

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2003 -2578

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.03.2002**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.03.2001**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2001/01250108**
(33) Země priority: **EP**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.12.2003**
(Věstník č. 12/2003)
(86) PCT číslo: **PCT/EP02/03148**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/079220**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 J 41/00
C 07 J 43/00
A 61 K 31/58
A 61 K 31/57
A 61 P 15/08

(71) Přihlašovatel:
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, Berlin, DE;
NOVO NORDISK A/S, Bagsvaerd, DK;

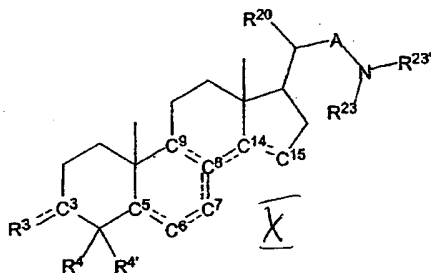
(72) Původce:
Blume Thorsten, Berlin, DE;
Esperling Peter, Berlin, DE;
Hegele-Hartung Christa, Mülheim/Ruhr, DE;

(74) Zástupce:
Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Steroidní sloučeniny, použití těchto sloučenin pro přípravu léčiv regulujících meiózu a způsob přípravy těchto sloučenin

(57) Anotace:

Popisují se steroidní sloučeniny vzorce X, které se mohou výhodně použít pro stimulaci meiózy u humánních oocytů, mající atom dusíku aminoskupiny vázaný ke steroidnímu skeletu prostřednictvím můstku A.



CZ 2003 - 2578 A3

Steroidní sloučeniny, použití těchto sloučenin pro přípravu léčiv regulujících meiózu a způsob přípravy těchto sloučenin

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká farmaceuticky aktivních steroidních sloučenin, farmaceutických kompozic obsahujících tyto sloučeniny, použití těchto sloučenin pro přípravu farmaceutických kompozic, které jsou vhodné pro regulaci reprodukce, zejména meiózy, antikoncepci nebo jako léčivo podporující plodnost, způsobu regulace reprodukce, například meiózy, způsobu zlepšení schopnosti oocytů vyvinout se v savce a také způsobů přípravy nových steroidních sloučenin.

Dosavadní stav techniky

Meióza je jedinečný a konečný krok zárodečných buněk, na kterém je založeno pohlavní rozmnožování. Meióza sestává ze dvou meiotických částí. Během první části dochází k výměně mezi matčiny a otcovými geny a potom se páry chromozomů oddělí od dceřinných buněk. Ty obsahují pouze poloviční počet ($1n$) chromozomů a $2c$ DNA. Druhá část meiózy probíhá bez syntézy DNA. Tato část proto vede ke vzniku haploidních zárodečných buněk pouze s $1c$ DNA.

Meiotické kroky jsou podobné u samčích i samiččích zárodečných buněk, ale časový průběh a procesy diference, které vedou k vajíčku a spermatozou se značně liší. Všechny samiččí zárodečné buňky vstupují do profáze první meiotické části na počátku života, často před narozením, ale všechny jsou zadržovány jako oocyty v pozdější profázi (stav dictyátu) až do ovulace po pubertě. Od začátku života mají tedy ženy zásobu oocytů, které se odebírají dokud není zásobník vyčerpaný. Meióza u žen není dokončena až do oplodnění a vede pouze

k jednomu vajíčku a dvěma nezralým polárním tělům na zárodečnou buňku. Naproti tomu pouze některé samčí zárodečné buňky vstupují do meiózy od puberty a populace zárodečných buněk se tvoří v průběhu života. Jakmile se meióza v samčích buňkách zahájí, probíhá bez významných zpoždění a produkuje spermatozoum.

Je známo pouze málo o mechanismu, který kontroluje iniciaci meiózy u mužů a žen. Nové studie naznačují, že folikulární puriny, hypoxanthin a adenosin, mohou být zodpovědné za zastavení meiózy v oocytech [S.M. Downs a kol., *Dev. Biol.*, 82, 454-458 (1985); J.J. Epplg. a kol., *Dev. Biol.*, 119, 313-321 (1986); S.M. Downs, *Mol. Reprod. Dev.*, 35, 82-94 (1993)]. Přítomnost difundovatelné látky regulující meiózu byla poprvé popsána Byskovem a kol. v kultivačním systému fetálních gonád myši [A.G. Byskov a kol., *Dev. Biol.*, 52, 193-200 (1976)]. Látka aktivující meiózu (MAS) se vylučuje fetálními vaječníky myši, ve kterých dochází k meióze a látka zabraňující meióze (MPS) se uvolňuje z morfologicky diferencovaných varlat s nemeiotickými zárodečnými buňkami. Předpokládá se, že relativní koncentrace MAS a MPS reguluje začátek, zastavení a obnovení meiózy u samčích a samiččích zárodečných buněk [A.G. Byskov a kol.: *The Physiology of Reproduction* (eds. E. Knobil a J.D. Neili), Raven Press, New York (1994)]. Tedy, pokud lze regulovat meiózu, lze také kontrolovat reprodukci. V nedávno vydaném článku [A.G. Byskov a kol., *Nature*, 374, 559-562 (1995)] se popisuje izolace určitých sterolů, které aktivují meiózu oocytů z varlat býků a z humánní folikulární tekutiny [T-MAS (aktivační sterol meiózy z varlat) a FF-MAS (aktivační sterol meiózy folikulární tekutiny): 4,4-dimethyl-5 α -cholesta-8,14,24-trien-3 β -ol].

Bylo také prokázáno, že mikromolární koncentrace syntetického FF-MAS jsou schopny indukovat obnovení meiózy v závislosti na dávce u oocytů krys, která je zastavena inhibitorem fosfodies-terázy IBMX (3-isobutyl-1-methylxanthin) [C. Hegele-Hartung a kol., *Biol. Reprod.*, 64, 418-424 (2001)]. Bylo prokázáno, že tento účinek je možné pozorovat když se CEO (oocyty uzavřené kumulem) a DO (neobnažené oocyty) kultivují *in vitro* v přítomnosti FF-MAS.

Další látky, které regulují meiózu, jsou popsány v Mezinárodních patentových přihláškách WO 96/00235 A1, WO 96/27658 A1, WO 97/00884 A1, WO 98/28323 A1, WO 98/52965 A1, WO 99/58549 A1 a WO 00/68245 A1.

V Mezinárodní patentové přihlášce WO 98/52965 A1 se popisují deriváty 20-arylalkyl-5 α -pregnanu aktivující meiózu.

V Mezinárodní patentové přihlášce WO 00/68245 A1 se popisují steroidní sloučeniny, které jsou schopné inhibovat meiózu, takže tyto sloučeniny jsou vhodné jako antikoncepční činidla u žen a mužů. Tyto sloučeniny jsou v zásadě nenasycené deriváty cholestanu vyznačující se tím, že obsahují 3 β -vodíkový atom vázaný k atomu uhlíku. Obsahující 1 až 4 atomy uhlíku cholestanového skeletu.

V Mezinárodní patentové přihlášce WO 96/00235 A1 se popisují steroly vyvolávající meiózu, které jsou známé jako meziprodukty při biosyntéze cholesterolu, a také určité strukturně podobné syntetické steroly. Ukázalo se, že tyto látky regulují meiózu. Podobně jako cholesterol tyto steroly obsahují pos-
tranní řetězec na Obsahující 1 až 7 atomů uhlíku ve sterolovém skeletu a dále nejméně jednu dvojnou vazbu Δ^7 , Δ^8 nebo $\Delta^{8(14)}$.

V Mezinárodní patentové přihlášce WO 96/27658 A1 se popisuje způsob stimulace meiózy zárodečných buněk, který zahrnuje podávání buňkám *in vivo*, *ex vivo* nebo *in vitro* účinného množství sloučeniny, která způsobí hromadění endogenní látky aktivující meiózu na hladinu, která vyvolá meiózu. Těmito sloučeninami, které způsobují akumulaci látky aktivující meiózu, jsou amfotericin B, aminoguanidin, $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihydroxycholestan, melatonin, 6-chlormelatonin a 5-methoxytryptamin a také jejich další deriváty a agonisté. Popsanými látkami aktivujícími meiózu jsou také mimo jiné 5α -cholestan- 3β -ol, D-homo-cholesta-8,14-dien- 3β -ol a 22,25-diazacholestrol, 25-aza-24,25-dihydrolanosterol, 24,25-Iminolanosterol, 23- a 24-azacholestrol a také deriváty 25-azacholestanolu.

V Mezinárodní patentové přihlášce WO 97100884 A1 a v Mezinárodní patentové přihlášce WO 98/28323 A1 se popisují látky, které se mohou použít pro stimulaci meiózy *in vitro*, *in vivo* nebo *ex vivo*. Popsané sloučeniny jsou tedy agonisté přírodních látek regulujících meiózu a mohou se tedy použít při léčení neplodnosti, která je způsobena nedostatečnou stimulací meiózy u žen a mužů. V tomto dokumentu jsou také popsány některé sloučeniny, které mohou být antagonisty přírodních látek regulujících meiózu, takže tyto látky mohou být vhodné jako antikoncepční činidla. Popsané sloučeniny mimo jiné zahrnují 5α -cholest-8-en- 3β -oly a 5α -cholest-8,14-dien- 3β -oly, které mohou obsahovat aminoskupinu v postranním řetězci vázaném k atomu uhlíku. Obsahující 1 až 4 atomy uhlíku cholesterolového skeletu, kdy aminoskupina je vázaná ke skeletu sterolu pomocí C_4 můstku. Aminoskupina je vázaná k alkylové skupině obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo cykloalkylové skupině obsahující 3 až 6 atomů uhlíku.

Dále se v Mezinárodní patentové přihlášce WO 99/58549 A1 popisují deriváty sterolu, které účinné při regulaci meiózy. O těchto sloučeninách se uvádí, že mají schopnost zvrátit neplodnost u samic a samců, zejména u člověka. Deriváty sterolu, které jsou účinné jako regulační látky, jsou mimo jiné (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol, (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol, 4,4-dimethyl-24-fenylamino-5 α -chola-8,14-dien-3 β -ol, 4,4-dimethyl-24-(N,N-dimethylamino)-24-kyano-5 α -cholesta-8,14-dien-3 β -ol a dále různé amidy 24-ové kyseliny sterolů obsahujících jednu nebo více dvojných vazeb ve sterolovém skeltu.

Nenasycené deriváty sterolů obsahující aminoskupinu v postranním řetězci na Obsahující 1 až 7 atomů uhlíku jsou také popsány v: J. J. Sheets a L.E. Vickery: "Active Sitedirected Inhibitors of Cytochrome P-450scc" J. Biol. Chem., Vol. 258 (19), 1983, strany 11446 - 11452 s ohledem na účinek těchto sterolů na štěpení bovinního adenokortikálního cholesterolového řetězce cytochromem P-450 (P-450 scc). V tomto dokumentu se popisuje mimo jiné 22-amino-23,24-bisnor-chol-5-en-3 β -ol a 23-amino-24-norchol-5-en-3 β -ol.

Další nenasycené deriváty obsahující aminoskupinu v postranním řetězci na Obsahující 1 až 7 atomů uhlíku se popisují v A. T. Mangla a W. D. Nes: "Sterol C-methyl Transferase from *Prototheca wickerhamii*, Mechanism, Sterol Specificity a Inhibition" Bioorg. and Med. Chem. (2000), 8 (5), 925 - 936. V tomto dokumentu se popisuje mimo jiné 23-aza-zymosterol.

Bylo zjištěno, že za použití dříve popsaných sloučenin regulujících meiózu dochází k obnovení meiózy u nahých oocytů *in vitro*. Tyto sloučeniny mají však pouze okrajovou účinnost pokud se stimuluje meióza v oocytech obklopených buňkami gra-

nulosity (CEO = oocyty uzavřené kumulem). Výše uvedené dokumenty zde uvádíme jako odkazy.

Předmětem podle předkládaného vynálezu je nalézt látky, které jsou vhodné pro regulaci reprodukce, zejména meiózy, u samic a samců, zejména u savců a zvláště u člověka.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout nové farmaceutické kompozice obsahující nové látky.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je nabídnout použití nových látek pro přípravu farmaceutické kompozice vhodné pro regulaci reprodukce, zejména meiózy.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout nový způsob regulace reprodukce, například meiózy.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout způsob léčení fertility u člověka.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit maturaci oocytů člověka.

Ještě dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit synchronnost jaderné, cytoplasmové a/nebo membránové maturace oocytů.

Ještě dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit fertilitu oocytů.

Ještě dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit rychlost implantace oocytů prostřednictvím *in vitro* maturace a fertilizace.

Ještě dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je snížit výskyt humánních preemryí s chromosomovými abnormalitami (aneuploidie).

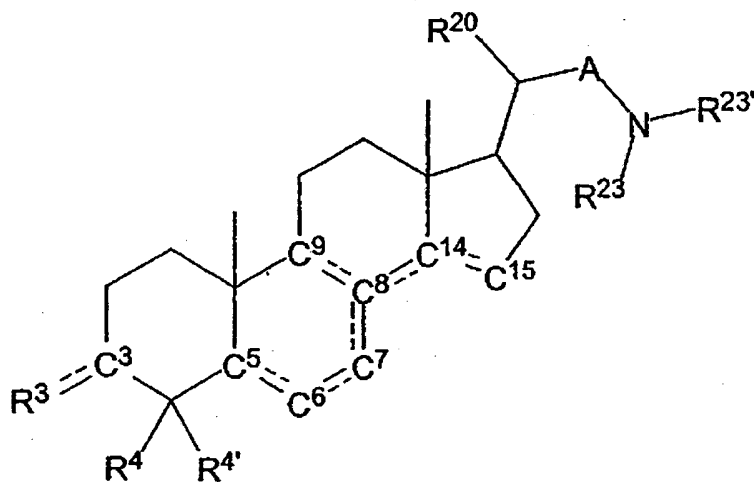
Ještě dalším přemětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit rychlost štěpení humánních preembryí.

Ještě dalším přemětem podle předkládaného vynálezu je zlepšit kvalitu humánních preemryí.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout způsob přípravy nových látek.

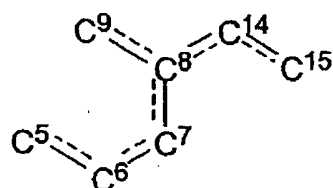
Podstata vynálezu

Podle předkládaného vynálezu se steroidní sloučeniny obecného vzorce X mohou s výhodou použít při regulaci reprodukce, například meiózy, u savců, například samic a samců, a zejména u člověka:



(X)

kde ve skupině



(XA)

každá vazba mezi C^5 a C^6 , mezi C^6 a C^7 , mezi C^7 a C^8 , mezi C^8 a C^9 , mezi C^8 a C^{14} a mezi C^{14} a C^{15} , je nezávisle jednoduchá vazba nebo dvojná vazba, alespoň jedna z těchto vazeb je dvojná vazba a kde každý atom uhlíku C^5 , C^6 , C^7 , C^8 , C^9 , C^{14} a C^{15} je vázaný ke každému sousednímu atomu uhlíku jednoduchou vazbou nebo nejvýše jednou dvojnou vazbou, a kde mezi všemi dalšími atomy uhlíku steroidního skeletu jsou jednoduché vazby a

C^3R^3 je

a) $C^3=O$ nebo

b) $C^3H-OR^{3'}$, kde $R^{3'}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, a $C^3(O)-R^{3''}$, vázaná ke skupině $CH-O$ prostřednictvím skupiny $C(O)$, kde $R^{3''}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří

i) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,

ii) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená fluoralkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,

iii) nesubstituovaná nebo substituovaná arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,

iv) nesubstituovaná nebo substituovaná heteroarylová skupina obsahující 5 až 10 atomů uhlíku,

v) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkyloxyskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a

vi) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylaminoskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, nebo

c) $C^3H-SO_2-R^{3''}$ nebo $C^3=NOR^{3''}$, kde $R^{3''}$ mají stejný význam, jako je uvedeno výše

d) $C^3H-O-R^{3''}$, kde $R^{3''}$ je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylenová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku a tvoří cyklický ether jak s atomem uhlíku steroidního skeletu, tak s atomem kyslíku, nebo

e) cyklická kruhová struktura s C^3 atomem, kde R^3 je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylenová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku, nebo

f) C^3H-Hal , kde Hal je atom fluoru, atom chloru, atom bormu nebo atom jodu,

a

R^4 , $R^{4'}$ a R^{20} , jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

a

R^{23} a $R^{23'}$, jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou tvoří

a) atom vodíku,

b) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

c) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku,

d) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, nejméně jeden atom uhlíku alkylové skupiny je substituovaný některým atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom dusíku a atom síry,

e) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku, nejméně jeden atom uhlíku alkenylové skupiny je substituovaný některým atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom dusíku a atom síry,

f) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,

nebo

R^{23} a $R^{23'}$ společně tvoří

a) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, zejména obsahující 5 až 7 atomů uhlíku, nebo

b) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, zejména obsahující 5 až 7 atomů uhlíku, kde nejméně jeden z atomů uhlíku alkylenové skupiny je nahrazen atomem kyslíku, atomem dusíku nebo atomem síry,

a

A je methylenová skupina nebo ethylenová skupina, kdy skupinou bývá nesubstituovaná nebo substituovaná methylenová skupina nebo ethylenová skupina; ve výhodném provedení podle předkládaného vynálezu je A methylenová skupina nebo ethylenová skupina,

s podmínkou, že jsou vyloučeny následující sloučeniny: (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol a (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol, 23-azazymosterol, 22-amino-23,24-bisnorchol-5-en-3 β -ol, 23-amino-24-norchol-5-en-3 β -ol.

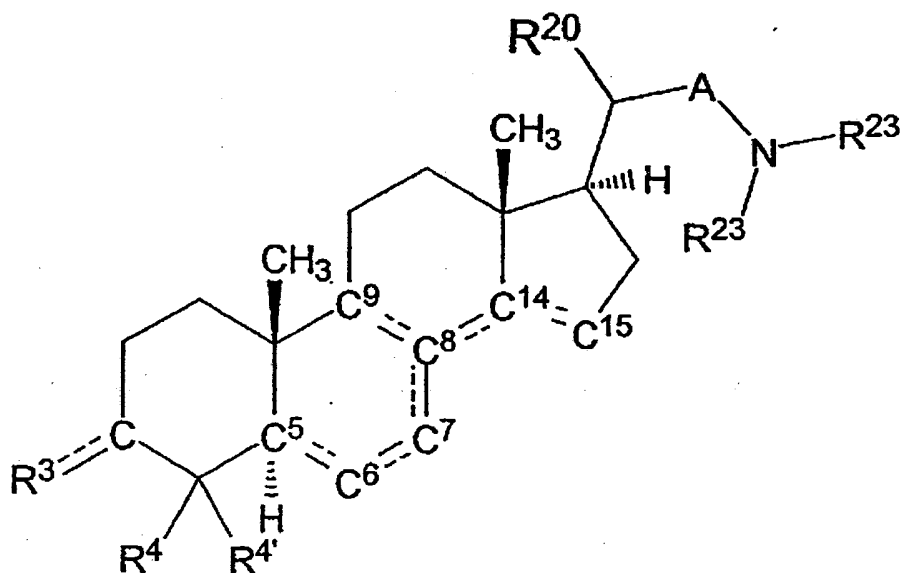
S výhodou se předkládaný vynález týká steroidních sloučenin, ve kterých je steroidním skeletu přítomna alespoň jedna dvojná vazba mezi atomy uhlíku C⁶, C⁷, C⁸, C⁹, C¹⁴ a C¹⁵, v tomto pořadí. V dalším výhodném provedení podle předkládaného vynálezu může být dvojná vazba přítomna mezi C⁵ a C⁶ a to kromě nejméně jedné dvojně vazby mezi C⁶, C⁷, C⁸, C⁹, C¹⁴ a C¹⁵, v tomto pořadí. Zvláště výhodný je steroid, ve kterém jsou dvojně vazby navzájem konjugovány v případě, že je ve steroidním skeletu přítomna více, než jedna dvojná vazba.

Všechny odkazy na C_n alkylovou skupinu, C_n fluoralkylovou skupinu, C_n alkyloxyskupinu, C_n alkylaminoskupinu, C_n cykloalkylovou skupinu, C_n alkylenovou skupinu, C_n alkenylovou skupinu, C_n arylovou skupinu, C_n heteroarylovou skupinu a podobně, se týkají skupin s n atomy uhlíku ve skupině, kdy počet n atomů uhlíku zahrnuje všechny atomy uhlíku včetně atomů uhlíku v postranních skupinách, například v rozvětvených skupinách. Pokud není uvedeno jinak, alkylová skupina, alkoxy skupina, alkylenová skupina nebo acylová skupina obsahují 1 až 10 atomů uhlíku, včetně atomů uhlíku v postranních řetězcích, pokud jsou tyto skupiny rozvětvené; alkenylová skupina nebo alkyny-

lová skupina obsahují 2 až 10 atomů uhlíku, včetně atomů uhlíku v postranních řetězcích, pokud jsou tyto skupiny rozvětvené; dále cykloalkylová skupina obsahuje 4 až 7 atomů uhlíku; arylová skupina obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku; a heterocyklický kruh nebo heteroarylová skupina obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku. Dále arylovou skupinou je také alkylarylová skupina; heteroarylovou skupinou je také alkylheteroarylová skupina; a cykloalkylovou skupinou je také alkylcykloalkylová skupina.

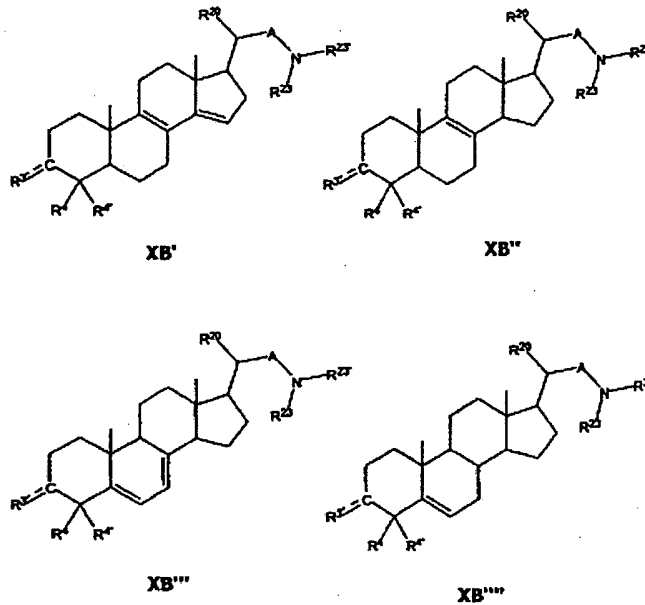
Nové steroidní sloučeniny obsahují mnoho chirálních center, takže tyto sloučeniny existují v několika isomerních formách. Všechny tyto izomerní formy tvoří, pokud není uvedeno jinak, součást podle předkládaného vynálezu.

Výhodná je steroidní sloučenina následujícího obecného vzorce:



Zvláště deriváty Δ^5 -pregnenenu, deriváty $\Delta^{8,14}$ -pregnadienu, deriváty Δ^8 -pregnenu a deriváty $\Delta^{5,7}$ -pregnadienu jsou vhodné jako farmaceuticky aktivní steroidní sloučeniny pro regulaci

reprodukce, například meiózy, tj. sloučeniny následujících vzorců:



Překvapivě bylo zjištěno, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu v oocytech silný stimulační účinek vzhledem k meióze, zejména CEO, ačkoli jsou tyto sloučeniny strukturně značně odlišné od sterolu FF-MAS. V tomto ohledu jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu daleko lepší, než dříve popsané sloučeniny regulující meiózu [například: A.G. Byskov a kol., Nature, 374, 559-562 (1995)]. Výhodnými sloučeninami obecného vzorce X jsou sloučeniny, které vyvolávají štěpení zárodečných buněk nejméně z 40 %, s výhodou z 60 % a zvláště z 80 %, pokud se testují při oocytovém testu popsaném v příkladu 23.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou daleko lepší, než dříve popsané sloučeniny také v druhém aspektu: zatímco FF-MAS není schopen vyvolat maturaci folikulového kultivačního systému, sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou v této situaci schopny meiózu aktivovat.

Z tohoto důvodu se mohou nové steroidní sloučeniny například použít pro *in vivo* účely a také pro *non-in vivo* účely, mezi které patří zejména *in vitro* účely. Steroidní sloučeniny jsou zvláště vhodné pro *in vitro* a *in vivo* fertilizaci savců, zejména lidí.

Výjimečné vlastnosti nových sloučenin mohou být přisuzovány aminoskupině v postranním řetězci vázaném k atomu uhlíku C^{17} ve steroidním skeletu prostřednictvím $C_2 - C_3$ alkylenového můstku (zahrnujícího skupinu $C^{20}-R^{20}$).

Zvláště výhodné jsou sloučeniny, kde skupina C^3R^3 je skupina $CH-OH$, zejména 3β -hydroxylová skupina vázaná k atomu C^3 atom of steroidního skeletu. Skupinou může být také skupina $CH-O-C(O)-R^{3''}$ ($= CH-O-R^{3'}$, kde $R^{3'}$ je skupina $C(O)-R^{3''}$), kde $R^{3''}$ je definována výše. R^3 může být zejména esterová skupina monokarboxylové kyseliny, dikarboxylové kyseliny, anorganické kyseliny nebo jakékoli jiné kyseliny, vázaná k atomu C^3 steroidního skeletu. Zejména pro R^3 , která je esterovou skupinou dikarboxylové kyseliny, $R^{3''}$ může být skupina $(CH_2)_n-COOH$, kde $n = 1, 2, 3, 4, 5$ nebo 6 . Esterová skupina může být také odvozena od anorganické kyseliny, jako je kyselina fosforečná, kyselina sírová a kyselina sulfamová, dále od monokarboxylových kyselin, jako je kyselina octová, kyselina propionová, n-butanová kyselina, pivalová kyselina, benzoová kyselina, nikotinová kyselina a isonikotinová kyselina. Esterová skupina může být zejména odvozena od dikarboxylové kyseliny, jako je kyselina jantarová a kyselina glutarová.

Dále mohou steroidní sloučeniny podle předkládaného vynálezu také zahrnovat deriváty, kde $C-O-R^3$ je cyklický ether obsahující atom C^3 steroidního skeletu.

R^3 může také tvořit cyklickou kruhovou strukturu společně s atomem C^3 , kdy R^3 je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylenová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku. Například může být C^3R^3 cyklopropylenová skupina, cyklobutylenová skupina, cyklopentylenová skupina nebo cyklohexylenová skupina. Může to také být nenasyčená cyklická kruhová struktura, jako je cyklopropenylenová skupina, cyklobutenylenová skupina, cyklopentenylénová skupina a cyklohexenylenová skupina. Kruhová struktura může být také substituovaná skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří atom halogenu, hydroxylová skupina, alkoxy skupina, aryloxy skupina a podobně.

Sloučeninami podle předkládaného vynálezu mohou být také s výhodou sloučeniny, kde R^3 je vybraná ze skupiny, kterou tvoří fluormethylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina a skupina $(CH_2)_n-COOH$, kde $n = 1, 2, 3, 4, 5$ nebo 6 , zejména sloučeniny, kde R^3 ($= C(O)-R^3$) je acetylová skupina, propionylová skupina, pivaloylová skupina, butanoylová skupina, benzoylová skupina, nikotinylová skupina, isonikotinylová skupina, hemiglutaroylová skupina, butylkarbamoylová skupina, fenyلكarbamoylová skupina, ethoxykarbonylová skupina a terc-butoxykarbonylová skupina. Ve zvláště výhodných steroidních sloučeninách může být R^3 hemi sukcinoylová skupina.

Dále jsou v nových steroidních sloučeninách R^4 a R^4 nezávisle na sobě s výhodou atom vodíku nebo lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, například methylová skupina, ethylová skupina, propylová skupina a butylová skupina, a zvláště methylová skupina.

Dále mohou být R^4 a R^4' nezávisle na sobě také alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku substituovaná atomem halogenu, hydroxylovou skupinou, alkoxy skupinou nebo aryloxy skupinou.

R^{20} je s výhodou atom vodíku nebo lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, například methylová skupina, ethylová skupina, propylová skupina a butylová skupina. R^{20} je zvláště methylová skupina.

R^{23} a $R^{23'}$ mohou být nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, jako je methylová skupina, ethylová skupina, n-propylová skupina, iso-propylová skupina, n-butylová skupina, iso-butylová skupina, terc-butylová skupina, n-pentylová skupina, iso-pentylová skupina, terc-pentylová skupina, neo-pentylová skupina, dále hexylová skupina a cyklohexylová skupina a podobně. Dále mohou být R^{23} a $R^{23'}$ nezávisle na sobě alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku, tj. nenasycená alkylová skupina, například vinylová skupina, allylová skupina, iso-propenylová skupina a prenylová skupina, dále arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku, jako je fenylová skupina a 1-naftylová skupina, tato skupina také zahrnuje alkylarylovou skupinu, která je vázaná prostřednictvím alkylové skupiny k atomu dusíku, například benzylová skupina a tolylová skupina. R^{23} a $R^{23'}$ mohou být s výhodou alkylová skupina a alkenylová skupina, která je substituovaná nejméně jednou skupinou, která je vybraná ze skupiny, kterou tvoří lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku. Fenylová skupina a 1-naftylová skupina mohou být také substituované skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří atom halogenu, alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxylová skupina nebo alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, včetně fluoralkoxy skupin a

fluoralkylových skupin. Dále mohou být R^{23} a $R^{23'}$ například 4-hydroxyfenylová skupina, 4-methoxyfenylová skupina, 2,4,6-trimethylfenylová skupina, 2,4-dichlorfenylová skupina, 4-fluorfenylová skupina, 4-trifluormethylfenylová skupina a 2-pentafluorethylfenylová skupina.

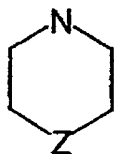
Dále mohou být R^{23} a $R^{23'}$ nezávisle na sobě alkylová skupina a alkenylová skupina, kdy alespoň jeden z atomů uhlíku alkylové skupiny a alkenylové skupiny je nahrazen atomem kyslíku, atomem dusíku a atomem síry, například methoxymethylenová skupina, methoxyethylenová skupina, methoxypropylenová skupina, ethoxypropylenová skupina a podobně.

R^{23} a $R^{23'}$ mohou dohromady tvořit heterocyklickou kruhovou strukturu vázanou k postrannímu řetězci prostřednictvím atomu dusíku v postranním řetězci, kdy atom dusíku je vázaný k atomu uhlíku C^{20} steroidního skeletu prostřednictvím můstkující skupiny A. Tato heterocyklická kruhová struktura, tvořená skupinou $N(R^{23})(R^{23'})$, může být zejména skupina vybraná ze skupiny, kterou tvoří piperidin-1-ylová skupina, morfolin-4-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina, pyrrolidin-1-ylová skupina, pyrrol-1-ylová skupina, indol-1-ylová skupina, pyrazol-1-ylová skupina, imidazol-1-ylová skupina, thiazolidin-1-ylová skupina a oxazolidin-3-ylová skupina a jejich substituované deriváty. Zvláště výhodnými heterocyklickými kruhovými strukturami jsou nasycené skupiny, zejména piperidin-1-ylová skupina, morfolin-4-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina a pyrrolidin-1-ylová skupina. Heterocyklické kruhové struktury mohou být substituované skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří hydroxylová skupina, karboxylová skupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, dialkylaminoskupina, alkylová skupina, alkenylová skupina, alkynylová skupina, cykloalkylová skupina, cykloalkenylová skupina, alkylcykloalkylová skupina, arylová

skupina, alkylarylová skupina, hydroxylová skupina, alkoxy-
skupina, alkylcykloalkyloxyskupina, alkyloxycykloalkylová
skupina, alkylaryloxyskupina, alkyloxyarylová skupina, atom
halogenu a acylová skupina, kde alkylová skupina, alkenylová
skupina, alkynylová skupina, cykloalkylová skupina, arylová
skupina, alkoxyskupina a acylová skupina mají takový počet
atomů uhlíku, jako je uvedeno výše. Heterocyklická kruhová
struktura může být také substituovaná heterocyklickou skupi-
nou, jako jsou heterocyklické kruhové struktury, ke kterým
mohou být vázány a kromě těchto skupin také další skupiny,
například pyridinylová skupina, chinolinylová skupina, isochi-
nolinylová skupina, pyridazinylová skupina, pyrimidinylová
skupina, pyrazinylová skupina, chinoxalinylová skupina,
thiazolylová skupina a oxazolylová skupina, dále všechny další
izomery těchto skupin, například pyridin-2-ylová skupina,
pyridin-3-ylová skupina a pyridin-4-ylová skupina. Dále pokud
 $N(R^{23})(R^{23'})$ je heterocyklická kruhová struktura, může tento
kruh také obsahovat v kruhu oxoskupinu.

Pokud je $N(R^{23})(R^{23'})$ piperazin-1-ylová skupina, může být
substituovaná zejména skupinami vybranými ze skupiny, kterou
tvoří pyridin-2-ylová skupina, pyridin-3-ylová skupina a
pyridin-4-ylová skupina, s výhodou za vzniku příslušných sku-
pin $N(R^{23})(R^{23'})$, kde piperazin-1-ylová skupina je substituovaná
v poloze para, například 4-(pyridin-3-yl)piperazin-1-ylová
skupina.

$N(R^{23})(R^{23'})$ může také být skupina



vázaná k C^{20} v postranním řetězci steroidního skeletu prostřednictvím atomu dusíku této skupiny, kde $Z = O, S, N-R^{24}, N-C(O)-R^{24}$, kde R^{24} je alkylová skupina, alkenylová skupina, alkynylová skupina, arylová skupina, jejich počet atomů uhlíku je definovaný výše.

Atom dusíku skupiny $N(R^{23})(R^{23'})$ není k atomu uhlíku C^{20} vázaný přímo, ale prostřednictvím skupiny A, kde A je nesubstituovaná nebo substituovaná methylenová skupina nebo ethylenová skupina, jako je například (nesubstituovaná) methylenová skupina a (nesubstituovaná) ethylenová skupina a dále iso-propylenová skupina, terc-butylenová skupina a podobně. A je s výhodou methylenová skupina a ethylenová skupina.

Zvláště výhodné jsou sloučeniny, kde R^3 je hydroxylová skupina nebo ester hemisukcinátu, kde $R^4, R^{4'}$ a R^{20} jsou každá methylová skupina a kde heterocyklická kruhová struktura $N(R^{23})(R^{23'})$ obsahující atom dusíku aminoskupiny je nesubstituovaná nebo substituovaná morfolin-4-ylová skupina, piperidin-1-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina nebo pyrrolidin-1-ylová skupina.

$N(R^{23})(R^{23'})$ je zejména 3-hydroxypiperidin-1-ylová skupina, 4-hydroxy-piperidin-1-ylová skupina, 3-ketopiperidin-1-ylová skupina, 4-ketopiperidin-1-ylová skupina, 4-dimethylaminopiperidin-1-ylová skupina, 3,3-dimethylpiperidin-1-ylová skupina, 4,4-dimethylpiperidin-1-ylová skupina, 3-karboxypiperidin-1-ylová skupina, 4-karboxy-piperidinová skupina, 4-fenylpiperidin-1-ylová skupina, 4-benzoyl-piperidin-1-ylová skupina, 4-(piperidin-1-yl)piperidin-1-ylová skupina, 4-methylpiperazin-1-ylová skupina, 4-acetyl-piperazin-1-ylová skupina, 4-fenylpiperazin-1-ylová skupina, 4-benzylpiperazin-1-ylová skupina, 4-benzoylpiperazin-1-ylová skupina, 4-(pyridin-2-yl)piperazin-

1-ylová skupina, 4-(pyridin-4-yl)piperazin-1-ylová skupina, 4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-ylová skupina.

Atomy vodíku mohou být vázány ke všem dalším atomům uhlíku skeletu steroidních sloučenin, tj. k C¹, C², C⁶, C⁴, C⁸, C⁹, C¹¹, C¹², C¹⁴, C¹⁵ a C¹⁶.

S výhodou jsou farmaceuticky přijatelnými sloučeninami podle předkládaného vynálezu soli steroidních sloučenin obecného vzorce X. Příklady těchto solí jsou uvedeny v *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 a dále (1977), přičemž tuto publikaci zde uvádíme jako odkaz. Mezi příklady solí patří soli organických kyselin, jako je kyselina mravenčí, kyselina fumarová, kyselina octová, kyselina propionová, glykolová kyselina, mléčná kyselina, pyruvová kyselina, šťavelová kyselina, jantarová kyselina, jablečná kyselina, vinná kyselina, citronová kyselina, benzoová kyselina, salicylová kyselina, methansulfonová kyselina a podobně. Pro přípravu farmaceuticky přijatelných solí jsou také vhodné anorganické kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná a podobně.

Následující sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou zvláště výhodné.

- 1) (20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 2) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 3) (20S)-20-[(4,4-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

- 4) (20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 5) (20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 6) (20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 7) (20S)-20-[(4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 8) (20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 9) hemisukcinát (20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -olu
- 10) (20S)-20-[N-(3-methoxypropyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 11) (20S)-20-aminomethyl-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 12) (20S)-20-[N,N-di-(2-methoxyethyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 13) (20S)-20-[N-(2,2-dimethylethylen)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 14) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol
- 15) (20S)-20-[(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

- 16) (20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 17) (20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 18) (20S)-20-[(N,N-dimethylamino)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 19) (20S)-20-[(morfolin-4-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 20) (20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 21) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol
- 22) (20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 23) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 24) (20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 25) (20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 26) (20S)-20-[(4-karboxyethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 27) (20S)-20-[(3-hydroxypiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

- 28) (20S)-20-[(4-benzoylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 29) (20S)-20-[(4-(piperidin-1-yl)piperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 30) (20S)-20-[(4-thiomorfolinyl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 31) (20S)-20-[(4-dimethylaminopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 32) (20S)-20-[(4-ketopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 33) (20S)-20-[(3-ketopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 34) (20S)-20-[(4-karboxylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 35) (20S)-20-[(3-karboxylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 36) (20S)-20-[(4-hydroxypiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 37) (20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol.
- 38) (20S)-20-[(4,4-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 39) (20S)-20-[(4-piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

- 40) (20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 41) (20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 42) (20S)-20-[(4-benzylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 43) (20S)-20-[(4-acetyl-piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 44) (20S)-20-[(4-benzoylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 45) (20S)-20-[[4-(2-pyridyl)piperazin-1-yl]methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 46) (20S)-20-[[4-(3-pyridyl)piperazin-1-yl]methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 47) (20S)-20-[[4-(4-pyridyl)piperazin-1-yl]methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 48) (20S)-20-[[4-(2-pyrimidyl)piperazin-1-yl]methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
- 49) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna- $\Delta^{8(14)}$ -en-3 β -ol.

Strukturální vzorce těchto steroidních sloučenin jsou uvedeny na obrázcích 1A až 1K.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu jsou farmaceutické kompozice obsahující alespoň jednu steroidní sloučeninu obecného vzorce X a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný excipient, který je odborníkům v této oblasti známý, například alespoň jeden nosič, ředidlo, látku podporující absorpci, konzervační látku, pufr, činidlo upravující osmotický tlak a reologii léčiva, pokud to bude kapalina, povrchově aktivní látku, rozpouštědlo, rozvolňovadlo, mikrokapsule, plnivo, přísadu zlepšující kluznost, barvivo, příchut' a další látky. Tyto látky se v této oblasti běžně používají. Steroidní sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou s výhodou obsaženy ve farmaceutických kompozicích v účinném množství.

Mezi příklady pevných nosičů patří uhličitan hořečnatý, stearát hořečnatý, dextrin, laktóza, cukr, mastek, želatina, pektin, škrob, silikagel, tragakant, methylcelulóza, sodná sůl karboxymethylcelulózy, nízkotající vosky a kakaové máslo.

Kapalné kompozice zahrnují sterilní roztoky, suspenze a emulze, které se mohou podávat například perorálně, nasálně nebo jako masti. Tyto kapalné kompozice mohou být také vhodné pro injekce nebo pro použití při *ex vivo* nebo *in vivo* aplikacích. Pro orální podávání může kapalina obsahovat farmaceuticky přijatelný olej a/nebo lipofilní surfaktant a/nebo rozpouštědlo, které je mísitelné s vodou. V této souvislosti se odkazujeme na Mezinárodní patentovou přihlášku WO 97/21440 A1, kterou zde uvádíme jako odkaz.

Kapalné kompozice mohou také obsahovat další složky, které se v této oblasti běžně používají, přičemž některé z nich jsou uvedeny výše. Dále může být kompozice pro transdermální podávání sloučeniny podle předkládaného vynálezu připravena ve

formě náplasti. Kompozice pro nasální podávání může být ve formě nosního spreje v kapalně nebo práškové formě.

Aby se zvýšila biologická dostupnost steroidních sloučenin, mohou se tyto sloučeniny formulovat jako klatráty cyklo-dextrinu. Pro tento účel se sloučeniny spojí s α -, β - nebo γ -cyklodextrinem nebo jejich deriváty.

Pomády, masti, lotiony a další kapaliny, které se mají podávat enterálně, musí být v takovém stavu, aby mohly být steroidní sloučeniny podle předkládaného vynálezu doručeny pacientovi, který potřebuje regulovat meiózu v dostatečném množství. Pro tento účel léčivo obsahuje přísady pro regulaci reologie léčiva, povrchově aktivní látky, konzervační látky, rozpouštědla, ředidla, látky zvyšující schopnost proniknout pokožkou, další příchutě a látky pro ochranu pokožky, jako jsou kondicionéry a látky regulující vlhkost.

Léčivo může také obsahovat další aktivní činidla pro zvýšení nebo regulaci účinnosti steroidních sloučenin nebo pro dosažení požadovaných účinků léčiv.

Pro parenterální podávání mohou být steroidní sloučeniny rozpuštěny nebo suspendovány ve farmaceuticky přijatelném ředidle. Oleje se velmi často používají v kombinaci s rozpouštědly, povrchově aktivními látkami, suspendujícími nebo emulgačními činidly, například olivový olej, arašídový olej, sójový olej, ricínový olej a podobně. Pro přípravu injektovatelných léčiv se může použít jakýkoli kapalný nosič. Tyto kapaliny často také obsahují činidla pro regulaci viskozity a také činidla pro regulaci isotonicity kapaliny.

Steroidní sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou dále také podávat jako injektovatelné depotní prostředky nebo

implantáty, které se mohou například podávat subkutánně, tak, že se může dosáhnout zpožděného uvolňování steroidních sloučenin podle předkládaného vynálezu. Pro tento účel se mohou použít různé techniky, například podávání zásobníků, které obsahují membránu obsahující aktivní sloučeninu, nebo zásobníků, které se pomalu rozpouštějí. Implantáty mohou například obsahovat biologicky rozložitelné polymery nebo syntetické silikony jako inertní látky.

Dávku steroidní sloučeniny určí lékař a bude mimo jiné záviset na konkrétní použité steroidní sloučenině, na způsobu podávání a na účelu použití. Obecně se kompozice podle předkládaného vynálezu připraví dokonalým promísením aktivní sloučeniny s kapalnými nebo pevnými přísadami a potom, pokud je to nutné, vytvarováním produktu do požadovaného prostředku.

Obvykle se bude savcům, například člověku podávat ne více, než 3000 mg, s výhodou ne více, než 350 mg a v některých výhodných případech ne více, než 30 mg, steroidní sloučeniny za den.

Předkládaný vynález se také týká použití steroidních sloučenin obecného vzorce X pro přípravu kompozice vhodné pro regulaci reprodukce, například meiózy. S výhodou je tato kompozice použitelná jako léčivo.

Předkládaný vynález se dále týká použití nových steroidních sloučenin obecného vzorce X pro přípravu antikoncepčních přípravků nebo profertilitních léčiv.

Předkládaný vynález se dále týká použití steroidní sloučeniny obecného vzorce X pro *non-in-vivo* účely.

Předkládaný vynález se také týká způsobu regulace reprodukce, například meiózy, který zahrnuje podávání účinného množství

nejméně jedné steroidní sloučeniny obecného vzorce X pacientovi, který potřebuje takovou regulaci.

Dále se předkládaný vynález týká způsobu zvýšení schopnosti oocytů vyvinout se v savce, kdy způsob zahrnuje uvedení oocytu vyjmutého z těla savce do styku se steroidní sloučeninou obecného vzorce X.

Regulace reprodukce, například meiózy, se zde používá pro stanovení toho, zda jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu zvláště vhodné pro stimulaci reprodukce, například meiózy, u oocytů savců, zejména u člověka, a zda se tyto sloučeniny, které jsou analogy agonistů přírodních látek aktivujících meiózu, mohou použít při léčení neplodnosti, která je způsobena nedostatečnou stimulací meiózy u samců a samic.

Způsobem podávání kompozic obsahujících sloučeninu podle předkládaného vynálezu může být jakýkoli způsob, pomocí kterého se účinně transportuje aktivní steroidní sloučenina na místo svého působení.

Tedy, pokud se mají steroidní sloučeniny podávat savcům, obvykle jsou ve formě farmaceutických kompozic, které obsahují nejméně jednu steroidní sloučeninu podle předkládaného vynálezu společně s farmaceuticky přijatelným nosičem. Pro perorální použití jsou tyto kompozice s výhodou ve formě tablet nebo kapsulí.

Předkládaný vynález se také týká způsobu přípravy steroidních sloučenin obecného vzorce X, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a nikoli atom vodíku:

Výše uvedené steroidní sloučeniny se mohou připravit analogickým způsobem, jako se připraví známé sloučeniny. Tedy, syntéza steroidních sloučenin obecného vzorce X se může provést podle dobře známých syntetických postupů popsaných v obsáhlé literatuře týkající se sterolů a steroidů. Jako klíčový zdroj pro syntézu se může použít následující literatura: L. F. Fieser & M. Fieser: Steroids, Reinhold Publishing Corporation, N.Y., 1959; Rood's Chemistry of Carbon Compounds (ed. S. Coffrey): Elsevier Publishing Company, 1971; a zejména Dictionary of Steroids (eds. R. A. Hill, D. N. Kirk, H. L. J. Makin a G. M. Murphy), Chapman & Hall, přičemž tato literatura se zde uvádí jako odpaz. Poslední jmenovaná publikace obsahuje rozsáhlý seznam citací týkajících se původních prací zahrnujících údobí do roku 1990.

Steroidní sloučeniny se mohou zejména syntetizovat například podle obecného postupu, který zahrnuje následující kroky:

- a. vychází se z (20S)-20-hydroxymethyl-pregna-4-en-3-onu,
- b. pomocí alkylace se zavedou dvě alkylové skupiny do polohy 4,
- c. ketoskupina se redukuje na hydroxylovou skupinu,
- d. pomocí bromace/debromace se zavede skupina Δ^7 ,
- e. pomocí zahřívání v přítomnosti kyseliny se dien $\Delta^{5,7}$ izomeruje na dien $\Delta^{8,14}$,
- f. 17-hydroxylová skupina se oxiduje na aldehydovou skupinu a
- g. aldehydová skupina se reduktivně aminuje.

Odovídající syntetické schéma tohoto prvního způsobu syntézy je znázorněno na obrázku 2. Podle tohoto schématu se nejprve hydroxylová skupina v postranním řetězci (20S)-20hydroxymethyl-pregna-4-en-3-onu 1 chrání ve formě silyletheru, například jako triisopropylsilyl (TIPS) ether za získání sloučeniny 2. Za účelem přípravy sloučeniny 3 se pomocí alkylace methyljodidem v přítomnosti báze, jako je terc-butoxid draselný, zavedou dvě methylové skupiny do polohy 4 steroidního skeletu. V dalším kroku se 3-ketoskupina redukuje pomocí běžného redukčního činidla, jako je lithiualuminiumhydrid borohydrid sodný. Získaný alkohol 4 se potom chrání například jako acetát (sloučenina 5). Druhá dvojná vazba se potom zavede prostřednictvím sekvence bromace-debromace. Získaný $\Delta^{5,7}$ -dienový systém ve sloučenině 6 se potom izomeruje na $\Delta^{8,14}$ -dienový systém prostřednictvím zahřívání v přítomnosti kyseliny chlorovodíkové za získání sloučeniny 7. V tomto kyselinou katalyzovaném kroku se z obou hydroxylových skupin odstraní ochranní skupiny a získá se diol 7. Mírná selektivní oxidace hydroxylové skupiny v postranním řetězci pomocí Dess-Martinova jodičnanu vede k aldehydu 8, který slouží jako klíčový meziprodukt pro zavedení různých aminů do postranního řetězce pomocí redukční aminace. Pro tento účel se mohou použít různá redukční činidla, jako je borohydrid sodný nebo tris-(acetoxy)borohydrid. Nakonec se získá steroidní sloučenina 9 podle předkládaného vynálezu.

Při způsobu přípravy steroidních sloučenin podle předkládaného vynálezu se připraví nové sloučeniny, a to konkrétně: (20S)-4,4-dimethyl-20-hydroxymethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol a (20S)-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol-20-karbaldehyd. Proto se předkládaný vynález také týká těchto meziproduktů.

Alternativně se mohou také steroidní sloučeniny podle předkládaného vynálezu syntetizovat pomocí následujícího postupu:

- a. vychází se z (20S)-20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diolu, zejména z (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diolu,
- b. pomocí nukleofilní substituce na C²¹, s výhodou pomocí toluensulfonové kyseliny, se získá příslušný tosylát,
- c. substitucí nukleofilní skupiny (tosylátu) na C²¹ pomocí kyanidu se získá nová vazba uhlík-uhlík na C²¹,
- d. redukcí vzniklého nitrilu se získá aldehyd,
- e. reduktivní aminací nitrilu se získají různé aminy.

Odpovídající syntetické schéma tohoto druhého způsobu syntézy je uvedeno na obrázku 3. (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-3 β ,21-diol 1 se tosyluje chloridem para-toluensulfonové kyseliny v postranním řetězci. Tosylát 2 se potom substituuje kyanidem jako C1-stavebním blokem. Vznikající nitril 3 se potom redukuje pomocí diisobutylaluminiumhydridu za vzniku aldehydu 4. Aldehyd 4 se potom reaguje s aminem v reduktivně aminační reakci v přítomnosti tris(acetoxo)borohydridu sodného. Vznikající produkt 5 se může čistit pomocí standardní kolonové chromatografie nebo pomocí HPLC.

Vynález bude nyní podrobněji popsán pomocí příkladů.

Příklady provedení vynálezu**Příklad 1**

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 2)

a) (20S)-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-4-en-3-on

K roztoku 30 g (20S)-20-[(hydroxymethyl)-pregna-4-en-3-onu a 13,5 g imidazolu v 300 ml dichloromethanu se při teplotě místnosti přikape 26 ml triisopropylsilylchloridu. Reakční směs se při této teplotě míchá 20 hodin a potom se nalije do vody. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se solankou, suší se nad síranem sodným, filtrují se a odpaří se za sníženého tlaku za získání 45,4 g surového (20S)-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-4-en-3-onu ve formě hnědého oleje, který se použije bez dalšího čištění.

MS (Cl⁺): 487 (M + H)

b) (20S)-4,4-dimethyl-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5-en-3-on

Roztok 45,4 g surového (20S)-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-4-en-3-onu v 320 ml tetrahydrofuranu se při teplotě 50 °C přidá k roztoku 42,3 g terc-butylátu draselného v 950 ml terc-butanolu. Směs se míchá při této teplotě 10 minut. Přidá se 50 ml methyljodidu a míchání pokračuje 1 hodinu. Reakční směs se nalije do vody a extrahuje se ethylacetátem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se solankou, suší se nad síranem sodným, filtrují se a odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 27,3

g (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)-pregna-5-en-3-onu ve formě světle žluté pevné látky.

MS (Cl⁺): 515 (M + H)

c) (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)-pregna-5-en-3 β -ol

K roztoku 27,3 g (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)pregna-5-en-3-onu v 500 ml tetrahydrofuranu se opatrně po malých částech při teplotě místnosti přidá 1,24 g of lithiualuminumhydridu. Reakční směs se míchá 1 hodinu a potom se ochladí na 0 °C. Postupně se přidá 2,5 ml vody, 2,5 ml 1N roztoku hydroxidu sodného a 7,5 ml vody. Směs se filtruje přes křemelinu. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 18,2 g (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)-pregna-5-en-3 β -olu ve formě světle žluté pevné látky.

MS (Cl⁺): 517 (M + H)

d) acetát (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)-pregna-5-en-3 β -olu

K roztoku 18,2 g (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)pregna-5-en-3 β -olu v 175 ml pyridinu se při teplotě místnosti přidá 6,24 ml anhydridu kyseliny octové. Reakční směs se míchá 20 hodin a potom se nalije do směsi ledu a kyseliny chlorovodíkové. Směs se extrahuje ethylacetátem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se solankou, suší se nad síranem sodným, filtrují se a odpaří se za sníženého tlaku za získání 16,2 g acetátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl)-pregna-5-en-3-onu ve formě bílé, pevné látky, která se použije bez dalšího čištění.

MS (Cl⁺): 559 (M + H)

e) acetát (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu

K roztoku 16,2 g acetátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]pregna-5-en-3 β -olu ve směsi 100 ml benzenu a 100 ml hexanu se při 70 °C po částech přidá 4,93 g 1,3-dibrom-5,5-dimethyl-hydantoinu. Po 30 minutách se směs ochladí na 0 °C a filtruje se. Filtrát se odpaří ve vakuu. Ke zbytku se přidá 160 ml toluenu a 7,8 ml 2,4,6-trimethylpyridinu. Reakční směs se zahřívá 2,5 hodiny k varu pod zpětným chladičem. Po ochlazení se reakční směs promyje 1N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 12,5 g acetátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu ve formě bílé, pevné látky.

MS (Cl⁺): 557 (M + H)

f) (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diol

Směs 16,1 g acetátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]pregna-5,7-dien-3 β -olu, 210 ml ethanolu, 28 ml benzenu a 28 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové se 6 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem. Po ochlazení se směs nalije do nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, extrahuje se ethylacetátem a promyje se solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se rekrystalizuje z

dichloromethanu a methanolu za získání 4,48 g (20S)-20-hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β -ol.

MS (EI+): 358 (M)

g) (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al

K roztoku 1 g (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diolu v 10 ml dichloromethanu se při teplotě místnosti přidá 5,4 ml 0,5M Dess-Martinova jodičnanu. Reakční směs se míchá 1 hodinu, nalije se do nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, extrahuje se ethylacetátem a promyje se solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 230 mg (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-alu ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 356 (M)

h) (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

38 mg tris(acetoxy)borohydridu sodného se při teplotě místnosti přidá k roztoku 42 mg (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-alu a 10 μ l piperidinu v 3 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs se míchá 2 hodiny, nalije se do nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, extrahuje se ethylacetátem a promyje se solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 15 mg (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -olu ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 425 (M)

Příklad 2

(20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-3 α -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-alu se reaguje s 3,3-dimethyl-piperidinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 453 (M)

Příklad 3

(20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 5)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al se reaguje s N-fenylpiperazinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 502 (M)

Příklad 4

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 6)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al se reaguje s morfolinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle

postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 427 (M)

Příklad 5

(20S)-20-[(4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 7)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al se reaguje s N-(pyrimidin-2-yl)piperazinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[(4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 504 (M)

Příklad 6

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 8)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al se reaguje s pyrrolidinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 411 (M)

Příklad 7

(20S)-20-[N-(3-methoxypropyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 10)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-al se reaguje s 3-methoxypropylaminem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 1h). Izoluje se (20S)-20-[N-(3-methoxypropyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 429 (M)

Příklad 8

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 14)

a) benzoát (20S)-4,4-dimethyl-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5-en-3 β -olu

34,4 ml benzoylchloridu se při teplotě 0 až 3 °C přidá k roztoku 70 g surového (20S)-4,4-dimethyl-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5-en-3 β -olu (Příklad 1c) (nečištěný pomocí chromatografie) v 670 mg pyridinu. Reakční směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a nalije se do ledové vody. Sraženina se odfiltruje, promyje se vodou a rekrystalizuje se z acetonu za získání 42 g benzoátu (20S)-4,4-dimethyl-20-[((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5-en-3 β -olu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 8,05 (2H,d); 7,56 (1 H,t); 7,45 (2H,t); 5,60 (1 H,t); 4,74 (1H,m); 3,68 (1H,dd); 3,36 (1H,m).

b) benzoát (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu

42 g benzoátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5-en-3 β -olu se reaguje s 13,7 g 1,3-dibrom-5,5-dimethyl-hydantoinu a 18 ml 2,4,6-trimethylpyridinu podle postupu popsaného v příkladu 1e) za získání (bez čištění pomocí kolonové chromatografie) 41,9 g benzoátu (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,05$ (2H,d); 7,57 (1H,t); 7,45 (2H,t); 5,95 (1H,d); 5,56 (1H,m); 4,85 (1H,m); 3,7 (1H,dd); 3,39 (1H,m).

c) 3-benzoát (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-5,7-dien-3 β ,21-diolu

2 g práškových molekulových sít (4Å) a 1,27 g hydrátu tetrabutylamoniumfluoridu se přidá k roztoku 2,0 g (20S)-4,4-dimethyl-20-(((triisopropylsilyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu v 50 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, odpaří se za sníženého tlaku a čistí se pomocí kolonové chromatografie za získání 1,17 g benzoátu (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-5,7-dien-3 β ,21-diolu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,06$ (2H,d); 7,56 (1H,t); 7,45 (2H,t); 5,94 (1H,d); 5,56 (1H,m); 4,85 (1H,m); 3,66 (1H,m); 3,41 (1H,m).

d) benzoát (20S)-4,4-dimethyl-20-(((toluen-4-sulfonyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu

Roztok 0,573 g toluen-4-sulfonylchloridu v 4 ml pyridinu se za chlazení v ledové lázni přikape k roztoku 0,926 g 3-benzoátu (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-5,7-dien-3 β ,21-diolu v 15 ml

pyridinu. Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě 0 až 3 °C a přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se nalije do směsi ledu a vody a extrahuje se ethylacetátem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se 1N roztokem kyseliny chlorovodíkové, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku za získání 1,0 g benzoátu (20S)-4,4-dimethyl-20-[(toluen-4-sulfonyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu, který se dále může čistit pomocí krystalizace z methanolu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,05$ (2H,d); 7,8 (1H,d); 7,56 (1H,t); 7,45 (2H,t); 7,34 (2H,d); 5,94 (1H,d); 5,55 (1H,m); 4,85 (1H,m); 4,0 (1H,dd); 3,81 (1H,m); 2,45 (3H,s).

e) benzoát (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3,8-olu

0,625 ml piperidinu se přidá k roztoku 0,154 g benzoátu (20S)-4,4-dimethyl-20-[(toluen-4-sulfonyl)oxy)methyl]-pregna-5,7-dien-3 β -olu v 3 ml N,N-dimethylformamidu. Reakční směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v dichlormethanu a promyje se třikrát vodou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu. 125 mg zbytku se krystalizuje z methanolu za získání 45 mg benzoátu (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -olu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,05$ (2H,d); 7,57 (1H,t); 7,46 (2H,t); 5,94 (1H,d); 5,56 (1H,m); 4,88 (1H,t); 2,43 (2H,m).

f) (20S)-20-[(piperidine-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol

Roztok 45 mg benzoátu (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -olu v 2,5 ml tetrahydrofuranu se přidá k suspenzi 45 mg lithiualuminiumhydridu v 2 ml tetrahydrofuranu. Po 2 hodinách míchání při teplotě místnosti se přidají 3 ml nasyceného vodného roztoku síranu sodného a 5 ml 1N roztoku hydroxidu sodného. Směs se extrahuje třikrát 10 ml dichloromethanu. Organické vrstvy se spojí, promyjí se 1N roztokem hydroxidu sodného a vodou, suší se nas síranem sodným, filtrují se a odpaří se za sníženého tlaku. 35 ml zbytku se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 22 mg (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -olu.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 5,93$ (1H,d); 5,53 (1H,m); 3,4 (1H,t); 2,42 (2H,m); 1,22 (3H,s); 1,13 (3H,s); 1,02 (3H,d); 0,98 (3H,s); 0,6 (3H,s).

Příklad 9

(20S)-20-[(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 15)

a) (20S)-4,4,20-trimethyl-21-tosyloxy-pregna-8,14-dien-3 β -ol
4,7 g p-tosylchloridu se při teplotě místnosti po malých částech přidá k roztoku 4,5 g (20S)-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diolu v 91 ml pyridinu. Směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a potom se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu, promyje se vodou a roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 3,2 g (20S)-4,4,20-

trimethyl-21-tosyloxy-pregna-8,14-dien-3 β -olu ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 512 (M)

b) (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbonitril

1,7 g kyanidu draselného se při teplotě místnosti rozpustí v roztoku 4,7 g (20S)-4,4,20-trimethyl-21-tosyloxy-pregna-8,14-dien-3 β -olu v 90 ml dimethylsulfoxidu. Reakční směs se míchá 2 hodiny při 90 °C, nalije se do vody, extrahuje se ethylacetátem a promyje se vodou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku a získá se 2,8 g (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbonitrilu ve formě bílé, pevné látky, která se použije bez dalšího čištění.

MS (EI+): 367 (M)

c) (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd

16 ml diisobutylaluminiumhydridu (20 % v toluenu) se při teplotě -72 °C přikape k roztoku 920 mg (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbonitrilu v 60 ml toluenu. Reakční směs se míchá 2 hodiny při této teplotě, nalije se do 2N kyseliny sírové, extrahuje se ethylacetátem, promyje se 2N kyselinou sírovou a potom se promyje zpoloviny nasyceným roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za sníženého tlaku za získání 750 mg (20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehydu ve formě bílé, pevné látky, která se použije bez dalšího čištění.

MS (EI+): 370 (M)

d) (20S)-[(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

107 mg tris(acetoxy)borohydridu sodného se při teplotě místnosti přidá k roztoku 125 mg (20S)-3 β -4,4,20-trimethylpregna-8,14-dien-21-karbaldehydu a 82,6 mg N-(2-pyridyl)piperazinu ve 2 ml tetrahydrofuranu. Směs se míchá 20 hodin, nalije se do vody a odpaří se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie za získání 84 mg (20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -olu ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 517 (M)

Příklad 10

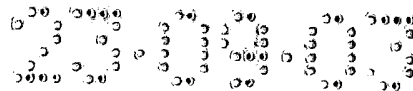
(20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 16)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethylpregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s N-fenylpiperazinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 516 (M)

Příklad 11

(20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 17)



(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s 1-methylpiperazinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 454 (M)

Příklad 12

(20S)-20-[(N,N-dimethylamino)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 18)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s N,N-dimethylaminem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(N,N-dimethylamino)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 399 (M)

Příklad 13

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 19)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s morfolinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(morfolin-4-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 441 (M)

Příklad 14

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 20)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s pyrrolidinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 425 (M)

Příklad 15

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol (sloučenina číslo 21)

(20S)-3 β -hydroxy-4,4,20-trimethyl-pregna-8,14-dien-21-karbaldehyd se reaguje s piperidinem a tris(acetoxy)borohydridem sodným podle postupu popsaného v příkladu 9d). Izoluje se (20S)-20-[(piperidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol ve formě bílé, pevné látky.

MS (EI+): 439 (M)

Příklad 16

(20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol (sloučenina číslo 22)

a) methylether 3 β -terc-butyldimethylsilyloxybisorcholenové kyseliny

10 g 3β -hydroxybisnorcholenové kyseliny, 12 g hydrogenuhličitanu draselného, 10 ml methyljodidu a 10 ml dimethylformamidu se tři dny míchá při teplotě místnosti a nalije se do 1,5 ml vody. Bílá sraženina se odfiltruje. K bílé sraženině se přidá diethylether a nerozpustná látka se odfiltruje. Po odpaření etherové fáze ve vakuu se získá surový silylether, který se rozpustí v 400 ml dimethylformamidu. Přidá se 6 g terc-butyl dimethylsilylchloridu a 6 g imidazolu a směs se odpaří ve vakuu a čistí se pomocí flash chromatografie za získání 5,3 g methyletheru $3,3$ -terc-butyl dimethylsilyloxynorcholenové kyseliny.

b) 3β -terc-butyl dimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-ol

2,2 ekvivalentu 2M diisobutylaluminiumhydridu v toluenu se přidá k methyletheru 3β -terc-butyl dimethylsilyloxybisnorcholenové kyseliny a reakční směs se míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se přidá k vodě, extrahuje se diethyletherem, odpaří se ve vakuu a čistí se pomocí flash chromatografie za získání 3,3 g 3β -terc-butyl dimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-olu.

c) 3β -terc-butyl dimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-ol

1,9 g Dess-Martinova jodičnanu v 30 ml dichloromethanu se přidá k 1,6 g 3β -terc-butyl dimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-olu v 30 ml dichloromethanu a reakční směs se míchá 24 hodin a potom se nalije do diethyletheru a extrahuje se 1N roztokem hydroxidu sodného. Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu a získá se 1,6 g 3β -

terc-butyldimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-al.

d) 3,8-terc-butyldimethylsilyloxy-(20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en

0,16 g 4-fenylpiperidinu se přidá k 0,26 g 3 β -terc-butyldimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-alu v 20 ml tetrahydrofuranu a potom se přidá 0,38 g tris(acetoxo)borohydridu sodného. Po 5 hodinách se reakční směs nalije do nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, extrahuje se ethylacetátem, suší se a odpaří se ve vakuu. Po flash chromatografii se získá 76 mg 3 β -tercbutyldimethylsilyloxy-(20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-enu.

e) (20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

0,2 ml 6N kyseliny chlorovodíkové se přidá ke směsi 100 mg 3 β -terc-butyldimethylsilyloxy-(20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-enu v 10 ml ethanolu a směs se míchá 4 dny při teplotě místnosti. Přidá se dichlormethan a organická fáze se promyje vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání sloučeniny uvedené v názvu.

MS (EI+): 478 (M)

Příklady 17 až 22

Postupy d) a e) z příkladu 16 se zopakují na 3 β -terc-butyldimethylsilyloxy-(20S)-20-methyl-5 α -pregna-5-en-21-alu za získání následující sloučenin:

Příklad 17

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
(sloučenina číslo 23)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití piperidinu při reduktivní aminaci v kroku d), po které následuje kyselé odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 400 (M)

Příklad 18

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
(sloučenina číslo 24)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití morfolinu při reduktivní aminaci v kroku d), po které následuje silylové odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 402 (M)

Příklad 19

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
(sloučenina číslo 25)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití pyrrolidinu při reduktivní aminaci v kroku d), po které následuje silylové odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 386 (M)

Příklad 20

(20S)-20-[(4-karboxyethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol (sloučenina číslo 26)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití 4-karboxyethylpiperidinu při redukční aminaci v kroku d), po které následuje silylové odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 472 (M)

Příklad 21

(20S)-20-[(3-hydroxypiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
(sloučenina číslo 27)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití 3-hydroxypiperidinu při redukční aminaci v kroku d), po které následuje silylové odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 416 (M)

Příklad 22

(20S)-20-[(4-benzoylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol
(sloučenina číslo 28)

Sloučenina uvedená v názvu se získá za použití 4-benzoylpiperidinu při redukční aminaci v kroku d), po které následuje silylové odstranění chránicí skupiny v kroku e).

MS (EI+): 504 (M)

Příklad 23

Testování látek aktivujících meiózu na oocytech myši

Zvířata

Oocyty se získají od nedospělých samic myši (C57BI/6J x DBA/2J F1 hybridy, Bomholtgaard, Denmark) o hmotnosti 13 až 16 gramů, které byly chovány za kontrolovaných světelných a tepelných

podmínek. Myši dostaly intraperitoneální injekci 0,2 ml gonadotropinů (obsahujících 10 IU PMSG, gonadotropinové sérum březích klisen, Sigma kat. č. G-4877) a po 48 hodinách se usmrtily oddělením hlavy.

Odběr a kultivace oocytů

Vaječníky se vyjmuly a oocyty se izolovaly v Hx-médiu (viz níže) pod steromikroskopem pomocí manuálního protržení folikulů za použití páru jehel o velikosti 27. Kulaté oocyty obklopené kumulem (CEO) vykazující nepoškozené zárodečné váčky (GV) se umístily do α -minimálního esenciálního média (α -MEM bez ribonukleosidů, Gibco BRL, kat. č. 22561) s přidavkem 3 mM hypoxanthinu (Sigma kat. č. H-9377), 8 mg/ml humánního sérového albumin (HSA, State Serum Institute, Denmark), 0,23 mM pyruvátu (Sigma, kat. č. S-8636), 2 mM glutaminu (Flow kat. č. 16-801), 100 IU/ml penicillinu a 100 μ g/ml streptomycinu (Flow kat. č. 16-700). Toto médium bylo označeno jako Hx-médium.

Oocyty se třikrát ponořily do Hx-média a kultivovaly se v čtyřjamkových multimiskách (Nunclon, Denmark), ve kterých každá jamka obsahovala 0,4 ml Hx-média a asi 25 oocytů. Jeden kontrolní vzorek (tj. asi 25 oocytů kultivovaných v Hx-médiu bez přidavku testované sloučeniny) se vždy kultivoval současně s testovanými vzorky, které byly připraveny s různými koncentracemi testovaných sloučenin. Kultivace se prováděla při 37 °C a 100% vlhkosti s 5 % oxidu uhličitého ve vzduchu. Doba kultivace byla 22 hodin.

Testování oocytů

Oocyty se zastavenou meiózou se vyznačují neporušeným jádrem s vyčnívajícím jadérkem, známým jako zárodečný váček (GV). Po reiniciaci meiózy jadérko a obal jádra zmizeli a toto stádium

se vyznačovalo prasknutím GV, který se potom nazývá prasklý zárodečný váček (GBV). O několik hodin později oocyt dokončil redukční dělení a vzniklo první, tak zvané polární tělo (PB).

Na konci doby kultivace se zjistil počet oocytů se zárodečným váčkem (GV) nebo prasklým zárodečným váčkem (GVB) a oocytů s polárním tělem (PB) za použití steromikroskopu nebo invertovaného mikroskopu s diferenciálním interferenčním kontrastním zařízením. V testované kultuře se vypočetl procentuální podíl oocytů s GVB vzhledem k celkovému počtu oocytů a procentuální podíl oocytů s PB vzhledem k celkovému počtu oocytů a porovnal se s kontrolní kulturou.

Tabulka 1

Aktivace meiózy u oocytů myši obklopených kumulem

Sloučeniny	Oocyty [n]			Aktivace [%]
	GV	GVB	PB	GVB+PB
Kontrola (Hx)	19	1	4	21
10 μ M FF-MAS	13	6	5	46
0,1 μ M slouč. z př. 1	14	7	2	39
1 μ M slouč. z př. 1	6	12	6	75
10 μ M slouč. z př. 1	1	14	7	95

Hx = Hypoxanthin

GV = zárodečný váček

GVB = prasklý zárodečný váček

PB = polární tělo

n = počet oocytů

Příklad 24

Testování látek aktivujících meiózu na kultivačním systému s folikuly myši

Zvířata

Folikuly se získaly od nedospělých samic myši 19 až 21 dní starých (C57BI/6J x CBA/J), které byly chovány za kontrolovaných světelných a tepelných podmínek.

Odběr séra a kultivace folikulů

Zvířata se anestetizovala etherem a krev se odebrala pomocí extrakce oka. Po vysrážení se krev odstřeďovala 15 minut při 4000 x g a odebralo se sérum a skladovalo se při -20 °C až do použití. Vyjmuly se vaječníky a umístily se do média Leibovitz L-15 (Gibco kat. č. 41300) doplněného 1 mmol glutaminu l⁻¹, 3 mg BSA ml⁻¹, 5 µg humánního transferrinu ml⁻¹ (bez železa), 5 µg insulinu ml⁻¹ (chemikálie o čistotě pro kultivace, Sigma, St. Louis, MO) při 37 °C.

Preantrální folikuly s průměrem 170 až 190 µm se izolují mechanicky pomocí dvou jehel o velikosti 27 na 1ml stříkačce. Umístí se a promyjí (třikrát) do čtyřjamkových kultivačních destiček (Nunclon, Denmark) v α-minimálním esenciálním médiu (α-MEM; Gibco kat. č. 11900) doplněném 2 mmol glutaminu l⁻¹, 10 µg transferrinu ml⁻¹ a 10 µg insulinu ml⁻¹ a s 3 mg BSA ml⁻¹.

Vyberou se folikuly o průměru 170 až 190 µm s normálním morfologickým vzhledem, tj. centrální kulatý oocyt, vysoká hustota granulosoých buněk a obalová vrstva obklopující celý folikul, a jednotlivě se kultivují v 96jamkové kultivační destičce (Nunclon, Denmark) s 40 µl α-MEM kultivačního média doplněného

50 μl séra nedospělých myši ml^{-1} , 5 μg insulinu ml^{-1} , 2 mmol glutaminu ml^{-1} , 10 μg humánního transferrinu ml^{-1} a 0,2 IU FSH (Gonal F, Serono, Solna, Sweden). Bez jakéhokoli překrývání folikulů olejem se kultivují ve vlhkém inkubátoru s 5 % oxidu uhličitého ve vzduchu při 37 °C.

Začátek kultivace se definuje jako den 0. Kultivační médium se mění každý další den. Průměr folikulů se měří každý den za použití $\times 100$ zvětšení a kalibrovaného mikrometru. Kromě toho se kontroluje míra přežití folikulů hodnocením degenerace (tmavnutí folikulu) a praskání (zmizení oocyty). Doba kultivace byla 4 dny.

Ve dni 2 a ve dni 3 se ke kultivačnímu médiu přidala testovaná sloučenina v objemu 1,72 μl . Testované sloučeniny se rozpustily v ethanolu jako vehikulu.

Testování folikulů

Oocyty se zastavenou meiózou se vyznačují neporušeným jádrem s vyčnívajícím jadérkem, známým jako zárodečný váček (GV). Po reiniciaci meiózy jadérko a obal jádra zmizeli a toto stádium se vyznačuje prasknutím GV, který se potom nazývá prasklý zárodečný váček (GBV).

Ve dni 4, na konci kultivace, se u folikulů porovnálo obnovení meiózy. Zjistil se počet folikulů obsahujících oocyty se zárodečným váčkem (GV) nebo prasklým zárodečným váčkem (GVB) za použití steromikroskopu nebo invertovaného mikroskopu s diferenciálním interferenčním kontrastním zařízením. V testované kultuře se vypočetl procentuální podíl folikulů s GVB vzhledem k celkovému počtu folikulů a porovnal se s kontrolní kulturou obsahující vehikulum.

Tabulka 2

Sloučeniny	Folikuly [n]		Aktivace [%] GVB
	GV	GVB	
Kontrola (1,72 ethanol)	16	2	11
10 μM FF-MAS	9	0	0
0,1 μM slouč. z př. 1	2	7	78
1 μM slouč. z př. 1	0	9	100
10 μM slouč. z př. 1	0	8	100

GV = oocyty se zárodečným váčkem

GVB = oocyty s prasklým zárodečným váčkem

n = počet folikulů

Příklad 25

Léčba neplodnosti za použití agonisty MAS *in vitro*

Vajíčka se vyjmula pomocí ultrazvukem vedeného transvaginálního odsátí z vaječníků pacientek buď stimulovaných nebo nestimulovaných hormony.

Stimulace hormonem se může provést pomocí postupu IVF o standardní délce, který zahrnuje použití regulace pomocí antagonisty gonadotropinu, například nosního spreje Synarella, po kterém následuje po 14 dnech každý den injekce FSH (Gonal-F podávaný SC) při 150 IU za den. 36 hodin před odebráním vajíčka pacientka dostane hCG (10 000 IU humánní chorion gonadotropin, SC), aby se vyvolala konečná maturace folikulu a oocytu.

Sloučenina se přidala do kultivačního média v koncentraci 3 μM a nechala se interagovat s gametou před fertilizací buď aby zprostředkovala nebo zlepšila proces meiotické maturace. Oocyty se fertilizovaly *in vitro*, kultivovaly *in vitro* a

zpátky se převedly do dělohy pacientky typicky ve dni 3 po odebrání oocytu. Pacientka dostala progesteron (vaginální gel crinone, 1 dávka za den) a/nebo estradiol (oestradiol-valerate 2 mg/den), aby se zlepšila implantace a aby byla děloha lépe schopna přijmou implantát.

Sloučenina přidaná ke kultivačnímu médiu značně zlepšila kvalitu maturace oocytu, což vedlo k vyšší rychlosti fertilizace, vyššímu preimplantačnímu vývoji, vyšší rychlosti implantace a konečně vyšší úspěšnosti získání zdravě narozených dětí.

Příklad 26

Léčba neplodnosti žen za použití agonisty MAS *in vivo*

Sloučenina se podávala orálně dvakrát za den v dávce 10 mg/kg pacientkám ode dne ukončení maturace oocytu vyvolané injekcí hCG (10 000 IU humánní chorion gonadotropin, SC). hCG se může podávat při normálním cyklu. Cyklus může být indukován odebráním progesteronu podávaného minimálně 10 dní před odebráním, aby se vyvolalo krvácení a aktivita cyklu s amenoreou nebo PCO (polycystickým syndromem vaječnicků). OR nebo gCG se mohou podávat jako integrovaná součást běžné dlouhodobé hormonální stimulace podle postupu IVF (za použití regulace antagonistou gonadotropinu, například nosním sprejem Synarella, po kterém po 14 dnech následují injekce FSH denně při dávce 150 až 225 IU za den).

Pacientka byla léčena buď pomocí přídavné léčby k normální IVF léčbě s odebráním vajíčka, IVF a přenosu embrya. Nebo se alternativně použila léčba v kombinaci s fertilizací dosaženou za použití inseminace nebo pomocí přirozeného průběhu.

Léčba zvýšila hladinu agonisty MAS v séru pacientek okamžitě po ovulaci, přičemž se dosáhlo zlepšení kvality maturace

oocytů. Kvalita ovulovaného vajíčka se zlepšila pomocí indukce meiózy denním podáváním sloučeniny, což vedlo k vyšší rychlosti fertilizace, vyššímu vývoji před implantací, vyšší rychlosti implantace a konečně větší úspěšnosti narození zdravých dětí.

Příklad 27

Léčba mužské neplodnosti za použití agonisty MAS *in vivo*

Sloučenina se podávala perorálně dvakrát denně v dávce 10 mg/kg pacientům po dobu nejméně 60 dní.

Léčba zvýšila hladinu agonisty MAS v séru pacienta, což pozitivně stimulovalo proces meiózy ve varlatech a následně po čase parametry kvality semene. Parametry kvality semene pacientů (počet spermatozoa, morfologie, progresivní motilita a tak dále) se jednotlivě nebo všechny najednou zlepšily, což vedlo ke zlepšení fertility semene pacienta.

Tato léčba měla takový účinek, že bylo možné vyloučit ICSI fertilizaci a mohla se provést pouze IVF fertilizace nebo v jiném příkladě bylo možné vyhnout se IVF/ICSI fertilizaci a mohlo se dosáhnout fertilizace pomocí inseminace nebo pomocí přirozeného postupu.

Příklad 28

Léčebný režim při ženské antikoncepci za použití agonisty MAS a předčasné maturace oocytu

Sloučenina se podávala perorálně dvakrát denně v dávce 50 mg/kg pacientkám každý den v průběhu normálního cyklu. Pacientka byla léčena buď pomocí přídatné léčby k normální IVF léčbě s odebráním vajíčka, IVF a přenosu embrya. Nebo se

alternativně použila léčba v kombinaci s fertilizací dosaženou za použití inseminace nebo pomocí normálního průběhu.

Léčba zvýšila hladinu agonisty MAS v séru pacientek dlouho před tím, než došlo k ovulaci a zprostředkovala maturaci oocyty dlouho před ovulací. Při ovulaci nebyly již získané přematureované oocyty životaschopné nebo schopné oplodnění. Normální menstruační cyklus nebyl ovlivněn, ani se nezměnila normální hladina a dynamika steroidních hormonů.

Příklad 29

Léčebný režim antikoncepce žen za použití antagonisty MAS blokujiícího proces meiózy ve vaječnicích

Sloučenina se podávala perorálně dvakrát denně v dávce 50 mg/kg pacientkám denně při normální průběhu cyklu.

Léčba zvýšila hladinu antagonistů MAS v séru pacientky, což účinně inhibovalo přirozený průběh maturace oocyty. Proces ovulace proběhl normálně a aktivita cyklu zůstala beze změny. V době ovulace však byla zastavena meióza a ovulovala tedy immatura a neplodný oocyt. Normální hladina a dynamika steroidních hormonů zůstala neovlivněna, stejně jako přirozená aktivita cyklu a měsíční menzes zůstal beze změn.

Příklad 30

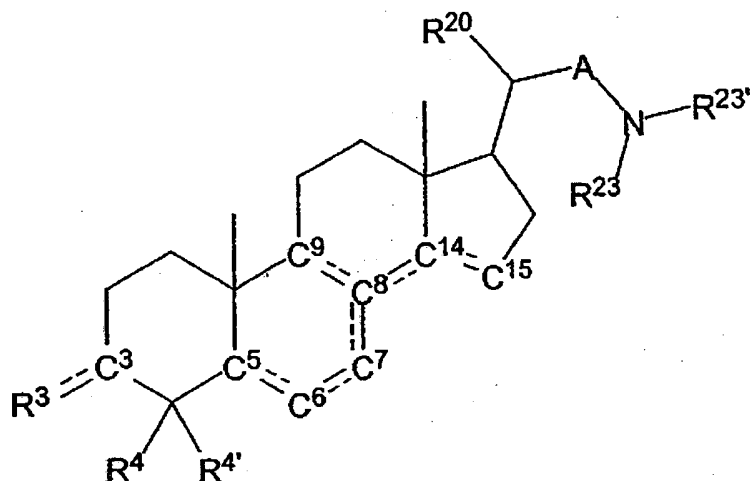
Léčebný režim antikoncepce u mužů za použití antagonisty MAS blokujiícího proces meiózy ve varlatech

Sloučenina se podávala perorálně dvakrát denně v dávce 50 mg/kg mužským pacientům každý den minimálně po dobu 60 dnů. Proces spermatogeneze trvá u člověka přibližně 60 až 65 dní.

Léčba indukovala hladinu antagonistů MAS v séru léčených pacientů, což účinně inhibovalo přirozený průběh a specializaci meiózy, čímž se dosáhlo vzniku fertilizovaného maturovaného spermatozoa ve varlatech pacientů. Proces spermatogeneze byl inhibován a vytvářelo se a uvolňovalo výhradně neplodné spermatozoum. Endokrinologie varlat však zůstala neovlivněna a normální hladina a dynamika steroidních hormonů zůstala nezměněna.

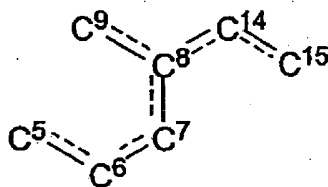
P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Steroidní sloučenina obecného vzorce X



(X)

kde ve skupině XA sloučeniny vzorce X



(XA)

každá vazba mezi C^5 a C^6 , mezi C^6 a C^7 , mezi C^7 a C^8 , mezi C^8 a C^9 , mezi C^8 a C^{14} a mezi C^{14} a C^{15} , je nezávisle jednoduchá vazba nebo dvojná vazba, alespoň jedna z těchto vazeb je dvojná vazba a kde každý atom uhlíku C^5 , C^6 , C^7 , C^8 , C^9 , C^{14} a C^{15} je vázaný ke každému sousednímu atomu uhlíku jednoduchou vazbou nebo nejvýše jednou dvojnou vazbou, a

kde

C^3R^3 je

- a) $C^3=O$ nebo
- b) $C^3H-OR^{3'}$, kde $R^{3'}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, a $C^3(O)-R^{3''}$, vázaná ke skupině $CH-O$ prostřednictvím skupiny $C(O)$, kde $R^{3''}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří
- i) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,
 - ii) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená fluoralkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,
 - iii) nesubstituovaná nebo substituovaná arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,
 - iv) nesubstituovaná nebo substituovaná heteroarylová skupina obsahující 5 až 10 atomů uhlíku,
 - v) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkyloxyskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a
 - vi) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylaminoskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, nebo
- c) $C^3H-SO_2-R^{3''}$ nebo $C^3=NOR^{3''}$, kde $R^{3''}$ mají stejný význam, jako je uvedeno výše nebo
- d) $C^3H-O-R^{3''}$, kde $R^{3''}$ je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylenová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku a tvoří cyklický ether jak s atomem uhlíku steroidního skeletu, tak s atomem kyslíku, nebo

e) cyklická kruhová struktura s C^3 atomem, kde R^3 je nesubs-
tituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkyle-
nová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku, nebo

f) C^3H-Hal , kde Hal je atom fluoru, atom chloru, atom bromu
nebo atom jodu,

a

R^4 , $R^{4'}$ a R^{20} , jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou
tvoří atom vodíku a nesubsituovaná nebo substituovaná,
lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4
atomy uhlíku,

a

R^{23} a $R^{23'}$, jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou
tvoří

a) atom vodíku,

b) nesubsituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvět-
vená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

c) nesubsituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvět-
vená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku,

d) nesubsituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvět-
vená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, nejméně
jeden atom uhlíku alkylové skupiny je substituovaný některým
atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom
dusíku a atom síry,

e) nesubsituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvět-
vená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku,
nejméně jeden atom uhlíku alkenylové skupiny je substituovaný

některým atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom dusíku a atom síry,

f) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,

nebo

R^{23} a $R^{23'}$ společně tvoří

a) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, nebo

b) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, kde nejméně jeden z atomů uhlíku alkylenové skupiny je nahrazen atomem kyslíku, atomem dusíku nebo atomem síry,

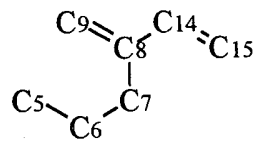
a

A je nesubstituovaná nebo substituovaná methylenová skupina nebo ethylenová skupina;

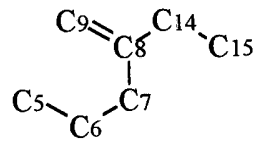
s podmínkou, že jsou vyloučeny následující sloučeniny: (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol a (20R)-20-methyl-23-dimethylamino-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol, 23-azazymosterol, 22-amino-23,24-bisnorchol-5-en-3 β -ol, 23-amino-24-norchol-5-en-3 β -ol.

2. Steroidní sloučenina podle nároku 1, kde jsou ve steroidním skeletu přítomny nejméně dvě dvojně vazby, s výhodou dvě konjugované dvojně vazby.

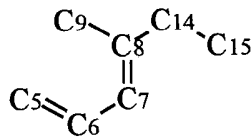
3. Steroidní sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 a 2, kde skupina XA má obecné vzorce



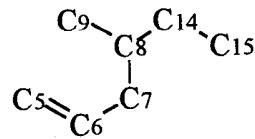
(XA1)



(XA2)



(XA3)



(XA4)

4. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 3, kde C^3R^3 je skupina vybraná ze skupiny, kterou tvoří skupina CH-OH, skupina $C^3H-O-C(O)-R^{3'}$, esterová skupina od monokarboxylové kyseliny, od dikarboxylové kyseliny nebo od anorganické kyseliny, skupina $(CH_2)_n-COOH$, kde $n = 1, 2, 3, 4, 5$ nebo 6, a fluormethylová skupina.

5. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 4, kde $R^{3'}$ je acetylová skupina, propionyllová skupina, pivaloylová skupina, butanoylová skupina, benzoylová skupina, nikotinylová skupina, isonikotinylová skupina, hemisukcinoylová skupina a hemiglutaroylová skupina.

6. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 5, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, methylová skupina a alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku substituovaná atomem halogenu, hydroxylovou skupinou, alkyloxyskupinou nebo aryloxyskupinou.

7. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 6, kde R^{20} je atom vodíku nebo methylová skupina.

8. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 7, kde R^{23} a $R^{23'}$ jsou nezávisle na sobě alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkenylová skupina obsahující 2 až 4 atomy uhlíku, substituovaná nejméně jednou skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku.

9. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 8, kde R^{23} a $R^{23'}$ společně s atomem dusíku aminoskupiny tvoří heterocyklickou kruhovou strukturu obsahující atom dusíku vybranou ze skupiny, kterou tvoří piperidin-1-ylová skupina, morfolin-4-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina, pyrrolidin-1-ylová skupina, pyrrol-1-ylová skupina, indol-1-ylová skupina, pyrazol-1-ylová skupina, imidazol-1-ylová skupina, thiazolidin-1-ylová skupina a oxazolidin-3-ylová skupina a jejich deriváty.

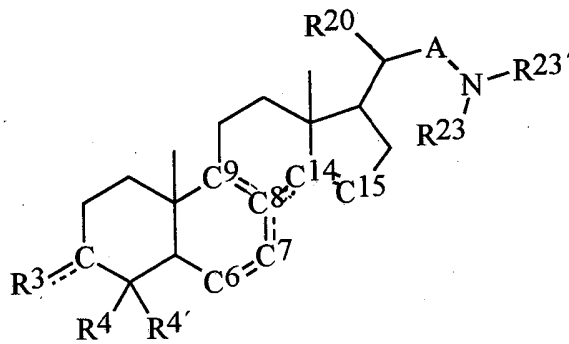
10. Steroidní sloučenina podle nároku 9, kde heterocyklická kruhová struktura je substituovaná skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří alkylová skupina, alkenylová skupina, alkylylová skupina, cykloalkylová skupina, cykloalkenylová skupina, alkylcykloalkylová skupina, arylová skupina, alkylarylová skupina, hydroxylová skupina, alkoxy skupina, alkylcykloalkyloxyskupina, alkyloxycykloalkylová skupina, alkylaryloxyskupina, alkyloxyarylová skupina, atom halogenu a acylová skupina.

11. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 10, kde A je methylenová skupina nebo ethylenová skupina.

12. Meziprodukt pro přípravu steroidních sloučenin podle kteréhokoli z nároků 1 až 11, kterým je

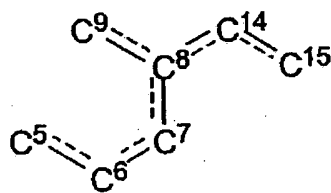
20S)-4,4-dimethyl-20-hydroxymethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol a
 (20S)-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol-20-karbaldehyd.

13. Steroidní sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce X



(X')

kde ve skupině XA



(XA')

každá vazba mezi C⁶ a C⁷, mezi C⁷ a C⁸, mezi C⁸ a C⁹, mezi C⁸ a C¹⁴ a mezi C¹⁴ a C¹⁵, je nezávisle jednoduchá vazba nebo dvojná vazba, s podmínkou, že každý atom uhlíku C⁶, C⁷, C⁸, C⁹, C¹⁴ a C¹⁵ je vázaný ke každému sousednímu atomu uhlíku jednoduchou vazbou nebo nejvýše jednou dvojnou vazbou,

CR³ je

a) C=O nebo

b) $\text{CH-OR}^{3'}$, kde $\text{R}^{3'}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, a $\text{C(O)-R}^{3''}$, vázaná ke skupině CH-O prostřednictvím skupiny C(O) , kde $\text{R}^{3''}$ je vybraná ze skupiny, kterou tvoří

i) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,

ii) substituovaná nebo nesubstituovaná, lineární nebo rozvětvená fluoralkylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku,

iii) nesubstituovaná nebo substituovaná arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,

iv) nesubstituovaná nebo substituovaná heteroarylová skupina obsahující 5 až 10 atomů uhlíku,

v) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkyloxyskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a

vi) nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylaminoskupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, nebo

c) $\text{CH-SO}_2\text{-R}^{3''}$ nebo $\text{C=NOR}^{3''}$, kde $\text{R}^{3''}$ mají stejný význam, jako je uvedeno výše

d) $\text{CH-O-R}^{3''}$, kde $\text{R}^{3''}$ je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylénová skupina a tvoří cyklický ether jak s atomem uhlíku steroidního skeletu, tak s atomem kyslíku, nebo

e) cyklická kruhová struktura s C^3 atomem, kde R^3 je nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylénová skupina obsahující 2 až 10 atomů uhlíku, nebo

f) CH-Hal, kde Hal je atom fluoru, atom chloru, atom bromu nebo atom jodu,

R^4 , $R^{4'}$ a R^{20} jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R^{23} a $R^{23'}$, jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku, a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, nejméně jeden atom uhlíku alkylové skupiny je substituovaný některým atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom dusíku a atom síry, a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkenylová skupina obsahující 2 až 8 atomů uhlíku, nejméně jeden atom uhlíku alkenylové skupiny je substituovaný některým atomem vybraným ze skupiny, kterou tvoří atom kyslíku, atom dusíku a atom síry, a nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená arylová skupina obsahující 6 až 10 atomů uhlíku,

nebo

R^{23} a $R^{23'}$ společně tvoří

a) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 1 až 7 atomů uhlíku, nebo

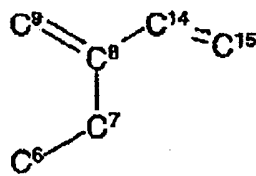
b) nesubstituovanou nebo substituovanou, lineární nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu obsahující 1 až 7 atomů uhlíku, kde

nejméně jeden z atomů uhlíku alkylenové skupiny je nahrazen atomem kyslíku, atomem dusíku nebo atomem síry,

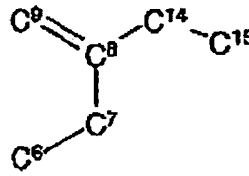
a

A je jednoduchá vazba nebo nesubstituovaná nebo substituovaná methylenová skupina nebo ethylenová skupina.

14. Steroidní sloučenina podle nároku 12, kde skupina má jeden z obecných vzorců XA:



(XA1')



(XA2'')

15. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 nebo 13, kde CR^3 je skupina $CH-OH$ nebo skupina $CH-O-C(O)-R^{3''}$.

16. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 až 14, kde R^3 je esterová skupina odvozená od monokarboxylové kyseliny, dikarboxylové kyseliny nebo anorganické kyseliny.

17. Steroidní sloučenina podle nároku 15, kde $R^{3''}$ je skupina $(CH_2)_n-COOH$, kde $n = 1, 2, 3, 4, 5$ nebo 6 .

18. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 15 a 16, kde R^3 je acetylová skupina, propionyllová skupina, pivaloylová skupina, butanoylová skupina, benzoylová skupina, nikotinylová skupina, isonikotinylová skupina, hemisukcinoylová skupina a hemiglutaroylová skupina.

19. Steroidní sloučenina podle nároku 14, kde $R^{3''}$ je fluor-methylová skupina.

20. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 a 18, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo methylová skupina.

21. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 a 19, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nezávisle na sobě alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, substituovaná atomem halogenu, hydroxylovou skupinou, alkyloxyskupinou nebo aryloxyskupinou.

22. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 a 19, kde R^{20} je atom vodíku nebo methylová skupina.

23. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 a 21, kde R^{23} a $R^{23'}$ jsou nezávisle na sobě alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkenylová skupina obsahující 2 až 4 atomy uhlíku, substituovaná nejméně jednou skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku.

24. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 a 22, kde R^{23} a $R^{23'}$ společně s atomem dusíku aminoskupiny tvoří heterocyklickou kruhovou strukturu vybranou ze skupiny, kterou tvoří piperidin-1-ylová skupina, morfolin-4-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina, pyrrolidin-1-ylová skupina, pyridin-1-ylová skupina, chinolin-1-ylová skupina, isochinolin-1-ylová skupina, pyridazin-1-ylová skupina, pyrimidin-1-ylová skupina, pyrazin-1-ylová skupina, pyrrol-1-ylová skupina, indol-1-ylová skupina, chinoxalin-1-ylová skupina, pyrazol-1-ylová skupina, imidazol-1-ylová skupina, thiazol-1-ylová skupina a oxazol-3-ylová skupina a jejich substituované deriváty a zejména piperidin-1-ylová skupina, morfolin-4-ylová skupina, piperazin-1-ylová skupina a pyrrolidin-1-ylová skupina.

25. Steroidní sloučenina podle nároku 23, kde kruhová struktura je substituovaná skupinou vybranou ze skupiny, kterou tvoří alkylová skupina, alkenylová skupina, alkynylová skupina, cykloalkylová skupina, cykloalkenylová skupina, alkylcykloalkylová skupina, arylová skupina, alkylarylová skupina, hydroxylová skupina, alkoxy skupina, alkylcykloalkyloxyskupina, alkyloxycykloalkylová skupina, alkylaryloxyskupina, alkyloxyarylová skupina, atom halogenu a acylová skupina.

26. Steroidní sloučenina podle kteréhokoli z nároků 12 až 25, kde A je methylenová skupina.

27. Steroidní sloučenina vybraná ze skupiny, kterou tvoří

(20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4,4-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

hemisukcinát (20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -olu

(20S)-20-[N-(3-methoxypropyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-aminomethyl-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[N,N-di-(2-methoxyethyl)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[N-(2,2-dimethylethylen)aminomethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-5,7-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(N,N-dimethylamino)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)ethyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna-8,14-dien-3 β -ol

(20S)-20-[(4-fenylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(morfolin-4-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(pyrrolidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-karboxyethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(3-hydroxypiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-benzoylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(piperidin-1-yl)piperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-thiomorfolinyl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-dimethylaminopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-ketopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(3-ketopiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-karboxylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(3-karboxylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-hydroxypiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(3,3-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol.

(20S)-20-[(4,4-dimethylpiperidin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5a-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-fenylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-benrylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-acetylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-benzoylpiperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(2-pyridyl)piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol.

(20S)-20-[(4-(3-pyridyl)piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(4-pyridyl)piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(4-(2-pyrimidyl)piperazin-1-yl)methyl]-5 α -pregna-5-en-3 β -ol

(20S)-20-[(piperidin-1-yl)methyl]-4,4-dimethyl-5 α -pregna- $\Delta^{8(14)}$ -en-3 β -ol.

28. Farmaceutická kompozice, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje nejméně jednu steroidní sloučeninu obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27 a nejméně jednu farmaceuticky přijatelnou přísadu.

29. Farmaceutická kompozice podle nároku 28, v y z n a č u j í c í s e t í m , že steroidní sloučenina obecného vzorce X je obsažena v účinném množství.

30. Použití steroidní sloučeniny obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27 pro přípravu farmaceutické kompozice vhodné pro regulaci reprodukce, zejména meiózy.

31. Použití steroidní sloučeniny obecného vzorce X podle nároku 30 pro *non-in-vivo* účely.

32. Použití steroidní sloučeniny obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27 pro přípravu antikoncepčního prostředku nebo profertilitního léčiva.

33. Způsob regulace reprodukce, zejména meiózy, v y z n a č u j í c í s e t í m , že sestává z podávání účinného množství nejméně jedné steroidní sloučeniny obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27 pacientovi, který takovou regulaci potřebuje.

34. Způsob zvýšení schopnosti oocytů vyvinout se v savce, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se oocyt vyjmutý z těla savce uvede do styku se steroidní sloučeninou podle kteréhokoli z nároku 1 až 27.

35. Způsob přípravy steroidních sloučenin obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, v y z n a č u - j í c í s e t í m , že zahrnuje následující kroky:

- a. vyjde se z (20S)-20-trimethyl-pregna-8,14-dien-3 β ,21-diolu,
- b. nukleofilně se substituuje na C²¹,
- c. nukleofilní skupina na C²¹ se substituuje kyanidem za vzniku nové vazby uhlík-uhlík na C²¹,
- d. získaný nitril se se redukuje za vzniku aldehydu,
- e. reduktivní aminací nitrilu se připraví různé aminy.

36. Způsob přípravy steroidních sloučenin obecného vzorce X podle kteréhokoli z nároků 1 až 27, kde R^4 a $R^{4'}$ jsou nesubstituovaná nebo substituovaná, lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, v y z n a č u - j í c í s e t í m , že zahrnuje následující kroky:

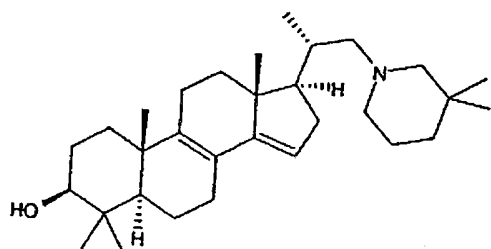
- a. vyjde se z (20S)-20-hydroxymethyl-pregna-4-en-3-onu,
- b. pomocí alkylace se zavedou dvě alkylové skupiny do polohy 4,
- c. ketoskupina se redukuje na hydroxylovou skupinu,
- d. pomocí bromace/debromace se zavede dvojná vazba Δ^7 ,
- e. pomocí zahřívání v přítomnosti kyseliny se dien $\Delta^{5,7}$ izomeruje na dien $\Delta^{8,14}$,
- f. 17-hydroxylová skupina se oxiduje na aldehydovou skupinu a

g. aldehydová skupina se reduktivně aminuje.

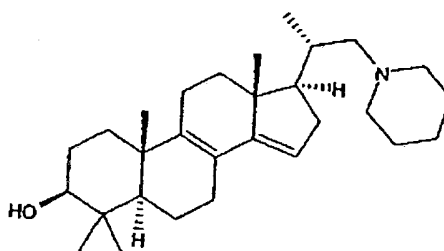
6885

23.09.03

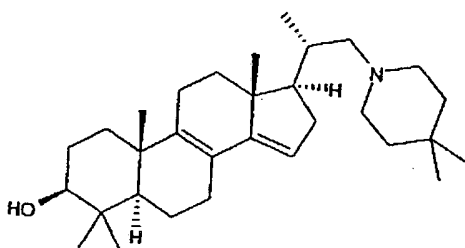
FV 2003-2578



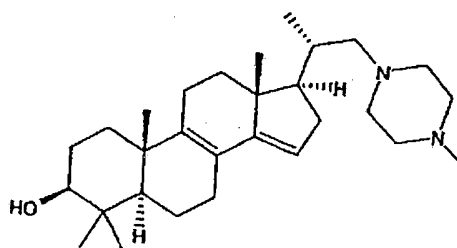
1



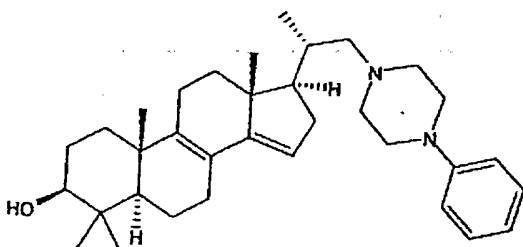
2



3



4



5

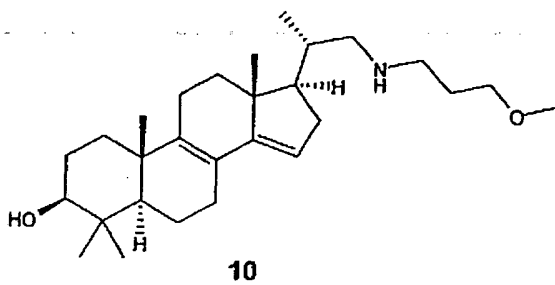
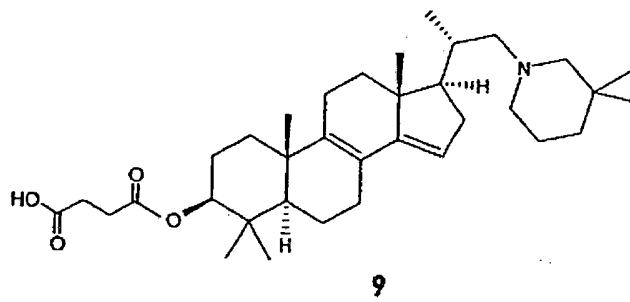
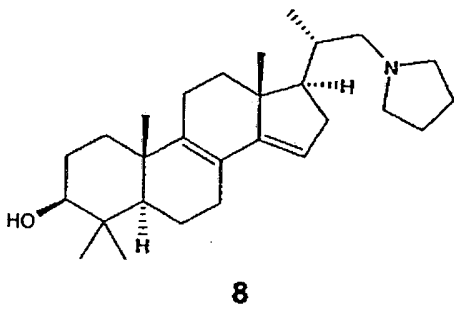
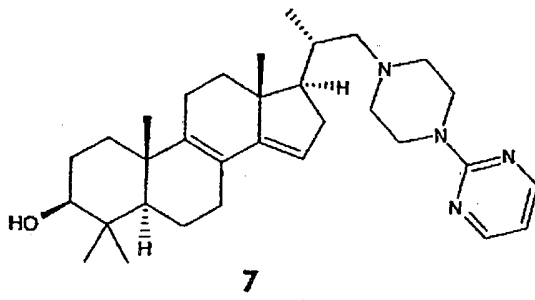
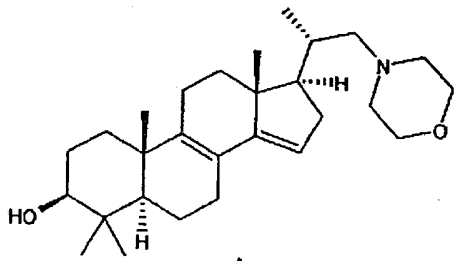
Obr. 1A

Obr. 1A-1E, 1K, 2-3

6.10.2003 *[signature]*

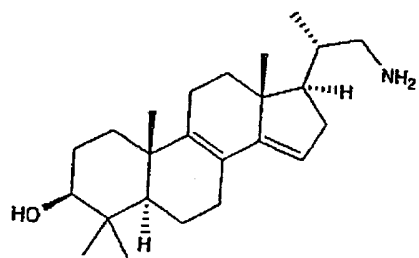
23.09.03

71 2003-2578

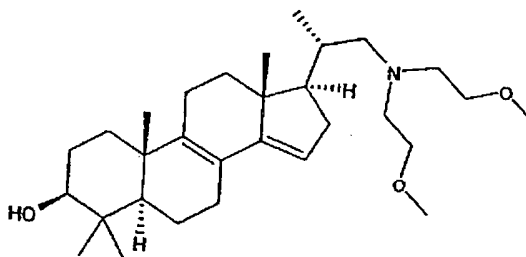


Obr. 1B

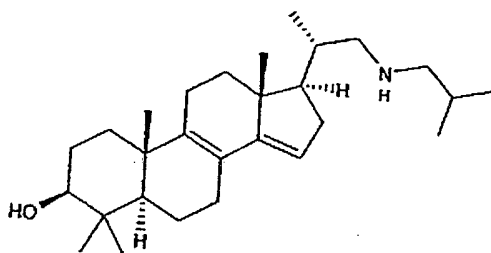
71 2003-2578



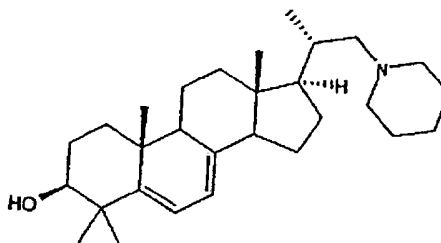
11



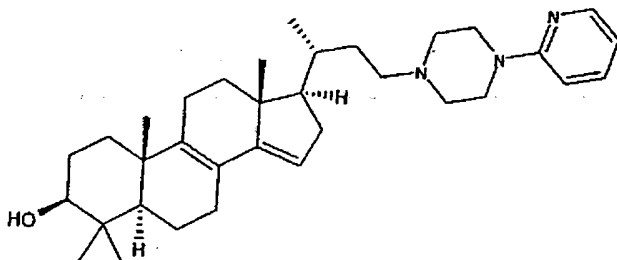
12



13



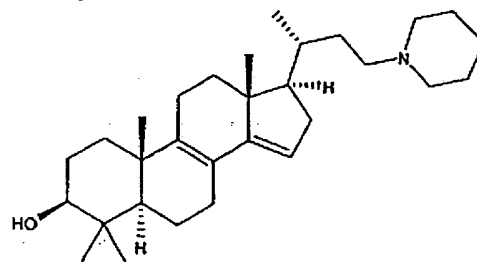
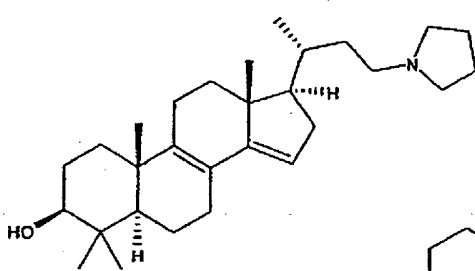
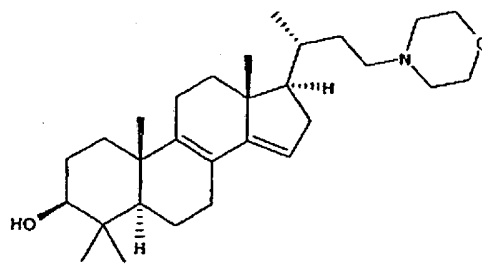
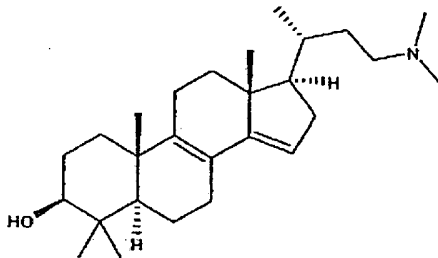
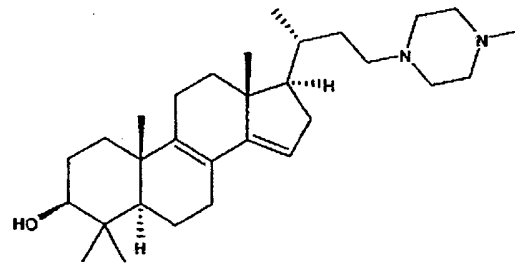
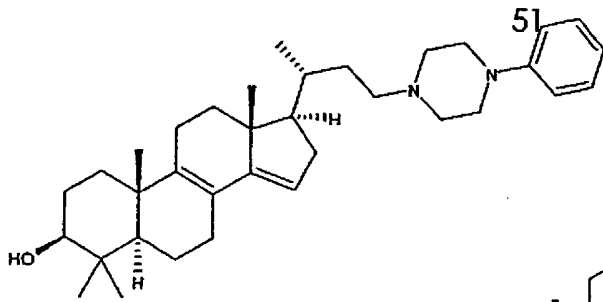
14



15

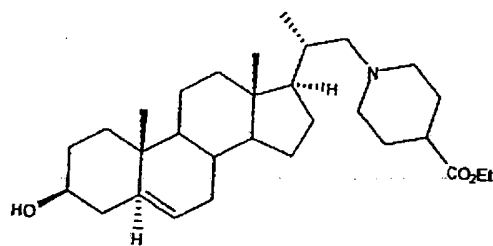
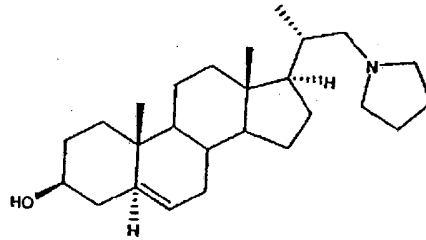
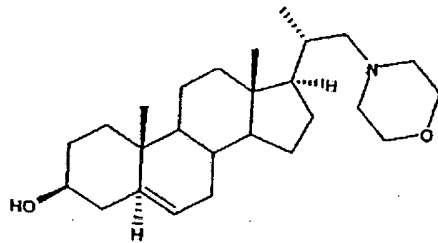
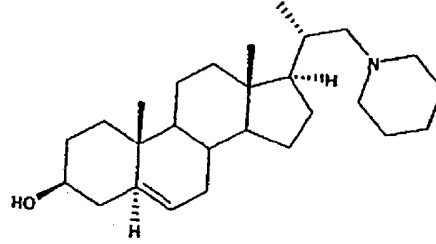
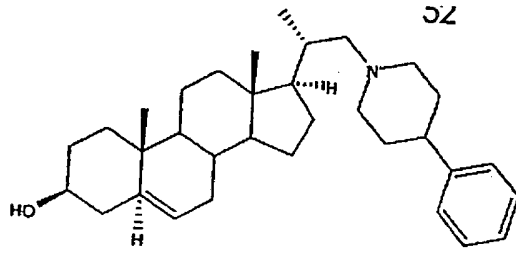
Obr. 1C

9/1 2003-2578

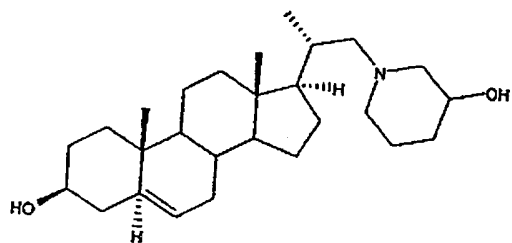


Obr. 1D

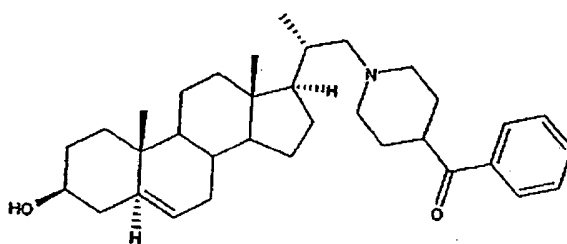
71 2003-2578



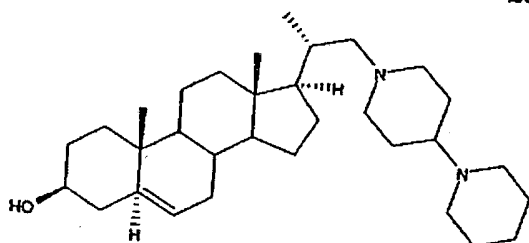
Obr. 1E



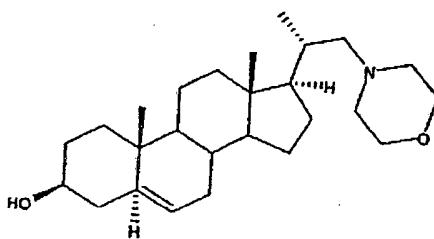
27



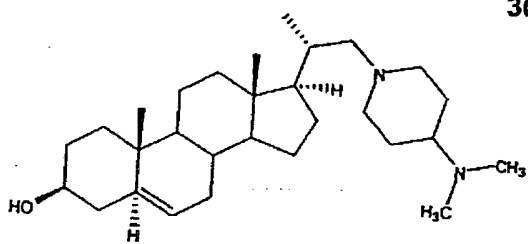
28



29



30

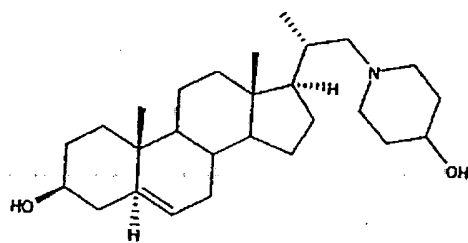
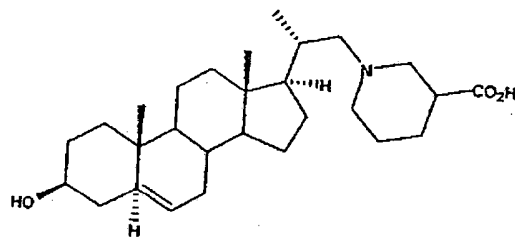
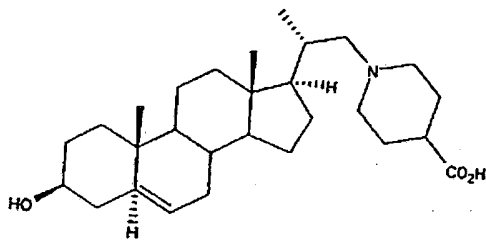
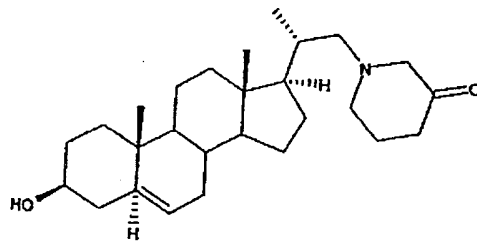
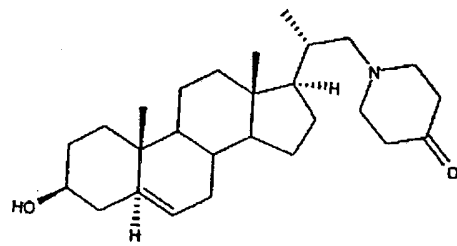


31

Obr. 1F

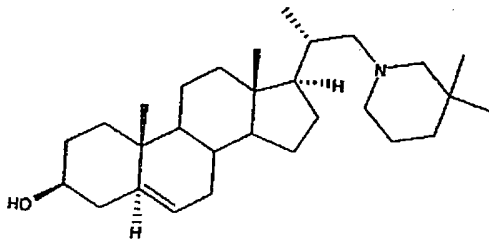
23.09.03

7U 2003-2578

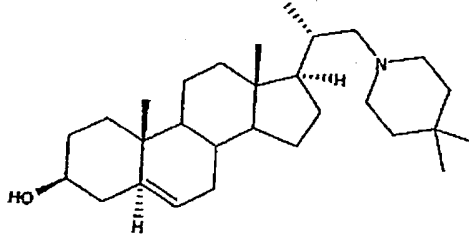


Obr. 1G

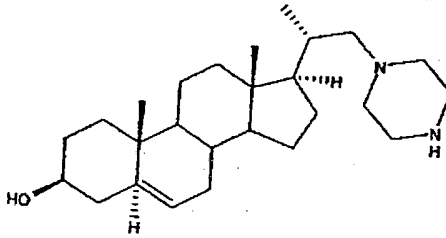
70 2003-2578



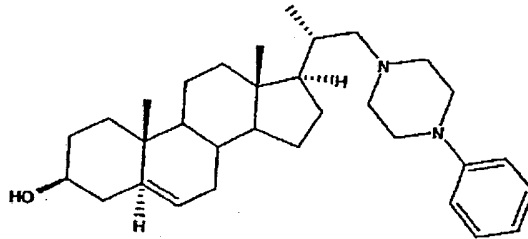
37



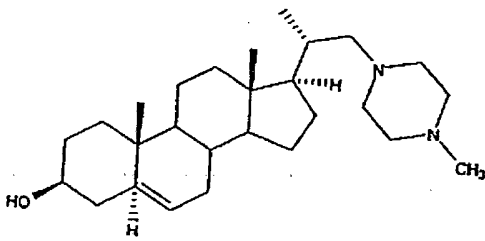
38



39

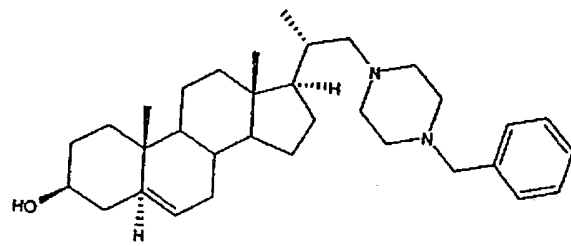


40

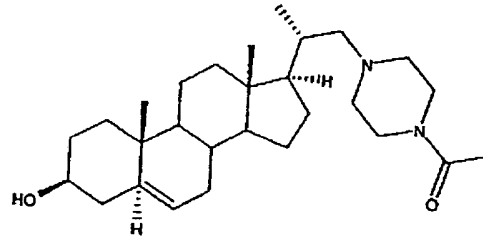


41

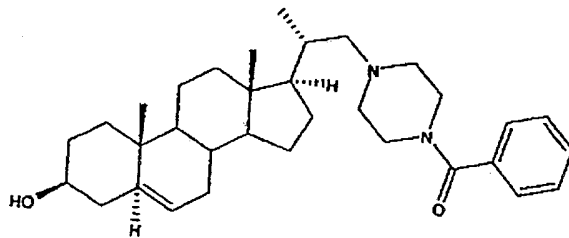
Obr. 1H



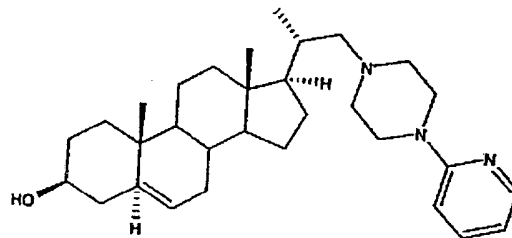
42



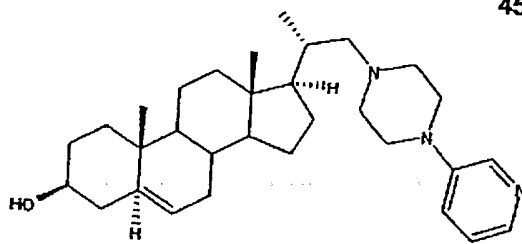
43



44



45

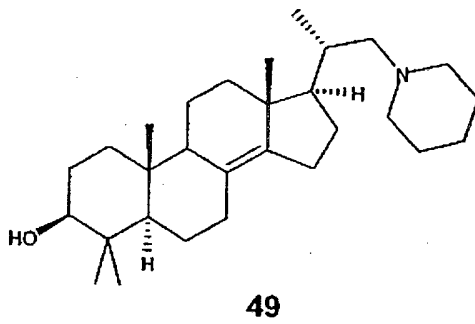
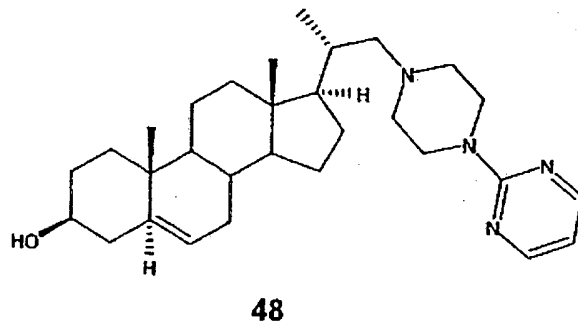
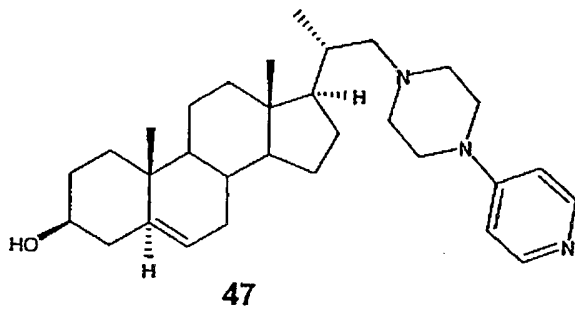


46

Obr. 1I

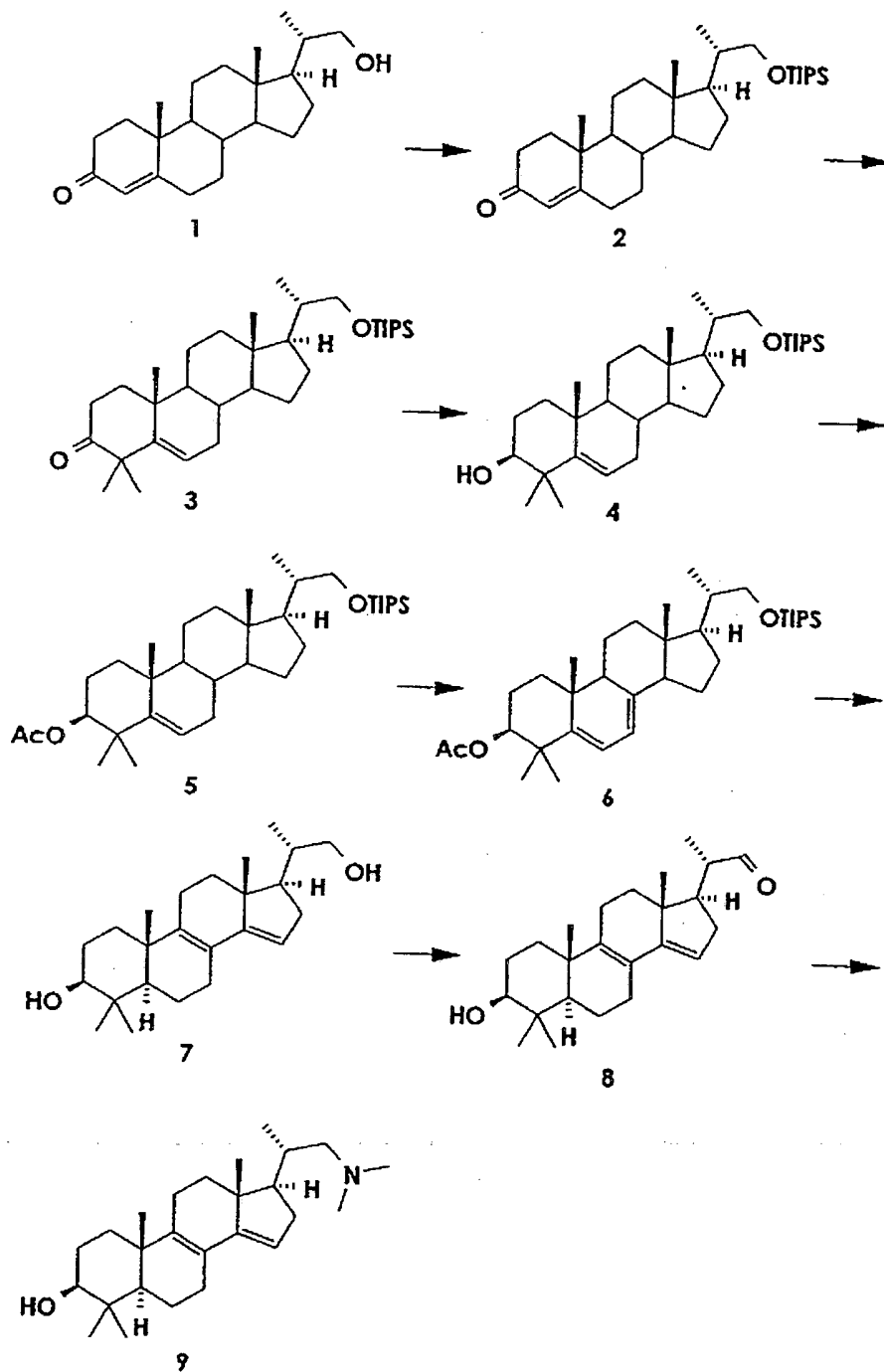
23.09.03

71 2003-2578



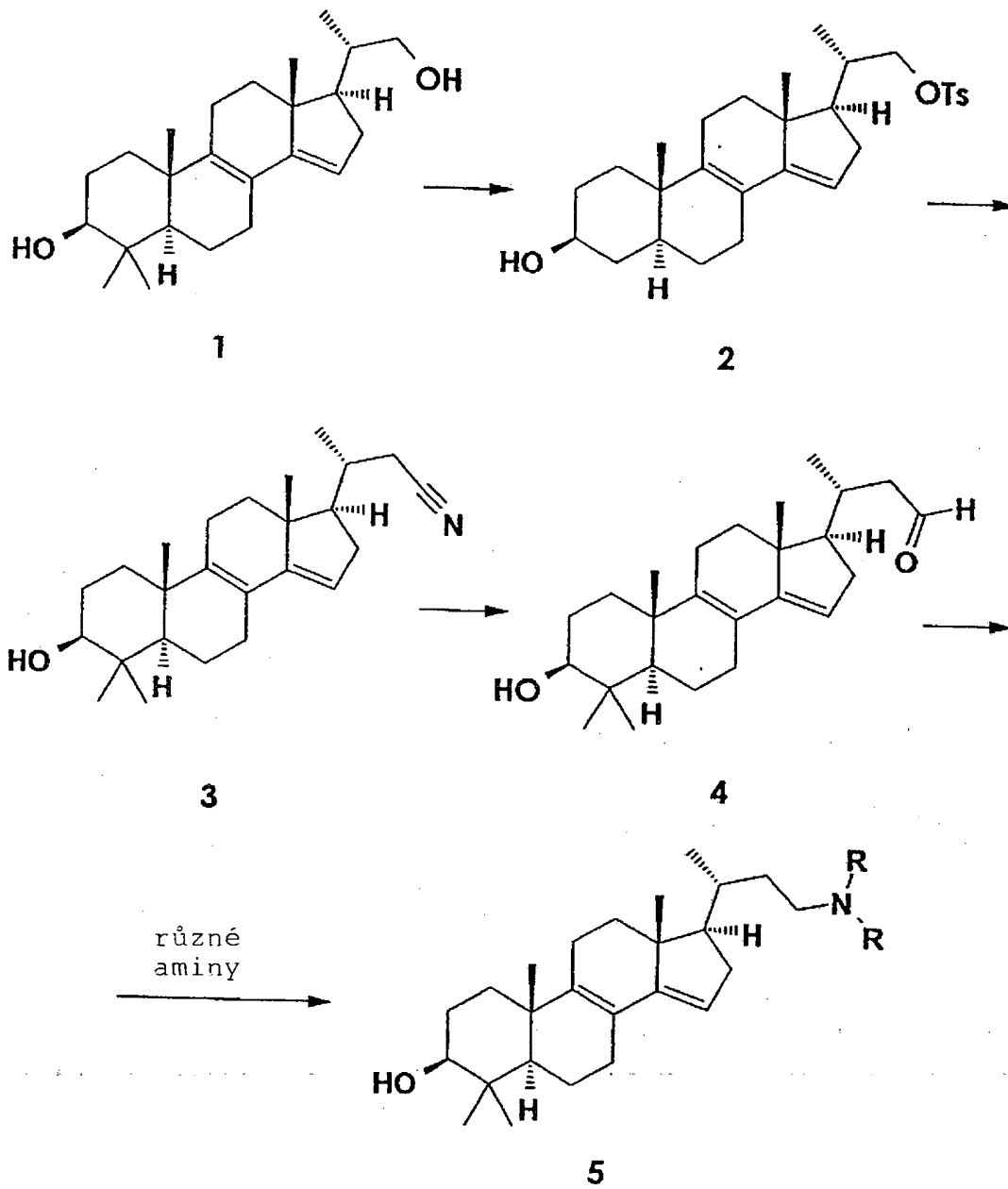
Obr. 1K

Schéma 1



Obr. 2

Schéma 2



Obr. 3