SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

F I 0001180088

(10) **FI 118008 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **31.05.2007**

(51) Kv.lk. - Int.kl.

C07J 43/00 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **963174**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **13.08.1996**

(24) Alkupäivä - Löpdag **14.02.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **25.09.1996**

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan **PCT/US95/01712**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

14.02.1994 US 196919 P 23.11.1994 US 346927 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •CoCensys, Inc., 213 Technology Drive, Irvine, CA 92718, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Upasani,Ravindra B., 63 Montecilo, Foothill Ranch, CA 92610, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 •Xia,Haiji, 26 Pastora, Foothill Ranch CA 92610, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 •Hogenkamp,Derk, 4510 Park Drive, Carlsbad, CA 92008, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Seppo Laine Oy
Itämerenkatu 3 B, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Androstaanit ja pregnaanit GABA-reseptorin allosteeriseksi moduloimiseksi
Androstaner och pregnaner för allosterisk modulering av GABA-receptor

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

US 3274179 A, WO 93/03732 A1

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee menetelmiä, koostumuksia ja yhdisteitä $GABA_A$-reseptorikloridi-ionoforinkompleksin moduloimiseksi stressin, ahdistuksen, halvauskohtausten, mielialahäiriöiden, premenstruaalisen oireyhtymän ja synnytyksen jälkeisen masennuksen lievittämiseksi sekä anestesian aikaansaamiseksi.

Uppfinningen avser förfaranden, sammansättningar och föreningar för modulering av $GABA_A$-receptorkloridionoforkomplexet för lindring av stress, ångest, stroke, sinnesstämningsstörningar, premenstruala syndrom och postnatal depression samt för inducering av anestesi.

Androstaanit ja pregnaanit GABA-reseptorin allosteeriseksi moduloimiseksi

Esillä oleva keksintö kohdistuu koostumuksiin ja yhdisteisiin eläinten (ja ihmisten) aivojen kiihottumisen moduloimiseksi gamma-aminobutyylihappo-A- ($GABA_A$) -reseptorikloridi-ionoforikompleksin (GRC) kautta. Erityisesti esillä oleva keksintö kohdistuu koostumuksiin ja yhdisteisiin aivojen kiihottumisen moduloimiseksi sitoutumalla GRC:n neurosteroidireseptorikohtiin.

Aivojen kiihottuminen määritellään eläimen kiihottumistasona, kontinuumina, joka vaihtelee koomasta kouristuksiin ja jota säätelevät erilaiset hermostolliset välittäjät. Yleisesti hermostolliset välittäjät ovat vastuussa ionien johtamisesta hermosolukalvojen poikki. Levossa hermostosolukalvon jännite (tai solukalvon jännite) on noin -80 mV, solun sisäosan ollessa negatiivinen suhteessa solun ulkopintaan. Jännite on tulos ionin (K+, Na+, Cl-, orgaaniset anionit) tasapainosta hermoston puoliläpäisevän solukalvon läpi. Hermostollisia välittäjiä säilytetään presynaptisissa rakkuloissa ja ne vapautuvat hermostollisen toiminnan jännitteiden vaikutuksesta. Kun ne vapautuvat synaptiseen halkeamaan, kiihottava kemiallinen välittäjä kuten asetyylikoliini aiheuttaa solukalvon depolarisoitumisen (jännitteen muutos -80 mV:sta -50 mV:iin). Tätä vaikutusta välittää postsynaptiset nikotiinireseptorit, joita stimuloi asetyylikoliini, jolloin solukalvon Na+-ioniläpäisevyys kasvaa. Pienentynyt solukalvon jännite stimuloi hermostollista kiihottumista postsynaptisen toiminnan jännitteen muodossa.

GRC:n tapauksessa vaikutuksen aivojen kiihottumiseen välittää GABA, hermoston välittäjäaine. GABA:lla on merkittävä vaikutus aivojen kokonaiskiihottumiseen, koska jopa 40 % aivojen neuroneista käyttää GABA:aa hermoston välittäjäaineena. GABA säätelee yksittäisten neuronien kiihottumista säätelemällä kloridi-ionien johtokykyä hermosolukalvojen läpi. GABA vaikuttaa GRC:ssä olevan tunnistuskohtansa kanssa helpottaakseen kloridi-ionien virtausta alas GRC:n sähkökemiallista gradienttia soluun sisälle. Tämän anionin määrän solunsisäinen kasvu aiheuttaa solukalvon jännitteen hyperpolarisoitumisen, saaden aikaan sen, että neuronit ovat vähemmän alttiita kiihottaville ärsykkeille (se on, pienentynyt neuronin kiihotuminen). Toisin sanoen, mitä suurempi kloridi-ionien konsentraatio neuronissa on sitä alempi on aivojen kiihottuminen (kiihottumisen määrä).

On hyvin dokumentoitua, että GRC on vastuussa ahdistuksen, halvauskohtausaktiivisuuden ja sedaation välittämisestä. Siten GABA ja lääkkeet, jotka toimivat GABA:n tapaan tai helpottavan GABA:n vaikutuksia (esim. terapeuttisesti käyttökelpoiset barbituraatit ja bentsodiatsepiinit (BZ:t) kuten Valium) tuottavan terapeuttisesti käyttökelpoiset vaikutukset vaikuttamalla GRC:ssä olevien spesifisten säätelykohtien kautta.

On myös havaittu, että lukuisat steroidien metaboliitit toimivat GRC:n kanssa, jolloin aivojen kiihottuminen muuttuu (Majewska, M.D. et al., "Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor", *Science* 232:1004-1007 (1986); Harrison, N.L. et al., "Structure-activity reltionship for steroid interaction with the gamma-aminobutyric acid-A receptor complex", *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 241:346-353 (1987)). Ennen esillä olevaa keksintöä alan ammattimiehet eivät tunnistaneet näiden steroidien metaboliittien terapeuttista käyttökelpoisuutta johtuen voimakkuuden ja toimintapaikan epätäydellisestä ymmärtämisestä. Tämän hakemuksen keksintö kohdistuu osittain sellaisen tiedon farmaseuttiseen sovellukseen, joka on saavutettu tiettyjen steroidiyhdisteiden voimakkuuden ja toimintapaikan kehittyneemmästä ymmärtämyksestä.

Munasarjahormonilla progesteronilla ja sen metaboliiteilla on osoitettu olevan huomattava teho aivojen kiihottumiseen (Backstrom, T. et al., "Ovarian steroid hormones: effects on mood, behavior and brain excitability", *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 130:19-24 (1985); Pfaff, D.W. ja McEwen, B.S., "Action of estrogens and progestins on nerve cells," *Science* 219:808-814 (1983); Gyermek et al., "Structure activity relationship of some steroidal hypnotic agents", *J. Med. Chem.* 11:117 (1968); Lambert, J. et al., "Actions of synthetic and endogenous steroids on the $GABA_A$ receptor", *Trends Pharmacol.* 8:224-227 (1987)). Progesteronin ja sen metaboliittien määrät vaihtelevat kuukautiskierron vaiheiden mukana. On dokumentoitu hyvin, että progesteroni ja sen metaboliitit vähenevät ennen kuukautisten alkamista. Tiettyjen fysikaalisten oireiden kuukausittainen uudelleen esiintyminen ennen kuukautisten alkamista on myös hyvin dokumentoitu. Näihin oireisiin, jotka liitetään premenstruaaliseen oireyhtymään (PMS), kuuluvat stressi, ahdistuneisuus ja migreenipäänsärky. (Dalton, K., *Premenstrual Syndrome and Progesterone Therapy*, 2. painos, Chigago: Chigago yearbook, 1984). Potilailla, joilla on PMS,

sellaiset oireet esiintyvät uudelleen kuukausittain, joita oireita esiintyy ennen kuukautisia mutta joita ei esiinny kuukautisten jälkeen.

Samalla tavalla progesteronin väheneminen korreloi myös ajallisesti halvauskohtausfrekvenssin kasvun kanssa naispuolisissa epileptikoissa. (Esimerkiksi kuukautisiin liittyvä epilepsia; Laidlaw, J., "Catamenial epilepsy", *Lancet*, 1235-1237 (1956). Suorempi korrelaatio on havaittu progesteronin metaboliittien vähenemisen kanssa (Rosciszewska et al., "Ovarian hormones, anticonvulsant drugs and seizures during the menstrual cycle in women with epilepsy", *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 49:47-51 (1986)). Lisäksi potilailla, joilla on primäärinen yleinen petit mal -epilepsia, halvauskohtausten ajoittainen esiintyminen korreloi premenstruaalisen syndrooman oireiden esiintyvyyden kanssa (Backstrom, T. et al, "Endocrinological aspects of cyclical mood changes during the menstrual cycle or the premenstrual syndrome", *J. Psychosom. Obstet. Gynaecol.* 2:8-20 (1983)). Deoksikortikosteroni -steroidin on havaittu olevan tehokas hoidettaessa potilaita, joilla on epileptisiä kohtauksia, jotka korreloivat heidän kuukautisrytminsä kanssa (Aird, R. B. ja Gordan, G., "Anticonvulsive properties of deoxycorticosterone", *J. Amer. Med. Soc.* 145:715-719 (1951)).

Oireyhtymä, joka myös liityy pieniin progesteronimääriin, on synnytyksen jälkeinen masennus (postnatal depression, PND). Heti synnyttämisen jälkeen progesteronimäärät laskevat dramaattisesti johtaen PND:n alkamiseen. PND:n oireet vaihtelevat lievästä masennuksesta sairaalahoitoa vaativaan psykoosiin; PND liittyy vakavaan ahdistuneisuuteen ja ärsyyntyvyyteen. PND:hen liittyvä masennus ei ole kunnolla hoidettavissa klassisilla antidepressanteilla ja naisilla, joilla on PND, on suurentunut PMS:n esiintyvyys (Dalton, K., 1984).

Yhteenvetona nämä havainnot viittaavat siihen, että progesteronilla ja deoksikortikosteronilla ja erityisemmin niiden metaboliiteilla on tärkeä osa aivojen kiihottumisen tasapainon säätelyssä, joka ilmenee halvauskohtausaktiivisuuden tai kuukautisiin liittyvään epilepsiaan, PMS:ään ja PND:hen liittyvien oireiden lisääntymisenä. Korrelaatio progesteronin alentuneiden määrien sekä PMS:ään, PND:hen ja kuukautisiin liittyvään epilepsiaan liittyvien oireiden välillä (Backstrom et al., 1983; Dalton, K., 1984) ovat antaneet

aiheen progesteronin käyttämiseksi niiden hoidossa (Mattson et al., "Medroxyprogesterone therapy of catamenial epilepsy", julkaisussa *Advances in epileptology: XVth Epilepsy International Symposium*, Raven Press, New York, 279-282, 1984, ja Dalton, K., 1984). Progesteroni ei kuitenkaan ole yhdenmukaisen tehokas edellä mainittujen oireyhtymien hoidossa. Esimerkiksi progesteronilla ei ole annos-vaste -suhdetta PMS:n hoidossa (Maddocks, et al., "A double-blind placebo-controlled trial of progesterone vaginal suppositories in the treatment of premenstrual syndrome", *Obster. Gynecol.* 154:573-581 (1986); Dennerstein, et al., *British Medical Journal*, 290:16-18 (1986)).

Julkaisut ja viitteet, joihin tässä patenttiselityksessä on edellä ja jäljempänä viitattu, sisällytetään tähän viitteenä.

Keksinnön yhteenveto

Esillä oleva keksintö kohdistuu menetelmiin, koostumuksiin ja yhdisteisiin aivojen kiihottumisen moduloimiseksi. Erityisemmin keksintö koskee 3α-hydroksyloitujen steroidijohdannaisten käyttöön, jotka toimivat nyt tunnistetuissa GR-kompleksin kohdissa, moduloimaan aivojen kiihottumista sillä tavalla, että lievitetään stressiä, ahdistuneisuutta, unettomuutta, mielialahäiriöitä (kuten masennusta), jotka reagoivat GR-aktiivisiin aineisiin, ja halvauskohtausaktiivisuutta. Sellaiseen käsittelyyn tehokkaat koostumukset ja yhdisteet ovat keksinnön suojapiirin sisällä.

Keksinnössä käytettävät yhdisteet ja keksinnön osan muodostavat yhdisteet ovat keskushermostosysteemin kiihottumisen modulaattoreita, jota kiihottumista välittää niiden kyky säädellä kloridi-ionikanavia, jotka liittyvät $GABA_A$-reseptorikompleksiin. Keksijöiden kokeet ovat osoittaneet, että keksinnössä käytetyillä yhdisteillä ja keksinnön mukaisilla yhdisteillä on kouristuksia estävä ja ahdistusta lievittävä aktiivisuus, joka on samanlainen kuin tunnettujen anksiolyyttisten aineiden vaikutus, kuten bentsodiatsepiinien, mutta jotka toimivat GR-kompleksin erillään olevassa kohdassa.

Progesteronin endogeenisten metaboliittien suhde lisääntymiseen liittyviin prosesseihin (kuukautiskierto ja raskaus) on hyvin tunnettu (Marker, R.E., Kamm, O., ja McGrew,

R.V., "Isolation of epipregnanol-3-one-20 from human pregnancy urine", *J. Am. Chem. Soc.* 59:616-618 (1937)). Ennen esillä olevaa keksintöä ei kutenkaan tiedetty, kuinka käsitellä häiriöitä moduloimalla aivojen kiihottumista käyttämällä progesteronin metaboliitteja ja niiden johdannaisia. Siten tämä keksintö kohdistuu menetelmiin, koostumuksiin ja yhdisteisiin häiriöiden käsittelemiseksi moduloimalla aivojen kiihottumista käyttämällä keksinnön mukaisia yhdisteitä. Edustavia häiriöitä, joita hoidetaan esillä olevassa keksinnössä, ovat epilepsia, ahdistuneisuus, premenstruaalinen oireyhtymä (PMS), synnytyksen jälkeinen masennus (PND), mielialahäiriöt (kuten masennus), jotka reagoivat GR-aktiivisiin aineisiin, ja unettomuus. Yhdisteitä voidaan käyttää myös anestesian aikaansaamiseksi.

Piirustusten lyhyt kuvaus

Alan ammattimiehet voivat paremmin ymmärtää esillä olevaa keksintöä ja arvostaa sen etuja, kun viitataan liitteenä oleviin piirustuksiin, joissa:

Kuviot 1A ja 1B ovat diagrammi [^{35}S] t-butyylibisyklofosforitionaatin ([^{35}S]TBPS) rotan aivon solukalvoihin sitoutumisen prosenttiosuus alfaksalonin ja GABA:n logaritmiste konsentraatioiden funktiona erilaisissa (+)-bikukulliinin konsentraatioissa.

Kuvio 2 esittää aikaruuppuvuuden 2 nM [^{35}S]TBPS:n dissosiaatiolle rotan aivokuoren P_2-homogenaateista, minkä saa alkamaan 2 μM TBPS:n (■), 1 μM 3α5αP:n (□), 100 μM Na-pentobarbitaalin (●) ja 1 μM 3α5αP + 100 μM Na-pentobarbitaalin (○) lisääminen.

Kuvio 3 on diagrammi, joka esittää pentobarbitaalin yksittäisannoksen vaikutuksen 3α-OH-5α-pregnan-20-onin (3α-5α-P) moduloimaan [^{3}H]-flunitratsepamin sitoutumiseen rotan hippokampuksen homogenaatteihin.

Kuvio 4 diagrammi, joka esitää 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin, 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin (5α-THDOC) ja R5020:n (promegesteroni) tehon inhiboida [^{35}S]TBPS:n sitoutumista rotan aivokuoren homegenaattiin.

Kuvio 5 on diagrammi TBPS-sitoutumisen ja 15 erilaisen 3α-hydroksyloidun steroidin sähköfysiologisen aktiivuuden välisestä korrelaatiosta.

Kuvio 6 on diagrammi, joka esittää 3α-OH-5α-pregnan-20-onin, 5α-pregnan-3α,20α-diolin ja 5α-pregnan-3α,20β-diolin tehon inhiboida [^{35}S]TBPS:n sitoutumista rotan aivokuoren homogenaattiin.

Kuvio 7 on diagrammi, joka esittää 3α-OH-5α-pregnan-20-onin, 5α-pregnan-3α,20α-diolin ja 5α-pregnan-3α,20β-diolin vaikutuksen GABA:n herättämään virtaan Xenopus-varhaismunasoluissa, joihin on injektoitu ihmisen rekombinantti-GABA-reseptorin alayksikköön α1β1γ2L.

Kuvio 8 on graafinen esitys valosta pimeään siirtymisen lukumäärästä, jotka siirtymiset tapahtuvat kymmenen minuutin sisällä 3α-OH-5α-pregnan-20-onin ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onin injektiosta.

Kuviot 9A ja 9B ovat kaksi viivagraafista esitystä (A) sisääntulojen prosenttiosuudesta ja (B) ajasta avoimissa haaroissa viiden mituutin koeaikana 3α-OH-5α-pregnan-20-onilla ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onilla käsiteltynä koholla oleva ristikkosokkelo -kokeessa.

Kuvio 10 on viivagrafiikka muutoksena peruslinjasta rankaistujen rottien vasteena 3α-OH-5α-pregnan-20-onille ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onille Gellerin ja Seiferin kokeessa.

Kuvio 11 on diagrammi, joka kuvaa useiden 3α-OH-5α-pregnan-20-onin esilääkkeiden antimetratsoliaktiivisuuksien aikariippuvuuden.

Edullisten toteutusmuotojen yksityiskohtainen kuvaus

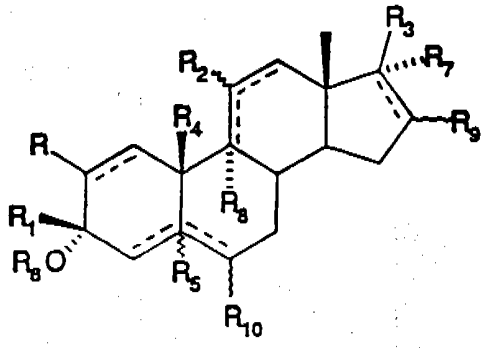
Keksinnön mukaiset yhdisteet ja keksinnössä käytetyt yhdisteet ovat erilaisten 3α-hydroksyloitujen pregnaanien ja 3α-hydroksyloitujen androstaanien johdannaisia, ja niiden esteri-, eetteri-, sulfonaatti-, sulfaatti-, fosfonaatti-, fosfaatti-, oksiimi-, tiosulfaatti-, heterosykli- ja heteroaryylijohdannaisia ja esilääkkeinä mainittujen johdannaisia. Ilmaisu

"esilääke" tarkoittaa tunnetun, suoraan vaikuttavan lääkkeen johdannaista, jolla on kasvaneet luovutusominaisuudet ja terapeuttinen arvo verrattuna lääkkeeseen, ja se muuttuu aktiiviseksi lääkkeeksi entsymaattisella tai kemiallisella prosessilla; katso Notari, R.E. "Theory and Practice of Prodrug Kinetics", *Methods in Enzymology*, 112:309-323 (1985); Bodor, N., "Novel Approaches in Prodrug Design", *Drugs of the Future*, 6(3): 165-182 (1981); ja Bundgaard, H., "Design of Prodrugs: Bioreversible-Derivatives for Various Funktional Groups and Chemical Entities", julkaisussa *Design of Prodrugs* (H. Bundgaard, toim.), Elsevier, New York (1985). On huomattava, että jotkin synteettiset johdannaiset, jotka muodostavat osan esillä olevasta keksinöstä, eivät voi olla todellisia esilääkkeitä, koska, edellä olevien tunnuspiirteiden lisäksi, niillä on myös todellista aktiivisuutta. Tämän hakemuksen tarkoituksiin niihin kuitenkin viitataan esilääkkeinä.

Tutkimuksemme (Gee, K.W. et al., "GABA-dependent modulation of the Cl ionophore by steroids in rat brain", *European Journal of Pharmacology*, 136:419-423, 1987) ovat osoittaneet, että 3α-hydroksyloidut steroidit, joita käytetään keksinnössä, ovat suuruusluokkia voimakkaampia kuin muiden raportoimat (Majewska, M.D. et al (1986) ja Harrison, N.L. et al (1987) GR-kompkleksin modulaattoreina. Majewska et al. ja Harrison et al. opettavat, että 3α-hydroksyloitu-5-pelkistetty-steroidit kykenevät vain paljon alhaisempiin tehokkuustasoihin. Meidän *in vitro*- ja *in vivo* -koetuloksemme osoittavat, että näiden steroidien suuri voimakkuus sallii niiden olevan terapeuttisesti käyttökelpoisia aivojen kiihottumisen moduloimisessa GR-kompleksin kautta. Tehokkaimpiin steroideihin, jotka ovat käyttökelpoisia esillä olevassa keksinnössä, kuuluvat progesteronin ja deoksikortikosteronin päämetaboliittien johdannaiset. Näitä steroideja voidaan spesifisesti käyttää moduloimaan aivojen kiihottumista stressissä, ahdistuneisuudessa, unettomuudessa, mielialahäiriöissä (masennus), jotka ovat vastaanottavaisia GR-aktiivisille aineille, ja halvauskohtaushäiriöissä terapeuttisesti hyödyllisellä tavalla. Lisäksi olemme osoittaneet, että nämä steroidit toimivat ainutlaatuisessa kohdassa GR-kompeksissa, joka on erillään muista tunnetuista vaikutuskohdista (se on, barbituraatti, BZ ja GABA), joiden terapeuttisesti hyödyllisiä vaikutuksia sterssiin, ahdistuneisuuteen, uneen, mielialahäiriöihin ja halvauskohtaushäiriöihin on aikaisemmin paljastettu (Gee, K.W. ja Yamamura, J.I., "Benzodiazepines and Barbiturates: Drugs for the Treatment of Anxiety, Insomnia and Seizure Disorders", julkaisussa *In Central Nervous System Disorders*, sivut 123-147,

D.C. Horvell, toim., 1985; Lloyd, K.G. ja Morselli, P.L., "Psychopharmacology of GABAergic Drugs", julkaisun *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, sivut 183-195, H.Y. Meltzer, toim., Raven Press, N.Y., 1987). Nämä yhdisteet ovat edullisia, koska ne ovat kestäviä, voimakkaita ja oraalisesti aktiivisia (muiden annostusmuotojen joukossa).

Tämän keksinnön mukaiset steroidijohdannaiset ovat sellaisia, joilla on seuraava rakennekaava (I):



jossa R, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 ja R_{10} ovat kuten tässä on tarkemmin määritelty ja pilkkuviivat ovat yksinkertaisia sidoksia tai kaksoissidoksia. Kaavan I mukainen rakenne käsittää androstaanit, pregnaanit (R_4 = metyyli), 19-nor-androstaanit ja norpregnaanit (R_4 = H).

Esillä oleva keksintö käsittää myös kaavan I mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät esterit ja suolat, mukaanlukien happoadditiosuolat. Uskotaan, että 3α-hydroksyyli voidaan myös naamioida farmaseuttisesti hyväksyttäväksi esteriksi johtuen siitä tosiseikasta, että esteri pilkkoutuu pois kun esilääke muuttuu lääkemuotoon. Näihin viitataan tässä yhteydessä termillä lohkaistavat esterit.

Määritelmät

Esillä olevan keksinnön mukaisesti ja kuten tässä käytetään, seuraavat termit määritellään seuraavin merkityksin, ellei erityisesti toisin mainita.

Termi "alkyyli" viittaa tyydyttyneisiin alifaattisiin ryhmiin mukaan lukien suoraketjuiset, haaraketjuiset ja sykliset ryhmät, jotka kaikki voivat olla mahdollisesti substituoituja. Sopiviin alkyyliryhmiin kuuluvat metyyli, etyyli ja vastaavat, ja ne voivat mahdollisesti olla substituoituja.

Termi "alkenyyli" viittaa tyydyttymättömiin ryhmiin, jotka sisältävät ainakin yhden hiili-hiili-kaksoissidoksen, mukaan lukien suoraketjuiset, haaraketjuiset ja sykliset ryhmät, joista kaikki voivat olla mahdollisesti substituoituja.

Termi "alkynyyli" viittaa tyydyttymättömiin hiilivetyryhmiin, jotka sisältävät ainakin yhden hiili-hiili-kolmoissidoksen ja joihin kuuluvat suoraketjuiset ja haaraketjuiset ryhmät, jotka voivat mahdollisesti olla substituoituja. Sopiviin alkynyyliryhmiin kuuluvat propynyyli, pentynyyli ja vastaavat, jotka voivat mahdollisesti olla substituoituja syano-, asetoksi-, halogenidi-, hydroksi- tai ketoryhmällä. Edullisilla alkynyyliryhmillä on viidestä kahdeksaantoista hiiliatomia. Edullisemmilla alkynyyliryhmillä on viidestä kahteentoista hiiliatomia. Edullisimmilla alkynyyliryhmillä on viidestä seitsemään hiiliatomia.

Termi "alkoksi" viittaa eetteriin -OR, jossa R on alkyyli.

Termi "aryylioksi" viittaa eetteriin -OR, jossa R on aryyli.

Termi "aryyli" viittaa aromaattisiin ryhmiin, joilla on ainakin yksi rengas, jossa on konjugoitunut π-elektronisysteemi, ja joihin kuuluvat karbosykliset aryyli ja biaryyli, joista molemmat voivat mahdollisesti olla substituoituja.

Termi "karbosyklinen aryyli" viittaa ryhmään, jossa aromaattisen renkaan rengasatomit ovat hiiliatomeja. Karbosyklisiin aryyliryhmiin kuuluvat fenyyli- ja naftyyliryhmät, jotka ovat mahdollisesti substituoituja. Substituoidulla fenyylillä on edullisesti yhdestä kolmeen, neljän tai viiteen substituenttia, sellaisen ollessa edullisesti alempi alkyyli, amino, amido, syano, karoksylaattiesteri, hydroksi, alempi alkoksi, halogeeni, alempi asyyli ja nitro.

Termi "aralkyyli" viittaa alkyyliryhmään, joka on substituoitu aryyliryhmällä. Sopiviin aralkyyliryhmiin kuuluvat bentsyyli ja vastaavat ja ne voivat olla mahdollisesti substituoituja.

Termi "alkanoyylioksi" viittaa ryhmään -O-C(O)R, jossa R on alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli.

Termi "karbalkoksyyli" viittaa ryhmään -C(O)OR, jossa R on alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli.

Termi "karboksamidi" viittaa ryhmään -C(O)NRR$_1$, jossa R ja R$_1$ ovat toisistaan riippumattomasti valittu joukosta vety, alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli.

Termi "dialkyyliamino" viittaa ryhmään -NRR", jossa R ja R" ovat toisistaan riippumattomasti alempi alkyyliryhmä tai ne muodostavat yhdessä morfolinoryhmän osan. Sopiviin dialkyyliaminoryhmiin kuuluvat dimetyyliamino, dietyyliamino ja morfolino.

Termi "asyyli" viittaa alkanoyyliryhmään -C(O)R, jossa R on alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli.

Termi "amino" viittaa ryhmään NRR', jossa R ja R' ovat toisistaan riippumattomasti vety, alempi alkyyli tai ne ovat liittyneet toisiinsa, jolloin muodostuu 5- tai 6-jäseninen rengas, esimerkiksi pyrrolidiini- tai piperidiinirengas.

Termi "mahdollisesti substitoitu" tai "substituoitu" viittaa ryhmään, joka on substituoitu yhdestä kolmeen, neljään tai viiteen substituentilla, itsenäisesti valittuna joukosta alempi alkyyli (asyklinen tai syklinen), aryyli (karboaryyli ja heteroaryyli), alkenyyli, alkynyyli, alkoksi, halogeeni, halogeenialkyyli (mukaanlukien trihalogeenialkyyli, esimerkiksi trifluorimetyyli), amino, merkapto, alkyylitio, alkyylisulfinyyli, alkyylisulfonyyli, nitro, alkanoyyli, alkanoyylioksi, alkanoyylioksialkanoyyli, alkoksikarboksi, karbalkoksi, (-COOR, jossa R on alempi alkyyli), karboksamido (-CONRR', jossa R ja R' ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli), formyyli, karboksyyli, hydroksi, syano, atsido, keto ja

niiden sykliset ketaalit, alkanoyyliamido, heteroaryylioksi, heterokarbosyklioksi ja hemisukkinaattiesterisuolat.

Termiä "alempi" käytetään tässä yhteydessä orgaanisten radikaalien tai yhdisteiden yhteydessä määrittämään sellaisia, joissa on jopa kymmenen, edullisesti jopa kuusi, ja edullisemmin yhdestä neljään hiiliatomia. Sellaiset ryhmät voivat olla suoraketjuisia, haaraketjuisia tai syklisiä.

Termi "heterosyklinen" viittaa hiiltä sisältäviin radikaaleihin, joissa on neljä, viisi, kuusi tai seitsemän jäseniset renkaat ja yksi, kaksi tai kolme O, N tai S heteroatomia, esimerkiksi tiatsolidiini, tetrahydrofuraani, 1,4-didoksaani, pyrrolidiini, piperidiini, kinuklidiini, ditiaani, tetrahydropyraani, ϵ-kaprolaktoni, ϵ-kaprolaktaami, ω-tiokaprolaktaami ja morfoliini.

Termi "heteroaryyli" viittaa hiiltä sisältäviin 5-14 jäsenisiin syklisiin tyydyttymättömiin radikaaleihin, jotka sisältävät yksi, kaksi, kolme tai neljä O, N tai S atomia ja joilla on 6, 10 tai 14 π-elektronia delokalisoituneena yhteen tai useampaan renkaaseen, esimerkiksi pyridiini, oksatsoli, indoli, puriini, pyrimidiini, imidatsoli, bentsimidatsoli, indatsoli, 2H-1,2,4-triatsoli, 1,2,3-triatsoli, 2H-1,2,3,4-tetratsoli, 1H-1,2,3,4-tetratsoli, bentsotriatsoli, 1,2,3-triatsoli[4,5-b]pyridiini, tiatsoli, isoksatsoli, pyratsoli, kinoliini, sytosiini, tymiini, urasiili, adeniini, guaniini, pyratsiini, pikoliinihappo, pikoliini, furaanikarboksyylihappo, furfuraali, furyylialkoholi, karbatsoli, 9H-pyrido[3,4-b]indoli, isokinoliini, pyrroli, tiofeeni, furaani, 9(10H)-akridoni, fenoksatsiini ja fenotiatsiini, joista kukin voi olla mahdollisesti olla substituoitu kuten edellä on selitetty.

Termi "dihappo" viittaa C_{1-5}-alkyleeniryhmiin, jotka on substituoitu kahdella karboksiryhmällä, esimerkiksi malonihappo, meripihkahappo, glutaarihappo, adipiinihappo, pimeliinihappo ja korkkihappo. Dihappojen hemiesterisuoloihin kuuluvat niiden natrium-, litium-, kalium-, magnesium- ja kalsiumsuolat.

Termi "β-asetyyli-tiosulfaattisuola" viittauksen tarkoitetaan käsittävän natrium-, litium-, kalium-, magnesium- ja kalsiumsuolat.

Termi "farmaseuttisesti hyväksyttävät esterit tai suolat" viittaa kaavan I mukaisiin estereihin tai suoloihin, jotka on johdettu tämän keksinnön mukaisen yhdisteen ja orgaanisen tai epäorgaanisen hapon tai emäksen yhdistelmästä.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti ketaaleihin kuuluvat alempien alkanolien dieetterit, esimerkiksi dimetyyli- ja dietyyliketaalit, samoin kuin sykliset ketaalit, joihin kuuluvat C_{2-3}-alkaanidiolien dieetterit, esimerkiksi etyleeniketaalit ja propyleeniketaalit.

Esimerkkejä substituenteista, joita voidaan käyttää kaavan I mukaisissa yhdisteissä, ovat:

R on vety, halogeeni, mahdollisesti substituoitu 1-alkynyyli, alempi alkoksi, alkyyli, dialkyyliamino tai substituoitu alkyyli;

R_1 on substituoitu aralkynyyli, aryylialkyyli, aryylialkenyyli, aryyli, mahdollisesti substituoitu aralkyylialkynyyli, alkanoyylioksialkynyyli, mahdollisesti substituoitu heteroaryylioksialkynyyli, oksoalkynyyli tai sen ketaali, syanoalkynyyli, mahdollisesti substituoitu heteroaryylialkynyyli, hydroksialkynyyli, alkoksialkynyyli, aminoalkynyyli, asyyliaminoalkynyyli, merkaptoalkynyyli, hydroksialkynyylidihapon hemiesteri tai sen suola, tai alkynyylioksialkynyyli;

R_2 on vety, hydroksi, alkoksi, alkanoyylioksi, karbalkoksyyli, ketoryhmä tai aminoryhmä;

R_3 on asetyyliryhmä, asetyyliryhmän ketaali; alkoksiasetyyliryhmä, alkyylitioasetyyliryhmä, alkyylisulfinyyliasetyyliryhmä, alkyylisulfonyyliasetyyliryhmä, aminoasetyyliryhmä, trifluoriasetyyliryhmä; hydroksiasetyyliryhmä; alkoksialkyyliasetyyliryhmä, esimerkiksi metoksimetyyliasetyyliryhmä tai etoksimetyyli-2'-metyleeniasetyyliryhmä; hydroksialkyyliryhmä, esim. hydroksimetyyliryhmä, 1'-hydroksietyyliryhmä, 1'-hydroksipropyyliryhmä tai 2'-hydroksi-2'-propyyliryhmä; hydroksiasetyylidihapon hemiesterisuola, esim. sukkinyylioksiasetyyliryhmä; alkanoyylioksiasetyyliryhmä, esim. asetoksiasetyyliryhmä; tai sulfoksiasetyyliryhmä; alkyyliasetyyliryhmä; esim. metyyliasetyyliryhmä; halogeeniasetyyliryhmä; etynyyliryhmä; mahdollisesti substituoitu heteroaryyliasetyyli-

ryhmä; mahdollisesti substituoitu heteroaralkyyliasetyyliryhmä, joka on myös mahdollisesti substituoitu alkyleenissä hydroksi-, alkoksi-, alkanoyylioksi- tai karbalkoksyyliryhmällä; mahdollisesti substituoitu heterosykli-asetyyliryhmä; asetyylitiosulfaatttisuola; syanoryhmä; alkyylimetyleeniryhmä (yhdessä R_7:n kanssa); tai alkoksimetyleeniryhmä (yhdessä R_7:n kanssa).

R_4 on vety tai metyyli,

R_5 on vety;

R_6 on vety, alkanoyyli, aminokarbonyyli tai alkoksikarbonyyli;

R_7 on vety, halogeeni, hydroksi, alkoksi, alkanoyylioksi, karbalkoksyyli, metyleeniryhmä (yhdessä R_3:n kanssa), tai alkoksimetyleeniryhmä (yhdessä R_3:n ksanssa);

R_8 on vety tai halogeeni;

R_9 on vety, halogeeni, alkyyli, alkoksi, aryylialkoksi tai amino; ja

R_{10} on vety, halogeeni, alkyyli, halogeenialkyyli, hydroksi, alkoksi, alkanoyylioksi, karbalkoksyyli, syano, tiosyano tai merkapto;

edellyttäen että kun R_3 on mahdollisesti substituoitu heteroaryyliasetyyliryhmä tai asetyylitiosulfaattisuola tai kun R on mahdollisesti substituoitu 1-alkynyyliryhmä, niin sitten R_1 voi lisäksi olla vety, alkyyli, alkenyyli, aryyli, aralkyyli, alkynyyli, mahdollisesti substituoitu aralkynyyli, alkoksialkyyli, aminoalkyyli, syano, syanoalkyyli, tiosyanoalkyyli tai atsidoalkyyli.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden edullinen ryhmä ovat yhdisteet, joissa R on vety tai alempi alkoksi. Edullisempia ovat yhdisteet, joissa R, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 ja R_{10} ovat vety.

Toinen edullisten yhdisteiden ryhmä ovat sellaiset kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R_1 on substituoitu aralkynyyli, esim., R_1 on 4-substituoitu fenyylialkynyyli kuten 4-asetyylifenyylietynyyli, 4-metoksifenyylietynyyli, 4-N,N-dimetyyliaminofenyylietynyyli, 4-syanofenyylietynyyli, 4-karboksifenyylietynyylietyyliesteri, 4-N,N-dialkyyliamidofenyylietynyyli, tai joissa R_1 on oksoalkynyyli, hydroksialkynyyli, asetoksialkynyyli, syanoalkynyyli tai alkoksialkynyyli.

Edullisten yhdisteiden lisäryhmä ovat sellaiset, joissa R_3 on asetyyli, heteroaryyliasetyyli, heterosykliasetyyli, hydroksialkyyli, hydroksiasetyyli ja niiden esterit fysiologisesti hyväksyttävien happojen kanssa. Edullisemmin R_3 on asetyyli, β-sukkinyylioksiasetyyli, alkoksiasetyyli, asetyylitiosulfaattisuolat, pyratsolyyliasetyyli tai imidatsolyyliasetyyli.

Edullisten yhdisteiden lisäryhmä on sellainen, jossa:

R on vety, fluori, kloori tai alempialkoksi;

R_1 substituoitu aryylietynyyli;

R_2 on vety, ketoryhmä tai dimetyyliaminoryhmä;

R_3 on β-asetyyliryhmä, β-asetyyliryhmän dimetyyliketaali, trifluoriasetyyliryhmä, β-(hydroksiasetyyli)ryhmä, β-metoksimetyyliasetyyliryhmä, β-(etoksi)metyyli-2'-metyleeniasetyyliryhmä, β-(1'-hydroksietyyli)ryhmä, β-(1'-hydroksipropyyli)ryhmä, β-(2'-hydroksi-2'-propyyli)ryhmä, β-sukkinyylioksiasetyyliryhmä, β-hydroksiasetyylinatriumsukkinaattiryhmä, β-asetoksiasetyyliryhmä, β-sulfoksiasetyyliryhmä, β-metyyliasetyyliryhmä, β-klooriasetyyliryhmä tai β-etynyyliryhmä;

R_4 on vety tai metyyli;

R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 ja R_{10} ovat vety;

pilkkuviivat esittävät kaikki yksinkertaisia sidoksia; ja

R_7 on vety tai, kun R_3 on β-hydroksiasetyyli, R_7 on vety tai hydroksi.

Edelleen edullisia yhdisteitä ovat sellaiset kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka ovat asemissa 3, 20 ja/tai 21 olevien hydroksyyliryhmien estereitä. Edullisia estereitä ovat ne, jotka saadaan niiden vastaavista hapoista ja dihapoista: etikka-, propaani-, maleiini-, fumaari-, askorbiini-, pimeliini-, meripihka-, glutaari-, bismetyleenisalisyyli-, metaanisulfoni-, etaanidisulfoni-, oksaali-, viini-, salisyyli-, sitruna-, glukoni-, itakoni-, glykoli-, p-aminobentsoe-, asparagiini-, glutamiini-, gamma-aminobutyyli-, α-(2-hydroksietyyliamino)propaani-, glysiini- ja muut α-aminohapot, fosfori-, rikki-, glukoroni- ja 1-metyyli-1,4-dihydronikotiinihappo.

Edullisia ovat seuraavat yhdisteet: 3α-hydroksi-3β-fenyylietynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-fenyylietynyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(3',4'-dimetoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-metyylifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(2'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-karboksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3α-hydroksi-3β-(4'-asetoksiasetyylifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-dimetyyliaminofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-nitrofenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-trifluorimetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-kloorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-syanofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'(R/S)-hydroksipentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-fenyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-bentsyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(2'-fenyylietyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[2-(3',4'-dimetoksifenyyli)etyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[6'-okso-1'-heptynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(7'-okso-1'-oktynyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-okso-1'-pentynyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3β-[5'-(R/S)-hydroksiheksynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-

20-oni, 3β-(4'-asetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-[4'-(N,N-dietyylikarboksamido)fenyyli]etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[5-okso-1-heksynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[5'-okso-1'-heksynyyli]-5β-pregnan-20-onin syklinen 5'-(1,2-etaanidiyyliasetaali), 3β-(5-syano-1-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(2-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3β-(6-hydroksi-1-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 6-hemisukkinaatin natriumsuola, 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaatin natriumsuola, 3β-(4'hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 4'-hemisukkinaatin natriumsuola, 3β-(4'-syano-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(5'-asetoksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetoksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetoksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(6'-asetoksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(2'-propynyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(3-metoksi-1-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(3-metoksi-1-propynyyli)-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(4'-pyridinyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-1,2,3-triatsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(2'H-1,2,3-triatsol-2'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(2'-tienyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(3'-fenyyli-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(3'-fenyylipropyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-pyratsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3β-(3'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(3'-asetoksi-3'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksi-butyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1-imidatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni, natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)-tiosulfaatti, natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, natrium-S-(3α-hydroksi-

3β-trifluorimetyyli-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, natrium-S-[3α-hydroksi-3β-(4'-hydroksibutynyyli)-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, natrium-S-(3α-hydroksi-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, ja 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola, ja 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola.

Edullisempiin neuroaktiivisiin steroideihin kuuluvat 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-karbksyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-aetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-karboksyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-19-norpregnan-20-oni, 3β-(4'-karboksyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-19-norpregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-dimetyyliaminofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-trifluorimetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-kloorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-[4'-(R/S)-hydroksipentynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-[3-(2'H-1,2,3-triatsol-2'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola ja 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola.

Erityisen edullisiin neuroaktiivisiin steroideihin kuuluvat 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-karboksyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-karboksyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3β-(4'-dimetyyliaminofenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydrok-

si-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-hydroksibutynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni; 3α-hydroksi-3β-[3-(2'H-1,2,3-triatsol-2'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola, 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola ja 3β-[4'-(R/S)-hydroksipentynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni.

Synteettiset menetelmät

Keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa millä tahansa tavanomaisella menetelmällä, esimerkiksi käyttämällä tavanomaisia tekniikoita kuten sellaisia, jotka on kuvattu kirjassa "*Steroid Reactions*", Djerassi, julkaistu 1963, Holden-Day, Inc., San Fransisco, tai "*Organic Reactions in Steroid Chemistry*", Fried ja Edwards, julkaistu 1972, Van Nostrand-Reinhold Co., New York.

Yleiset menetelmät

20-hydroksipregnaanit valmistettiin pelkistämällä 20-ketopregnaanit tavanomaisilla pelkistysaineilla.

21-hemisukkinaatit valmistettiin pregnan-20-onijohdannaisista, jotka ensin bromattiin molekulaarisella bromilla, jolloin saatiin vastaavat 21-bromipregnaanit. Bromiyhdisteet saatettiin sitten reagoimaan erilaisten dihappojen kanssa, kuten meripihkahapon kanssa, amiinin läsnäollessa, jolloin saatiin 21-hydroksiestereitä. Dihapoista syntyneet esterit muutettiin sitten natriumsuoloikseen tavanomaisilla tavoilla.

Tämän tyyppiset 21-hapetetut yhdisteet voidaan valmistaan reaktiosarjalla, jossa pregnan-20-oni hapetetaan lyijytetra-asetaatilla, jolloin saadaan 21-asetoksijohdannainen, ja asetaatin hydrolyysi antaa 21-alkoholin ja sitten asyloidaan sopivalla karboksyylihappojoh-

dannaisella, esimerkiksi anhydridillä tai happokloridilla tai muulla reagenssilla, joka kykenee korvaamaan hydroksyyliryhmän vedyn, kuten metaanisulfonyylikloridi.

Pregn-17-eenit voidaan muodostaa 17-ketosteroidin reaktiolla Wiggin reagenssin kanssa kuten ylidin kanssa, joka on johdettu käsittelemällä n-propyylitrifenyylifosfoniumbromidia vahvalla emäksellä kuten kalium-t-butoksidi.

Esimerkki 1

3α-hydroksi-3-β-(2'-fenyylietyyli)-5β-pregnan-20-oni

3α-hydroksi-3β-fenyylietynyyli-5β-pregnan-20-onin (44 mg) liuos liuotettiin EtOAc:hen (12 ml), Pd/C:tä (5 %, 12 mg) lisättiin ja seosta hydrattiin 400 kPa:n paineessa yön yli huoneenlämpötilassa. Katalyytin suodatusta seurasi liuottimen haihdutus, jolloin saatiin raakatuote, joka puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, jolloin erotettiin puhdas otsikon yhdiste (33 mg); sp. 153-154 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,4.

Esimerkki 2

3α-(3',4'-dimetoksifenyylietynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-2-oni ja 3β-(3',4'-dimetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni

2,2-dibormi-1-(3',4'-dimetoksifenyyli)eteenin liuosta (valmistettu Wittigin reaktiolla 3,4-dimetoksibentsaldehydistä hiilitetrabromidin kanssa trifenyylifosfiinin läsnäollessa) (966 mg, 3 mmol) kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin N_2-ilmakehässä n-BuLi:lla (2,5 M THF:ssä, 6 mmol, 2,4 ml) -78 °C:ssa. Seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 2 tuntia ja 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (720 mg, 2 mmol) kuivassa THF:ssä (10 ml) lisättiin tipoittain 30 minuutin aikana. Syntyneen seoksen 2 tuntia -78 °C:ssa sekoittamisen jälkeen jäähdytyshaude poistettiin ja sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa vielä yksi tunti. Sitten reaktio sammutettiin 2 N HCl-liuoksella (1 ml) -10 °C:ssa. Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (10 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 2 tuntia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin neutraloimaan happo. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suo-

laliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuotetta (1,2 g). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageenikolonniin. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (96:4) antoi fenyyliasetyleeniyhdistettä, jota ei karakterisoitu. Lisäeluoiminen samalla liuottimella antoi 3α-(3',4'-dimetoksifenyylietynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (120 mg) ensimmäisenä fraktiona, ja 3β-(3',4'-dimetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-onia toisena fraktiona (430 mg); sp. 82-88 °C.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa seuraavia yhdisteitä: 3β-(4'-metoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni; 3β-(4'-kloorifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni; 3β-(2'-metoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni; 3β-(4'-bifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni; 3β-(4'-dimetyyliaminofenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni; ja 3β-(4'-syanofenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni.

Esimerkki 3

3β-(3',4'-dimetoksifenyylietyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni

Pd/C:n (5 %, 28 mg) ja EtOAc:n (12 ml) seosta esikyllästettiin vedyllä sekoittamalla sitä vetyilmakehässä 10 minuuttia. 3β-(3',4'-dimetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-inia (185 mg) EtOAc:ssä (5 ml) lisättiin sitten ja seosta hydrattiin 300 kPa:n paineessa yön yli huoneenlämpötilassa. Katalyytin suodatus, mitä seurasi liuottimen haihdutus, antoi raakatuotteen, joka puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä (heksaani:-asetoni 4:1) puhtaan otsikon yhdisteen eristämiseksi (135 mg); TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,14.

Esimerkki 4

3β-(4'-nitrofenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-2-oni

2,2-dibormi-1-(4-nitrofenyyli)eteenin liuosta (valmistettu Wittigin reaktiolla 4-nitrobentsaldehydistä hiilitetrabromidin kanssa trifenyylifosfiinin läsnäollessa) (296 mg, 1 mmol) kuivassa THF:ssä (20 ml) käsiteltiin N_2-ilmakeässä n-BuLi:lla (2,5 M THF:ssä, 2 mmol,

0,8 ml) -95 °C:ssa. Seosta sekoitettiin -80 - -100 °C:ssa 0,5 tuntia ja sitten lisättiin liuosta, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (120 mg, 0,5 mmol) kuivassa THF:ssä (10 ml), tipoittain 10 minuutin aikana. Sen jälkeen, kun syntynyttä seosta oli sekoitettu -80 °C:ssa 1 tunti, ja sitten 0 °C:ssa 1 lisätunti, reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (3 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (10 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin CH_2Cl_2:lla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuotetta (400 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonniin. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (96:4) antoi otsikon yhdistettä ruskeana kiinteänä aineena (70 mg); TLC R_f (tolueeni:asetoni 95:5) = 0,18.

Esimerkki 5

3β-hydroksi-3-α-fenyyli-5β-pregnan-2-oni ja 3α-hydroksi-3-β-fenyyli-5β-pregnan-2-oni

5β-pregnan-3,20-dionin syklisen 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalin) (720 mg, 2 mmol) liuosta 15 ml:ssa THF:ää käsiteltiin fenyylimagnesiumbromidilla (3 M THF:ssä, 6 mmol, 2 ml) -70°C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu tässä lämpötilassa 3 tuntia ja sitten huoneenlämpötilassa 2 tuntia, reaktio sammutettiin 2 N HCl:llä (1 ml). Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin CH_2Cl_2:lla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$:lla, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (1,3 g). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3α-fenyyli-3β-hydroksdi-5β-pregnan-20-onia (420 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3β-fenyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (185 mg), sp. 182-184 °C.

Esimerkki 6

3β-hydroksi-3α-bentsyyli-5β-pregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-3β-bentsyyli-5β-pregnan-20-oni

Bentsyylimagnesiumbromidiliuos (2M THF:ssä, 2 mmol, 1 ml) laimennettiin THF:llä (15 ml) ja sitä käsiteltiin lisäämällä tipoittain liuosta, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (360 mg, 1 mmol) kuivassa THF:ssä (15 ml) -60 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu tässä lämpötilassa 1 tunti ja sitten huoneenlämpötilassa 15 tuntia, reaktio sammutettiin 2 N HCl:llä (1 ml). Liuotin poistettiin ja jäännös liuotettiin asetoniin (20 ml). 1 N HCl:n (5 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Se neutraloitiin 2 N NaOH:lla. Saostunut kiinteä aine kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin 3β-hydroksi-3α-bentsyyli-5β-pregnan-20-onia (238 mg). Suodos uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laim. $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuotetta (160 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3β-hydroksi-3α-bentsyyli-5β-pregnan-20-onia (40 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-hydroksi-3β-bentsyyli-5β-pregnan-20-onia (30 mg), joka kiteytettiin heksaani:CH_2Cl_2:sta (4:1) värittöminä tankoina (15 mg); sp. 133-141 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 9:1) = 0,5.

Esimerkki 7

3β-[3'(R/S)-hydroksibutynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

3(R/S)-hydroksibutyynin (0,470 ml, 6 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:lla (2,5 M THF:ssä, 12 mmol, 4,8 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu tässä lämpötilassa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuosta, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (1,08 g, 3 mmol) kuivassa THF:ssä (30 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa vielä 1,5 tuntia. Sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (3 ml). Liuotin poistettiin ja jäännös liuotettiin asetoniin (10 ml). Sen jälkeen,

kun oli lisätty 2 N HCl:ää (5 ml), liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neturaloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (1,4 g). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (85:15) antoi 3β-[3'(RS)-hydroksibutynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (145 mg) värittömänä kiinteänä aineena; TLC R_f (tolueeni:asetoni 4:1) = 0,24.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa 3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia.

Esimerkki 8

3β-(4'-asetyylifenyylietyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 4-jodiasetofenonia (95 mg, 0,39 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (106 mg, 0,3 mmol) kuivassa, kaasuttomassa pyrrolidiinissä (3 ml), sekoitettiin argonilmakehässä huoneenlämpötilassa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)-dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 tuntia. TLC osoitti lähtömateriaalin 100 % muuttumisen ja siten seoksen reaktio sammutettiin lisäämällä NH_4Cl-liuosta (15 ml) ja seos uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (150 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:asetoni -seoksella (4:1) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (35 mg) värittämänä kiinteänä aineena; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,4.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa seuraavia yhdisteitä: 3α-hydroksi-3β-(4'-trifluorimetyylifenyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni; 3β-(4'-aseettyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni; 3α-hydroksi-3β-(4'-metyylifenyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni; 3α-hydroksi-3β-(4'-asetoksiasetyylifenyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni; 3β-(3'-

hydroksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni; 3β-(2',4'-difluorifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni; 3β-(pentafluorifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni; ja 3α-hydroksi-3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri.

Esimerkki 9

3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni

3α-hydroksi-21-bromi-5β-pregnan-20-oni: Pulloon, joka sisälsi 3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (5,15 g, 16,5 mmol) liuosta metanolissa (100 ml), lisättiin bromin (1,1 ml) liuosta metanolissa (30 ml) tipoittain sellaisella nopeudella, että säilytettiin bromin ruskea väri kunnes väri säilyi itsestään. Sitten vettä (200 ml) lisättiin ja seos uutettiin CH_2Cl_2:lla (3x100 ml). Yhdistetyt uutteet kuivattiin Na_2SO_4:n päällä. Liuottimen poistaminen tuotti tuotteen vaahtomaisena valkoisena kiinteänä aineena (6,63 g). Muut 21-bromi-pregnan-20-oni-yhdisteet (3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-bromi-5β-pregnan-20-oni, 3β-metyyli-3α-hydroksi-21-bromi-5α-pregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-12-bromi-5β-19-norpregnan-20-oni) syntetisoitiin käyttämällä samaa menetelmää.

3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni: Seosta, jossa oli 3α-hydroksi-21-bromi-5β-pregnan-20-onia (0,86 g) ja imidatsolia (0,37 g) CH_3CN:ssä (12 ml), kuumennettiin Ar-ilmakehässä palautusjäähdyttäen 1 tunti ja jäähdytettiin 25 °C:seen. Sitten se kaadettiin erotussuppiloon, joka sisälsi NH_4Cl-liuosta (100 ml, vesiliuos, kyll.) ja tuote uutettiin EtOAc:lä (3x50 ml). Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivattiin Na_2SO_4:n päällä ja liuotin poistettiin tyhjössä. Raakatuote (0,59 g, 42 %) erotettiin flash-kolonninkromatografisesti.

Seuraavat yhdisteet syntetisoitiin esimerkin 9 mukaisesti:
3α-hydroksi-21-(1'-bentsimidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(4-metyyli-5-karbetoksyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni, 3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1H-3,5-dimetyylipyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-pyrat-

solyyli)-5α-pretgnan-20-oni, 3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 21-(1'-bentsimidatsolyyli)-3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-onin, 3α-hydroksi-21-[1H-(2-metyyli)imidatsol-1-yyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(2'-formyyli)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1H-imidatsol-1-yyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-norpregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-norpregnan-20-oni.

Esimerkki 10

3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni:

1,2,4-triatsolin (146 mg) liuokseen THF:ssä (15 ml) Ar-ilmakehässä, lisättiin NaH:ta (56 mg) ja saatua seosta sekoitettiin 25 °C:ssa 20 minuuttia. Sitten lisättiin 3β-metyyli-3α-hydroksi-21-bromi-5α-pregnan-20-onin (300 mg) liuosta THF:ssä ja siten saatua seosta sekoitettiin 5 tuntia. Sitten se kaadettiin erotussuppiloon, jossa oli vettä (40 ml), ja tuote uutettiin CH_2Cl_2:lla (3x50 m). Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivattiin Na_2SO_4:n päällä ja liuotin poistettiin tyhjössä. Puhdas tuote (187 mg, 64 %) erotettiin flahs-kolonnikromatografisesti.

Yhdisteet 3α-hydroksi-21-(2'H-1,2,3,4-tetratsol-2'-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(9'H-purin-9'-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(2'H-1',2',3'-triatsol-2'-yyli)-5α-pregnan-20-oni, 3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',3'-triatsol-1'-yyli)-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'H-1,2,3,4-tetrasol-1'-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(4-nitro)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(7'H-purin-7'-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(4',5'-disuano)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-1,2,4-triatsol-1-yyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-norpregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-21-[1H-(4',5'-dikloori)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni, valmistettiin esimerkissä 10 esitettyjen menettelyjen mukaisesti.

Esimerkki 11

3β-(4'-asetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

a. 3β-(4'-hydroksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 2,2-dibromi-1-(4-hydroksifenyyli)eteeniä (valmistettu Wittigin reaktiolla 4-hydroksibentsaldehydistä hiilitetrabromidin kanssa trifenyylifosfiinin läsnäollessa) (1,25 mg, 4,5 mmol) kuivassa THF:ssä (25 ml) käsiteltiin N_2-ilmakehässä n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 13,5 mmol, 5,4 ml) -70 °C:ssa. Sitten seosta sekoitettiin -70 °C lämpötilassa 0,5 tuntia ja lisättiin 5β-pregnan-3,20-dionin syklisen 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalin) (810 mg, 2,25 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (25 ml) tipoittain 10 minuutin aikana. Sen jälkeen, kun syntynyttä seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 30 minuuttia, jäähdytyshaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin huoneenlämpötilassa vielä yksi tunti. Sitten reaktio sammutettiin kylläisellä NH_4Cl-liuoksella (4 ml) -10 °C:ssa. Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (6 ml) lisäyksen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuotin poistettiin alennetussa paineessa ja raakatuote (1,3 g) käytettiin sellaisenaan seuraavassa vaiheessa.

b. 3β-(4'-asetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Edellisen vaiheen raakatuote liuotettiin CH_2Cl_2:een (5 ml) ja pyridiiniin (3 ml). Syntynyt liuos lisättiin jääkylmään asetyylikloridin (3 ml) ja pyridiinin (3 ml) liuokseen. Seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 30 minuuttia ja sitten kaadettiin jäähän (50 g). 2 N HCl:ää (10 ml) lisättiin ja seosta laiemnettiin lisää CH_2Cl_2:lla. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen poisto antoi raakasakkaa (2 g), joka puhdistettiin kolonnikromatografisesti silikageelin päällä. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3α-(4'-asetoksifenyylietynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (150 mg). Lisäeluointi samalla liuotinseoksella antoi 3β-(4'-asetoksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (530 mg); sp. 171-176 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni) = 0,41.

Esimerkki 12

3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 4-jodiasetofenonia (60 mg, 0,24 mmol), 3β-etynyyli-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onia (80 g, 0,24 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (0,5 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)-palladium(II)-dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (4 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 3 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä. Eluoiminen heksaani:asetonilla (4:1) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onia (30 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 65-67 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,12.

Esimerkki 13

3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri

Liuosta, jossa oli etyyli-4-jodibentsoaattia (70 mg, 0,24 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onia (80 mg, 0,24 mmol) kuivassa kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml) sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)-palladium(II)dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 1 tunti. CH_2Cl_2:ta (4 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 3 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (4:1) antoi 3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-onin etyyliesteriä (22 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 164-166 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,27.

Esimerkki 14

3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri

Liuosta, jossa oli etyyli-4-jodibentsoaattia (83 mg, 0,3 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (103 mg, 0,3 mmol) kuivassa kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)-palladium(II)diklori-

dia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 1 tunti. CH_2Cl_2:ta (4 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 1,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (4:1) antoi 3β-(4'-karboksifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin etyyliesteriä (10 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 190-192 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,27.

Esimerkki 15

3β-[4'-(N,N-dietyylikarboksamido)fenyyli]etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 4-(N,N-dietyylikarboksamido)jodibentseeniä (91 mg, 0,3 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (103 mg, 0,3 mmol) kuivassa kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml) sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 1 tunti. CH_2Cl_2:ta (4 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 0,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (3:1) antoi 3β-[4'-(N,N-dietyylikarboksamido)fenyyli]etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteriä (18 mg) värittömänä kiinteänä aineena; TLC R_f (heksaani:asetoni 3:1) = 0,22.

Esimerkki 16

3α-hydroksi-3β-[5-okso-1-heksynyyli]-5β-pregnan-20-onin syklinen (1,2-etaanidiyyliasetaali)

1-heksyn-5-onin syklisen (1,2-etaanidiyyliasetaalin) (493 mg, 3,52 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 3 mmol, 1,2 ml) -60 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -78 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (360 mg, 1 mmol) THF:ssä (15 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (3 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (40 ml). 1 N HCl:n (4 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi.

Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (700 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (93:7) antoi 3α-hydroksi-3β-[5-okso-1-heksynyyli]-5β-pregnan-20-onin syklistä (1,2-etaanidiyyliasetaalia) (210 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 130-133 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 9:1) = 0,33.

Esimerkki 17

3α-hydroksi-3β-[5-okso-1-heksynyyli]-5β-pregnan-20-oni

3α-hydroksi-3β-[5-okso-1-heksynyyli]-5β-pregnan-20-onin syklistä (1,2-etaanidiyyliasetaalia) (95 mg) liuotettiin asetoniin (5 ml). 2 N HCl:n (1 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 3 tuntia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakaa otsikon tuotetta (100 mg), joka sitten kiteytettiin heksaani-asetonista värittöminä tankoina, saanto 63 mg; sp. 104-106 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,27.

Analogista menetelmää käytettiin, kun valmistettiin 3α-hydroksi-3β-[6-okso-1-heptynyyli]-5β-pregnan-20-onia, käyttämällä 1-heptyn-6-onin syklistä 6-(1,2-etaanidiyyliasetaalia).

Esimerkki 18

3β-(5-syano-1-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

5-syanopentyynin (0,84 ml, 8 mmol) kuivassa THF:ssä (20 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 7,8 mmol, 3,2 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (720 mg, 2 mmol) THF:ssä (20 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 0,5 tuntia. Jäähdytyshaude poistettiin ja reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (3 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (40 ml). 1 N HCl:n (4

ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (1,55 g). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3α-(5-syano-1-pentynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (170 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3β-(5-syano-1-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (480 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 134-136 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,3.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa 3β-(4-syano-1-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia.

Esimerkki 19

3α-hydroksi-3β-(2-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni

2-etynyylipyridiinin (270 mg, 2,6 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 2,5 mmol, 1 ml) -60 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -78 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (170 mg, 0,47 mmol) THF:ssä (15 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (3 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (360 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi reagoimattoman etynyylipyridiinin ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3β-(2-pyridyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (107 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 192-195 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 87:13) = 0,21.

Esimerkki 20

3β-(6-hydroksi-1-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

5-heksyn-1-olin (1,35 ml, 12 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (9,6 ml, 2,5 M THF:ssä, 24 mmol, 1,2 ml) -65 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -78 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (1,08 mg, 3 mmol) THF:ssä (20 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin huoneenlämpötilassa 45 minuuttia. Sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (5 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, laimealla $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (1,90 g). Sitten tämä raakatuote kiteytettiin EtOAc:stä, jolloin saatiin puhdas tuote värittöminä tankoina (890 mg). Sitten tämä liuotettiin asetoniin (120 ml). 2 N HCl:n (3 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neturaloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi reagoimattoman heksynolin ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-(6-hydroksi-1-heksynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (60 mg), ja sitten 3β-(6-hydroksi-1-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (620 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 132-134 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,23.

Esimerkki 21

3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 6'-hemisukkinaattinatriumsuola

a. 3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 6'-hemisukkinaatti

3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (600 mg, 1,45 mmol) liuosta pyridiinissä (5 ml) käsiteltiin meripihkahapon anhydridillä (600 mg, 6 mmol) ja 4-(N,N-dimetyyli)aminopyridiinillä (20 mg). Seosta kuumennettiin 70-75 °C:ssa 1,25 tuntia. TLC osoitti 100 % konversiota. Seos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja se kaadettiin jää-2 N HCl -seokseen. Orgaaniset ainekset uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:asetoni -seoksella (7:3) antoi 3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 6'-hemisukkinaattia (700 mg); TLC R_f (heksaani:asetoni:-AcOH 70:30:0,5) = 0,21.

b. 3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 6'-hemisukkinaattinatriumsuola

Liuosta, jossa oli edellä valmistettua hemisukkinaattia (400 mg), $NaHCO_3$:a (68 mg), vettä (8 ml) ja CH_2Cl_2:ta (1 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Liuotin poistettiin ja jäännös pakastekuivattiin, jolloin saatiin natriumsuolaa värittömänä kiinteänä aineena (400 mg).

Esimerkki 22

3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

4-pentyn-1-olin (1,1 ml, 12 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (9,9 ml, 2,5 M THF:ssä, 24,5 mmol) -65 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -78 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (1,08 g, 3 mmol) THF:ssä (20 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa 45 minuuttia. Sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (5 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (30 ml). 2 N HCl:n (7 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros

pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni:EtOAc-seoksella (95:5) antoi 3α-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (100 mg), ja sitten 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (650 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 160-163 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni:EtOAc 70:15:15) = 0,28.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa seuraavia yhdisteitä: 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia; 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-19norpregnan-20-oni; 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni; 3β-[4'(R/S)-hydroksi-1'-pentynyyli]-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia; 3β-[3'(R/S)-hydroksi-1'-butynyyli]-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni ja 3β-(3'-hydroksi-1'-propynyyli)-3α-hydroksi-5n-pregnan-20-oni.

Esimerkki 23

3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaatin natriumsuola

a. 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaatti

3β-(6'-hydroksi-1'-heksenyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (350 mg, 0,87 mmol) liuosta pyridiinissä (3 ml) käsiteltiin meripihkahapon anhydridillä (380 mg, 3,8 mmol) ja 4-(N,N-dimetyyli)aminopyridiinillä (20 mg). Seosta kuumennettiin 65-70 °C:ssa 1 tunti. TLC osoitti 100 % konversiota. Seos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja se kaadettiin jää-2 N HCl -seokseen. Orgaaniset ainekset uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (900 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:asetoni -seoksella (7:3) antoi 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-

hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaattia (350 mg); TLC R_f (heksaani:asetoni:-AcOH 70:30:0,5) = 0,25.

b. 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaattin natriumsuola

Liuosta, jossa oli edellä valmistettua hemisukkinaattia (345 mg), $NaHCO_3$:a (60 mg), vettä (5 ml), THF:ää (2 ml) ja CH_2Cl_2:ta (1 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Liuotin poistettiin ja jäännös pakastekuivattiin, jolloin saatiin natriumsuolaa värittömänä kiinteänä aineena (340 mg).

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa hemisukkinaattinatriumsuoloja seuraavista yhdisteistä: 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni; 3-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-19-norpregnan-20-oni; 3β-4'-(hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni; 3β-[4'(R/S)-hydroksi-1'-pentynyyli]-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni; 3β-[3'(R/S)-hydroksi-1'-butynyyli]-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni; ja 3β-(3'-hydroksi-1'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni.

Esimerkki 24

3β-(5'-asetoksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Pyridiinin (280 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (2 ml) käsiteltiin asetyylikloridilla (280 mg) 0-5 °C:ssa. 3β-(5'-hydroksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (130 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (3 ml) lisättiin. Sekoittamista jatkettiin 0 °C:ssa 20 minuuttia. TLC osoitti 100 % konversion, joten seos kaadettiin jää- 2N HCl -seokseen (20 g, 2 ml). Orgaaniset aineet uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (9:1) antoi 3β-(5'-asetoksi-1'-pentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (100 mg); sp. 84-87 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 70:30) = 0,38.

Esimerkki 25

3β-(4'-asetoksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Pyridiinin (280 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (2 ml) käsiteltiin asetyylikloridilla (280 mg) 10 °C:ssa. 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (110 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (3 ml) lisättiin. Sekoittamista jatkettiin 10 °C:ssa 30 minuuttia. TLC osoitti 100 % konversion, joten seos kaadettiin jää- 2N HCl -seokseen (20 g, 3 ml). Orgaaniset aineet uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (4:1) antoi 3β-(4'-asetoksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (92 mg); sp. 170-173 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 70:30) = 0,3.

Esimerkki 26

3β-(6'-asetoksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Pyridiinin (2 ml) liuosta CH_2Cl_2:ssa (10 ml) käsiteltiin asetyylikloridilla (2 ml) 0 °C:ssa. 3β-(6'-hydroksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (400 mg, 0,96 mmol) liuosta CH_2Cl_2:ssa (5 ml) lisättiin. Sekoittamista jatkettiin 0 °C:ssa 20 minuuttia. TLC osoitti 100 % konversion, joten seos kaadettiin jää- 2N HCl -seokseen (50 g, 11 ml). Orgaaniset aineet uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (500 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3β-(6'-asetoksi-1'-heksynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (130 mg); sp. 85-87 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 93:7) = 0,2.

Esimerkki 27

3α-hydroksi-3β-[3-(2'-propynyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni

Propargyylieetterin (0,3 ml, 3 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (10 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,4 M THF:ssä, 3 mmol, 1,25 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (360 mg, 1 mmol) THF:ssä (10 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (5 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (40 ml). 1 N HCl:n (4 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (95:5) antoi 3β-hydroksi-3α-[3-(2'-propynyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (31 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-hydroksi-3β-[3-(2'-propynyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (255 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 103-106 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 95:5) = 0,39.

Esimerkki 28

3α-hydroksi-3β-(3-metoksi-1-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni

Metyylipropargyylieetterin (0,25 ml, 3 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (10 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,4 M THF:ssä, 2,9 mmol, 1,20 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (185 mg, 0,5 mmol) THF:ssä (10 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 20 minuuttia. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (2 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (250 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (93:7) antoi

3β-hydroksi-3α-(3-metoksi-1-propynyyli)-5β-pregnan-20-onia (19 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(3-metoksi-1-propynyyli)-5β-pregnan-20-onia (115 mg) värittömänä kiinteänä aineena: sp. 155-159 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,25.

Esimerkki 29

3α-hydroksi-3β-[3-(4'-pyridinyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni

Propargyyli-4-pyridyylieetterin (valmistettu viitteen Thummel et al., *J. Org. Chem.* 1978, **43**, 4882 mukaisesti) (173 mg, 1,3 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 1,3 mmol, 0,52 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (180 mg, 0,5 mmol) THF:ssä (15 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 20 minuuttia. Jäähdytyshaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (2 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 20 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (250 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen CH_2Cl_2:asetoni -seoksella (90:10) antoi 3α-hydroksi-3β-[3-(4'-pyridinyylioksi)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (145 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 84-90 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:asetoni 85:15) = 0,17.

Esimerkki 30

3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-1,2,3-triatsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni

1-(2-propynyyli)-1H-1,2,3-triatsolin (valmistettu triatsolin reaktilla propargyylibromidin kanssa) (77 mg, 0,72 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (10 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 0,72 mmol, 0,28 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-

(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (130 mg, 0,36 mmol) THF:ssä (10 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (1 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (85:15) antoi 3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-1,2,3-triatsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (56 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 142-144 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,33.

Esimerkki 31

3α-hydroksi-3β-[3-(2'H-1,2,3-triatsol-2'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni

2-(2-propynyyli)-2H-1,2,3-triatsolin (valmistettu triatsolin reaktilla propargyylibromidin kanssa) (35 mg, 0,33 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (10 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 0,33 mmol, 0,15 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (60 mg, 0,16 mmol) THF:ssä (10 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (1 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (85:15) antoi pregnan-3,20-dionia (20 mg) ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuottimella antoi 3α-hydroksi-3β-[3-(2'H-1,2,3-triatsol-2'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (20 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 139-140 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,17.

Esimerkki 32

3α-hydroksi-3β-(2'-tienyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 4-joditiofeeniä (63 mg, 0,3 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (103 mg, 0,3 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml) sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (5 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 0,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeellillä. Eluointi heksaani:asetonilla (4:1) antoi 3α-hydroksi-3β-(2'-tienyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-onia (50 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 205-206 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,35.

Analogista menetelmää käytettiin valmistettaessa 3α-hydroksi-3β-(5'-asetyyli-2'-tienyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-onia; sp. 226-228 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,14.

Esimerkki 33

3α-hydroksi-3β-(3'-fenyyli-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni

3-fenyyli-1-propyynin (0,25 ml, 2 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (17 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 2 mmol, 0,8 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 10 minuuttia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (206 mg, 0,6 mmol) THF:ssä (10 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 20 minuuttia. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (5 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (15 ml). 2 N HCl:n (4 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 20 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (460 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (85:15) antoi reagoimattoman fenyylipropyynin ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuot-

timella antoi 3α-hydroksi-3β-(3'-fenyyli-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-onia (175 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 124-132 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,46.

Esimerkki 34

3α-hydroksi-3β-(3'-fenyylipropyyli)-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli edellä valmistettua fenyylipropynyylijohdannaista (50 mg) EtOAc:ssä (10 ml), hydrattiin Pd/C:n (10 mg, 5 %) päällä 2 ilmakehän H_2-paineessa 45 minuuttia. Sitten seos suodatettiin pienen Celite-kerroksen läpi ja konsentroitiin, jolloin saatiin otsikon yhdistettä värittömänä kiinteänä aineena (40 mg); sp. 41-46 °C; R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,48.

Esimerkki 35

3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-pyratsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni

1-(2-propynyyli)-1H-pyratsolin (valmistettu pyratsolin reaktiolla propargyylinbromidin kanssa) (160 mg, 1,5 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (2,5 M THF:ssä, 1,5 mmol, 0,6 ml) -70 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (180 mg, 0,5 mmol) THF:ssä (15 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (1 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (25 ml). 2 N HCl:n (2 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (9:1) antoi 3α-hydroksi-3β-[3-(1'H-pyratsol-1'-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-onia (80 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 113-115 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 9:1) = 0,19.

Esimerkki 36

3β-(3'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 3-jodiasetofenonia (74 mg, 0,3 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (103 mg, 0,3 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia (5 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (5 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 1,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (85:15) antoi 3β-(3'-asetyylifenyylietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (30 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0.

Esimerkki 37

3β-(3'-asetoksi-3'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Pyridiinin (280 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (2 ml) käsiteltiin asetyylikloridilla (280 mg) 0-5 °C:ssa. 3β-(3'-hydroksi-1'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin (130 mg) liuosta CH_2Cl_2:ssa (3 ml) lisättiin. Sekoittamista jatkettiin 0 °C:ssa 30 minuuttia. TLC osoitti 100 % konversion, joten seos kaadettiin jää- 2N HCl -seokseen (20 g, 3 ml). Orgaaniset aineet uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,2 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (150 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluointi tolueeni:asetoni -seoksella (4:1) antoi 3β-(3'-asetoksi-3'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (110 mg); sp. 132-150 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 70:30) = 0,37.

Esimerkki 38

3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni

a. 21-bromi-3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-onia (386 mg, 1 mmol) MeOH:ssa (20 ml), käsiteltiin kahdella tipalla asetyylikloridia, jota seurasi bromi (1,2 mmol). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 2,5 tuntia ja sitten kaadettiin jääveteen. Erotetut kiinteät aineet kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin (410 mg). Tämä puolikuiva sakka liuotettiin sitten EtOAc:hen ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen suodatus ja poisto antoi raa'an bromijohdannaisen, ja se käytettiin sellaisenaan seuraavassa vaiheessa.

b. 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni

Suspensiota, jossa oli NaH:ta (138 mg, 95 %, 5,46 mmol) THF:ssä (10 ml), käsiteltiin liuoksella, jossa oli imidatsolia (345 mg, 5,1 mmol) THF:ssä (10 ml), huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu 30 minuuttia, lisättiin liuos, jossa oli raakaa bromijohdannaista (95 mg, 0,2 mmol) THF:ssä (10 ml). Sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Kylläistä NH_4Cl-liuosta lisättiin ja liuotin poistettiin. Jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (100 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 (95:4,5:0,5) -seoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-onia (40 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 117-119 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 95:4,5:0,5) 0,21.

Samalla tavalla valmistettiin 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,4-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni; sp. 208-210 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 95:4,5:0,5) 0,24; 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(tetratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni; sp. 110-112 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 95:4,5:0,5) 0,11; 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni; sp. 101-104 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 95:4,5:0,5) 0,2.

Esimerkki 39

3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-norpregnan-20-oni

a. 21-bromi-3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-5β-19-norpregnan-20-onia (710 mg, 1,9 mmol) MeOH:ssa (60 ml), kuumennettiin 33 °C:seen ja käsiteltiin kahdella tipalla asetyylikloridia, jota seurasi bromi (2,28 mmol, 0,116 ml). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1,5 tuntia ja sitten kaadettiin jääveteen. Erotetut kiinteät aineet kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin. Tämä puolikuiva sakka liuotettiin sitten EtOAc:hen ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen suodatus ja poisto antoi raa'an bromijohdannaisen (870 mg), ja se käytettiin sellaisenaan seuraavassa vaiheessa.

b. 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-norpregnan-20-oni

Suspensiota, jossa oli NaH:ta (138 mg, 95 %, 5,46 mmol) THF:ssä (10 ml), käsiteltiin liuoksella, jossa oli imidatsolia (345 mg, 5,1 mmol) THF:ssä (10 ml), huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu 30 minuuttia, lisättiin liuos, jossa oli raakaa bromijohdannaista (90 mg, 0,2 mmol) THF:ssä (10 ml). Sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Kylläistä NH_4Cl-liuosta lisättiin ja liuotin poistettiin. Jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (100 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 (95:4,5:0,5) -seoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-norpregnan-20-onia (25 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 118-127 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:MeOH:NEt_3 95:4,5:0,5) 0,28.

Esimerkki 40

3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni

Suspensiota, jossa oli NaH:ta (11 mg, 95 %, 0,44 mmol) THF:ssä (10 ml), käsiteltiin liuoksella, jossa oli 1,2,3-triatsolia (30 mg, 0,44 mmol) THF:ssä (10 ml), huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu 30 minuuttia, lisättiin liuos, jossa oli 21-bromi-3α-hydroksi-3β-(4-hydroksi-butyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-onia (100 mg, 0,22 mmol) THF:ssä (10 ml). Sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Kylläistä NH_4Cl-liuosta lisättiin ja liuotin poistettiin. Jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (100 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen CH_2Cl_2:asetoni (4:1) -seoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-19-norpregnan-20-onia (15 mg) ensimmäisenä fraktiona; sp. 158-160 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:asetoni 4:1) = 0,36. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-norpregnan-20-onia (15 mg); sp. 188-190 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:asetoni 4:1) 0,2.

Esimerkki 41

3α-hydroksi-2β-morfolinyyli-21-[1'-(1',2',4'-triatsolyyli)]-5β-pregnan-20-oni

Liuokseen, jossa oli 1,2,4-triatsolia (108 mg, 1,57 mmol) kuivassa THF:ssä (2,5 ml), lisättiin natriumhydridiä (36 mg, 1,50 mmol). Seosta sekoitettiin 25 °C:ssa argon-ilmakehässä 0,5 tuntia. Sitten lisättiin 3α-hydroksi-2β-morfolinyyli-21-bromi-5α-pregnan-20-onia (130 mg, 0,27 mol) ja seosta sekoitettiin lisää 25 °C:ssa argonilmakehässä 2,5 tuntia. Vettä (20 ml) lisättiin hitaasti reaktioseokseen. Tuote uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 25 ml). Yhdistetyt uuteet pestiin suolaliuoksella (20 ml) ja vedellä (3 x 20 ml). Saatu orgaaninen liuos kuivattiin natriumsulfaaatin päällä ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin raakatuote (130 mg). Puhdas tuote (90 mg, 71 %) saatiin flash-kromatofrafisesti

(30 g silikageeliä ja 300 ml sekoitettua liuotunta CH_2Cl_2:MeOH:Et_3N = 95:4,5:0,5; R_f = 0,14).

Esimerkki 42

3α-hydroksi-21-(1'-urasiili)-5α-pregnan-20-oni

Suspensioon, jossa oli urasiilia (112 mg, 1 mmol) ja K_2CO_2:ta (138 mg, 1 mmol) DMF:ssä (1,5 ml), lisättiin 3α-hydroksi-21-bromi-5α-pregnan-20-onia (400 mg, 1 mmol) ja saatua seosta sekoitettiin 25 °C:ssa 65 tuntia. Sitten se kaadettiin erotussuppiloon, jossa oli vettä (60 ml) ja etyyliasetaattia (100 ml). Vesikerros poistettiin ravistuksen jälkeen ja tuotteena saatiin valkoinen kiinteä aine orgaanisesta kerroksesta suodattamalla (87 mg, 20 %); sp. 262-265 °C (hajoa).

Esimerkki 43

Natrium-S-(3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni-21-yyli)tiosulfaatti

Liuokseen, jossa oli 21-bromi-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (500 mg, 1,26 mmol) liuotettuna 50 ml:aan etanolia, lisättiin tipoittain natriumtiosulfaatin (199 mg, 1,26 mmol) liuosta 10 ml:ssa vettä. Reaktioseoksen annettiin sekoittua huoneenlämpötilassa kunnes TLC (1:1 asetoni/dikloorimetaani) osoitti lähtöbromidin täydellisen kulumisen. Reaktion konsentroiminen tyhjössä antoi haluttua tiosulfaattia, jossa oli epäpuhtautena natriumbromidia. Flash-kolonnikromatografia (silikageeli eluoituna gradientilla 1:1 - 3:1 aetoni/dikloorimetaanilla) antoi 430 mg (75 %) otsikon yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena.

Samalla tavalla valmistettiin natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, puhdistettu flashkromatografisesti kuten edellä, natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-2+-on-21-yyli)tiosulfaatti, puhdistettu uudelleenkiteyttämällä 50:1 metanoli/vedestä, natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, puhdistettu flash-kromatografisesti silikageelillä ja 3:1 asetoni/etanolilla, natrium-S-[3α-hydroksi-3β-(4'-hydroksibutynyyli)-5β-pregnan-20-on-2-yyli]tiosulfaatti, puhdistettu hiertämällä kuumalla asetonilla ja natrium-S-(3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-5β-

19-norpregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti, puhdistettu hiertämällä kuumalla asetoni/kloroformilla.

Esimerkki 44

3α-hydroksi-3β-(E)-(2-fenyylietenyyli)-5α-pregnan-20-oni

Bentsyylifenyylisulfoksidi

Liuokseen, jossa oli bentsyylifenyylisulfidia (Aldrich; 1,068 g, 5,33 mmol) 25 ml:ssa CH_2Cl_2:ta -78 °C:ssa, lisättiin hitaasti liuos, jossa oli m-klooriperbentsoehappoa (Aldrich, 50-60 %; 760 mg, 2,64 mmol, jos 60 %) 10 ml:ssa CH_2Cl_2:ta. Huoneenlämpötilaan lämmittämisen ja yön yli sekoittamisen jälkeen liuos lisättiin 20 ml:aan kylläistä $NaHCO_3$-liuosta. Vesikerros erotettiin ja uutettiin CH_2Cl_2:lla (2 x 10 ml). Sitten yhteen kerätyt orgaaniset kerrokset kuivattiin ($MgSO_4$) ja konsentroitiin. Jäännös puhdistettiin flash-kolonnikromatografisesti (silikageeli, 10 % asetoni/heksaani ja 15 % asetoni/heksaani) antoi sulfoksidia (632 mg, 55 %) valkoisena kiinteänä aineena, sp. 123-126 °C.

20,20-etyleenidioksi-3α-hydroksi-3β-[[2-(fenyylisulfinyyli)-2-fenyyli]etyyli]-5-α-pregnaani

Liuos, jossa oli di-isopropyyliamiinia (Aldrich, vastatislattu Ca_2H:sta; 0,5 ml, 361 mg, 3,57 mmol) 2 ml:ssa kuivaa THF:ää, jäähdytettiin -10 °C:seen ja käsiteltiin 1,6 M n-Bu-Li-liuosta heksaaneissa (Aldric; 1,0 ml, 1,6 mmol), joka lisättiin tipoittain ruiskulla. 10 minuutin jälkeen reaktio jäähdytettiin -75 °C:seen ja lisättiin liuos, jossa oli bentsyylisulfoksidia (347 mg, 1,60 mmol) 5 ml:ssa kuivaa THF:ää, lisättiin tipoittain ruiskun kautta 30 minuutin aikana. Syntyneeseen syvän keltaiseen liukseen lisättiin 297 mg (0,79 mmol) kiinteää 20,20-etyleenidioksi-3(R)-5α-pregnan-3-spiro-2'-oksiraania. Reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan ja sitten lämmitettiin 50 °C:seen. 5 tunnin jälkeen reaktioseoksen annettiin jäähtyä huoneenlämpötilaan ja lisättiin 30 ml:aan jääkylmää vettä. Syntynyt seos uutettiin EtOAc:llä (3 x 20 ml). Yhdistetyt EtOAc-kerrokset uutettiin takaisin kylläisellä NaCl-liuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4) ja konsentroitiin. Jäännös puhdistettiin flash-kromatografisesti (silikageeli, gradientti 100 % CH_2Cl_2:sta 20 %

asetoni/CH_2Cl_2:een) antoi sulfoksidia (405 mg, 86 %) kahden diastereomeerin seoksena (perustuen kahteen bentsyyliprotoniin ^1H NMR-spektrissä).

3α-hydroksi-3β-[[2-(fenyylisulfinyyli)-2-fenyyli]etyyli]-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 20,20-etyleenidioksi-3α-hydroksi-3β-[[2-(fenyylisulfinyyli)-2-fenyyli]-etyyli]-5-α-pregnaania (1,30 g, 2,21 mmol) 15 ml:ssa THF:ää, jäähdytettiin jää/vesi-hauteessa ja lisättiin 1 N HCl-vesiliuosta (3 ml), jota seurasi 2 ml asetonia. 70 minuuttia huoneenlämpötilassa sekoittamisen jälkeen reakioseos jäähdytettiin 0 °C:seen ja lisättiin EtOAc/vesi-seokseen, joka sisälsi 6 ml kylläistä $NaHCO_3$-liuosta. Vesikerros uutettiin kaksi kertaa EtOAc:llä ja yhdistetyt orgaaniset kerrokset uutettiin kylläisellä NaCl-liuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4) ja konsentroitiin. Jäännös siirrettiin seuraavaan vaiheeseen ilman puhdistuksia.

3α-hydroksi-3β-(E)-(2-fenyylietenyyli)-5α-pregnan-20-oni

Suspensiota, jossa oli 3α-hydroksi-3β-[[2-(fenyylisulfinyyli)-2-fenyyli]etyyli]-5α-pregnan-20-onia (963 mg, 1,76 mmol) 6 ml:ssa p-kymeeniä, joka sisälsi 0,95 ml 2,4,6-kollidiinia, kuumennettiin 135 °C:ssa 1 tunti. Sen jälkeen, kun reaktioseos oli seissyt yön yli 0 °C:ssa, tuote oli saostunut ja se eristettiin suodattamalla. Raakatuote pestiin kylmällä p-kymeenillä (3 x 5 ml) ja heksaanilla (yhteensä 120 ml) ja saatiin 445 mg otsikon yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, sp. 209-213 °C.

Esimerkki 45

3α-hydroksi-2β-trimetyylisilyylietynyyli-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli trimetyylisilyyliasetyleeniä (0,5 ml, 0,347 g, 3, 54 mmol) 4 ml:ssa kuivaa THF:ää, jäähdytettiin -78 °C:seen ja käsiteltiin 2,5 M n-BuLi:llä heksaanien liuoksessa. Puhdasta BF_3-Et_2O:ta (0,3 ml, 0,346 g, 2,44 mmol) lisättiin ruiskun kautta. 5 minuuttia -78 °C:ssa sekoittamisen jälkeen lisättiin liuos, jossa oli 20,20-etyleenidioksi-5α-pregnan-2a,3α-epoksidia (557 mg, 1,54 mmol) 3 ml:ssa kuivaa THF:ssä, 12 minuutin aikana. Vielä 2,5 tunnin jälkeen reaktioon lisättiin kylläistä NH_4Cl-liuosta. Syntynyttä

seosta uutettiin EtOAc:llä (3 x 25 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin suolaliuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4) ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Raaka reaktioseos liuotettiin 10 ml:aan asetonia, jäähdytettiin jää/vesi-hauteessa ja käsiteltiin 1 N HCl-liuoksella (1 ml). 1 tunnin huoneenlämpötilassa olon jälkeen reaktioseokseen lisättiin eetteri/vesi-seosta, joka sisälsi 1 ml kylläistä $NaHCO_3$-liuosta. Vesikerros pestiin kaksi kertaa eetterillä ja yhteen kerätyt eetterikerrokset pestiin kylläisellä NaCl-liuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4) ja konsentroitiin. Flash-kolonnikromatografia (silikageeli, 12,5 % asetoni/heksaani) antoi 249 mg otsikon yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, sp. 164-167 °C.

Edellä olevaa menettelyä käytettiin 3α-hydroksi-2β-(3'-metoksi-1'-propynyyli)-5α-pregnan-20-onin valmistuksessa.

Trimetyylisilyyliyhdisteen hydrolyysi K_2CO_3/MeOH:n kanssa antoi 3α-hydroksi-2β-etynyyli-5α-pregnan-20-onia valkosena kiinteänä aineena, sp. 179-189 °C (hajoaa).

Esimerkki 46

3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5β-pregnan-20-oni

a. 21-bromi-3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 3β-etenyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (3 g, 8,77 mmol) MeOH:ssa (110 ml), käsiteltiin kahdella tipalla HBr:ää (48 %), jota seurasi bromi (0,5 ml, 10,8 mmol). Seosta sekoitettiin 37 °C:ssa 1 tunti ja sitten kaadettiin jääveteen. Erotetut kiinteät aineet kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin (3,2 g). Tämä puolikuiva sakka liuotettiin sitten EtOAc:hen ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen suodatus ja poisto antoi raa'an bromijohdannaisen. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluointi heksaani:EtOAc-seoksella (85:15) antoi 21-bromi-3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onia (3,2 g).

b. 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli edellä valmistettua bromijohdannaista (3,2 g) asetonissa (100 ml), käsiteltiin triluorietikkahapolla (5,8 ml, 76 mmol) ja trietyyliamiinilla (8,5 ml). Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 30 minuuttia ja sitten lisättiin trifluorietikkahapon natriumsuolaa (10 g) erissä 10 tunnin aikana. Huoneenlämpötilaan jäähtymisen jälkeen lisättiin kylläistä $NaHCO_3$-liuosta. Liuotin poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:EtOAc-seoksella (3:2) antoi 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5β-pregnan-20-onia (1,6 g), sp. 156-157 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 3:1) = 0,2.

Esimerkki 47

3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 4-jodiasetofenonia (1,22 g, 4,44 mmol) ja 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5β-pregnan-20-onia (1,59 g, 4,44 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (7 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia (15 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (30 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 1,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (4:1) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onia (1,3 g) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 181-183 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 3:2) = 0,14.

Esimerkki 48

3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola

a. 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatti

Liuosta, jossa oli 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onia (1,3 g, 6,76 mmol) pyridiinissä (8 ml), käsiteltiin meripihkahapon anhydridillä (680 mg, 2,5 mmol) ja 4-(N,N-dimetyyli)aminopyridiinillä (25 mg). Seosta kuumennettiin 70-75 °C:ssa 2,5 tuntia. TLC osoitti 100 % konversiota. Pyridiini poistettiin tyhjössä ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,1 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:asetoni -seoksella (7:3) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattia (1,4 g).

b. 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola

Seosta, jossa oli edellä valmistettua hemisukkinaattia (1,5 g mg, 2,6 mmol), $NaHCO_3$:a (220 mg, 2,6 mmol), vettä (10 ml) ja CH_2Cl_2:ta (16 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Liuotin poistettiin ja jäännös pakastekuivattiin, jolloin saatiin natriumsuolaa värittömänä kiinteänä aineena (1,4 g).

Esimerkki 49

3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5α-pregnan-20-oni

a. 21-bromi-3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (2,3 g, 6,72 mmol) MeOH:ssa (80 ml), käsiteltiin kahdella tipalla HBr:ää (48 %), jota seurasi bromi (0,4 ml, 7,73 mmol). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti ja sitten kaadettiin jääveteen. Erotetut kiinteät aineet kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin (2,5 g). Tämä puolikuiva sakka liuotettiin sitten EtOAc:hen ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen suodatus ja poisto antoi raa'an bromijohdannaisen. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Elu-

ointi heksaani:EtOAc-seoksella (85:15) antoi 21-bromi-3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (2,1 g)

b. 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli edellä valmistettua bromijohdannaista (2,1 g, 5 mmol) asetonissa (40 ml), käsiteltiin triluorietikkahapolla (3,8 ml, 50 mmol) ja trietyyliamiinilla (5,5 ml). Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 30 minuuttia ja sitten lisättiin trifluorietikkahapon natriumsuolaa (10 g) erissä 10 tunnin aikana. Huoneenlämpötilaan jäähtymisen jälkeen lisättiin kylläistä $NaHCO_3$-liuosta. Liuotin poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (1,6 g). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaaettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:EtOAc-seoksella (7:3) antoi 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5α-pregnan-20-onia 81,5 g), sp. 214-218 °C; TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,33.

Esimerkki 50

3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 4-jodiasetofenonia (962 mg, 4 mmol) ja 3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5α-pregnan-20-onia (1,2 g, 4 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (7 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia (15 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (25 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 1,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (7:3) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onia (750 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 222-225 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 4:1) = 0,13.

Esimerkki 51

3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola

a. 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatti

Liuosta, jossa oli 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onia (276 mg, 1,4 mmol) pyridiinissä (4 ml), käsiteltiin meripihkahapon anhydridillä (680 mg, 2,7 mmol) ja 4-(N,N-dimetyyli)aminopyridiinillä (20 mg). Seosta kuumennettiin 70-75 °C:ssa 2,5 tuntia. TLC osoitti 100 % konversiota. Pyridiini poistettiin tyhjössä ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin 0,1 N HCl:llä, vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen heksaani:asetoni -seoksella (7:3) antoi 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattia (400 mg).

b. 3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaatin natriumsuola

Seosta, jossa oli edellä valmistettua hemisukkinaattia (400 mg, 0,7 mmol), $NaHCO_3$:a (60 mg, 0,7 mmol), vettä (3 ml) ja CH_2Cl_2:ta (5 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 tunti. Liuotin poistettiin ja jäännös pakastekuivattiin, jolloin saatiin natriumsuolaa värittömänä kiinteänä aineena (390 mg).

Esimerkki 52

3α-hydroksi-3β-(3-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa 3-bromipyridiiniä (70 mg, 0,44 mmol) ja 3β-etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onia (150 mg, 0,44 mmol) kuivassa, kaasuttomassa trietyyliamiinissa (1 ml), sekoitettiin argon-ilmakehässä 23 °C:ssa. Bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)dikloridia

(10 mg) ja CuI:tä (5 mg) lisättiin ja seosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. CH_2Cl_2:ta (4 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin 23 °C:ssa 1,5 tuntia. TLC osoitti lähtöaineen 100 % muuttumisen, joten liuotin poistettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti siligeelillä. Eluointi heksaani:asetonilla (3:1) antoi 3α-hydroksi-3β-(3-pyridyyli)-etynyyli-5β-pregnan-20-onia (30 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 230-35 °C, TLC R_f (heksaani:asetoni 7:3) = 0,24.

Esimerkki 53

21-bromi-3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni

Liuosta, jossa oli 3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-onia (483 mg, 1,3 mmol) MeOH:ssa (20 ml), kuumennettiin 33 °C:seen ja käsiteltiin kahdella tipalla HBr:ää (48 %), jota seurasi bromi (1,43 mmol, 0,73 ml). Seosta sekoitettiin 37 °C:ssa 1 tunti ja sitten kaadettiin jääveteen. Erotetut kiinteät aineet kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin. Tämä puolikuiva sakka liuotettiin sitten EtOAc:hen ja kuivattiin vedettömän $MgSO_4$:n päällä. Liuottimen suodatus ja poisto antoi raa'an 21-bromi-3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-5β-pregnan-20-onin (322 mg).

Esimerkki 54

3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni ja 3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni

Suspeniota, jossa oli NaH:ta (30 mg, 95 %, 1,2 mmol) THF:ssä (10 ml), käsiteltiin liuoksella, jossa oli 1,2,3-triatsolia (69 mg, 1 mmol) THF:ssä (10 ml), huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu 30 minuuttia, lisättiin liuos, jossa oli esimerkin 53 raakaa bromijohdannaista (162 mg, 0,37 mmol) THF:ssä (10 ml). Sekoitusta jatkettiin huoneenlämpötilassa 1,5 tuntia. Kylläistä NH_4Cl-liuosta lisättiin ja liuotin poistettiin. Jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. Vedettömän $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote (250 mg). Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen CH_2Cl_2:asetoni (6:4)

-seoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-onia (40 mg) ensimmäisenä fraktiona; sp. 188-191 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:asetoni 6:4) 0,56. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-onia (40 mg); sp. 135-140 °C; TLC R_f (CH_2Cl_2:asetoni 6:4) 0,34.

Esimerkki 55

3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dioni

3-butyn-1-olin (0,4 ml, 5,2 mmol) liuosta kuivassa THF:ssä (15 ml) käsiteltiin n-BuLi:llä (4 ml, 2,5 M THF:ssä, 10 mmol) -65 °C:ssa. Sen jälkeen, kun seosta oli sekoitettu -75 °C:ssa 0,5 tuntia, seokseen lisättiin liuos, jossa oli 5β-pregnan-3,20-dionin syklistä 20-(1,2-etaanidiyyliasetaalia) (800 mg, 2,14 mmol) THF:ssä (20 ml), ja seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1 tunti. Jäähdytyshaude poistettiin ja sekoittamista jatkettiin huoneenlämpötilassa 45 minuuttia. Sitten reaktio sammutettiin NH_4Cl-liuoksella (5 ml). Liuotin poistettiin ja sitten jäännös liuotettiin asetoniin (30 ml). 2 N HCl:n (7 ml) lisäämisen jälkeen liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 minuuttia. Kylläistä $NaHCO_3$-liuosta lisättiin hapon neutraloimiseksi. Liuottimet poistettiin ja jäännös uutettiin EtOAc:llä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella. $MgSO_4$:n päällä kuivaamisen jälkeen liuos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin raakatuote. Tämä raakatuote liuotettiin sitten pieneen määrään CH_2Cl_2:ta ja kaadettiin silikageelikolonnin päälle. Eluoiminen tolueeni:asetoni -seoksella (3:1) antoi reagoimattoman butynolin ensimmäisenä fraktiona. Lisäeluoiminen samalla liuotinseoksella antoi 3α-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3β-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dionia (100 mg), ja sitten 3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dionia (400 mg) värittömänä kiinteänä aineena; sp. 158-162 °C; TLC R_f (tolueeni:asetoni 3:1) = 0,16.

Alan ammattimiehelle on ilmeistä, että edellä kuvatut yhdisteet voivat olla diastereomeerien seoksina, jotka voidaan erottaa yksittäisiksi diastereomeereiksi. Diastereomeerien erotus voidaan suorittaa helposti kaasu- tai nestekromatografisesti tai erottamalla luonnollisista lähteistä. Ellei toisin ole mainittu, selitysosassa ja patenttivaatimuksissa esitettyihin

yhdisteisiin, kuten edellä on selitetty, tarkoitetaan kuuluvan kaikki isomeerit, joko erotettuina tai niiden seoksina.

Kun isomeerit on erotettu, haluttu farmakologinen aktiivisuus on yleensä toisella diastereomeereistä. Kuten tässä on selitetty, yhdisteillä on hyvin suuri stereospesifisyyden aste. Erityisesti ne yhdisteet, joilla on suurin affiniteetti GABA-reeseptroikompleksille, ovat niitä, joilla on 3β-subsitutuoitu-3α-hydroksipregnaanin steroidihiilirungot.

Keksinnön mukaisilla ja keksinnössä käytettävillä yhdisteillä, jotka ovat myrkyttömiä, farmaseuttisesti hyväksyttäviä, luonnollisia ja synteettisiä, suoraan toimivia tai progesteronin, deoksikortikosteronin ja androstaanin metaboliittien "esilääke"-muotoja, on tähän saakka tuntematon aktiivisuus aivoissa $GABA_A$-reseptorikopleksissa. Esillä oleva keksintö ottaa edun tästä aikaisemmin tuntemattoman mekanismin ja aktiivisuuden keksimisestä.

Tämän keksinnön mukaiset farmaseuttiset koostumukset valmistetaan tavanomaisiin yksikköannosmuotoihin, myrkyttömän farmaseuttisen kantajan kanssa hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti, myrkyttömän määrän ollessa riittävä tuottamaan haluttu farmakodynaaminen aktiivisuus kohteessa, eläimessä tai ihmisessä. Edullisesti koostumus sisältää aktiiviaineosan aktiivisessa, mutta myrkyttömässä määrässä, valittuna noin 1 mg:sta noin 500 mg:aan aktiiviaineosaa annosyksikköä kohti. Tämä määrä riippuu halutusta erityisestä biologisesta aktiivisuudesta ja potilaan tilasta. Tämän keksinnön mukaisten koostumusten ja menetelmien halutut kohteet ovat stressin, ahdistuneisuuden, PMS:n, PND:n ja halvauskohtauksien hoitamisessa, kuten ne, jotka aiheuttavat epilepsiaa, jotta parannettaisiin tai ehkäistäisiin ahdistuneisuus-, lihasjännitys- ja masennuskohtauksia, jotka ovat yleisiä potilaissa, jotka kärsivät näistä keskushermostosysteemin häiriöistä. Koostumuksen ja menetelmien haluttu lisäkohde on unettomuuden hoito ja hypnoottisen aktiivisuuden tuottaminen. Yhdisteiden ja menetelmien toinen haluttu kohde on anestesian indusoiminen, erityisesti laskimonsisäisesti annosteltuna.

Käytetty farmaseuttinen kantaja voi olla esimerkiksi joko kiinteä, neste tai viivevapauttava (katso esim. Remingtons's Pharmaceutical Sciences, 14. painos, 1970). Edustavia

kiinteitä kantajia ovat laktoosi, valkea kaoliini, sakkaroosi, talkki, gelatiini, agar, pektiini, akaasia, magnesiumstearaatti, steariinihappo, mikrokiteinen selluloosa, polymeerihydrogeelit ja vastaavat. Tyypillisiä nestemäisiä kantajia ovat propyleeniglykoli, glykofuroli, syklodekstriiniin vesiliuokset, siirappi, maapähkinäöljy ja oliiviöljy ja vastaavat emulsiot. Samoin kantaja tai laimennin voi sisältää mitä tahansa tekniikan tasossa tunnettua viivevapauttavaa ainetta, kuten glyserolimonostearaatti tai glyserolidistearaatti yksin tai vahan kanssa, mikrokapselit, mikropallot, liposomit ja/tai hydrogeelit.

Lukuisia erilaisia farmaseuttisia muotoja voidaan käyttää. Siten kun käytetään kiinteää kantajaa, valmisteet voidaan tasorouhinruiskuttaa öljyyn, tabletoida, asettaa kovagelatiini- tai entoropäällystettyyn kapseliin mikrokiteisenä jauheena tai pellettimuodossa, tai tabletin tai pastillin muodossa. Keksinnön mukaiset ja siinä käytetyt yhdisteet voidaan myös annostella peräpuikkojen muodossa rektaalista annostelua varten. Yhdisteet voidaan sekoittaa sellaiseen aineeseen kuten kaakaovoi tai polyetyleeniglykolit tai muuhun sopivaan ärsyttämättömään aineeseen, joka on kiinteä huoneenlämpötilassa mutta nestemäinen peräsuolen lämpötilassa. Kun käytetään nestemäistä kantajaa, valmiste voi olla nesteen muodossa, kuten ampulli, tai vesipitoisena tai vedettömänä suspensiona. Nestemäiset annosmuodot tarvitsevat myös farmaseuttisesti hyväksyttäviä säilöntäaineita ja vastaavia. Lisäksi, johtuen pienistä annoksista, joita, perustuen tässä esitettyihin tuloksiin, vaaditaan parenteraaliseen annostukseen, nenäsuihkeeseen, kielenalaiseen tai suuannosteluun, ja viivevapauttavat iholaastarit ovat myös sopivia farmaseuttisia muotoja paikalliseen annostelemiseen.

Menetelmä ahdistuksen vastaisen, kouristuksia estävän, mielialaa muuttavan (kuten masennuksen vastaisen) tai hypnoottisen aktiivisuuden tuottamiseksi, tämän keksinnön mukaisesti, käsittää sen, että annostellaan sellaisen aktiivisuuden tarpeessa olevaan kohteeseen keksinnön mukaista yhdistettä, joka tavallisesti on valmistettu koostumuksen muotoon, kuten edellä on kuvattu farmaseuttisen kantajan kanssa, myrkyttömässä määrässä, joka on riittävä tuottamaan mainittua aktiivisuutta.

Kuukautisten aikana erittyneiden metaboliittien määrä vaihtelee noin nelinkertaisesti (Rosciszewska, et al.). Siten hoito oireiden kontrolloimiseksi käsittää sen, että potilaassa

on suurempi määrä progesteronimetaboliitteja kuin tavallisesti PMS-potilaissa ennen kuukautisia. Aktiivisen aineen ja päämetaboliittien plasmassa olevia määriä seurataan ennen potilaan kuukautisia ja niiden jälkeen. Annosteltavan keksinnön mukaisten yhdisteiden määrä, joko yksin tai niiden seoksina, lasketaan siten, jotta saavutetaan taso, joka käynnistää $GABA_A$-reseptoriaktiivisuuden, joka on sama tai korkeampi kuin progesteronin metaboliittien määrä normaalissa kohteessa esikuukautistilan aikana.

Annostelun reitti voi olla mikä tahansa reitti, joka tehokkaasti kuljettaa aktiivisen aineen $GABA_A$-reseptoreihin, joita stimuloidaan. Annostelu voidaan suorittaa parenteraalisesti, enteraalisesti, rektaalisesti, vaginan sisäisesti, ihon sisäisesti, lihaksen sisäisesti, kielenalaisesti tai nenän kautta; oraalinen, lihaksensisäinen ja ihoreitti ovat edullisia. Esimerkiksi yksi annos iholaastarissa voi luovuttaa aktiiviainetta potilaaseen jopa yhden viikon ajan. Parenteraalinen reitti on kuitenkin edullinen epileptisessä tilassa.

Voimakkuus ja tehokkuus GR-kohdassa

In vitro ja *in vivo* -koetulokset osoittavat, että luonnollisesti esiintyvät progesteroni/deoksikortikosteronin metaboliitit ja niiden johdannaiset toimivat suurella affiniteetilla GR-kompleksin uudessa ja spesifisessä tunnistuskohdassa, jolloin ne helpottavat kloridi-ionien johtokykyä hermokalvojen läpi, jotka ovat herkkiä GABA:lle (Gee et al., 1987; Harrison et al., 1987).

Alan ammattimiehille on tunnettua, että [^{35}S]-t-butyylibisyklofosforitionaatin ([^{35}S]TBPS) sitoutumisen modulaatio on GR-kompleksissa vaikuttavan lääkkeen voimakkuuden tai vaikutuksen mitta, jolla lääkkeellä voi olla mahdollinen terapeuttinen arvo stressin, ahdistuksen ja halvauskohtaushäiriöiden hoidossa (Squires, R.F., et al., "[^{35}S]t-Butylbicyclophophorothionate binds with high affinity to brain-specific sites coupled to a gamma aminobutyric acid-A and ion recognition site", *Mol. Pharmacol.*, 23:326, 1983; Lawrence, L.J., et al., "Benzodiazepine anticonvulsant action: gamma-aminobutyric acid-dependent modulation of the chloride ionophore", *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 123:1130-1137, 1984; Wood, et al., "*In vitro* characterization of benzodiazepine receptor agonists, antagonists, inverse agonists and agonist/antagonists", *Pharmacol. Exp. Ther.*, 231:572-

576, 1984). Suoritimme useita kokeita määrittääksemme [^{35}S]TBPS:n modulaation luonne, minkä keksinnön mukaiset yhdisteet saavat aikaan. Havaitsimme, että nämä yhdisteet vaikuttavat uudessa kohdassa GR-kompleksissa, joka ei mene päällekkäin barbituraattien, bentsodiatsepiinien tai minkään muun aikaisemmin tunnetun vaikutuskohdan kanssa. Edelleen näillä yhdistellä on suuri voimakkuus ja tehokkuus GR-kompkeksissa, jolla on tiukat rakennevaatimukset sellaista aktiivisuutta varten. Edullisten yhdisteiden, jotka ovat käyttökelpoisia esillä olevassa keksinnössä, IC_{50} on 2 μM tai pienempi [^{35}S]TBPS-sitoutumismäärityksessä, joka on kuvattu alla.

Tämän määrityksen suorittamiseen tarvittavista menettelyistä on kirjoitettu täydellisesti: (1) Gee, et al., 1987; ja (2) Ge, K.W., L.J. Lawrence ja H.I. Yamamura, "Modulation of the chloride ionophore by benzodiazepine receptor ligands: influence of gamma-aminobutyric acid and ligand efficacy", *Molecular Pharmacology* 30:218, 1986. Nämä menettelyt suoritettiin seuraavasti:

Urospuolisten Sprague-Dawley-rottien aivot poistettiin heti tappamisen jälkeen ja aivokuoret leikeltiin jään päällä. P_2-homogenaatti valmistettiin kuten aikaisemmin on kuvattu (Gee, et al., 1986). Lyhyesti aivokuoret homogenoitiin varovasti 0,32 M sakkaroosiin, mitä seurasi sentrifugointi 1000 x g:ssä 10 minuuttia. Supernatantti kerättiin ja sentrifugoitiin 9000 x g:ssä 20 minuuttia. Syntynyt P_2-pelletti suspendoitiin 10 % (alkuperäinen märkäpaino/tilavuus) suspensiona 50 mM Na/K-fosfaattipuskuriin (pH 7,4) 200 mM NaCl:ään homogenaatin muodostamiseksi.

Sadan mikrolitran (μl) osia P_2-homogenaatista (0,5 milligrammaa (mg) proteiinia) inkuboitiin 2 nanomolaarisen (nM) [^{35}S]TBPS:n (70-110 curieta/millimooli; New England Nuclear, Boston, MA) kanssa testattavien luonnollisesti esiintyvien steroidien tai niiden synteettisten johdannaisten läsnäollessa tai ilman niitä. Testatut yhdisteet liuotettiin dimetyylisulfoksidiin (Baker Chem. Co. Phillipsbury, NJ) ja lisättiin inkubointiseokseen 5 μl:n osina. Inkubointiseokseen lisättiin puskuria 1 ml:n lopulliseen tilavuuteen. Epäspesifinen sitoutuminen määritettiin sitoutumisena 2 mM TBPS:n läsnäollessa. GABA:n (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO) vaikutus ja spesifisyys arvioitiin suorittamalla kaikki kokeet GABA:n ja (+)bikukulliinin (Sigma Chem. Co.) läsnäollessa. Inkuboinnit, joita

pidettiin 25 °C:ssa 90 minuuttia (valmiustilaolosuhteet), lopetettiin nopeasti suodattamalla lasikuitusuodattimien läpi (nro 32, Schleicher and Schuell, Keene, NH). Suodattimeen sitoutuneen radioaktiivisuuden määrä mitattiin nestetuikespektrofotometrisesti. Kineettiset tulokset ja yhdiste/[^{35}S]TBPS-annos-vaste-käyrät analysoitiin epälineaarisella regressiolla käyttämällä tietokoneistettua iteratiivista menetelmää, jolloin saatiin nopeusvakio ja IC_{50}-arvot (yhdisteen konsentraatio, jossa perus-[^{35}S]TBPS:n sitoutumisen puolimaksimaalinen inhibointi tapahtuu).

Koetuloksia, jotka saatiin tätä mittausta varten, on julkaistu myös viitteessä Gee, et al., 1987. Tässä viitejulkaisussa esitetyt arvot on esitetty diagrammeina kuvioissa 1A ja 1B. Nämä diagrammit osoittavat (+)bikukulliinin vaikutuksen pregnaanisteroidi alfaksalonin (1A) ja GABA:n (1B) modulointiin 2 nM [^{35}S]TBPS-sitoutumiseen rotan aivokuoreen. Näissä kuvioissa (○) esittää kontrollia ilman bikukulliinia; (●) esittää 0,5 μM bikukulliinin; (□) esittää 1,0 μM bikukulliinin; (■) esittää 2,0 μM bikukulliinin; ja (△) esittää 3,0 μM bikukulliinin. Tässä kokeessa (+)bikukulliinin vaikutus alfaksalonin tai GABA:n kykyyn inhiboida [^{35}S]TBPS:n sitoutumista on määritetty. Bikukulliinin tiedetään olevan kilpaileva GABA:n antagonisti ja klassinen sivuttaissiirto annos-vaste-käyrissä havaitaan kuviossa 1B. Sitä vastoin steroidin sitoutumiskohta, joka on identifioitu tässä työssä, on erillään GABA/bikukulliini-kohdasta kuvassa 1A. Siirtymä annos-vaste-käyrissä, jonka indusoi bikukulliini, kun [^{35}S]TBPS:n sitoutumisen inhibitio saadaan aikaan alfaksalonilla, ei ole yhdensuuntainen. Tämä osoittaa, että GABA- ja steroidikohdat eivät mene päällekkäin.

Toinen kokeiden sarja suoritettiin, jotta havainnollistettaisiin, että steroidi, barbituraatit ja bentsodiatsepiinit eivät jaa yhteistä sitoutumiskohtaa GABA-reseptorissa. Kuvio 2 esittää [^{35}S]TBPS:n dissosiaation rotan aivorungon P_2-homogenateista ajan funktiona, jonka dissosiaation saa alkuun 2 μM TBPS:n (■), 1 μM 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin (□), 100 μM Na-pentobarbitaalin (●) ja 1 μM 3α-OH-5α-pregnan-20-onin + 100 μM Na-pentobarbitaalin (○) lisääminen. Määritys suoritettiin edellä esitettyjen menettelyn mukaisesti. Nämä kineettiset arvot osoittavat, että [^{35}S]TBPS:n sitoutumisen dissosiaatiota, jonka saa alkuun 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin kylläinen konsentraatio, voimis-

taa 100 μM Na-pentobarbitaali. Tämä vaikutus on osoitus siitä, että 3α-OH-5α-pregnan-20-oni (steroidi) ja pentobarbitaali (barbituraatti) sitoutuvat erillisiin kohtiin.

Kolmannella koesarjalla tutkittiin 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin (steroidi) ja pentobarbitaalin (barbituraatti) vuorovaikutuksia (^{3}H)-flunitratsepaamin (FLU) sitoutumisen voimistamisessa. Nämä kokeet tukevat lisää väitettä, että steroidit eivät jaa yhteistä vaikutuspaikkaa bentsodiatsepiinien ja barbituraattien kanssa. Näissä koesarjoissa 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onien erilaisten konsentraatioiden vaikutus (^{3}H) FLU-sitoutumiseen maksimaalisen stimuloivan Na-pentobarbitaalin pitoisuuden läsnäollessa tai ilman sitä. Koska Na-barbitaalilla on suurempi maksimitehokkuus kuin 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onilla (^{3}H)-FLU-sitoutumisen tehostamisessa, 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin pitäisi lopulta antagonisoida Na-pentobarbitaalin vaikutusta, jos nämä kaksi vaikuttaisivat kilpailevasti samassa kohdassa. Tätä ei havaittu (kuvio 3). Siten tulokset tukevat lisää johtopäätöstämme, että tietyt steroidit, joihin kuuluvat keksinnön mukaiset ja keksinnössä käytettävät yhdisteet, toimivat vuorovaikutuksessa uuden kohdan kanssa, joka on erillään barbituraatti- tai bentsodiatsepiini -säätelykohdasta GR-kompleksissa. Johtuen tästä itsenäisestä vaikutuspaikasta, on odotettavissa, että näillä steroidiyhdisteillä on erilaiset terapeuttiset profiilit kuin barbituraateilla tai bentsodiatsepiineillä.

Erilaisia yhdisteitä on seulottu, jotta määritettäisiin niiden mahdollisuus [^{35}S]TBPS-sitoutumisen modulaattoreina *in vitro*. Nämä määritykset suoritettiin edellä selostettujen menettelyjen mukaisesti. Näihin määrityksiin perustuen olemme osoittaneet rakenne-aktiivisuus-vaatimukset näille spesifisille vuorovaikutuksille GR-kompleksissa ja niiden voimakkuus- ja tehokkuusarvojärjestyksen. Kuvio 4 esittää 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin (£α,5α-P), 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin (5α-THDOC) ja R5020:n (promogesteroni) [^{35}S]TBPS-inibitiokäyrän kokeellisina esimerkkeinä, kun taas taulukko 1 esittää lukuisten yhdisteiden, mukaan lukien patenttivaatimusten kohteena olevien, IC_{50}- ja maksimi-inhibitioarvot. IC_{50} määritellään yhdisteiden konsentraationa, joka inhiboi 50 % kontrolli-[^{35}S]TBPS-sitoutumisesta. Se on osoitus yhdisteiden *in vitro* -voimakkuudesta. Maksimi-inhibitio on osoitus yhdisteiden *in vitro* -tehokkuudesta.

Taulukko 1

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni	4	92
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	5	93
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-19-norpregnan-20-oni	6	90
3β-(4'-karboksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni etyyliesteri	7	79
3β-(4-karboksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri	8	98
3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	13	103
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	14	103
3β-(4'-karboksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-oni	15	94
3β-(4-asetoksibutyn-1-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	20	96
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni	22	99
3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-3α-hydroksi-5β-19-norpregnan-20-oni	22	102
3β-(3'-metoksi-1'-propynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	27	105
3β-(4'-dimetyyliaminofenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	28	77
3β-[3-(2-propynyylioksi)propyn-1-yyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	28	105
3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	35	95
3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	37	95
3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	43	83
3α-hydroksi-3β-(4'-nitrofenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	46	103
3α-hydroksi-21-(2H,1,2,3,4-tetrasol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	46	78

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
3α-hydroksi-3β-(4'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	47	89
3β-(4'-trifluorimetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	52	87
3β-(5-asetyylitien-2-yyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	52	89
21-(1-bentsimidatsolyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	53	100
3β-(4-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-(21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	54	93
3α-hydroksi-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	56	79
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni	56	93
3β-(4'-kloorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	58	89
3β-(5'-hydroksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	58	100
3α-hydroksi-3β-(tien-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	59	100
3β-(3'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	62	100
3α-hydroksi-21-[1H-(4-metyyli-5-karboksyyli)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni	62	100
3α-hydroksi-3β-[3'-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-1-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	66	98
3α-hydroksi-21-(9H-1,2,3-purin-9-yyli)-5β-pregnan-20-oni	69	59
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5β-pregnan-20-oni	71	103
3α-hydroksi-21-(imidatsol-1-yyli)-5α-pregnan-20-oni	71	99
3α-hydroksi-21-(imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	73	57
3β-(4'-syanofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	73	92
3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni (5α-THDOC)	76	100
3α-hydroksi-3β-(pentafluorifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	79	69
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	79	96
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	80	103

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-pyratsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	81	98
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5α-pregnan-20-oni	85	99
3β-[4'-(N,N-dietyylikarboksamidofenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	87	94
3α-hydroksi-3β-(4'.metyylifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	88	84
3α-hydroksi-3β-(6-okso-1-heptynyyli)-5β-pregnan-20-oni	90	101
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(1,2,4-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	93	96
3β-(4-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(tetratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	93	101
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5β-pregnan-20-oni	94	104
3β-(5'-asetoksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	96	98
3α-hydroksi-21-(1H-3,5-dimetyylipyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	96	77
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	97	95
3α-hydroksi-3β-(fenyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni	98	101
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	98	98
3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli-5α-pregnan-20-oni	100	98
3β-(2'-hydroksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	101	83
3α-hydroksi-3β-(3'-fenyyli-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni	103	95
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	106	99
Natrium-S-[3α-hydroksi-3β-(4'-hydroksibutynyyli)-5β-pregnan-20-on-21-yyli]tiosulfaatti	107	97
3α-hydroksi-3β-(2'-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	108	98
3β-(2,4-difluorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	109	102
3β-bentsyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	109	102

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
21-(1'-bentsimidatsolyyli)-3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	109	95
3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	115	98
3α-hydroksi-3β-(5'-okso-1-heksynyyli)-5β-pregnan-20-oni	118	101
3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	121	67
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-norpregnan-20-oni	124	95
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	125	105
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	127	98
3β-(4'-syanobutynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	131	86
Natrium-S-[3α-hydroksi-3β-(metoksimetyyli)-5β-pregnan-20-on-21-yyli]tiosulfaatti	132	103
Natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	133	90
3α-hydroksi-3β-(2'-fenyylietyyli)-5β-pregnan-20-oni	135	98
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',3'-triatsol-1'-yyli)-5α-pregnan-20-oni	136	99
3α-hydroksi-3β-[3'-hydroksipropynyyli]-5β-pregnan-20-oni	137	93
3α-hydroksi-3β-(3-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	138	100
3α-hydroksi-3β-[3'(R/S)-hydroksibutynyyli]-5α-pregnan-20-oni	144	99
3α-hydroksi-3β-(4-pyridyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	149	103
3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	151	60
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	151	101
3β-(5'-syanopentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	158	100
3β-(4'-asetoksiasetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	171	91
3α-hydroksi-3β-fenyylipropyyli-5β-pregnan-20-oni	173	92
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5α-pregnan-20-oni	178	101
3α-hydroksi-3β-[3'(R/S)-hydroksibutynyyli]-5β-pregnan-20-oni	202	102

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
3β-(6-hydroksiheksyn-1-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	222	99
3α-hydroksi-21-[1H-(2-metyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	222	95
3β-(3'-asetoksipropyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	224	104
3α-hydroksi-21-H-(1'H-1,2,3,4-tetratsol-1'-yyli)-5β-pregnan-20-oni	227	60
3α-hydroksi-21-(2-formyyli-imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	213	81
3α-hydroksi-3β-(2'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	238	99
3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dioni	268	102
3β-[3',4'-dimetoksifenyyli)etynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	283	106
3α-hydroksi-21-[1H-(4-nitro)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni	267	71
Natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	268	88
3β-(6'-asetoksiheksyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	306	99
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-5β-19-norpregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	325	98
3α-hydroksi-3β-fenyyli-5β-pregnan-20-oni	382	86
3β-(3'-hydroksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	407	99
3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triastol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	430	107
3α-hydroksi-21-(7'H-pyrin-7'-yyli)-5β-pregnan-20-oni	430	71
3α-hydroksi-21-(1'-urasiili)-5α-pregnan-20-oni	434	90
3α-hydroksi-3β-[3'-(pyrid-4-yylioksi)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	465	94
3β-[2-(3',4'-dimetoksifenyyli)etyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	507	66
3α-hydroksi-3β-(3'-hydroksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	619	98
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	655	102

Yhdiste	IC_{50} (nM)	IMAX (%)
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,4-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	843	99
3α-hydroksi-3β-(3-hydroksipropyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	1089	101
3β-[3'-(N,N-dimetyyliamino)-1'-propynyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	1420	100
3β-(4'-asetoksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	1430	100
3β-(4-hydroksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	1550	88
3α-hydroksi-2β-morfolinyyli-21-(1H-1,2,4-triatsol-1-yyli)-5α-pregnan-20-oni	1553	97
3α-hydroksi-3β-(3'-oksopropynyyli)-5β-pregnan-20-oni	1720	76
3β-(4'-karboksamidobutynyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	2240	98
3β-(4'-karboksamidobutynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	2340	102
3α-hydroksi-3β-(3'-oksobutynyyli)-5β-pregnan-20-oni	2690	107
3α-hydroksi-3β-[3'-(N-imidatsolyyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	2720	107
3β-(5'-karboksamidopentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	3090	102
Progesteroni	5200	100
3α-hydroksi-3β-[3'-oksobutynyyli]-5α-pregnan-20-oni	6510	104
3β-(4'-aminofenyyli)etynyyli-3β-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	22500	103
3β-hydroksi-5α-pregnan-20-oni (Allopregnanoloni)	$> 10^6$	33
4-pregnen-11β,21-diol-3,20-dioni (Kortikosteroni)	$> 10^6$	30
17β-estradioli	ea[a]	0,00
Kolesteroli	ea	0,00

[a]ea = ei aktiivinen

Kuten voidaan nähdä kuviosta 4 ja taulukosta 1, 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onilla, 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onilla ja keksinnön mukaisilla ja keksinnössä käytetyillä yhdisteillä on pieni IC_{50}, joka on se konsentraatio, joka on tarpeellinen 50 % maksimaalisen [^{35}S]TBPS:n sitoutumisen ihhibition saavuttamiseksi, kun taas yhdisteet kuten sukupuolisteroidit (R5020, estradioli ja progesteroni), glukokortikoidit (kortikosteroni) ja kolesteroli, joilla on suuri IC_{50}, ovat oleellisesti inaktiivisia. Siten on odotettavissa, että hormonaalisilla steroideilla ja kolesterolilla sinänsä ei ole mitään terapeuttista arvoa tässä kuvattuihin indikaatioihin. Jotta erotetaan tämä steroidien ainutlaatuinen luokka hormonaalisista steroideista, ne nimetään nyt neuroaktiivisiksi steroideiksi. Kuitenkin sukupuolisteroidit kuten progesteroni, voivat metaboloitua kehossa steroideksi, jotka ovat samantapaisia kuin 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni. Siten progesteronin voidaan katsoa olevan esilääke. TBPS-arvot vastaavat ^{36}Cl-ionin oton voimistumisen arvoja erilaisilla 3α-hydroksyloituneilla steroideilla, jotka on kuvattu viitteessä Purdy R.H., et al., "Synthesis, Metabolism and Pharmacological Activity of 3α-Hydroxy Steroids Which Potentiate GABA-receptor-Mediated Chloride Ion Uptake in Rat Cerbral Cortical Synaptoneurosomes", *J. Med. Chem.* 33:1572-1581 (1990), joka sisällytetään tähän viitteenä ja nämä tulokset korreloivat sähköfysiologisten arvojen kanssa, jotka on saatu mittaamalla steroidien aktiivisuutta voimistaa GABA-indusoitua virtaa varhaismunasoluissa, joihin on ruiskutettu ihmisen GABA-reseptoreja, kuten kuviossa 5 on esitetty. Tämä osoittaa, että TBPS-määritys on arvioiva mitta steroidien kyvystä allosteerisesti moduloida Cl^--kanavan aktiivisuutta.

Yhdisteet, joilla on rajoitettu tehokkuus

Vaikka haluttu terapeuttinen aktiivisuus pitäisi olla saatavilla potilaalle vähimmillä ei-halutuilla sivuvaikutuksilla, tämän keksinnön merkillepantavaan näkökulmaan kuuluu sellaisten agonistien keksiminen, joilla on osittaista aktiivisuutta niissä yhdisteissä 5α-pregnan-3α,20α-diolin, 5β-pregnan-3α,20β-dioliryhmien kansa tai näiden yhdisteiden johdannaisten tai esilääkkeiden kanssa. Lisäksi muut kuin näiden kahden ryhmän neuroaktiivisten steroidien osajoukko osoittavat myös osittaista tehokkuutta TBPS-analyysissä (taulukko 1). Potilaille, jotka haluavat ahdistuneisuuden tai kouristuksen parantumista, hypnoosi ei ole haluttua. Potilaille, jotka haluavat unettomuuden parantumista, anestesia

ei ole haluttua. Yhdisteillä ja aktiivisuuksila, jotka on kuvattu agonisteina, joilla on osittainen aktiivisuus, odotettiin olevan haluttu teho minimihaittavaikutusten kanssa.

Rajoitetun tehokkuuden agonistien osoittamiseksi on havainnollistettu 5α-pregnan-3α,20α-diolin ja 5β-pregnan-3α,20α-diolin kyky osittain moduloida [^{35}S]TBPS-sitoutumista jopa hyvin suurissa pitoisuuksissa (kuvio 6).

Lisäksi näiden yhdisteiden osittainen kykyä voimistaa GABA-välitteistä Cl^--virran suurenemista verrattiin 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin kykyyn (kuvio 7) Xenophus-varhaismunasoluissa, joihin injektoitiin ihmisen $GABA_A$-reseptorigeenejä, on esitetty myös.

Kun Xenopus oosyytti -ilmentymissysteemiä käytettiin testaamaan joidenkin neuroaktiivisten steroidien rajatehokkuusominaisuuksia, seuraava menettely suoritettiin. Xenopus laevis -varhaismunasoluihin (vaihe VI), joita oli "defollikuloitu" käyttämällä kollagenaasipilkkomismenetelmää (3 tuntia 18-23 °C:ssa, 2 mg ml^{-1} kollagenaasi "A":ta Barthin suolaliuoksessa, josta Ca^{2+}-suolat oli jätetty pois) ruiskutettiin ihmisen $GABA_A$-reseptorin alayksikön kompleksia α1β1 ja γ cRNA-transkriptejä. Pää-$GABA_A$-reseptorikompleksi koostuu αβγ-alayksiköistä. Injektoituja varhaismunasoluja pidettiin yksittäin 96-kaivoisessa levyssä (200 μl kaivoa kohti normaalia Barthin liuosta täydennettynä penisilliinillä 50 IU ml^{-1}, streptomysiinillä 50 mg/ml ja gentomysiiniä mg/ml) 9 päivää 19-20 °C:ssa. Agonisti-indusoidut virrat tallennettiin Xenopus-varhaismunasoluista jännitekiinnitettynä pitojännitteessä -60 mV, käyttämällä Axoclamp 2 A (Axon Instruments) jännitepitoamplifikaattoria kaksoiselektrodi-jännitepitomoodissa. Jännitteen tunnistavat ja virtaa läpi päästävät mikroelektrodit, jotka täytettiin 3M KCl:llä, ja 1-3 M Ohmien vastukset, kun mitattiin standardissa solunulkoisessa suolaliuoksessa. Varhaismunasoluja alijäähdytettiin jatkuvasti "frog"-Ringerliuoksella (120 mM NaCl; 2 mM KCl; 1,0 mM $CaCl_2$; 5 mM HEPES pH 7,4) nopeudella 5-7 ml/min huoneenlämpötilassa (17-21 °C).

Kaikki lääkkeet levitettiin perfuusiosysteemin kautta. Steroidit (10^{-2} M) valmistettiin väkevöitynä varastoliuoksina joko DMSO:hon tai etanoliin ja sitten laimennettiin Ringerin liuoksella sopivissa pitoisuuksissa. Lopullinen DMSO- ja etanolipitoisuus oli 0,2 % v/v, pitoisuus, jolla ei ollut mitään vaikutusta GABA-herättämään vasteeseen. Kaikkien mui-

den lääkkeiden varastoliuokset tehtiin Ringerin liuokseen. Solukalvovirtavasteet alipäästösuodatettiin 100 Hz:ssä ja talletettiin magneettinauhalle käyttämällä FM-kelanauhuria (Racal Store 4DS) seuraavina oleviin analyyseihin.

Keksinnön mukaiset ja keksinnössä käytetyt yhdisteet osoittavat osittaista tehokkuutta, joka on analoginen niille, jotka on kuvattu edellä ja myös esitetty yllä olevissa taulukoissa.

Edut progesteroniin nähden

Korrelaatio progesteronin alentuneiden arvojen ja PMS:ään, PND:hen ja kuukautisiin liittyvään epilepsiaan liittyvien opireiden välillä (Backstrom, et al., 1983; Dalton, K., 1984) johti progesteronin käyttöön niiden hoitamiseksi (Mattson, et al., 1984; ja Dalton, 1984). Progesteroni ei kuitenkaan ole johdonmukaisn tehokas edellä mainittujen oireyhtymien hoidossa. Esimerkiksi progesteronilla ei esiinny annos-vaste-suhdetta PMS:n hoidossa (Maddocks, et al., 1987). Nämä tulokset ovat ennustettavissa, kun tarkastellaan *in vitro* -tutkimuksiemme tulosten valossa, jotka tulokset osoittavat, että progesteronilla on hyvin pieni voimakkuus GR-kompleksissa, kuten nähdään taulukosta 1, verrattuna progesteronin tiettyihin metaboliitteihin.

Progesteronin hyödyllinen teho liittyy luultavasti progesteronin vaihtelevaan muuttumiseen aktiivisiksi progesteronimetaboliiteiksi. Spesifisten progesteronimetaboliittien käyttö edellä mainittujen oireyhtymien hoitamisessa on selvästi parempi verrattuna progesteronin käyttöön perustuen metaboliittien ja niiden johdanaisten suureen voimakkuuteen ja tehokkuuteen (katso Gee, et al., 1987, ja taulukko 1).

Ei hormonaalisia sivuvaikutuksia

On myös osoitettu, että neuroaktiivisilla sterodeilla ei ole hormonaalisia sivuvaikutuksia, koska niillä ei ole affiniteettia progesteronin ja muille hormonaalisten steroidien reseptoreille (taulukko 2-5). Arvot, jotka on esitetty, saatiin suorittamalla määritys edellä mainitussa viitteessä Gee, et al., 1988 esitettyjen menetelmien mukaisesti, jotta määritettiin

progesteronimetaboliittien ja niiden johdannaisten ja progestiini R5020:n teho [^{3}H]R5020:n sitoutumiseen progesteronireseptoriin rotan kohdussa (Gee et al. 1988).

^{3}H-progesteronia (0,15 nM) inkuboitiin rotan kohdun soluliman kanssa koeyhdisteiden läsnäollessa. Spesifinen sitoutuminen määritettiin inkuboinnin jälkeen ja verrattiin kontrolli-inkubointiin ilman yhdisteitä. Tulokset on ilmaistu sitoutumisen inhiboitumisen prosenttiosuutena. Jos yhdisteet sitoutuvat progesteronireseptoriin, jolla on suuri affiniteetti, 100 % sitoutumisen inhiboituminen olisi odotettavissa testatuissa pitoisuuksissa.

Edustavien neuroaktiivisten steroidien lukuisia hormonaalisia aktiivisuuksia tutkittiin lisää testaamalla niiden mahdollisia estrogeenisiä, mineralokortikoidisia ja glukokortikoidisia aktiivisuuksia. Nämä aktiivisuudet anaylysoitiin monitoroimalla yhdisteiden kykyä inhiboida steroidihormonien sitoutumista niiden vastaaviin hormonireseptoreihin. Tulokset on esitetty taulukoissa 3-5. Ne on ilmaistu ^{3}H-ligandin erilaisiin steroidihormonireseptoreihin sitoutumisen inhiboitumisen prosenttiosuutena yhdisteillä 10^{-6} M:ssä. Kontrolliarvot on esitetty sitoutumisesta ilman koeyhdisteiden läsnäoloa.

Taulukossa 3 rotat adrenalektomisoitiin 3 päivää ennen tappamista. Mineralokortikoidireseptorin eristämiseksi aivojen solulimafraktiot valmistettiin kuten on kuvattu viitteessä Gee, et al. 1988. Lääkkeitä inkuboitiin 3 nM:ssä ^{3}H-aldosteronia (spesifinen ligandi mineralokortikoidireseptorille) selektiivisen tyypin II agonistin RU28362 (0,5 μM) läsnäollessa, joka agonisti estää ^{3}H-aldosteronin sitoutumisen tyypin II (glukokortikoidi) -reseptoreihin.

Taulukko 2. ^{3}H-progestoronin sitoutumisen inhibointi naudan kohdun progesteronireseptoreihin

Kilpailija (10^{-6}M)	Inhibitio-%
R5020	100
5α-pregnan-3α-ol-20-oni	14
5α-pregnan-3α,21-diol-20-oni	13
5α-pregnan-3α,21-dioli	6
5α-pregnan-3α-ol-3α-metyyli-20-oni	4
5β-pregnan-3α,21-diol-20-oni	6
5α-pregnan-3β,20-trimetyyli-3α,20-dioli	8
5β-pregnan-3α,20α-dioli	0
5β-pregnan-3α-ol-20-oni	9
5α-pregnan-20-dimetyyli-3α,20-dioli	0

Taulukko 3. ^{3}H-aldosteronin aivoturson mineralokortikoidireseptoreihin sitoutumisen inhibointi

Kilpailija (10^{-6}M)	Inhibitio-%
Aldosteroni	95,5
5α-pregnan-3α,21-diol-20-oni	76,7
5β-pregnan-3α,21-diol-20-oni	13,8
5α-pregnan-3α,ol-20-oni	0,0
5β-pregnan-3α,ol-20-oni	0,0
5α-pregnan-3α,20-dioli	0,0
5β-pregnan-3α,20-dioli	0,0
5α-pregnan-3α,20-diol-20-dimetyyli	0,0
5α-pregnan-3α,ol-3β-metyyli-20-oni	3,2
5α-pregnan-3β,20-trimetyyli-3α,20-dioli	0,0

Taulukkoa 4 varten valmistettiin aivojen solulimafraktiot kuten taulukkoon 3, ja yhdisteitä inkuboitiin 3 nM ^{3}H-deksametasonin kanssa (spesifinen ligandi glukokortikoidireseptorille).

Taulukko 4. ^{3}H-deksametasonin glukokortikoidireseptoreihin sitoutumisen inhiboiminen

Kilpailija (10^{-6}M)	Inhibitio-%
Deksametasoni	100
5α-pregnan-3α,21-diol-20-oni	29,5
5β-pregnan-3α,21-diol-20-oni	8,2
5α-pregnan-3α-ol-20-oni	8,7
5β-pregnan-3α-ol-20-oni	5,9
5α-pregnan-3α,20α-dioli	2,6
5β-pregnan-3α,20α-dioli	1,4
5α-pregnan-20-dimetyyli-3α,20-dioli	2,6
5α-pregnan-3α,ol-3β-metyyli-20-oni	0,6

Taulukko 5 esittää ^{3}H-estradiolin (spesifinen ligandi estrogeenireseptorille) naudan kohdun solulimaan sitoutumisen inhiboinnin, valmistettu kuten aikaisemmin on kuvattu (Gee, et al., 1988). ^{3}H-estradiolia (0,15 nM) ikuboitiin soluliman kanssa yhdisteiden läsnäollessa.

Taulukko 5. ^{3}H-estradiolin sitoutumisen naudan kohdun estrogeenireseptoreihin inhiboiminen

Kilpailija (10^{-6}M)	Inhibitio-%
17β-estradioli	100
5α-pregnan-3α-ol-20-oni	0,00
5α-pregnan-3α,21-diol-20-oni	2
5α-pregnan-3α,20α-dioli	0,00
5α-pregnan-3α-ol-3-metyyli-20-oni	0,00
5β-pregnan-3α,21-diol-20-oni	0,00
5α-pregnan-3β,20-trimetyyli-3α,21-dioli	0,00
5β-pregnan-3α,20α-dioli	8
5β-pregnan-3α-ol-20-oni	0,00
5α-pregnan-20-dimetyyli-3α,20α-dioli	0,00

Näiden kokeiden tulokset osoittavat selvästi, että neuroaktiivisilla steroidella ei ole suurta affiniteettiä mihinkään edellä olevista steroidien reseptoreista. Siten nillä ei ole ennustettuja hormonaalisia sivuvaikutuksia, joita aiheutuisi sellaisesta steroidireseptorisitoutumisesta.

Kouristuksen vastainen aktiivisuus

Kokeita suoritettiin myös, jotta määritettiin neuroaktiivisen steroidin ja GABA-reseptorin vuorovaikutuksen fysiologinen relevanssi määrittämällä keksinnön mukaisten ja keksinnössä käytettyjen yhdisteiden kyky estää metratsoli-indusoituja kouristuksia hiirissä. Hiiriin ruiskutettiin erilaisia annoksia keksinnön mukaisia yhdisteitä, 10 ennen metratsolin ruiskutusta. Lihasnykimisen (etukäpälän nykimisaktiivisuuden läsnäollessa), jonka indusoi metratsoli, alkamisaika määritettiin tarkkailemalla kutakin hiirtä 30 minuutin ajan. Kontrollihiirillä metratsoli (85 mg/kg) indusoi kouristuksia 95 %:ssa eläimistä. Keksinnön mukaisten ja keksinnössä käytettyjen yhdisteiden kyky suojata hiiriä kouristuksilta on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6: Neuroaktiivisten steroidien metratsolin vastainen aktiivisuus hiirissä

Nimi	Reitti	Vehik-keli	Annos (mg/kg)	% suojattu
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	100
3β-(4'-karboksifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri	IP	50 % hpbcd	10	18,75
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	100
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3β-(4'-asetoksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	100
3α-hydroksi-3β-(3'-metoksi-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	1	87,5
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattisuola	PO	vesi	10	80
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattisuola	PO	vesi	10	75
3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dioni	IP	50 % hpbcd	10	50
3β-[3-(2-propynyylioksi)propyn-1-yyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-3β-(5'-okso-1-heksynyyli)-5β-pregnan-20-onin syklinen 5'-(1,2-etaanidiyyliasetaali)	IP	50 % hpbcd	10	50

Nimi	Reitti	Vehik-keli	Annos (mg/kg)	% suojattu
3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	dmso	10	0,00
3β-(5-asetyylitien-2-yyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3β-(4'-trifluorimetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	dmso	10	25
3β-(4'-kloorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	dmso	10	37,5
3β-(5'-hydroksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3α-hydroksi-3β-(tien-2-yyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3β-(3'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	87,5
3β-(4-syanofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	43,7
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 4'-hemisukkinaatin Na-suola	IP	vesi	10	87,5
3α-hydroksi-3β-[3'-1H-pyratsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3α-hydroksi-3β-(4'-metyylifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3α-hydroksi-3β-(6-okso-1-heptynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	62,5
3β-(5'-asetoksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3α-hydroksi-3β-(2'-pyridyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3α-hydroksi-3β-(5'-okso-1-heksynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3β-(4'-syano-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3α-hydroksi-3β-(3'-hydroksipropynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3α-hydroksi-3β-[3'(RS)-hydroksibutynyyli]-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-3β-[4'-(R/S)-hydroksipentynyyli]-5β-pregnan-20-onin 4'(R/S)-hemisukkinaatin natriumsuola	IP	vesi	10	50
3β-(5'-syanopentynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25

Nimi	Reitti	Vehik-keli	Annos (mg/kg)	% suojattu
3α-hydroksi-3β-[3'(RS)-hydroksibutynyyli]-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaatin Na-suola	IP	50 % hpbcd	10	25
2β-(5'-hydroksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3β-(3'-asetoksipropyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3α-hydroksi-3β-(2'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	dmso	10	12,5
3β-(6'-asetoksiheksyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3α-hydroksi-3β-[3'-(pyrid-4-yylioksi)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3β-[2-(3',4'-dimetoksifenyyli)etyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3β-(3'-hydroksi-3'-metyylibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	43,7
3β-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	25
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,4-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	10
Natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	vesi	10	37,5
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	vesi	10	62,5
Natrium-S-[3α-hydroksi-3β-(4'-hydroksibutynyyli)-5β-pregnan-20-on-21-yyli]tiosulfaatti	PO	vesi	40	33,3
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	vesi	10	62,5
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-19-nor-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	vesi	40	37,5
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-onin hemisukkinaattin natriumsuola	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-21-(2'H-1,2,3,4-tetratsol-2'-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3α-hydroksi-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	100
3α-hydroksi-21-[1H-(4-metyyli-5-karboksyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri	IP	50 % hpbcd	10	37,5
21-[1'-(4,5-dikloori)imidatsolyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5

Nimi	Reitti	Vehik-keli	Annos (mg/kg)	% suojattu
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-21-(1H-3,5-dimetyylipyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	75
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	62,5
3α-hydroksi-21-(1-pyratsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	87,5
3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	62,5
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	87,5
3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	37,5
21-[1'-(4,5-disyano)imidatsolyyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50
3α-hydroksi-21-[1H-(2-metyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	6,2
3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-nor-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	12,5
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-nor-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	50

Neuroaktiivisten steroidien kyky suojata eläimiä muita kemiallisia kouristuksen aiheuttajia vastaan havainnollistettiin edelleen 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onille, 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onille ja 3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-onille. Kouristuksen vastaiset kokeet olivat samanlaisia kuin edellä on kuvattu. Kemiallisia kouristuksen aiheuttajia ovat seuraavat: metratsoli (85 mg/kg); (+)bikukulliini (2,7 mg/kg); pikrotoksiini (3,15 mg/kg); strykniini (1,25 mg(kg); tai vehikkeli (0,9 % suolaliuos). Heti kouristuksen aiheuttajan tai vehikkelin ruiskutuksen jälkeen hiiriä tarkkailtiin 30-45 minuutin ajan. Eläimien lukumäärä, joilla oli jännittyneitä ja/tai nykiviä kouristuksia, merkittiin muistiin. Maksimaalisen sähköshokin kokeessa johdettiin 50 mA:n virtaa taajuudeltaan 60 Hz sarveiskalvoelektordien kautta 200 millisekuntia yhtäjaksoisesti jännittyneen halvauskohtauksen indusoimiseksi. Yhdisteiden kyky kumota yhtäjaksoisesti jännittynyt komponentti määritettiin loppupisteessä. Yleinen CNS-depressiopotentiaali määritettiin rotorod-kokeessa 10 minuuttia yhdisteiden ruiskutuksen jälkeen, jossa määritettiin

hiirien lukumäärä, jotka pyöryivät pyörivällä (6 rpm) sauvalla 1 minuutin ajan yhdessä kolmesta kokeesta. ED_{50} (annos, jossa puolimaksimaalinen vaikutus tapahtuu) määritettiin kullekin seulonnalle ja ne on esitetty taulukossa 7 alla. Tulokset osoittavat, että neuroaktiiviset steroidit, verrattuna muihin kliinisesti käyttökelpoisiin kouristuksen vastaisiin aineisiin, ovat hyvin tehokkaita ja niillä on profiili, joka on samanlainen kuin bentsidiatsepiini klonatsepaamilla. Nämä havainnot osoittavat näiden yhdisteiden terapeuttisen käyttökelpoisuuden aivojen kiihottumisen modulaattoreina, joka on suhteessa niiden suureen affiniteetti-vuorovaikutukseen GR-kompleksin kanssa *in vitro*.

Taulukko 7. Esimerkkeinä olevien neuroaktiivisten steroidien ja valittujen kliinisesti käyttökelpoisten kouristuksen vastaisten aineiden kouristuksen vastainen aktiivisuus hiirissä

ED_{50} (mg/kg)						
Yhdiste	**RR**	**MES**	**MTZ**	**BIC**	**PICRO**	**STR**
3α5α[(a)]-P	30	28,6	4,9	12,3	10,2	>300
5α-THDOC[(a)]	22,9	26,7	8,1	17,8	5,6	>300
3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni[(b)]	246,2	>100	6,3	61,9	35,4	>100
Klonatsepam*	0,184	93	0,009	0,0086	0,043	ES
Fenobarbitaali*	69	22	13	38	28	95
Fenytoiini*	65	10	ES	ES	ES	**
Progabidi***	-	75	30	30	105	75
Valproaatti*	426	272	149	360	387	293

Lyhenteiden merkitys on: RR (rotorod); MES (maksimaalinen sähkösokki); MTZ (metratsoli); BIC (Bikukulliini); PICRO (pikrotoksiini); STR (strykniini); ES (ei suojausta)

[(a)] Liuotettu 20 % hydroksipropyyli-β-syklodekstriiniin vedessä. Steroidien ja kouristuksia aiheuttavien aineiden annostelureitti oli vatsakalvonsisäisesti (ip) tai ihonalaisesti (sc), vastaavasti.

* Kouristuksia estävät arvot ovat lähteestä Swinyard & Woodhead, "General Principles: experimental detection, quantification and evaluation of anticonvulsants", kirjassa *Antiepileptic Drugs*, D.M. Woodbury, J.K. Penry ja C.E. Pippenger, toim., s. 111, (Raven Press, New York), 1982.

(b) Vehikkeli sisälsi 0,32 % hydroksipropyylimetyyliselluloosaa ja 4 % tween 80:tä suolaliuoksessa.

** 50 %:n maksimisuoja 55-100 mg/kg:n annoksella.

*** Kemialliset kouristuksia aiheuttavat aineet progabidi-tutkimuksissa annosteltiin laskimonsisäisesti (iv), kaikki arvot lähteestä Worms et al., "Gamma-aminobutyric acid (GABA) reseptor stimulation. I. Neuropharmacological profiles of progabide (SL 76002) and SL 75102, with emphasis on their anticonvulsant spectra", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 220: 660-671 (1982).

Anksiolyyttiset vaikutukset

Seuraavat kokeet osoittavat, että progesteronin metaboliitit, 3α-OH-5α-pregnan-20-oni ja 3α-OH-5β-pregnan-20-oni ovat tehokkaita anksiolyyttejä neljässä eläinmallissa ihmisen ahdistuneisuudelle, joka tehokkuus mitataan anksiolyyttisten yhdisteiden käyttäytymisvaikutuksina. On ymmärrettävä, että nämä kaksi yhdistettä kuvaavat keksintöä valaisevalla tavalla. Niiden synteettisten johdannaisten arvot, jotka saatiin näissä mittauksissa, on myös esitetty taulukoissa 8-10. Neljä eläinmallia, joita käytettiin mittaamaan anksiolyyttisten yhdisteiden käyttäytymisvaikutuksia, ovat: 1) valo/pimeä-siirtymäkoe; 2) koholla oleva ristikkosokkelo -koe; 3) Geller-Seiferin konfliktikoe ja 4) Vogelin koe.

a) Valo/pimeä-siirtymäkoe

Valo/pimeä-siirtymäkoe (Crawley ja Goodwin, "Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effect of benzodiazepines", *Pharmacol. Biochem. Behav.* 13:67-70 (1980)) perustuu havaintoon, että jyrsijät luonnollisesti pyrkivät tutkimaan uusia ympäristöjä, mutta avoimet, kirkkaasti valaistut alueet ovat vastenmielisiä jyrsijöille ja ne ehkäisevät tutkivaa käyttäytymistä (Christmas ja Maxwell, "A comparison of effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory bahavior in mice and rats", *Neuropharmacol.* 9:17-29 (1970); File, "The use of social interactions as a method of detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs", *J. Neurosci.*

Meth. 2:219-238 (1980)). Lukuisia kliinisesti vakiintuneita anksiolyyttien, mukaanlukien diatsepaami, klonatsepaami ja pentobarbitaali, on osoitettu kasvattavan siirtymisten lukumäärää valoisan laatikon ja pimeän laatikon välillä, kun taas ei-anksiolyyttiset lääkkeet eivät osoita tätä käyttäytysmisvaikutusta (Crawley et al., "Absence of intrinsic antagonist actions of benzodiazepine antagonists on an exploratory model of anxiety in the mice", *Neuropharmacol.* 23:531-537 (1984)).

Urospulisia N.I.H. Swiss-Webster-hiiriä (Harlan, Harlan, Indianapolis, IN), jotka painoivat 15-20 g, pidettiin neljä häkkiä kohti polyetyleenihäkeissä, joiden pohjalla oli sahajauhoa. Populaatiohuoneen ympäristötekijöitä säädeltiin (22 °C) 12 tunnin valo/pimeäkierrolla (6.00-18.00). Ruokaa ja vettä oli saatavilla *ad libitum*, paitsi kokeen aikana. Kokeet suoritettiin klo 7.00 - 15.00 ja ryhmät vastatasapainotettiin päivänaikavaikutuksille. Hiiriin annosteltiin lääkettä tai vehikkeliä vain kerran.

Käytetty menetelmä oli muunnelma aikaisemmin kuvatuista menetelmistä (Wieland et al., "Anxiolytic activity of progesterone metabolite 5α-pregnan-3α-ol-20-one", *Br. Res.* 565:263-268 (1991)). Laitteisto sisälsi kaksi 2-lokeroista automatisoitua koekammiota (Model RXYZCM16, Omnitech Electronics, Columbus, OH). Avoin osaasto yhdistettiin suljettuun osastoon 7,5 x 7,5 cm käytävällä. Avointa lokeroa valaistiin kirkkaasti käyttämällä 200 W hehkulamppua. Koehuone pidettiin pimeänä. Infrapunavalosäteiden keskeytykset jommassa kummassa kammiossa tallennettiin automaattisesti, yhdistettynä tietokoneeseen Digiscan Analyzer -laitteen kautta (Omnitech Electronics) ja tulokset analysoitiin käyttämällä Integrated Lab Animal Monitoring System -laitetta (Omnitech Electronics). N.I.H. Swiss-Webster -hiirille annosteltiin vehikkeliä tai koeyhdistettä vatsaontelon sisäisesti (IP), 10 minuuttia myöhemmin ne asetettiin valaistun lokeron keskelle. Valaistun ja pimeän kammion välisten siirtymisten lukumäärä, täysin aktiivisten lukumäärä valaistussa kammiossa ja valaistussa kammiossa vietetty aika mitattiin 10 minuutin koejakson aikana.

Kuvio 8 esittää 3α-OH-5α-pregnan-20-onin ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onin vaikutukset valo/pimeä-siirtymäkokeessa. Molemmat yhdisteet tuottivat merkittävän annos-vaste-käyrän suhteessa pimeän laatikon ja valoisan laatikon välillä siirtymisten lukumäärään. Post-

hoc vertailut osoittivat, että ohikulkevien lukumäärät sekä 3α-OH-5α-pregnan-20-onille että 3α-OH-5β-pregnan-20-onille kasvoivat merkittävästi testatuilla annoksilla suhteessa kontrolliin (Dunnett'in t-testi).

Lisäksi sekä 3α-OH-5α-pregnan-20-oni että 3α-OH-5β-pregnan-20-oni tuottivat merkittävän ($p < 0,01$) kasvun aktiivisuudessa 10 & 20 mg/kg:lla verrattuna vertailuryhmään (Dunnettin t-testi). Ei ollut merkittäviä eroja kehden yhdisteen välillä millään testatulla annoksella.

b) Koholla oleva ristikkosokkelo;

Teoreettinen perusta koholla oleva ristikkosokkelo -kokeelle on samanlainen kuin valo/pimeä-siirtymiskokeelle. Kuten aikaisemmin on kuvattu (Pellow et al., "Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat", *J. Neurosci. Meth.* 14:149-167 (1985)), koholla oleva ristikkosokkelo -koelaitteisto on suunniteltu käyttämään hyväksi hiirten luonnollista vastenmielisyyttä avoimille paikoille. Laitteisto koostuu kahdesta avoimesta haarasta ja kahdesta suljetusta haarasta. Koholla oleva ristikkosokkelo -koe sallii kaksi ahdistuneisuuden määritystä, avoimiin haaroihin saapumisten lukumäärä ja avoimissa haaroissa vietetty aika, molemmat ilmaistaan saapumisten lukumäärän ja sekä avoimissa haaroissa että suljetussa haaroissa kulutetun ajan prosenttisuutena.

Urospuolisia N.I.H. Swiss-Webster -hiiriä (Harlan, Indianapolis, IN), jotka painoivat 15-20 g, pidettiin neljä häkkiä kohti polyetyleenihäkeissä, joiden pohjalla oli sahajauhoa. Populaatiohuoneen ympäristötekijöitä säädeltiin (22 °C) 12 tunnin valo/pimeä-kierrolla (6.00-18.00). Ruokaa ja vettä oli saatavilla *ad libitum*, paitsi kokeen aikana. Kokeet suoritettiin klo 7.00 - 15.00 ja ryhmät vastatasapainotettiin päivänaikavaikutuksille. Hiiriin annoteltiin lääkettä tai vehikkeliä vain kerran.

Käytetty menetelmä on kuvattu akaisemmin (Lister, "The use of Plus-Maze to measure anxiety in the mouse", *Psychopharmacol.* 92:180-185 (1987)). Laitteisto käsitti kaksi avointa haaraa kohtisuoraan kahteen suljettuun haaraan nähden ja kohotettuna 50 cm

lattiasta. Kukin haara oli 50 cm pitkä ja suljetun haaran seinät olivat 40 cm pitkiä. Sokkelo valmistettiin täysin mustasta pleksilasista. 200 W:n hehkulamput olivat kunkin avoimen haaran yläpuolella vahvan kontrastin tuottamiseksi avointen haarojen ja suljettujen haarojen välille.

Kymmenen minuuttia ruiskutuksen jälkeen N.I.H. Swiss-Webster -hiiret laitettiin ristikkosokkelon keskelle vastatusten avointa haaraa. 5 minuutin koejakson aikana avoimiin haaroihin ja suljettuihin haaroihin saapumisten lukumäärä, ja avoimissa haaroissa ja suljetuissa haaroissa vietetty aika mitattiin. Kaikki neljä käpälää piti olla avoimen haaran sisäpuolella, jotta riippuva muuttuja mitattiin. Siten sokkelon keskustassa vietettyä aikaa ei laskettu, joten avoimissa haaroissa ja suljetuissa haaroissa vietetty kokonaisaika voi olla eri kuin 5 minuuttia. 3α-OH-5α-pregnan-20-onin ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onin vaikutus koholla oleva ristikkosokkelo -kokeessa on esitetty kuviossa 9A. Molemmat yhdisteet osoittivat kasvanutta osuutta saaapumisissa avoimiin haaroihin eri annoksilla. 3α-OH-5α-pregnan-20-oni tuotti merkittävän kasvun saapumisissa annoksella 20 mg/kg ($p \leq 0,05$), kun taas 3α-OH-5β-pregnan-20-oni tuotti merkittävän kasvun saapumisissa annoskilla 5 mg/kg ($p \leq 0,05$), 7,5 mg/kg ($p \leq 0,01$) ja 10 mg/kg ($p \leq 0,01$).

Lisäksi 3α-OH-5α-pregnan-20-oni ja 3α-OH-5β-pregnan-20-oni tuottivat annosriippuvan kasvun avoimissa haaroissa vietetyssä ajassa (kuvio 9B). 3α-OH-5α-pregnan-20-oni tuotti merkittävän kasvun avoimissa haaroissa vietetyssä ajassa annoksella 10 mg/kg ($p \leq 0,01$), kun taas 3α-OH-5β-pregnan-20-oni tuotti merkittävän kasvun avoimissa haaroissa vietetyssä ajassa annoksilla 7,5 mg/kg ($p \leq 0,01$) ja 10 mg/kg ($p \leq 0,01$).

Taulukko 8 esittää keksinnön mukaisten ja keksinnössä käytettyjen yhdisteiden anksiolyyttisten aktiivisuuksien yhteenvedon käyttämällä koholla oleva ristikkosokkelo -koetta samoissa olosuhteissa kuten edellä on kuvattu.

Taulukko 8: Aksiolyyttinen aktiivisuus koholla oleva ristikkosokkelo -kokeessa hiirissä

Nimi	Reitti	Annos mg/kg	Vehik-keli	% kontr.
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	175,7
3β-(4'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-19-nor-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	191
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	141
3β-(4'-asetoksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	159
3α-hydroksi-3β-(3'-metoksi-1'-propynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	134
3β-[3-(2-propynyylioksi)propyn-1-yyli]-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	178
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	186
3β-(4'-bifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	dmso	111
3β-(5-asetyylitien-2-yyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	83
3β-(4'-kloorifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	dmso	161
3β-(5'-hydroksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	137
3α-hydroksi-3β-(tien-2-yyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	148
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-oni	IP	1	50 % hpbcd	150
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	115
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattisuola	PO	10	vesi	166
3β-(4'-asetyylifenyylietynyyli)-3α,21-dihydroksi-5β-pregnan-20-onin 21-hemisukkinaattisuola	PO	10	vesi	248
3β-(4'-hydroksi-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-11,20-dioni	IP	10	50 % hpbcd	119
3β-(3'-asetyylifenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	143
3β-(4'-syanofenyyli)etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	169
3β-(4'-hydroksibutyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 4'-hemisukkinaatin Na-suola	IP	10	vesi	149
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-pyratsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	116

Nimi	Reitti	Annos mg/kg	Vehik-keli	% kontr.
3α-hydroksi-3β-(4'-metyylifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	148
3α-hydroksi-(6-okso-1-heptynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	130,5
3α-hydroksi-3β-(2'-pyridyylietynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	123
3β-(4'-syano-1'-butynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	184
3α-hydroksi-3β-(3'-hydroksipropynyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	128
3α-hydroksi-3β-[4'(R/S)-hydroksipentynyyli]-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	102
3α-hydroksi-3β-[3'(RS)-hydroksibutynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	137,7
3β-(5'-hydroksipentyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-onin 5'-hemisukkinaatin Na-suola	IP	10	50 % hpbcd	155
3β-(3'-asetoksipropyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	109
3α-hydroksi-3β-(2'-metoksifenyyli)etynyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	10	dmso	152
3β-(6'-asetoksiheksyn-1'-yyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	206
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	116
3α-hydroksi-3β-[3'-(1H-1,2,4-triatsol-1-yyli)-1'-propynyyli]-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	122
Natrium-S-(3α-hydroksi-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	10	50 % hpbcd	143
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	10	vesi	125
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-(4'-hydroksibutynyyli)-5β-pregnan-20-on-21-yyli)-tiosulfaatti	IP	10	vesi	135
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	10	vesi	126
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-19-nor-5β-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	IP	10	50 % hpbcd	139
3α-hydroksi-21-(2'H-1,2,3,4-tetratsol-2'-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	117
3α-hydroksi-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	164
3α-hydroksi-21-[1H-(4-metyyli-5-karboksyyli)imidatsol-1-yyli]-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri	IP	10	50 % hpbcd	112
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	141

Nimi	Reitti	Annos mg/kg	Vehik-keli	% kontr.
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	138
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	179
3α-hydroksi-21-(1H-3,5-dimetyylipyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	128
3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	144
3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	180
3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	154
3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	129
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	153
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	135
3α-hydroksi-21-[1H-(2-metyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni	IP	10	50 % hpbcd	96

c) Geller-Seifterin konfliktikoe

Tämä ihmisen ahdistuneisuuden eläinmalli käyttää hyväksi ehdollistettua konfliktitilaa rotissa, jotta varmistetaan lääkkeiden anksiolyyttiset ominaisuudet. Rottia ehdollistetaan painamaan vipua positiivista vahvistusta varten kahdessa käyttäytymisohjelmassa (Geller ja Seifter, "The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally inudeced conflict in the rat", *Psychopharmacologia* 1:482-492 (1960)). Ensimmäiseen kuuluu vivun painaminen vaihtuvasuhteisessa ohjelmassa ilman rangaistusta. Rankaisukomponentti tuottaa konfliktitilan eläimessa. Rankaisematon komponentti sallii minkä tahansa depressanttivaikutuksen, joka lääkkeellä voi olla, havainnoimisen. Anksiolyyttinen vaste kasvattaisi rangaistujen vastetta vaikuttamatta rankaisemattomien vasteeseen.

Urospuolisia albiino Sprague-Dawley -rottia (Charles River Labs, Wilmington, MA), jotka painoivat 250 - 300 g, käytettiin konfliktikokeisiin ja niitä pidettiin rajoitetulla

Purina Lab Chow -ruokapellettien dietillä, vettä oli saatavilla kaikkina aikoina, jotta pidettiin paino 85 %:sesti vapaasti syövän nuoren aikuisen tasolla. Rottia pidettiin yksittäin 12-tunnin valo-pimeä-kierrossa, jolloin valot olivat päällä klo 7.00 - 19.00.

3α-OH-5α-pregnan-20-onin ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onin ahdistuksen vastainen (rangaistuksen vaikutusta vähentävä) ja vastedepressanttivaikutukset mitattiin rotissa Gellerin ja Seifterin konfliktikoe (1960). Tässä 63-minuutin kokeessa nälkäiset rotat painoivat vipua, jotta ne saivat makeutettua maitoa palkkioksi. Vahvistusohjelma koostuu rangaistus- ja rankaisemattomuuskomponentista, vaihtuen noin joka 15 minuutti. Rottia harjoitettiin koekammioissa (Coulburn instruments), jonka yhdelle seinälle oli asennettu vipu, pieni kauha, joka jakoi 0,1 ml:n maitopalkkion (1 osa Eagle-tiivistemaitio ja 2 osaa vettä), ja jossa oli metalliverkkolattia, jonka läpi jalkashokkirangaistus annettiin. DEC PDP 11/73 minitietokone, jossa pyrö SKED (State Systems), käytettiin ohjelmoimiseen ja tallentamiseen.

Rotat oppivat aluksi vastaamaan jatkuvaan vahvistusohjelmaan ja ne edistyivät nopeasti 30 sekunnin, 1 minuutin ja 2 minuutin vaihelevassa (variable interval; VI) ohjelmassa. Jatkuvassa vahvistusohjelmassa rotat, jotka saivat maitoa palkkioksi jokaisen vivun painalluksen jälkeen; VI-aikataulussa maitopalkkiot olivat saatavilla epäsäännöllisin ja vaihtuvin väliajoin, lopulta keskimäärin kerran joka toinen minuutti. Neljä 3-minuutin "konflikti"-jaksoa annettiin renkaisemattomalle VI-peruslinjalle; ensimmäinen alkoi 3 minuuttia VI-esityksen jälkeen ja muut vaihtelivat 12 minuutin jakois VI-vasteesta. Konfliktijaksojen aikana, jotka signaloitiin valaisemalla ja äänellä, jatkuva vahvistusohjelma oli jälleen voimassa ja kukin vivun painallus antoi sekä maitopalkinnon että lyhyen (0,25 millisekuntia) jalkashokkirangaistuksen. Shokin intensiteetti oli 0,2 mA aluksi, ja sitten kasvoi päivittäin 0,02 mA:n välein, jotta asteittain vähennettiin vivun painamista 5 kertaan tai vähempään konfliktijaksoa kohti. Tämä opetus kesti 4-6 viikkoa, jonka jälkeen stabiilit vasteet havaittiin konfliktijaksojen aikana ja stabiilit suuret vasteet rankaisemattomina jaksoina. Lääkkeen indusoimat kasvut rangaistujen vasteiden määrässä otettiin ahdistuksenvastaisen aktiivisuuden indeksiksi, kun taas rankaisemattomien vasteiden määrän pienenemien otettiin vasteen depression tai sedaation indeksinä.

3α-OH-5α-pregnan-20-onin ja 3α-OH-5β-pregnan-20-onin vaikutukset konfliktikokeessa on esitetty yhteenvetona kuviossa 10. Molemmat yhdisteet tuottivat suurta kasvua rankaisuvasteiden nopeudessa, ehottaen, että molemmat voisivat olla aktiivisia ahdistuksen vastaisina aineina. 3α-OH-5β-pregnan-20-onin huipputeho havaittiin 2 mg/kg:lla ja 3α-OH-5α-pregnan-20-onin huipputeho 4,4 mg/kg:lla ihonalaisesti annosteltuna. (Tilastollista analyysiä varten ja johtuen kokeiden pienestä lukumäärästä kullakin annoksella, kaikki kokeet kullakin yhdisteellä on yhdistetty vertailuun vehikkelikontrollikoetta vastaan, käyttämällä t-testiä vastaaville mittauksille: 3α-OH-5α-pregnan-20-onille $p < 0,02$; 3α-OH-5β-pregnan-20-onille $p < 0,008$).

Taulukko 9 esittää yhteenvetona keksinnön mukaisten ja keksinnössä käytettyjen yhdisteiden anksiolyyttisen aktiivisuuden, jotka on saatu käyttämällä Geller-Seiferin koetta edellä kuvatuissa koeolosuhteissa.

Taulukko 9. Ahdistusta lievittävä aktiivisuus Geller/Seifer-kokeessa rotissa

Yhdisteet	Reitti	Vehikkeli	Annos (mg/kg)	Geller/ Seifter (% kontrolli)
3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	10	958
11α,-N,N-dimetyyliamino-3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-5β-pregnan-20-oni	IP	sitraatti	20	145
Natrium-S-(3α-hydroksi-3β-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-on-21-yyli)tiosulfaatti	PO	vesi	32	4487,5
3α-hydroksi-3β-etoksimetyyli-5α-pregnan-20-oni	IP	50 % hpbcd	40	3743

d) Vogelin koe

Vogelin koe perustuu konfliktin luomiseen hyvin motivoidun käyttäytymisen ja vastenmielisyyden välille. Tätä koetta varten jano on suuri motivaatio. Eläintä pidetään veden puutteessa 12-16 tuntia, jotta luotaisiin motivaatio juoda. Opetusjakson aikana eläimet altistetaan koeympäristölle siten, että ne tottuvat juomaputkeen ja siten minimoidaan uuden ympäristön pelko. Opettamisen jälkeen eläinten annetaan päästä veden luokse 2 tunnin ajan. Tänä aikana eläimet juovat ja syövät tavalliset määrät vettä ja ruokaa, mikä kompensoi puutteen ajan. Tämä aikataulu tuottaa silti vahvan motivaation juoda koejakson aikana.

Sen jälkeen, kun eläintä on pidetty veden puutteessa kahdestatoista kuuteentoista tuntia, eläin asetetaan koehäkkiin, jossa sen annetaan juoda vapaasti viisi minuuttia. Tämä aika käytetään eläimen asettumiseen ympäristoon ja juomaputkeen. Opetusjakson jälkeen eläimillä on pääsy veden ja ruoan luokse niiden kotihäkissä 2 tunnin ajan. Ruokaa on saatavilla koko ajan. Kaksikymmentäneljä tuntia myöhemmin lääke annostellaan eläimeen aivoselkäydinkammionsisäisesti.

Osoitetun viiveen jälkeen, joka alkaa ruiskutusajasta, eläin asetetaan jälleen koehäkkiin kymmeneksi minuutiksi. Tietokone laskee kunkin ajan, jolloin eläin nuolee, ja joka kahdennenkymmenennen nuolaisun jälkeen antaa lievän sähköärsykkeen kielen ja/tai jalan läpi. Sähköärsyke muodostuu 0,6 mA virrasta, jonka kesto on 100 millisekuntia. Tämä menettely tuottaa eläimelle konfliktitilan, jota pienentää kliinisesti käytettyjen anksiolyyttisten aineiden (esim. Valium) annostelu. Annos-vaste-käyrää varten erilliset eläinryhmät ruiskutetaan kasvavilla annoksilla koelääkettä ja testataan ennalta määrätyn aikaa.

Näissä mittauksissa käytettyjen edustavien yhdisteiden tulokset on esitetty yhteenvetona taulukossa 10.

Taulukko 10. Ahdistusta lievittävä aktiivisuus Vogelin kokessa rotissa

Yhdisteet	Reitti	Vehikkeli	Annos (μg/kg)	Vogel (% kontrollista)
3α,20α-dihydroksi-2β-isopropoksi-5α-pregnaani	icv	g-CD	10	169,0
3α,20-dihydroksi-20-metyyli-5α-pregnaani	icv	g-CD	20	179,0
3α,20α-dihydroksi-21-metyyli-5α-pregnaani	icv	g-CD	10	157,9
3α,20α(S)-dihydroksi-5α-pregnaani	icv	g-CD	10	193,0
3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	icv	g-CD	10	431,1
3α,20α-dihydroksi-5α-pregnaani	icv	g-CD	10	283,3
2β-fluori-3α,20α-dihydroksi-5α-pregnaani	icv	g-CD	20	264,9
3α,20α-dihydroksi-21-etyyli-5α-pregnaani	icv	g-CD	20	225,8
3α,20α-dihydroksi-5α-pregnaani	icv	g-CD	20	267,3

Esilääkkeet

Perusyhdisteiden 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin ja 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin ja niiden johdannaisten esilääkkeiden kouristuksen vastaiset ja ahdistuneisuuden vastaiset aktiivisuudet määritettiin käyttämällä samoja menettelyjä kuin on kuvattu edellä. Useiden 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin esilääkkeiden suojausprosentti metratsoli-indusoituja halvauskohtauksia vastaan mitattiin ajan funktiona yhdisteiden annostelemisen jälkeen (kuvio 11 ja taulukko 11).

Perusyhdisteiden 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin ja 3α,21-dihydroksi-5α-pregnan-20-onin muuntelu 3α- ja 21-hydroksyyleissä erilaisilla estereillä säilyttää niiden biologisen aktiivisuuden ja joissakin tapauksissa sellainen muutos kasvattaa yhdisteen antamaa suojausaikaa. Siten keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan muunnella, jotta tarjotaan kouris-

tuksen vastaisia ja anksiolyyttisiä aktiivisuuksia tietyssä ajassa vaihtelevine suojausaikoineen.

Taulukko 11. 3α-hydroksi-5α-pregnan-20-onin (3α-(RCOO)-5α-pregnan-20-oni) esilääke-esterin antimetratsoliaktiivisuus

R	% suoja 60 mg/kg 1 h, IP
metyyli	25
etyyli	75
propyyli	75
butyyli	33
2-propyyli	75
4-heptyyli	16 (4 tuntia)
syklobutyyli	17
fenyyli	33
4-kloorifenyyli	50
4-metoksifenyyli	17
3-pyridyyli	50 (20 tuntia)
3-(1-metyyli-1,4-dihydropyridinyyli)	63 (20 tuntia)

Päin vastoin kuin bentsodiatsepiinit, neuroaktiiviset steroidit voivat myös saada aikaan anestesian. Niiden kyvyn saada aikaan anestesia ajatellaan johtuvan niiden kyvystä avata kloridi-ionikanava GABA:n poissaollessa, mikä on ominaisuus, jota ei ole bentsodiatsepiineilla. Siten neurosteroidit voivat toimia suoraan reseptorissa GABA:n poissaollessa ja myös "epäsuorasti" GABA:n läsnäollessa. Tätä "epäsuoraa" toimintaa kutsutaan reseptorin "moduloimiseksi". (Lambert et al., "Actions of synthetic and endogenous steroids on the $GABA_A$ receptor", *Trends Pharmacology Science* 8: 224-227 (1987)).

Keksinnön mukaisia ja keksinnössä käytettäviä yhdisteitä voidaan myös käyttää anesteettisiin indikaatioihin suurina annoksina. Anestesian indusoimiseksi edullinen annostelureitti on kuitenkin laskimonsisäinen eli intravenöösi (iv) annostelu. Eläimissä lääkkeen anesteettiset ominaisuudet mitataan lääkkeen kykynä tuottaa kääntymisrefleksin häviäminen. Kääntymisrefleksin häviäminen määritetään eläimen kyvyttömyytenä kääntää itsensä oikeinpäin 30 sekunnissa sen jälkeen, kun ne on asetettu selälleen. Hiiriin annosteltiin lääkettä iv. lateraaliseen häntälaskimoon. Annostelun jäleen hiiret asetetttiin selälleen ja tarkkailtiin kääntymisrefleksin häviämistä. Valaisevat tulokset on esitetty taulukossa 12.

Taulukko 12. Neuroaktiivisten steroidien anesteettinen aktiivisuus hiirissä

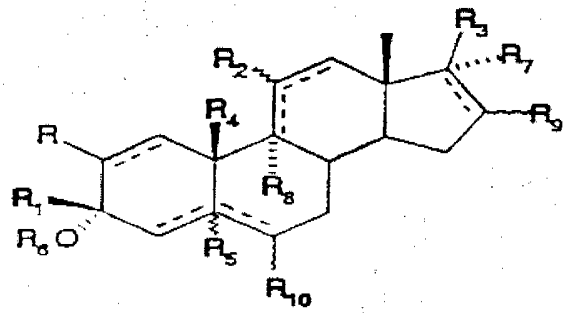
Yhdiste	Reitti	Vehikkeli	Annos (mg/kg)	Kääntymisrefleksin häviö
3α,21-dihydroksi-3β-etynyyli-5β-pregnan-20-oni	iv	20 % kremofori	10	100
3β-(kloorietynyyli)-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	iv	ruiskute-liuos	20	100
3β-etynyyli-3α-hydroksi-5β-pregnan-20-oni	iv	10 % hpbcd	30	100
3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregn-16-en-20-oni	iv	ruiskute-liuos	50	100
3α-hydroksi-5α-pregn-9-en-20-oni	iv	ruiskute-liuos	10	100
3α-hydroksi-17(Z)-metoksimetyleeni-19-nor-5α-androstaani	iv	ruiskute-liuos	5	75
3α-hydroksi-3β-metyyli-5β-pregnan-20-oni	iv	ruiskute-liuos	2,5	100
2β-etoksi-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	iv	20 % kremofori	5	100
2β-fluori-3α-hydroksi-5α-pregnan-20-oni	iv	ruiskute-liuos	5	100
3α-hydroksi-3β-metyyli-21-metoksimetyyli-5α-pregnan-20-oni	iv	ruiskute-liuos	20	100

On odotettavissa, että keksinnön mukaisten ja keksinnössä käytettyjen yhdisteiden esilääkkeillä, joilla on samanlaiset modifikaatiot kun edellä on kuvattu, on samanlainen aktiivisuus kuin 3α-hydroksi-5-pelkistettyjen-pregnaanien esilääkkeillä.

Vaikka edulliset toteutusmuodot on kuvattu ja valaistu, niihin voidaan tehdä monia erilaisia korvauksia ja muunnoksia ilman, että poistutaan keksinnön piiristä. Vastaavasti on ymmärrettävä, että esillä olevaa keksintöä on kuvattu valaisevalla tavalla mutta ei rajoittavalla tavalla.

Patenttivaatimukset:

1. Yhdiste, jolla on kaava:



jossa:

R on vety, halogeeni. alempi alkoksi, dialkyyliamino, alkyyli, mahdollisesti substituoitu 1-alkynyyli tai substituoitu alkyyli;

R_1 on vety, mahdollisesti substituoitu alkyyli, mahdollisesti substituoitu alkenyyli, mahdollisesti substituoitu aryyli, mahdollisesti substituoitu aralkyyli, mahdollisesti substituoitu alkynyyli, mahdollisesti substituoitu aralkynyyli, alkoksialkyyli, aminoalkyyli, syaani, syaanialkyyli, tiosyaanialkyyli, atsidoalkyyli, substituoitu aralkynyyli, aryylialkyyli, aryylialkenyyli, mahdollisesti substituoitu aralkyylialkynyyli, alkanoyylioksialkynyyli, mahdollisesti substituoitu heteroaryylioksialkynyyli, oksoalkynyyli tai sen ketaali, syaanialkynyyli, mahdollisesti substituoitu hereroaryylialkynyyli, hydroksialkynyyli, alkoksialkynyyli, aminoalkynyyli, asyyliaminoalkynyyli, merkaptoalkynyyli, hydroksialkynyylidihapon hemiesteri tai sen suola, tai alkynyylioksialkynyyli;

R_2 on vety, hydroksi, alkoksi, alkanoyylioksi, karbalkoksyyli, ketoryhmä tai aminoryhmä;

R_3 on mahdollisesti substituoitu heteroaryyliasetyyliryhmä;

R_4 on vety tai metyyli,

R_5 on vety;

R_6 on vety, alkanoyyli, aminokarbonyyli tai alkoksikarbonyyli;

R_7 on vety, halogeeni, hydroksi, alkoksi. alkanoyylioksi, karbalkoksyyli;

R_8 on vety tai halogeeni;

R_9 on vety, halogeeni, alkyyli, alkoksi, aryylialkoksi tai amino; ja

R_{10} on vety, halogeeni, alkyyli, halogeenialkyyli, hydroksi, alkoksi, alkanoyylioksi, karbalkoksyyli, syaani, tiosyaani tai merkapto;

tai sen fysiologisesti hyväksyttävä 3-esteri,

jossa seuraavat lausekkeet, kuten tässä käytetty, kuvataan seuraavalla tavalla:-

termi "alkyyli" tarkoittaa tyydyttyneitä alifaattisia ryhmiä mukaan lukien suoraketjuiset, haaraketjuiset ja sykliset ryhmät, jotka kaikki voivat olla mahdollisesti substituoituja,
termi "alkenyyli" tarkoittaa tyydyttymättömiä ryhmiä, jotka sisältävät vähintään yhden hiili-hiili kaksoissidoksen, mukaan lukien suoraketjuiset, haaraketjuiset ja sykliset ryhmät, joista kaikki voivat olla mahdollisesti substituoituja,
termi "alkynyyli" tarkoittaa tyydyttymättömiä hiilivetyryhmiä, jotka sisältävät vähintään yhden hiili-hiili kolmoissidoksen ja joihin kuuluvat suoraketjuiset ja haaraketjuiset ryhmät, jotka voivat mahdollisesti olla substituoituja,
termi "alkoksi" tarkoittaa eetteriä –OR, jossa R on alkyyli,
termi "aryylioksi" tarkoittaa eetteriä –OR, jossa R on aryyli,
termi "aryyli" tarkoittaa aromaattisia ryhmiä, joilla on ainakin yksi rengas, jossa on konjugoitunut π-elektronisysteemi, ja joihin kuuluvat karbosykliset aryyli ja biaryyli, joista molemmat voivat mahdollisesti olla substituoituja,
termi "karbosyklinen aryyli" tarkoittaa ryhmää, jossa aromaattisen renkaan rengasatomit ovat hiiliatomeja,
termi "aralkyyli" tarkoittaa alkyyliryhmää, joka on substituoitu aryyliryhmällä ja joka voi mahdollisesti olla substituoitu,

termi "alkanoyylioksi" tarkoittaa ryhmää –O-C(O)R, jossa R on alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli,
termi "karbalkoksyyli" tarkoittaa ryhmää –C(O)OR, jossa R on alkyyli, alkenyyli, alkynyyli, aryyli tai aralkyyli,
termi "karboksiamidi" tarkoittaa ryhmää $-C(O)NRR_1$, jossa R ja R_1 ovat toisistaan riippumattomasti vety-, alkyyli-, alkenyyli-, alkynyyli-, aryyli tai aralkyyliryhmiä,
termi "dialkyyliamino" tarkoittaa ryhmää –NRR'', jossa R ja R'' ovat toisistaan riippumattomasti alempi alkyyliryhmä tai ne muodostavat yhdessä morfolinoryhmän osan,
termi "amino" tarkoittaa ryhmää NRR', jossa R ja R' ovat toisistaan riippumattomasti vety, alempi alkyyli tai ne ovat liittyneet toisiinsa, jollin muodostuu 5- tai 6-jäseninen rengas,
termi "mahdollisesti substituoitu" tai "substituoitu" tarkoittaa ryhmää, joka on substituoitu yhdestä kolmeen, neljään tai viiteen substituentilla, jotka ovat toisistaan riippumattomasti asyklinen tai syklinen alempi alkyyli, aryyli, johon kuuluu karboaryyli tai heteroaryyli, alkenyyli alkynyyli, alkoksi, halogeeni, halogeenialkyyli, amino, merkapto, alkyylitio, alkyylisulfinyyli, alkyylisulfonyyli, nitro, alkanoyyli, alkanoyylioksi, alkanoyyli-oksialkanoyyli, alkoksikarboksi, karbalkoksi -COOR, jossa R on alempi alkyyli, karboksiamido -CONRR', jossa R ja R' ovat toisistaan riippumattomasti alkyyli, formyyli, karboksyyli, hydroksi, syaani, atsido, keto ja niiden sykliset ketaalit, alkanoyyliamido, heteroaryylioksi, heterokarbosyklioksi ja hemisukkinaattiesterisuolat,
termiä "alempi" käytetään tässä yhteydessä orgaanisten radikaalien tai yhdisteiden yhteydessä määrittämään ryhmiä, joissa on jopa kymmenen, jossa kymmenen kuuluu joukkoon, hiiliatomia, jotka voivat olla suorassa ketjussa, haarautuneena tai syklisenä,
termi "heteroaryyli" tarkoittaa hiiltä sisältäviä 5 – 14 jäsenisiä syklisiä tyydyttymättömiä radikaaleja, jotka sisältävät yksi, kaksi, kolme tai neljä O-, N- tai S-atomia ja joilla on 6, 10 tai 14 π-elektronia delokalisoituneena yhteen tai useampaan renkaaseen.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu imidatsolyyliasetyyliryhmä.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yy1i)-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(4-metyyli-5-karboksyyli)imidatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-onin etyyliesteri, 3α-hydroksi-21- (1'-

imidatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni, 3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-5 β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-imidatsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(2-metyyli)imidatsol-1-yyli]-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-21-(1-imidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-[1H-(2'-formyyli)imidatsol-1-yyli)]-5β-pregnan-20-oni tai 3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-21-(1-imidatsolyyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu pyratsolyyliasetyyliryhmä.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)- 5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1H-3,5-dimetyylipyratsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'-pyratsolyyli)-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-pregnan-20-oni tai 3α-hydroksi-21-(pyratsol-1-yyli)-3β-trifluorimetyyli-5β-19-nor-pregnan-20-oni.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu triatsolyyliasetyyliryhmä.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(2H-1,2,3-triatsol-2-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-metyyli-21-(2'H-1,2',3'-triatsol-2'-yyli)-5α-pregnan-20-oni, 3β-etynyyli-3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-methyl-21-(1',2',3'-triatsol-1'-yyli)-5α-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1',2',4'-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,4-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-21-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-nor-pregnan-20-oni tai 3α-hydroksi-3β-trifluorimetyyli-21-(1H-1,2,3-triatsol-1-yyli)-5β-19-pregnan-20-oni.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu tetratsolyyliasetyyliryhmä.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(2'H-1,2,3,4-tetratsol-2'-yyli)-5β-pregnan-20-oni, 3α-hydroksi-21-(1'H-1,2,3,4-tetratsol-1'-yyli)-5β-pregnan-20-oni tai 3α-hydroksi-3β-(4-hydroksibutyn-1-yyli)-21-(tetratsol-1-yyli)-5β-pregnan-20-oni.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu bentsimidatsolyyliasetyyliryhmä.

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(1'-bentsimidatsolyyli)-5β-pregnan-20-oni, 21-(1'-bentsimidatsolyyli)-3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni tai 21-(1'-bentsimidatsolyyli)-3α-hydroksi-3β-metyyli-5α-pregnan-20-oni.

12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu purinyyliasetyyliryhmä.

13. Patenttivaatimuksen 12 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(9'H-purin-9'-yyli)-5β-pregnan-20-oni tai 3α-hydroksi-21-(7'H-purin-7'-yyli)-5β-pregnan-20-oni.

14. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R on morfolinoryhmä ja R_3 on mahdollisesti substituoitu triatsolyyliasetyyliryhmä.

15. Patenttivaatimuksen 14 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-2β-morfolinyyli-21-(1,2,4-triatsolyyli)-5α-pregnan-20-oni.

16. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_3 on mahdollisesti substituoitu urasiiliasetyyliryhmä.

17. Patenttivaatimuksen 16 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että se on 3α-hydroksi-21-(1'-urasiili)-5α-pregnan-20-oni.

18. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R on mahdollisesti substituoitu 1-alkynyyliryhmä.

19. Farmaseuttinen koostumus, **tunnettu** siitä, että se käsittää jonkin patenttivaatimuksen 1 – 18 mukaista yhdistettä ja farmaseuttisesti hyväksyttävää kantajaa.

20. Jonkin patenttivaatimuksen 1 – 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään $GABA_A$-reseptorikloridi-ionoforikompleksin moduloimiseen eläinkohteessa sitoutumalla mainitun kompleksin neurosteroidikohtaan.

21. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään stressin tai ahdistuneisuuden hoitamiseen tai estämiseen eläinkohteessa.

22. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään halvauskohtausaktiivisuuden lievittämiseen tai estämiseen eläinkohteessa.

23. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään unettomuuden lievittämiseen tai estämiseen eläinkohteessa.

24. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään PMS:n tai PND:n lievittämiseen tai estämiseen eläinkohteessa.

25. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään mielialahäiriöiden hoitamiseen tai estämiseen eläinkohteessa.

26. Patenttivaatimuksen 25 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että mainittu mielialahäiriö on masennus.

27. Jonkin patenttivaatimuksen 1 – 18 mukaisen yhdisteen käyttö sellaisen aineen valmistamiseksi, jota käytetään anestesian aikaansaamiseen eläinkohteessa.

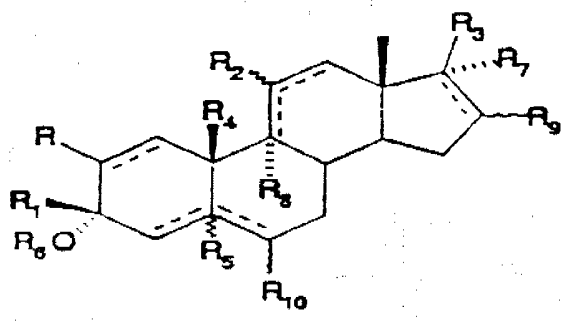
28. Patenttivaatimuksen 27 mukainen yhdiste, **tunnettu** siitä, että R_1 on alkoksialkyyli.

29. Jonkin patenttivaatimuksen 20 – 27 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että yhdiste on hapon farmaseuttisesti hyväksyttävä esteri tai diesteri, joka happo valitaan etikkahaposta, propionihaposta, maleiinihaposta, fumaarihaposta, askorbiinihaposta, pimeliinihaposta, meripihkahaposta, glutaarihaposta, bismetyleenisalisyylihaposta, metaanisulfonihaposta, etaanidisulfonihaposta, oksaalihaposta, viinihaposta, salisyylihaposta, sitruunahaposta, glukonihaposta, itakonihaposta, glykolihaposta, *p*-aminobentsoehaposta, asparagiinihaposta, glutamiinihaposta, γ-aminovoihaposta, α-(2-hydroksietyyliamino)propionihaposta, glysiinistä ja muista α-aminohapoista, fosforihaposta, rikkihaposta, glukuronihaposta ja 1-metyyli-1,4-dihydronikotiinihaposta.

30. Jonkin patenttivaatimuksen 20 – 28 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että yhdiste on läsnä määrässä noin 1 mg – noin 100 mg annosyksikköä kohti, kun aine annetaan suonensisäisesti, ja noin 100 mg – noin 500 mg annosyksikköä kohti, kun ainetta ei anneta suonensisäisesti.

Patentkrav:

1. Förening med formeln:



i vilken:

R är väte, halogen. lägre alkoxi, dialkylamino, alkyl, alternativt substituerad 1-alkynyl eller substituerad alkyl;

R_1 är väte, alternativt subtituerad alkyl, alternativt substituerad alkenyl, alternativt substituerad aryl, alternativt substituerad aralkyl, alternativt substituerad alkynyl, alternativt substituerad aralkynyl, alkoxialkyl, aminoalkyl, cyan, cyanalkyl, tiocyanalkyl, azidoalkyl, subtituerad aralkynyl, arylalkyl, arylalkenyl, alternativt substituerad aralkylalkynyl, alkanoyloxialkynyl, alternativt substituerad heteroaryloxialkynyl, oxoalkynyl eller dess ketal, cyanalkynyl, alternativt substituerad heteroarylalkynyl, hydroxialkynyl, alkoxialkynyl, aminoalkynyl, acylaminoalkynyl, merkaptoalkynyl, hydroxialkynyldisyrans hemiester eller dess salt, eller alkynyloxialkynyl;

R_2 är väte, hydroxi, alkoxi, alkanoyloxi, karbalkoxyl, en ketogrupp eller aminogrupp;

R_3 är en alternativt substituerad heteroarylacetylgrupp;

R_4 är väte eller metyl,

R_5 är väte;

R_6 är väte, alkanoyl, aminokarbonyl eller alkoxikarbonyl;

R_7 är väte, halogen, hydroxi, alkoxi. alkanoyloxi, karbalkoxyl;

R_8 är väte eller halogen;

R_9 är väte, halogen, alkyl, alkoxi, arylalkoxi eller amino; och

R_{10} är väte, halogen, alkyl, halogenalkyl, hydroxi, alkoxi, alkanoyloxi, karbalkoxyl, cyan, tiocyan eller merkapto;

eller dess fysiologiskt godtagbara 3-ester,

i vilken följande fraser, som här använda, beskrivs på följande vis:-

termen "alkyl" avser mättade alifatiska grupper, inklusive raka, förgrenade och cykliska grupper, vilka alla kan vara alternativt substituerade,
termen "alkenyl" avser omättade grupper, som innehåller minst en kol-kol dubbelbindning, inklusive raka, förgrenade och cykliska grupper, av vilka alla kan vara alternativt substituerade,
termen "alkynyl" avser omättade kolvätegrupper, som innehåller minst en kol-kol trippelbindning och till vilka hör raka och förgrenade grupper, vilka alternativt kan vara substituerade,
termen "alkoxi" avser en eter –OR, i vilken R är alkyl,
termen "aryloxi" avser en eter –OR, i vilken R är aryl,
termen "aryl" avser aromatiska grupper, som har minst en ring med ett konjugerat π-elektronsystem, och till vilka hör karbocyklisk aryl och biaryl, vilka båda alternativt kan vara substituerade,
termen "karbocyklisk aryl" avser en grupp, i vilken aromatiska ringens ringatomer är kolatomer,
termen "aralkyl" avser en alkylgrupp, som är substituerad med en arylgrupp och som alternativt kan vara substituerad,
termen "alkanoyloxi" avser en grupp –O-C(O)R, i vilken R är alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl eller aralkyl,

termen "karbalkoxyl" avser en grupp –C(O)OR, i vilken R är alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl eller aralkyl,

termen "karboxiamid" avser en grupp –C(O)NRR$_1$, i vilken R och R$_1$, oberoende av varandra, är väte-, alkyl-, alkenyl-, alkynyl-, aryl- eller aralkylgrupper,

termen "dialkylamino" avser en grupp –NRR'', i vilken R och R'', oberoende av varandra, är lägre alkylgrupper eller de bildar tillsammans en del av en morfolinogrupp,

termen "amino" avser en grupp NRR', i vilken R och R', oberoende av varandra, är väte, lägre alkyl eller de är bundna till varandra, då det bildas en ring med 5 eller 6 komponenter,

termen "alternativt substituerad" eller " substituerad" avser en grupp, som är substituerad med från en till tre, fyra eller fem substituenter, vilka, oberoende av varandra, är acyklisk eller cyklisk lägre alkyl, aryl, till vilken karboaryl eller heteroaryl räknas, alkenyl alkynyl, alkoxi, halogen, halogenalkyl, amino, merkapto, alkyltio, alkylsulfinyl, alkylsulfonyl, nitro, alkanoyl, alkanoyloxi, alkanoyloxialkanoyl, alkoxikarboxi, karbalkoxi -COOR, i vilken R är lägre alkyl, karboxiamido -CONRR', i vilken R och R', oberoende av varandra, är alkyl, formyl, karboxyl, hydroxi, cyan, azido, keto och deras cykliska ketaler, alkanoylamido, heteroaryloxi, heterokarbocykloxi och hemisuccinatestersalter,

termen "lägre" används i detta samband, i samband med organiska radikaler eller föreningar, för att definiera grupper, vilka har upp till tio, där tio hör till mängden, kolatomer, som kan vara i en rak kedja, förgrenad eller cyklisk,

termen "heteroaryl" avser cykliska omättade radikaler med 5 – 14 komponenter, vilka innehåller kol, vilka innehåller en, två, tre eller fyra O-, N- eller S-atomer och vilka har 6, 10 eller 14 π-elektroner delokaliserade i en eller flera ringar.

2. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R$_3$ är en alternativt substituerad imidazolylacetylgrupp.

3. Förening i enlighet med patentkrav 2, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21-(1'-imidazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1-imidazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1-imidazolyl)-5β-19-nor-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-[1H-(4-metyl-5-karboxyl)imidazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on etylester, 3α-hydroxi-21-(1'-imidazolyl)-5α-pregnan-20-on, 3β-etynyl-3α-hydroxi-21-(1'-imidazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(1'-imidazolyl)-3β-metyl-5α-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-[1H-(2-metyl)imidazol-1-yl]-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-

trifluorometyl-21-(1-imidazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-[1H-(2'-formyl)imidazol-1-yl)]-5β-pregnan-20-on eller 3α-hydroxi-3β-trifluorometyl-21-(1-imidazolyl)-5β-19-nor-pregnan-20-on.

4. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad pyrazolylacetylgrupp.

5. Förening i enlighet med patentkrav 4, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21-(pyrazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(pyrazol-1-yl)-5α-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(1H-3,5-dimetylpyrazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(1'-pyrazolyl)-3β-metyl-5α-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(pyrazol-1-yl)-3β-trifluorometyl-5β-pregnan-20-on eller 3α-hydroxi-21-(pyrazol-1-yl)-3β-trifluorometyl-5β-19-nor-pregnan-20-on.

6. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad triazolylacetylgrupp.

7. Förening i enlighet med patentkrav 6, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-3β-metyl-21-(1',2',4'-triazolyl)-5α-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1,2,3-triazol-2-yl)-5β-19-nor-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-metyl-21-(2'H-1,2',3'-triazol-2'-yl)-5α-pregnan-20-on, 3β-etynyl-3α-hydroxi-21-(1',2',4'-triazolyl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-metyl-21-(1',2',3'-triazol-1'-yl)-5α-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(1',2',4'-triazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1,2,4-triazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1,2,3-triazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)-5β-19-nor-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-3β-trifluorometyl-21-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)-5β-19-nor-pregnan-20-on eller 3α-hydroxi-3β-trifluorometyl-21-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)-5β-19-pregnan-20-on.

8. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad tetrazolylacetylgrupp.

9. Förening i enlighet med patentkrav 8, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21–(2'H-1,2,3,4-tetrazol-2'-yl)-5β-pregnan-20-on, 3α-hydroxi-21-(1'H-1,2,3,4-tetrazol-1'-yl)-

5β-pregnan-20-on eller 3α-hydroxi-3β-(4-hydroxibutyn-1-yl)-21-(tetrazol-1-yl)-5β-pregnan-20-on.

10. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad benzimidazolylacetylgrupp.

11. Förening i enlighet med patentkrav 10, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21-(1'-benzimidazolyl)-5β-pregnan-20-on, 21-(1'-benzimidazolyl)-3α-hydroxi-3β-metyl-5α-pregnan-20-on eller 21-(1'-benzimidazolyl)-3α-hydroxi-3β-metyl-5α-pregnan-20-on.

12. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad purinylacetylgrupp.

13. Förening i enlighet med patentkrav 12, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21-(9'H-purin-9'-yl)-5β-pregnan-20-on eller 3α-hydroxi-21-(7'H-purin-7'-yl)-5β-pregnan-20-on.

14. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R är en morfolinogrupp och R_3 är en alternativt substituerad triazolylacetylgrupp.

15. Förening i enlighet med patentkrav 14, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-2β-morfolinyl-21-(1,2,4-triazolyl)-5α-pregnan-20-on.

16. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R_3 är en alternativt substituerad urasilacetylgrupp.

17. Förening i enlighet med patentkrav 16, **kännetecknad** av att den är 3α-hydroxi-21-(1'-urasil)-5α-pregnan-20-on.

18. Förening i enlighet med patentkrav 1, **kännetecknad** av att R är en alternativt substituerad 1-alkynylgrupp.

19. Farmaceutisk sammansättning, **kännetecknad** av att den omfattar en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 och en farmaceutiskt godtagbar bärare.

20. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för modulering av $GABA_A$-receptorklorid-jonoforkomplexet i djurobjekt genom att bindas till neurosteroidstället i nämnda komplex.

21. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att vårda eller hindra stress eller ångest i djurobjekt.

22. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att lindra eller hindra slaganfallsaktiviteten i djurobjekt.

23. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att lindra eller hindra sömnlöshet i djurobjekt.

24. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att lindra eller hindra PMS eller PND i djurobjekt.

25. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att värda eller hindra sinnesstämningsrubbningar i djurobjekt.

26. Användning i enlighet med patentkrav 25, kännetecknat av att nämnda sinnesstämningsrubbning är depression.

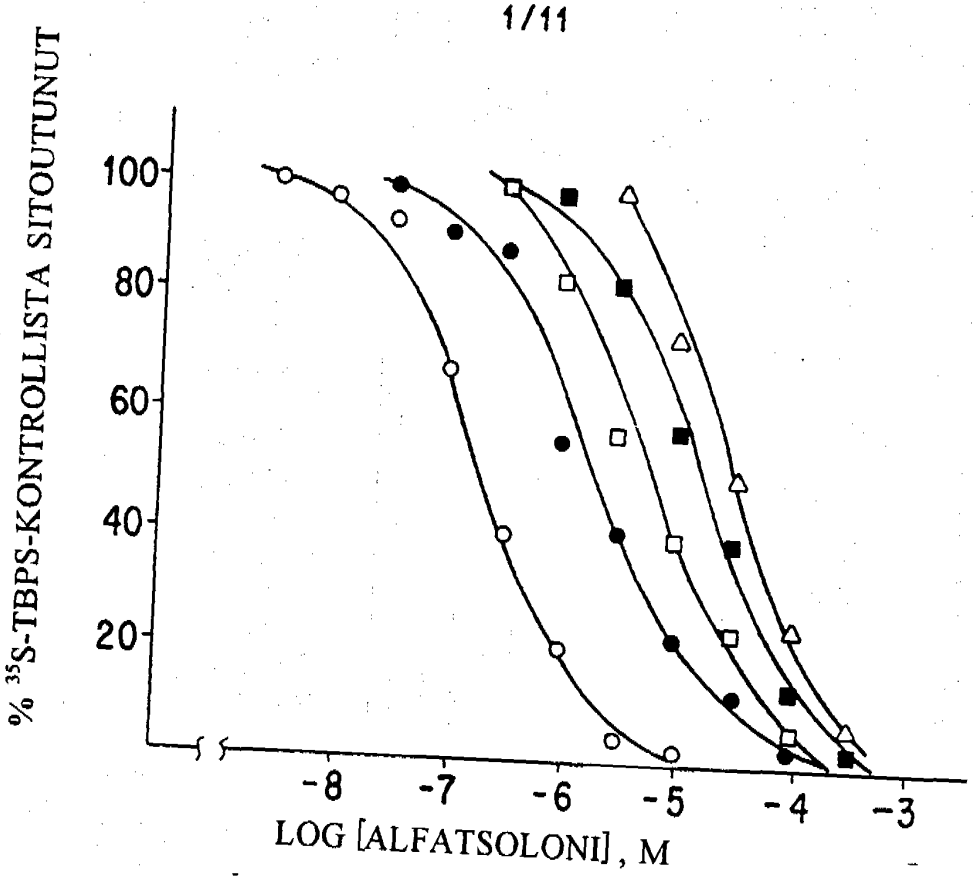
27. Användning av en förening i enlighet med något av patentkraven 1 – 18 för framställning av ett ämne som används för att åstadkomma anestesi i djurobjekt.

28. Förening i enlighet med patentkrav 27, kännetecknad av att R_1 är alkoxialkyl.

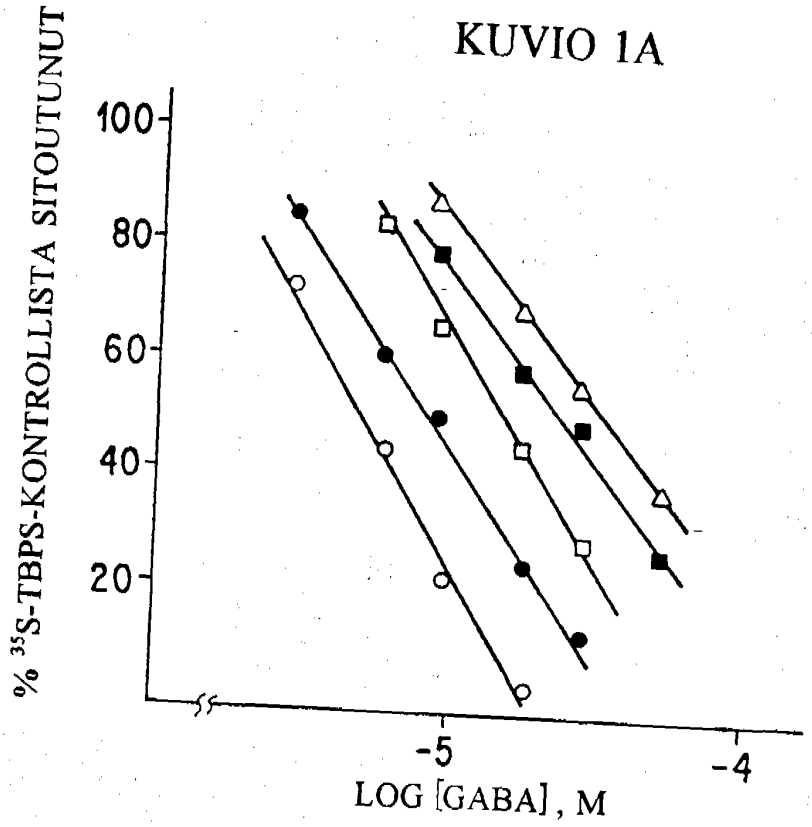
29. Användning i enlighet med något av patentkraven 20 – 27, kännetecknat av att föreningen är en farmaceutiskt godtagbar ester eller diester av en syra, som väljs från

ättiksyra, propionsyra, maleinsyra, fumarsyra, askorbinsyra, pimelinsyra, bärnstenssyra, glutarsyra, bismetylensalicylsyra, metansulfonsyra, etandisulfonsyra, oxalsyra, vinyra, salicylsyra, citronsyra, glukonsyra, itakonsyra, glykolsyra, *p*-aminobenzoesyra, asparaginsyra, glutaminsyra, γ-aminosmörsyra, α-(2-hydroxietylamino)propionsyra, glycin och övriga α-aminosyror, fosforsyra, svavelsyra, glukuronsyra och 1-metyl-1,4-dihydronikotinsyra.

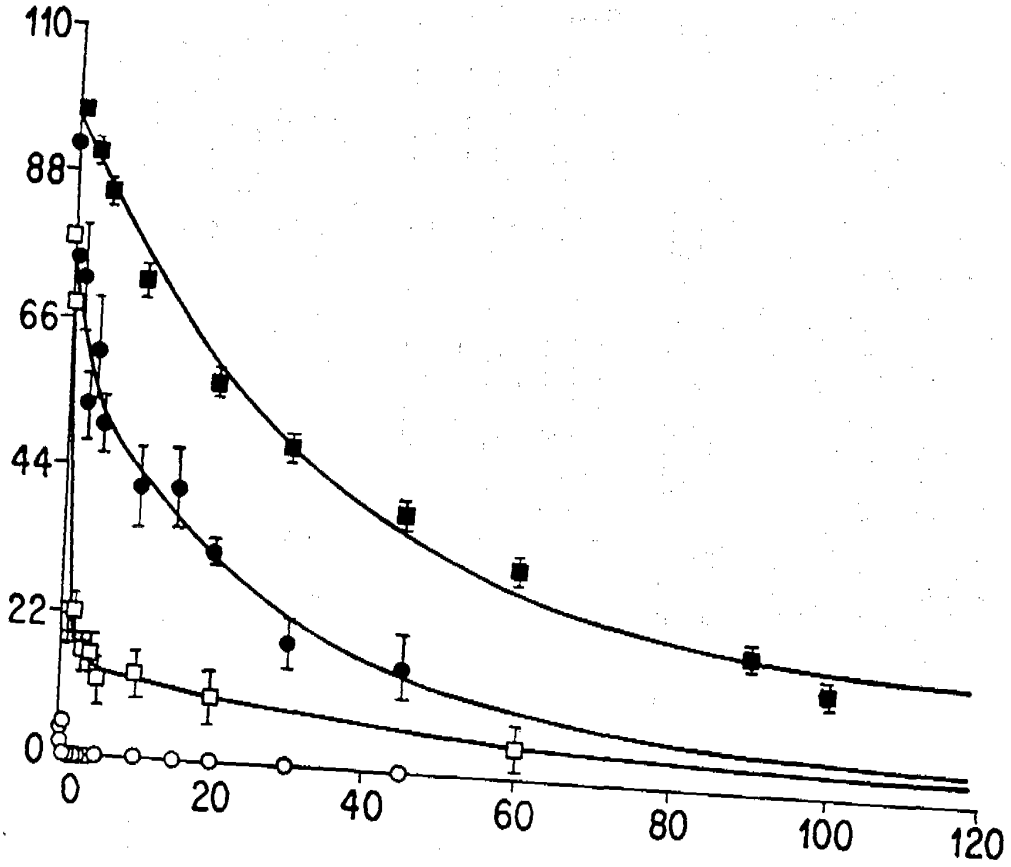
30. Användning i enlighet med något av patentkraven 20 – 28, kännetecknat av att föreningen är närvarande i en mängd av ca 1 mg – ca100 mg per doseringsenhet, då ämnet ges intravenöst, och ca 100 mg – ca 500 mg per doseringsenhet, då ämnet inte ges intravenöst.



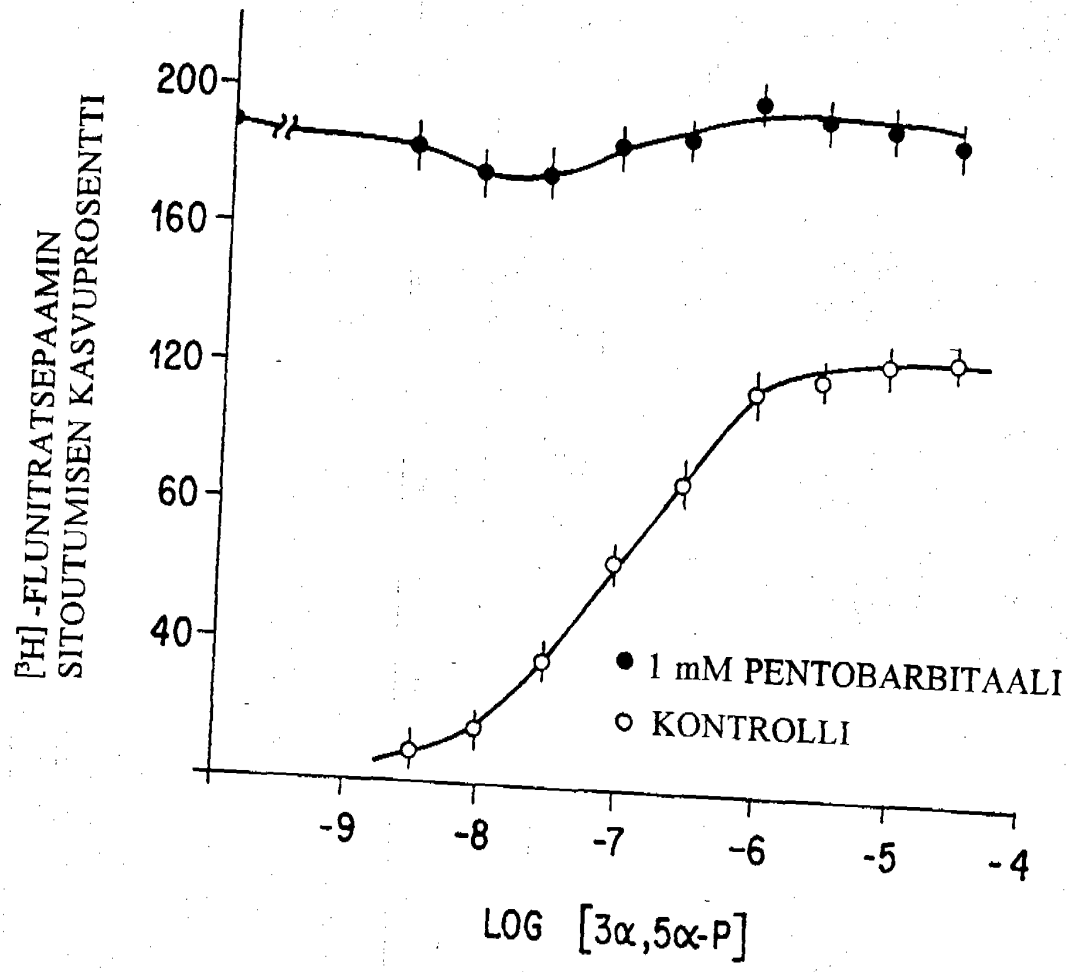
KUVIO 1A



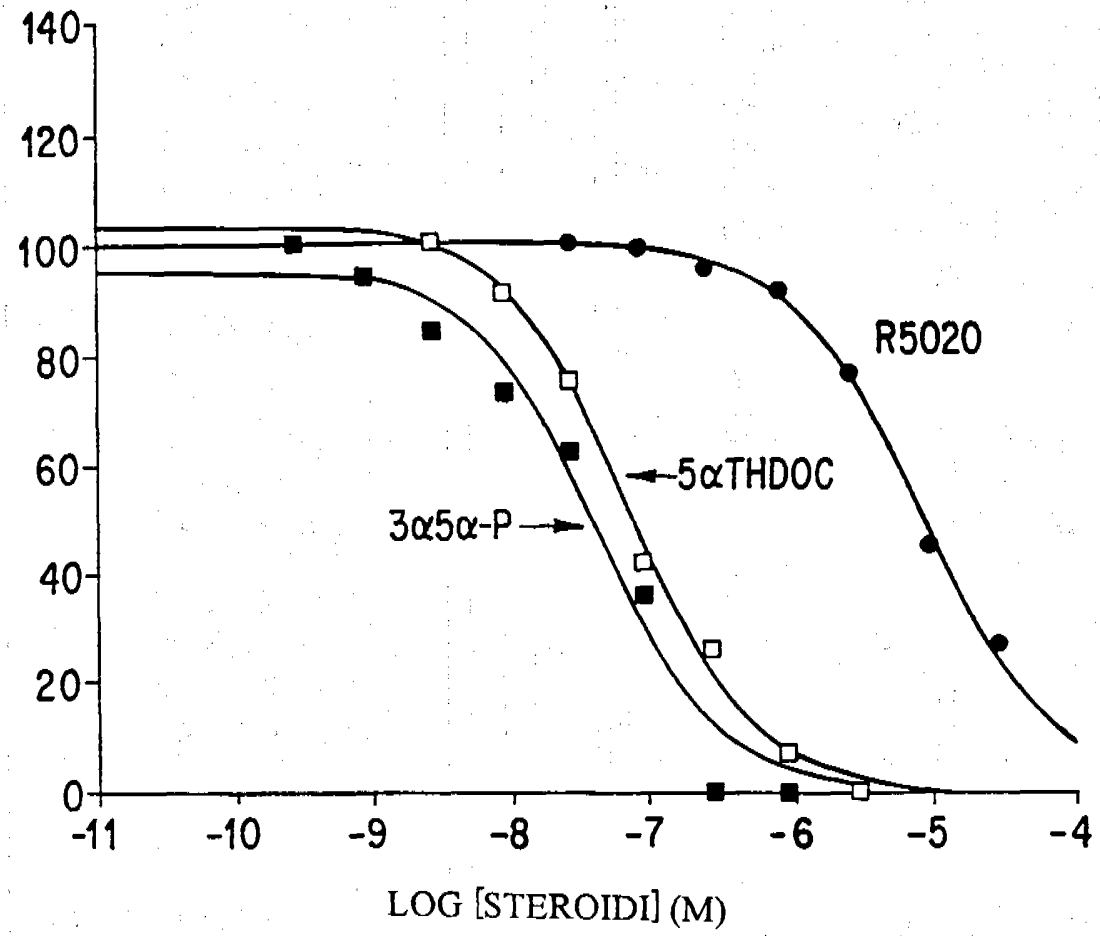
KUVIO 1B



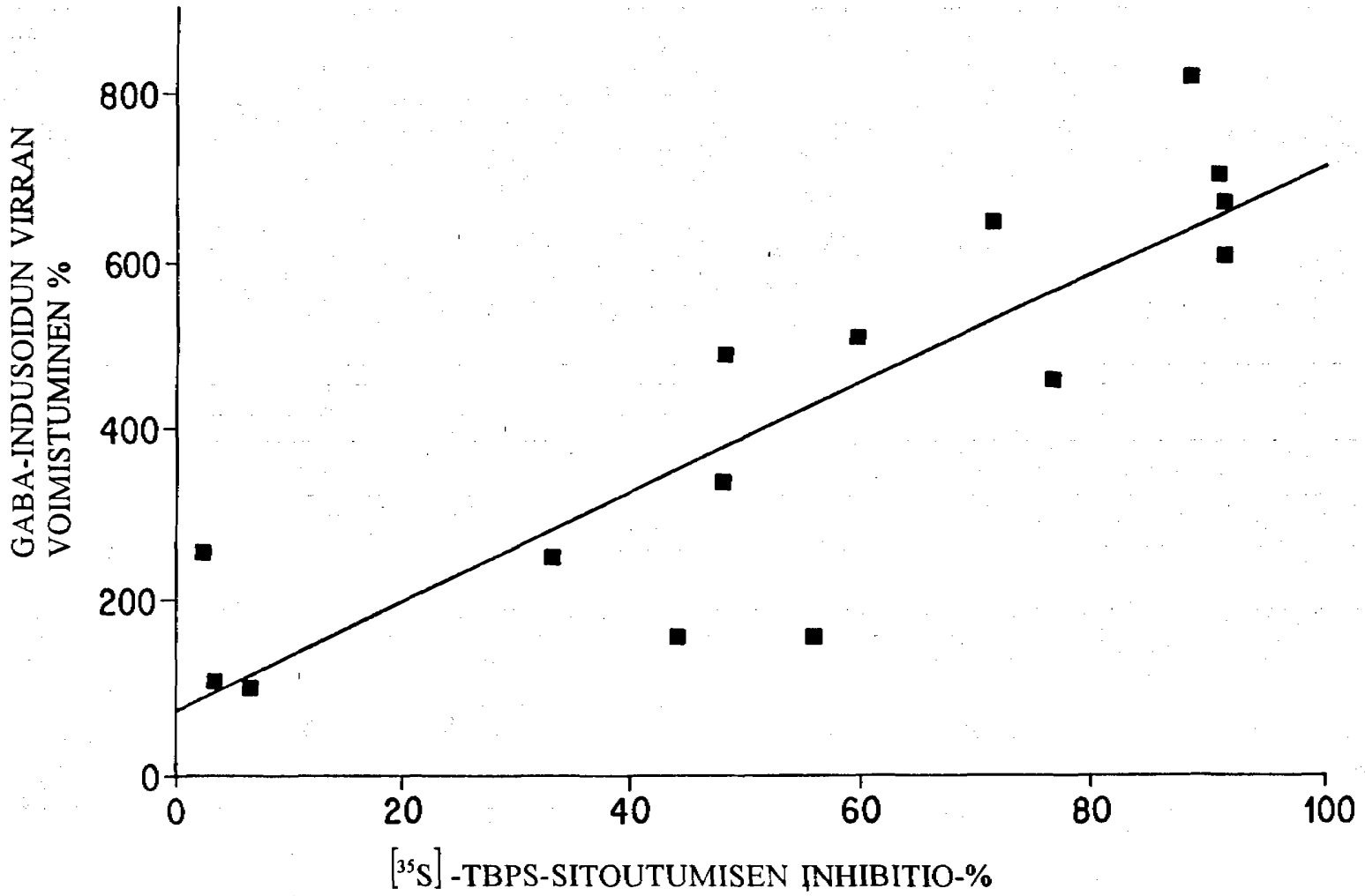
KUVIO 2


[³H]-FLUNITRATSEPAAMIN
SITOUTUMISEN KASVUPROSENTTI
200
160
120
60
40
1 mM PENTOBARBITAALI
KONTROLLI
-9
-8
-7
-6
-5
-4
LOG [3α,5α-P]

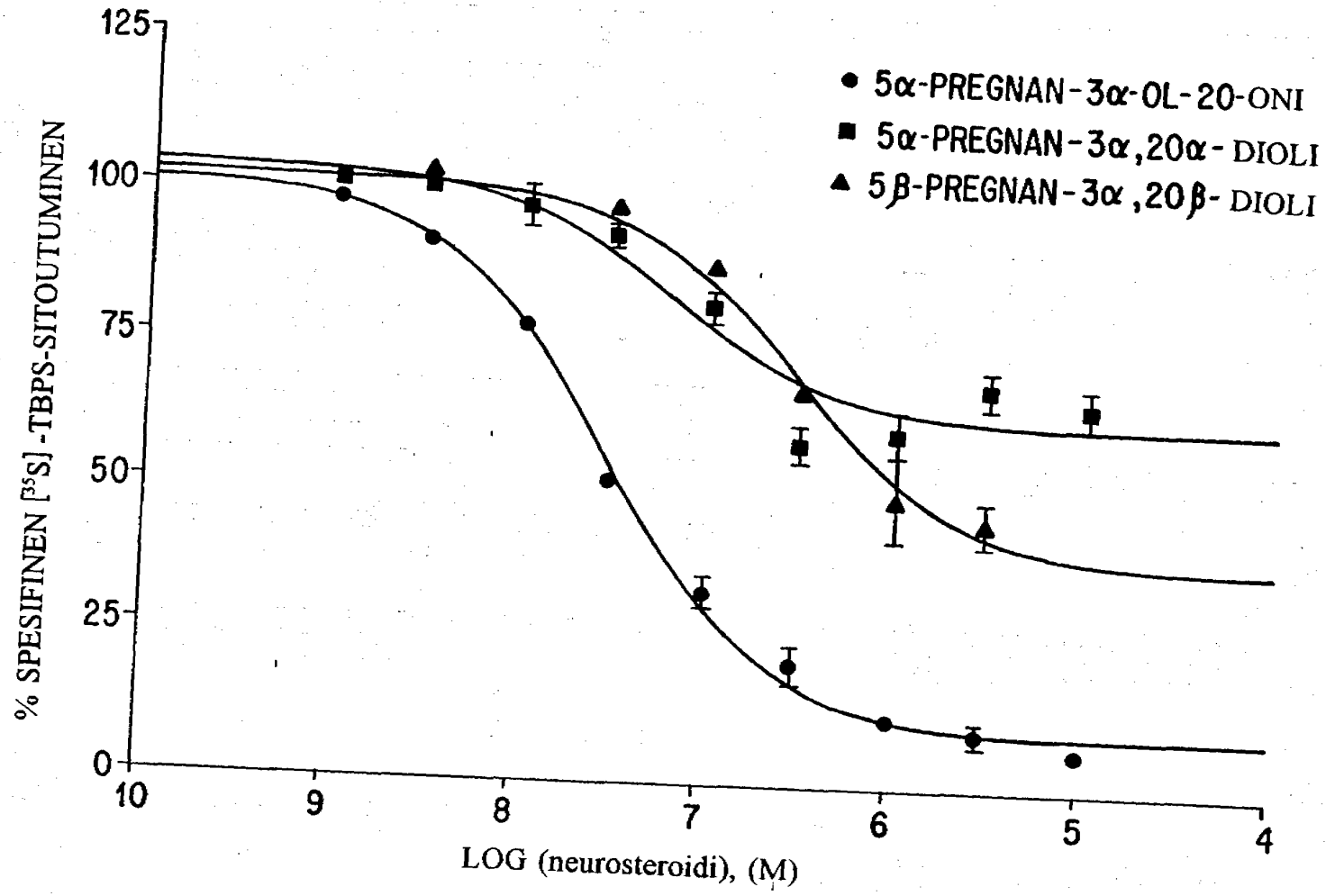
KUVIO 3


140
120
100
80
60
40
20
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
-4
R5020
5αTHDOC
3α5α-P
LOG [STEROIDI] (M)

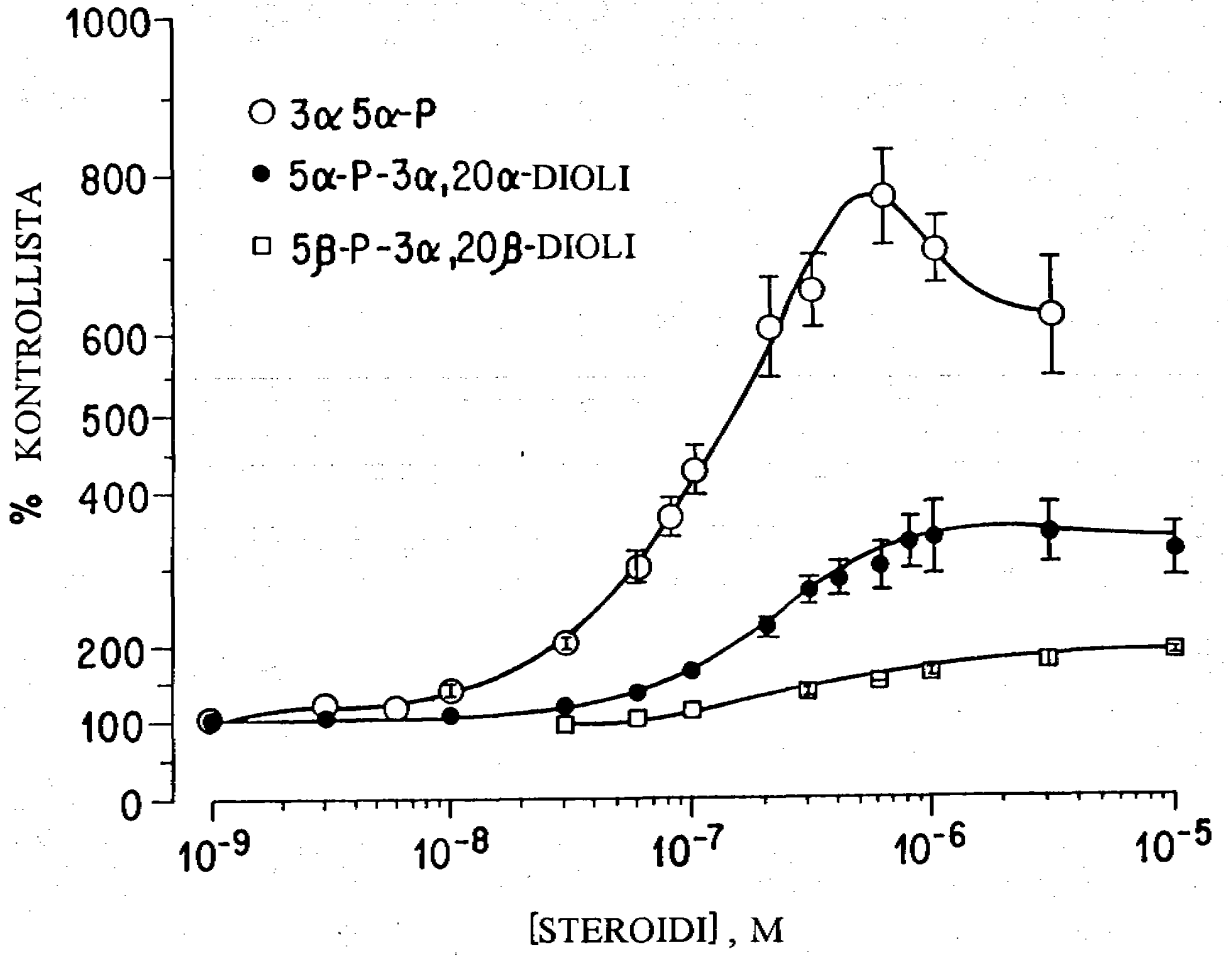
KUVIO 4


GABA-INDUSOIDUN VIRRAN VOIMISTUMINEN %
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
[35S] -TBPS-SITOUTUMISEN INHIBITIO-%

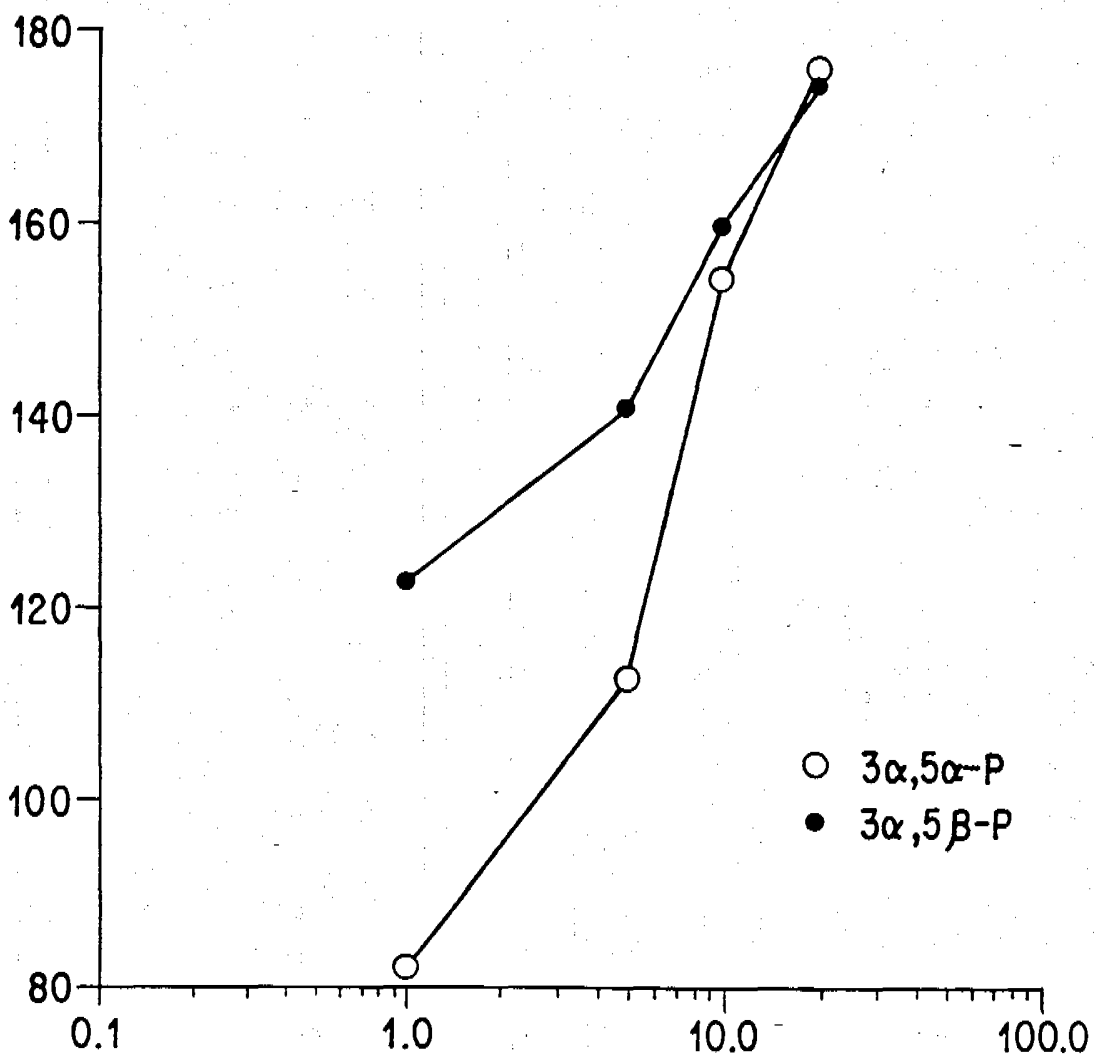
KUVIO 5


125
100
75
50
25
0
% SPESIFINEN [35S] -TBPS-SITOUTUMINEN
10
9
8
7
6
5
4
LOG (neurosteroidi), (M)
● 5α-PREGNAN-3α-OL-20-ONI
■ 5α-PREGNAN-3α,20α- DIOLI
▲ 5β-PREGNAN-3α,20β- DIOLI

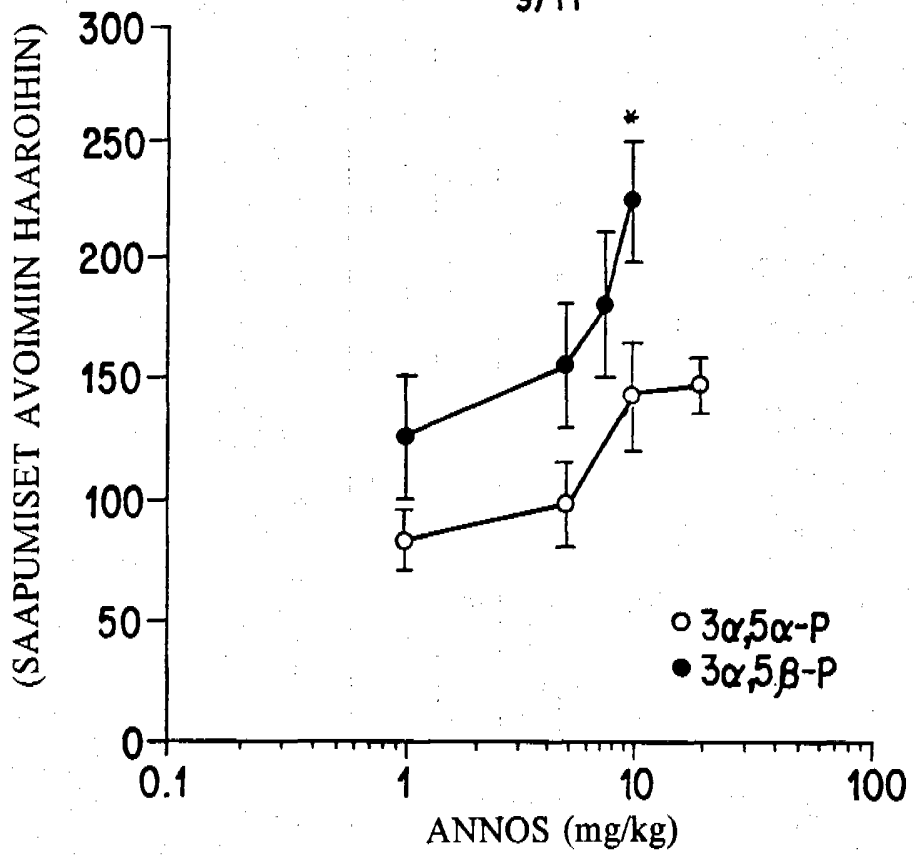
KUVIO 6


1000
800
600
500
400
200
100
0
% KONTROLLISTA
○ 3α 5α-P
● 5α-P-3α,20α-DIOLI
□ 5β-P-3α,20β-DIOLI
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[STEROIDI], M

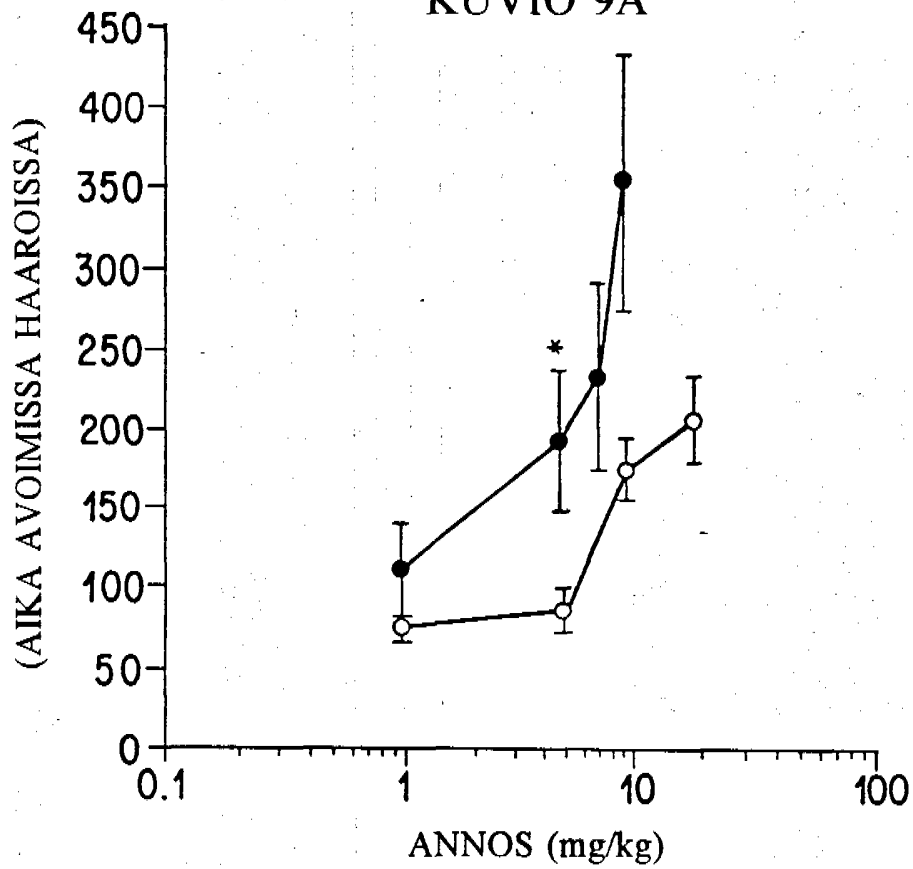
KUVIO 7



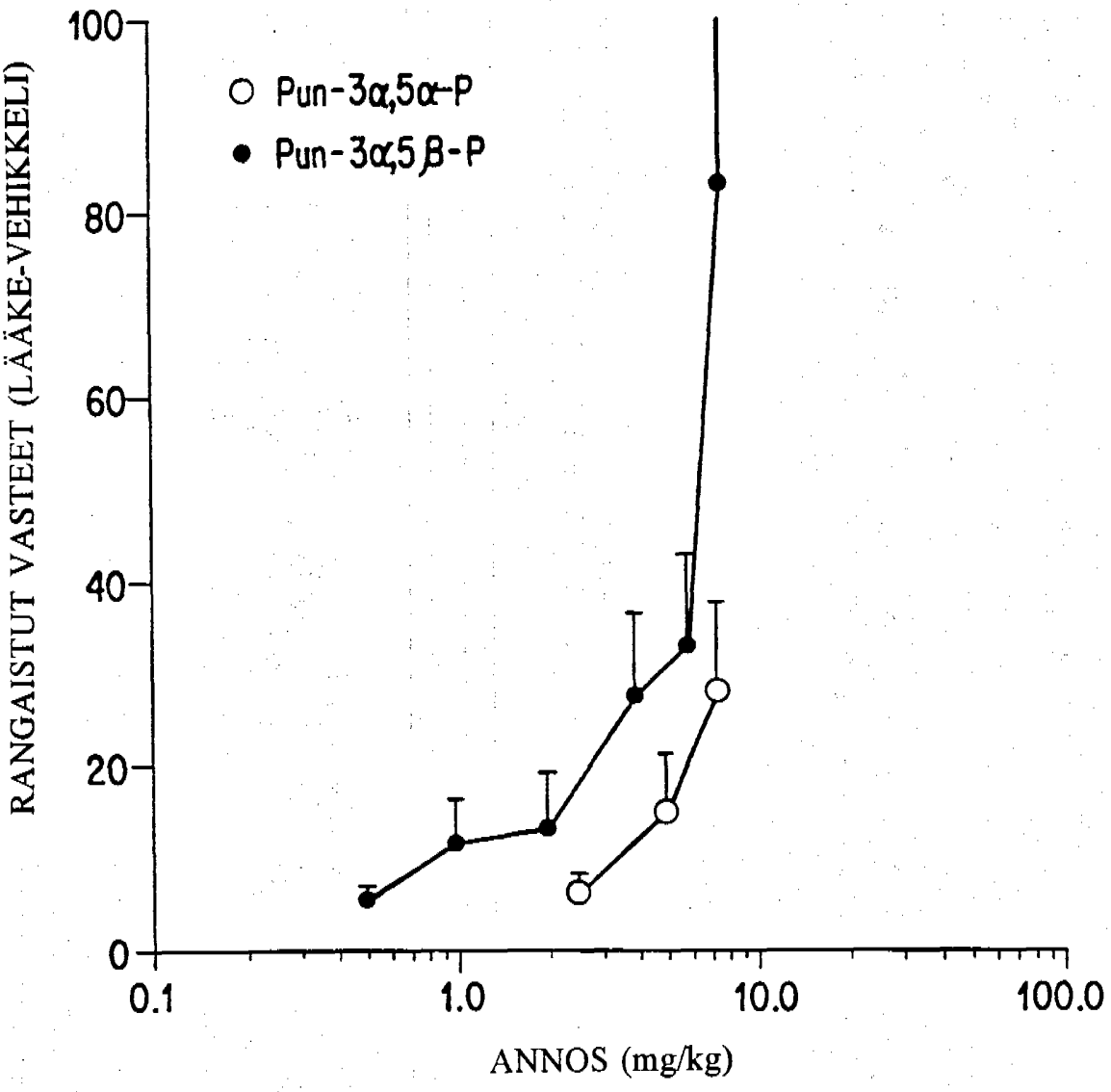
KUVIO 8



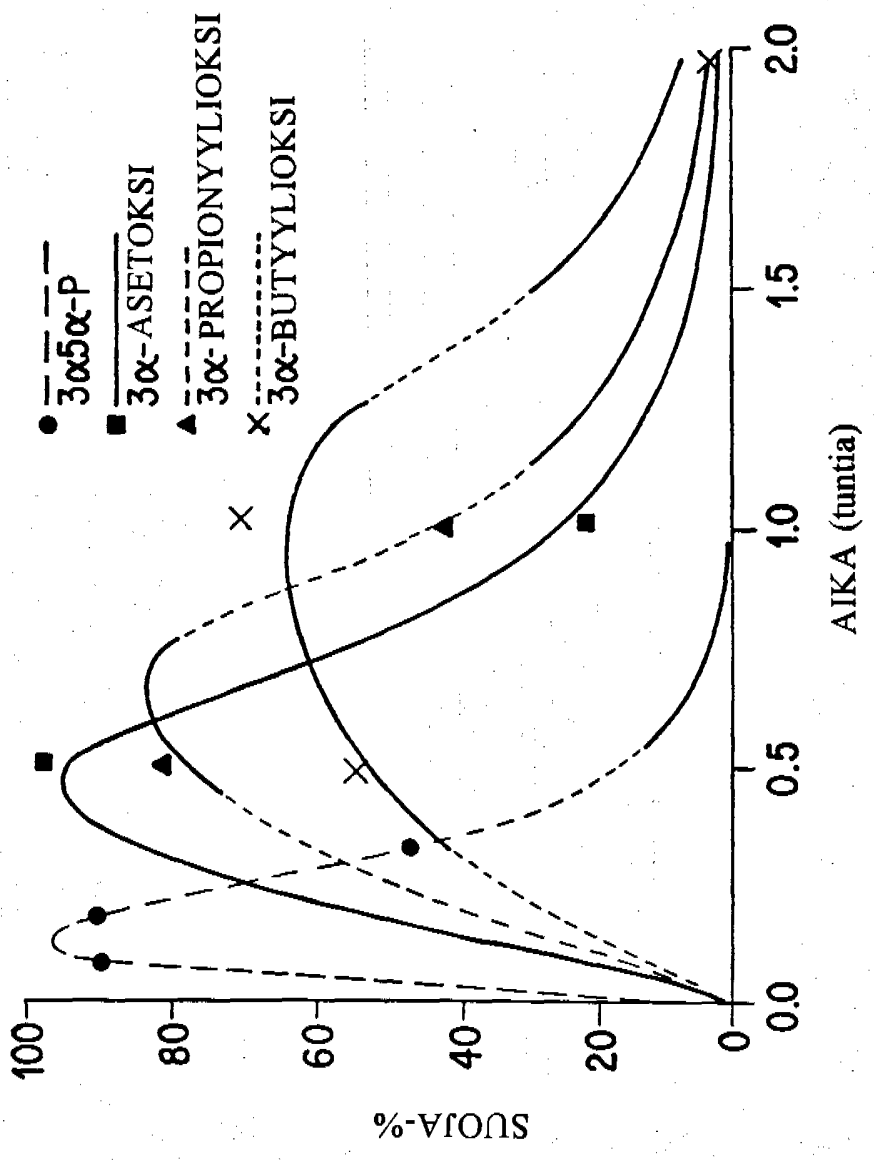
KUVIO 9A



KUVIO 9B


RANGAISTUT VASTEET (LÄÄKE-VEHIKKELI)
100
80
60
40
20
0
Pun-3α,5α-P
Pun-3α,5β-P
0.1
1.0
10.0
100.0
ANNOS (mg/kg)

KUVIO 10


3α5α-P
3α-ASETOKSI
3α-PROPIONYYLIOKSI
3α-BUTYYLIOKSI
SUOJA-%
100
80
60
40
20
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
AIKA (tuntia)

KUVIO 11