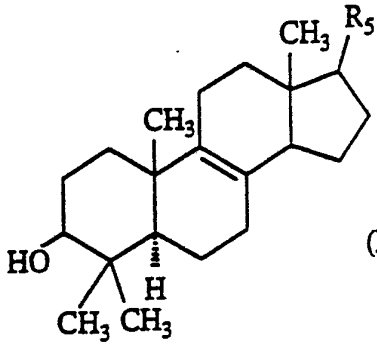
(XXVII)



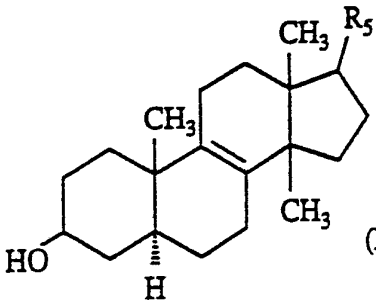
(XXVIII)



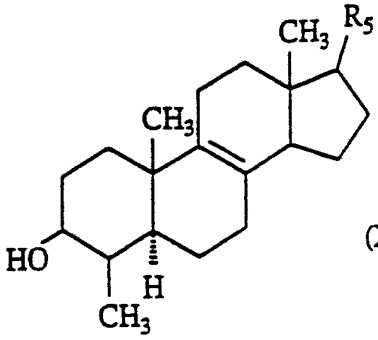
(XXIX)



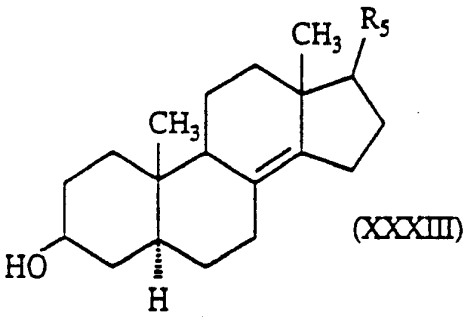
(XXX)



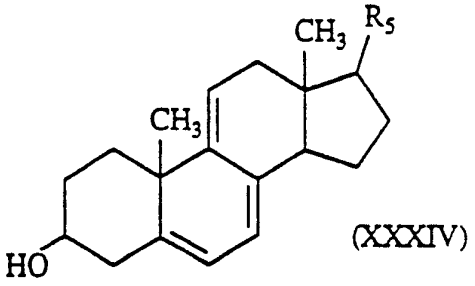
(XXXI)



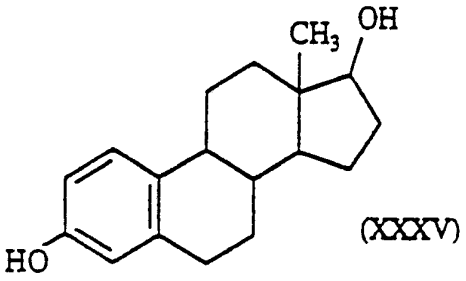
(XXXII)



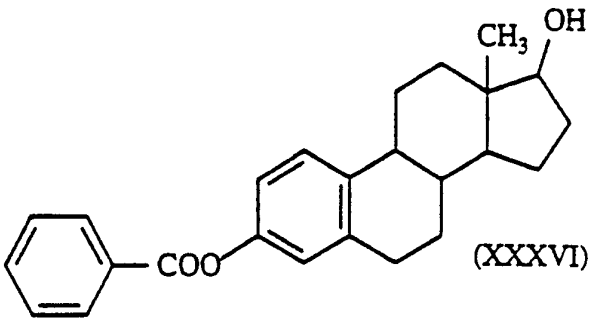
(XXXIII)



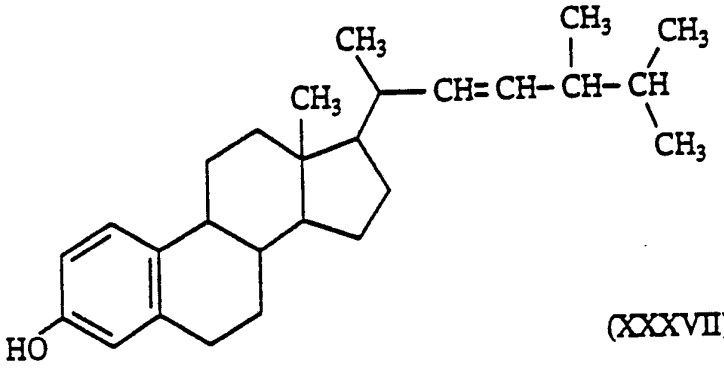
(XXXIV)



(XXXV)



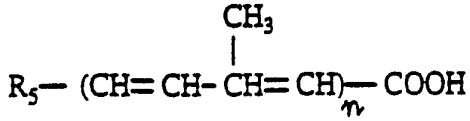
(XXXVI)



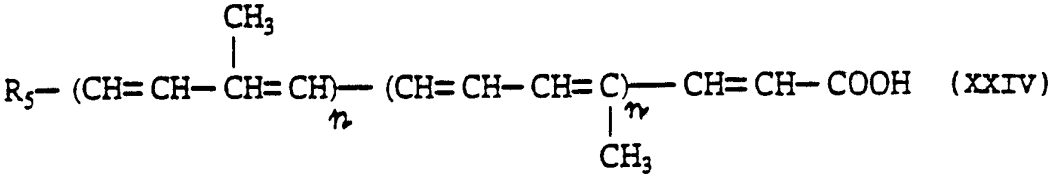
(XXXVII)

worin das Radikal R_5 für eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe steht.

b) Bildung des Chlorides, bzw. des Bromides einer Verbindung der Formeln (XXIII) oder (XXIV) :

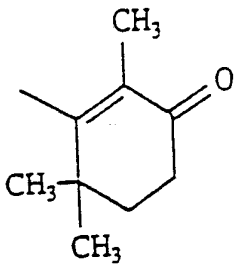


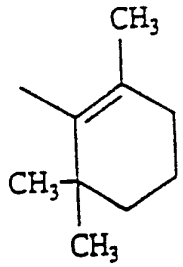
(XXIII)

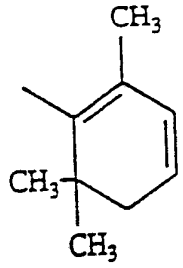


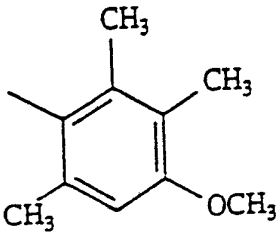
(XXIV)

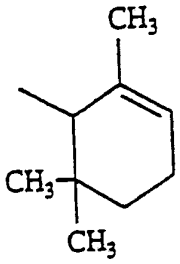
worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und R_5 für die Radikale mit folgenden Formeln steht:

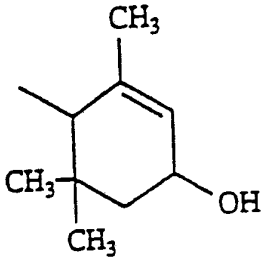


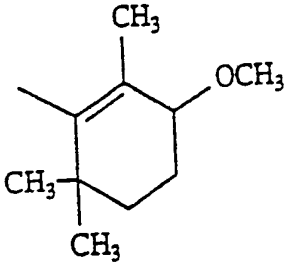


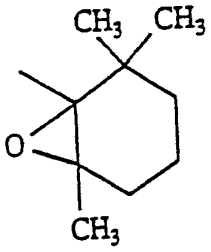


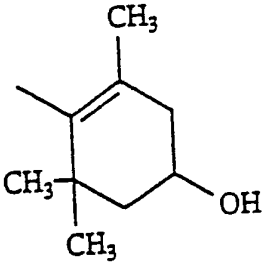


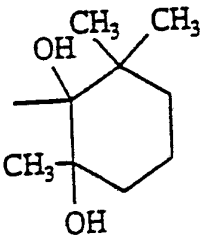


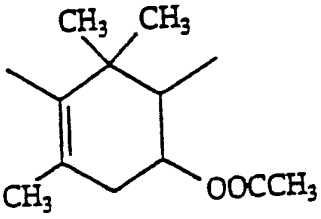


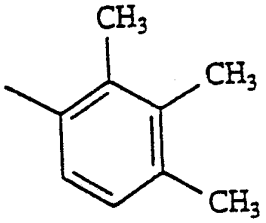


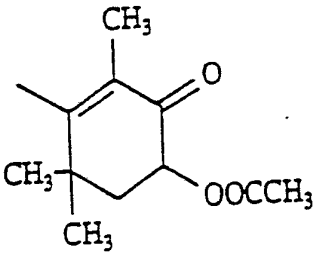




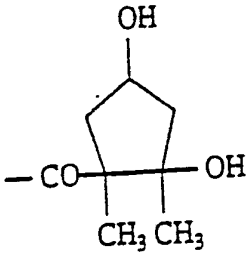








oder

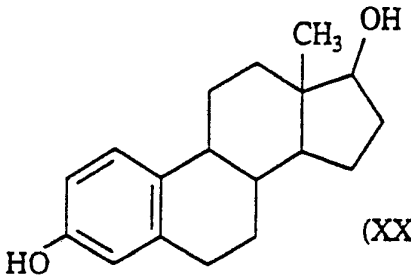


mit einem Chlorierungs- oder Bromierungsmittel, wie z.B. Thionylchlorid, Oxalychlorid oder Oxalylbromid, und anschliessender Umsetzung mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) [Vgl. Verfahren a)] bei einer Temperatur von 40 bis 120 °C in einem indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Toluol oder Xylol und in Gegenwart eines Katalysatoren wie z.B. Dimethylformamid oder p-Dimethylaminopyridin.

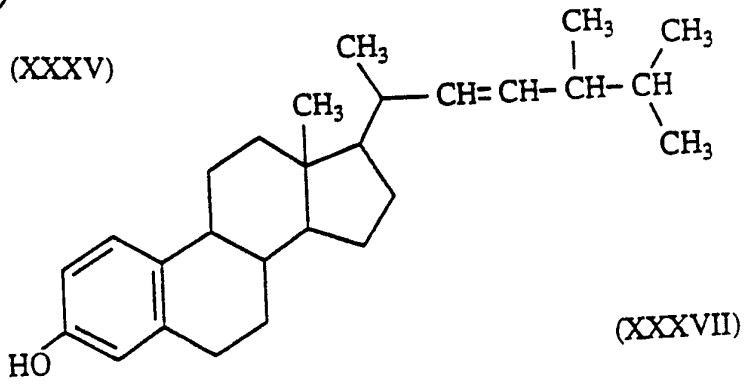
c) Chlorierung oder Bromierung einer Verbindung der Formel (XXXVIII) :

$$R_7 - COOH \qquad (XXXVIII)$$

worin R_7 eine C_4 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_4 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel wie z.B. Thionylchlorid, Oxalylchlorid oder Oxalylbromid und anschliessender Reaktion der entstandenen Chloride, bzw. Bromide mit einem Sterol der Formeln (XXXV) oder (XXXVII) :



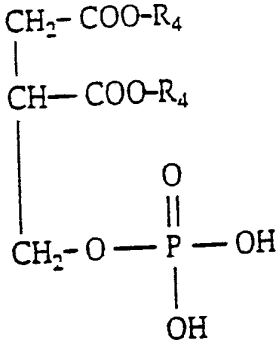
(XXXV)



(XXXVII)

bei einer Temperatur zwischen 40 und 120 °C in einem indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Toluol oder Xylol in Gegenwart eines Katalysatoren wie z.B. Dimethylformamid oder p-Dimethyl-aminopyridin.

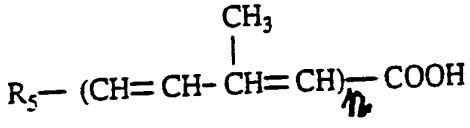
d) Veresterung einer Verbindung der Formel (XXXIX) :



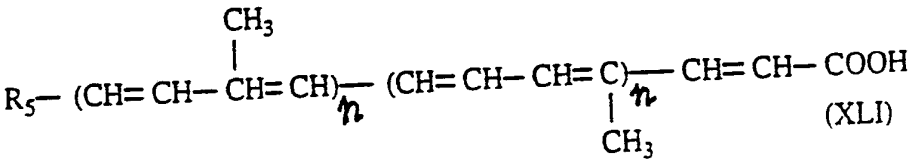
(XXXIX)

worin R_4 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt, in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin, Tetrahydrofuran oder Chloroform bei einer Temperatur von 20 °C mit Pivaloylchlorid und anschliessender Umsetzung des Reaktionsproduktes in der gleichen Lösung mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII).

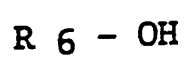
e) Bildung des Hydrogenphosphonates von einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Acetonitril unter Zusatz von Phosphortrichlorid und Imidazol und anschliessender Umsetzung der gereinigten und getrockneten Rohprodukte in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin, Tetrahydrofuran oder Chloroform bei einer Temperatur von 20°C unter Zusatz von Pivaloylchlorid mit einer Verbindung der Formeln (XL), (XLI) oder (XLII) :



(XL)

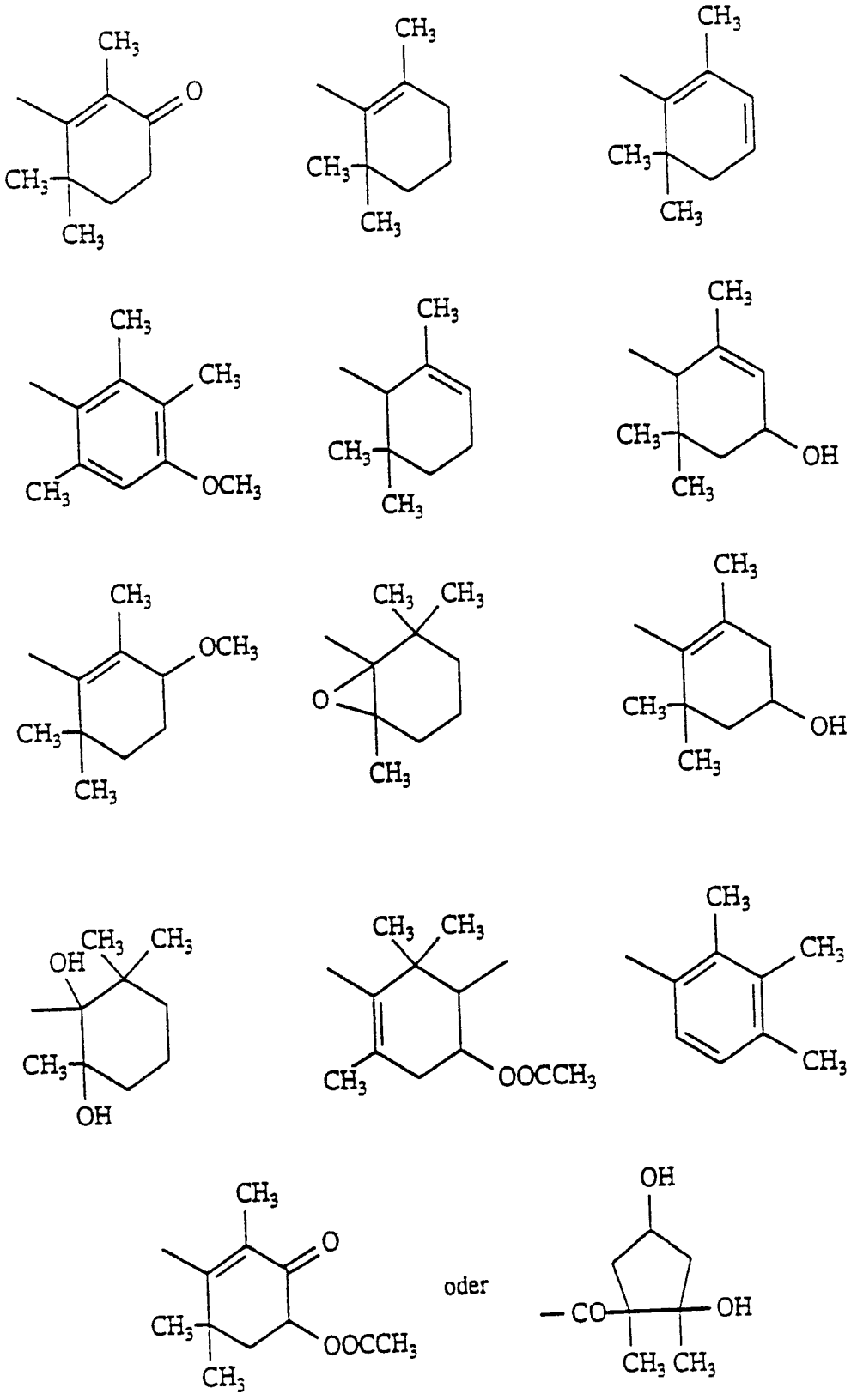


(XLI)



(XLII)

worin n die Zahlen 1,2,3 oder 4 meint und R_5 für die Radikale mit folgenden Formeln:



steht und R_6 eine C_4- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_4- bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengrupe darstellt.

Die entsprechenden Phosphothioatverbindungen der Sterole der Formeln (XXV) bis (XXXVII) werden aus den jeweils dazu passenden, getrockneten Hydrogenphosphonaten (vgl. oben) unter Zusatz von Pivaloylchlorid und Schwefel in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin oder Toluol hergestellt.

Die neuen Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphonatverbindungen haben überraschenderweise eine ausgezeichnete antitumorale Wirkung, vor allem dann, wenn sie in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind deshalb auch spontan dispergierbare Konzentrate mit diesen Verbindungen. Solche Konzentrate ergeben, mit Wasser versetzt, Mikroemulsionen von hervorragender Phasenstabilität und von überaus deutlich erhöhtem Permeations- und Spreitungsvermögen.

Die erfindungsgemäss spontan dispergierbaren Konzentrate enthalten:
0,001 bis 25, bevorzugt 0,001 bis 15, Gewichts-% einzelner Sterolester oder Sterolphosphorverbindungen Formeln I bis XV, bzw. Kombinationen dieser Komponenten, sowie
0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches
0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches
0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins
0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel.

Die erfindungsgemäss einzusetzenden Tenside oder Tensidgemische können anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nichtionogen sein. Am besten sind sie nicht-ionogen und haben einen HLB-Wert (d.h. eine "hydrophilic-lipophilic-balance") zwischen 2 - 18; bevorzugt liegt er zwischen 2 - 6 einerseits und 10 - 15 anderseits. HLB-Werte geben Auskunft über die lipophilen und hydrophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu "Hydrophile - Lipophile Balance: History and recent Developments" von Paul Becher im Journal of Dispersion Science and Technology. 5 (1), 81-96 (1984).

Geeignete anionische Tenside können sowohl sog. wasserlösliche Seifen als auch wasserlösliche synthetische Verbindungen sein.

Als Seifen eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierten Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C_{10} bis C_{22}), wie z.B. die natürlichen Na- oder K-Salze der Oel- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fett-säuregemischen, welche sich u.a. aus Kokosnuss- oder Talgöl gewinnen lassen. Ferner sind als Tenside auch die Fettsäure-Methyltaurinsalze, sowie modifizierte und nicht-modifizierte Phospholipide zu erwähnen.

Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tenside verwendet, insbesondere Fettsulfonate, Fettsulfate, sulfonierte Benzimidazolderivate oder Alkylarylsulfonate.

Die Fettsulfonate und -sulfate liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze vor und weisen im allgemeinen einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Acylresten einschliesst. Beispiele hiefür sind das Na- oder Ca-Salz der Ligninsulfosäure, des Dodecylschwefelsäure-esters und Sulfonsäuren von Fettalkohol-Aethylenoxyd-Addukten. Die sulfonierten Benzimidazol-Derivate enthalten vorzugsweise zwei Sulfonsäuregruppen und einen Fettsäurerest mit etwa 8 - 22 C-Atomen. Alkylaryl-Sulfonate sind z.B. die Na-, Ca- oder Triäthanolaminsalze der Dodecylbenzolsulfonsäure, der Dibutylnaphthalinsulfonsäure oder eines Naphthalinsulfonsäure-Formaldehydkondensationsproduktes.

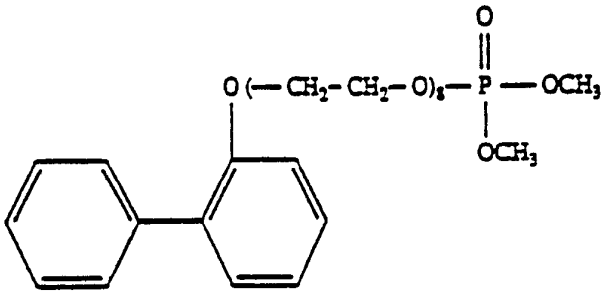
Als nichtionische Tenside stehen in erster Linie zur Wahl die Polyglykolätherderivate von aliphatischen oder cycloaliphatischen Alkoholen, gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren und Alkylphenolen, welche 3 bis 30 Glykoläthergruppen und 8 bis 20 C-Atome im (aliphatischen) Kohlenwasserstoffrest und 6 bis 18 C-Atome im Alkylrest enthalten können. Weiterhin kommen als nichtionische Tenside in Frage die wasserlöslichen, 20 bis 250 Aethylenglykoläthergruppen und 10 bis 100 Propylenäthergruppen enthaltenden Polyäthylenoxydaddukte an Polypropylenglykol und Alkylpolypropylenglykol mit 1 bis 10 C-Atomen in der Alkylkette. Die genannten Verbindungen enthalten üblicherweise pro Propylenglykol-Einheit 1 bis 5 Aethylenglykoleinheiten.

Als Beispiele nicht-ionischer Tenside seien erwähnt: Nonylphenolpolyäthoxyäthanole, Ricinusölpolyglykoläther, Polypropylen-Polyäthylenoxyd-Addukte, Tributylphenoxy-polyäthoxyäthanol, Polyäthylenglykol und Octylphenoxypolyäthoxyäthanol. Ueberdies kommen auch Fettsäureester von Polyoxyäthylensorbitan, wie das Polyoxyäthylensorbitantrioleat, in Betracht.

Bei den kationischen Tensiden handelt es sich vor allem um quaternäre Ammoniumsalze, welche als N-Substituenten mindestens einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen enthalten und als weitere Substituenten niedrige, gegebenenfalls halogenierte Alkyl-, Benzyl- oder niedrige Hydroxyalkylreste aufweisen. Die Salze liegen vorab als Halogenide, Methylsulfate oder Aethylsulfate vor, z.B. das Stearyltrimethylammoniumchlorid oder das Benzyl-di-(2-chloräthyl)-äthylammoniumbromid.

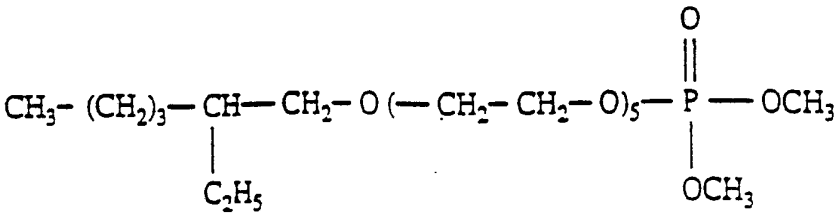
In hohem Masse bevorzugt zur Herstellung von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentraten sind Phosphorsäureestertenside, wie z.B. :

Tristyrylphenolpolyoxyäthylen-18-mono/dimethyl-Phosphorsäureester (Soprophor• FL, Rhône-Poulenc);
Nonylphenol-10-polyoxyäthylen-mono/dimethylphosphorsäureester (Diphasol• 3873, CIBA-GEIGY);



(Tensid 508, CIBA-GEIGY);

Tinovetin• JU (CIBA-GEIGY), ein Hydroxybiphenyl-10-Aethoxy-Phosphorsäureester;
Butyl-mono-4-Aethoxy-Phosphorsäureester (Zerostat• AT, CIBA-GEIGY), bzw.



(Zerostat AN• , CIBA-GEIGY)

Als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienende, pharmaverträgliche Lösungsmittel lassen sich einsetzen, z.B.:
Ester eines aliphatischen Alkohols (C_3 - C_{18}) mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_{10} - C_{22}), wie etwa Isopropyllaurat, Hexyllaurat, Decyllaurat, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat und Laurylmyristat; Kohlenwasserstoffe mit einer geraden Kohlenstoffkette (C_{12} - $_{32}$), welche mit 6 - 16 Methylgruppen substituiert ist und bis 6 Doppelbindungen aufweisen kann, wofür Terpene wie Polymethylbutane und Polymethylbutene als Beispiele dienen mögen.

Mono-Ester aus Aethylenglykol oder Propylenglykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 - C_{22}), wie etwa Propylenglykolmonolaurat und Propylenglykolmonomyristat.

Ester aus einem aliphatischen Alkohol (C_{12} - C_{22}) mit Milchsäure, wie z.B. Myristyl- oder vorzugsweise Lauryl-Lactat; Mono-, Di- oder Triester des Glycerins mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 - C_{22}), wie z.B. Glyceryl-Caprylat, oder Miglyol® 812 Neutralöl (Oleum neutrale).

Ester aus einem Poly(2 - 7)äthylenglykolglyzerinäther mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 - C_{22}), wie z.B. aliphatische Alkohole (C_{12} - $_{22}$), somit u.a. Dodecanol, Tetradecanol, Oleylalkohol, 2-Hexyldecanol und 2-Octyl-decanol.
Ester mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe, aus Poly-(2-10)glykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 - C_{22}),

Monoäther aus einem Polyäthylenglykol mit einem aliphatischen Alkohol (C_{12} - $_{18}$), wie z.B. Polyoxyäthylen-(C_{10})octyläther.

Heterocyclische Verbindungen, wie z.B. 1-Methyl-2-Pyrrolidon.

Alle technischen Tenside wurden vor dem Eintrag in die spontan dispergierbaren Konzentrate mittels Filtration, bzw. Chromatographie über neutralem Aluminiumoxyd mit einem inerten Lö-

sungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Aethylalkohol oder Methylenchlorid gereinigt.

Als Zusätze in die erfindungsgemässen spontan dispergierbaren Konzentrate eignen sich Vitamine und Provitamine (wie z.B. Vitamin A, Retinol, Carotine, Tocopherole), sowie auch freie Fettsäuren wie etwa:
Valeriansäure, Isovaleriansäure, Sorbinsäure, Isocapronsäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachidsäure, Behensäure, Hexacosansäure, Octacosansäure, Pentadecansäure, Decenylsäure, Undecenylsäure, Dodecenylsäure, Oleinsäure, Linolsäure, Linolensäure, Arachidonsäure, Erucasäure, etc.

Die zur pharmazeutischen Anwendung erforderliche Tagesdosis beträgt 0,001 bis 25 mg/kg Körpergewicht, wenn möglich verteilt auf 2 - 3 Einzeldosen. Hiefür lassen sich die Fettsäureester von Sterolen oder die spontan dispergierbaren Konzentrate mit diesen Estern in die gängigen pharmazeutischen Zubereitungen und Darreichungsformen wie Dragées, Tabletten, Kapseln, Pulver, Granulat, Pellets, Lösungen, Ampullen, Emulsionen, Crèmes oder Zäpfchen zusammen mit den üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungs- und Stabilisierungsmitteln einarbeiten.

Die Gegenstand der Erfindung bildenden Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen, sowie die spontan dispergierbaren Konzentrate, welche diese Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen enthalten, können dem Menschen oral, durch Injektion (intravenös, subkutan oder intramuskulär) oder in anderer Weise verabreicht werden. Wenn sie als feste Darreichungsformen für die orale Verwendung aufbereitet werden, kann dies in Form von Tabletten, Granulaten, Pellets, Pulvern oder Kapseln, usw. geschehen. Die Aufbereitungen können Zusatzstoffe enthalten, z.B. einen Arzneimittelträger wie eine Saccharid- oder Cellulose-Grundlage, ein Bindemittel wie Stärkepaste oder Methyl-Cellulose, ein Füllmittel oder ein Desintegriermittel, usw. - wobei

Zusatzstoffe eingesetzt werden, wie sie üblicherweise bei der Herstellung medizinischer oder paramedizinischer Formulierungen verwendet werden. Wenn die erfindungs-konformen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen als flüssige Darreichungsformen zu oraler Verabreichung gelangen, so können sie irgend eine aus wässrigen Zubereitungen für innere Verwendung, aus Suspensionen, Emulsionen und Sirups usw. ausgewählte Form haben, und sie können ausserdem in der Form getrockneter Präparate vorliegen, welche vor ihrer Verwendung in Lösung oder Emulsion gebracht werden.

Wenn die erfindungsgemässen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen in der Form wässriger Lösungen, Suspensionen oder öliger, bzw. wässriger Emulsionen, vorzugsweise als Mikroemulsionen aus den erfindungskonformen, spontan dispergierbaren Konzentraten aufbereitet sind, können sie auch injiziert werden. Die Injektionslösungen werden jedoch üblicherweise kurz vor der Anwendung hergestellt, indem man die Extrakte oder Konzentrate in wässrigen, flüssigen Medien wie sterilem Wasser, Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung auflöst oder suspendiert.

Falls erforderlich, können zu einem Injektionspräparat üblicherweise verwendete Lösungsmittel, Stabilisierungsmittel, Konservierungsmittel und Zusätze für die Herstellung isotonischer Lösungen hinzugegeben werden. Die auf diese Weise erhaltenen Injektions-Präparate werden intravenös, intramuskulär, subkutan oder in einer anderen geeigneten Weise verabreicht.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls pharmazeutische Präparate, welche die Wirkstoffe, bzw. Wirkstoffgemische, und/oder die beschriebenen, spontan dispergierbaren Konzentrate zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen enthalten. Bei den der Erfindung entsprechenden pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen (wie oralen oder rektalen), sowie zur parenteralen oder topischen Verabreichung

an Warmblüter, welche das spontan dispergierbare Konzentrat allein oder zusammen mit einem pharmazeutisch anwendbaren Trägermaterial enthalten.

Die Dosierung der erfindungsgemässen Konzentrate hangt von der Warmblüterspezies, dem Alter und dem individuellen Zustand, sowie von der Verabreichungsart ab. So werden z.B. zur Erzielung eines Abtötungseffektes von Tumorzellen an Warmblütern mit geringem Körpergewicht, wie z.B. Mäusen, Ratten und Hamstern, bei sukutaner Verabreichung Dosen im Bereich von ca. 0,1 - 50 mg/kg Körpergewicht, und bei intraperitonealer Verabreichung Dosen im Bereich von 0,05 - 5 mg/kg Körpergewicht angewandt.

Die oralen und rektalen Formen der neuen pharmazeutischen Präparate enthalten zwischen 1 - 95 %, vorzugsweise zwischen 10 - 95 %, insbesondere zwischen 20 - 95 % des erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrates. Sie können z.B. in Dosis-Einheitsform vorliegen, also als Dragées, Micropellets, Tabletten, Suppositorien oder Ampullen und vor allem als Kapseln.

Geeignete pharmazeutisch anwendbare Trägerstoffe für die oralen Formen sind hauptsächlich Füllstoffe, wie Zucker (z.B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit), Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate (z.B. Tricalcium- oder Calciumhydrogenphosphat), ferner Bindemittel wie Stärkekleister unter Verwendung von u.a. Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Traganth, Methylcellulose, Hydroxyl-Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon und/oder Sprengmittel (wenn erwünscht), wie die obgenannten Stärken, ferner Carboxy-methylstärke, quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar, Alginsäure oder ein Salz davon, wie z.B. Natriumalginat.

Als Fliessreguliermittel sind z.B. die Polyäthylenglykole Nr. 200 - 600 und höher geeignet.

Die beim Menschen als Darreichungsform bevorzugten Gelatinekapseln werden mit geeigneten Ueberzügen versehen, wobei man u.a. konzentrierte Zuckerlösungen - welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyäthylenglykol und/oder Titandioxid enthalten - Lacklösungen (wässrige oder solche, die unter Verwendung organischer Lösungsmittel aufbereitet worden sind), oder magensaft-resistente Ueberzüge aus Lösungen von geeigneten Cellulose-präparaten, wie mikrokristalliner Cellulose (Avicel), Acetylcellulosephthalat, Hydroxymethylcellulose-phthalat oder einem Co-polymerisat wie Eudragit® L 30 D verwendet.

Als erfindungsgemäss besonders geeignete, oral anwendbare pharmazeutische Darreichungsform eignen sich Steck-Kapseln aus Gelatine und einem Weichmacher, wie Glyzerin oder Sorbitol. Die Weich- bzw. Hartgelatine-Kapseln können das erfindungsgemässe, spontan dispergierbare Konzentrat im Gemisch mit Füllstoffen, wie Laktose, Bindemitteln wie Stärke und/ oder Gleitmitteln wie Talk oder Magnesium-Stearat und gegebenenfalls mit Stabilisatoren und Anti-oxydantien wie z.B. α-Tocopherol enthalten. Der Einsatz von geeigneten Flüssigkeiten wie flüssigen Polyäthylenglykolen No. 200 - 600 als Verdünnungsmittel kann sich empfehlen, wobei sich ebenfalls Stabilisatoren und Antioxydantien zufügen lassen.

Zur parenteralen Verabreichung werden die erfindungskonformen Konzentrate mit destilliertem Wasser versetzt. Der entstehenden wässrigen Injektions-Mikroemulsion können viskositätserhöhende Stoffe, wie z.B. Na-Carboxymethylcellulose, Sorbit, Mannit und/oder Dextran, und gegebenenfalls auch Stabilisatoren und Antioxydantien zugefügt werden.

Die pharmazeutischen Präparate für die parenterale Anwendung enthalten vorzugsweise zwischen 0,1 bis 60 %, vorab zwischen 1 bis 40 % des erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrates.

Als topisch anwendbare Präparate, welche sich vornehmlich zur Prophylaxe von Hautkrebsarten eignen, kommen z.B. Crèmen, Salben, Pasten, Schäume, Tinkturen und Lösungen in Betracht, welche zwischen 0,01 bis 70 % des erfindungsgemässen Konzentrates enthalten.

Für Crèmen und Oel-in-Wasser-Emulsionen, welche mehr als 50 % Wasser aufweisen, verwendet man als oelige Grundlage in erster Linie Fettalkohole, z.B. Lauryl-, Cetyl- oder Stearylalkohol, flüssige bis feste Wachse, z.B. Isopropylmyristat, Woll- oder Bienenwachs und/oder Kohlenwasserstoffe wie z.B. Vaseline (Petrolatum) oder Paraffinoel. Zur Emulgierung dieser öligen Grundlagen eignen sich in erster Linie oberflächenaktive, pharmaverträgliche Substanzen mit vorwiegend hydrophilen Eigenschaften, wie z.B. nicht-ionogene Emulgatoren, vorab Fettsäureester von Polyalkoholen oder Aethylen-oxydaddukten (etwa Polyglycerinfettsäureester oder Polyäthylensorbitan-Fettsäureester) mit einem HLB-Wert von unter 8. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Mittel, die die Austrocknung der Crèmen vermindern, z.B. Polyalkohole wie Glyzerin, Sorbit, Propylenglykol und/oder Polyäthylenglykole No. 200 - 600, ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Salben sind Wasser-in-Oel Emulsionen, die bis zu 70 %, vorzugsweise jedoch zwischen 20 und 50 % Wasser oder wässrige Phasen enthalten.

Als Fettphase kommen in erster Linie Kohlenwasserstoffe, z.B. Vaselin, Paraffinoel und/oder Hartparaffine in Frage, welche zur Verbesserung des Wasserbindungsvermögens geeignete Hydroxydverbindungen, wie z.B. Fettalkohole oder Ester, davon etwa Cetylalkohol oder Wollwachsalkohole, enthalten.

Fallweise werden noch Emulgatoren mit einem HLB-Wert von 8 bis 16, wie z.B. Sorbitan-Fettsäureester (etwa Sorbitanisostearol) zugesetzt. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Feuchthaltungsmittel, wie Polyalkohole (Glycerin, Propylenglykol, Sorbit

und/oder Polyäthylenglykole No. 200, 400, 600); ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Fettsalben sind wasserfrei und enthalten als Grundlage vornehmlich Kohlenwasserstoffe, z.B. Paraffin, Vaselin und/oder flüssige Paraffine; überdies natürliche oder partial synthetische Fette wie z.B. Kokosfettsäuretriglycerid, ferner: Fettsäurepartialester des Glycerins, wie z.B. die im Zusammenhang mit den Salben erwähnten, die Wasseraufnahmefähigkeit steigernden Fettalkohole, Emulgatoren und/oder Zusätze.

Pasten sind Crèmen und Salben mit sekretabsorbierenden Puderbestandteilen, wie beispielsweise Metalloxide (etwa Titanoxid oder Zinkoxid), ferner Talk und/oder Aluminiumsilikate, welche die Aufgabe haben, vorhandene Feuchtigkeit oder Sekrete zu binden.

Schäume werden aus Druckbehältern verabreicht und sind in Aerosolform vorliegende Oel-in-Wasser Emulsionen der erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrate, wobei halogenierte Kohlenwasserstoffe (wie z.B. Chlorfluorniederalkane: etwa Dichlordifluormethan und Dichlortetrafluoräthan) als Treibmittel verwendet werden. Dazu kommen gegebenenfalls die üblichen Zusätze wie Konservierungsmittel, usw.

Verfahrensbeispiele zur Herstellung der erfindungsgemässen Sterolester und Sterolphosphatide

1. Herstellung von Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-dodecenoat

2 g Dodecenylsäure und 1,8 g Thionylchlorid werden in 300 ml Tetrahydrofuran während 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Anschliessend werden 150 ml Tetrahydrofuran abdestilliert und 3,97 g Ergosterol (= Ergosta-5,7,22,trien-3-ol) und 0,5 g Dimethylformamid zugesetzt.
Nach zweistündiger Erhitzung bei 70 °C wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wird in Acetonitril/Aceton (50/50) umkristallisiert.
Man erhält das reine Ergosteroldodecenoat mit einem Schmelzpunkt von 86,6 - 91,1 °C.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt:

Ergosterolcrotonat	Smp: 150 - 151,6 °C
Ergosterolcapryloat	Smp: 97,9 °C
Ergosterolundecenoat	Smp: 75,8 - 76,2 °C
Ergosterollaurat	Smp: 86,5 °C
Ergosterolpalmitat	Smp: 99,5 °C
Ergosterololeat	Smp: 86,3 - 95,7 °C
Ergosterollinoleat	Smp: 89,8 - 91,2 °C
	UV: 253,0 nm

BI (Brechungsindex) = RI (Refractory Index), gemessen am DUR-Refractometer Schmidt + Haensch, Berlin.

2. Herstellung von Stigmasterol-all-trans-Retinat

Zu 600 mg all-trans-Retinsäure und 50 mg Dimethylformamid in 70 ml Toluol werden bei 5 °C 360 mg Oxalylchlorid in 30 ml

Toluol zugetropft. Nach 4 Std. bei 20 °C wird die Hälfte des Lösungsmittels am Vakuum abdestilliert.

Zur Restlösung werden 650 mg Stigmasterol und 50 mg p-Dimethylaminopyridin in 30 ml Toluol zugegeben. Die Reaktionslösung wird während 2 Std. am Rückfluss bei 100 - 110 °C erwärmt. Anschliessend wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wird auf einer Silicagelsäule mit Hexan/Essigester (9:1) chromatographiert.

Man erhält das reine Stigmasterol-all-trans-Retinat mit einem Schmelzpunkt von 89 °C, UV-Absorption 358,5 nm.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt, welche die Eigenschaften von Fettkristallen haben, d.h. dass der Schmelzbereich meist unbestimmbar ist:

Ergosterol-all-trans-Retinat	UV: 354,0/264,0 nm
β-Sitosterol-all-trans-Retinat	UV: 344,5 nm
Cholesterol-all-trans-Retinat	UV: 354,5 nm
Stigmasterol-13-cis-Retinat	UV: 348,0 nm
Ergosterol-13-cis-Retinat	UV: 346,0 nm
β-Sitosterol-13-cis-Retinat	UV: 368,5 nm
Cholesterol-13-cis-Retinat	UV: 345,5 nm
Ergosterol-Linolenat	UV: 252,2 nm
Stigmasterol-Arachidonat	UV: 251,8 nm
	BI: 1.51320 / 20 °C

NMR-analytische Daten zu Ergosterol-all trans-Retinat gibt Zeichnung 1/2 wieder. Vgl. die technische Beilage.

3. Herstellung von Stigmasterol-Azafrinat

Zu 80 mg Azafrin [Verbindung wie Formel XXI; Herstellung vgl. Helv.Chim.Acta 58 (1975) 1722-1727 und Helv.Chim.Acta 65 (1982) 353-354] in 50 ml Chloroform werden 65 mg N,N'-Carbonyldiimidazol zugesetzt. Man lässt die Reaktionslösung während 12 Std. bei 20 °C stehen und setzt dann 40 mg Stigmasterol zu.

Nach weiteren 12 Std. bei 30 °C wird das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in 50 ml Essigester aufgenommen. Diese Lösung schüttelt man einmal mit 1/10 N Salzsäure und einmal mit 1/10 N Natronlauge aus. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand auf einer Silicagelsäule mit Hexan/Essigester (9:1) als Eluiermittel chromatographiert. Man erhält das Stigmasterol-Azafrinat, mit einer UV-Absorption bei 429,5 nm.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt, charakterisiert durch den Brechungsindex n_D 20°C (BI), bzw. die UV-Absorptions-Maxima :

Ergosterol-Azafrinat	UV: 425,6 nm
β-Oestradiol-3,17-Diundecenoat	BI 1,4816
	UV 232,8/276,0 nm
β-Oestradiol-3,17-Dioleat	BI 1,5058
	UV 232,0/280,0 nm
β-Oestradiol-3,17-Diretinat	UV 354,5/371,0 nm
β-Oestradiol-3-Benzoat-17-Undecenoat	UV 247,6 nm
β-Oestradiol-3-Benzoat-17-Retinat	UV 354,5 nm

4. Herstellung von Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycerophosphat und -thiophosphat

1,2-Dipalmitoyl-glycero-3-H-phosphonat-Triaethylammoniumsalz wird genau nach der Vorschrift von I. Lindth und J. Stawinski in J.Org.Chem. 54, 1338-1342 (1989) ["Synthesis of Glycerophospholipids and their Analogues via H-Phosphonate Intermediates"] hergestellt. Auf die chromatographische Zwischenreinigung des Reaktionsproduktes wird verzichtet; das Rohprodukt wird demnach unmittelbar in der nächsten Stufe eingesetzt.

600 mg Rohprodukt und 600 mg Stigmasterol werden in 15 ml Pyridin gelöst und im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand wird erneut in 15 ml Pyridin gelöst, und unter Rühren werden 0,2 ml Pivaloylchlorid zugegeben. Die Reaktionslösung wird unter Feuchtigkeitsausschluss bei Raumtemperatur 30 Min. gerührt.

Dann werden noch 0,1 ml Pivaloylchlorid zugefügt, und anschliessend wird nochmals 30 Min. gerührt.

Die Reaktionslösung wird in zwei Teile geteilt:
Zur einen Hälfte der Lösung werden unter Rühren 150 mg Jod in 2 ml Pyridin-Wasser 98:2 gegeben. Nach 30 Min. Rühren bei 20 °C wird das Reaktionsgemisch in 50 ml Chloroform aufgenommen. Die Lösung wird mit 20 ml 5% Na-Bisulfitlösung und zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit 50 ml Chloroform zurückgewaschen und die vereinigten Chloroform-phasen im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Zur anderen Hälfte der Lösung werden 150 mg Schwefel in 2 ml Pyridin-Toluol 1:1 gegeben. Die Lösung wird 3 Std. bei 20 °C gerührt, in 50 ml Chloroform gelöst, zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Die beiden Rohprodukte werden an je 15 g Silicagel mit Chloroform/Hexan 2:1 und 8:1 chromatographiert. Es werden Fraktionen zu 20 ml aufgefangen und im D.C. (Laufmittel Chloroform) untersucht. Die Fraktionen, welche im wesentlichen reines Produkt enthalten, werden im Vakuum zur Trockene gebracht.

Man erhält:
das Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycerphosphatid mit einem Schmelzpunkt von 171,6 °C und
das Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid mit einem Schmelzpunkt von 168 °C.

Die Zeichnung 2/2 zeigt den Schmelzbereich für die beiden Verbindungen auf. Vgl. die technische Beilage.

5. Verfahren zur Herstellung von Ergosterol-3-Retinolphosphonat

---

a) Verfahren zur Herstellung von Ergosterol-3-Hydrogenphosphonat
Eine Lösung von 3,6 g Imidazol in 100 ml wasserfreiem Acetonitril wird unter Feuchtigkeitsabschluss im Eiswasserbad gekühlt. Unter Rühren werden innert 10 Min. 1,4 ml Phosphortrichlorid und anschliessend innert 15 Min. 7,8 ml Triäthylamin zugetropft. Das Gemisch wird während 15 Min. gerührt; dann gibt man unter weiterer Eiskühlung über 30 Min. eine Lösung von 1,5 g Ergosterol in 100 ml Acetonitril zu.
Das Eisbad wird entfernt und das Gemisch 4 Std. lang bei Zimmertemperatur gerührt. Dann werden 25 ml Wasser zugesetzt und noch 30 Min. gerührt.
Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum zur Trockene eingedampft; zum Rückstand fügt man 100 ml Pyridin-Triäthylamin 4:1 zu und dampft weiter ein.
Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform gelöst, die Lö-

sung 3 Mal mit 50 ml Wasser gewaschen, im Vakuum zur Trockene eingedampft und im Vakuumtrockenschrank bei 50 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Produkt: 3,0 g, wird ohne weitere Reinigung für die folgenden Reaktionsschritte verwendet.

b) Ergosterol-3-Retinol-Phosphonat.
1,2 g rohes Ergosterol-Hydrogenphosphonat und 0,8 g Retinol (Vitamin-A-Alkohol) werden in 15 ml Pyridin gelöst. Unter Rühren werden 0,3 ml Pivaloylchlorid zugetropft, 5 Min. gerührt, nochmals 0,3 ml Pivaloylchlorid zugefügt und weitere 10 Min gerührt.
Zum Reaktionsgemisch werden 25 ml Wasser und 5 ml gesättigte Na-Bicarbonatlösung zugefügt und das Ganze mit 50 ml Chloroform extrahiert.
Die Chloroformphase wird abgetrennt, 2 Mal mit je 25 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene gebracht.
Man erhält das ERGOSTEROL-3-RETINOL-PHOSPHONAT.
Rf.-Wert in Hexan/Essigester 80:20 : 0,97.

Auf gleiche Weise lassen sich herstellen:
ERGOSTEROL-3-GERANYL-PHOSPHONAT
ERGOSTEROL-3-FARNESYL-PHOSPHONAT

6. Herstellung von Ergosterol-3-Geranylphosphothioat.

1,2 g rohes Ergosterol-Hydrogenphosphonat (vgl. 5 a) und 0,5 ml Geraniol werden in 15 ml Pyridin gelöst. Unter Rühren werden 0,3 ml Pivaloylchlorid zugetropft, 5 Min. gerührt, nochmals 0,3 ml Pivaloylchlorid zugetropft und weitere 10 Min. gerührt. Zum Reaktionsgemisch werden 0,1 g Schwefel in 2 ml Toluol-Pyridin 1:1 gefügt und das Ganze 2 Std. bei Raumtemperatur gerührt.
Das Reaktionsgemisch wird in 50 ml Chloroform gelöst, 2 Mal mit je 25 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird an 50 g Silicagel mit Hexan-Essigester 9:1, 8:2 und 5:5 chromatographiert

(je 200 ml). Man fängt Fraktionen zu 25 ml auf, die mittels Dünnschicht-Chromatographie (Laufmittel Hexan/Essigester 8:2) analysiert werden.
Jene Fraktionen, welche im Wesentlichen das reine Produkt enthielten, wurden vereinigt, im Vakuum zur Trockene eingedampft und im Vakuumtrockenschrank bei 50 °C zur Gewichtskonstanz getrocknet.
Man erhält 0,45 g ERGOSTEROL-3-GERANYL-PHOSPHOTHIOAT
Rf.-Wert Hexan/Essigester 80:20 : 0.98

Auf gleiche Weise lässt sich das
ERGOSTEROL-3-FARNESYL-PHOSPHOTHIOAT
herstellen.

Rf.-Werte von erfindungsgemässen Verbindungen, welche nach den Verfahrensbeispielen 1 bis 4 hergestellt worden sind:

1 %-Lösung in CH_2Cl_2, bandförmig aufgetragen 2 cm/2µl
Linomat III CAMAC 10cm run
UV 366 nach 1:1 H_2SO_4/MeOH 2 min. 120°C

SYSTEM / VERBINDUNG	1	2	3	4	5	6	7
C 8:0 ERGO	--	0,17	0,32	0,77	--	0,81	--
C 12:0 ERGO	0,06	0,14	0,29	0,73	0,89	0,74	0,57
C 16:0 ERGO	0,07	0,16	0,32	0,75	0,92	0,82	0,58
C 18:1 ERGO	0,08	0,18	0,35	0,80	0,92	--	0,63
ERGO-RETINAT	0,07	0,17	0,38	0,00	0,91	0,87	0,65
	0,11	0,23	0,42	--	--	--	0,73
C 11:1 β-Oestradiol-doppelester	0,00	0,00	0,04	0,18	0,71	0,29	0,07
	--	--	--	0,56	0,81	--	0,41

Erklärung:

System 1 Platte Merck Art. 5715 Petrolaether/Diethylaether 98:2
System 2 " " " 97:3
System 3 " Cyclohexan/Ethylacetat 97:3
System 4 Platte Macherey Nagel RP 18 Art. 811'071
Petrolaether/Diethylaether 95:5
System 5 " n Hexan/t.Butylmethylaether/Aceton 90:5:5
System 6 " Petrolaether/Cyclohexan/Ethylacetat/H_2O 48:48:3:1
System 7 " Petrolaether/Diethylaether 97:3

Rf.- W E R T E FORTSETZUNG

System Verbindung	1	2	3	4	5
C 18:2 ERGO	0,76 0,59	0,39 0,25-0,50	0,60 0,50	0,92	0,79 0,60-0,61
C 18:3 ERGO	0,78 0,59-0,61	0,40 0,25	0,65 0,50-0,55	0,92	0,80 0,60-0,65
β-Oestradiol-3,17-DI-UNDECENOAT	0,38	0,10	0,15	0,75	0,30
β-Oestradiol-3.17-DI-OLEAT	0,42	0,22	0,20	0,83	0,38

ERKLÄRUNG:

SYSTEM 1 Platte RP 18 MN Petrolaether/Cyclohexan/EtAc/H_2O 48:48:3:1
SYSTEM 2 " SM Cyclohexan/Ethylacetat 97:3
SYSTEM 3 " SM Petrolaether/Diaethyleather 97:3
SYSTEM 4 " RP 18w MN Hexan/t.BME/Acetonitril 90:5:5
SYSTEM 5 " RP 18w MN Petrolaether/Diaethylaether 95:5

N-B.: SM Platte Merck Art. No. 5715
RP18 MN(w) Art. Macherey Nagel Nr. 811'071

Rf.-Werte mit Normalchromatographie Hexan/Essigester 90:10 :

β-Oestradiol-Diundecenoat	0,37
β-Oestradiol-Dioleat	0,48
Ergosterol-all trans-Retinat	0,88
Ergosterol-Linoleat	0,64 / 0,82
Ergosterol-Linolenat	0,64 / 0,96
Stigmasterol-Glycero-Phosphatid	0,88
Stigmasterol-Glycero-Thiophosphatid	0,94

Platte Merck Art. No. 5715

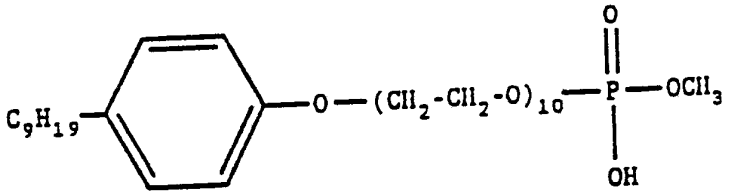
Zusammensetzungsbeispiele von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Mitteln, welche als antitumorale Wirkstoffe Sterolester und/oder Sterolphosphorverbindungen gemäss den Formeln I bis XXX enthalten.

---

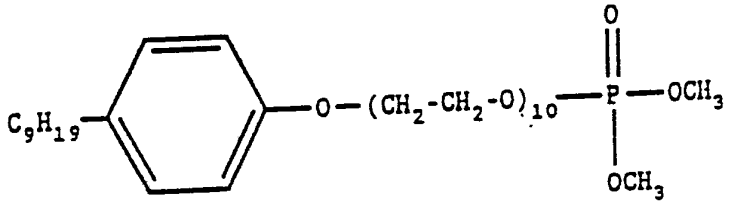
a) 7,5 bis 25 Gewichts-% eines oder mehrerer Sterolester und/oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln I bis XV
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol• 812 (Dynamit-Nobel)
22,5 bis 40 Gewichts-% Diphasol• 3873 (CIBA-GEIGY)
22,5 bis 40 Gewichts-% Invadin• JFC 800 % (CIBA-GEIGY)

b) 7,5 bis 25 Gewichts-% eines oder mehrerer Sterolester und/oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln I bis XV
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol• 812 (Dynamit Nobel)
22,5 bis 40 Gewichts-% Invadin• JFC 800% (CIBA-GEIGY)
22,5 bis 40 Gewichts-% Soprophor• FL (Rhône-Poulenc)

Miglyol• 812-Neutralöl ist ein Neutralöl (Oleum neutrale) der Firma Dynamit-Nobel, das einem gemischtsäurigen Triglycerid der fraktionierten Kokosfettsäuren C_8 bis C_{10} entspricht.
Diphasol• 3873 ist ein Mischemulgator, bestehend aus je 50 % der beiden Verbindungen mit den Formeln:



und



Invadin• JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein tert. Octylphenylpolyoxyäthylenaether mit 9 bis 10 Oxyaethylengruppen.

Soprophor® FL (Rhône-Poulenc) ist ein Tristyrylphenol-polyoxyäthylen-18-mono/dimethyl-Phosphorsäureester.

Zeichnungen (Vgl. die technische Beilage)

1/2 : NMR-Messdaten für ERGOSTEROL-all trans-RETINAT

2/2 : DSC-Messdaten für die Stigmasterol-Phosphatide.

Biologische Prüfungen.

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentraten mit Wirkstoffen gemäss den Aufarbeitungsbeispielen No. 1 - 6 wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit Mikrotiterplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt werden je 10^4/ml Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit 10 % fötalem Kalbserum inaktiviert (GIBCO); sie werden so undicht ausgesät, dass sie während des Assays wachsen können, in sog. nichtkonfluenten Monolayers. Die Probenzugabe erfolgt nach 6 - 24 Stunden, mit 100 µl pro Reihe, die man im 1. Loch mit 100 µl Medium versetzt. Davon wird die Hälfte entnommen und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100 µl Medium versetzt, usf. Es entsteht eine geometrische Verdünnungsreihe $n\frac{1}{2}$.

Die Proben werden im Plaque Assay während 3-5 Tagen bei 37° C mit $3\frac{1}{2}$ % CO_2 inkubiert. Anschliessend färben/fixieren mit 0,1 % Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70 % Methanol, 1 % Formaldehyd, 29 % Wasser. Die Auswertung wird am Mikroskop vorgenommen, Vergrösserung 300-fach. Man bestimmt die grösste cytotoxische Verdünnung. Die quantitative Auswer- tung lässt sich auch mittels Scanning und Absorptionsmessung am Spektrophotometer vornehmen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Tumorlinie / Präparat	TSA (Murines Adenocarcinom) In Verdünnung wirksam bis 1 :	
	16 h	40 h
C 18:2 ERGOSTEROL	2'000'000	16'000'000
STIGMA-AZAFRINAT	28'600'000	28'600'000
ERGOSTEROL-all trans-RETINAT	800'000	1'600'000
STIGMASTEROL-GLYCERO-PHOSPHATID	400'000	1'600'000
STIGMASTEROL-GLYCERO-THIOPHOSPHATID	10'000'000	20'000'000
β-OESTRADIOL-3,17-OLEAT	20'000'000	40'000'000

T S A : murines Adenocarcinom (spontanes Mamacarcinom) Prof. Guido Forni, Istituto di Microbiologia, Università di Torino, Scuola di Medicina

Die Ueberprüfung der Wirkung dieser spontan emulgierbaren Konzentrate mit einem Gehalt von 1000 ppm C 18:2-ERGOSTEROL-Wirkstoff an humanen Leucocyten ergab folgende Werte:

Verdünnung	24 h	4 Tage	5 Tage
1 : 20	alle Zellen tot	alle Z. lysiert	--
1 : 80	alle Zellen tot	"	--
1 : 200	RBC lysiert Leucocyten i.O.	RBC lysiert Leucocyten lysiert	--
1 : 400	RBC lysiert Leucocyten i.O.	alle Zellen lysiert	--
1: 1'000	alle Z. i.O.	Leucocyten i.O.	Leucocyten i.O.
1: 5'000	"	"	"
1:20'000	"	"	"

N.B.: RBC steht für "Red blood cells", Erythrocyten, rote Blutkörperchen.

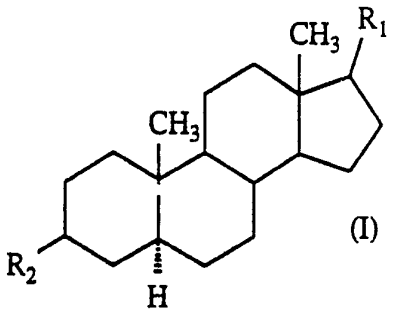
Leberschranke

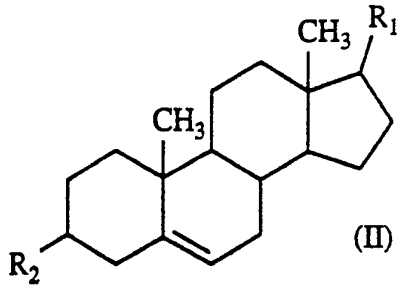
Die Prüfung wurde an der perfundierten, in situ belassenen Rattenleber vorgenommen. Eingesetzt wurden die beiden Präparate Ergosterol-Undecenoat und Ergosterol-all trans-Retinat und zwar in Form von 2%-Konzentraten, verdünnt 1:10, 1:100 und 1:1000. Die Arbeiten wurden in verdankenswerter Weise vom Institut für klinische Pharmakologie der Universität Bern (Prof. Dr. R. Preisig) durchgeführt. Die analytische Auswertung geschah mittels Kapillar-Electrophorese (20 kV konstant) mit einem Gerät von Beckman Instruments (P/ACE System 2000 Version 1.50).

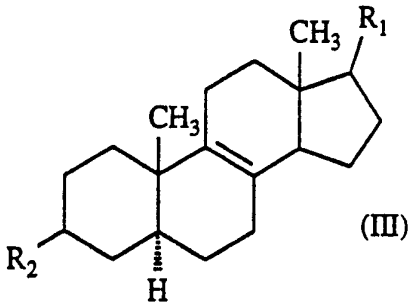
Ergebnis: Die Wirksubstanzen passieren, auch in der höchsten geprüften Konzentration, innerhalb von je 20 Minuten die hepatische Barrière vollständig.

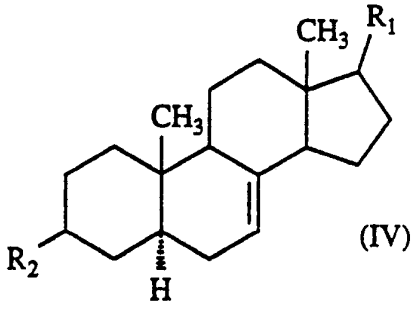
P A T E N T A N S P R U E C H E

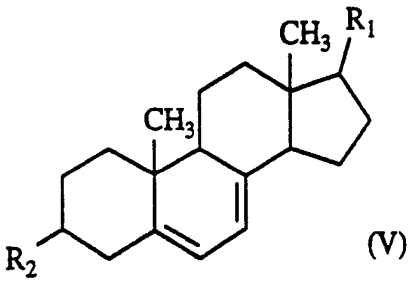
1) Sterolester, bzw. Sterolphosphatide der Formeln (I) bis (XV) :

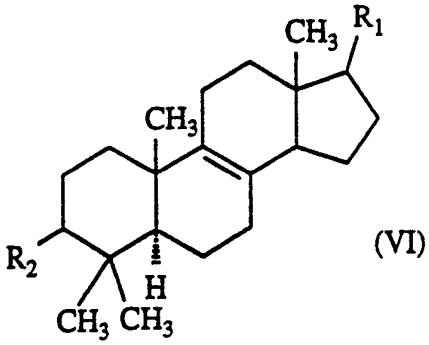

(I)

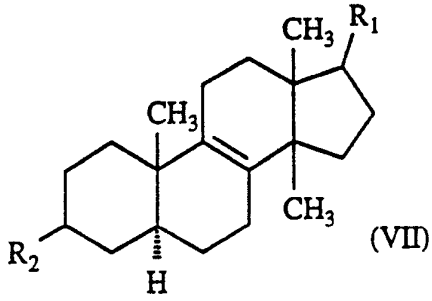

(II)

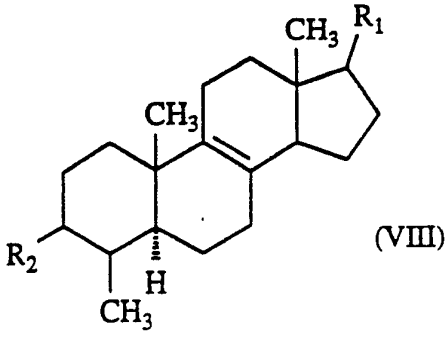

(III)

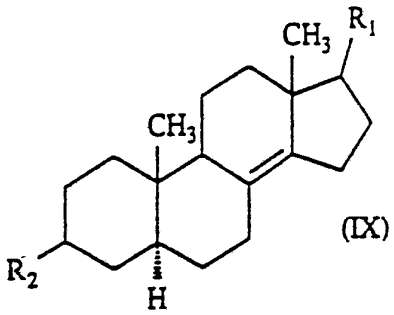

(IV)


(V)

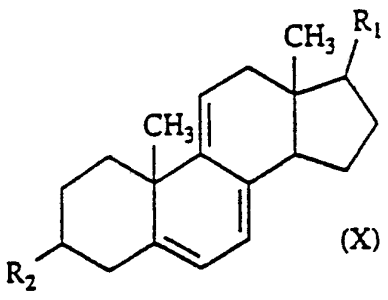

(VI)


(VII)

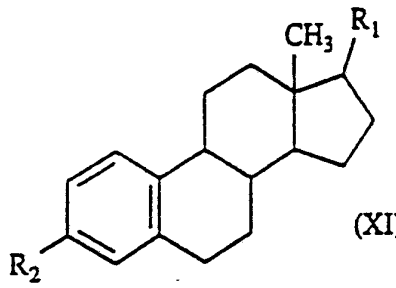

(VIII)



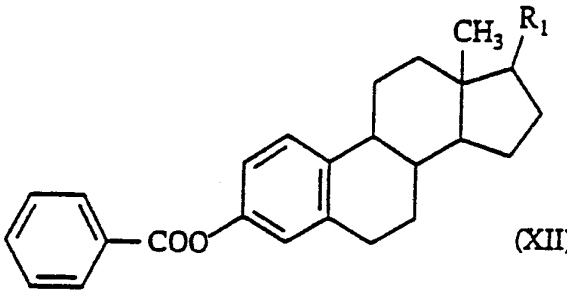
(IX)



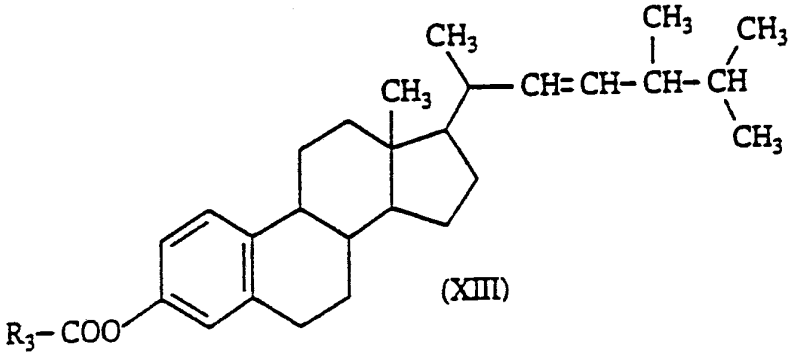
(X)



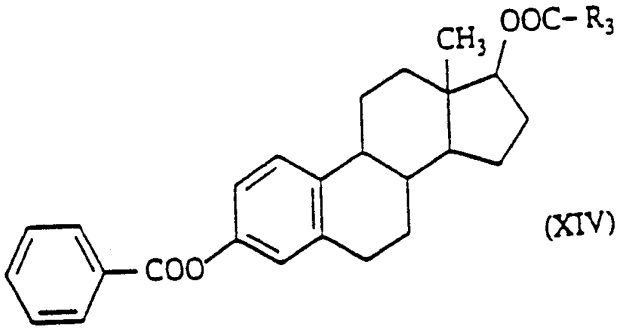
(XI)



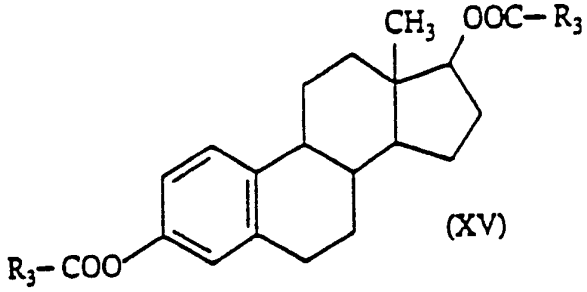
(XII)



(XIII)

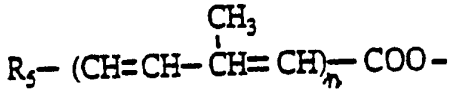


(XIV)

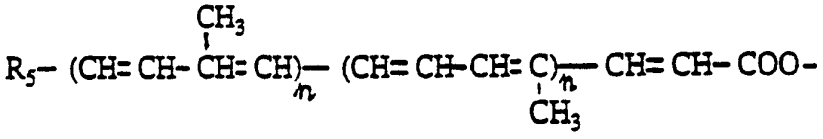


(XV)

wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal R_1 eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe und das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) und (XVII) ist:

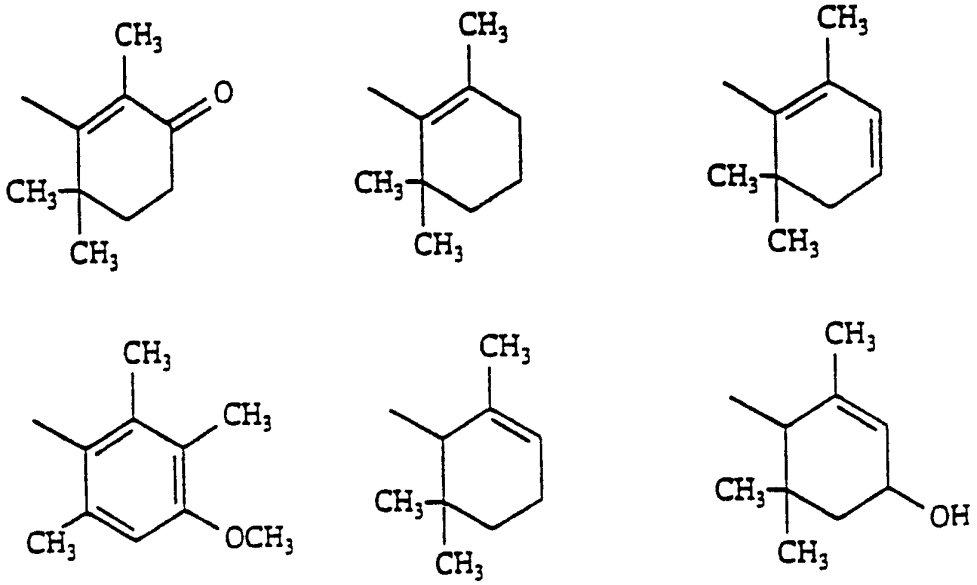


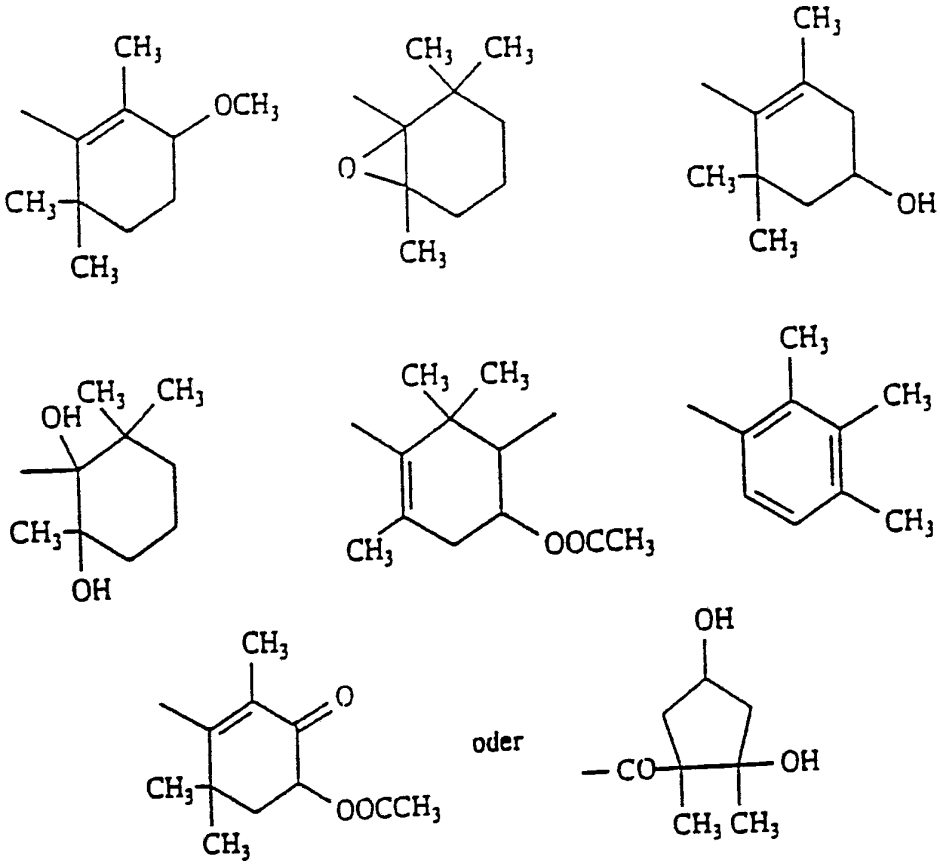
(XVI)



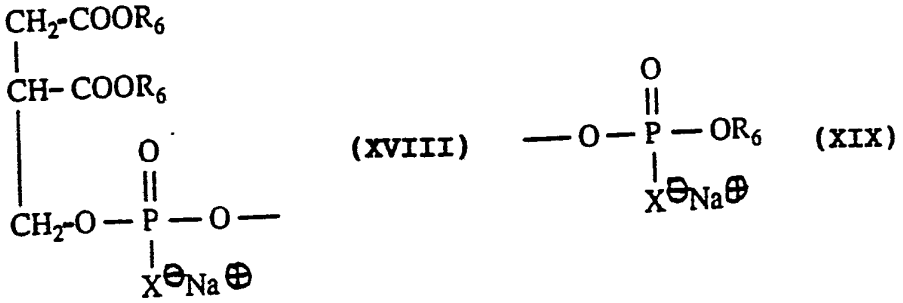
(XVII)

worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bezeichnet und R_5 für die Radikale der Formeln



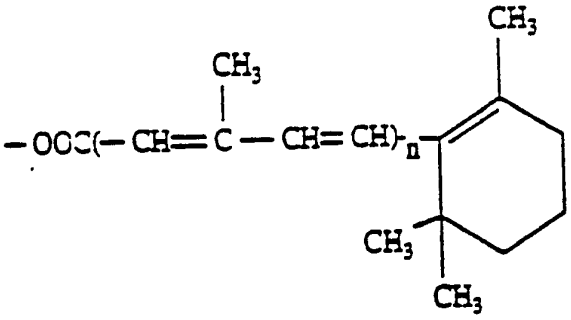


steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) oder (XIX) darstellt:



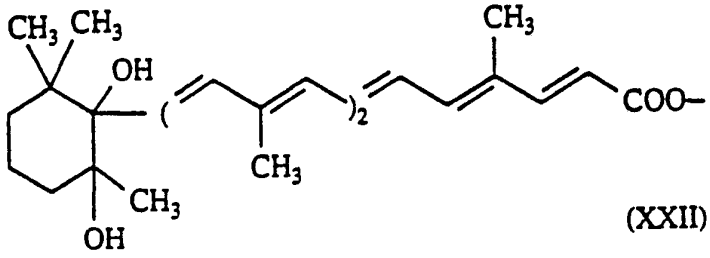
in welchen R_6 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4 bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4 bis C_{32} Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkahexaene oder Alkaheptaene) steht.

2) Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal R_1 eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe bedeutet und das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) für eine Verbindung der Formel (XXa) steht:



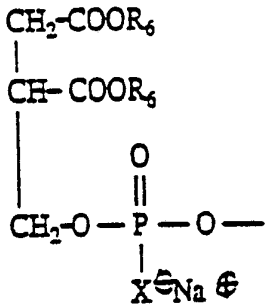
(XXa)

worin n die Zahlen 1,2,3 oder 4 meint oder die Verbindung (XXII) bezeichnet:



(XXII)

oder aber die Gruppe gemäss Formel (XVIII) meint:

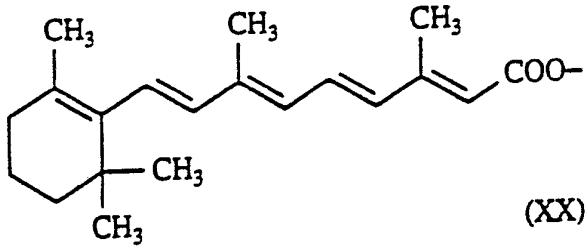


(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe ist, X Sauerstoff oder Schwefel darstellt, und wobei zudem R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_4 bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

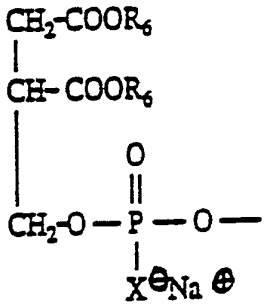
3) Eine Verbindung gemäss Anspruch 2, wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal R_1 eine C_8 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_8

bis C_{10}-Alkenylgruppe bedeutet, das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) für eine Verbindung der Formel (XX)



(XX)

steht oder die Gruppe der Formel (XVIII) bezeichnet:



(XVIII)

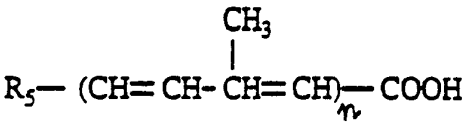
worin R_6 eine C_4 bis C_{22}-Alkyl- oder eine C_4 bis C_{22}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe ist, X Sauerstoff oder Schwefel darstellt, und wobei zudem R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4 bis C_{22}-Alkyl- oder eine C_4 bis C_{22}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

4) Die Verbindungen:
Stigmasterol-all-trans-retinat
Stigmasterol-13-cis-retinat
Ergosterol-all-trans-retinat
Ergosterol-13-cis-retinat
Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid
Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid
Ergosterolcrotonat
Ergosterolcaproylat
Ergosterolundecenoat
Ergosterollaurat
Ergosteroldodecenoat
Ergosterolpalmitat
Ergosterololeat

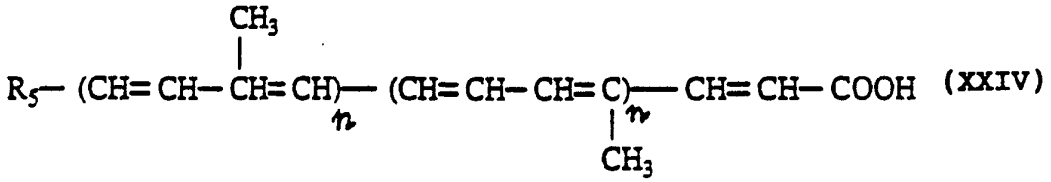
Ergosterollinoleat
Ergosterollinolenat
Ergosterol-3-retinylphosphonat
Ergosterol-3-geranylphosphonat
Ergosterol-3-farnesylphosphonat
Ergosterol-3-geranylphosphothioat
Ergosterol-3-farnesylphosphothioat
Ergosterol-Batyl-Cholin-bis-Phosphorsäureester
Ergosterol-Batyl-bis-Phosphothioat
Oestradiol-3,17-diundecenoat
Oestradiol-3,17-dioleat
Oestradiol-3,17-diretinat
Oestradiol-3-benzoat-17-undecenoat
Oestradiol-3-benzoat-17-retinat

gemäss Anspruch 3.

5) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formeln (XXIII), bzw. (XXIV) :

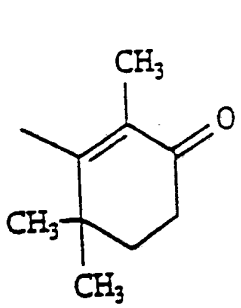


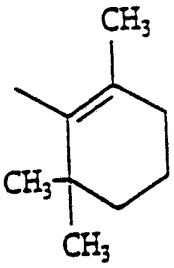
(XXIII)

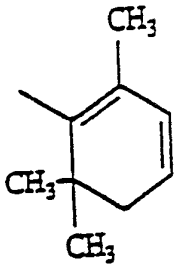


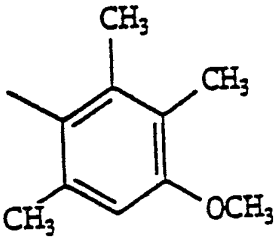
(XXIV)

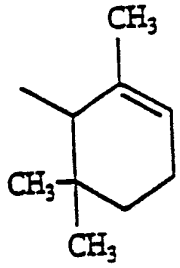
worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und R_5 für die Radikale der folgenden Formeln:

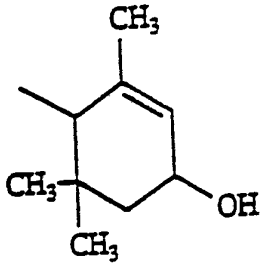


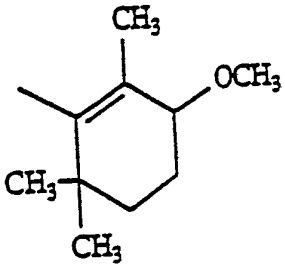


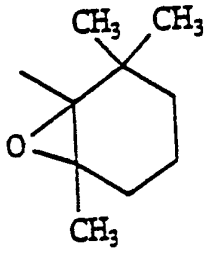


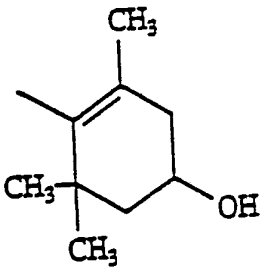


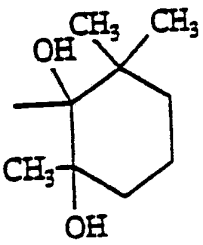


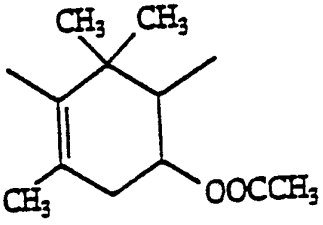


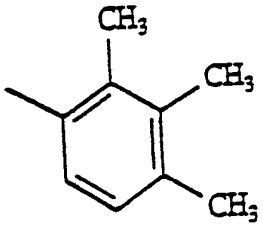


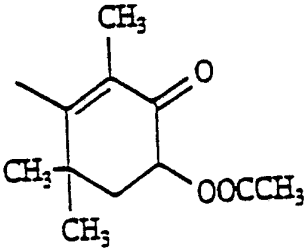




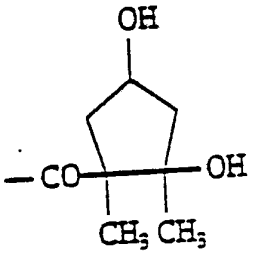




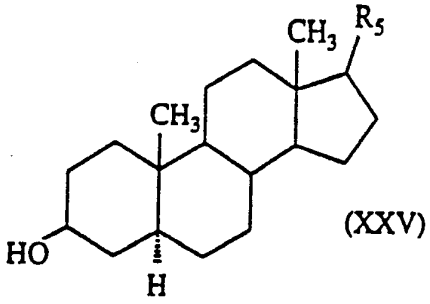


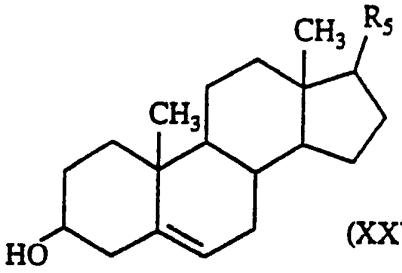


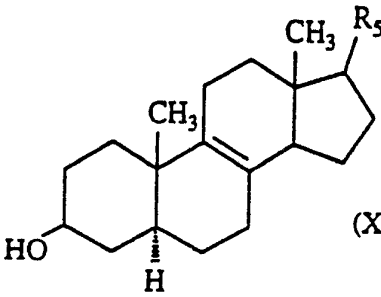
oder

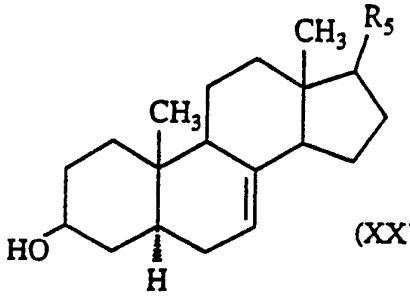


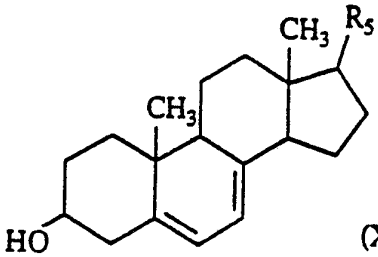
steht, mit N,N'-Carbonyldiimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem indifferenten Lösungsmittel umsetzt und anschliessend das entstandene Imidazolat mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) :

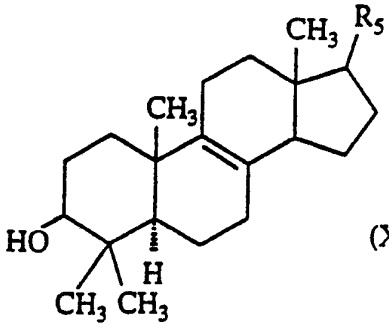

(XXV)

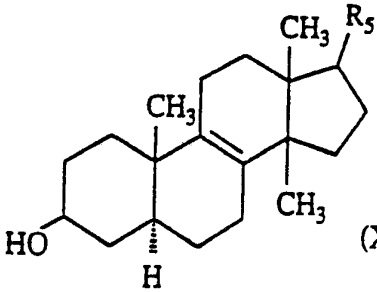

(XXVI)

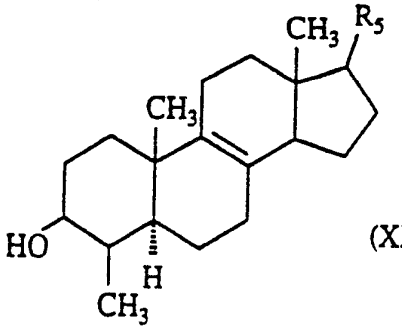

(XXVII)

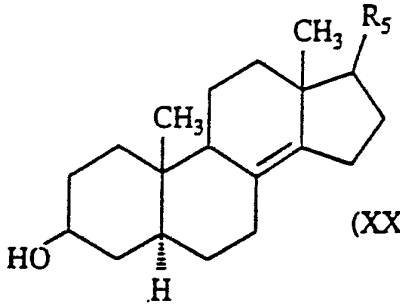

(XXVIII)


(XXIX)

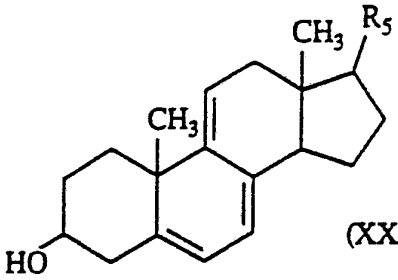

(XXX)


(XXXI)

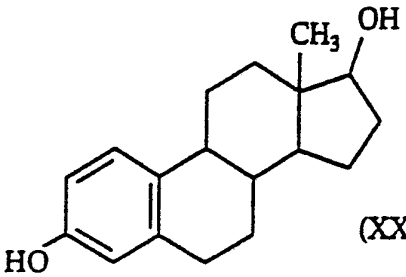

(XXXII)



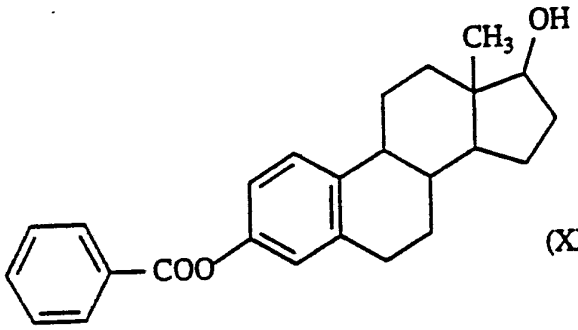
(XXXIII)



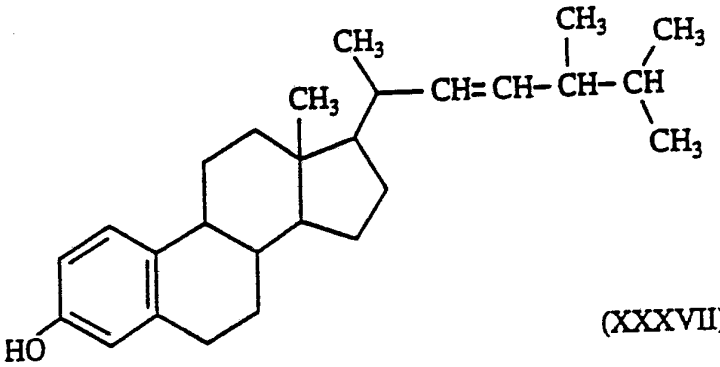
(XXXIV)



(XXXV)



(XXXVI)



(XXXVII)

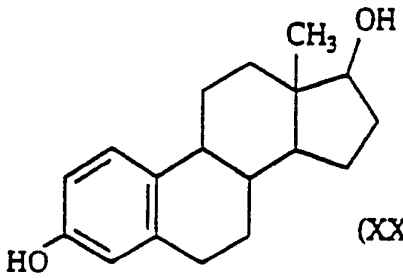
in welchen das Radikal R5 für eine C_1 bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{10}-Alkenylgruppe steht, reagieren lässt.

6) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel XXIII gemäss Anspruch 5 mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) gemäss Anspruch 5 bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysatoren umsetzt.

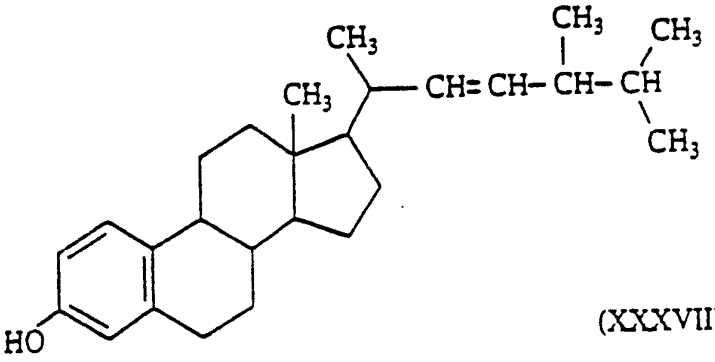
7) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (XIII), (XIV) oder (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVI) :

$$R_7 - COOH \quad (XXXVI)$$

worin R_7 eine C_4 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_4 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem der Sterole der Formeln (XXXV) oder (XXXVII) :



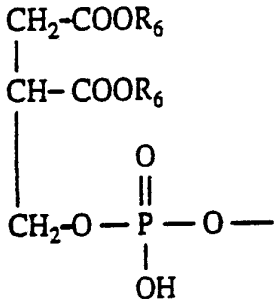
(XXXV)



(XXXVII)

bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysators umsetzt.

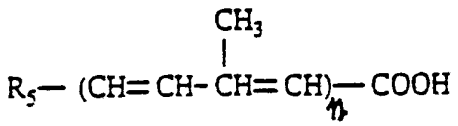
8) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XII) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXIX) :



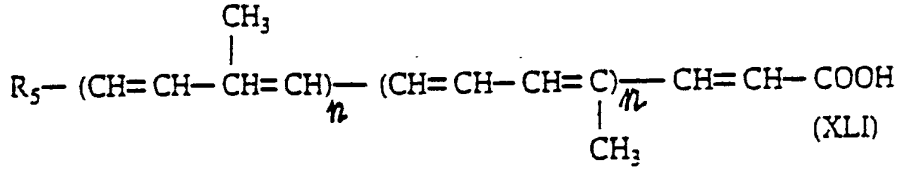
(XXXIX)

worin R_6 eine C_1 bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, in einem inerten Lösungsmittel mit Pivaloylchlorid umsetzt und dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) reagieren lässt.

9) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XII) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) in einem inerten Lösungsmittel unter Zusatz von Phosphortrichlorid und Imidazol reagieren lässt und das dabei entstandene, gereinigte und getrocknete Hydrogenphosphonat unter Zusatz von Pivaloylchlorid bei einer Temperatur von 20°C mit einer Verbindung der Formeln (XL), (XLI) oder (XLII) umsetzt:



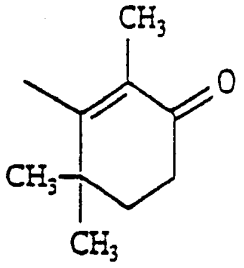
(XL)

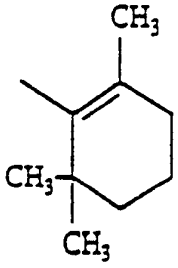


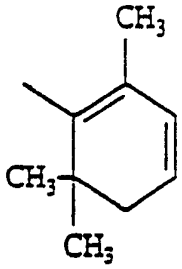
(XLI)

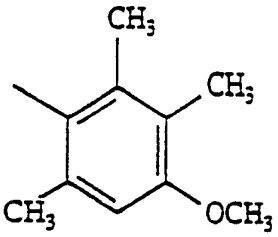
R 6 - OH (XLII)

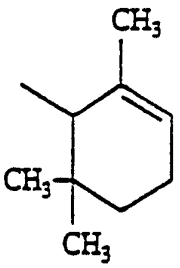
worin n die Zahlen 1,2,3 oder 4 meint und R_5 für die Radikale der folgenden Formeln:

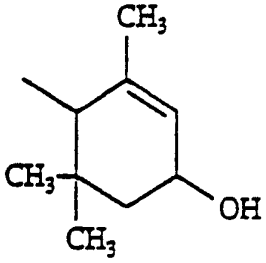


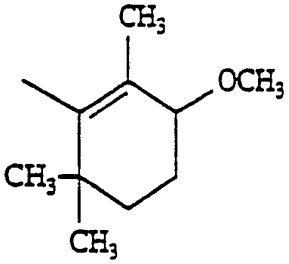


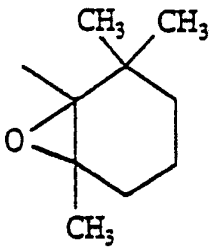


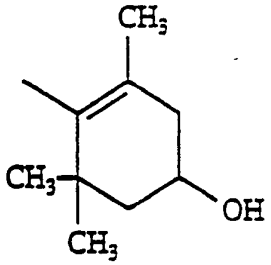


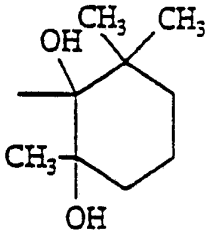


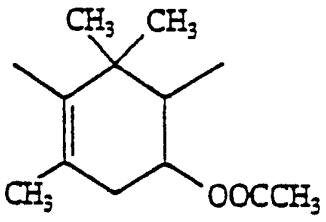


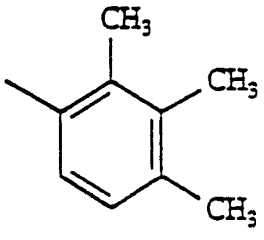


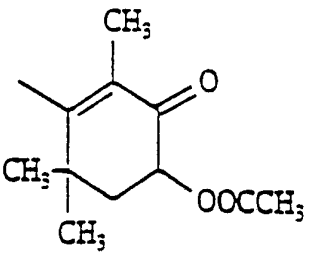




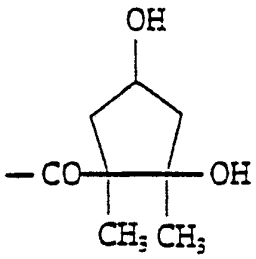








oder



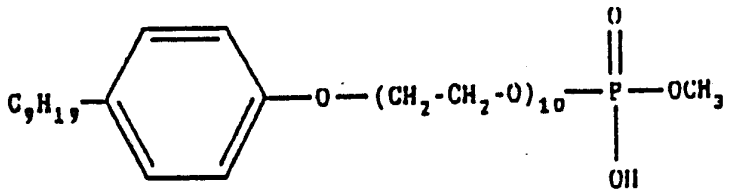
steht und R_6 eine C_4 bis C_{32}-Aklyl- oder eine C_4 bis C_{32}-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt.

10) Ein spontan dispergierbares Konzentrat, dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente
0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie
0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches
0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches
0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,
0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

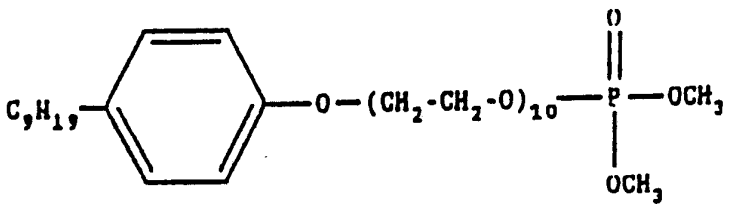
11) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet,dass es als antitumorale Komponente
0,001 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie
0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches
0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches
0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,
0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

12) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass das pharmaverträgliche Tensid oder Tensidgemisch anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen, vorzugsweise nicht-ionogen, ist und ein hydrophiles-lipophiles Verhältnis zwischen 2 - 6 einerseits und 10 bis 15 anderseits hat und dass das Hydrotrop, bzw. der Co-Emulgator ein aliphatischer Carbonsäureester oder Neutralöl ist.

13) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 12 dadurch gekennzeichnet, dass es 7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder eines Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, sowie
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl
22,5 bis 42,5 Gewichts-% eines Mischemulgators bestehend aus je 50 % der beiden Verbindungen mit Formel



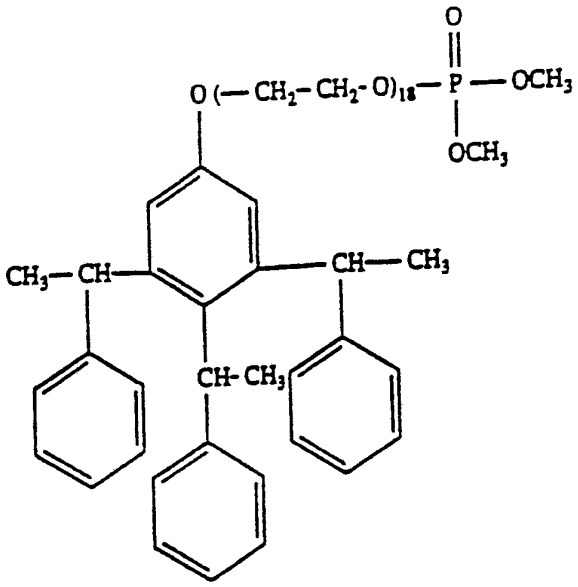
und



und 22,5 bis 42,5 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.

14) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es
7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss

Anspruch 1, sowie
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl
22,5 bis 42,5 Gewichts-% eines Emulgators der Formel



und 22,5 bis 42,5 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.

15) Ein therapeutisches Systempräparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 11 enthält und welches in Dosis-Einheitsform als Micropellets, Granulat, Dragées, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.

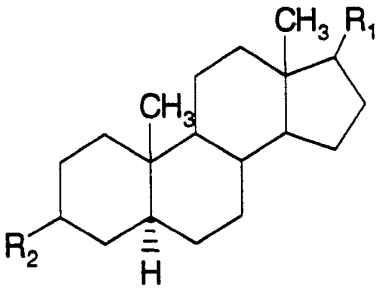
16) Die Verwendung von Sterolestern, bzw. Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, sowie der spontan dispergierbaren Konzentrate gemäss Anspruch 11 zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen.

GEÄNDERTE ANSPRÜCHE

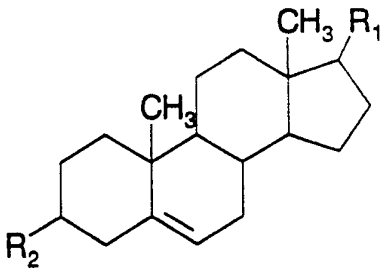
[beim Internationalen Büro am 02. März 1992 (02.03.92) eingegangen; ursprüngliche Ansprüche 9,10-13,14-17,1,2,4,5,7 und 8 durch geänderte Ansprüche 1,3-6,8-11,12,13,14,15,17 und 18 ersetzt; neue Ansprüche 2,7,12,13 und 16 hinzugefügt (22 Seiten)]

1) Ein spontan dispergierbares Konzentrat, welches als Antitumorkomponente

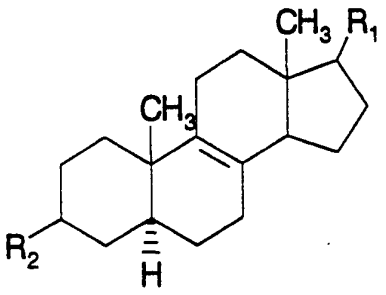
0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. Sterolphosphatides der Formeln (I) bis (XV), bzw. einer Kombination solcher Komponenten



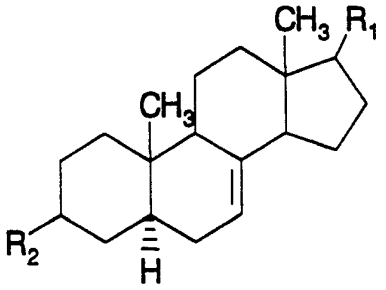
(I)



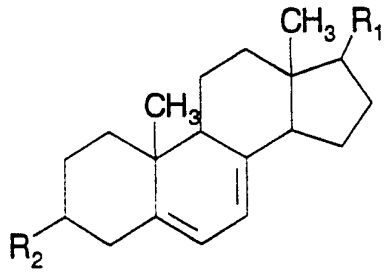
(II)



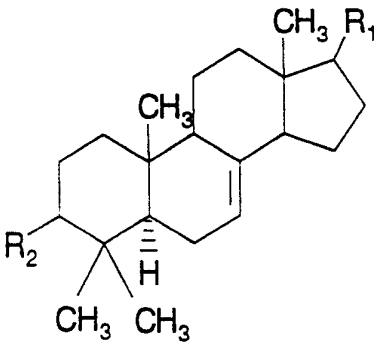
(III)



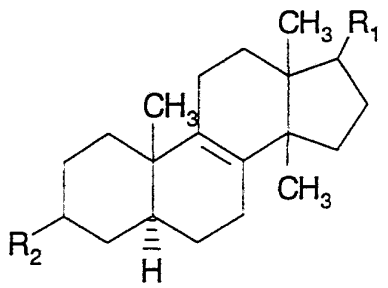
(IV)



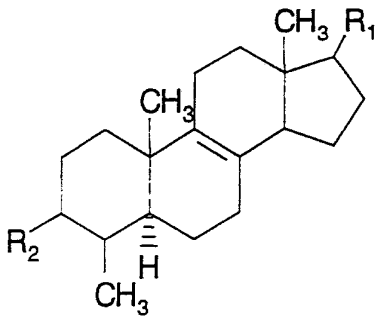
(V)



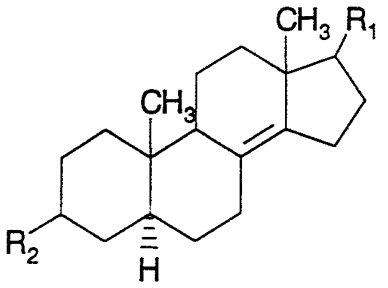
(VI)



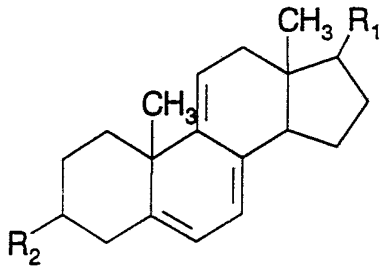
(VII)



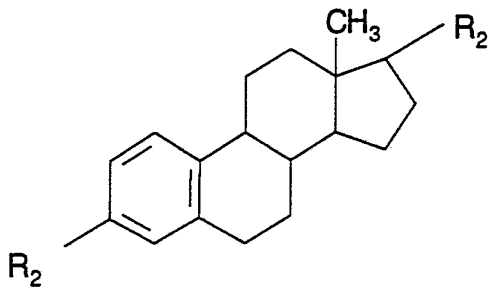
(VIII)



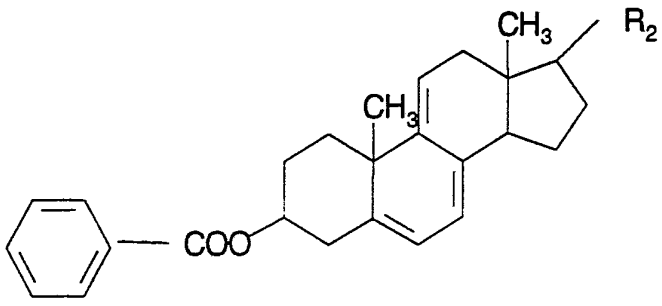
(IX)



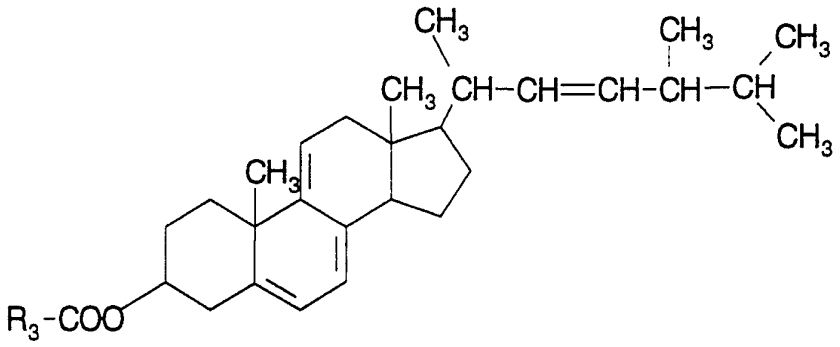
(X)



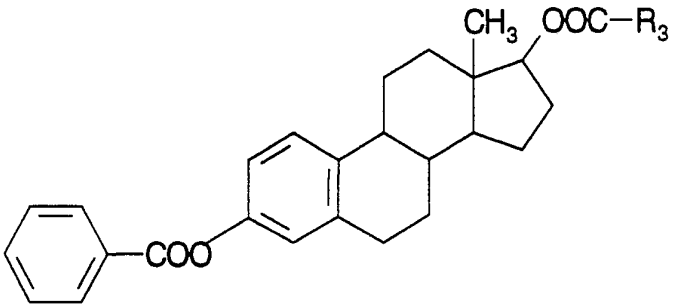
(XI)



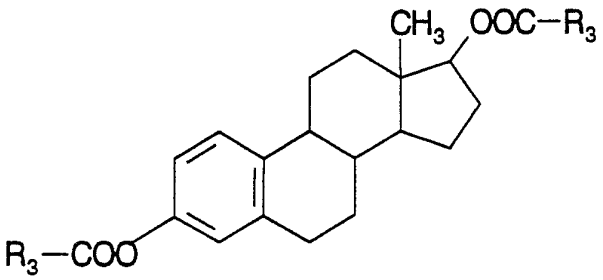
(XII)



(XIII)

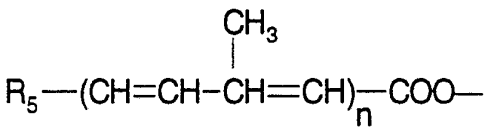


(XIV)

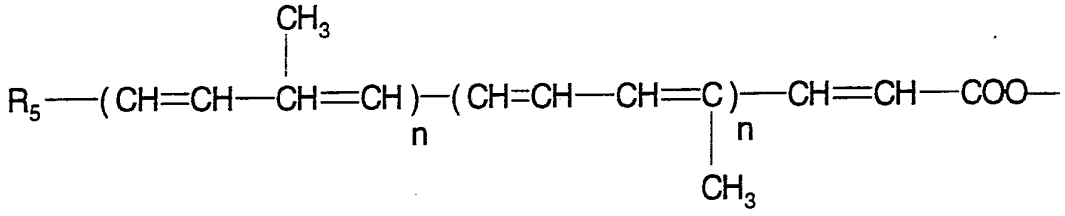


(XV)

wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal R_1 eine C_1 -bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2 -bis C_{10}-Alkenylgruppe und das Radikal R_2 in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) oder (XVII) ist

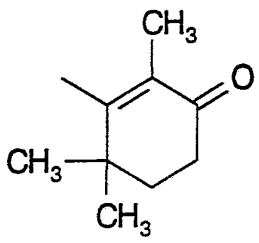


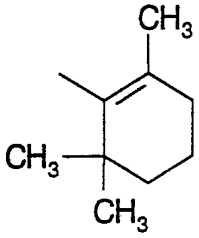
(XVI)

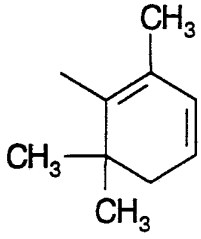


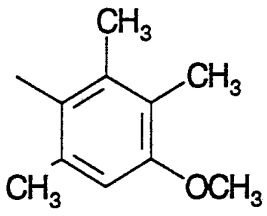
(XVII)

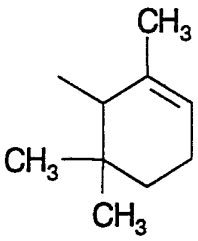
worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R_5 für ein Radikal der Formeln:

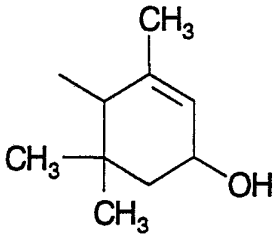


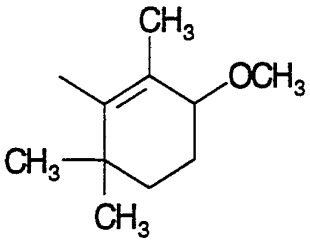


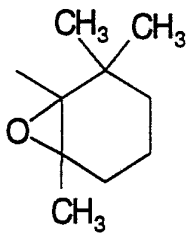


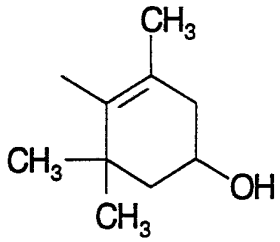


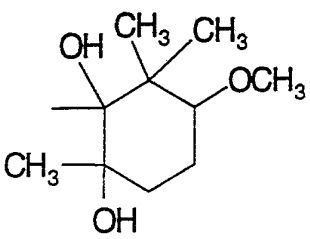


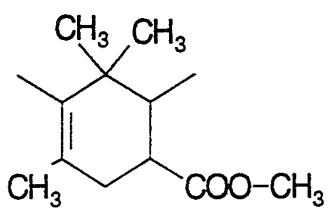


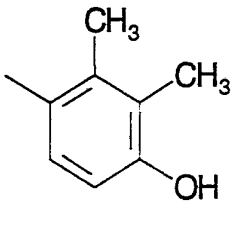


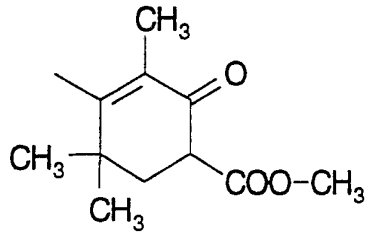




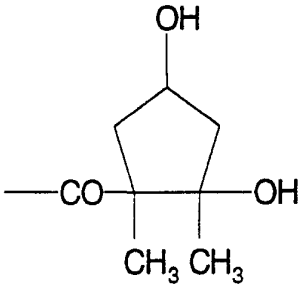




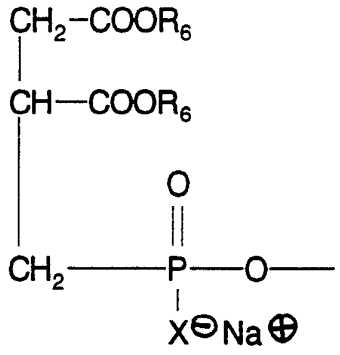




oder



steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) darstellt



(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel oder Selen bedeuten, und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4- bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4- bis C_{32}- Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkahexaene oder Alkaheptaene) steht, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

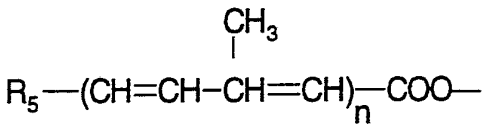
0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

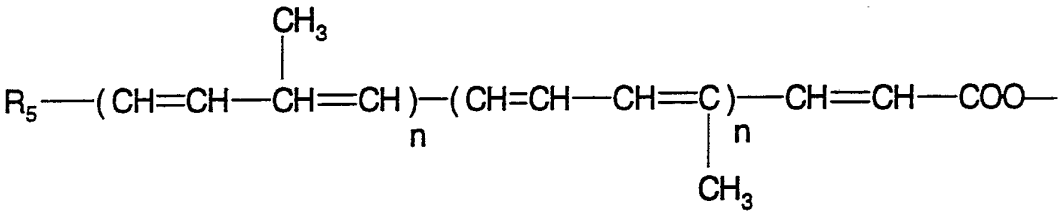
0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

2) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1), dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente

0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (XA) und (XI) bis (XIII), bzw. einer Kombination solcher Komponenten enthält, wobei R_1 in den Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (XA) und (XI) bis (XIII) eine C_1- bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{10}-Alkenyl-Gruppe bezeichnet und R_2 in den Formeln (I) bis (XII) für eine Gruppe der Formeln (XVI), bzw. (XVII) steht

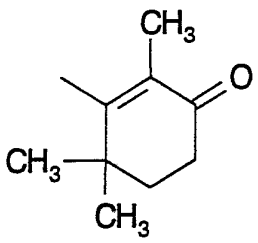


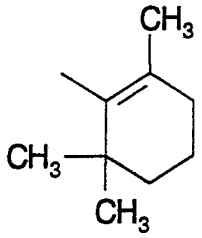
(XVI)

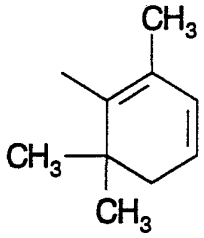


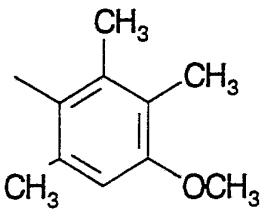
(XVII)

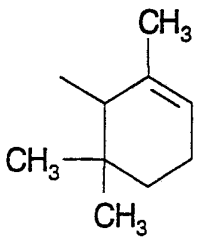
worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R_5 für ein Radikal der Formeln:

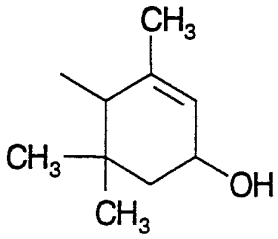


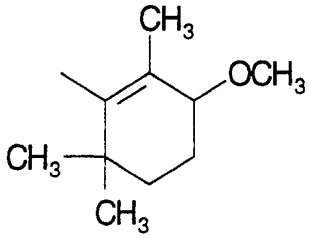


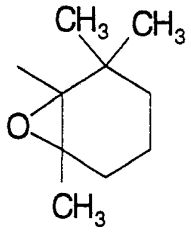


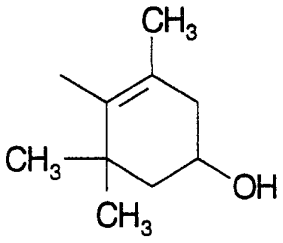


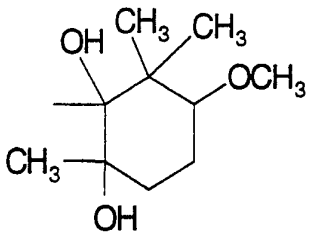


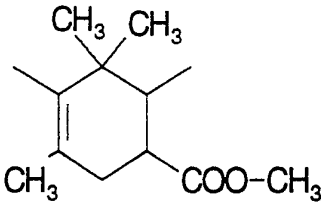


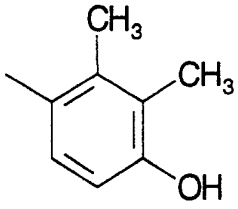


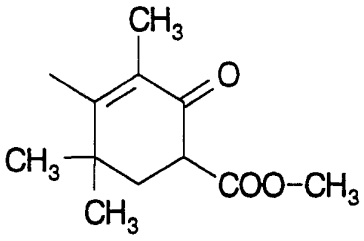




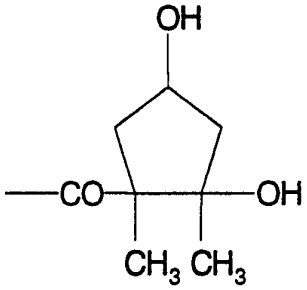




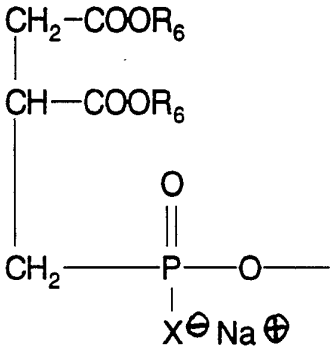




oder

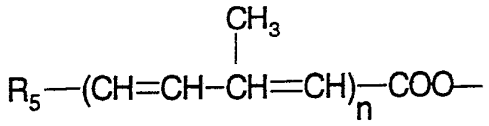


steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) darstellt

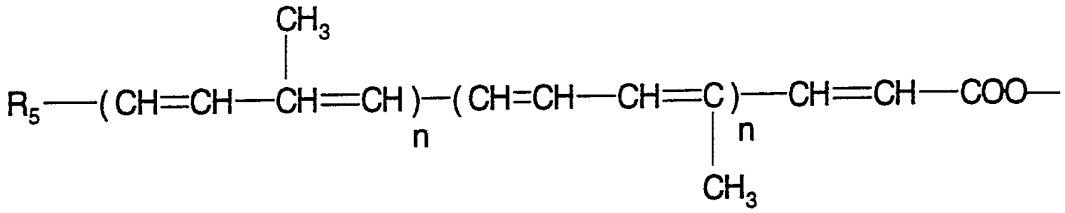


(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel oder Selen bedeuten, und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4- bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4- bis C_{32}- Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe eingesetzt ist und in den Formeln (IIA), (VA) und (XA) R_4 eine Gruppe der Formeln (XVI) bzw. (XVII) darstellt



(XVI)



(XVII)

mit der Massgabe, dass für die Formel nicht Cholest-5-en-3-all trans-Retinat stehen kann, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

3) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss dem Anspruch 1), dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente

0,001 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

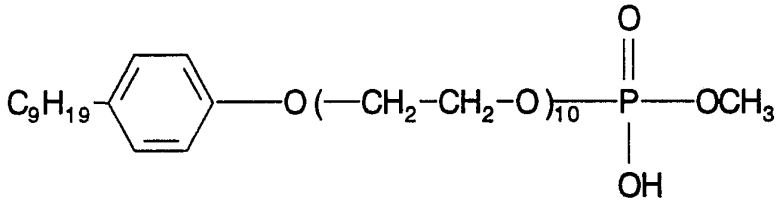
0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

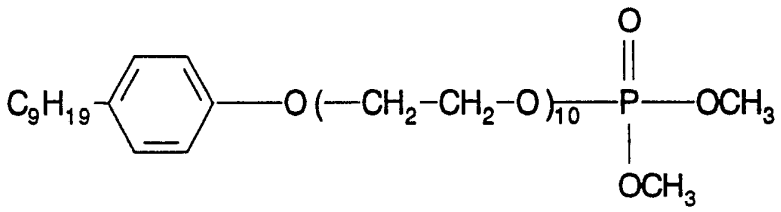
0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

4) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 3), dadurch gekennzeichnet, dass das pharmaverträgliche Tensid oder Tensidgemisch anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen, vorzugsweise nicht-ionogen, ist und ein hydrophiles-lipophiles Verhältnis zwischen 2 - 6 einerseits und 10 bis 15 anderseits hat und dass das Hydrotrop, bzw. der Co-Emulgator ein aliphatischer Carbonsäureester oder ein Neutralöl ist.

5) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 4) dadurch gekennzeichnet, dass es
7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), sowie
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl
20 bis 45 Gewichts-% eines Emulgators der Formel

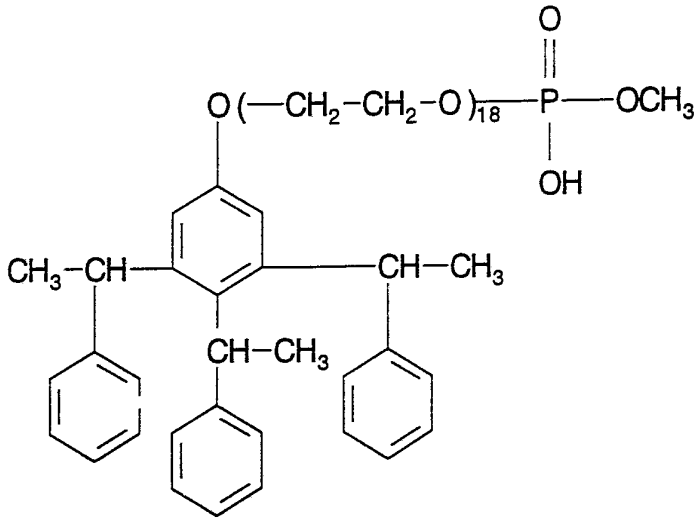


und



und 20 bis 45 Gesichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 bis 10 Oxyäthylengruppen enthält.

6) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 4) dadurch gekennzeichnet, dass es
7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder eines Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), sowie
0 bis 40 Gesichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl
20 bis 45 Gewichts-% eines Emulgators der Formel



und 20 bis 45 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.

7) Ein pharmazeutisches Präparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates laut Anspruch 1) enthält und überdies bis zu 10 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Zusatzstoffes, Lösemittels oder Stabilisators, oder eines Gemisches davon.

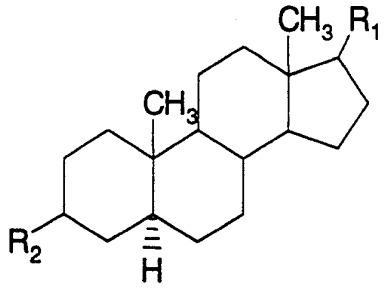
8) Ein therapeutisches Systempräparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 1) enthält, und welches in Dosis-Einheitsform als Micropellets, Granulat, Dragées, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.

9) Ein therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 8), welches 44 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung, 25 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates und 31 Teile magensaftresistente und retardierende Beschichtung mit Hydroxylpropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat enthält.

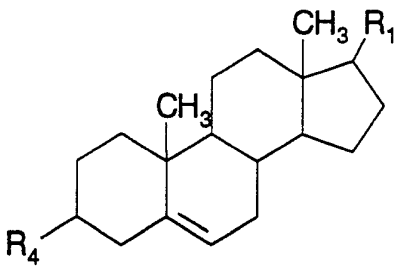
10) Ein therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 8), welches 64 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung und 36 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates enthält und in pharmazeutisch geeignete Kapseln aus Hydroxylpropyl-Methylcelluose-Acetat-Succinat abgefüllt wird.

11) Die Verwendung der spontan dispergierbaren Konzentrate und Präparate laut den Ansprüchen 1) bis 10) zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen.

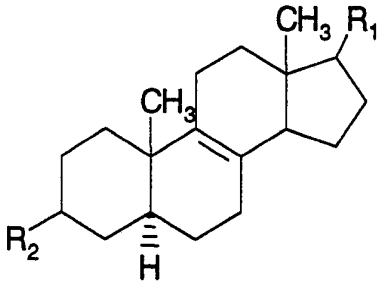
12) Sterolester und Sterolphosphatide der Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII)



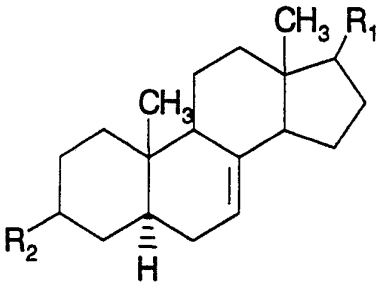
(I)



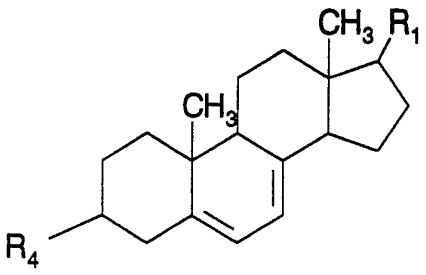
(IIA)



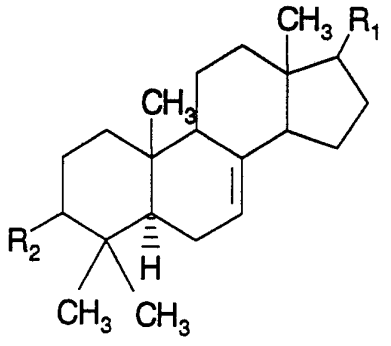
(III)



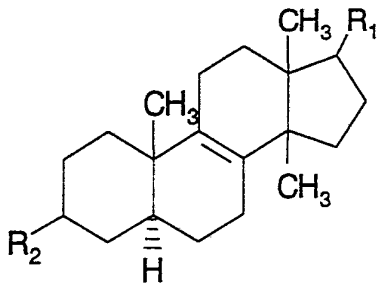
(IV)



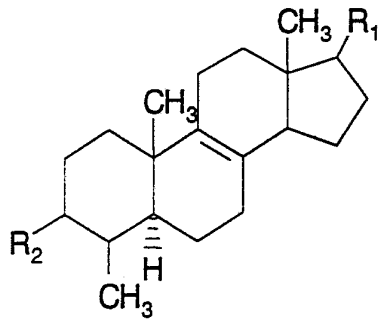
(VA)



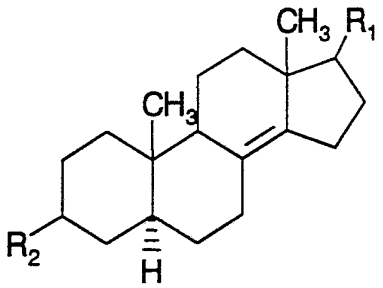
(VI)



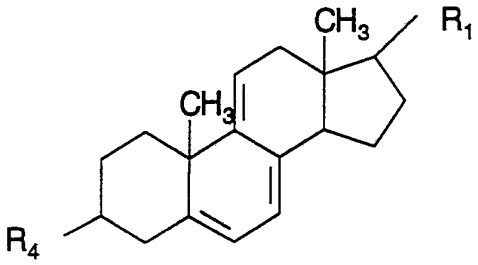
(VII)



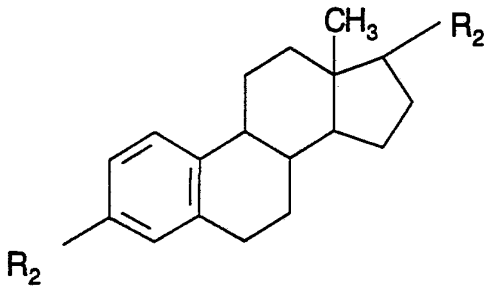
(VIII)



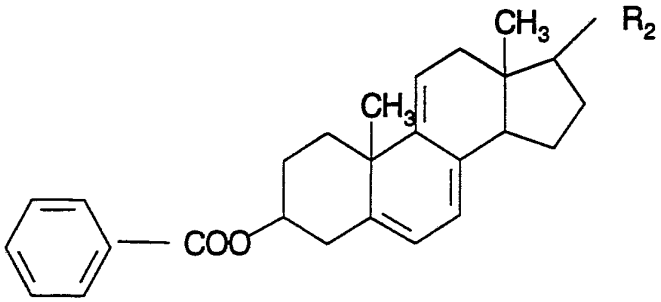
(IX)



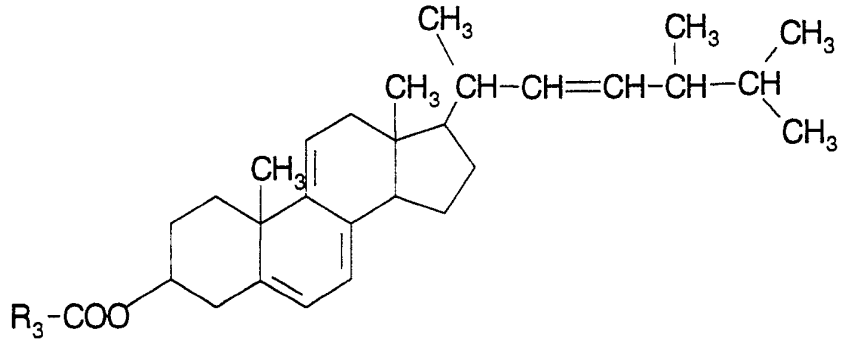
(XA)



(XI)

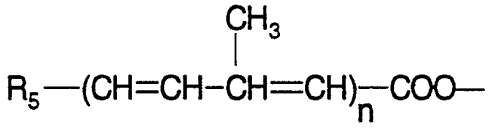


(XII)

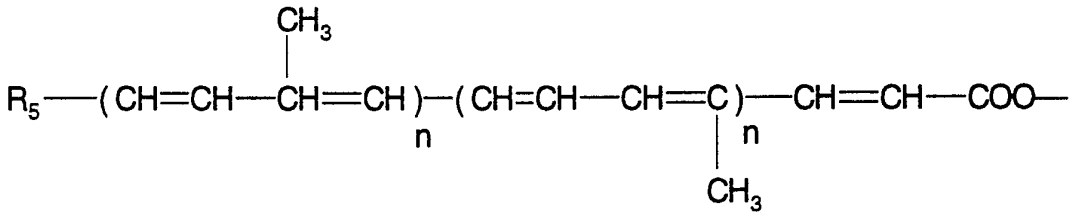


(XIII)

wobei in den Formeln (I) bis (XA) R_1 eine C_1- bis C_{10}-Alkyl oder eine C_2-bis C_{10}-Alkenyl-Gruppe bezeichnet, und in den Formeln (I) bis (XII) R_2 für eine Gruppe der Formeln (XVI) bzw. (XVII) steht :

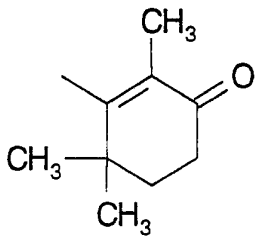


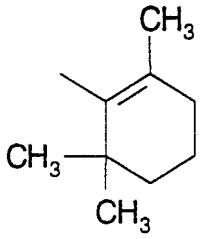
(XVI)

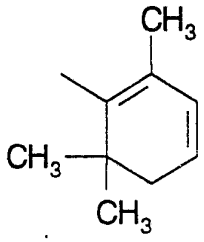


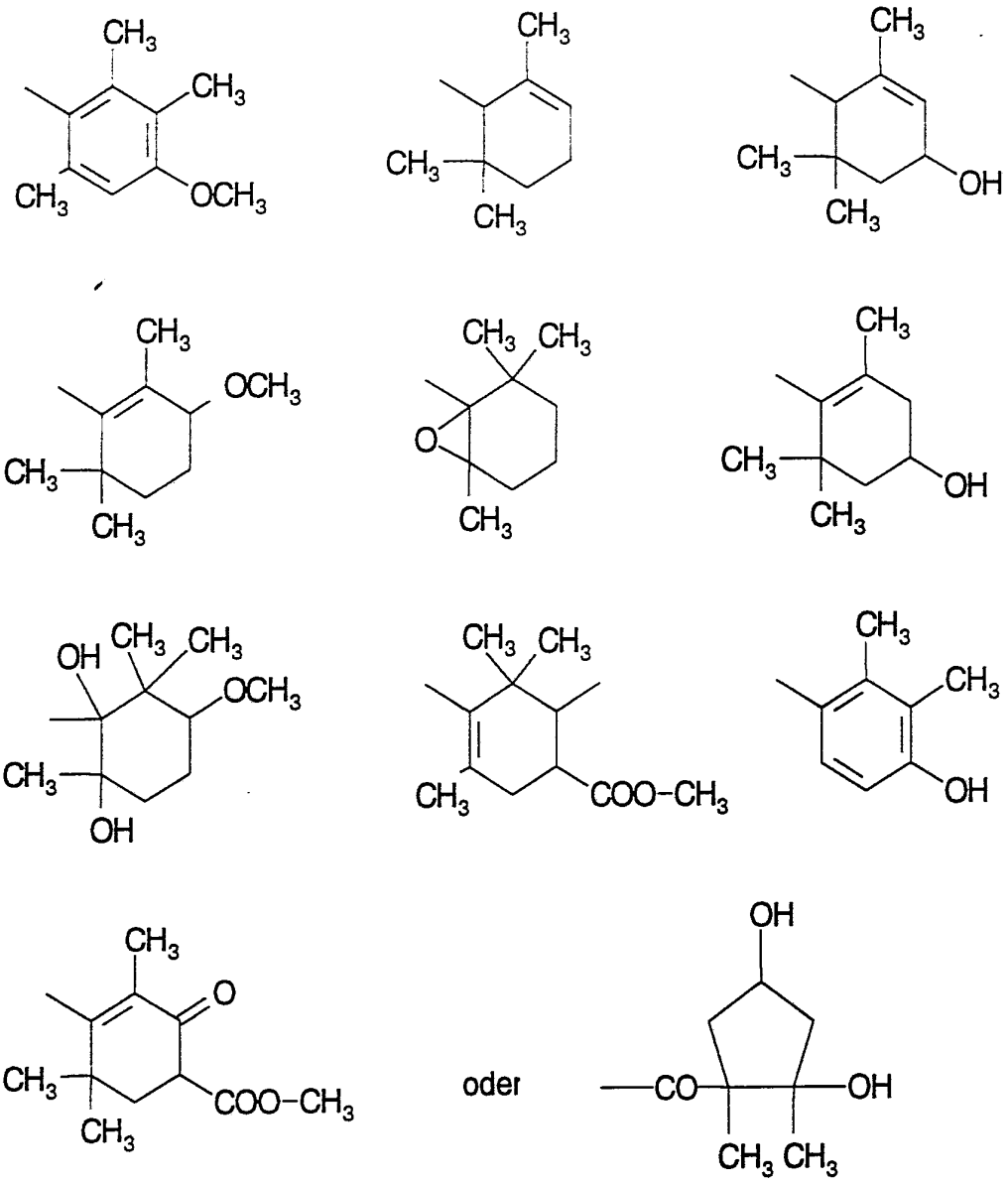
(XVII)

worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R_5 für ein Radikal der Formeln:



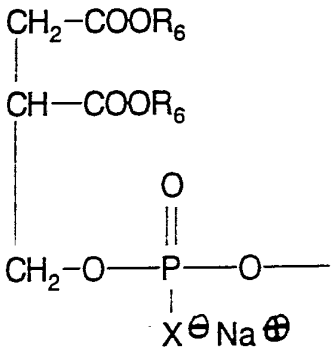






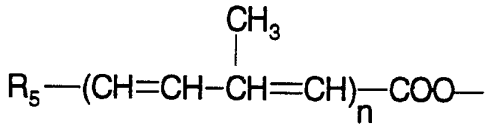
oder

steht oder die Gruppe mit Formel (XVIII) darstellt :

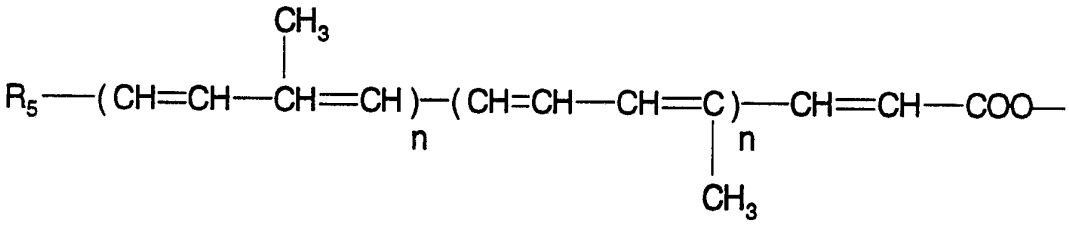


(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff, Schwefel oder Selen bedeuten , und wobei R_3 in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C_4- bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4- bis C_{32}- Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht und R_4 in den Formeln (IIA), (VA) und (XA) eine Gruppe gemäss Formeln (XX), bzw. (XXII) bestimmt :



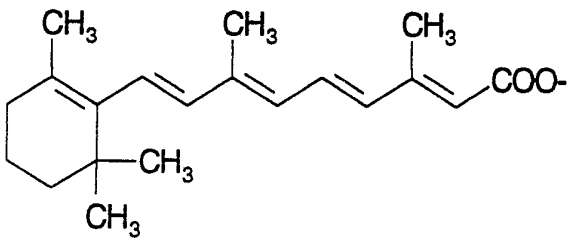
(XX)



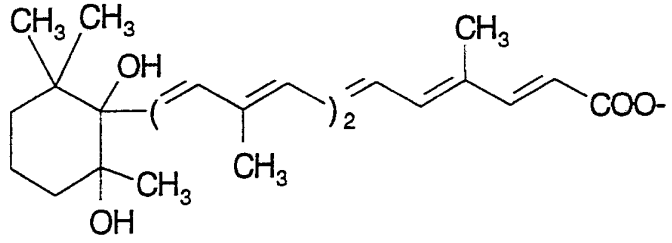
(XXII)

mit der Massgabe, dass für die Formel (IIA) nicht Cholest-5-en-3-all trans-Retinat stehen kann.

13) Ein Verbindung laut Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass in den Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX) und (XA) das Radikal R_1 eine C_1- bis C_{10}-Alkyl-, bzw. eine C_2- bis C_{10}-Alkenylgruppe bestimmt und das Radiakl R_2 in den Formeln (I), (III), (IV), (VI) bis (IX), (XI) und (XII) eine Verbindung der Formeln (XX), bzw (XXII) vertritt

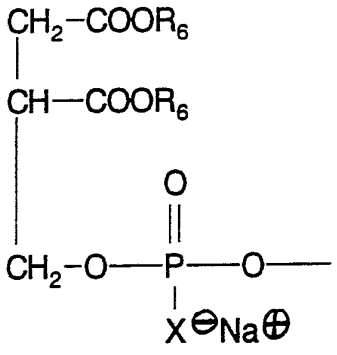


(XX)



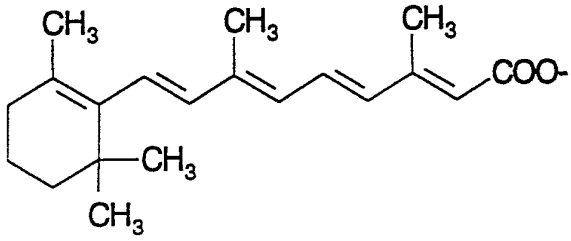
(XXII)

oder eine Gruppe gemäss Formel (XVIII) bezeichnet:

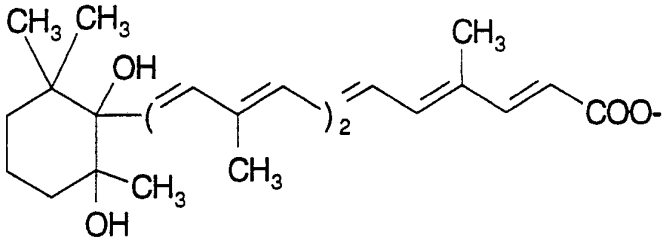


(XVIII)

in welcher R_6 eine C_1- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten , und wobei R_3 in der Formel (XIII) für eine C_4- bis C_{32}-Alkylgruppe oder eine C_4- bis C_{32}-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht und R_4 in den Formeln (IIA), (VA) und (XA) eine Gruppe gemäss den Formeln (XX) oder (XXII) ist



(XX)



(XXII)

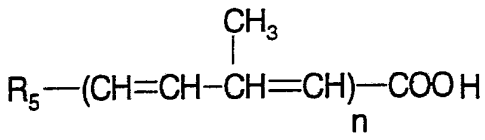
mit der Massgabe, dass für die Formel (IIA) nicht Colest-5-en-3-all-trans-Retinat stehen kann.

14) Die Verbindungen

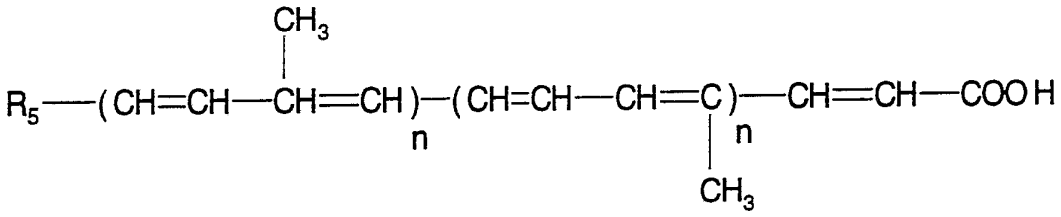
Stigmasterol-all-trans-retinat
Stigmasterol-13-cis-retinat
Ergosterol-all-trans-retinat
Ergosterol-13-cis-retinat
Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid
Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid
Ergosterol-1,2,-dipalmitoyl-glycero-phosphatid
Ergosterolcrotonat
Ergosterolcaproylat
Ergosterol-10-undecenoat
Ergosterollaurat
Ergosterol-trans-2-dodecenoat
Ergosterolpalmitat
Ergosterololeat
Ergosterollinoleat
Ergosterollinolenat
Estradiol-3,17-di-all trans-retinat
Estradiol-3-benzoate-17-all trans-retinat

laut Anspruch 13).

15) Ein Verfahren zur Herstellung der Sterolester gemäss den Formeln (I) (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII) laut Anspruch 12), darin bestehend, dass man eine Verbindung der Formeln (XXIII), bzw. (XXIV)

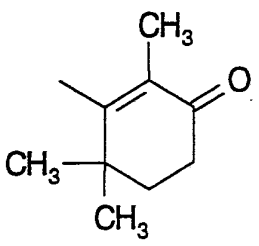


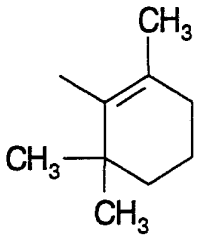
(XXIII)

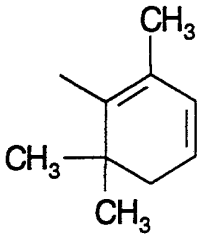


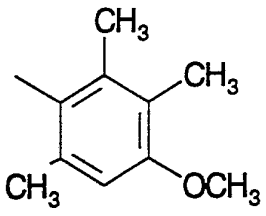
(XXIV)

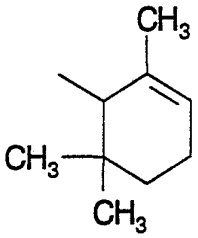
worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bedeutet und R_5 für ein Radikal der folgenden Formeln

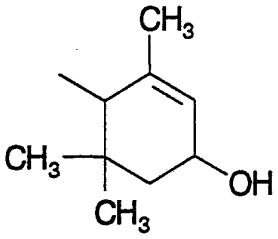


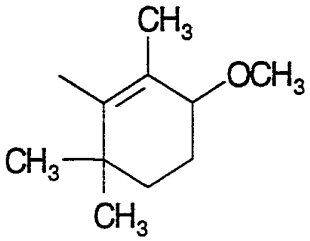


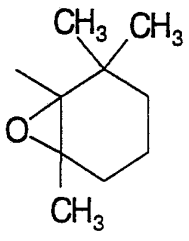


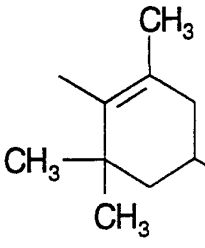


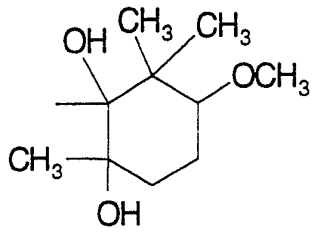


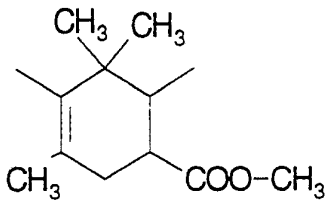


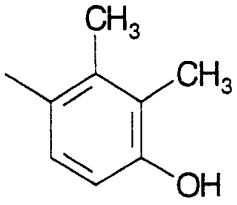


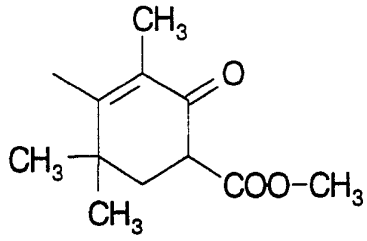




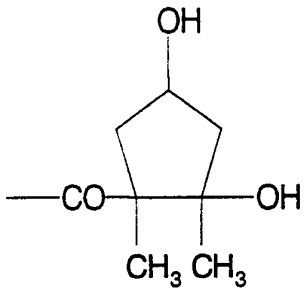




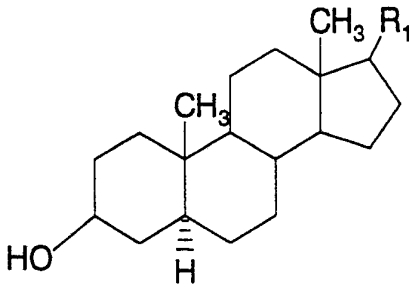




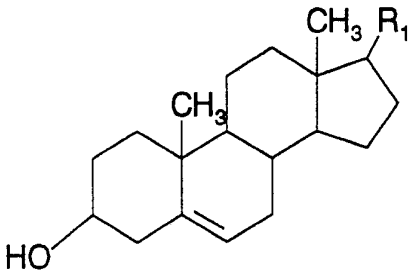
oder



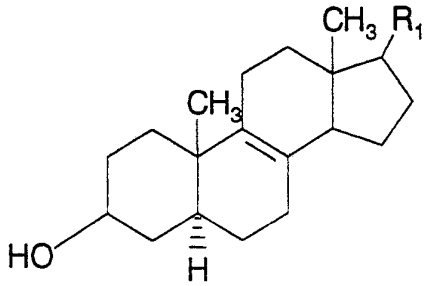
steht, mit N,N'-Carbonyldiimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem indifferenten Lösungsmittel umsetzt und anschliessend das entstandene Imidazolat mit einem Sterol der folgenden Formeln (XXV) bis (XXXVII) reagieren lässt



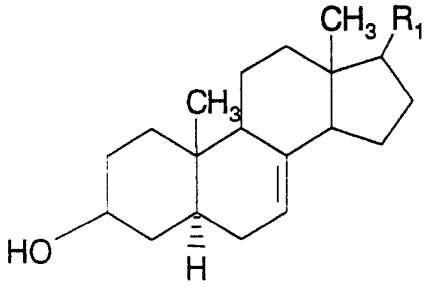
(XXV)



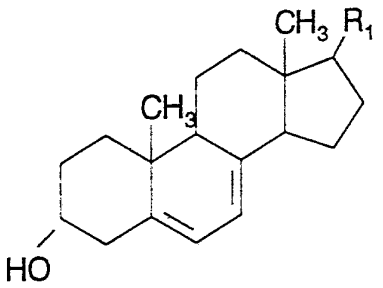
(XXVI)



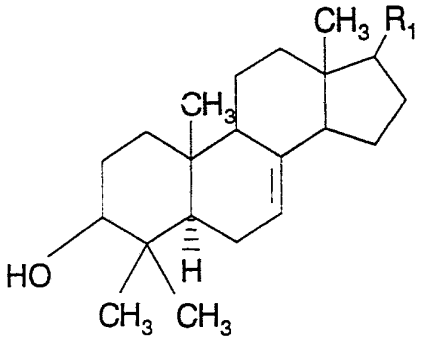
(XXVII)



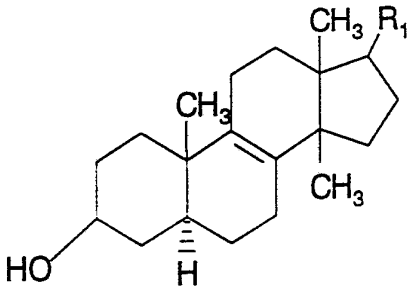
(XXVIII)



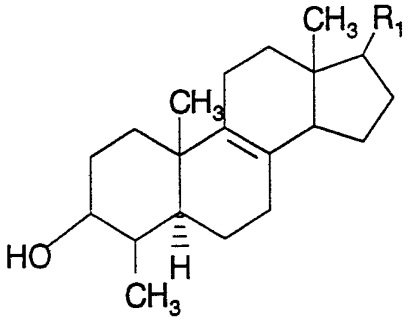
(XXIX)



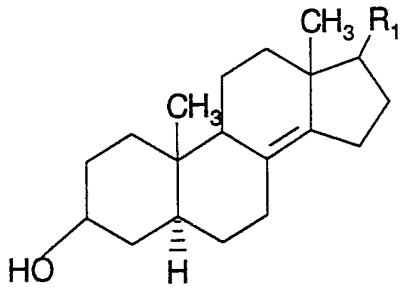
(XXX)



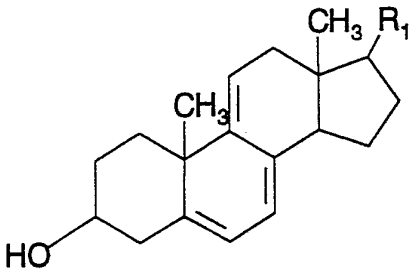
(XXXI)



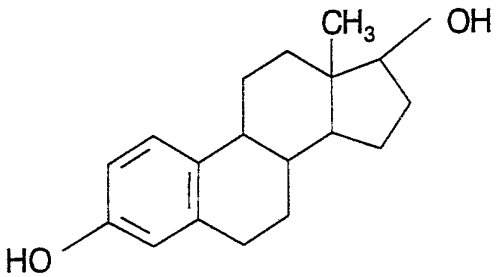
(XXXII)



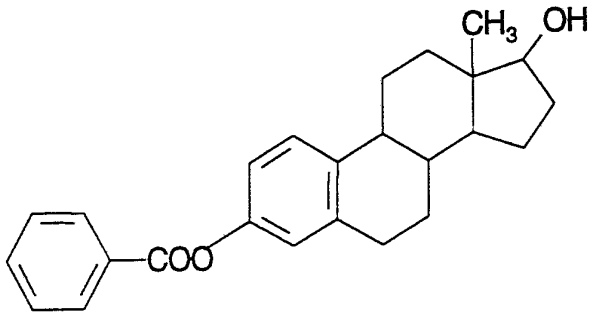
(XXXIII)



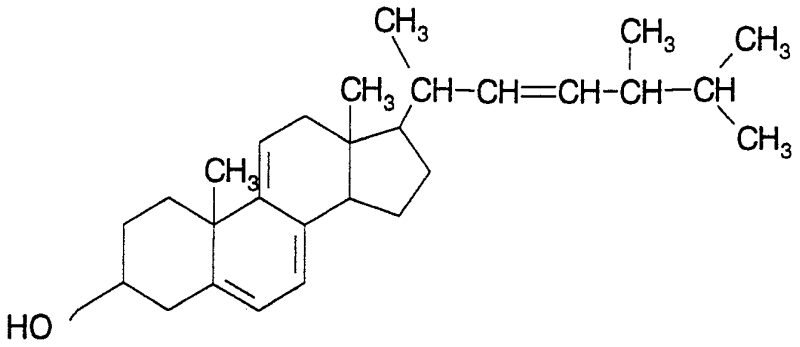
(XXXIV)



(XXXV)



(XXXVI)



(XXXVII)

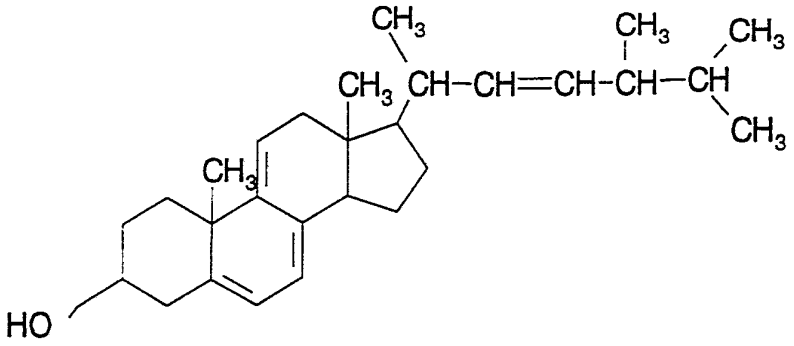
wobei in den Formeln (XXV) bis (XXXIV) das Radikal R_1 eine C_1- bis C_{10}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{10}-Alkenylgruppe ist.

16) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I). (IIA), (III), (IV). (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII) gemäss Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXIII) mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysatoren umsetzt.

17) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formel (XIII), laut Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVI)

$$R_7 - COOH \quad (XXXVI)$$

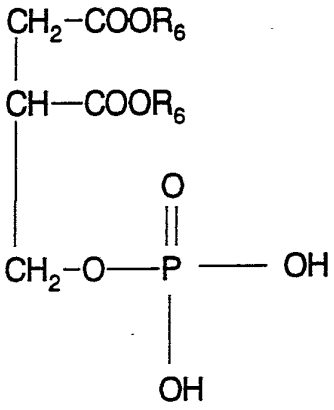
worin R_7 eine C_4- bis C32-Alkyl- oder eine C_4- bis C32-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem der Sterole der Formel (XXXVII)



(XXXVII)

bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysators umsetzt.

18) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I), (III), (IV), (VI) bis (IX) und (XI) bis (XIII) gemäss Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVIII)

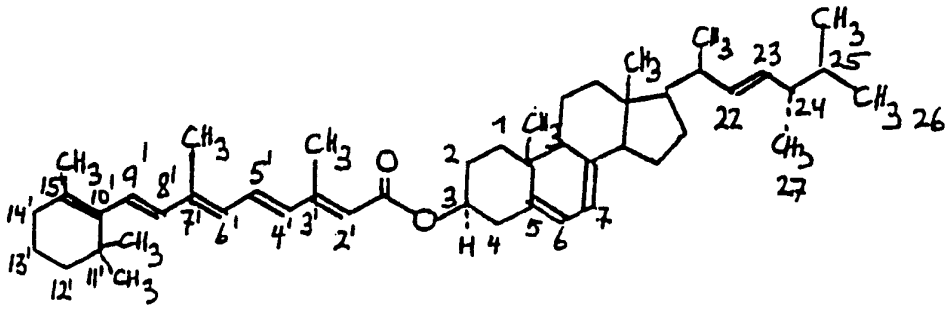


(XXXVIII)

worin R_6 eine C_1- bis C_{32}-Alkyl- oder eine C_2- bis C_{32}- Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, in einem inerten Lösungsmittel mit Pivaloylchlorid umsetzt und dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXIV) und (XXXVII) reagieren lässt.

ERGOSTEROL-3β-all trans-RETINAT

N M R SPECTRUM (BRUKER AM-360 SPECTROMETER)



Chemical shift in ppm vs. TMS*)	Multiplicity **)	Number of protons	Assignments
7.26	s	solvent	$\underline{C}HCl_3$
7.0	d , d	1	H-5'
6.27	m	2	H-4' + H-8'
6.15	d	1	H-9'
6.10	d	1	H-6'
5.75	s	1	H-2'
5.57	m	1	H-6
5.38	m	1	H-7
5.25 ... 5.13	m	2	H-22 + H-23
4.75	m	1	H-3α
2.35	s (m)	3	$-CH_3$ (C-3')
2.0	s (m)	3	$-CH_3$ (C-7')
1.70	s (m)	3	$-CH_3$ (C-15')
1.25 + 1.0	s + s	6	$-C<^{CH_3}_{CH_3}$ (C-11')
1.03 + 0.91	d + d	6	sec. CH_3 (C-20 + C-24)
0.96	s	3	$-CH_3$-19
0.83 + o.82	d + d	6	$-CH<^{CH_3\ 26}_{CH_3\ 27}$
0.63	s	3	$-CH_3$-18
2.5 ... 0.7	m	remaining protons	

*) TMS = Tetramethylsilane
**) s: singlet ; d: doublet ; m: multiplet

Fig. 1

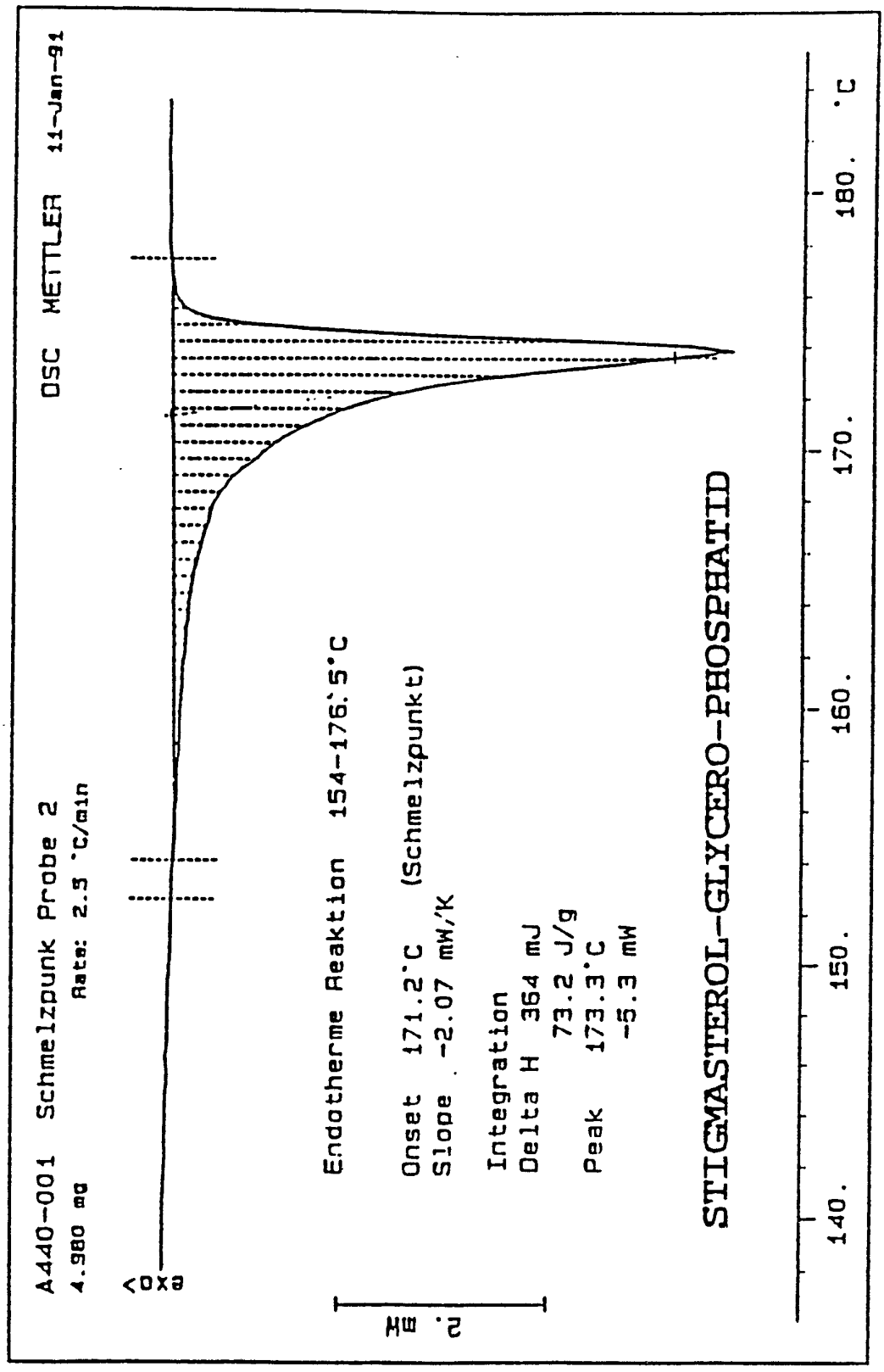
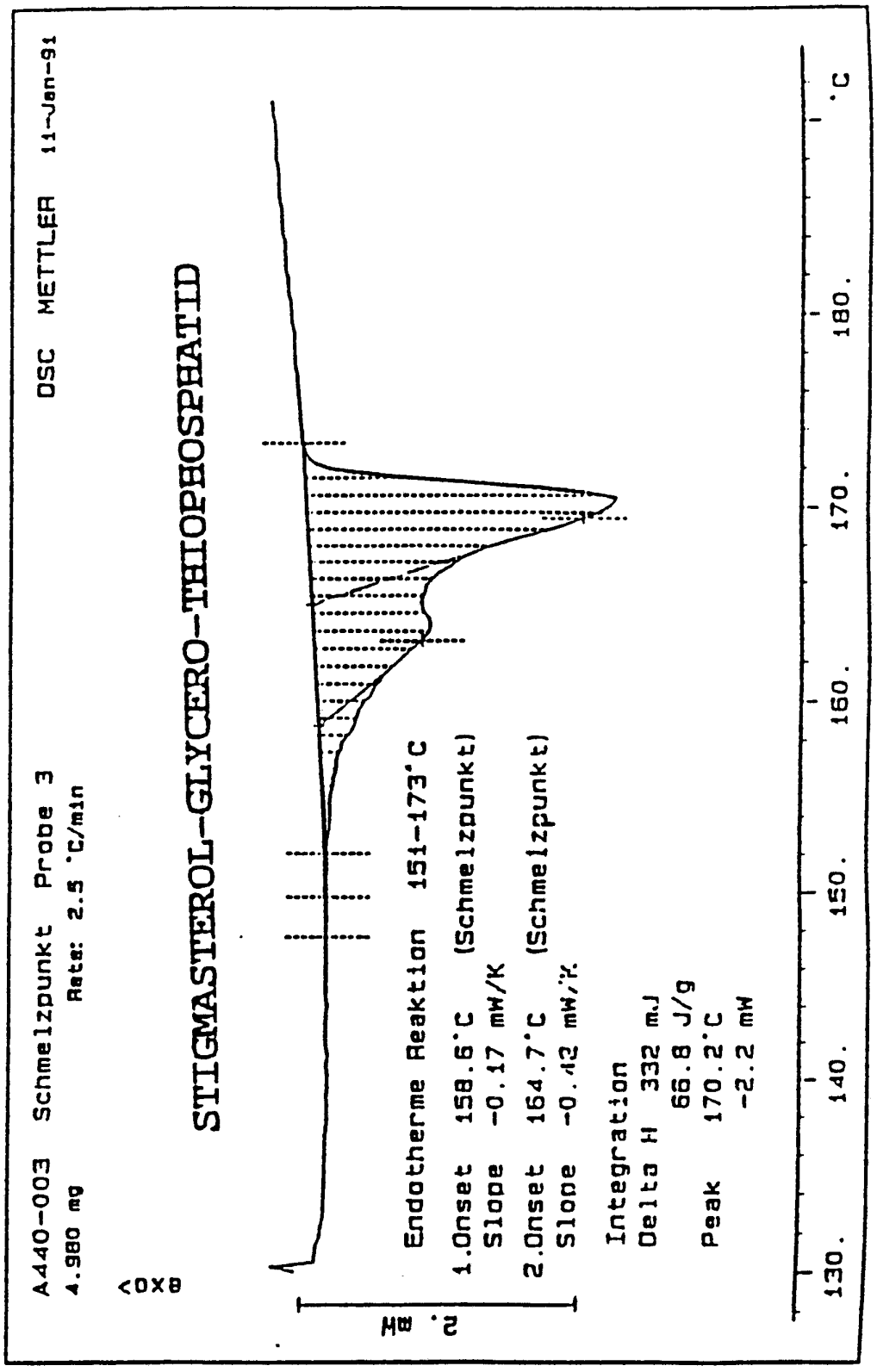

SCHMELZBEREICH-MESSUNG
D S C = Density Scanning Calorimetry
A440-001 Schmelzpunk Probe 2
4.980 mg
Rate: 2.5 °C/min
DSC METTLER 11-Jan-91
exo>
Endotherme Reaktion 154-176.5°C
Onset 171.2°C (Schmelzpunkt)
Slope -2.07 mW/K
Integration
Delta H 364 mJ
73.2 J/g
Peak 173.3°C
-5.3 mW
mW
STIGMASTEROL-GLYCERO-PHOSPHATID
140.
150.
160.
170.
180.
°C

Fig. 2

Fig. 2

Fortsetzung



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/CH 91/00221

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int. Cl.[5] C07J9/00; C07J51/00; A61K31/56

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [7]

Classification System	Classification Symbols
Int. Cl.[5]	C07J ; A61K

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [9]

Category [10]	Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12]	Relevant to Claim No. [13]
X	US,A,4 190 594 (JOHNSON AND JOHNSON) 26 February 1980 see example 2	1-3,6
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS vol. 20, No. 2, 1977, UTRECHT NL pages 131 - 139; T. MURAMATSU ET AL: 'Synthesis of Phospholipids. III. Synthesis of 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glyceryl-3-Phosphoryl-3$_9$Beta-Cholesterol and 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glyceryl-3-Phosphoryl-20$_9$-(3-Beta-Hydroxy Norpregn-5-ene)' see the whole document	1-3

./.

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
29 January 1992 (29.01.92)	5 February 1992 (05.02.92)
International Searching Authority	**Signature of Authorized Officer**
EUROPEAN PATENT OFFICE	

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS vol. 23, No. 1, 1979, UTRECHT NL pages 7 - 12; I. HARA ET AL: 'Immunochemical Properties of Phosphatidyl Cholesterol and its Homologue' see the whole document	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA vol. 775, No. 3, 5 September 1984, UTRECHT NL pages 426 - 434; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Lateral Interaction of Cholesterol in Diacylphosphatidylcholesterol Bilayers' see page 428	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA vol. 691, No. 2, 7 October 1982, UTRECHT NL pages 240 - 248; J. H. NOGGLE ET AL: 'Bilayers of Phosphatidyldiacylglycerol and Phosphatidylcholesterol Give 31P-NMR Spectra Characteristic for Hexagonal and Isotropic Phases' see page 247, column 1 - page 247, column 2	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHISICA ACTA vol. 600, No. 3, 14 August 1980, UTRECHT NL pages 678 - 688; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Phosphatidylcholesterol Bilayers A Model for Phospholipid-Cholesterol Interaction' see page 679 - 680	1-3
X	PHOSPHORUS AND SULFUR vol. 17, No. 1, 1983, pages 67 - 71; F. RAMIREZ ET AL: 'Covalent Models for Phospholipid-Sterol Interactions. Synthesis of P hosphatidyl-delta-5,7,9-Cholestatrien-3-beta-ol' see the whole document	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 97, No. 13, 27 September 1982, Columbus, Ohio, US; abstract No.110220, A. K. SINGH: 'A Convenient and Improved Method for The Preparation of Retinoates' page 634 ; column 2 ; see abstract & SYNTH. COMMUN. vol. 12, No. 6, 1982, pages 447 - 451;	1-3

./.

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	SYNTHESIS. No. 10, October 1977, STUTTGART DE pages 673 - 675; F. RAMIREZ ET AL: 'Synthesis of Phospholiposteroids. Phosphotidylcholesterol' see the whole article	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 100, No. 13, 26 March 1984, Columbus, Ohio, US; abstract No. 99762, M. M. GOMEZ ET AL: 'Effect of Sex Hormones on Junin Virus Replication' page 347 ; column 1 ; see abstract & COMUN. BIOL. vol. 2, No. 2, 1983, pages 161 - 166;	1,3,4
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 104, No. 9, 3 March 1986, Columbus, Ohio, US; abstract No. 62329, M. A. VAZQUEZ-ALCATARA ET AL: 'Synthesis and Biological Assessment of Long-Acting Estradiol Fatty Acid Esters in Overiectomized Rats' page 94 ;column 1 ; see abstract & J. STEROID BIOCHEM. vol. 23, No. 5A, 1985, pages 599 602;	1
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 112, No. 17, 23 April 1990, Columbus, Ohio, US; abstract No. 151977, M. A. VAZQUEZ-ALCATARA ET AL: 'Long Acting Estrogenic Responses of Estradiol Fatty Acid Esters' page 93 ;column 1 ; see abstract & J. STEROID BIOCHEM. vol. 33, No. 6, 1989, pages 1111 - 1118;	1
A	EP,A,0 375 349 (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 27 June 1990 see the whole document	1,10
P,X	WO,A,9 105 754 (MEDAFOR) 2 May 1991 see claims 1-13; example 5	1,10

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. CH 9100221 SA 52323

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 29/01/92
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4190594	26-02-80	US-A- 4108880	22-08-78
		BE-A- 847942	03-05-77
		CA-A- 1062700	18-09-79
		GB-A- 1543824	11-04-79
		NL-A- 7612201	05-05-77
EP-A-0375349	27-06-90	US-A- 5026882	25-06-91
		AU-A- 4703989	28-06-90
		CA-A- 2005214	23-06-90
		JP-A- 2215796	28-08-90
WO-A-9105754	02-05-91	FR-A- 2653117	19-04-91
		FR-A- 2658185	16-08-91
		EP-A- 0448697	02-10-91

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/CH 91/00221

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[6]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.Kl. 5 C07J9/00; C07J51/00; A61K31/56

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff [7]

Klassifikationssytem	Klassifikationssymbole
Int.Kl. 5	C07J ; A61K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen [8]

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN [9]

Art.°	Kennzeichnung der Veröffentlichung[11], soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile[12]	Betr. Anspruch Nr.[13]
X	US,A,4 190 594 (JOHNSON AND JOHNSON) 26. Februar 1980 siehe Beispiel 2 ---	1-3,6
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS Bd. 20, Nr. 2, 1977, UTRECHT NL Seiten 131 - 139; T. MURAMATSU ET AL: 'Synthesis of Phospholipids. III. Synthesis of 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glyceryl-3-Phosphoryl-3$_s$Beta-Cholesterol and 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glyceryl-3-Phosphoryl-20$_s$-(3-Beta-Hydroxy Norpregn-5-ene)' siehe das ganze Dokument --- -/--	1-3

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen [10] :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgefuhrt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder menreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
29.JANUAR 1992	05. 02. 92
Internationale Recherchenbehörde	**Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten**
EUROPAISCHES PATENTAMT	WATCHORN P.M. Peter Watchorn

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS Bd. 23, Nr. 1, 1979, UTRECHT NL Seiten 7 - 12; I. HARA ET AL: 'Immunochemical Properties of Phosphatidyl Cholesterol and its Homologue' siehe das ganze Dokument ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 775, Nr. 3, 5. September 1984, UTRECHT NL Seiten 426 - 434; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Lateral Interaction of Cholesterol in Diacylphosphatidylcholesterol Bilayers' siehe Seite 428 ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 691, Nr. 2, 7. Oktober 1982, UTRECHT NL Seiten 240 - 248; J. H. NOGGLE ET AL: 'Bilayers of Phosphatidyldiacylglycerol and Phosphatidylcholesterol Give 31P-NMR Spectra Characteristic for Hexagonal and Isotropic Phases' siehe Seite 247, Spalte 1 - Seite 247, Spalte 2 ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 600, Nr. 3, 14. August 1980, UTRECHT NL Seiten 678 - 688; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Phosphatidylcholesterol Bilayers A Model for Phospholipid-Cholesterol Interaction' siehe Seite 679 - Seite 680 ---	1-3
X	PHOSPHORUS AND SULFUR Bd. 17, Nr. 1, 1983, Seiten 67 - 71; F. RAMIREZ ET AL: 'Covalent Models for Phospholipid-Sterol Interactions. Synthesis of P hosphatidyl-delta-5,7,9-Cholestatrien-3-beta-ol' siehe das ganze Dokument ---	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 97, no. 13, 27. September 1982, Columbus, Ohio, US; abstract no. 110220, A. K. SINGH: 'A Convenient and Improved Method for The Preparation of Retinoates' Seite 634 ;Spalte 2 ; siehe Zusammenfassung & SYNTH. COMMUN. Bd. 12, Nr. 6, 1982, Seiten 447 - 451; ---	1-3

-/--

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SYNTHESIS. Nr. 10, Oktober 1977, STUTTGART DE Seiten 673 - 675; F. RAMIREZ ET AL: 'Synthesis of Phospholiposteroids. Phosphotidylcholesterol' Siehe das ganze Artikel	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 100, no. 13, 26. März 1984, Columbus, Ohio, US; abstract no. 99762, M. M. GOMEZ ET AL: 'Effect of Sex Hormones on Junin Virus Replication' Seite 347 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung & COMUN. BIOL. Bd. 2, Nr. 2, 1983, Seiten 161 - 166;	1,3,4
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 104, no. 9, 3. März 1986, Columbus, Ohio, US; abstract no. 62329, M. A. VAZQUEZ-ALCANTARA ET AL: 'Synthesis and Biological Assessment of Long-Acting Estradiol Fatty Acid Esters in Overiectomized Rats' Seite 94 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung & J. STEROID BIOCHEM. Bd. 23, Nr. 5A, 1985, Seiten 599 - 602;	1
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 112, no. 17, 23. April 1990, Columbus, Ohio, US; abstract no. 151977, M. A. VAZQUEZ-ALCANTARA ET AL: 'Long Acting Estrogenic Responses of Estradiol Fatty Acid Esters' Seite 93 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung & J. STEROID BIOCHEM. Bd. 33, Nr. 6, 1989, Seiten 1111 - 1118;	1
A	EP,A,0 375 349 (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 27. Juni 1990 siehe das ganze Dokument	1,10
P,X	WO,A,9 105 754 (MEDAFOR) 2. Mai 1991 siehe Ansprüche 1-13; Beispiel 5	1,10

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

CH 9100221
SA 52323

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 29/01/92
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US-A-4190594	26-02-80	US-A-	4108880	22-08-78
		BE-A-	847942	03-05-77
		CA-A-	1062700	18-09-79
		GB-A-	1543824	11-04-79
		NL-A-	7612201	05-05-77
EP-A-0375349	27-06-90	US-A-	5026882	25-06-91
		AU-A-	4703989	28-06-90
		CA-A-	2005214	23-06-90
		JP-A-	2215796	28-08-90
WO-A-9105754	02-05-91	FR-A-	2653117	19-04-91
		FR-A-	2658185	16-08-91
		EP-A-	0448697	02-10-91

EPO FORM P0473